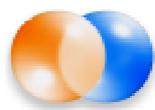


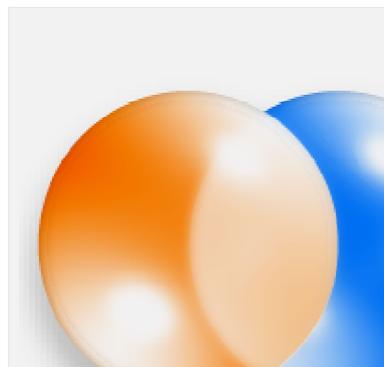
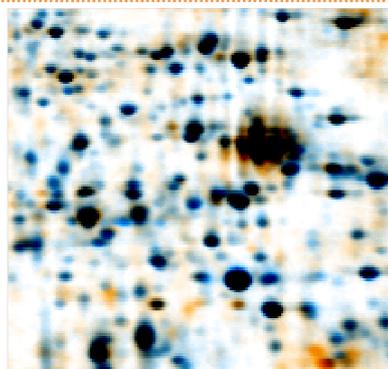
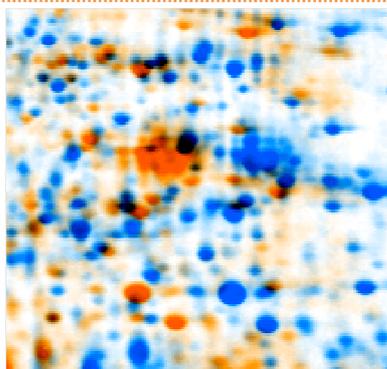
Erste Schritte

Deutsch



Delta2D

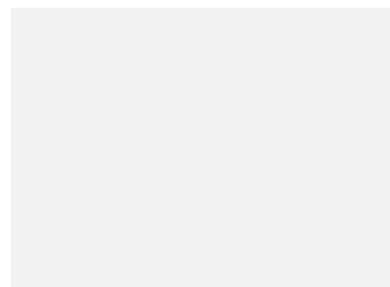
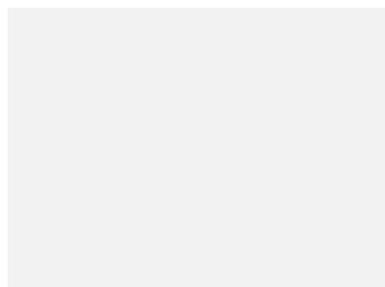
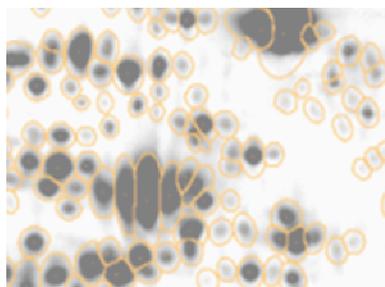
ANALYZING 2D GELS
AS EASY AS POINT AND CLICK





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

1 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 Warming Strategie, nutzen Delta2Ds automatisches Warming und kontrollieren Sie die Warpings.

3 Detect and Quantify Spots

Erzeugen Sie ein einheitliches Spotmuster für Ihr gesamtes Projekt.

4 Analyze Expression Profiles

Finden Sie interessante Spots.

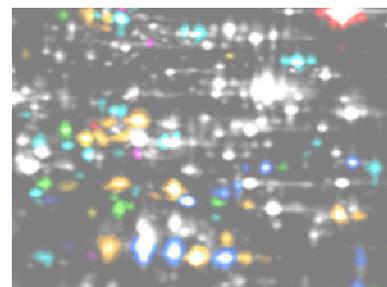
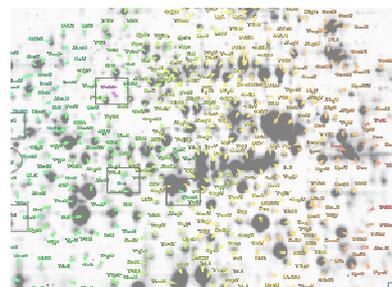
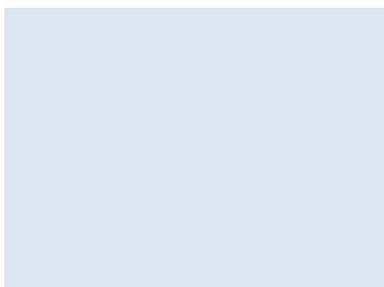
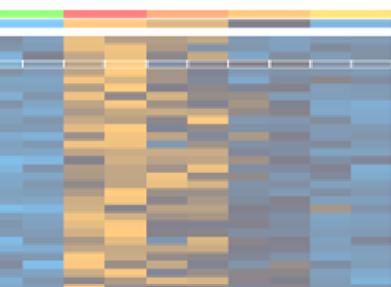
5 Present Results

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 Warming:

Gruppe	Bilddatei (zwei Replikate je Gruppe)
control	control_01.gel, control_02.gel
1 min	1min_01.gel, 1min_02.gel
10 min	10min_01.gel, 10min_02.gel





1 Setup Project

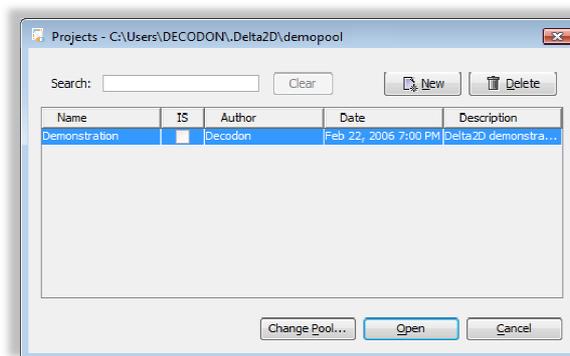
Einen neuen Pool erstellen

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 bestätigen Sie mit .
3. Wählen Sie Ihr neues Projekt aus der Liste aus und klicken Sie auf .

