

AS EASY AS POINT AND CLICK





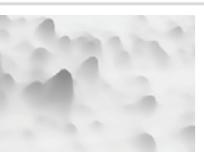


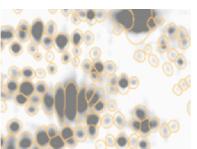




Copyright DECODON GmbH. DECODON makes no representations, express or implied, with respect to this documentation or the software it describes, including without limitations, any implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, all of which are expressly disclaimed. Users should 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.











Analizowanie obrazów jedynie w 5 Krokach

Setup Project

Ustaw eksperymenty tradycyjne lub multipleksowe (Refraction-2D lub DIGE). Importuj swoje obrazy żelu do Delta2D i uszereguj kopie w grupach.

Warp Images

Ustaw strategię cyfrowej obróbki obrazu, użyj automatycznej cyfrowej obróbki Delta2D i przeglądaj wynik obróbki.

Detect and Quantify SpotsWykonaj detekcję spotów w całym projekcie.

4 Analyze Expression Profiles

Znajdź interesujące spoty.

Present Results

Eksportuj wyniki do innych aplikacji w celu prezentacji lub dalszych analiz.

Uwaga: -

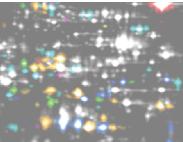
Jeżeli Państwo jeszcze tego nie zrobili, prosimy o pobranie przykładowych danych, których używamy w tym przewodniku pod adresem <u>www.decodon.com/delta2d-getting-started.html</u>. Należy rozpakować archiwum. Zawiera ono następujące obrazy żeli i pliki map dopasowania dla cyfrowej obróbki:

Plikobrazu	Znacznik	Żel	Próbka	Grupa
Gel1_Cy2.gel	Cy 2	Gel 1	Internal standard, Gel 1	Standard
Gel1_Cy3.gel	Cy 3	Gel 1	Sample A,replicate 1	Sample A
Gel1_Cy5.gel	Cy 5	Gel 1	Sample B,replicate 1	Sample B
Gel2_Cy2.gel	Cy 2	Gel 2	Internalstandard, Gel 2	Standard
Gel2_Cy3.gel	Cy 3	Gel 2	Sample A, replicate 2	Sample A
Gel2_Cy5.gel	Cy 5	Gel 2	Sample B,replicate 2	Sample B
Gel3_Cy2.gel	Cy 2	Gel 3	Internalstandard, Gel 3	Standard
Gel3_Cy3.gel	Cy 3	Gel 3	Sample A, replicate 3	Sample A
Gel3_Cy5.gel	Cy 5	Gel 3	Sample B, replicate 3	Sample B

Dziękujemy za te obrazy Dr Marii Zellner i Prof. Dr Rudolfowi Oehlerowi (Wiedeński Uniwersytet Medyczny).















Setup Project

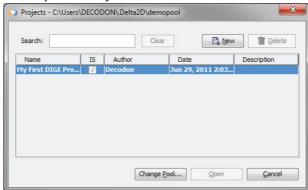
Utwórz nową bazę danych

- 1. Kliknij klawisz 'ChangePool' i *przejdź* do folderu, gdzie chcesz umieścić swoje nowe dane.
- **2.** Kliknij prawym klawiszem i wybierz **'Create Folder'**, następnie kliknij na nowy folder, aby *zmienić jego nazwę*. Wpisz nazwę dla twoich nowych danych.
- 3. Kliknij ok i potwierdź następująceokno dialogowe przyciskając ses.

Utwórz i otwórz nowy projekt

Pojawia się ponownie okno dialogowe 'Projects' pokazujące listę dostępnych projektów.

- 1. Kliknij przycisk , aby utworzyć nowy projekt.
- 2. Podaj przynajmniej jedną nazwę dla swojego nowego projektu i aktywuj **'Use Internal Standard'**. Potwierdź wciskając ok.
- 3. Wybierz nowy projekt z listy i naciśnij Open .

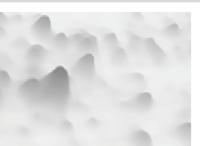


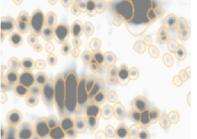
Okno dialogowe projektów Delta2D.

