







**EXPLORING LIFE** 

# Erste Schritte





1

Copyright DECODON GmbH. DECODON makes no representations, express or implied, with respect to this documentation or the software it describes, including without limitations, any implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, all of which are expressly disclaimed. Users should recognize that all complex software systems and their documentation contain errors and omissions. DECODON shall not be responsible under any circumstances for providing information on or corrections to errors and omissions discovered at any time in this document or the software it describes, whether or not they are aware of the errors and omissions. DECODON does not recommend the use of the software described in this document for applications in which errors or omissions could threaten life, injury or significant loss.

DECODON, the DECODON logo, Delta2D, SmartVectors are trademarks or registered trademarks of DECODON GmbH in Germany and in several other countries all over the world. The use of general descriptive names, trademarks, etc., in this publication, even if the former are not especially identified, is not to be taken as a sign that such names, as understood by the Trade Marks and Merchandise Marks Act, may accordingly be used by anyone. Where those designations appear in this work and DECODON was aware of a trademark claim, the designations follow the capitalization style used by the manufacturer. Linux is a trademark of Linus Torvalds. Apple, Mac, MacOS, Macintosh are trademarks of Apple Computer, Inc., registered in the U.S. and other countries. JAVA and Solaris are registered trademarks of Sun Microsystems, Inc., 901 San Antonio Road, Palo Alto, CA 94303 USA. Microsoft, WINDOWS, NT, MS PowerPoint, MS Excel, Vista, Windows 7 are registered trademarks of Microsoft Corporation. UNIX is a registered trademark of The Open Group. All other products mentioned are trademarks or registered trademarks of their respective companies. Some software products marketed by DECODON GmbH and its distributors may contain proprietary software components of other software vendors.



#### Sie analysieren Ihre Gelbilder in nur 5 Schritten

#### Setup Project

Erstellen Sie herkömmliche oder multiplex Projekte (z.B. Refraction-2D oder DIGE). Importieren Sie Ihre Gelbilder und ordnen Replikate in Gruppen an.



#### 2 Warp Images

Verwenden Sie eine Warping Strategie, nutzen Delta2Ds automatisches Warping und kontrollieren Sie die Warpings.



#### **Detect and Quantify Spots**

Erzeugen Sie ein einheitliches Spotmuster für Ihr gesamtes Projekt.



#### Analyze Expression Profiles

Finden Sie interessante Spots.



#### Present Results

Exportieren Sie Ihre Ergebnisse in andere Anwendungen zur Präsentation oder für weiterführende Analysen.

#### Anmerkung: -

Sofern Sie es noch nicht getan haben, laden Sie bitte die Beispieldaten von www.decodon.com/delta2d-getting-started.html herunter. Entpacken Sie das Archiv. Es enthält folgende Gelbilder und die Matchmaps für das Warping:

Bilddatei	Farbstoff	Gel	Probe	Gruppe
Gel1_Cy2.gel	Су 2	Gel 1	Interner Standard, Gel 1	Standard
Gel1_Cy3.gel	Су З	Gel 1	Probe A, Replikat 1	Sample A
Gel1_Cy5.gel	Су 5	Gel 1	Sample B, Replikat 1	Sample B
Gel2_Cy2.gel	Су 2	Gel 2	Interner Standard, Gel 2	Standard
Gel2_Cy3.gel	Су З	Gel 2	Probe A, Replikat 2	Sample A
Gel2_Cy5.gel	Су 5	Gel 2	Probe B, Replikat 2	Sample B
Gel3_Cy2.gel	Су 2	Gel 3	Interner Standard, Gel 3	Standard
Gel3_Cy3.gel	Су З	Gel 3	Probe A, Replikat 3	Sample A
Gel3_Cy5.gel	Су 5	Gel 3	Probe B, Replikat 3	Sample B

Wir danken Dr. Maria Zellner und Prof. Dr. Rudolf Oehler (Medical University of Vienna) für die Bilder.







2



#### Einen neuen Pool erstellen

- 1. Klicken Sie auf den Button 'Change Pool' und suchen Sie ein Verzeichnis für Ihren neuen Pool aus.
- 2. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf dieses Verzeichnis und wählen Sie 'Neuer Ordner'. Geben Sie dem Ordner einen Namen Ihrer Wahl.
- 3. Klicken Sie nun auf 🚾 und bestätigen Sie den folgenden Dialog mit 📧.

#### Ein neues Projekt erstellen

Der Dialog 'Projects' erscheint wieder und zeigt die noch leere Liste mit Projekten.