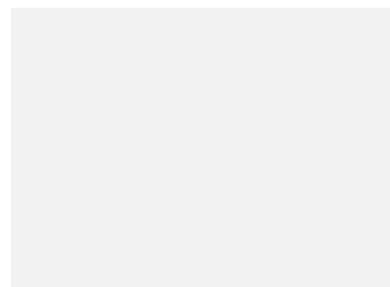
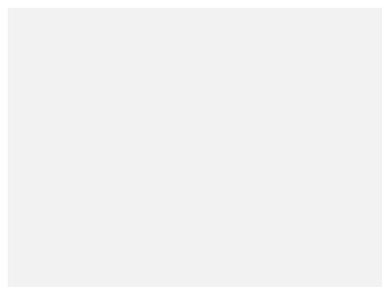
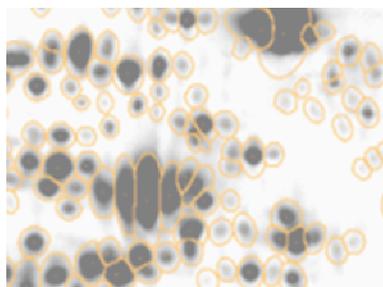


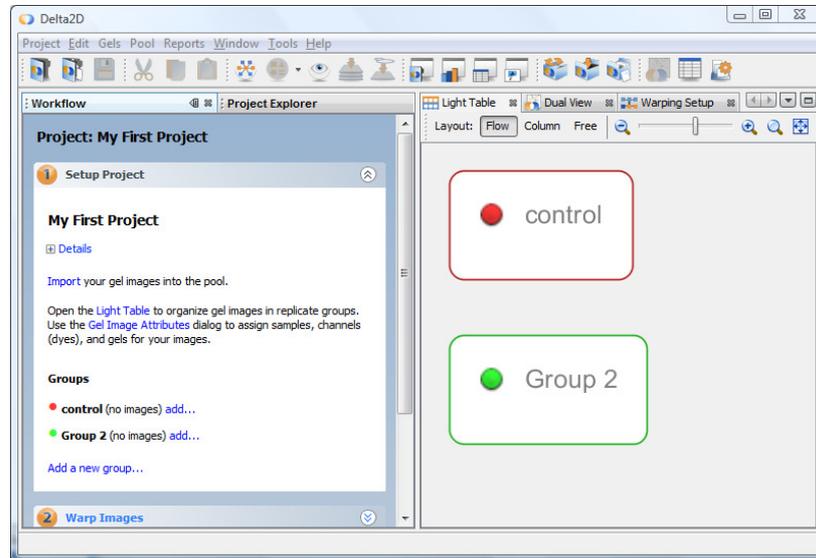
Delta2Ds Projects Dialog.

Gruppen für die Gelbilder anlegen

Wir werden nun *drei Gruppen* für das Experiment anlegen – eine für jedes Replikatpaar. 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.
2. Ersetzen Sie den Gruppennamen durch '**control**', wählen Sie ggf. eine andere Farbe und bestätigen die Eingaben mit .
3. Wiederholen Sie die Schritte 1 und 2 mit dem Namen '**1min**' für die zweite Gruppe.

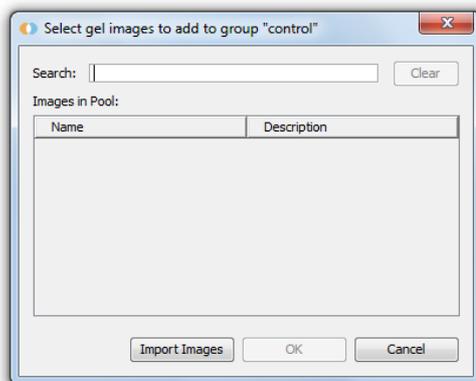




Delta2Ds 'Workflow' und 'Light Table' – für ein noch leeres Projekt.

Erzeugen Sie eine neue Gruppe mit dem Namen **'10min'**, indem Sie im Workflow auf den Link **'Add a new group...'** klicken.

