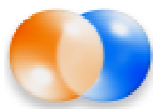


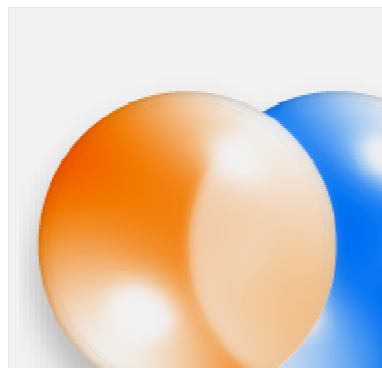
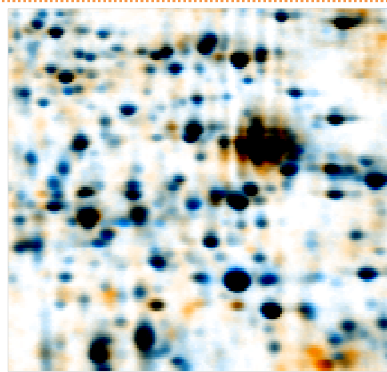
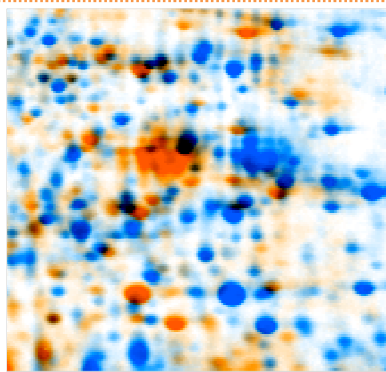
Primeros pasos

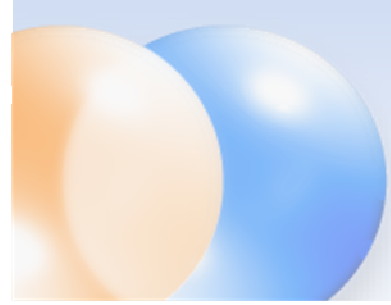
Español



Delta2D

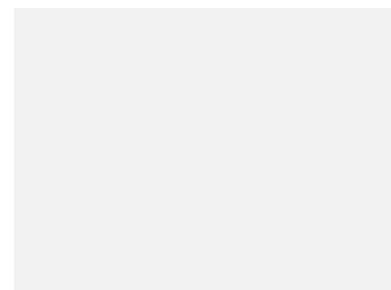
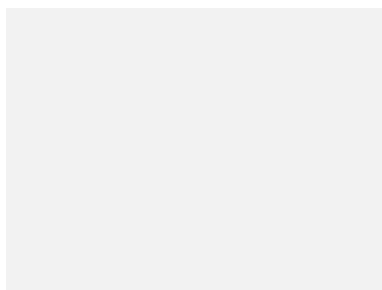
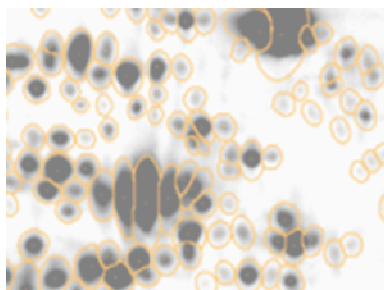
ANALYZING 2D GELS
AS EASY AS POINT AND CLICK

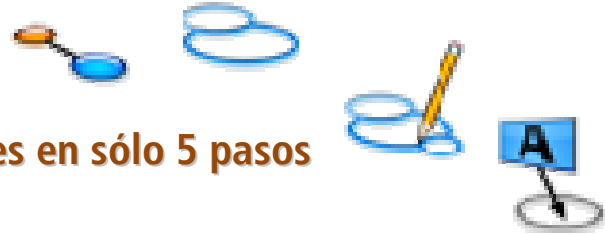




Copyright DECODON GmbH. DECODON makes no representations, express or implied, with respect to this documentation or the software it describes, including without limitations, any implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, all of which are expressly disclaimed. Users should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





Análisis de las imágenes de los geles en sólo 5 pasos

1 Setup Project

Cree sus proyectos a partir de experimentos tradicionales o múltiplex, tales como Refraction-2D o DIGE.

Importe las imágenes de sus geles a Delta2D y ordene las replicas en grupos.

2 Warp Images

Defina una estrategia de warping, utilice el warping automático de Delta2D, y revise los warpings.

3 Detect and Quantify Spots

Realice la detección de spots en todo el proyecto.

4 Analyze Expression Profiles

Encuentre los spots de interés.

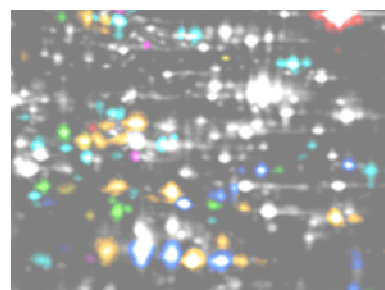
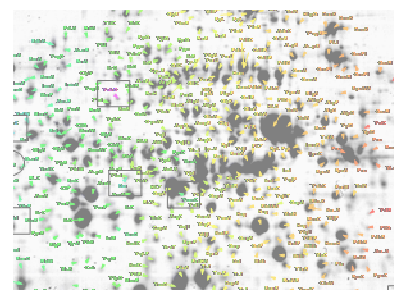
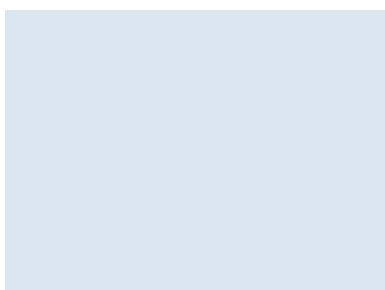
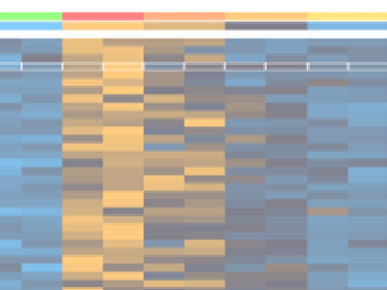
5 Present Results

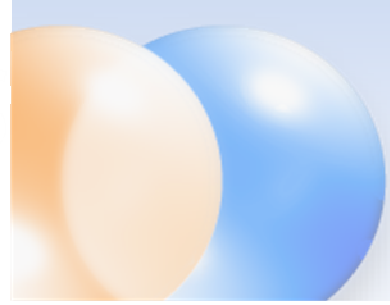
Exporte los resultados a otras aplicaciones para su presentación o para realizar otros análisis.

