

Februari 2017

GIST RapidScreen Pyro[®] Plug-in Snabbstartsguide

För installering och användning med PyroMark[®]
Q24-instrument och Pyromark Q24
programvaruversion 2.0

Om GIST RapidScreen Pyro Plug-in

GIST RapidScreen Pyro Plug-in paketet innehåller följande:

- *GIST RapidScreen Pyro Snabbstartsguide*
- Två installationsfiler
- Referensrapport för funktionsverifiering av GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Obs: GIST RapidScreen Pyro Plug-in är endast avsett att användas i kombination med *therascreen*[®] GIST RapidScreen Pyro Kit (kat. nr. 971510) som är indikerat för de applikationer som beskrivs i *therascreen-handboken för GIST RapidScreen Pyro Kit (therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook)*.

Installering av GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Viktigt: GIST RapidScreen Pyro Plug-in måste installeras antingen på **PyroMark Q24-instrumentet med PyroMark Q24 programvaruversion 2.0** eller på **PyroMark Q24 MDx-instrumentet med PyroMark Q24 MDx programvaruversion 2.0**

Stäng programmet Pyromark Q24 2.0 om det är öppet.

1. Öppna *.zip-installationsfilen och extrahera filerna.
2. Dubbelklicka på filen setup.exe.
3. Följ instruktionerna i de dialogrutor som visas.
4. Starta programmet Pyromark Q24 2.0. GIST RapidScreen Pyro Plug-in-rapporten syns nu under "AQ Add On Reports/GIST" (AQ-tilläggsrapporter/GIST) i menyn "Reports" (rapporter) i AQ-läge.

5. Verifiera GIST RapidScreen Plug-in-funktion (se "Verifiera GIST RapidScreen Plug-in-funktion nedan").

Verifiera GIST RapidScreen Pyro Plug-in-funktion

Viktigt: Verifieringen bör utföras varje gång ny programvara installeras eller uppgraderas på datorn.

Följande steg beskriver hur man verifierar att programvaran fungerar korrekt och inte har påverkats av några förändringar på datorn.

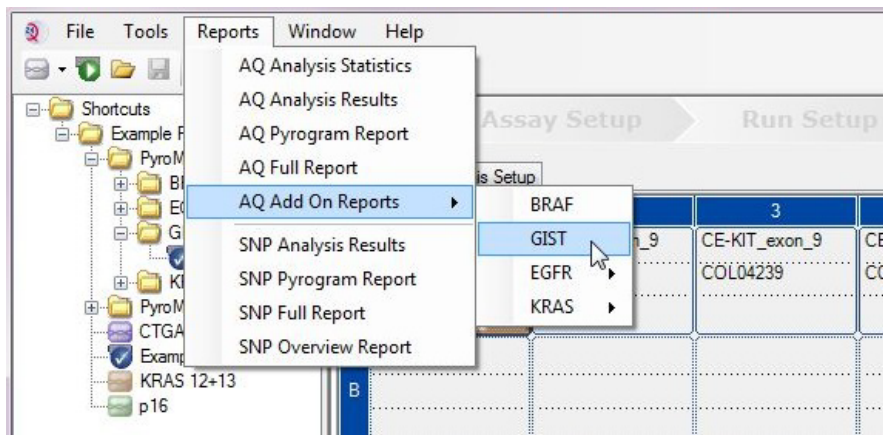
6. Öppna GIST "Example run" (GIST exempelkörning) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST" (genvägar/exempelfiler/PyroMark-körningar/GIST) i snabbmenyn.
7. Gör en "GIST"-analys för alla brunnar såsom beskrivs i "Analysera en PyroMark Q24-körning" nedan.
8. Jämför resultaten med referensrapporten. Om resultaten är identiska är korrekt funktion av Plug-in-programmet bekräftad.

Analysera en PyroMark Q24-körning

Följande steg beskriver mutationsanalysen av en avslutad GIST-körning med GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

1. Sätt i USB-minnet (med den behandlade körfilen) i datorns USB-port.
2. Flytta körfilen från USB-minnet till önskad plats på datorn med hjälp av Windows® Explorer (utforskaren).

3. Öppna körfilen i AQ-läget i programmet PyroMark Q24 genom att antingen välja "Open" (öppna) i menyn "File" (arkiv) eller genom att dubbelklicka på filen (☑) i snabbmenyn.
4. Välj "AQ Add On Reports/GIST" i menyn "Reports" (figur 1).



Figur 1. Mutationsanalys av en avslutad GIST RapidScreen-körning med GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

5. Brunnarna analyseras automatiskt vad gäller alla mutationer som anges i tabell 1. Resultaten av analysen för både KIT exon 9 och PDGFRA exon 18 visas i en översiktstabell (figur 2), följt av detaljerade resultat som innefattar Pyrogram® och analyskvalitet.

Viktigt: Plug-in-programmet kommer att rapportera den mutation (tabell 1) vars förväntade signal stämmer bäst överens med det observerade pyrogrammet.