Gelbilder zu Ihrem Projekt hinzufügen

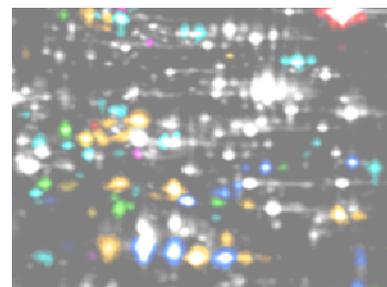
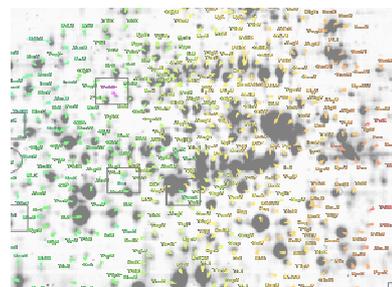
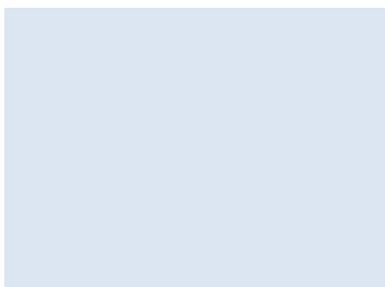
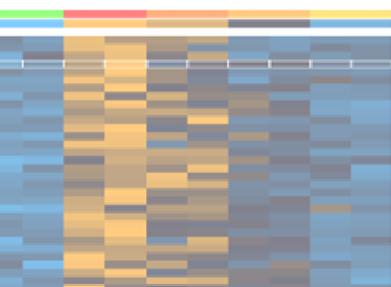


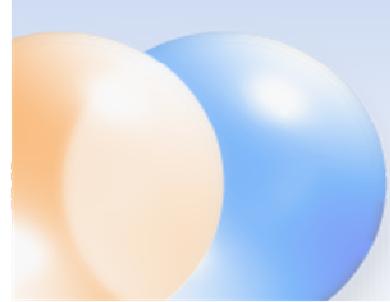
Delta2Ds Gel Import Manager.

1. Klicken Sie im Workflow neben der Gruppe **control** auf **'Add...'**.
2. Klicken Sie auf **Import Images**. Wählen die Bilder **'control_01'** und **'control_02'** 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 Sprekeln durchführen. Klicken Sie nochmals auf **Next**, um dies für das zweite Bild zu tun.

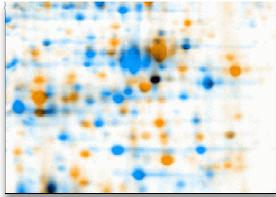
4. Klicken Sie auf **Finish**, um die Anpassungen zu übernehmen und diesen Dialog zu schließen.

Importieren Sie die Bilder **'1min_01'** und **'1min_02'** sowie **'10min_01'** und **'10min_02'** ebenso in die entsprechenden Gruppen.

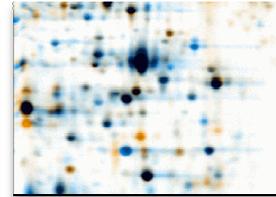




2 Warp Images



Zwei Gelbilder als Falschfarbenbild, ungewarpt.



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

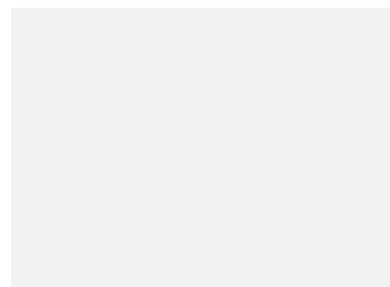
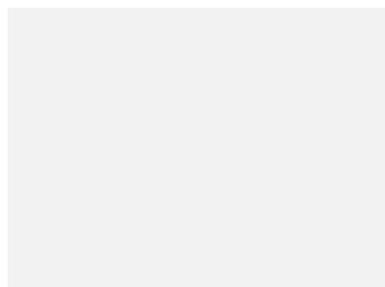
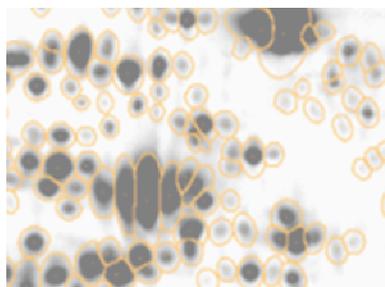
Definieren einer Warping Strategy

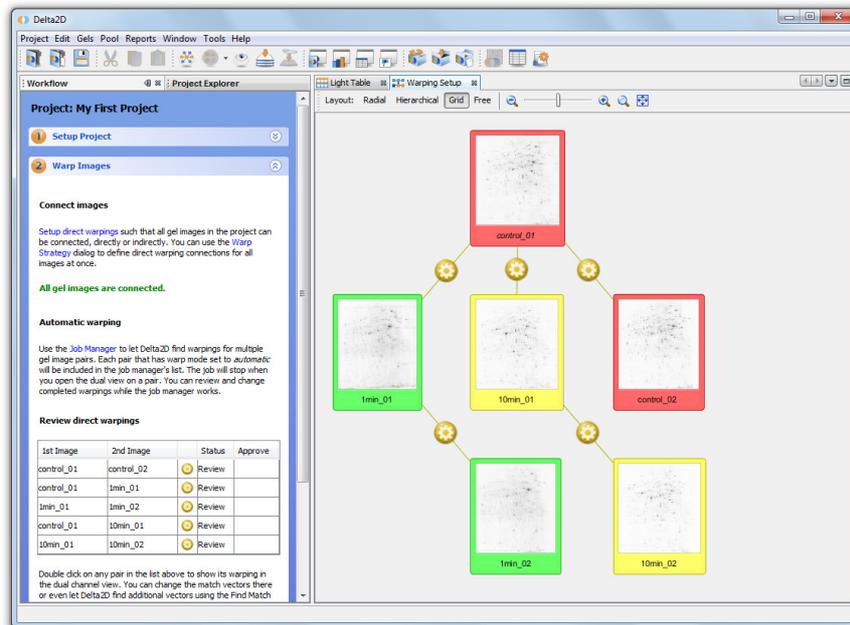
1. Öffnen Sie den zweiten 'Workflow'-Schritt 'Warp Images'.
2. Klicken Sie den Link '[Warp Strategy...](#)' zum Öffnen des 'Warping Strategy Manager'.
3. Wählen Sie die '**Group Warping Strategy**' und bestätigen Sie die Standardeinstellungen mit .