- 1. Klicken Sie auf den Button, um ein neues Projekt zu erstellen.
- 2. Geben Sie einen Namen für Ihr neues Projekt an und aktivieren die Option "Use Internal Standard". Bestätigen Sie mit **OK**.
- 3. Wählen Sie Ihr neues Projekt aus der Liste aus und klicken Sie auf Open.



Delta2Ds Projects Dialog.

#### Gruppen für die Gelbilder anlegen

Wir werden nun *drei Gruppen* für das Experiment anlegen – eine für jedes Replikatpaar und eine für die Standardbilder. Wir verwenden zunächst die beiden Gruppen, die Sie schon im Light Table sehen sollten:

1. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die erste Gruppe und wählen Sie 'Properties' aus dem Kontextmenü.



3

- 2. Ersetzen Sie den Gruppennamen durch *'Sample A'*, wählen Sie ggf. eine andere Farbe und bestätigen die Eingaben mit **•**.
- 3. Wiederholen Sie die Schritte 1 und 2 mit dem Namen 'Sample B für die zweite Gruppe.



Delta2Ds 'Workflow' und 'Light Table' - für ein noch leeres Projekt.

Erzeugen Sie eine neue Gruppe mit dem Namen 'Internal Standard', indem Sie im Workflow auf den Link 'Add a new group...' klicken.

#### Gelbilder zu Ihrem Projekt hinzufügen

Name	Description

Delta2Ds Gel Import Manager.

- 1. Klicken Sie im Workflow neben der Gruppe *Sample A* auf 'Add...'.
- Klicken Sie auf Import Images . Wählen Sie die Bilder 'Gel1\_Cy3', 'Gel2\_Cy3', 'Gel3\_Cy3' aus den Beispieldaten, indem Sie die Strg-Taste gedrückt halten. Wählen Sie Next.
- 3. Nun können Sie den Namen und Zusatzinformationen editieren sowie grundlegende Operationen wie Drehen, Invertieren oder Filtern von Sprenkeln durchführen. Klicken Sie nochmals auf





5



4. Klicken Sie auf Finish, um die Anpassungen zu übernehmen und diesen Dialog zu schließen.

Importieren Sie die Bilder Gel1\_Cy5, Gel2\_Cy5 und Gel3\_Cy5 sowie Gel1\_Cy2, Gel2\_Cy2 und Gel3\_Cy2 ebenso in die entsprechenden Gruppen.

#### Zuordnen der Gelbilder zu Gelen und Festlegen der Standardbilder

- 1. Klicken SIe im Schritt 'Setup Project' auf den Eintrag 'Gel Image Attributes'. Wählen Sie den 'Gel' Tabulator. Sie sehen eine Liste von Gelnamen und die Bilder von jedem Gel. Benennen Sie die Gele um oder klicken Sie auf , um neue Gele anzulegen. Ordnen Sie die Gelbilder den Gelen durch Ziehen und Ablegen zu.
- 2. Unterhalb jeden Geles sehen Sie vor den Gelbildern Auswahlknöpfe. Wählen Sie jeweils das Bild aus, das den internen Standard beinhaltet (normalerweise ist es das Cy2 Bild).

🔾 Gel Image Attributes			×
Gel Sample Channel			
Project	Gel	Sample Channel	
My First DIGE Project			
□ □ I □ □ Gel1 Cy3 □ Gel1 Cy5 ③ □ Gel1 STANDARD CY2		A Cy3 B Cy5 Internal Cy2	
Gel2 Cy3 Gel2 Cy5 Gel2 STANDARD CY2		A Cy3 B Cy5 Internal Cy2	
Gel3 Cy3     Gel3 Cy5     Gel3 Cy5     Gel3 Cy5     Gel3 Cy5     Gel3 Cy5		□ A □ Cy3 □ B □ Cy5 □ Internal □ Cy2	
		OK	Cancel

Der Gel Image Attributes Dialog zeigt die Zuordnung der Gelbilder und identifizierten internen Standardbilder (aktivierte Auswahlknöpfe).







Zwei Gelbilder als Falschfarbenbild, ungewarpt.



Zwei Gelbilder als Falschfarbenbild, nach dem Warping. Unterschiede im Expressionsniveau sind klar erkennbar.

