

Únor 2017

Průvodce rychlým spuštěním modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro[®]

Pro instalaci a používání s přístroji PyroMark[®]
Q24 a softwarem PyroMark Q24 verze 2.0

O modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro

Balíček modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro obsahuje:

- *průvodce rychlým spuštěním softwaru GIST RapidScreen Pyro,*
- dva instalační soubory,
- referenční zprávu pro ověření funkce modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro.

Poznámka: Modul plug-in GIST RapidScreen Pyro je určen jen pro použití v kombinaci s vyhrazenou sadou *therascreen*[®] GIST RapidScreen Pyro (kat. č. 971510) indikovanou pro aplikace popsané v příručce k sadě *therascreen GIST RapidScreen Pyro (therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook)*.

Instalace modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro

Důležité: Modul plug-in GIST RapidScreen Pyro musí být instalován buďto na **přístroji PyroMark Q24 se softwarem PyroMark Q24 verze 2.0** nebo na **přístroji PyroMark Q24 MDx se softwarem PyroMark Q24 MDx verze 2.0**.

Zavřete software PyroMark Q24 2.0, pokud je otevřený.

1. Otevřete instalační soubor *.zip a extrahujte soubory.
2. Dvojitě klikněte na soubor setup.exe.
3. Postupujte podle pokynů, které se zobrazí v dialogových oknech.
4. Spustíte software PyroMark Q24 2.0. Zpráva modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro se nyní objeví pod položkou „AQ Add On Reports/GIST“ (Přidat AQ zprávu/GIST) v nabídce „Reports“ (Zprávy) v režimu AQ.
5. Ověřte funkčnost modulu plug-in GIST RapidScreen (viz část „Ověření funkčnosti modulu plug-in GIST RapidScreen“ dále).

Ověření funkčnosti modulu plug-in GIST RapidScreen

Důležité: Ověření je třeba provést při každé instalaci nebo upgradu nového softwaru v počítači.

Následující kroky popisují způsob ověření, že software správně funguje a nebyl ovlivněn žádnými změnami v počítači.

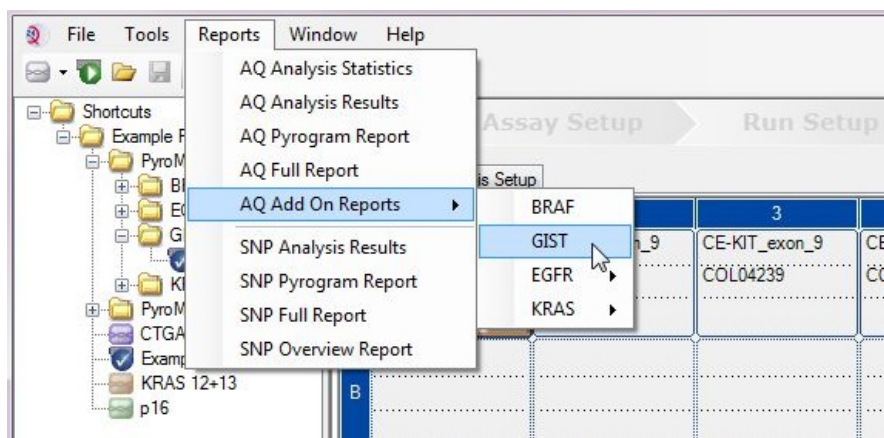
6. V prohlížeči klávesových zkratk otevřete cyklus „GIST Example“ (Příklad GIST) ve složce „Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST“ (Klávesové zkratky/Soubory příkladů/Cykly PyroMark/GIST).
7. Proveďte analýzu „GIST“ pro všechny jamky, jak je popsána v části „Analýza cyklu v systému PyroMark Q24“ dále.
8. Výsledky porovnejte s referenční zprávou. Jsou-li výsledky totožné, je potvrzena správná funkce modulu plug-in.

Analýza cyklu v systému PyroMark Q24

Následující kroky popisují analýzu mutace dokončeného cyklu GIST pomocí modulu plug-in GIST RapidScreen.

1. Zasuňte USB jednotku obsahující vytvořený soubor cyklu do USB portu počítače.
2. Pomocí Průzkumníku Windows® přesuňte soubor cyklu z USB jednotky do požadovaného umístění v počítači.
3. Otevřete soubor cyklu v režimu AQ softwaru PyroMark Q24 buď zvolením možnosti „Open“ (Otevřít) v nabídce „File“ (Soubor) nebo dvojitým kliknutím na soubor (👉) v prohlížeči zkratk.