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:





Fenster **Warping Setup** nach Anwendung der **Group Warping Strategy**.

Verwenden des automatischen Warping in Delta2D

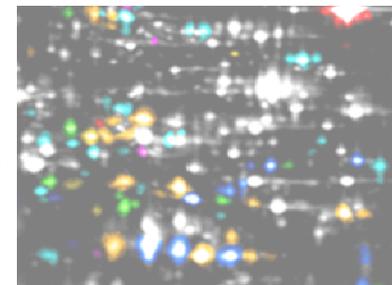
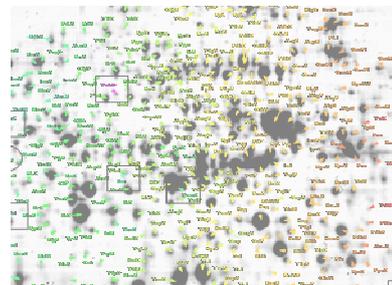
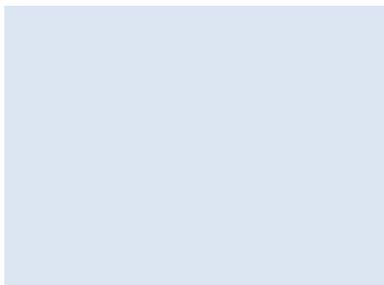
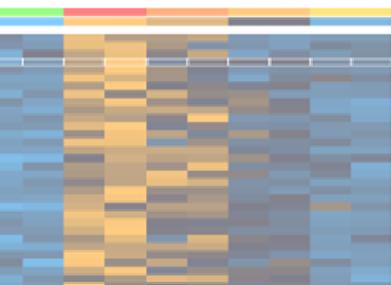
1. Klicken Sie auf den Link '**Job Manager**'.
2. Betätigen Sie einfach den '**Start**' Knopf  im '**Job Manager**'. Alle automatischen Warpings werden durchgeführt und dargestellt.

Ergebnisse verifizieren

1st Image	2nd Image	Status	Approve
control_01	control_02	 Review	Approve
control_01	1min_01	 Review	
1min_01	1min_02	 Review	
control_01	10min_01	 Review	
10min_01	10min_02	 Review	

Kontrolle der direkten Warpings
(Schritt 2 des Workflow).

1. 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.
3. Prüfen Sie mit Hilfe des '**Show/Hide Background**' Knopfes () in der 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.

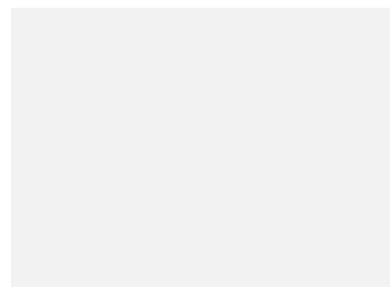
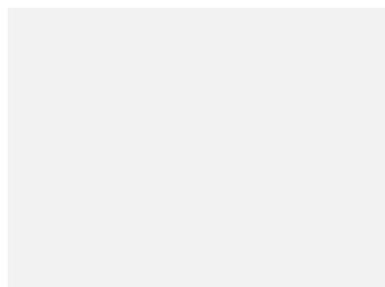
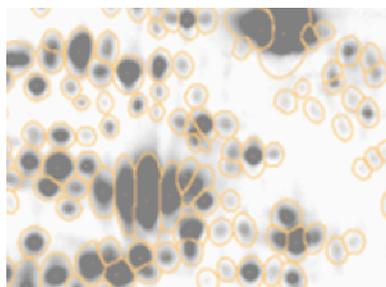
Wenn Sie Bildbereiche sehen, in denen *Matchvektoren falsch zu sein scheinen*, können Sie dort Matchvektoren von Hand setzen oder verändern:

- **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  Warp Knopf um Ihre neuen Matchvektoren anzuwenden. Sie können Matchvektoren iterativ ergänzen, korrigieren oder löschen, bis Sie mit dem Ergebnis zufrieden sind.



3 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. Klicken Sie auf **Fuse** 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 **OK**. 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.

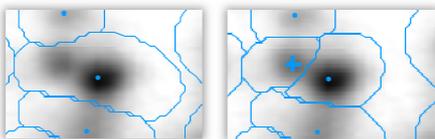
Wir empfehlen nachdrücklich, Spots **NUR AUF DEM FUSIONSBIKD** zu detektieren und zu editieren.

Neue Spots hinzufügen



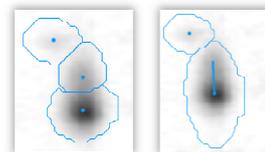
Bildregion vor / nach dem Hinzufügen eines Spots.
(Klicken Sie einfach in das Zentrum eines nicht-detektierten Spots.)

