

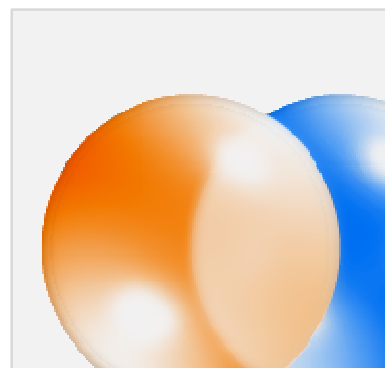
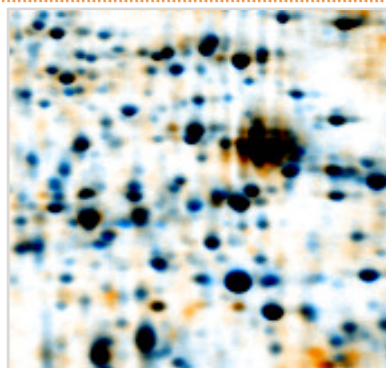
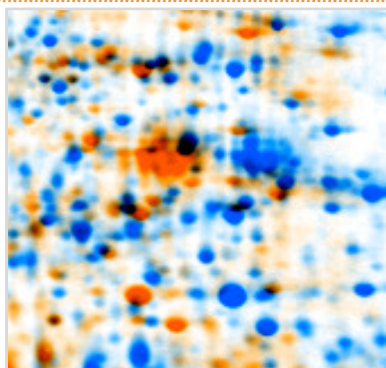
Pierwsze
Kroki

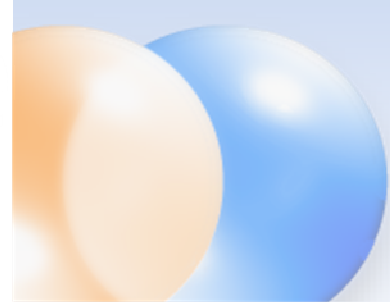
Polski



Delta2D

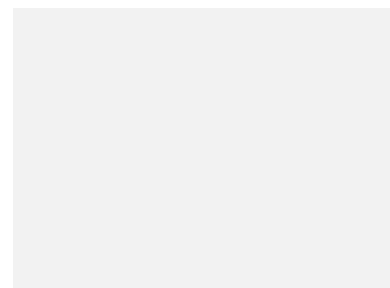
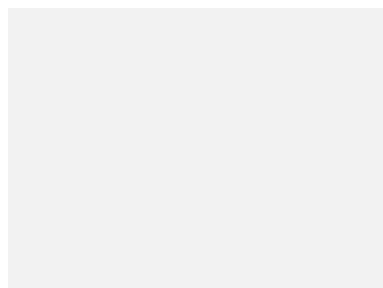
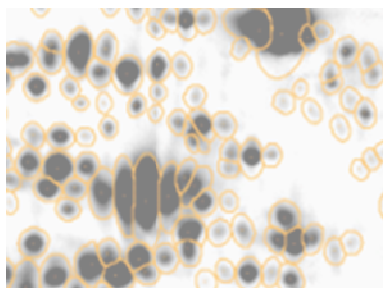
ANALYZING 2D GELS
AS EASY AS POINT AND CLICK

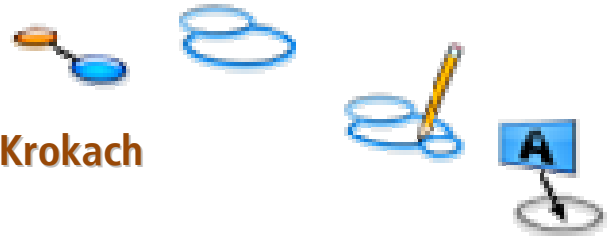




Copyright DECODON GmbH. DECODON makes no representations, express or implied, with respect to this documentation or the software it describes, including without limitations, any implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, all of which are expressly disclaimed. Users should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





Analizowanie obrazów jedynie w 5 Krokach

1 SetupProject

Ustaw eksperymenty tradycyjne lub multipleksowe (Refraction-2D lub DIGE). Importuj swoje obrazy żelu do Delta2Di uszereguj kopie w grupach.

2 Warp Images

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

3 Detect and Quantify Spots

Wykonaj detekcję spotów w całym projekcie.

4 Analyze Expression Profiles

Znajdź interesujące spoty.