4. V nabídce „Reports“ vyberte možnost „AQ Add On Reports/GIST“ (obrázek 1).



Obrázek 1. Analýza mutace dokončeného cyklu GIST RapidScreen pomocí modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro

5. V jamkách automaticky proběhne analýza všech mutací uvedených v tabulce 1. Výsledky analýzy KIT exonu 9 a exonu 18 genu PDGFRA se zobrazí v přehledné tabulce (obrázek 2) a následují i podrobné výsledky, které zahrnují grafy Pyrograms® (Pyrogramy) a kvalitu analýzy.

Důležité: V modulu plug-in bude uvedena mutace (tabulka 1), jejíž předpokládaný signál nejlépe odpovídá pozorovanému pyrogramu.

Tabulka 1. Mutace analyzované modulem plug-in GIST RapidScreen Pyro

Substituce nukleové kyseliny	Substituce aminokyseliny	LOB (% jednotek)	LOD (% jednotek)	COSMIC ID* (V70)
KIT exon 9				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
Exon 18 genu PDGFRA				
2525A>T	D842V	0,6	3,6	736
2524G>T	D842Y [§]	0,6	3,6	12396
2524_2535 del12 nebo [†] 2526_2537	del12 D842_H845del nebo [†] I843_D846del [§]	2,2	5,2	737 nebo [†] 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

* Podle Katalogu somatických mutací při nádorových onemocněních (COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) dostupného online na stránkách ústavu Sanger Institute www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

[†] Mutace 2524_2535del12 a 2526_2537del12 mají za následek stejnou změnu nukleové kyseliny.

[‡] Mutace 2526_2538>G a 2524_2526GAC>TAT není možné analyzovat v režimu AQ softwaru PyroMark Q24.

[§] Mutace 2524G>T a 2524_2526 GAC>TAT, respektive 2526_2537 del12 a 2527_2538 del12 mají za následek stejnou změnu aminokyseliny.

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.

Obrázek 2. Příklad přehledu výsledků analýzy modulu plug-in GIST RapidScreen Pyro

Interpretace výsledků a detekce mutací s nízkou úrovní výskytu

Je důrazně doporučeno, aby každý cyklus zahrnoval i vzorek divokého typu pro srovnání a jako kontrolu úrovní v pozadí.

Důležité: Hodnocení kvality „Check“ (Ověřit) nebo „Failed“ (Selhalo) může být vyvoláno neočekávaným uspořádáním píků. Tento jev může poukazovat na přítomnost neočekávané mutace, která není součástí analýzy dané ve zprávě v modulu plug-in. Takové vzorky by se měly analyzovat manuálně pomocí softwaru PyroMark Q24 a s ohledem na možnost přítomnosti neočekávaných mutací. Bližší informace viz příslušná příručka k sadě *therascreen GIST RapidScreen Pyro*.

Důležité: Pyrogram je nutné vždy porovnat s histogramem, který se zobrazí v podrobných výsledcích ve zprávě v modulu plug-in a lze jej zobrazit v softwaru PyroMark Q24 kliknutím pravým tlačítkem myši na okno „Pyrogram“. Pyrogram je nutné zkontrolovat, zda se v něm nevyskytují neočekávané píky. Pokud naměřené píky výškově neodpovídají sloupcům histogramu a tento jev nelze vysvětlit vzácnými nebo neočekávanými mutacemi, není podle výsledku možné posoudit stav mutací. Doporučuje se provést novou analýzu vzorku.

Důležité: Vzorky s hlášenou potenciální mutací s nízkou úrovní výskytu (frekvence v rozmezí LOD až LOD + 3 % jednotek) je třeba analyzovat duplicitně se vzorkem s nemetylovanou kontrolní DNA. V takovém případě se zobrazí upozornění. Vzorek by měl být pokládán za pozitivní na výskyt mutace, jen pokud oba duplikáty potvrdí výsledek původní analýzy a budou zjevně odlišné od normální kontroly. V opačném případě by měl být vzorek posouzen jako divoký typ.

Důležité: K podrobnějšímu prozkoumání vzorků s hlášenou potenciální mutací s nízkou úrovní výskytu doporučujeme provést další analýzu vzorku ručně v softwaru PyroMark Q24, např. pro porovnání s frekvencí této mutace v kontrolním vzorku (podrobné pokyny viz příslušný protokol). Změřená frekvence převyšující LOB v kontrolním vzorku indikuje v odpovídajícím cyklu vyšší než běžnou hladinu pozadí, což může ovlivnit kvantifikaci alel zvláště u mutací s nízkou hladinou. V tomto případě podle hlášených potenciálních mutací s nízkou úrovní výskytu nelze posoudit stav mutací a doporučuje se provést novou analýzu vzorků s potenciální mutací s nízkou úrovní výskytu.

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v příručce uživatele. Příručky a uživatelské návody sady QIAGEN jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com, nebo si je lze vyžádat u Technických služeb QIAGEN nebo svého lokálního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, theascreen® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).
1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena. PROM-8092-002

Objednávky www.qiagen.com/contact | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com