

Februar 2017

Hurtigveiledning for GIST RapidScreen Pyro[®] Plug-in

Til installasjon og bruk med PyroMark[®] Q24-
instrumenter og PyroMark Q24-programvaren,
versjon 2.0

Om GIST RapidScreen Pyro Plug-in

GIST RapidScreen Pyro Plug-in-pakken inneholder:

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

Merk: GIST RapidScreen Plug-in skal kun brukes i kombinasjon med dedikerte *therascreen*[®] GIST RapidScreen Pyro-settet (katalognr. 971510) indisert for applikasjoner som er beskrevet i den tilhørende håndboken for *therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit (therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook)*.

Installasjon av GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Viktig: GIST RapidScreen Pyro Plug-in må være installert på enten **PyroMark Q24-instrumentet med PyroMark Q24-programvaren, versjon 2.0**, eller på **PyroMark Q24 MDx-instrumentet med PyroMark Q24 MDx-programvaren, versjon 2.0**

Lukk PyroMark Q24-programvare 2.0 hvis den er åpen.

1. Åpne *.zip-installasjonsfilen, og pakk ut filene.
2. Dobbeltklikk på setup.exe-filen.
3. Følg instruksjonene i dialogboksene som vises.
4. Start PyroMark Q24-programvare 2.0. GIST RapidScreen Pyro Plug-in-rapporten vises nå under "AQ Add On Reports/GIST" (AQ legge til rapporter / GIST) fra menyen "Reports" (Rapporter) i AQ-modus.

5. Verifiser GIST RapidScreen Plug-in-funksjonen (se "Verifisering av GIST RapidScreen Plug-in-funksjonen" nedenfor).

Verifisering av GIST RapidScreen 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.

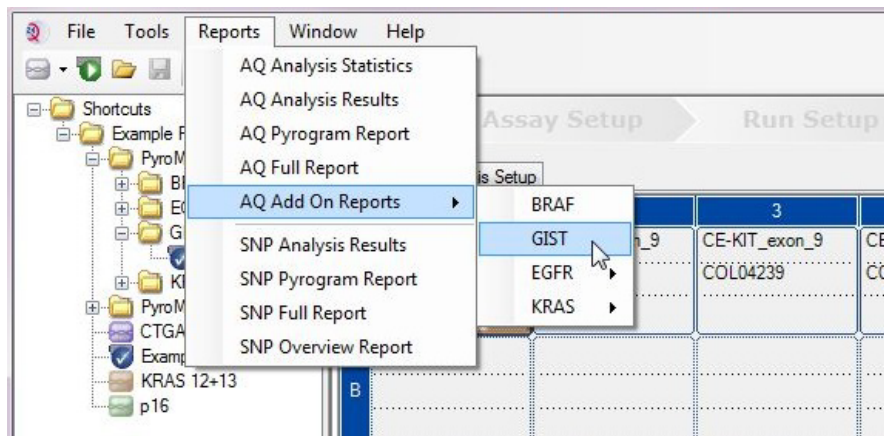
6. Åpne "GIST Example"- kjøringen (GIST-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST" (Snarveier/Eksempelfiler/PyroMark-kjøringer/GIST) i nettleserens snarveifunksjon.
7. Utfør en "GIST"-analyse for alle brønner som er beskrevet i "Analyse av en PyroMark Q24-kjøring" nedenfor.
8. Sammenlign resultatene med referanserapporten. Hvis resultatene er identiske, blir riktig funksjon for Plug-in bekreftet.

Analyse av en PyroMark Q24-serie

Følgende trinn beskriver mutasjonsanalysen av en ferdig GIST-kjøring med GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

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/GIST" fra "Reports" i menyen (figur 1).



Figur 1. Mutasjonsanalyse av en ferdig GIST RapidScreen-kjøring med GIST RapidScreen Plug-in.

5. Brønnene vil automatisk bli analysert for alle mutasjoner angitt i tabell 1. Resultatene for både KIT-ekson 9- og PDGFRA-ekson 18-analysen vil bli presentert i en oversiktstabell (figur 2), etterfulgt av detaljerte resultater som omfatter Pyrograms® og analysekvalitet.

Viktig: Plug-in-enheten vil rapportere den mutasjonen (tabell 1) som har et forventet signal som passer best til observert Pyrogram.

Tabell 1. Mutasjoner analysert av GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Nukleinsyresubstitusjon	Aminosyresubstitusjon	LOB (% enheter)	LOD (% enheter)	COSMIC ID* (V70)
KIT-ekson 9				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
PDGFRA-ekson 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

* 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/.

[†] Mutasjonene 2524_2535del12 og 2526_2537del12 resulterer i samme nukleinsyreendring.

[‡] Mutasjonene 2526_2538>G og 2524_2526GAC>TAT kan ikke analyseres i AQ-modus i PyroMark Q24-programvaren.

[§] Mutasjonene 2524G>T og 2524_2526 GAC>TAT samt 2526_2537 del12 og 2527_2538 del12 resulterer i henholdsvis samme aminosyreendring.

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. Eksempel på et resultatssammendrag fra en GIST RapidScreen 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 og vurderes med tanke på at de kan inneholde uventede mutasjoner. Se håndboken for *therascreen GIST RapidScreen 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 toppe. Hvis de målte toppene ikke stemmer overens med høydene på histogramsøyene og ikke kan forklares av sjeldne eller uventede mutasjoner, danner ikke resultatet grunnlag for å bedømme mutasjonsstatus. Det er anbefalt å kjøpe 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. Prøven skal kun regnes som positiv for mutasjonen hvis begge duplikater bekrefter resultatet av den opprinnelige analysen og er synlig forskjellig fra den normale kontrollen. Hvis ikke skal prøven anses som villtype.

Viktig: For en nærmere undersøkelse av prøver med en rapportert potensiell mutasjon med lavt nivå anbefaler vi i tillegg å analysere prøven manuelt i PyroMark Q24-programvaren, f.eks. for å sammenligne med kontrollprøvens mutasjonsfrekvens (se tilhørende protokoll for detaljerte instruksjoner). En målt frekvens over LOB i kontrollprøven indikerer et høyere bakgrunnsnivå enn vanlig i den tilhørende serien, som kan påvirke allelkvantifisering, særlig for lave mutasjonsnivåer. I dette tilfellet danner ikke rapporterte mulige lave mutasjonsnivåer et grunnlag for vurdering av mutasjonsstatus, og det anbefales å analysere prøver med en potensiell mutasjon med lavt nivå på nytt.

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 eller kan bestilles fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, iherascreen® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation). 1106190_02/2017 © 2017 QIAGEN, med enerett. PROM-8092-002

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettsted www.qiagen.com