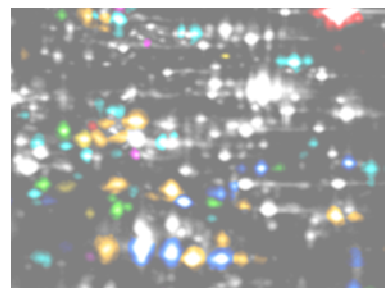
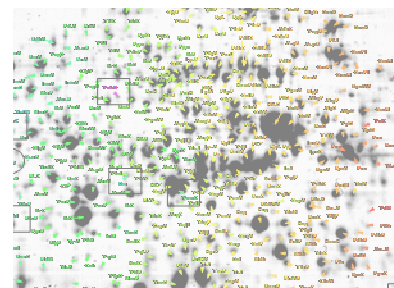
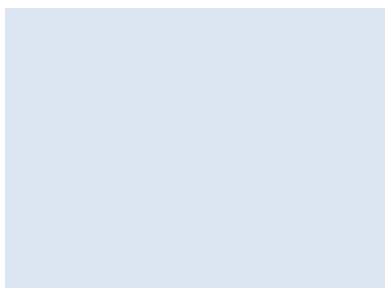
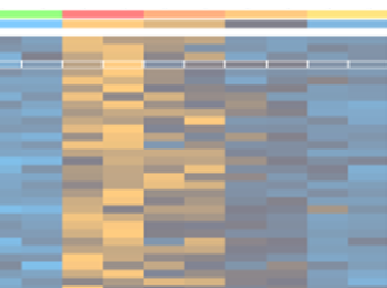
5 Present Results

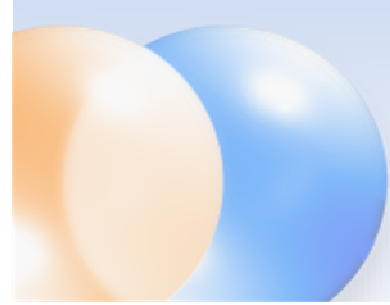
Eksportuj wyniki do innych aplikacji w celu prezentacji lub dalszych analiz.

Uwaga:

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

Grupa	Pliki obrazów (2 kopie na grupę)
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

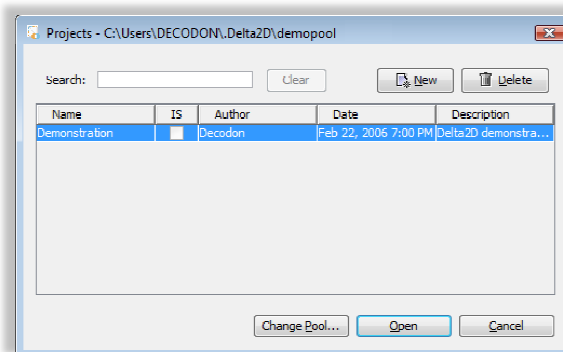
Utwórz nową bazę danych

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 okno dialogowe przyciskając **Yes**.

Utwórz i otwórz nowy projekt

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

1. Kliknij przycisk **New**, aby utworzyć nowy projekt.
2. Podaj przynajmniej jedną nazwę dla swojego nowego projektu i potwierdź wciskając **OK**.
3. Wybierz nowy projekt z listy i naciśnij **Open**.

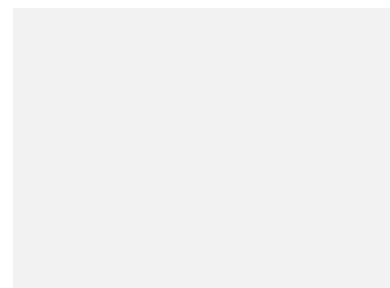
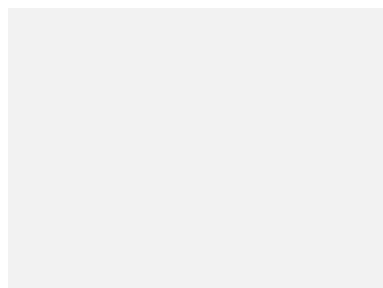
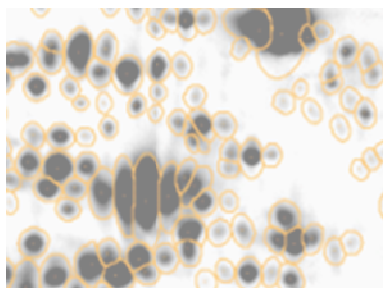