Tabell 1. Mutationer som analyserats av GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Nukleinsyra-substitution	Aminosyra-substitution	LOB (%-enheter)	LOD (%-enheter)	COSMIC ID* (V70)
KIT exon 9				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
PDGFRA exon 18				
2525A>T	D842V	0,6	3,6	736
2524G>T	D842Y [§]	0,6	3,6	12396
2524_2535 del12 eller [†] 2526_2537	del12 D842_H845del eller [†] I843_D846del [§]	2,2	5,2	737 eller [†] 96892
2527_2538 del12	I843_D846del [§]	3,0	6,0	12400
2528_2539 del12	I843_S847>T	4,2	7,2	12407
2530_2541 del12	M844_S847del	3,2	6,2	12402
2524_2532 del9	D842_M844del	1,5	4,5	12401
2524_2526 delGAC	D842del	0,9	3,9	12406
2526_2538 >G [‡]	D842_D846>E	0,3	3,3	12408
2524_2526 GAC>TAT	D842Y [§]	0,9	3,9	12397

* Från Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (katalog över somatiska mutationer i cancer) som finns tillgänglig online på Sanger Institutes hemsida på adressen www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

[†] Mutationerna 2524_2535del12 och 2526_2537del12 resulterar i samma nukleinsyraförändring.

[‡] Mutationerna 2526_2538>G och 2524_2526GAC>TAT kan inte analyseras i PyroMark Q24-programmets AQ-läge.

[§] Mutationerna 2524G>T och 2524_2526GAC>TAT samt 2526_2537del12 och 2527_2538del12 resulterar i samma aminosyraförändring.

Summary

Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	cKIT Exon 9	COL04237	No mutation detected				
A2	cKIT Exon 9	COL04238	Mutation	51.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A3	cKIT Exon 9	COL04239	Mutation	29.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A4	cKIT Exon 9	COL04240	No mutation detected				
A5	cKIT Exon 9	wt control DNA	No mutation detected				
A8	cKIT Exon 9		Failed Analysis				⚠
C1	PDGFRA Exon 18	COL04237	No mutation detected				
C2	PDGFRA Exon 18	COL04238	Potential low level mutation	4.5	2525A>T	D842V	⚠
C3	PDGFRA Exon 18	COL04239	No mutation detected				
C4	PDGFRA Exon 18	COL04240	Mutation	52.2	2524_2535del12 or 2526_2537del12	D842_H845del or I843_D846del	
C5	PDGFRA Exon 18	wt control DNA	No mutation detected				
C8	PDGFRA Exon 18		Failed Analysis				⚠

⚠ See detailed results below.

NOTE: The result must be validated by comparing the observed peaks with the expected peak heights displayed as grey bars. For further information about data evaluation and result interpretation please refer to the handbook.

Figur 2. Exempel på en resultatsammanfattning från en GIST RapidScreen Pyro Plug-in-analys.

Tolkning av resultat och detektion av lågfrekventa mutationer

Vi rekommenderar att ett vildtyprov inkluderas i varje körning, för jämförelse och som kontroll för bakgrunds nivåer.

Viktigt: En kvalitetsbedömning med resultatet "Check" (kontrollera) eller "Failed" (misslyckad) kan orsakas av ett oväntat mönster av toppar. Detta kan indikera en oväntad mutation som inte analyseras av Plug-in-rapporten. Dessa prover bör analyseras manuellt med programvaran PyroMark Q24 där hänsyn ska tas till att de kan innehålla oväntade mutationer. För mer information, se handboken för *therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit*.

Viktigt: Pyrogrammet bör alltid jämföras med histogrammet, vilket visas i de detaljerade resultaten från Plug-in-rapporten och som även kan ses i programmet Pyromark Q24 genom att högerklicka i pyrogramfönstret. Pyrogrammet bör undersökas för att se om det innehåller oväntade toppar. Om de uppmätta topparna inte stämmer överens med höjden på histogramstaplarna och inte kan förklaras av sällsynta eller oväntade mutationer är resultatet inte en grund för bedömning av mutationsstatus. Vi rekommenderar att provet körs om.

Viktigt: Prover med en rapporterad potentiell lågfrekvent mutation (frekvensintervall från LOD till LOD +3 %-enheter) bör köras om i duplikat tillsammans med ett prov med ometylerat kontroll-DNA. En varning kommer att utfärdas i sådant fall. Provet bör endast anses vara positivt för mutationen om båda duplikaten bekräftar resultatet av den ursprungliga analysen och märkbart skiljer sig från normalkontrollen. Annars ska provet bedömas som vildtyp.

Viktigt: För närmre undersökning av prover med en rapporterad potentiell lågfrekvent mutation rekommenderar vi att provet även analyseras manuellt i programmet PyroMark Q24, t.ex. för att jämföras med mutationsfrekvensen i kontrollprovet (se motsvarande protokoll för mer information). En uppmätt frekvens som ligger över LOB i kontrollprovet indikerar en ovanligt hög bakgrundsnivå i motsvarande körning, vilket kan påverka allelkvantifiering, särskilt för lågfrekventa mutationer. I detta fall är rapporterade potentiella lågfrekventa mutationer inte en bedömningsgrund för mutationsstatus och det rekommenderas att man kör om prover med en potentiell lågfrekvent mutation.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar för QIAGEN-kit finns tillgängliga på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska support eller från din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, *therascreen*® (QIAGEN-gruppen); Windows® (Microsoft Corporation).
1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt. PROM-8092-002-

Beställning www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com