

---

februarie 2016

# Ghid rapid pentru plug-in-ul KRAS Pyro<sup>®</sup>

Pentru instalare și utilizare împreună cu  
instrumentele PyroMark<sup>®</sup> Q24 și software-ul  
PyroMark Q24 versiunea 2.0

# Despre plug-in-ul KRAS Pyro

Pachetul plug-in-ului KRAS Pyro conține următoarele:

- *Ghid rapid pentru plug-in-ul KRAS Pyro*
- Două fișiere de instalare
- Raport de referință pentru verificarea funcționalității plug-in-ului KRAS Pyro

**Notă:** Plug-in-ul KRAS Pyro este destinat pentru utilizare numai în combinație cu kiturile KRAS Pyro și kiturile RAS Extension Pyro dedicate, care sunt indicate pentru aplicațiile descrise în manualele respective, ale kitului KRAS Pyro și kitului RAS Extension Pyro.

## Instalarea plug-in-ului KRAS Pyro

**Important:** Plug-in-ul KRAS Pyro trebuie instalat pe **instrumentele PyroMark Q24 cu software-ul PyroMark Q24 versiunea 2.0.**

1. Închideți software-ul PyroMark Q24 2.0 dacă este deschis.
2. Deschideți fișierul de instalare \*.zip și extrageți fișierele.
3. Faceți dublu clic pe fișierul setup.exe.
4. Urmați instrucțiunile din ferestrele de dialog care apar.
5. Porniți software-ul PyroMark Q24 2.0. Raportul plug-in-ului KRAS Pyro apare acum la adresa „AQ Add On Reports/KRAS” (Rapoarte de completare AQ/Extensie KRAS) din meniul „Reports” (Rapoarte) din modul AQ.
6. Verificați funcționalitatea plug-in-ului (consultați paragraful „Verificarea funcționalității plug-in-ului KRAS Pyro” de mai jos).

---

# Verificarea funcționalității plug-in-ului KRAS Pyro

**Important:** Verificarea trebuie să se facă de fiecare dată când pe computer este instalat un nou software sau este actualizat un software.

Pașii de mai jos descriu modul de a verifica dacă software-ul funcționează corect și nu a fost afectat de vreo schimbare apărută în computer.

1. Deschideți testarea „KRAS Example” (Exemplu KRAS) aflată la adresa „Shortcuts/ Example Files/PyroMark Runs/KRAS” (Comenzi rapide/ Fișiere exemplu/Testări PyroMark/KRAS), în browser-ul de comenzi rapide.
2. Efectuați o analiză „KRAS codon 12 and 13” pentru toate godeurile, după cum este descris în paragraful „Analiza unei testări pe PyroMark Q24” de mai jos.
3. Comparați rezultatele cu raportul de referință. Dacă rezultatele sunt identice, se confirmă corecta funcționare a plug-in-ului.

## Analiza unei testări pe PyroMark Q24

Pașii de mai jos descriu analiza mutației la o testare KRAS finalizată, folosind plug-in-ul KRAS Pyro.

1. Se introduce stickul USB care conține fișierul cu testările procesate în portul USB al computerului.
2. Mutați fișierul cu testarea de pe stickul USB în locul dorit din computer, folosind Windows® Explorer.

3. Deschideți fișierul cu testarea în modul AQ al software-ului PyroMark Q24, fie prin selectarea „Open” (Deschidere) din meniul „File” (Fișier), fie prin dublu-clic pe fișierul (✓) în browser-ul de comenzi rapide.
4. Selectați „AQ Add On Reports/KRAS” și „Codon 12 and 13” (Codon 12 și 13) sau „Codon 61” din „Reports” din meniu (Figura 1).

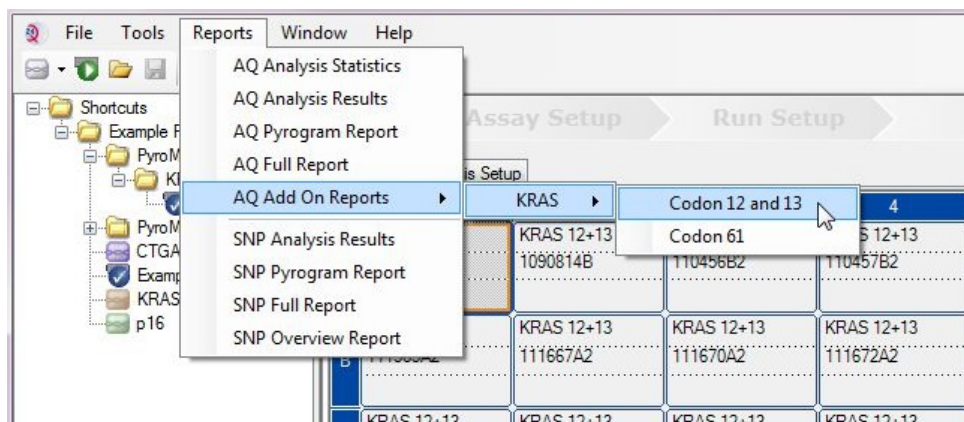


Figura 1. Analiza mutației la o testare KRAS codon 12 and 13 finalizată, folosind plug-in-ul KRAS Pyro.

5. Godeurile vor fi analizate automat pentru toate mutațiile listate în Tabelul 1. Rezultatele vor fi prezentate într-un tabel de ansamblu (Figura 2), urmate de rezultatele detaliate, inclusiv Pyrograms® (Pirograme) și analiza calității.

**Important:** Plug-in-ul KRAS Pyro va raporta mutația (Tabelul 1) al cărei semnal așteptat corespunde cel mai bine pirogramei observate.