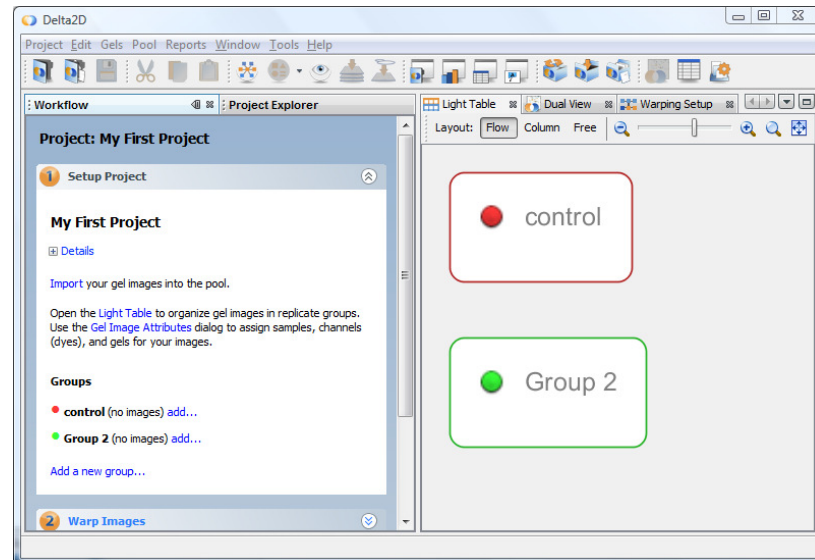
Okno dialogowe dla projektów Delta2D.

Ustaw grupy dla obrazów żelu

Stwórz *trzy grupy* dla naszego eksperymentu - po jednej dla każdego z trzech par kopii. Najpierw użyjmy już istniejących dwóch grup – tak jak jest to przedstawione w tabeli Light Table:

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

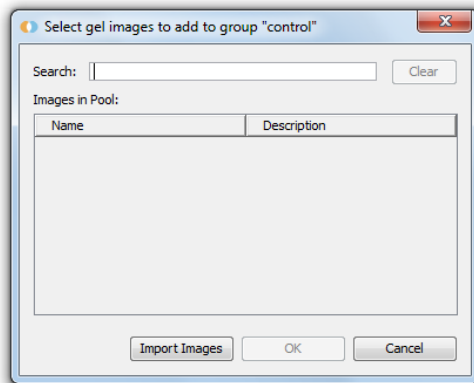




Delta2D's Workflow i LightTable – pokazujące nierozpoczęty projekt.

Utwórz nową grupę '**10min**', klikając link '[Add a newgroup...](#)' w Workflow

Dodaj obrazy żeli do swoich grup

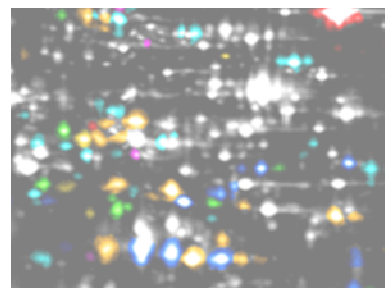
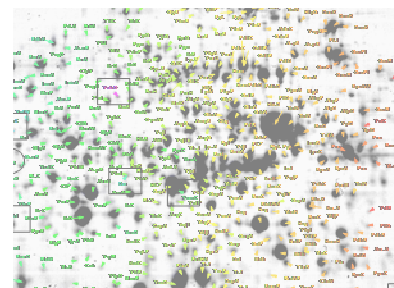
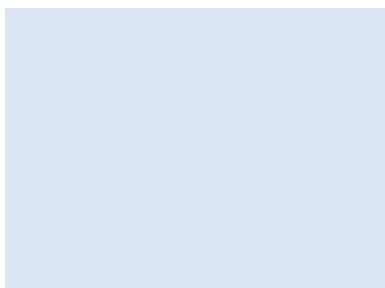
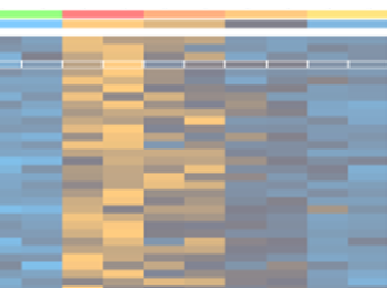


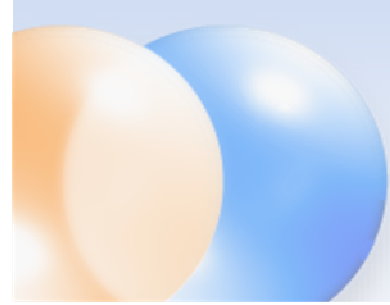
Delta2D's Gel Import Manager

1. W Workflow kliknij link '[Add...](#)' znajdującym się obok grupy **control**.
2. Kliknij **Import Images** i wybierz dwa obrazy '**control_01**' i '**control_02**' z *example data* używając lewego przycisku myszki jednocześnie z klawiszem **CTRL**. Kliknij **Next**.
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.

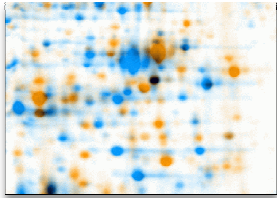
4. Kliknij **Finish**, aby zapisać ustawienia i zamknąć okno dialogowe.