#### Definieren einer Warping Strategy

- 1. Öffnen Sie den zweiten 'Workflow'-Schritt 'Warp Images'.
- 2. Klicken Sie den Link 'Warp Strategy...' zum Öffnen des 'Warping Strategy Manager'.
- **3.** Wählen Sie die **'In-Gel Standard Warping Strategy'** und bestätigen Sie die Standardeinstellungen mit **EX**.

O Warping Strategy	×
Select warping strategy	
In-Gel Standard Warping Strategy	•
In-Gel Standard Warping	
Strategy	
Warp each standard image	
to the first standard image.	
Other images are warped	الوصلحي الوصلحي الوصلح
to the standard image from	
Warp Mode Within Gels	
Identical	
Warp Mode Between In-Gel Standards	
Automatic	
If spots are shifted across the image by mass differences between the dy	s from the same gel (e.g. caused es), choose "automatic" for
warpings within the same gel.	
-	
	OK Cancel

Delta2D's Warping Strategy Manager.

**4.** Öffnen Sie **'Warping Setup'**, indem Sie den Link 'Setup direct warpings' im Workflow anklicken. Es sollte etwa aussehen wie das folgende Bild:





## Erste Schritte



Fenster Warping Setup nach Anwendung der In-Gel Standard Warping Strategy.

#### Verwenden des automatischen Warping in Delta2D

- 1. Klicken Sie auf den Link 'Job Manager'.
- **2.** Betätigen Sie einfach den '**Start**' Knopf ▶ im '**Job Manager**'. Alle automatischen Warpings werden durchgeführt und dargestellt.

#### Ergebnisse verifizieren

Review direct warp	oings			
1st Image	2nd Image		Status	Approve
Gel1 Cy3	Gel1 STANDARD CY2	0	ок	
Gel1 Cy5	Gel1 STANDARD CY2	0	ок	
Gel2 Cy3	Gel2 STANDARD CY2	0	ОК	
Gel2 Cy5	Gel2 STANDARD CY2	0	ок	
Gel1 STANDARD CY2	Gel2 STANDARD CY2	0	ок	

Kontrolle der direkten Warpings (Schritt 2 des Workflow).

- Klicken Sie doppelt auf einer Zeile in der Tabelle unterhalb von 'Review Direct Warpings', in der Sie das Symbol finden.
- **2.** Ein **'Dual View'** Fenster wird geöffnet und zeigt das Falschfarbenbild des entsprechenden Gelbildpaares.
- Prüfen Sie mit Hilfe des 'Show/Hide Background' Knopfes (
   Symbolleiste, ob der Hintergrund ausgeblendet wurde.



#### Anmerkung: -

Aktivieren Sie das Match Vector Tool (oberster Knopf der vertikalen Werkzeugleiste der Dual View), um mit Matchvektoren zu arbeiten.

Schalten Sie die "Snap Match Vectors To Spots"-Funktion an, um sich die Arbeit zu erleichtern. Das ist über 'Tools' > 'Options' > 'Delta2D' > 'Match Vectors' möglich. Sie können dieses Verhalten vorübergehend durch gedrückte Strg-Taste abschalten.

Wenn Sie Bildbereiche sehen, in denen *Matchvektoren falsch zu sein scheinen*, können Sie dort Matchvektoren von Hand setzen oder verändern:

- Auswählen eines Vektors klicken Sie mit links auf den Vektor.
- Auswählen vieler Vektoren ziehen Sie mit der Maus ein Rechteck (die linke Maustaste gedrückt halten). Alle Vektoren innerhalb des Rechtecks werden ausgewählt.
- Löschen eines Vektors Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf einen Vektor und wählen 'Delete' oder 'Delete Selected'.
- Setzen eines neuen Vektors klicken Sie zuerst auf den Spot im orangefarbenen, dann auf den korrespondierenden Spot im blauen Bild.
- Einen Vektor verändern ziehen Sie ein Ende des Vektors an seine neue Position.

#### Anmerkung: -

Sie können Matchvektor-Operationen durch drücken des 'Undo' 🎦 Knopf rückgängig machen.

Drücken Sie den <sup>Warp</sup> Knopf um Ihre neuen Matchvektoren anzuwenden. Sie können Matchvektoren iterativ ergänzen, korrigieren oder löschen, bis Sie mit dem Ergebnis zufrieden sind.









#### **Detect and Quantify Spots**

#### Ein Fusionsbild erzeugen

- 1. Öffnen Sie den Workflow-Schritt 'Detect and Quantify Spots' und klicken auf den Link 'Fuse all images', um den 'Image Fusion' Dialog zu öffnen.
- 2. Schließen Sie die Standardbilder (typischerweise Cy2) von der Fusion aus.
- **3.** Klicken Sie auf <sup>Fuse</sup> um Delta2D mit den Standardeinstellungen ein Fusionsbild erstellen zu lassen.