Nota:

Si todavía no lo ha hecho, por favor descargue los datos de ejemplo que utilizamos en esta guía en www.decodon.com/delta2d-getting-started.html. Descomprima el archivo. Este contiene las siguientes imágenes de geles y los 'match map' necesarios para el warping:

Grupo	Imagen (dos replicas por grupo)
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

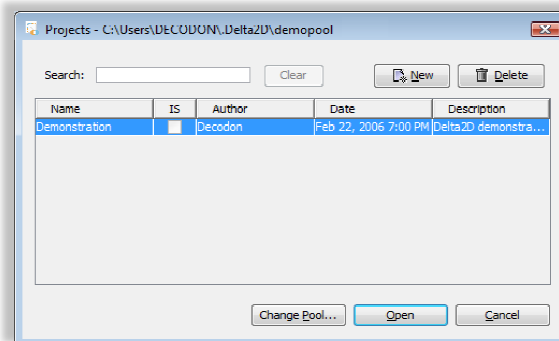
Cree un conjunto de datos nuevos

1. Haga clic sobre el botón '**Change Pool**' y navegue hasta la carpeta donde desea almacenar su nuevo conjunto de datos.
2. Haga clic sobre el botón derecho del mouse y seleccione '**Create Folder**', a continuación haga clic sobre la nueva carpeta para cambiar su nombre. Escriba un nombre para su nuevo conjunto de datos.
3. Haga clic sobre y confirme el siguiente diálogo con .

Cree y abra un nuevo proyecto

El cuadro de diálogo '**Projects**' aparece de nuevo y muestra la lista vacía de proyectos disponibles.

1. Haga clic sobre el botón para crear un nuevo proyecto.
2. Escriba el nombre para su nuevo proyecto y confirme con .
3. Seleccione el nuevo proyecto de la lista y presione .

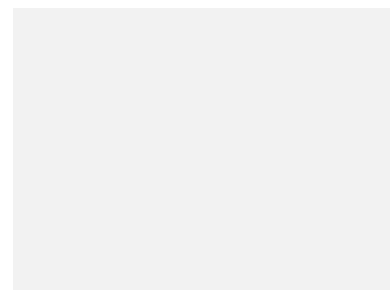
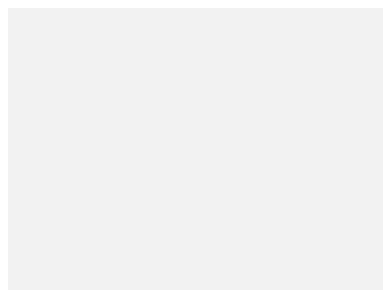
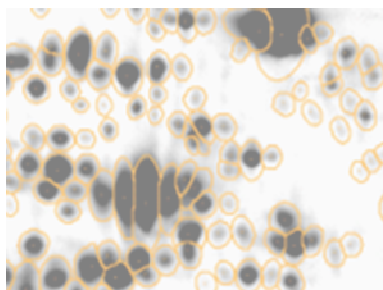


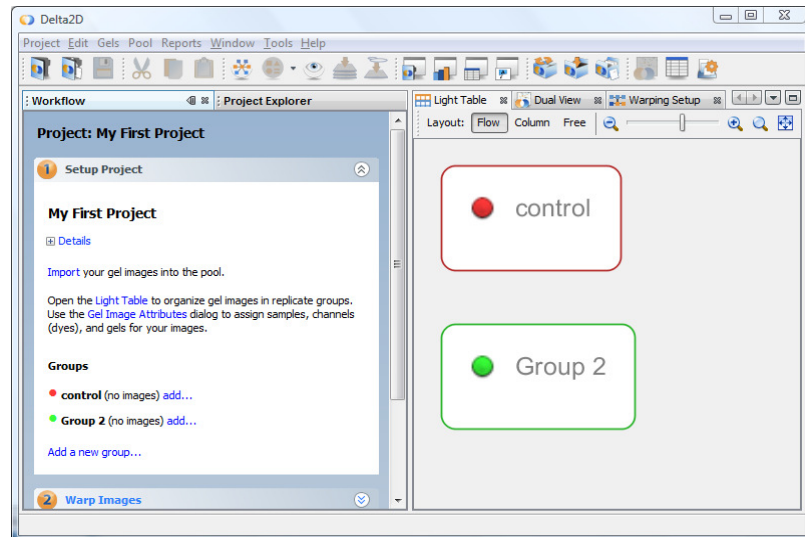
Cuadro de diálogo 'Projects' de Delta2D.

Organice las imágenes de los geles en grupos

Ahora vamos a crear *tres grupos* para nuestro experimento, uno para cada par de replicas. Primero vamos a utilizar los dos grupos que ya figuran en la 'Light Table':

1. Haga clic en el botón derecho del mouse sobre el primer grupo y seleccione '**Properties**' del menú contextual.
2. Sustituya el nombre del grupo por '**control**'. Si lo desea, elija otro color y confirme con .
3. Repita los pasos 1 y 2 para el segundo grupo y asígnele el nombre '**1min**'.

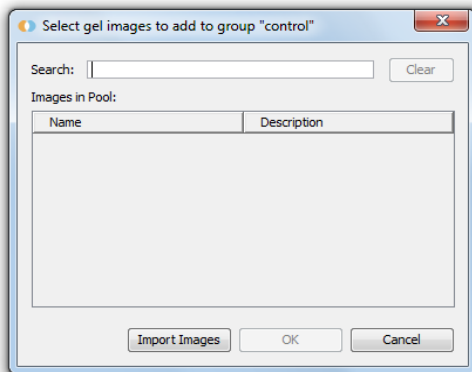




El 'Workflow' y 'Light Table' de Delta2D mostrando un proyecto vacío.

Cree un nuevo grupo **'10min'**, haciendo clic en el vínculo **'Add a new group...'** del Workflow.