Należy importować przykładowe obrazy '1min_01' oraz '1min_02' jak i '10min_01' oraz '10min_02' do ich właściwych grup.

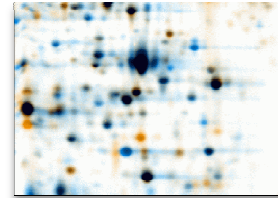




2 Warp Images



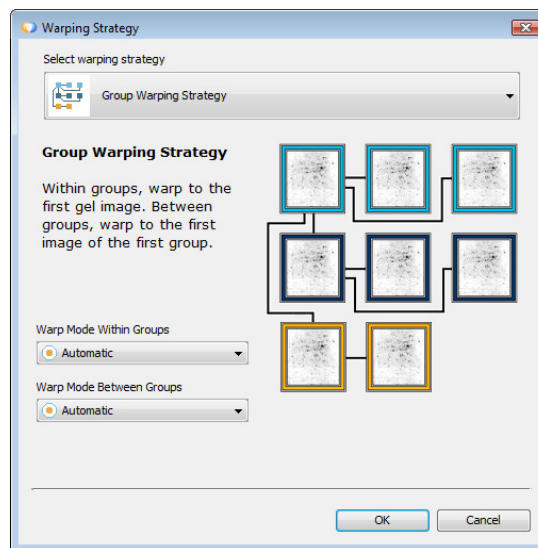
Dwa obrazy żeli nałożone, by powstał obraz dwukanałowy, przed opracowaniem cyfrowym.



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

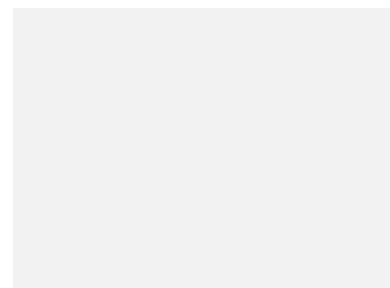
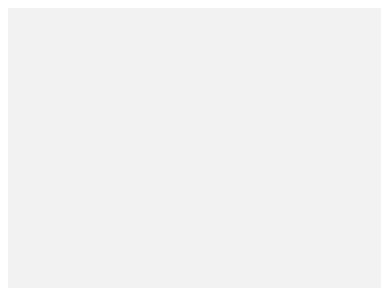
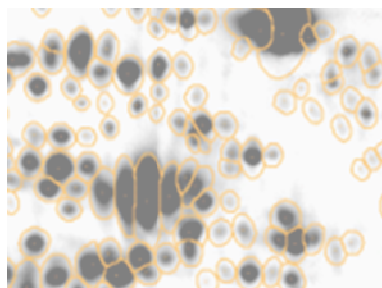
Określ strategię obróbki cyfrowej

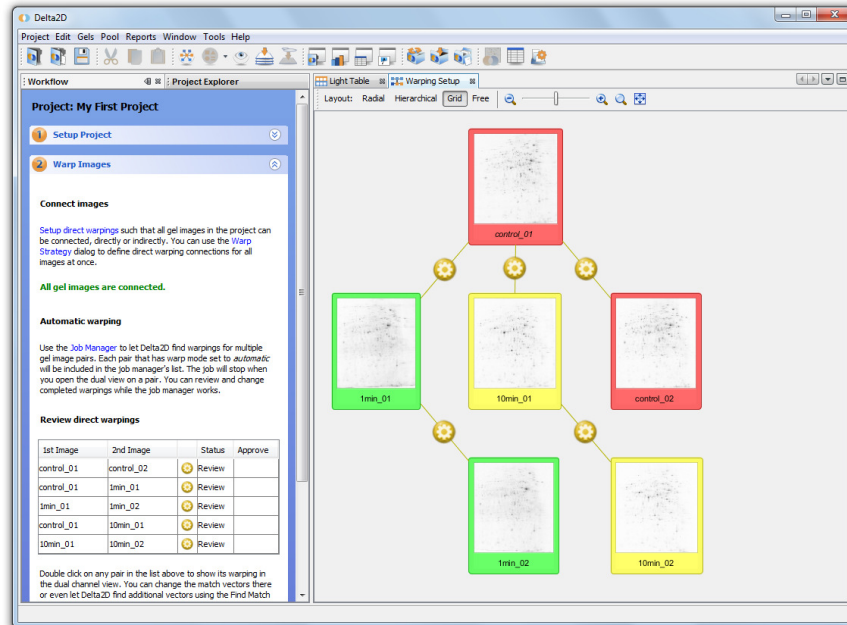
1. Przejdź do następnego kroku w **'Workflow'** o nazwie **'WarpImages'**.
2. Kliknij link **'Warp Strategy...'**, aby otworzyć **'Warping Strategy Manager'**.
3. Wybierz **'Group Warping Strategy'** i potwierdź ustawienia domyślne wciskając **OK**.