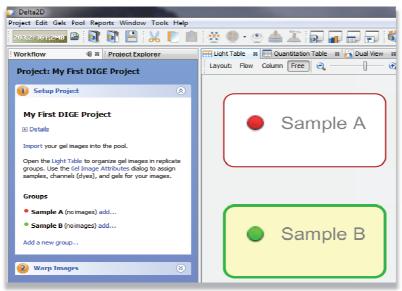
Ustaw grupy dla obrazów żelu

Stwórz *trzy grupy* dla naszego eksperymentu - po jednej dla każdych z dwóch próbek i jednej dla standardu wewnętrznego. Najpierw użyjmy już istniejące dwie grupy – tak jak jest to przedstawione w LightTable:

- 1. Kliknij prawym klawiszem myszki pierwszą grupę i wybierz z menu 'Properties'.
- 2. Zastąp nazwę grupy'Sample A'. Jeśli chcesz, wybierz inny kolor i potwierdź wciskając OK.
- 3. Powtórz kroki 1 and 2 dla drugiej grupy przypisując nazwę 'Sample B'.







Workflow i LightTable Delta2D – pokazujące nierozpoczęty projekt.

Stwórz nową grupę 'Internal Standard', klikając link 'Add a newgroup...' w Workflow.

Dodaj obrazy żeli do swoich grup



Gel Import Manager Delta2D

- **1.** WWorkflowkliknij link 'Add...'('Dodaj...') znajdującym się obok grupy **Sample A.**
- 2. Kliknij i wybierz trzy obrazy (Gel1_Cy3, Gel2_Cy3, Gel3_Cy3) z example data używając lewego przycisku myszki jednocześnie z klawiszem CTRL. Kliknij
- 3. Teraz możesz edytować nazwę i inne opisowe dane, a także wykonywać podstawowe czynności takie jak obracanie, odwracanie lub poprawa jakości obrazu. Ponownie kliknij Next, aby powtórzyć te czynności dla kolejnego obrazu.
- **4.** Kliknij Finish, aby zapisać ustawienia i zamknąć okno dialogowe.

Należy importować przykładowe obrazy Gel1_Cy5, Gel2_Cy5, Gel3_Cy5 oraz Gel1_Cy2, Gel2_Cy2, Gel3_Cy2 do ich właściwych grup.



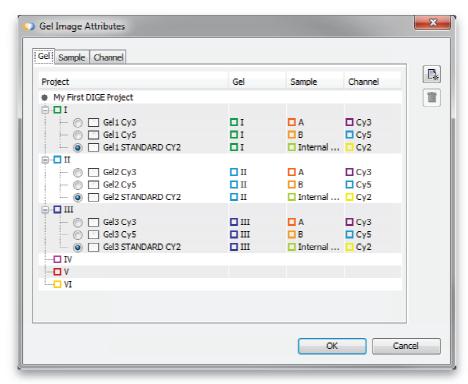






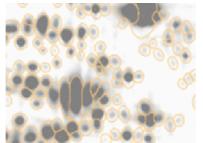
Przypisz obrazy do żeli i określ standardy wewnętrzne

- 1. W 'Setup Project' wybierz 'Gel Image Attributes'. Wybierz zakładkę 'Gel'. Widać listę żeli i obrazy, które pochodzą od każdego żelu.Zastąp istniejące nazwy próbek żelu lub kliknij , aby dodać nowe wpisy. Użyj "przeciągnij" i "upuść", aby przypisać obrazy do żeli.
- 2. Dla każdego żelu widoczna jest kolumna przycisków opcji. Wybierz przycisk opcji znajdujący się obok obrazu, który zawiera wewnętrzny standard (zwykle będzie to obraz Cy2).

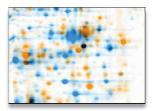


Okno dialogowe 'Gel Image Attributes' pokazujące przypisane obrazy żeli i rozpoznane obrazy standardów wewnętrznych (aktywowane przyciski opcji).

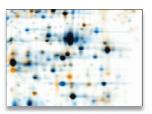




Warp Images



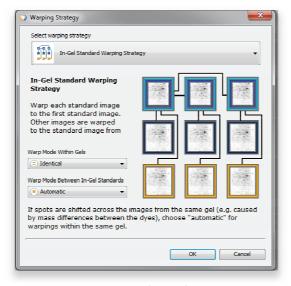
Dwa obrazy żeli nałożone, by powstał obraz dwukanałowy, przed opracowaniem cyfrowym



Dwa obrazy żeli nałożone, by powstał obraz dwukanałowy, po opracowaniu cyfrowym. Różnice w poziomie ekspresji są wyraźnie widoczne

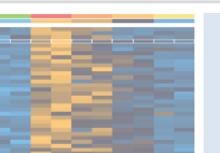
Określ strategię obróbki cyfrowej

- 1. Przejdź do następnego kroku 'Workflow' o nazwie 'Warp Images'.
- 2. Kliknij link 'Warp Strategy...', aby otworzyć 'Warping Strategy Manager'.
- **3.** Wybierz **'In-Gel Standard Warping Strategy'** i potwierdź ustawienia domyślne wciskając

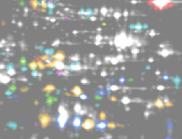


Menadżer strategii obróbki cyfrowej Delta2D.