Agregue imágenes de geles a sus grupos



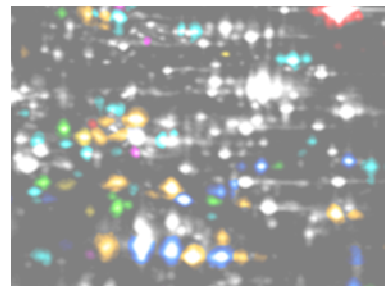
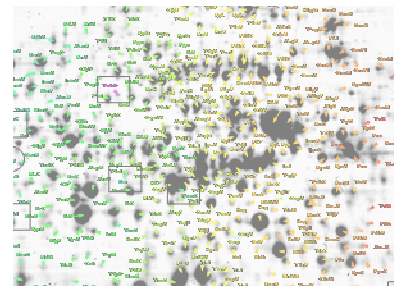
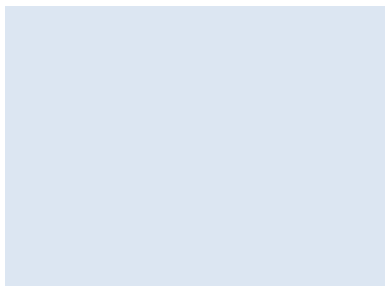
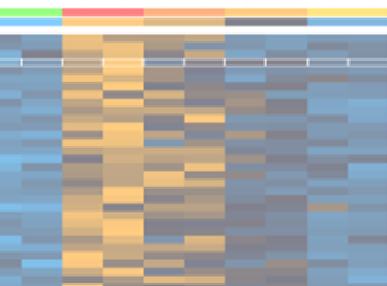
Gel Import Manager de Delta2D.

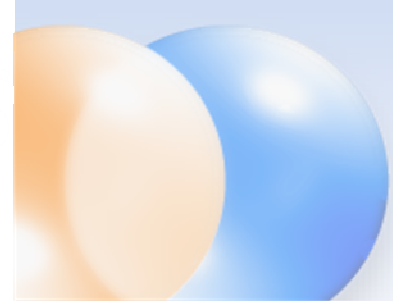
1. Dentro del Workflow, haga clic en el vínculo **'Add...'** situado junto al grupo **control**.
2. Haga clic en **Import Images** y seleccione las imágenes **'control_01'** y **'control_02'** de los datos de ejemplo utilizando el botón izquierdo del mouse en combinación con la tecla **CTRL**. Haga clic en **Next**.
3. Ahora puede editar el nombre y otros datos descriptivos, y hacer algunas operaciones básicas como rotar, invertir o filtrar las impurezas o artefactos de la

tinción de su imagen. Haga clic nuevamente en **Next** para repetir este paso en la siguiente imagen.

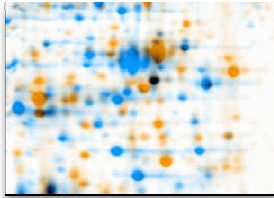
4. Haga clic en **Finish** para guardar las modificaciones y cerrar el diálogo.

Por favor, importe las imágenes de muestra **'1min_01'** y **'1min_02'** así como también **'10min_01'** y **'10min_02'** a sus respectivos grupos.

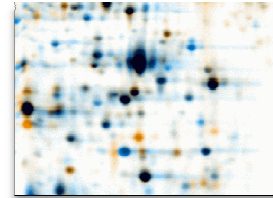




2 Warp Images



Dos imágenes de geles, superpuestas en una imagen de doble canal, sin deformar (*not warped*).



Dos imágenes de geles, superpuestas en una imagen de doble canal, luego de la deformación (*warping*). Las diferencias en los niveles de expresión son claramente visibles.

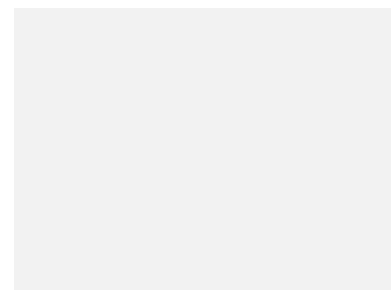
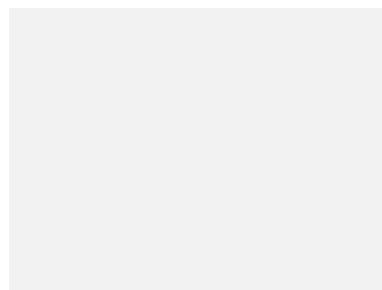
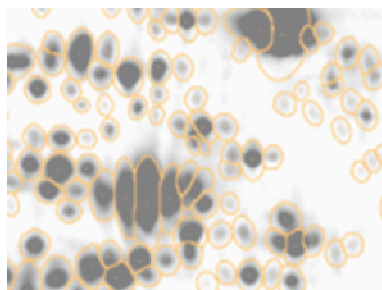
Defina una estrategia de warping

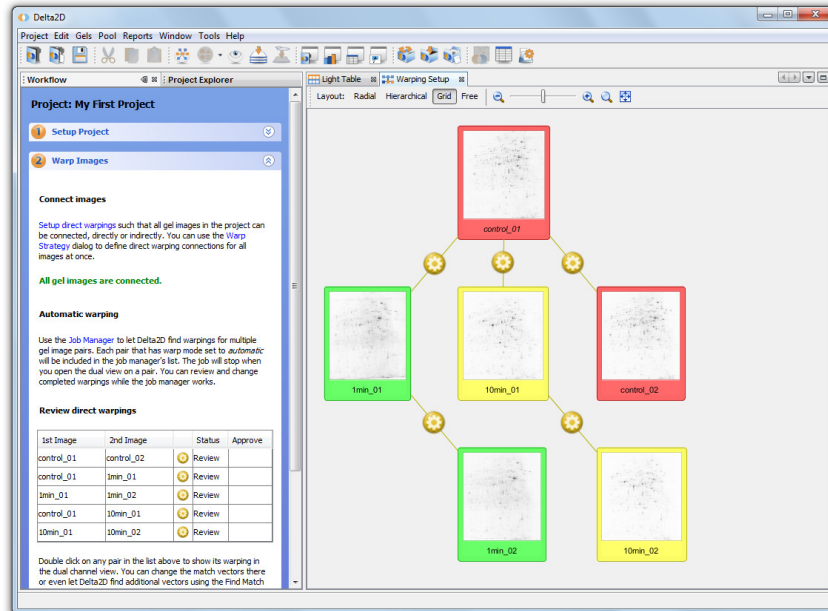
1. Cambie a la segunda etapa del Workflow llamada '**Warp Images**'.
2. Haga clic en el vínculo '[Warp Strategy...](#)' para abrir el '**Warping Strategy Manager**'.
3. Seleccione '**Group Warping Strategy**' y confirme los parámetros por defecto con **OK**.



Cuadro de diálogo 'Warping Strategy Manager'.

4. Abra la ventana '**Warping Setup**' haciendo clic en el vínculo '[Setup direct warpings](#)' del Workflow. La ventana debe tener un aspecto similar a la siguiente imagen:





La ventana **Warping Setup** luego de aplicar la **Group Warping Strategy**.