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 **Group Warping Strategy**.



Użyj automatycznej cyfrowej obróbki obrazów Delta2D

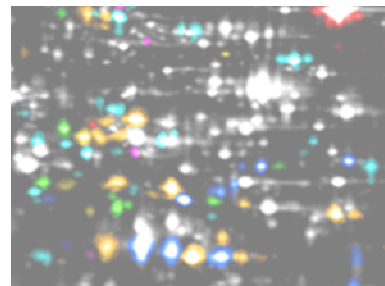
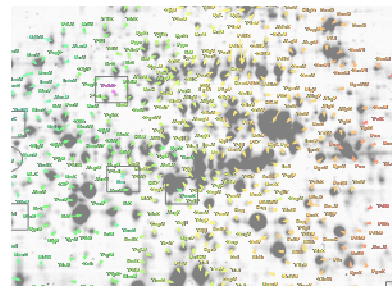
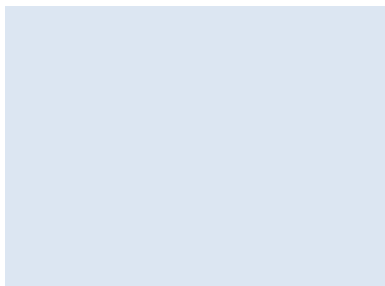
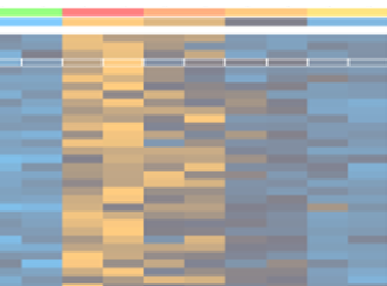
1. Kliknij link '**Job Manager**'.
2. Wystarczy kliknąć klawisz '**Start**'  w '**Job Manager**'. Będzie on monitorować i wykonywać wszystkie prace automatycznej obróbki cyfrowej obrazów.

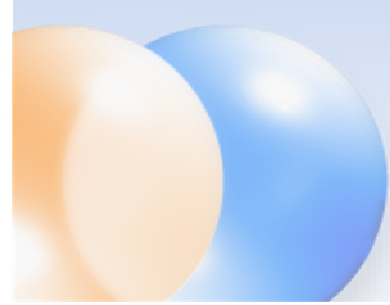
Przeglądaj wyniki

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	

Przegląd wyników automatycznej obróbki obrazów (krok 2 Workflow).

1. Kliknij dwukrotnie na rząd w tabeli znajdujący się 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.



**Uwaga:**

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


Dla ułatwienia możesz włączyć "SnapMatchVectors To Spots". Można to zrobić wchodząc w 'Tools' > 'Options' > 'Delta2D' > 'MatchVectors'. Tymczasowo wyłącz to za pomocą klawisza CTRL.

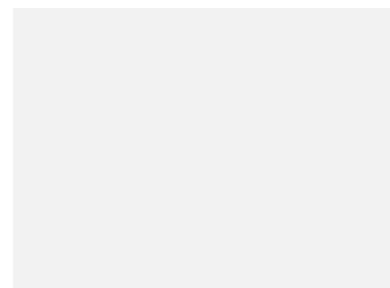
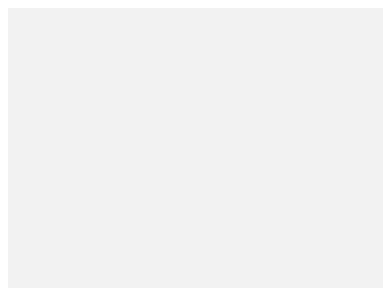
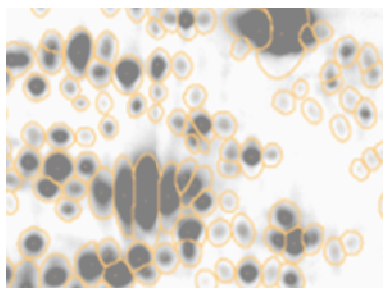
Jeśli występują miejsca, **w których wektory zdają się być nieprawidłowe**, możesz ustawić i zmienić wszystkie wektory dopasowania manualnie:

- **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 wektor dopasowania** – kliknij prawym przyciskiem na wektor i wybierz 'Delete' lub 'DeleteSelected'.
- **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 przyporządkowane wektory aż do chwili, gdy będziesz zadowolony z uzyskanego wyniku.



