

Februar 2017

# Hurtigveiledning for EGFR Pyro<sup>®</sup> Plug-in

Til installasjon og bruk med PyroMark<sup>®</sup> Q24-  
instrumenter og PyroMark Q24-programvaren,  
versjon 2.0

# Om EGFR Pyro Plug-in

EGFR Pyro Plug-in-pakken inneholder:

- *Hurtigveiledning for EGFR Pyro Plug-in*
- To installasjonsfiler
- Referanserapport for verifisering av EGFR Pyro Plug-in-funksjonen

**Merk:** EGFR Pyro Plug-in skal kun brukes i kombinasjon med dedikerte EGFR Pyro-sett indisert for applikasjoner som er beskrevet i den tilhørende håndboken for EGFR Pyro Kit.

## Installasjon av EGFR Pyro Plug-in

**Viktig:** EGFR Pyro Plug-in må være installert på **PyroMark Q24-instrumentene med PyroMark Q24-programvaren, versjon 2.0.**

1. Lukk PyroMark Q24-programvare 2.0 hvis den er åpen.
2. Åpne \*.zip-installasjonsfilen, og pakk ut filene.
3. Dobbelklikk på setup.exe-filen.
4. Følg instruksjonene i dialogboksene som vises.
5. Start PyroMark Q24-programvare 2.0. EGFR Pyro Plug-in-rapporten vises nå under "AQ Add On Reports/EGFR" (AQ legge til rapporter / EGFR) fra menyen "Reports" (Rapporter) i AQ-modus.
6. Verifiser Plug-in-funksjonen (se "Verifisering av EGFR Pyro Plug-in-funksjonen" nedenfor).

# Verifisering av EGFR Pyro Plug-in-funksjonen

**Viktig:** Verifiseringen skal utføres hver gang ny programvare blir installert eller oppgradert på datamaskinen.

Følgende trinn beskriver hvordan du kan bekrefte at programvaren fungerer som den skal og ikke er påvirket av eventuelle endringer i datamaskinen.

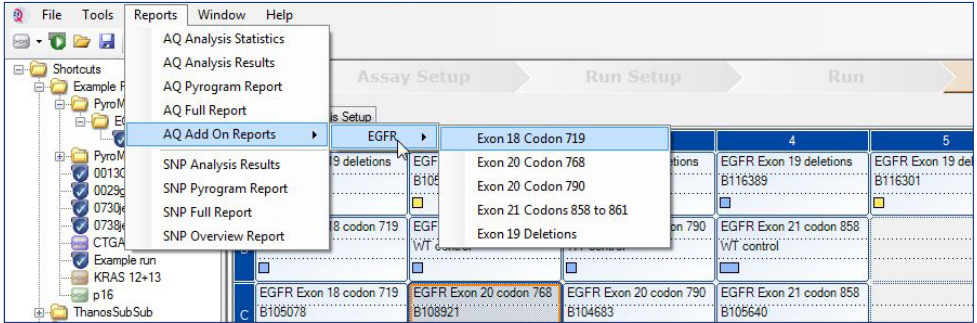
1. Åpne "EGFR Example"- kjøringen (EGFR-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR" (Snarveier/Eksempelfiler/PyroMark-kjøring/EGFR) i nettleserens snarveifunksjon.
2. Utfør "EGFR-ekson 19 delesjoner"-analyse for alle brønner som er beskrevet i "Analyse av en PyroMark Q24-kjøring" nedenfor.
3. Sammenlign resultatene med referanserapporten. Hvis resultatene er identiske, blir riktig funksjon for EGRF Pyro Plug-in bekreftet.

## Analyse av en PyroMark Q24-serie

Følgende trinn beskriver mutasjonsanalysen av en ferdig EGRF-kjøring med EGRF Plug-in-rapport.

1. Sett USB-enheten (som inneholder den behandlede seriefilen) inn i datamaskinens USB-port.
2. Overfør seriefilen fra USB-enheten til ønsket plassering på datamaskinen ved hjelp av Windows® Utforsker.
3. Åpne seriefilen i AQ-modus i PyroMark Q24-programvaren ved å velge "Open" (Åpne) i menyen "File" (Fil) eller ved å dobbeltklikke på filen (📁) i snarveifunksjonen.
4. Velg "AQ Add On Reports/EGFR" og "Exon 18 Codon 719" (Ekson 18, kodon 719), "Exon 20 Codon 768" (Ekson 20, kodon 768), "Exon 20 Codon 790" (Ekson 20,

kode 790), "Exon 21 Codons 858 to 861" (Eksjon 21, kode 858 til 861) eller "Exon 19 Deletions" (Eksjon 19-delesjoner) fra "Reports" i menyen (figur 1).



Figur 1. Mutasjonsanalyse av en ferdig EGFR-kjøring med EGFR Pyro Plug-in.

- Brønnene vil automatisk bli analysert for alle mutasjoner der LOD er angitt i tabell 1. Resultatene vil bli presentert i en oversiktstabell (se eksempelet i figur 2 nedenfor), etterfulgt av detaljerte resultater som inneholder Pyrograms<sup>®</sup> og analysekvalitet.