Utilice el warping automático de Delta2D

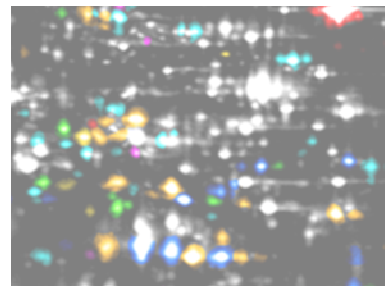
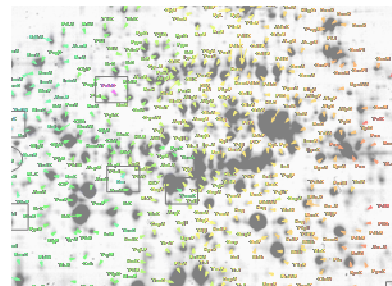
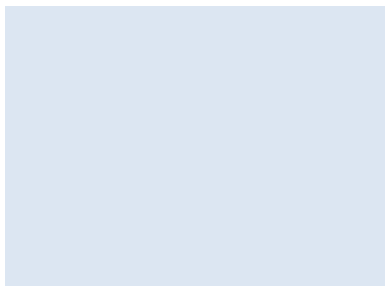
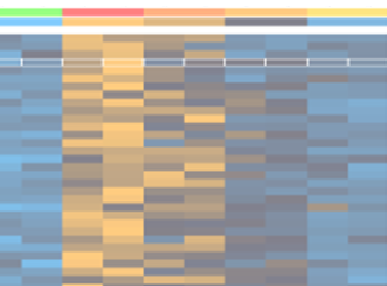
1. Haga clic en el vínculo '[Job Manager](#)'.
2. Ahora haga clic en el botón ▶ dentro del '**Job Manager**'. Monitoreará y ejecutará todos los trabajos automáticos de warping.

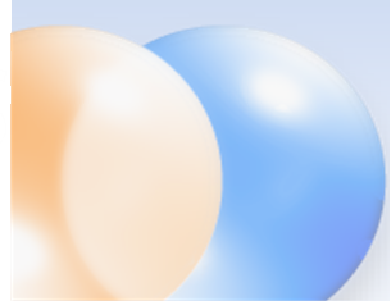
Verifique los resultados de warping

Review direct warpings				
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	

Control de warping directo (Paso 2 del Workflow).

1. Haga doble-clic en la fila de la tabla que se encuentra debajo de '**Review Direct Warpings**' donde se encuentra el símbolo 🔄.
2. Se abre la ventana '**Dual View**' mostrando la superposición de las dos respectivas imágenes.
3. Verifique también si el fondo de la imagen se ha ocultado utilizando el botón '**Show/Hide Background**' (🔍) ubicado en la barra de herramientas.



**Nota:**

Para trabajar con los 'match vectors', seleccione la herramienta 'Match Vector Tool' (botón superior del panel de herramientas vertical izquierdo de la ventana 'Dual View').


Para facilitar el trabajo, puede activar la función "Snap Match Vectors To Spots" de la siguiente manera: 'Tools' > 'Options' > 'Delta2D' > 'Match Vectors'. Para desactivar temporalmente esta función utilice la tecla CTRL.

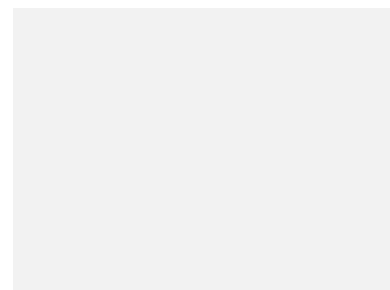
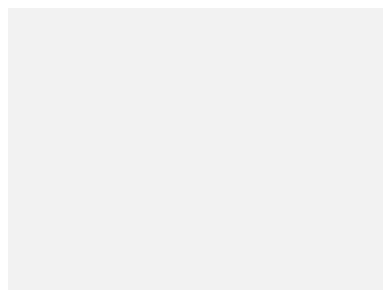
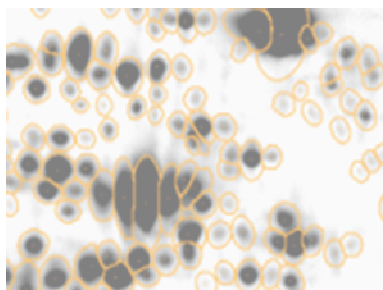
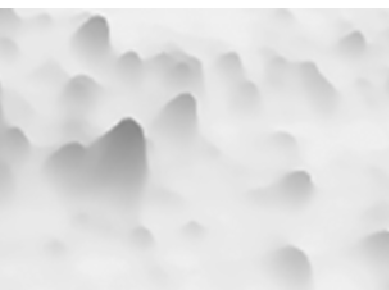
Si hay regiones donde los *vectores 'match' parecen no ser correctos*, usted puede ubicarlos y cambiarlos manualmente:

- **Seleccionar un vector** – haga clic izquierdo sobre el vector.
- **Seleccionar múltiples vectores** – dibuje un rectángulo con el mouse (mantenga presionado el botón izquierdo). Todos los vectores que se encuentran dentro del rectángulo quedarán seleccionados.
- **Eliminar un vector 'match'** – haga clic derecho sobre el vector y seleccione 'Delete' o 'Delete Selected'.
- **Añadir un nuevo vector 'match'** – primero haga clic sobre el spot en la imagen naranja, y luego en el correspondiente spot en la imagen azul.
- **Cambiar un vector 'match'** – arrastre un extremo del vector para cambiar su posición.

Nota:

Para deshacer una operación que involucre vector 'match' haga clic en el botón 'Undo' .

Haga clic en el botón  Warp para aplicar los vectores nuevos. Usted puede iterativamente agregar, corregir y eliminar los vectores 'match' hasta la obtención de un resultado satisfactorio.



3 Detect and Quantify Spots

Genere una imagen de fusión

1. Cambie a la etapa del Workflow denominada '**Detect and Quantify Spots**' y haga clic en el vínculo '**Fuse all images**' para abrir el cuadro de diálogo '**Image Fusion**'.
2. Haga clic en **Fuse** para utilizar la configuración por defecto y permita que Delta2D cree una nueva imagen.

Detecte los spots en la imagen de fusión

1. Haga clic en el vínculo '**Detect Spots on Fused Image...**' del Workflow.
2. En el siguiente cuadro de diálogo, acepte los parámetros de detección propuestos presionando **OK**.

Una vez finalizada la detección, la imagen de fusión aparecerá con los contornos de los spots detectados.



Edite los spots en la imagen de fusión

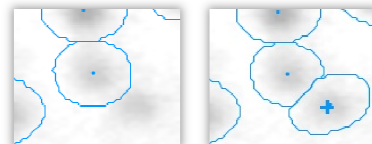
1. Abra la nueva imagen de fusión haciendo clic en '**Open Fused Image using Union...**'.
2. Se abre una ventana '**Dual View**' mostrando una vista simple de la imagen de fusión.