4. Otwórz **'Warping Setup'** klikając link 'Setup direct warpings' w Workflow. Powinno to przypominać wyglądem poniższy obrazek:



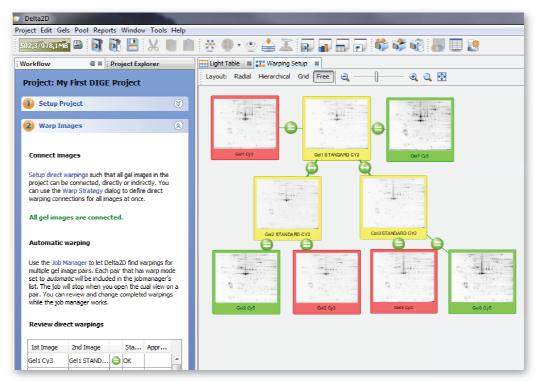










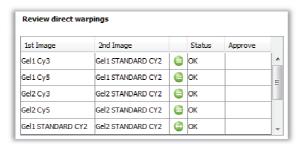


Okno Warping Setup po zastosowaniu In Gel Standard Warping Strategy.

Użyj automatycznej cyfrowej obróbki obrazów Delta2D

- 1. Kliknij link 'Job Manager'.
- **2.** Wystarczy kliknąć klawisz **'Start'** w **'Job Manager'**. Będzie on monitorować i wykonywać wszystkie prace automatycznej obróbki cyfrowej obrazów.

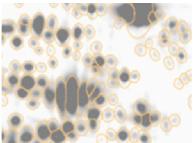
Przeglądaj wyniki



Przegląd wyników automatycznej obróbki obrazów (2 krok Workflow).

- 1. Kliknij dwukrotnie na rząd w tabeli pod 'Review Direct Warpings', w którym symbol wygląda następująco .
- **2.** Otworzy się okno **'Dual View'** i pokaże odpowiednio nałożenie dwóch obrazów.
- 3. Należy również sprawdzić, czy obraz tła został ukryty poprzez użycie klawisza 'Show/Hide Background' (znajdującego się w pasku narzędzi.







Aby pracować z wektorami dopasowania, wybierz Match Vector Tool (najwyższy klawisz w lewym pionowym panelu narzędzi Dual View).

Aby ułatwić użycie możesz włączyć "Snap Match Vectors To Spots". Można to zrobić wchodząc w 'Tools' > 'Options' > 'Delta2D' > 'Match Vectors'. Tymczasowo wyłącz to za pomocą klawisza CTRL.

Jeśli występują miejsca, w których wektory zdają się być nieprawidłowe, możesz ustawić i zmienić wszystkie wektory dopasowania manualnie:

- Wybierz wektor po prostu kliknij lewym przyciskiem na wektor.
- Wybierz wielokrotne wektory przeciągnij prostokąt myszką (trzymaj lewy przycisk myszki przyciśnięty). Wszystkie wektory w tym prostokącie zostaną wybrane.
- Usuń wektory dopasowania kliknij prawym przyciskiem wektor i wybierz 'Delete' lub 'Delete Selected'.
- Ustaw nowy wektor dopasowania najpierw kliknij na miejsce w pomarańczowym, a następnie analogicznie na miejsce w niebieskim obrazie.
- Zmień wektor dopasowania przeciągnij jedną z końcówek wektora, aby zmienić jego położenie.

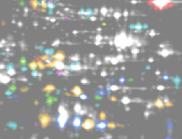
Uwaga: -

Możesz cofnąć działania wektorów dopasowania klikając klawisz 'Undo' 🖺.

Kliknij klawisz Warp, aby zastosować swoje nowe wektory. Możesz wielokrotnie dodawać, poprawiać lub usuwać wektory dopasowania aż do chwili, gdy będziesz zadowolony z uzyskanego wyniku.