Spots trennen

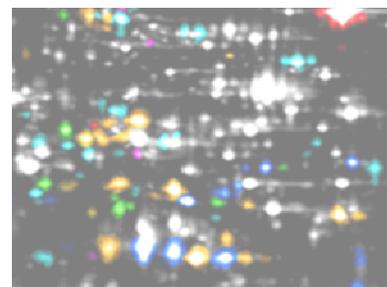
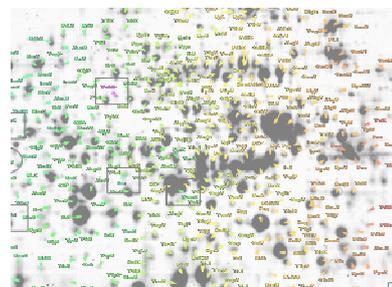
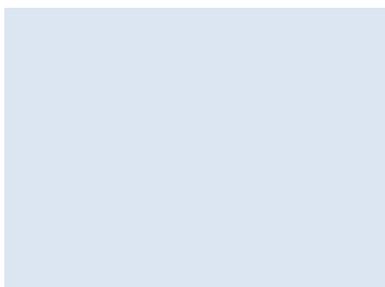
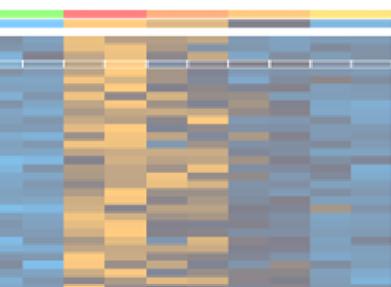


Zwei Spots, als einer detektiert und getrennt.
(Klicken Sie einmal in das Zentrum des nicht abgetrennten Spots).

Spots vereinen



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





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.



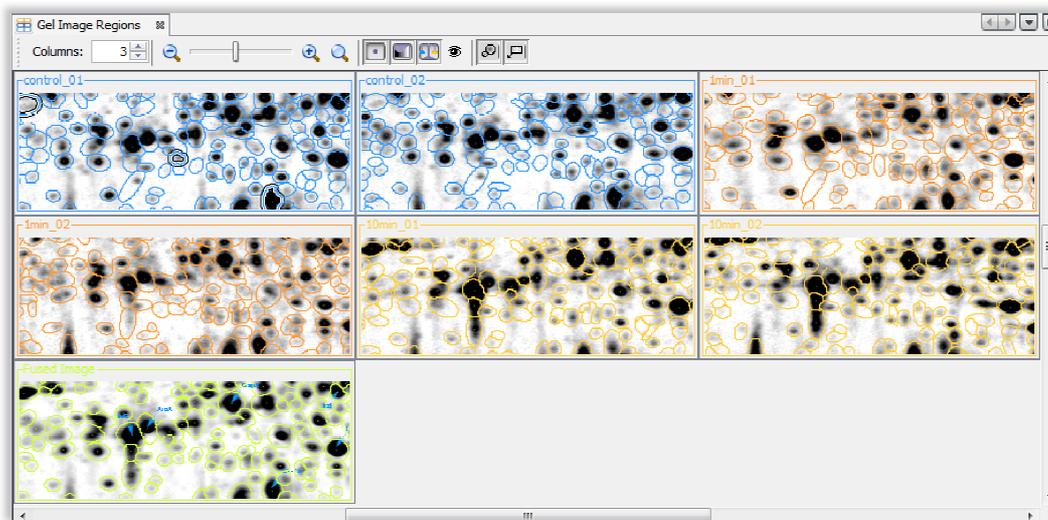
Spots entfernen

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'**.

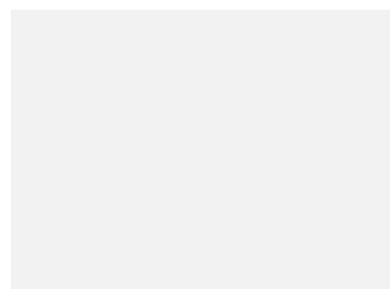
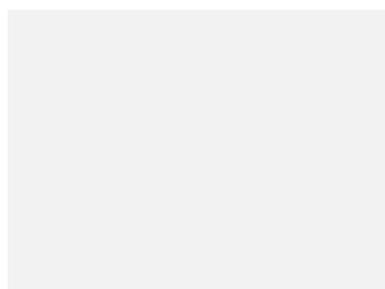
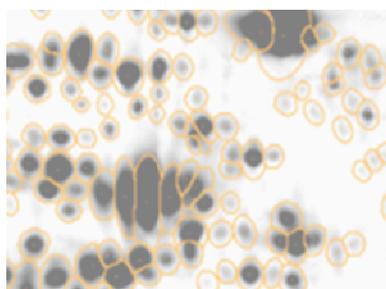
Wenn Sie gelöschte Spots mit gepunkteten Spotumrissen anzeigen möchten, wählen Sie **'Spots'** → **'Show Canceled Spots'** im Menü der Dual View.

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 **OK**.



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.