3 Detect and Quantify Spots

Generowanie obrazu połączonego

1. Przejdź do następnego kroku w 'Workflow' o nazwie 'Detect and Quantify Spots' i kliknij link 'Fuse all images', aby otworzyć okno dialogowe 'Image Fusion'.
2. Kliknij **Fuse**, aby użyć ustawień domyślnych i pozwolić Delta2D na stworzenie nowego obrazu.

Wykryj spoty na obrazie łącznym

1. Kliknij link 'Detect Spots on Fused Image...' w Workflow.
2. W następnym oknie dialogowym, zaakceptuj proponowane parametry wykrywania poprzez naciśnięcie **OK**.

Po ukończeniu wykrywania, pojawi się obraz łączny wraz z wykrytymi granicami spotów.

Edytuj spoty na obrazie łącznym



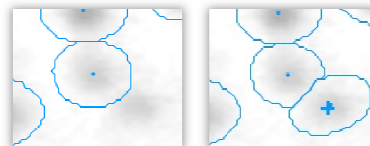
1. Otwórz nowy obraz łączny klikając 'Open Fused Image using Union...!'
2. Otwiera się okno 'Dual View' pokazujące tylko pojedynczy widok obrazu łącznego.

Uwaga: _____

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

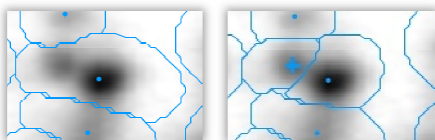
Zdecydowanie zalecamy edytowanie spotów **JEDYNIEM NA OBRAZACH ŁĄCZNYCH**.

Dodawanie nowego spotu



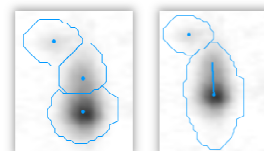
Obszar obrazu przed / po dodaniu spotu.
(Wystarczy kliknąć na środek niewykrytego spotu aby go dodać.)

Rozdzielenie spotu

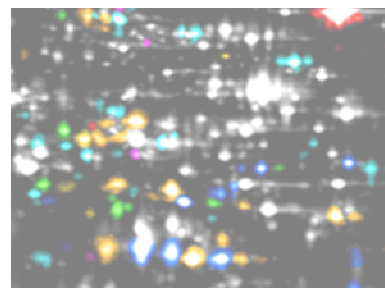
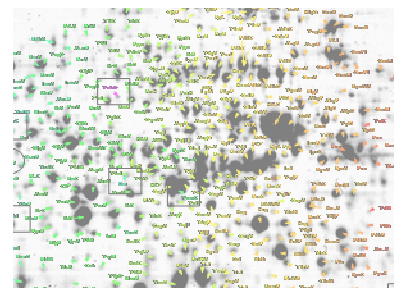
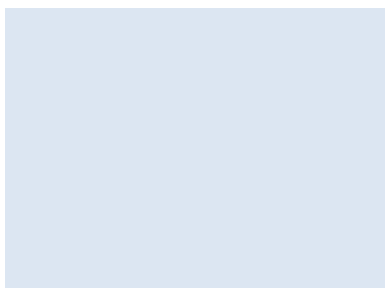
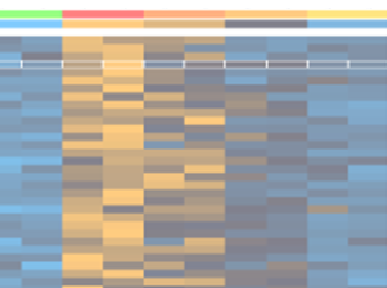


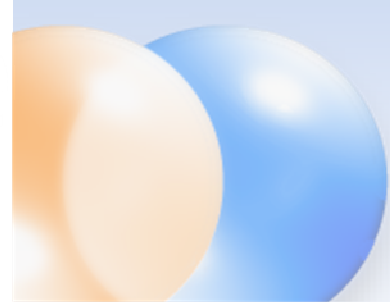
Dwa spoty, wykryte jako jeden oraz rozdzielnie.
(Kliknij raz na środek spotu, który nie został wykryty oddzielnie)

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.