Detect and Quantify Spots

Generowanie obrazu połączonego

- **1.** Przejdź do następnego kroku **'Workflow'** o nazwie **'Detect and Quantify Spots'** i kliknij link 'Fuse all images', aby otworzyć okno dialogowe **'Image Fusion'**.
- 2. Wyłącz standardowe obrazy (zwykle Cy2) z obrazu łączonego.
- 3. Kliknij Fuse, aby użyć ustawień domyślnych i pozwolić na stworzenie nowego obrazu.

Wykryj spoty na obrazie łącznym

- 1. Kliknij link 'Detect Spots on Fused Image...' w Workflow.
- **2.** W następnym oknie, zaakceptuj proponowane parametry detekcji i naciśnij ok. Po ukończeniu wykrywania, pojawi się obraz łączny wraz z wykrytymi granicami spotów.



Edytuj spoty na obrazie łącznym

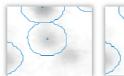
- 1. Otwórz nowy obraz łączny klikając 'Open Fused Image using Union...'.
- 2. Otwiera się okno 'Dual View' pokazujące tylko pojedynczy widokobrazu łącznego.

Uwaga:

Wybierz 'Spot Editing Tool' (czwarty klawisz w lewym pionowym panelu narzędzi w Dual View), aby edytować spoty.

Zdecydowanie zalecamy edytowanie spotów JEDYNIE NA OBRAZACH ŁĄCZNYCH.

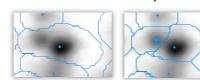
Dodawanie nowego Spotu





Obszar obrazu przed / po dodaniu spotu. (kliknąć na środek niewykrytego spotu, abygo dodać.

Rozdzielenie Spotu



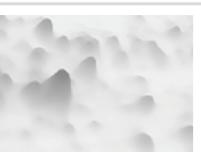
Dwa spoty, wykryte jako jeden oraz rozdzielenie. Kliknij raz na środek spotu, który nie został wykryty oddzielnie)

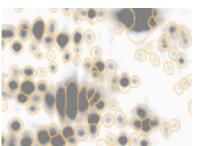
Łączenie Spotów





Przykład połączonych spotów. (przeciągnij linię ze środka jednego spotu do drugiego)





Przesuwanie markerów spotów

Markery spotów mogą być przesuwane poprzez przeciąganie przy użyciu lewego klawisza myszki.

Usuwanie markerów spotów

Aby usunąć marker spotu należy *kliknąć* na niego *prawym* klawiszem.



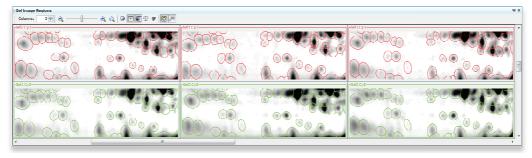
Usuwanie Spotów

- 1. Uruchom 'Spot SelectionTool' i wybierz spot bądź grupę spotów.
- 2. Kliknij prawym klawiszem i wybierz 'Cancel Spot'/'Cancel Selected Spots'.

Aby zobaczyć wszystkie anulowane spoty z granicami wytyczonymi przerywaną linią, wybierz 'Spots' > 'Show Canceled Spots' z menu Dual View.

Przenoszenie spotów

- **1.** W kroku Workflow 'Detect and Quantify Spots' kliknij link 'Transfer Spots from Fused Image...'.
- 2. Otworzy się okno dialogowe 'Transfer Spots'. Potwierdź domyślne ustawienia wciskając



Granice spotów po przeniesieniu. Aby otworzyć ten widok wybierz link 'Gel Image Regions' w workflow. Zasadniczy wzór spotów jest taki sam na wszystkich żelach, umożliwiając 100 % dopasowanie spotów.













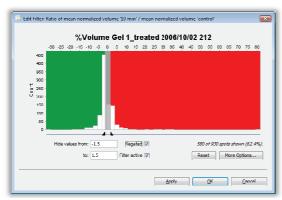


Analyze Expression Profiles

Filtrowanie w poszukiwaniu interesujących profili ekspresji

Uwaga:

Tabela The Quantitation Table jest zsynchronizowana ze wszystkimi pozostałymi widokami Delta2D: Wybór profilu ekspresji w tabeli będzie wybierać spot np. w Dual View.



