

---

Februari 2016

# KRAS Pyro<sup>®</sup> Plug-in Snabbstartsguide

För installering och användning med PyroMark<sup>®</sup>  
Q24-instrument och Pyromark Q24  
programvaruversion 2.0

# Om KRAS Pyro Plug-in

KRAS Pyro Plug-in paketet innehåller följande:

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

**Obs:** KRAS Pyro Plug-in är endast avsett att användas i kombination med de KRAS Pyro-kit och RAS Extension Pyro-kit som är indikerade för de applikationer som beskrivs i KRAS Pyro- och RAS Extension Pyro-kittens respektive handböcker.

## Installering av KRAS Pyro Plug-in

**Viktigt:** KRAS Pyro Plug-in måste installeras på **PyroMark Q24-instrument med PyroMark Q24 programvaruversion 2.0.**

1. Stäng programmet Pyromark Q24 2.0 om det är öppet.
2. Öppna \*.zip-installationsfilen och extrahera filerna.
3. Dubbelklicka på filen setup.exe.
4. Följ instruktionerna i de dialogrutor som visas.
5. Starta programmet Pyromark Q24 2.0. KRAS Pyro Plug-in-rapporten syns nu under "AQ Add On Reports/KRAS" (AQ-tilläggsrapporter/KRAS) i menyn "Reports" (rapporter) i AQ-läge.
6. Verifiera Plug-in-funktion (se "Verifiera KRAS Pyro Plug-in-funktion" nedan).

# Verifiera KRAS 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.

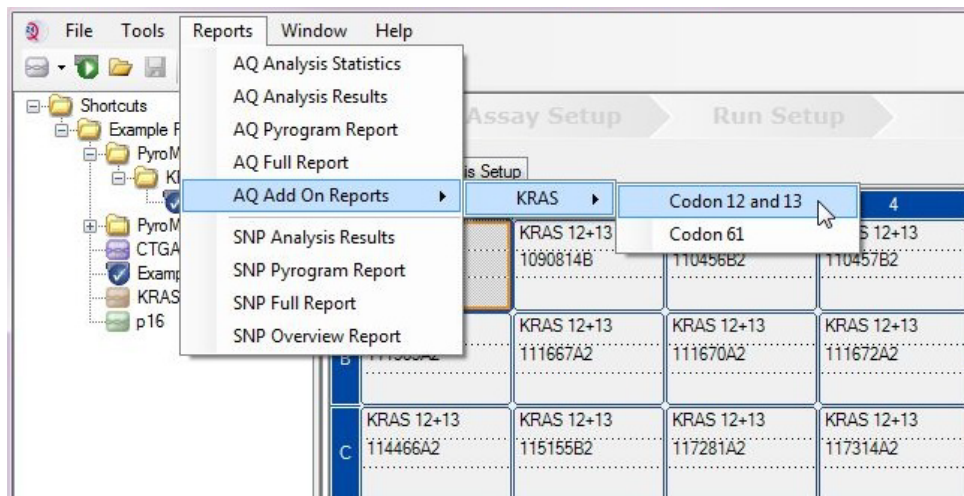
1. Öppna KRAS Example run (KRAS exempelkörning) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/KRAS" (genvägar/exempelfiler/PyroMark-körningar/KRAS) i snabbmenyn.
2. Gör en "KRAS kodon 12 och 13"-analys för alla brunnar såsom beskrivs i "Analysera en PyroMark Q24-körning" nedan.
3. Jämför resultaten med 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 KRAS-körning med KRAS 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/KRAS" och "Codon 12 and 13" (kodon 12 och 13) eller "Codon 61" (kodon 61) från "Reports" i meny.



Figur 1. Mutationsanalys av en avslutad KRAS kodon 12 och 13-körning med KRAS Pyro Plug-in.

5. Brunnarna analyseras automatiskt vad gäller alla mutationer som anges i tabell 1. Resultaten visas i en översiktstabell (figur 2), som följs av detaljerade resultat som innefattar pyrogram® och analyskvalitet.

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


**Tabell 1. Mutationer som analyserats av KRAS Pyro Plug-in**

| Nukleinsyra-substitution                      | Aminosyra-substitution | LOB (%-enheter) | LOD (%-enheter) | COSMIC ID* (V72) |
|---|------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <b>Kodon 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>Kodon 13 (GGC)</b>                         |                        |                 |                 |                  |
| GAC   | G13D                   | 0,3             | 1,9             | 532              |
| <b>Kodon 61 (CAA), analyserad bakåt (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              |

\* 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/](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>GIT                 | 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                     |                     |                         |                         |   |

Figur 2. Exempel på en resultatsammanfattning från en KRAS 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 lämplig handbok för KRAS Pyro Kit eller RAS Extension 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 jämföra med mutationsfrekvensen i kontrollprovet (för detaljerade instruktioner, se "Protokoll 6: Analysera en PyroMark Q24-körning" i lämplig handbok för RAS Extension Pyro Kit). En uppmätt frekvens som ligger över LOB i kontrollprovet indikerar en ovanligt hög bakgrunds nivå 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](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska support eller från din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN-gruppen); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106192 02/2017 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt. PROM-8151-003-

Beställning [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webbplats [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)