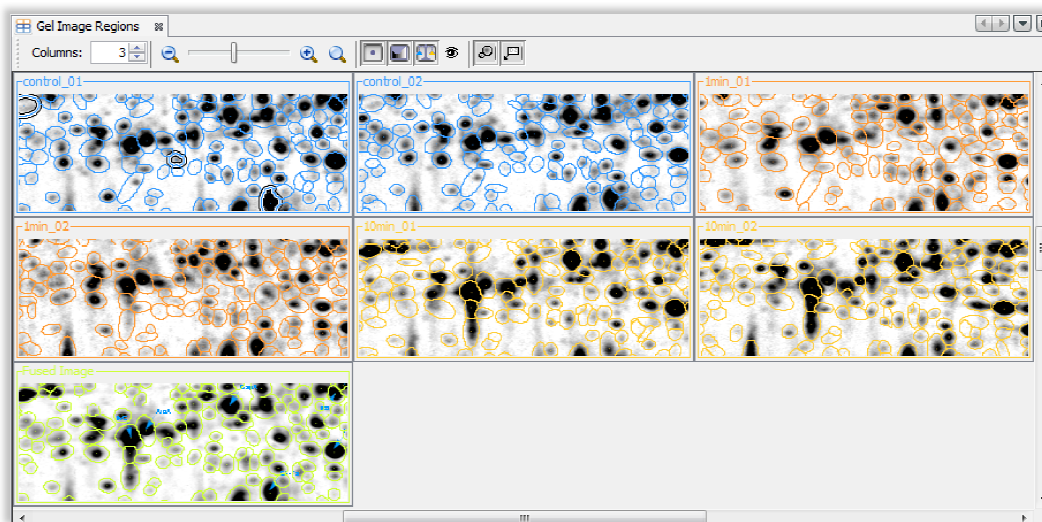


Usuwanie spotów

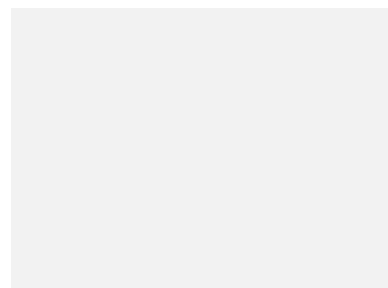
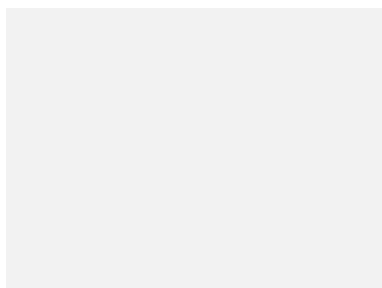
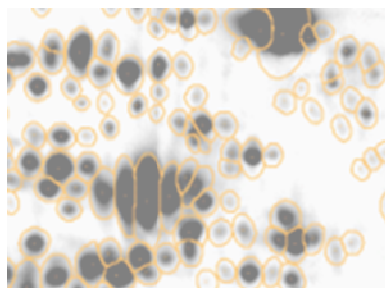
1. Uruchom **'Spot SelectionTool'** i wybierz spot bądź grupę spotów.
2. Kliknij prawym klawiszem i wybierz **'Cancel Spot' / 'Cancel Selected Spots'**.
Aby zobaczyć wszystkie anulowane spoty z granicami wytyczonymi przerywaną linią, wybierz **'Spots' > 'Show Canceled Spots'** z menu Dual View.

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 **OK**.



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.

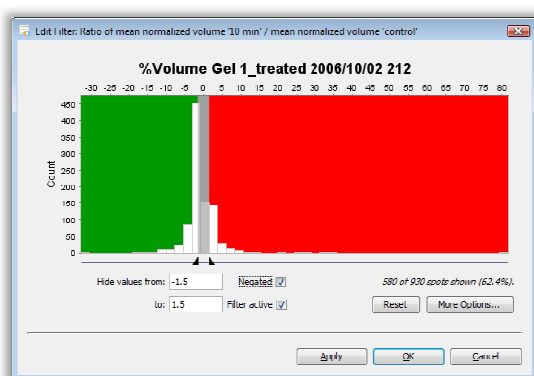


4 Analize Expression Profiles

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 1min '*Ratio mean % volume 1 min / mean % volume control*'.
3. Kliknij nagłówek górnej części kolumny określony mianem 'Filter'.
4. Ustaw granice filtra 'Show values from' '0.5' i 'to' '2'.
5. 'Filter active' 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 'control_01' i '1min_01'. Jedynie spoty spełniające nasze kryteria będą widoczne.

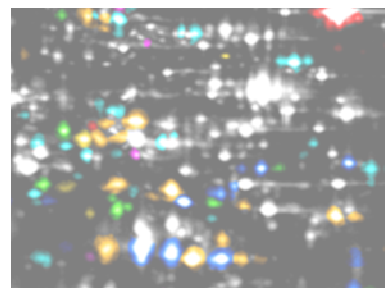
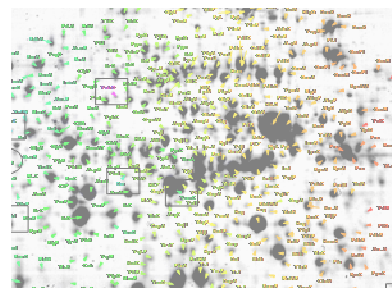
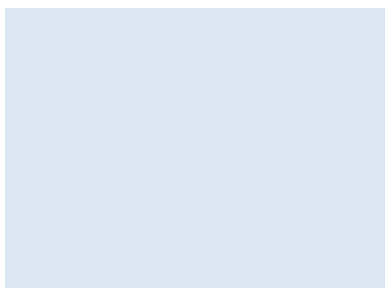
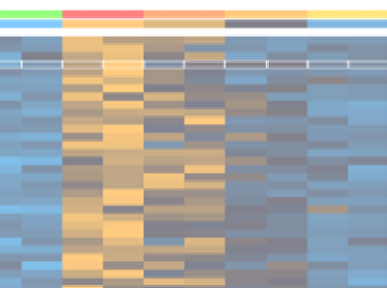
Zaawansowane Analizy Statystyczne