#### Detektion der Spots auf dem Fusionsbild

- 1. Klicken Sie auf den Link 'Detect Spots on Fused Image...' im Workflow.
- **2.** Im folgenden Dialog benutzen Sie die Standard-Einstellungen durch Drücken von **EX**. Nach Beenden der Spotdetektion erscheinen die Spotumrisse auf dem Fusionsbild.

#### Editieren von Spots auf dem Fusionsbild

- 1. Öffnen Sie das Fusionsbild durch klicken auf den Link 'Open Fused Image using Union...' im Workflow.
- 2. Ein 'Dual View' Fenster wird geöffnet und zeigt das Fusionsbild.

Anmerkung : -

Aktivieren Sie das 'Spot Editing Tool' (vierter Knopf der vertikalen Werkzeugleiste der Dual View) zum Editieren von Spots.

Wir empfehlen nachdrücklich, Spots NUR AUF DEM FUSIONSBILD zu detektieren und zu editieren.

#### Neue Spots hinzufügen



Bildregion vor / nach dem Hinzufügen eines Spots. (Klicken Sie einfach in das Zentrum eines nichtdetektierten Spots.)

Spots vereinen



Beispiel eines vereinten Spots. (Ziehen Sie eine Linie von einem Spotzentrum zum anderen.)



Spots trennen

Zwei Spots, als einer detektiert und getrennt. (Klicken Sie einmal in das Zentrum des nicht abgetrennten Spots).





#### Verschieben von Spot-Markern

Spot-Marker können mit gedrückter linker Maustaste bewegt werden.

#### Löschen von Spot-Markern

Zum Löschen eines Spot-Markers klicken Sie mit der rechten Maustaste darauf.



#### Spots entfernen

1. Aktivieren Sie das 'Spot Selection Tool' und klicken auf einen oder mehrere Spots.

2. Klicken Sie mit rechts und wählen 'Cancel Spot' / 'Cancel Selected Spots'.

Wenn Sie gelöschte Spots mit gepunkteten Spotumrissen anzeigen möchten, wählen Sie 'Spots'  $\rightarrow$  'Show Canceled Spots' im Menü der Dual View.

#### Spotumrisse transferieren

- 1. Wählen Sie im Workflow-Schritt 'Detect and Quantify Spots' den Link 'Transfer Spots from Fused Image...'.
- 2. Der 'Transfer Spots' Dialog öffnet sich. Bestätigen Sie die Standardparameter mit 🔍.



Spotumrisse nach dem Spottransfer. Wählen Sie den Link 'Gel Image Regions' im Workflow, um diese Ansicht zu öffnen. Das Spotmuster ist auf allen Gelbildern gleich, was zu einem 100%igen Spotmatching führt.





utiplex 2Dr



#### Filtern von interessanten Expressionsprofilen

Anmerkung:

Die Quantitätstabelle ist mit den anderen Fenstern in Delta2D synchronisiert. Wählen Sie ein Expressionsprofil in der Tabelle aus, wird der zugehörige Spot in der Dual View selektiert.





Wir möchten nun zweifach hoch- oder runterregulierte Spots finden:

**1.** Öffnen Sie die **'Quantitation Table'** und wechseln Sie dort zur **'Statistics'** Ansicht.

 Suchen Sie die Spalte 'Ratio of mean normalized volume 'Sample B' / mean normalized volume 'Sample A''.
 Klicken Sie im Spaltenkopf auf 'Filter'.

**4.** Fügen Sie die Filtergrenzen **'Show** values from' '0.5' und **'to'** '2' ein.

- **5.** Das Feld **'Filter active'** wird automatisch angekreuzt. Kreuzen Sie zusätzlich das Feld **'Negated'** an. Hierdurch wird der Text der Filtergrenzen zu **'Hide values from'** '0.5' und **'to'** '2' geändert. Bestätigen Sie mit or.
- **6.** Öffnen Sie die **'Dual View'** mit den beiden Bildern ' Gel1\_Cy3' und ' Gel1\_Cy5'. Nur die Spotumrisse der Spots, die das Filterkriterium erfüllen, sind noch sichtbar.