Filter Dialog

Znajdź odpowiednio spoty o zwiększonej (nadekspresja) lub zmniejszonej (supresja) reprezentacji:

- **1.** Otwórz 'QuantitationTable' i przejdź do zakładki 'Statistics'.
- 2. Poszukaj kolumny wskaźników w grupie Sample B 'Ratio mean % volume Sample B / mean % volume Sample A'.
- **3.** Kliknij nagłówek górnej części kolumny określony mianem **'Filter'**
- **4.** Ustaw granice filtra **'Show values** from' '0.5' i **'to'** '2'.
- 5. 'Filteractive' zostanie sprawdzony automatycznie, dodatkowo sprawdź pole 'Negated'. Zmieni ono tekst okna dialogowego filtra na 'Hide values from' '0.5' i 'to' '2'. Potwierdź wciskając ok.
- **6.** Otwórz **'Dual View'** z dwoma obrazami'Gel1_Cy3' i 'Gel1_Cy5'. Jedynie spoty spełniające nasze kryteria będą widoczne.

Zaawansowane Analizy Statystyczne

Delta2D zawiera zaawansowane wielowymiarowe statystyki dla analizy żeli 2D, w tym:

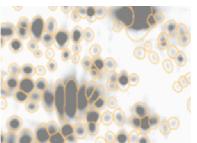
- Heat map pokazująca profile ekspresji
- Różnorodne metodyanalizy skupień w tym Analiza Hierarchiczna, Analiza kśrednich / Analiza median
- · Różne wersje t-**Test**
- Analizy Wariancji (ANOVA)

- Testy nieparametryczne, w tym testy Wilcoxon / Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Mack-Skillings, i Fisher-Exact.
- Szablony Dopasowania Pavlidis dla profili ekspresji i obrazów żelu (PTM)
- Analizy Głównych Komponentów (PCA)

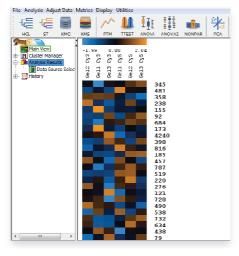
Uwaga:

Ten przykładowy projekt jest w rzeczywistości zbyt mały, by opierać się na jego wynikach jednak, mimo to, jest pomocny w zrozumieniu jak działają statystyczne analizy Delta2D.





Uzyskanie przeglądu wysokiej jakości danych ekspresji – Heat map



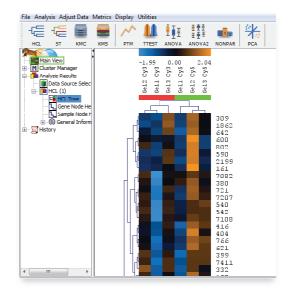
Heat map przykładowego projektu.

W kroku 'Workflow' 'Analyze Expression Profiles' kliknij link 'Analysis'.

Legenda na górze pokazuje kod kolorystyczny intensywności spotów. Każda kolumna zawiera wszystkie intensywności spotów jednego obrazu żelu. Każdy rząd pokazuje intensywność pojedynczego spotu na wszystkich innych obrazach w twoim projekcie. Dane są unormowane/ ujednolicone domyślnie.

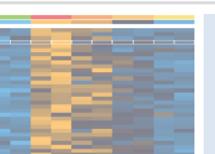
Wykrywanie wzorów w profilach ekspresji

- 1. Naciśnij klawisz w pasku toolbar. Wybierz 'Gene Tree', 'Euclidian Distance' i 'Complete Linkage'.
- **2.** Aby potwierdzić wciśnij OK. Schemat drzewa przedstawia podobieństwa pomiedzy profilami ekspresji. Jeśli wykonasz to samo dla 'SampleTree', wszystkie kopie tej samej próbki powinny pojawić się w tym samym klasterze (poddrzewo). Jeśli tak się nie stanie, wskazuje to na fakt, że w twoim projekcie znajdują odstępstwa – ze względu na np. problemy doświadczalne żel znacznie różni się od innych kopii. Powinieneś



Klasterhierarchiczny dla profili ekspresji

rozważyć usunięcie tego obrazu żelu ze swojego projektu (jeśli ukryłeś obraz scalony, wówczas otwórz ponownie Analysis).





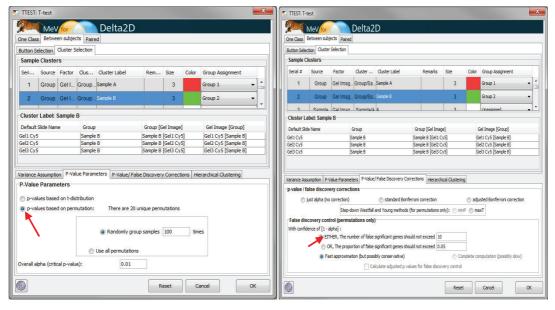








Odnajdowanie białek o zmienionej ekspresji: testy statystyczne



Parametry t-Testu.