Tabell 1. LOB og LOD bestemt for spesifikke mutasjoner med EGFR Pyro Plug-in

Mutasjon	Aminosyresubstitusjon	LOB (% enheter)	LOD (% enheter)	COSMIC ID* (V70)
<b>Ekson 19-delesjoner</b>				
2233del15	K745_E749del	0,6	1,6	26038
2235_2248>AATC	E746_A750>IP	0,8	1,6	13550
2235_2252>AAT	E746_T751>I	1,1	2,8	13551
2235del15	E746_A750del	0,9	1,8	6223
2236del15	E746_A750del	0,2	1,2	6225
2237_2252>T	E746_T751>V	0,8	2,4	12386
2237_2255>T	E746_S752>V	0,6	1,6	12384
2237del15	E746_T751>A	0,9	1,9	12678
2237del18	E746_S752>A	0,5	1,7	12367
2238_2248>GC	L747_A750>P	0,8	2,5	12422
2238_2252>GCA	L747_T751>Q	0,2	0,6	12419
2238del18	E746_S752>D	0,3	1,1	6220
2239_2248>C	L747_A750>P	1,8	2,4	12382
2239_2251>C	L747_T751>P	0,6	1,7	12383
2239_2258>CA	L747_P753>Q	1,3	3,9	12387
2239del18	L747_S752del	0,6	1,5	6255
2239del9	L747_E749del	2,0	3,7	6218
2240del12	L747_T751>S	0,4	1,5	6210
2240del15	L747_T751del	0,9	1,9	12369
2240del18	L747_P753>S	0,9	1,9	12370
<b>Ekson 18, kodon 719 (GGC)</b>				
AGC	G719S	0,9	1,5	6252
TGC	G719C	1,0	1,6	6253
GCC	G719A	4,7	9,1	6239
<b>Ekson 20, kodon 768 (AGC)</b>				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
<b>Ekson 20, kodon 790 (ACG)</b>				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240

Ekson 21, kodon 858 (CTG)				
CGG	L858R	0,6	2,6 (5,5) <sup>†</sup>	6224
Ekson 21, kodon 861 (CTG)				
CAG	L861Q	3,2	4,3	6213
CGG	L861R	1,9	4,2	12374

\* Fra "Catalogue of Somatic Mutations in Cancer" (katalog over somatiske mutasjoner ved kreft), tilgjengelig fra Sanger Institute på [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/).

<sup>†</sup> Laveste mutasjonsnivå i en prøve som fører til en målt frekvens  $\geq$  LOD.

## Summary

Well	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	B104683	Mutation	34.0	2236del15	E746_A750del	
A2	B105072	Wildtype				
A3	B116390	Mutation	26.6	2240del18	L747_P753>S	
A4	B116389	Wildtype				
A5	B116301	Potential low level mutation	3.2	2233del15	K745_E749del	⚠
A6	B116392	Mutation	15.4	2235del15	E746_A750del	
A7	WT control	Wildtype				
A8	NTC	Failed Analysis				⚠

⚠ See detailed results for further explanation.

NOTE: For further information about data evaluation please refer to the handbook.

Figur 2. Eksempel på et resultatsammendrag fra en EGFR Pyro Plug-in-analyse.

# Tolkning av resultater og deteksjon av mutasjoner med lavt nivå

Det anbefales på det sterkeste å ta med en villtypeprøve i hver analyseserie for å kunne utføre en sammenligning og kontrollere bakgrunnsnivåer.

**Viktig:** Kvalitetsvurderinger som "Check" (Kontroller) eller "Failed" (Mislyktes) kan forårsakes med et uventet mønster av topper. Dette kan indikere en uventet mutasjon, noe som ikke analyseres av Plug-in-rapporten. Disse prøvene bør analyseres manuelt ved hjelp av PyroMark

Q24-programvaren med vurdering av uventede mutasjoner. Se den aktuelle håndboken for EGFR Pyro Kit for mer informasjon.

**Viktig:** Pyrogram må alltid sammenlignes med histogrammet som vises for de detaljerte resultatene i Plug-in-rapporten, og som kan vises i PyroMark Q24-programvaren ved å høyreklikke i Pyrogram-vinduet. Pyrogram bør undersøkes for tilstedeværelse av uventede topper. Hvis de målte toppene ikke stemmer overens med høydene på histogramsøylene og ikke kan forklares av sjeldne eller uventede mutasjoner, danner ikke resultatet grunnlag for å bedømme mutasjonsstatus. Det er anbefalt å kjøre prøven på nytt.

**Viktig:** Prøver med en rapportert potensiell mutasjon med lavt nivå (frekvens i området fra LOD til LOD+ 3 % enheter) skal bare kjøres på nytt i duplikat sammen med en prøve med umetylert kontroll-DNA. En advarsel vil bli vist i slike tilfeller.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN® Kit. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN Kit er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan bestilles fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, med enerett. PROM-8091-003

Bestilling [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettsted [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)