#### Erweiterte Statistische Auswertungen

Delta2D beinhaltet fortgeschrittene Methoden und multivariate statistische Verfahren für die Auswertung von 2D-Gelbildern, u.a.:

- Heat map Anzeige von Expr.-Profilen
- Verschiedene Clusterverfahren, u.a.
   Hierarchical Clustering, k-means / medians Clustering
- verschiedene t-Test Varianten
- Analysis of Variance (ANOVA)
- Nichparametrische Tests, inkl. Wilcoxon / Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Mack-Skillings, und Fisher-Exact Test
- Pavlidis Template Matching für Expressionsprofile und Gelbilder (PTM)
   Principal Component Applyric (PCA)
- Principal Component Analysis (PCA)

#### Anmerkung: -

Das Beispielprojekt ist mit nur je zwei Replikaten zu klein, um statistischen Ergebnissen zu vertrauen. Dennoch hilft es, die statistische Auswertung in Delta2D zu verstehen.



#### Heatmaps bieten einen visuellen Überblick über die Expressionsprofile



Heatmap für das Beispielprojekt.

- Drücken Sie den Knopf in der Symbolleiste. Wählen Sie 'Gene Tree', 'Euclidian Distance' und 'Complete Linkage'.
- 2. Bestätigen Sie mit 📴.

Der Baum zeigt Ähnlichkeiten zwischen Expressionsprofilen.

Wenn Sie dasselbe für **'Sample Tree'** durchführen, sollten Replikatbilder in derselben Gruppe zu finden sein. Falls das nicht der Fall ist, deutet das auf Ausreißer in Ihrem Projekt hin. Möglicherweise ist ein Bild aufgrund der experimentellen Variation sehr verschieden von den anderen Gelbildern. Sie sollten dann prüfen, ob Sie es besser von der weiteren Analyse Wählen Sie im Workflow-Schritt 'Analyze Expression Profiles' den Link 'Analysis'.

Die Legende über der Heatmap zeigt die Farbe für die Spotintensitäten. Jede Spalte enthält die Daten eines bestimmten Gelbildes, jede Zeile die Daten eines Expressionprofiles über die Bilder Ihres Projektes (sofern nicht verborgen wie das Fusionsbild). Die normalisierten Quantitäten werden automatisch standardisiert.

### Ähnliche Verläufe in Expressionprofilen finden



Hierarchical Clustering über die Expressionsprofile.

ausschließen (wie Sie das Fusionsbild verborgen haben, dann die Analyse neu starten).