Nota:

Seleccione '**Spot Editing Tool**' (cuarto botón del panel de herramientas vertical izquierdo de la ventana Dual View) para editar los spots.

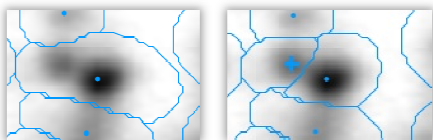
Se recomienda encarecidamente editar los spots **EN LA IMAGEN DE FUSIÓN SOLAMENTE**.

Agregar un nuevo spot



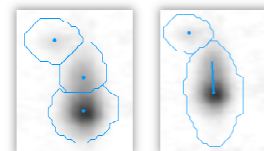
Región de la imagen antes / después de agregar un spot. (Simplemente haga clic en el centro de un spot sin detectar para agregarlo.)

Separar un spot

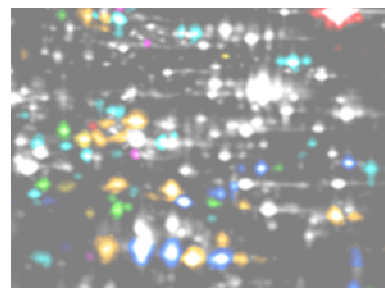
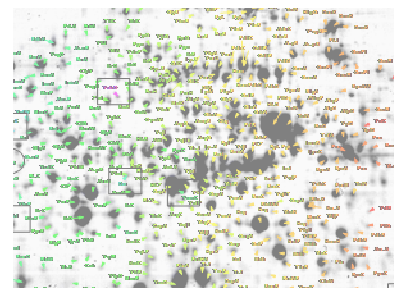
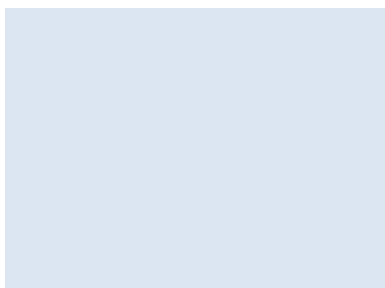
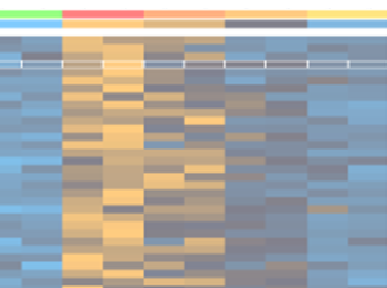


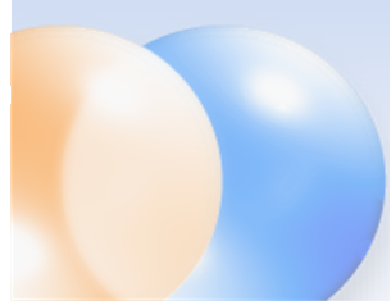
Dos spots, detectados como uno y separados. (Haga un clic en el centro del spot que no fue detectado por separado.)

Unir spots



Ejemplo de spots unidos. (Arrastre una línea desde el centro de un spot hasta el otro.)





Mueva los marcadores de los spots

Los marcadores de los spots se pueden mover arrastrándolos con el botón izquierdo del mouse.

Descarte un marcador de spot

Haga clic con el botón derecho del mouse sobre el marcador de spot para eliminarlo.



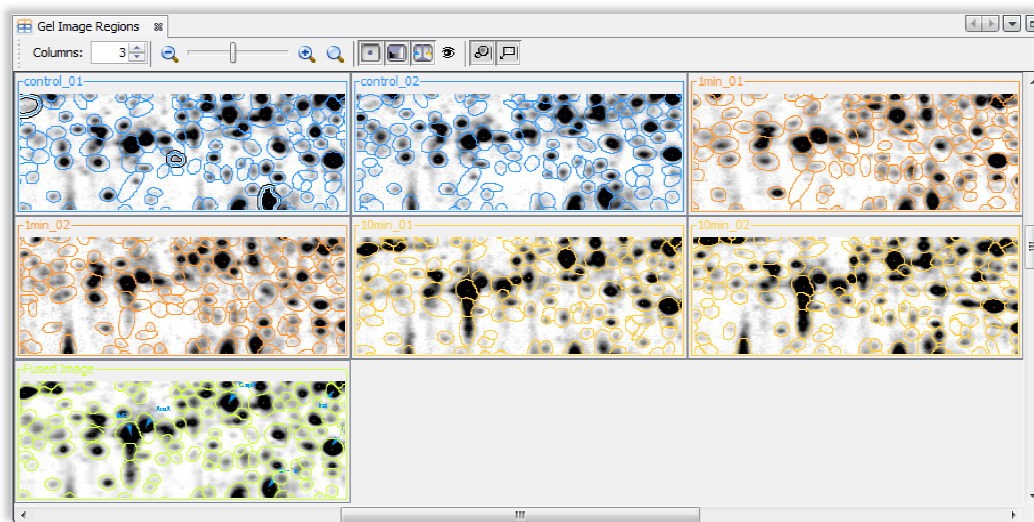
Elimine un spot

1. Active **'Spot Selection Tool'** y seleccione un spot o un grupo de spots.
2. Haga clic con el botón derecho del mouse y seleccione **'Cancel Spot'** / **'Cancel Selected Spots'**.

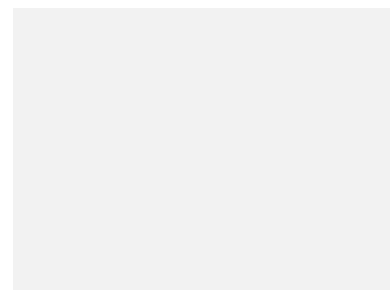
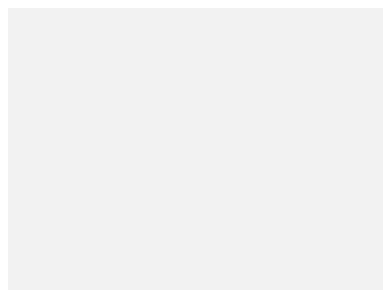
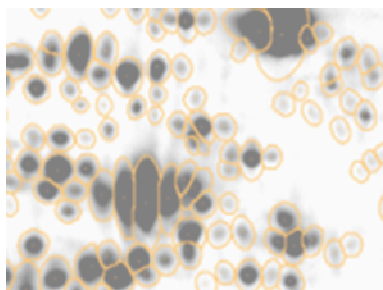
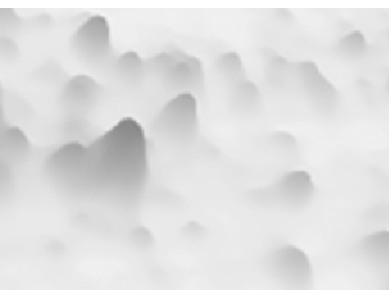
Para ver todos los spots cancelados con los contornos en línea punteada, seleccione **'Spots' > 'Show Canceled Spots'** del menú de Dual View.