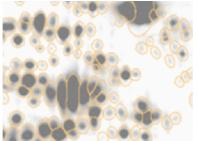


- 2. Wybierz 'p-values based on permutations' (pierwsza czerwona strzałka).
- **3.** W części okna dialogowego **'False discovery control'** określ limity dla ilości fałszywych spotów pozytywnych w zestawie wyników przy użyciu funkcji **'number of false positive genes should not exceed'** lub **'proportion of false positive genes should not exceed'** (druga czerwona strzałka).
- **4.** Potwierdź wciskając ok, aby zobaczyć wyświetlenie mapy cieplnej jedynie istotnych spotów.

Uwaga: -

Więcej informacji na temat analizy statystycznej znajdziecie Państwo w Delta2D. Oprócz Delty2D, więcej na ten temat również można znaleźć w instrukcji TMeV lub prosimy o kontakt z nami pod adresem support@decodon.com, aby uzyskać darmową sesję online.







Tworzenie interaktywnych raportów-HTML

Wybierz jeden z poniższych raportów z menu 'Reports':



Project Summary



Spot Album



Quantities



Labels

Ogólne informacje na temat próbek, grup, obrazów żeli, etc.

dotyczące Szczegółowe informacie wybranych /zaznaczonych spotów. Kliknij wszystkich oznakowań barchart / id, aby wybrać spot w Delta2D i lub tych dla wybranych otwórz dla niego szczegółowy raport.

Umieszczenie w spisie /zaznaczonych spotów, w tymscout data.

Uwaga: -

Aby zaznaczyć spoty wybierz 'Mark'> 'Mark selected spots' w Quantitation Table lub kliknij prawym klawiszem i wybierz 'Mark spot' w Dual View.

Eksportowanie tabel do MS Excel

- 1. Otwórz 'Quantitation Table'.
- 2. Wybierz 'Export' > 'Export to Excel' z menu tabeli.

Eksportowanie widoków obrazu do MS PowerPoint

- 1. Otwórz 'Dual View' dla jakiejkolwiek pary obrazów żelu.
- 2. Wybierz 'Export' > 'Export to PowerPoint 'i potwierdź wciskając ok .
- 3. Postępuj zgodnie z poleceniami na ekranie, aby utworzyć slajd w MS PowerPoint.

Należy włączyć makra w MS Excel and MS PowerPoint, aby eksportować dane. Oznacza to, że ustawienia zabezpieczeń makro powinny być zmienione na 'Medium' lub niższe.

Eksportuj listy wyboru

- 1. Otwórz 'Dual View' dla jakiejkolwiek pary obrazówżelu.
- 2. Wybierz 'Export' > 'Export Picklists', a następnie wybór urządzenia oraz żel, z którego chciałbyś wybrać spoty.
- **3.** Potwierdź wciskając ok.













Gdzie mogę dowiedzieć się więcej na temat Delta2D?

Najprostszym sposobem, by dowiedzieć się więcej jest odwiedzenie strony http://www.decodon.com lub skontaktowanie się z nami drogą mailową support@decodon.com. Chętnie odpowiemy na Państwa pytania lub udostępnimy więcej materiału w demonstracji na żywo w sieci.

Uwaga:

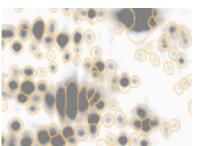
Jeśli potrzebujecie Państwo bardziej szczegółowych informacji na temat Delta2D, prosimy o zapoznanie się z instrukcją Delta2D. Można ją uzyskać poprzez menu Delta2D 'Help' > 'Help ...', lub jako plik PDF, który jest umieszczony w katalogu instalacyjnym. W Windows znajduje się bezpośredni link do katalogu w menu Start. Katalog jest również dostępny na naszej stronie zarówno do ściągnięcia jak i do przeglądania online!

Twój Zespół DECODON

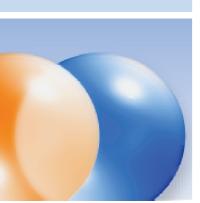


Jeśli macie Państwo jakieś uwagi lub propozycje dotyczące naszego Przewodnika 'Getting Started with Delta2D Guide' lub innych naszych dokumentów, serdecznie prosimy o kontakt.









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.



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