#### Differentiell exprimierte Proteinspots finden: Statistische Tests

Shanna									TTEST: T-	est								
2 day	MeV	for	Delta2D						200	MeV for		Delta2	D					
One Class	Betwee	en subje	ects Paired						One Class	Between sub	ects Paired							
Button Sel	lection	Cluster S	Selection						Button Sele	tion Cluster	Selection							
Sample	Cluster	s	,						- Sample C	lusters								
Seri	Source	Factor	Clus Cluster Label	Rem	Size	Color	Group Assignment		Serial #	Source	Factor	Cluster	Cluster Label	Remarks	Size	Color	Group Assignment	
1	Group	Gel I	GroupSample A		3		Group 1 👻	· _	1	Group	Gel Imag	Group/Sa.	Sample A		3		Group 1	•
2	Group	Gel I	. Group Sample B		3		Group 2 👻	•	2	Group	Gel Imag	. Group/Sa	Sample B		3		Group 2	•
Churcher			. P.				-		2	Samula	Gel Iman	Samnle/A	۵		3		Unassigned	_
cluster	Label: 3	sample	в	10 10			lander the		-Cluster La	abel: Sampl	e B							
Default S	lide Nam	e	Group	Group [0	Gel Image]		Gel Image [Group]		Default Sic	le Name		Group		Group [Gel Ima	ige]		Gel Image [Group]	
Gel1 Cy5			Sample B	Sample B	[Gel1 Cy5	5]	Gel1 Cy5 [Sample B]		Gel1 Cy5		s	ample B		Sample B [Gel1	Cy5]	0	Sel1 Cy5 [Sample B]	
Gel2 Cy5			Sample B	Sample B	[Gel2 Cy5	5	Gel2 Cy5 [Sample B]		Gel2 Cy5		s	ample B		Sample B [Gel2	Cy5]	0	Sel2 Cy5 [Sample B]	
Variance A P-Value	ssumptio	n P-Vai	alue Parameters P-Value/ F	alse Discover	y Correcti	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass	umption P-	alue Paramet	ers P-Value,	/ False Discovery Corr	ections Hierarc	hical Clusteri	ing		
Variance A P-Value	ssumption Paramo	eters	alue Parameters P-Value/ F	alse Discover	y Correcti	ons Hie	erarchical Clustering		Variance As: - p-value / f	umption P- alse discov	'alue Paramel ery correcti	ers P-Value, ons	/ False Discovery Corr	ections Hierarc	hical Clusteri	ing		
/ariance A P-Value	ssumption Paramentes based	n P-Va eters d on t-dis	alue Parameters P-Value/ F	alse Discover	y Correcti	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass	umption P- alse discov just alpha (no	alue Paramet ary correcti correction)	ers P-Value, ons	/ False Discovery Corr standard Bonfer	ections Hierard	hical Clusteri	ing () adj	usted Bonferroni correct	tion
Variance A P-Value () p-valu () p-valu	es based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 20	alse Discover ) unique perm	y Correcti nutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass - p-value / f	umption P- alse discov iust alpha (no	alue Paramet ery correcti correction) Step-di	ers P-Value, ons	/ False Discovery Corr ) standard Bonfer and Young methods (f	ections Hierard roni correction or permutations	hical Clusteri only): 🔘 m	ing Oadj inP Om	usted Bonferroni correct	tion
/ariance A P-Value () p-valu () p-valu	es based	eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/ F stribution mutation: There are 20	alse Discover ) unique perm	y Correcti nutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance As: - p-value / f - False dis	umption P- alse discov ust alpha (no covery con	alue Paramet ery correcti correction) Step-di trol (permut	ers P-Value, ons own Westfall ations only)	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f	ections Hierard	hical Clusteri only): 🔘 m	ing ) adj inP () m	usted Bonferroni correct	tion
/ariance A P-Value () p-valu () p-valu	es based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 2	alse Discover ) unique perm	y Correctinutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass - p-value / f - False dis With confid	umption P- alse discov iust alpha (no covery con ence of [1 - i	alue Paramet ery correction) Step-di trol (permut lpha] :	ers P-Value, ons own Westfall ations only)	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f	ections Hierarc	nical Clusteri only): 🔵 m	ing ⑦ adj inP ⑦ m	usted Bonferroni correct	tion
Variance A P-Value () p-valu () p-valu	ssumption Paramonies based lies based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 2	alse Discover ) unique perm oup samples	y Correctinutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass -p-value / f -False dis Wth confic	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - a @ ET	(alue Paramet ery correction) Step-di trol (permut lpha] : HER, The nur	vers P-Value, ons own Westfall ations only)	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f significant genes shou	roni correction or permutations Id not exceed 1	nical Clusteri only): _ m 0	ing () adj in <sup>p</sup> () m	usted Bonferroni correct	tion
Variance A P-Value p-valu p-valu	ssumptic Parame les based les based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	stribution mutation: There are 20 @ Randomly gr	alse Discover ) unique perm oup samples	y Correcti nutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass -p-value / f -False dis Wth confic	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - 1 @ ET @ C	ralue Paramet ery correction) Step-di trol (permut lpha] : HER, The nur R, The propo	ers P-Value, ons own Westfall ations only) nber of false rtion of false	/False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f significant genes shou significant genes shou	ections Hierarc roni correction or permutations Id not exceed 1 Id not exceed 0	nical Clusteri only): () m 0 .05	ing ⑦ adj inP ⑦ m	usted Bonferroni correct	tion
Variance A P-Value () p-valu () p-valu	essumption Parame les based les based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 21 @ Randomly gr © Use all permutatio	alse Discover ) unique perm oup samples ns	y Correctinutations	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass - p-value / f - False dis With confice	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - : @ ET O C @ Fe	(alue Paramet ery correction) Step-di trol (permut (pha] : HER, The nur R, The propo st approximal	ers P-Value, ons own Westfall ations only ober of false rtion of false ion (but poss	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f ) significant genes shou significant genes shou biy conservative)	ections Hierarc roni correction or permutations id not exceed 1 id not exceed 0	hical Clusteri only): m 0 .05 © C	ing or adj inP or m omplete co	usted Bonferroni correct	tion
Variance A P-Value p-valu p-valu p-valu Overall alp	issumptio Paramo les based les based	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 20 @ Randomly gr @ Use all permutatio ue): 0.01	alse Discover ) unique perm pup samples ns	y Corrections	ons Hie	erarchical Clustering		Variance Ass - p-value / f - False dis With confid	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - i @ ET @ C @ Fa	(alue Paramet ary correction) Step-di trol (permut lpha] : HER, The nur R, The propo st approximat	ens P-Value, ons own Westfall ations only other of false trion of false ion (but poss	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f significant genes shou significant genes shou biy conservative) lculate adjusted p valu	ections Hierarc roni correction or permutations id not exceed 1 id not exceed 0 es for false disc	hical Clusteri only): m 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	ing adj inP  m complete co i	usted Bonferroni correct axT omputation (possibly slov	tion w)
Variance A P-Value © p-valu © p-valu Overall alp	issumption Paramo les based les based ha (critic	n P-Va eters d on t-dis d on perm	alue Parameters   p-Value/F stribution mutation: There are 20 @ Randomly gr @ Use all permutatio ue): 0.01	alse Discover ) unique perm pup samples	y Corrections	ons Hie	erarchical Clustering		Variance As: - p-value / f © : - False dis With confid	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - 1 @ ET @ C @ Fa	alue Paramet ary correction) Step-di trol (permut lipha] : HER, The num R, The propo st approximat	ers P-Value, ons own Westfall ations only) nber of false rtion of false ion (but poss Ca	/ False Discovery Corr standard Bonfer and Young methods (f ) significant genes shou bity conservative) kulate adjusted p vak	ections Herarc roni correction or permutations id not exceed 1 id not exceed 0 es for false disco	only): m 0 .05 covery contro	ing adj	usted Bonferroni correct axT omputation (possibly slov	tion (vv)
Variance A P-Value © p-valu © p-valu Overall alp	issumptio Paramo les based les based les based	n P-Va eters d on t-dis d on perm al p-valu	alue Parameters P-Value/F stribution mutation: There are 20 @ Randomly gr @ Use all permutatio ue): 0.01	alse Discover ) unique perm oup samples ns	y Corrections	ons Hie	es		Variance Ass - p-value / f - False dis With confic	umption P- alse discov ust alpha (no covery con ence of [1 - : @ ET @ ET @ Fe	alue Paramel ary correction) Step-di trol (permut lipha] : HER, The num R, The propo st approximat	ers P-Value, ons own Westfall ations only) mber of false rtion of false ion (but poss Ca	/ False Discovery Corr o standard Bonfer and Young methods (f ) significant genes shou significant genes shou biy conservative) iculate adjusted p valu	roni correction or permutations id not exceed 1 d not exceed 0 es for false doc	only): m 0 0.05 0 covery contro	ing adj	usted Bonferroni correct axT mputation (possibly slov	tion (w)