Transfiera los spots

1. Haga clic en el vínculo **'Transfer Spots from Fused Image...'** de la etapa **'Detect and Quantify Spots'** del Workflow.
2. Se abrirá el cuadro de diálogo **'Transfer Spots'**. Confirme los parámetros por defecto presionando **OK**.



Visualización de los contornos de los spots luego de la transferencia de spots. Elija el vínculo **'Gel Image Regions'** del Workflow para abrir esta vista. El patrón de spots es el mismo en todos los geles, llevando al 100% de coincidencia de spots.

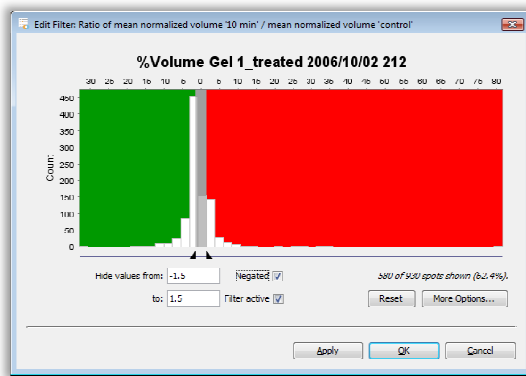


4 Analyze Expression Profiles

Filtre los perfiles de expresión de interés

Nota:

La tabla 'Quantitation Table' está sincronizada con todas las otras vistas de Delta2D: por ejemplo seleccionando un perfil de expresión en la tabla, podrá seleccionar el mismo spot en la 'Dual View'.



Cuadro de diálogo de filtro

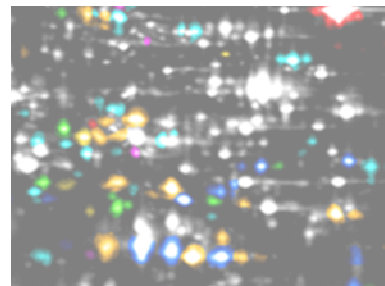
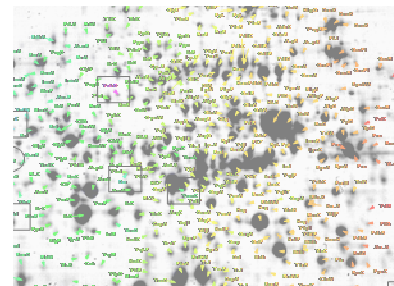
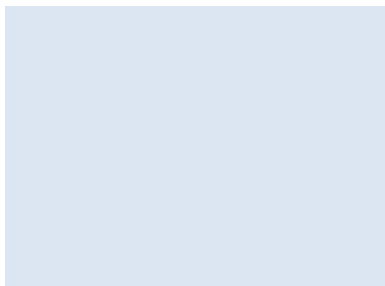
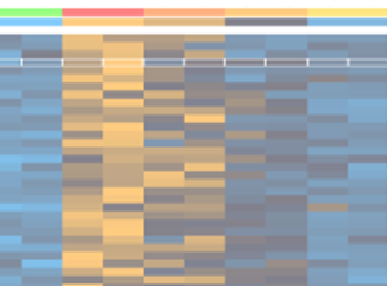
Encontremos los spots dos veces sobrerregulados o subregulados:

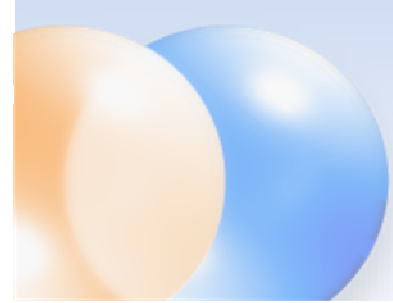
1. Abra la 'Quantitation Table' y cambie a la tabla 'Statistics'.
2. Busque en el grupo 1min la columna '*Ratio mean % volume 1min / mean % volume control*'.
3. Haga clic en el encabezado de la columna etiquetada 'Filter'.
4. Inserte los márgenes de filtro 'Show values from' '0.5' y 'to' '2'.
5. La opción 'Filter active' se seleccionará automáticamente, de ser necesario además puede activar la opción 'Negated'. La última acción cambiará el texto del cuadro de diálogo del filtro a 'Hide values from' '0.5' y 'to' '2'. Confirme con **OK**.
6. Abra la 'Dual View' con las imágenes 'control_01' y '1min_01'. Sólo los contornos de los spots que cumplan el criterio serán visibles.

Análisis estadístico avanzado

Delta2D incluye un método estadístico multivariado avanzado para el análisis de los geles 2D, entre ellos:

- Visualización **Heat map** de los perfiles de expresión
- Varios métodos de reagrupamiento como **Hierarchical Clustering, k-means / medians Clustering**
- Numerosas variaciones del **t-Test**
- Análisis de la varianza (**ANOVA**)
- Tests no paramétricos como **Wilcoxon / Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Mack-Skillings**, y el test **Fisher-Exact**
- Pavlidis Template Matching para los perfiles de expresión y las imágenes de los geles (**PTM**)
- Análisis de componentes principales (**PCA**)

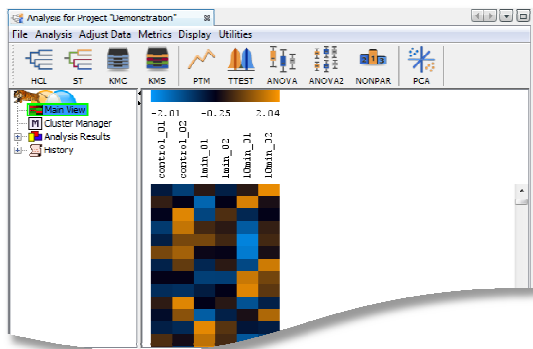




Nota:

El proyecto de ejemplo en realidad es demasiado pequeño para confiar en los resultados estadísticos, sin embargo ayuda a entender cómo funciona el análisis estadístico de Delta2D.

Obteniendo una visión general de los datos de expresión – 'heat map'




Heat map del proyecto de ejemplo.

Haga clic en el vínculo '[Analysis](#)' en la etapa '**Analyze Expression Profiles**' del Workflow.