**Tabelul 1. Mutațiile analizate de plug-in-ul KRAS Pyro**

Acid nucleic substituit	Aminoacid substituit	LOB (% unități)	LOD (% unități)	COSMIC ID* (V72)
<b>Codon 12 (GGT)</b>				
GAT	G12D	0,6	2,2	521
GTT	G12V	4,9	8	520
TGT	G12C	0,5	2,1	516
AGT	G12S	0,4	1,9	517
GCT	G12A	0,7	2,3	522
CGT	G12R	0,3	1,8	518
<b>Codon 13 (GGC)</b>				
GAC	G13D	0,3	1,9	532
<b>Codon 61 (CAA), conform testării în orientare inversă (TTG)</b>				
GTG	Q61H	0,8	2,8	554
TAG	Q61L	1,2	3,1	553
TCG	Q61R	1,6	3,5	552
ATG	Q61H	0,7	2,6	555
TTC	Q61E	1,2	3,1	550

\* Din Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, disponibil online la Sanger Institute, la adresa [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic).

## Summary

NOTE: Only the mutation with the highest frequency is reported.

Well	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	106506B1	Mutation	28.8	GGT>AGT	G12S	
A2	1090814B	Wildtype				
A3	110456B2	Potential low level mutation	2.3	GGT>AGT	G12S	
A4	110457B2	Wildtype				
A5	110462A2	Wildtype				
A6	110486A2	Mutation	24.9	GGT>GCT	G12A	
A7	111207A2	Mutation	31.6	GGT>GTT	G12V	
A8	111555A2	Mutation	39.7	GGT>GAT	G12D	
B1	111565A2	Mutation	37.5	GGT>GAT	G12D	
B2	111667A2	Mutation	26.7	GGT>GTT	G12V	
B3	111670A2	Wildtype				
B4	111672A2	Mutation	21.1	GGT>GTT	G12V	
B5	112307A2	Wildtype				
B6	113070A2	Wildtype				
B7	113188A1	Mutation	55.1	GGT>TGT	G12C	
B8	113200A1	Wildtype				
C1	114466A2	Wildtype				
C2	115155B2	Wildtype				
C3	117281A2	Wildtype				
C4	117314A2	Wildtype				
C5	117375A2	Mutation	22.1	GGT>GCT	G12A	
C6	117378C2	Wildtype				
C7	117465A2	Wildtype				
C8	117506A2	Wildtype				

 See detailed results for further explanation.

Figura 2. Sumarul rezultatelor cu rol de exemplu dintr-o analiză a plug-in-ului KRAS Pyro.

## Interpretarea rezultatelor și detectarea mutațiilor de nivel scăzut

Recomandăm insistent ca, pentru comparație și pentru controlul nivelurilor de fond, să fie inclusă în fiecare testare o probă cu genotip sălbatic.

**Important:** În evaluarea calității, „Check” (Verificată) sau „Failed” (Eșuată) pot fi cauzate de un tipar al vârfurilor neprevăzut. Acest lucru ar putea indica o mutație neașteptată, care nu este analizată de raportul plug-in. Aceste probe trebuie analizate manual folosind software-ul PyroMark Q24 și ținând cont de faptul că acestea pot conține mutații neprevăzute. Consultați manualele adecvate aferente kitului KRAS Pyro sau kitului RAS Extension Pyro pentru detalii.

**Important:** Pirograma trebuie întotdeauna comparată cu histograma, care este prezentată în rezultatele detaliate ale raportului plug-in și poate fi afișată în software-ul PyroMark Q24 făcând clic dreapta în fereastra Pyrogram. Pirograma trebuie examinată pentru eventuala prezență a unor vârfuri neprevăzute. În cazul în care vârfurile măsurate nu corespund cu înălțimea barelor din histogramă și nu pot fi explicate prin prezența unor mutații rare sau neprevăzute, rezultatul nu poate fi luat în considerare pentru determinarea stării mutaționale. Se recomandă ca proba să fie retestată.

**Important:** Probele cu un potențial raportat de mutații de nivel scăzut (frecvența aflată în intervalul dintre LOD și  $\text{LOD} + 3\%$  unități) trebuie să fie testate din nou, în duplicat, împreună cu un control ADN nemetilat. În acest caz va fi emisă o avertizare. Proba trebuie considerată pozitivă din punct de vedere al mutației dacă ambele exemplare confirmă rezultatul analizei originale și diferă în mod vizibil de controlul normal. În caz contrar, proba trebuie să fie considerată de tip sălbatic.

**Important:** Pentru o examinare mai amănunțită a probelor cu un potențial raportat de mutații de nivel scăzut, recomandăm analizarea manuală, suplimentară, în software-ul PyroMark Q24, de exemplu, pentru compararea cu frecvența mutației în proba de control (pentru instrucțiuni detaliate, consultați „Protocolul 6: Analiza unei testări pe PyroMark Q24” din manualul kitului RAS Extension Pyro adecvat). O frecvență măsurată mai mare decât LOB în proba de control indică un nivel de fundal mai ridicat decât cel obișnuit în cadrul analizei corespunzătoare, care poate influența cuantificarea alelelor, mai ales în cazul unor niveluri scăzute ale mutațiilor. În acest caz, mutațiile de nivel scăzut potențiale raportate nu reprezintă o bază pentru determinarea stării mutaționale și se recomandă să fie re-testate probele care prezintă o potențială mutație de nivel scăzut.

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare ale kiturilor QIAGEN sunt disponibile la adresa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) sau pot fi solicitate de la Serviciile Tehnice QIAGEN sau distribuitorul dvs. local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106192 02/2017 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate. PROM-8151-003

Pentru comenzi [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Suport tehnic [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)