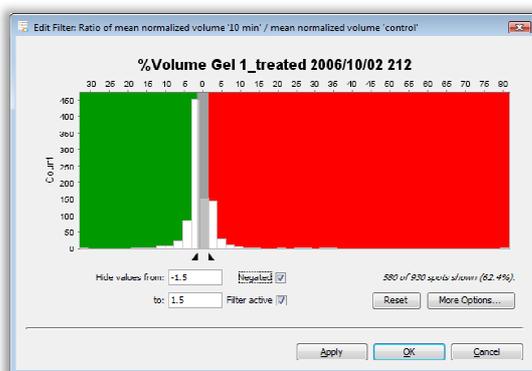


4 Analyze Expression Profiles

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.



Filter Dialog

Wir möchten nun zweifach hoch- oder runterregulierte Spots finden:

1. Öffnen Sie die 'Quantitation Table' und wechseln Sie dort zur 'Statistics' Ansicht.
 2. Suchen Sie die Spalte '*Ratio of mean normalized volume '1min' / mean normalized volume 'control'*'.
 3. 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 .
 6. Öffnen Sie die 'Dual View' mit den beiden Bildern 'control_01' und '1min_01'. Nur die Spotumrisse der Spots, die das Filterkriterium erfüllen, sind noch sichtbar.

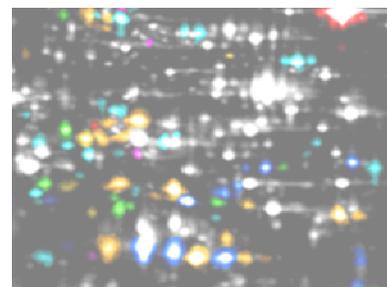
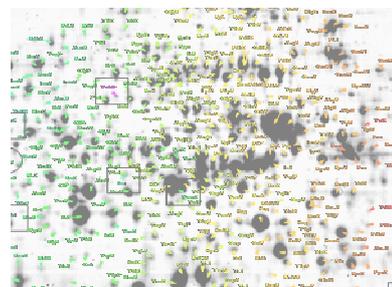
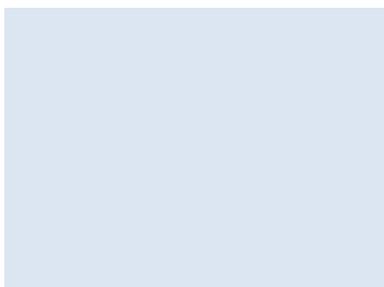
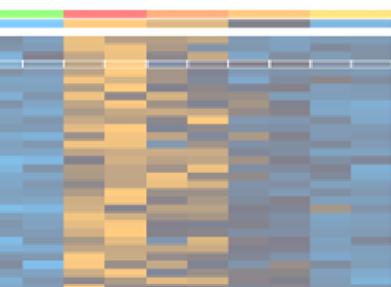
Erweiterte Statistische Auswertungen

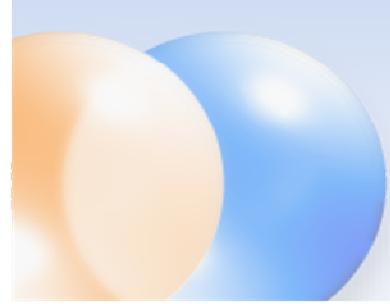
Delta2D beinhaltet fortgeschrittene Methoden und multivariate statistische Verfahren für die Auswertung von 2D-Gelbildern, u.a.:

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

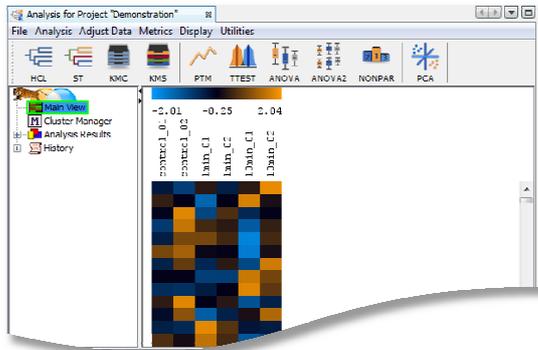
Anmerkung:

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.

Wählen Sie im Workflow-Schritt '**Analyze Expression Profiles**' den Link '**Analysis**'.

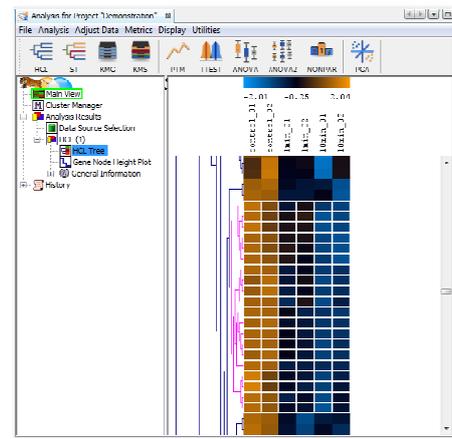
Die Legende über der Heatmap zeigt die Farbe für die Spotintensitäten. Jede Spalte enthält die Daten eines bestimmten Gelbildes, jede Zeile die Daten eines Expressionprofiles über die Bilder Ihres Projektes (sofern nicht verborgen wie das Fusionsbild). Die normalisierten Quantitäten werden automatisch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