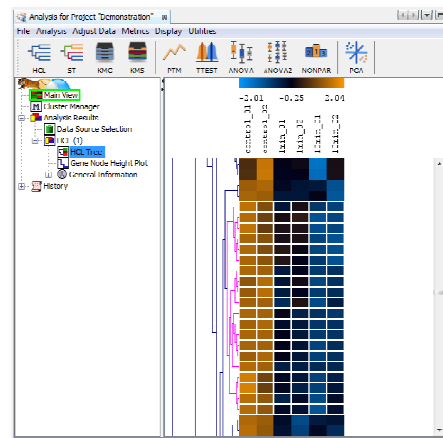
La leyenda de la parte superior muestra el código de color para la intensidad de los spots. Cada columna contiene todas las intensidades de los spots de la imagen de un gel. Cada fila muestra la intensidad de un spot en todas las diferentes imágenes de su proyecto. Los datos están normalizados / estandarizados por defecto.

Descubriendo patrones en los perfiles de expresión

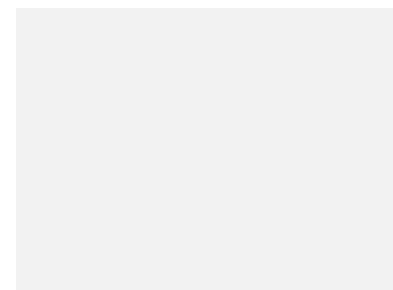
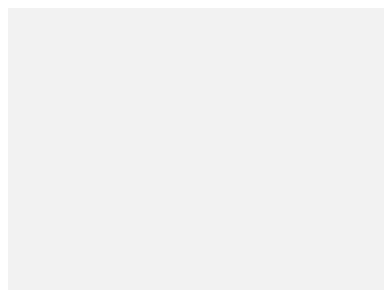
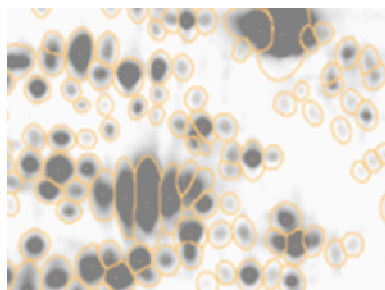
1. Presione el botón  de la barra de herramientas. Elija '**Gene Tree**', '**Euclidian Distance**' y '**Complete Linkage**'.
2. Confirme presionando .

El árbol representa similitudes entre los perfiles de expresión.

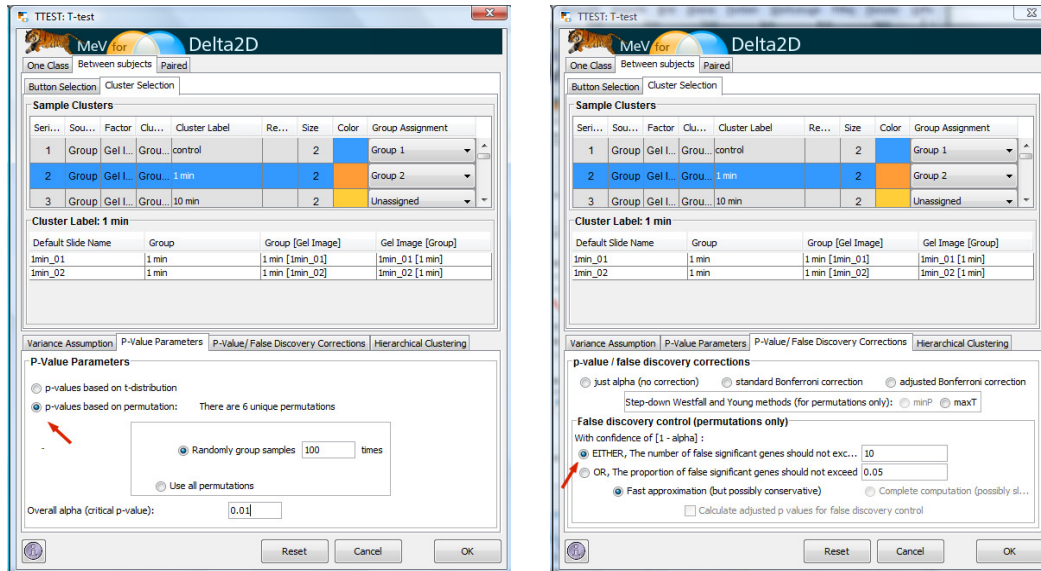
Si realiza esto para el '**Sample Tree**', todas las replicas de la misma muestra deberían aparecer en el mismo grupo (subárbol). Si esto no sucede, indicaría que el proyecto contiene datos atípicos – debido por ejemplo a una imagen muy diferente a sus replicas consecuencia de un problema experimental. En este caso, debería considerar eliminar la imagen del proyecto (como ha ocultado la imagen de fusión, abra el análisis nuevamente).




Agrupación jerárquica (Hierarchical Clustering) de los perfiles de expresión.



Encontrando proteínas expresadas diferencialmente: Tests estadísticos

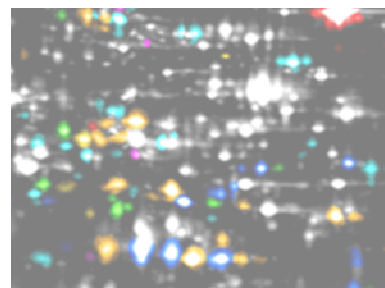
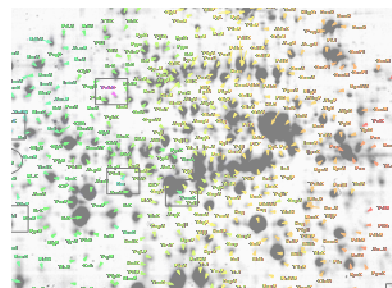
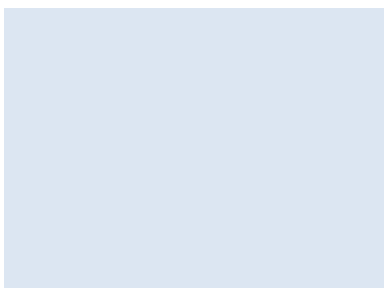
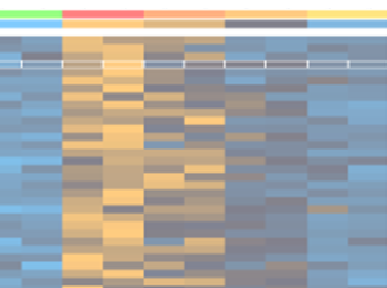


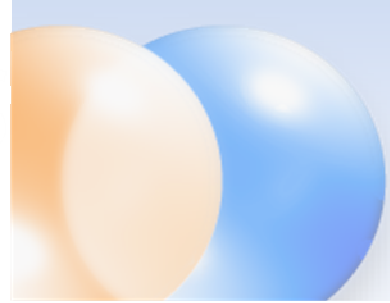
Parámetros del t-Test.