- 1. Klicken Sie auf den Knopf 🚟.
- 2. Wählen Sie 'p-values based on permutations' (erster roter Pfeil).
- 3. Im Bereich 'False discovery control' des Dialogs steuern Sie die zulässige Zahl der falsch-positiven Spot, indem Sie einen Wert entweder für 'number of false positive genes should not exceed' oder für 'proportion of false positive genes should not exceed' festlegen (zweiter roter Pfeil).
- **4.** Bestätigen Sie mit **1**, um eine Heatmap der signifikant veränderten Spots zu sehen.

#### Anmerkung: -

Delta2D bietet noch viele weitere Verfahren für die statistische Auswertung. Lesen Sie dazu bitte in den Handbüchern zu Delta2D und TMeV weiter oder schreiben Sie eine Nachricht an support@decodon.com mit der Bitte um eine Webdemo.





#### **Present Results**

#### Interaktive HTML-Berichte erstellen

Wählen Sie im Menü 'Reports' einen der folgenden Berichte:



Project Summary



Spot Quantities



Labels

Allgemeine Infor-	Informationen zu selektierten	/ markierten	Listen aller Labels
mationen zu	Spots. Klicken Sie auf das Säu	lendiagramm	oder derjenigen für
Proben, Gruppen,	/ Spot ID um den Spot in	Delta2D zu	selektierte / markierte
Gelbildern, etc.	selektieren und einen	speziellen	Spots incl. Scout
	Unterbericht zu öffnen.		Daten.
Anmerkung: ——			

Um Spots zu markieren, wählen Sie im Menü der Quantitätstabelle 'Mark' > 'Mark selected spots' oder klicken Sie in der Dual View mit der rechten Maustaste auf selektierte Spots und wählen 'Mark spot'.

#### Tabellen nach MS Excel exportieren

- 1. Öffnen Sie die 'Quantitation Table'.
- 2. Wählen Sie im Menü 'Export' > 'Export to Excel'.