Ähnliche Verläufe in Expressionprofilen finden

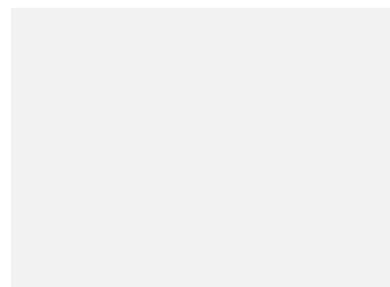
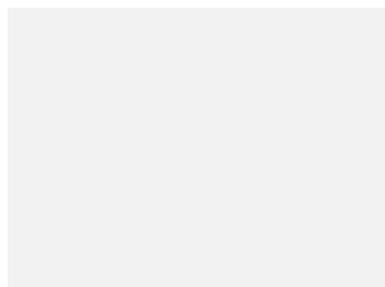
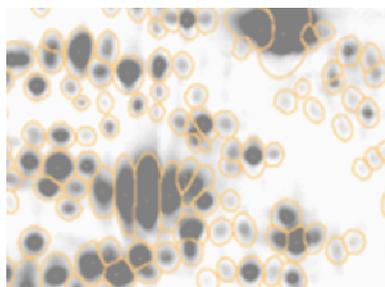
1. Drücken Sie den Knopf  in der Symbolleiste. Wählen Sie '**Gene Tree**', '**Euclidian Distance**' und '**Complete Linkage**'.
2. Bestätigen Sie mit .

Der Baum zeigt Ähnlichkeiten zwischen Expressionprofilen.

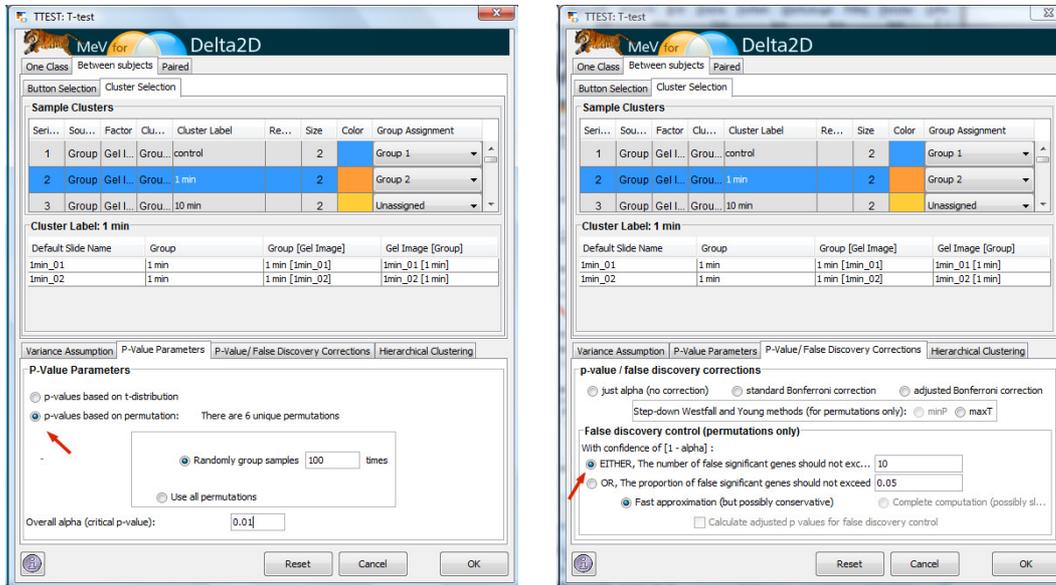
Wenn Sie dasselbe für '**Sample Tree**' durchführen, sollten Replikatbilder in derselben Gruppe zu finden sein. Falls das nicht der Fall ist, deutet das auf Ausreißer in Ihrem Projekt hin. Möglicherweise ist ein Bild aufgrund der experimentellen Variation sehr verschieden von den anderen Gelbildern. Sie sollten dann prüfen, ob Sie es besser von der weiteren Analyse ausschließen (wie Sie das Fusionsbild verborgen haben, dann die Analyse neu starten).



Hierarchical Clustering über die Expressionsprofile.



Differentiell exprimierte Proteinspots finden: Statistische Tests

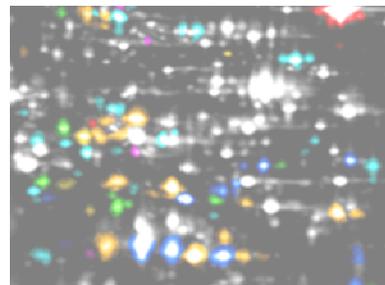
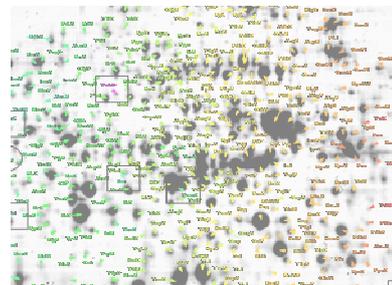
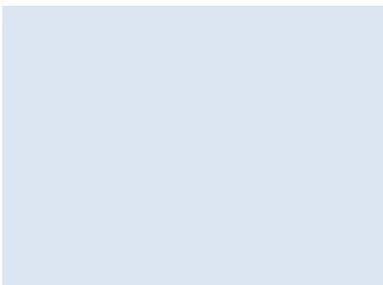
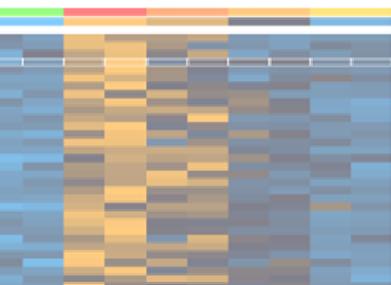