1. Haga clic en el botón .
2. Seleccione 'p-values based on permutations' (primera flecha roja).
3. En el área 'False discovery control' del cuadro de diálogo, defina los límites para el número de spots falsos positivos en el set de resultados utilizando 'number of false positive genes should not exceed' o 'proportion of false positive genes should not exceed' (segunda flecha roja).
4. Confirme con para mostrar el 'heat map' con los spots estadísticamente significativos.

Nota:

Hay mucho más para saber sobre los análisis estadísticos de Delta2D. Por favor, consulte los manuales de Delta2D y TMeV o contáctenos a través de support@decodon.com para una demostración web gratuita.





5 Present Results

Cree presentaciones interactivas en informes HTML

Elija del menú 'Reports' uno de los siguientes informes:



**Project
Summary**



Spot Album



**Spot
Quantities**



Labels

Información general sobre las muestras, grupos, imágenes de los geles, etc.

Información detallada de los spots seleccionados / marcados. Haga clic en el **gráfico de barras / Spot ID** para seleccionar los spots en Delta2D y abrir el informe detallado correspondiente.

Lista de todas las etiquetas (labels) o aquellas para los spots seleccionados / marcados incl. scout data.

Nota:

Para marcar spots elija 'Mark' > 'Mark selected spots' en la tabla 'Quantitation Table' o haga clic derecho y seleccione 'Mark spot' en la 'Dual View'.

Exporte tablas a MS Excel

1. Abra la tabla 'Quantitation Table'.
2. Del menú de la tabla, elija 'Export' > 'Export to Excel'.

Exporte vistas de las imágenes a MS PowerPoint

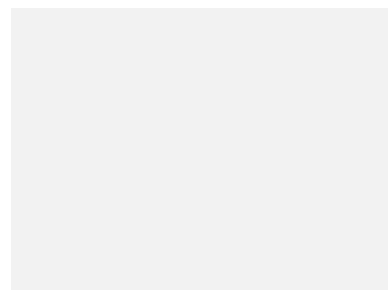
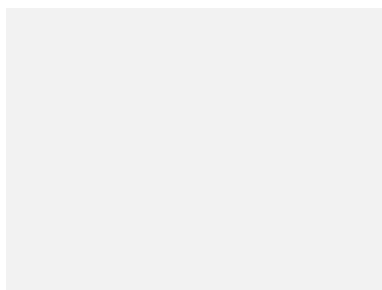
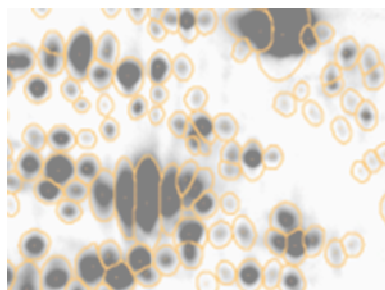
1. Abra 'Dual View' para cualquier par de imágenes.
2. Elija 'Export' > 'Export to PowerPoint' y confirme con .
3. Siga las instrucciones de la pantalla para crear la diapositiva de MS PowerPoint.

Nota:

Los macros deben estar habilitados en MS Excel y MS PowerPoint para poder exportar los datos. I.e. es necesario que los parámetros de seguridad macro estén en medios o bajos.

Exporte las listas de selección ('picklists')

1. Abra 'Dual View' para cualquier par de imágenes de geles.
2. Elija 'Export' > 'Export Picklists', seleccione su sistema robótico de muestreo de spots (Spot Picker) y el gel del cual quiere que se recorten los spots.
3. Confirme con .



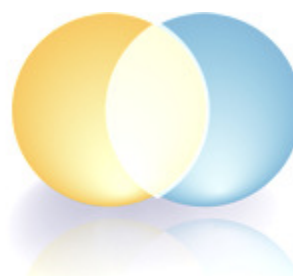
¿Dónde puedo obtener más información sobre Delta2D?

La forma más fácil de aprender más es visitar nuestro sitio web <http://www.decodon.com> o contactarnos por Email a support@decodon.com. Estaremos encantados de responder sus consultas o hacer una demostración en directo vía Internet.

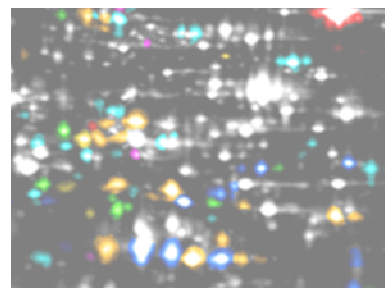
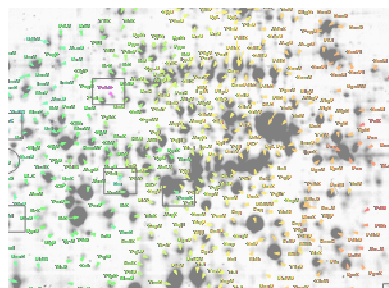
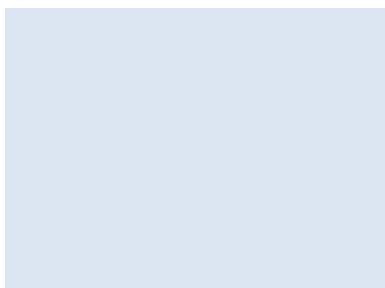
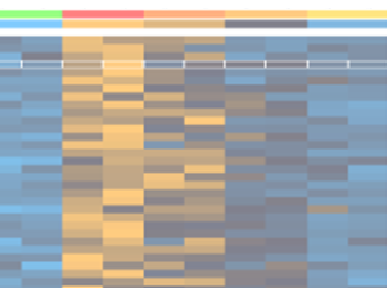
Nota:

Si necesita más información detallada sobre Delta2D, por favor consulte el manual de Delta2D. Puede acceder al manual a través del menú 'Help' > 'Help ...' de Delta2D, o buscándolo en el directorio de instalación como un archivo PDF. En Windows, existe un vínculo directo al manual en el menú Inicio. El manual también está disponible para ser descargado en nuestro sitio web o para navegación online!

Su equipo DECODON



Si tiene algún comentario o sugerencia sobre este manual '**Getting Started with Delta2D Guide**' o sobre cualquier otro de nuestros documentos estaremos encantados de oírla.





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