#### Exportieren von Bildern nach MS Powerpoint

- 1. Öffnen Sie die 'Dual View' für ein beliebiges Gelbildpaar.
- 2. Wählen Sie im Menü 'Export' > 'Export to PowerPoint' und bestätigen Sie mit 🔍 .
- **3.** Folgen Sie der in MS PowerPoint angezeigten Anweisung, um eine Folie zu erstellen.

#### Anmerkung: -

Für den Export nach MS Excel oder MS Powerpoint müssen Makros aktiviert werden. D.h. die Sicherheitsstufe für Makros sollte 'Mittel' oder geringer sein.

#### Picklisten exportieren

- 1. Öffnen Sie die 'Dual View' für ein beliebiges Gelbildpaar.
- 2. Wählen Sie im Menü 'Export' > 'Export Picklists', anschließend den Spotpicker und das Gel, von dem Sie Picken möchten.
- **3.** Bestätigen Sie mit **OK**.









#### Wo kann ich mehr über Delta2D erfahren?

Sie besuchen am besten unsere Website <u>http://www.decodon.com</u> oder kontaktieren Sie uns unter <u>support@decodon.com</u>. Wir werden Ihnen gerne alle Fragen beantworten und Sie auch gerne in einer Webdemo live unterstützen.

#### Anmerkung: -

Wenn Sie detailliertere Informationen zu Delta2D benötigen, sehen Sie sich bitte auch das Delta2D Manual an. Es kann in Delta2D über das Menü 'Help' > 'Help ...' aufgerufen werden und befindet sich auch als PDF Datei im Installationsverzeichnis. Unter Windows gibt es zusätzlich einen direkten Link zum Manual über das Start-Menü. Zudem finden Sie das Manual auf unserer Website zum Herunterladen oder auch als Online-Version!

Ihr DECODON Team



Wenn Sie Vorschläge oder Kommentare zu diesem Leitfaden **'Erste Schritte mit Delta2D'** oder zu unseren anderen Dokumenten haben, würden wir uns freuen, von Ihnen zu hören.



# Delta2D

#### DECODON



#### Request you personal demo today!

Want to know more? Contact us today to arrange your personal live web demo. All you need is a web browser and a phone – an expert will show you how you can apply Delta2D to your specific 2D gel analysis needs.

You can download an evaluation version of Delta2D from www.decodon.com. Your questions and remarks are welcome, call us at +49 3834 515230 or send an email to info@decodon.com.

#### **Technical data:**

Supported image file formats: Delta2D supports virtually all calibrated and uncalibrated image file formats on the market today, including tiff (8 bit, 12 bit, 16 bit), IMG (Fuji, GE), GEL (GE), JPEG, BMP,

GIF, PNG, PNM.

Supported Protein Labels and Stainings: Delta2D supports virtually all protein labels and stainings, including Silver, Coomassie, Colloidal Coomassie, Sypro Ruby, Flamingo, Krypton, LavaPurple, Diamond ProQ, Emerald ProQ, Cy-Dyes, G-Dyes, radioactive labels etc.

Supported Spot Picking Devices: Delta2D supports spot pickers from Molecular Dynamics, Genomic Solutions, Bruker, GE and others. Please contact DECODON for details.

Supported Operating Systems (\*recommended): Delta2D runs on Windows NT / 2000 / XP / Vista / 7\* / 8 at 32 or 64\* bit, Mac OS X 10.3 (Panther) / 10.4 (Tiger) / 10.5 (Leopard) / 10.6 (Snow Leopard) / 10.7 (Lion) / 10.8\* (Mountain Lion) and most flavours of 32 bit or 64 bit\* Linux.

#### Hardware Requirements:

Minimum Hardware: Pentium III, 800 MHz, 2 GB RAM or Power Mac G4, 2 GB **Recommended Hardware:** Dual or Quad Core Processor with 2 GHz or better, 4 GB RAM, in combination with a 64-Bit operating system

#### **Copyright and Trademarks**

All material in this brochure is Copyright ©DECODON GmbH. All Rights Reserved. DECODON, DECODON logo, and Delta2D are trademarks or registered trademarks of DECODON GmbH in Germany and in several other countries all over the world. All other products mentioned are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

Delta2D Getting Started DIGE Document version 45\_001.

## DECO

**DECODON GmbH** Walther-Rathenau-Str. 49a 17489 Greifswald, Germany

www.decodon.com info@decodon.com phone: +49(0)3834 515230 fax: +49(0)3834 515239