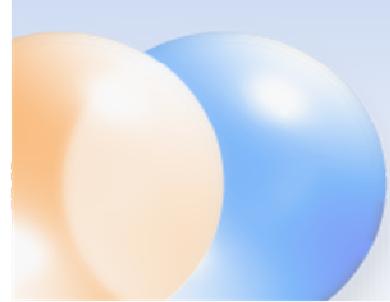
t-Test Parameter.

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 , 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.





5 Present Results

Interaktive HTML-Berichte erstellen

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



**Project
Summary**



Spot Album



**Spot
Quantities**



Labels

Allgemeine Informationen zu Proben, Gruppen, Gelbildern, etc.

Informationen zu selektierten / markierten Spots. Klicken Sie auf das **Säulendiagramm** / **Spot ID** um den Spot in Delta2D zu selektieren und einen speziellen Unterbericht zu öffnen.

Listen aller Labels oder derjenigen für selektierte / markierte Spots incl. Scout 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

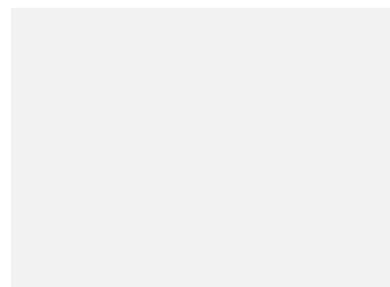
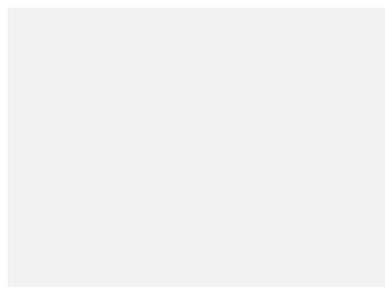
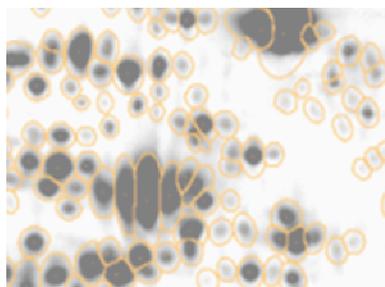
1. Öffnen Sie die **'Dual View'** für ein beliebiges Gelbildpaar.
2. Wählen Sie im Menü **'Export' > 'Export to PowerPoint'** und bestätigen Sie mit .
3. Folgen Sie der in MS PowerPoint angezeigten Anweisung, um eine Folie zu erstellen.

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 .



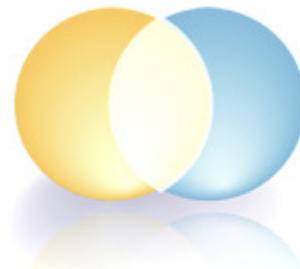
Wo kann ich mehr über Delta2D erfahren?

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

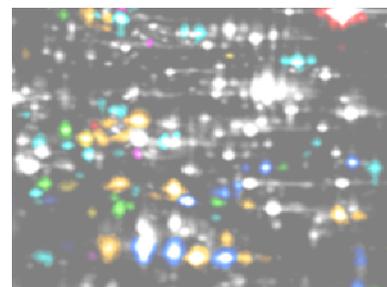
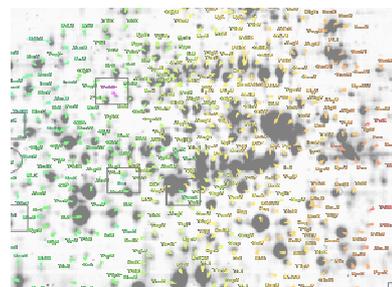
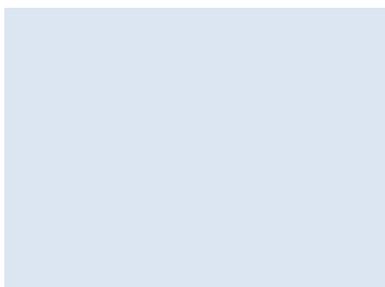
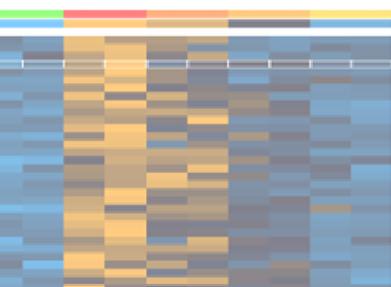
Anmerkung:

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.





Request your 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 7 / 8 / 10 at 32 or 64* bit, Mac OS X 10.7.3 (Lion) and newer, and most flavours of 32 bit or 64 bit* Linux.

Hardware Requirements:

Minimum Hardware:

PC with 2 GB RAM or Intel based Mac

Recommended Hardware:

Dual or Quad Core Processor with 2 GHz or better, 8 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.



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