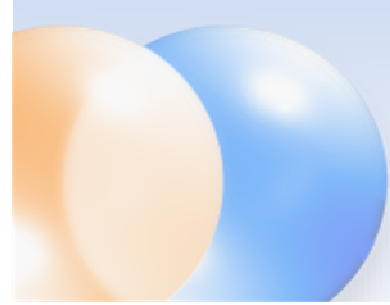
Delta2D zawiera zaawansowane wielowymiarowe statystyki dla analizy żeli 2D, w tym:

- **Heat map** pokazująca profile ekspresji
- Różnorodne metody analizy skupień, w tym **Analiza Hierarchiczna, Analiza k-średnich / 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**)

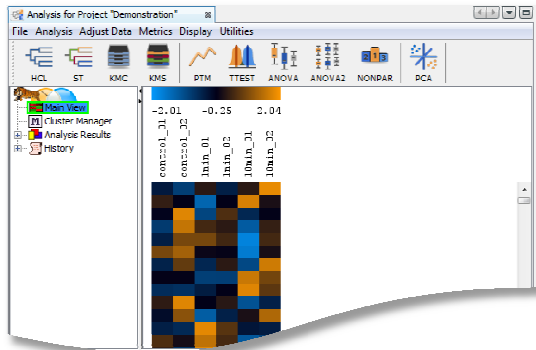
Uwaga: _____

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





Uzyskanie przeglądu wysokiej jakości danych ekspresji – Heat map




Heat map dla przykładowego projektu.

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

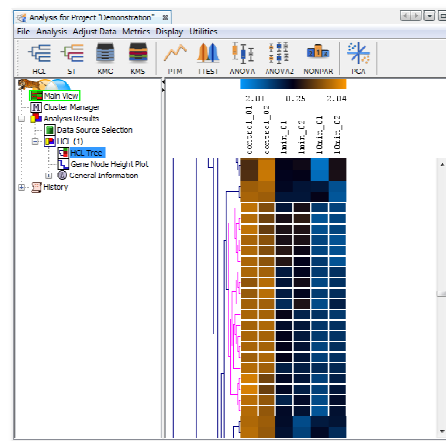
Legenda na górze pokazuje kod kolorystyczny intensywności spotów. Każda kolumna zawiera wszystkie intensywności spotów jednego obrazu żelu. Każdy rząd pokazuje intensywność pojedynczego spotu na wszystkich innych obrazach w twoim projekcie. Dane są unormowane/ujednoliczone domyślnie.

Wykrywanie wzorów w profilach ekspresji

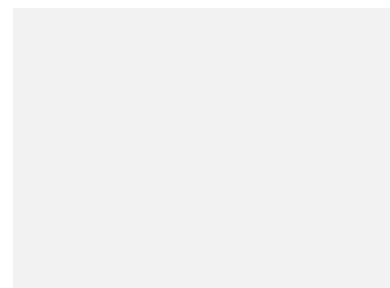
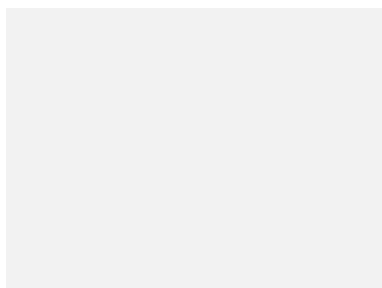
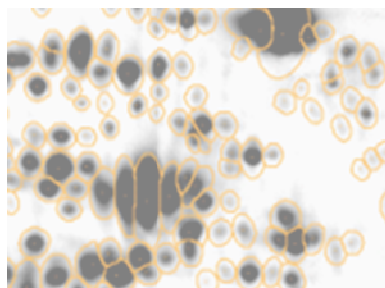
1. Naciśnij klawisz  w pasku toolbar. Wybierz 'Gene Tree', 'Euclidian Distance' i 'Complete Linkage'.

2. Aby potwierdzić wciśnij .

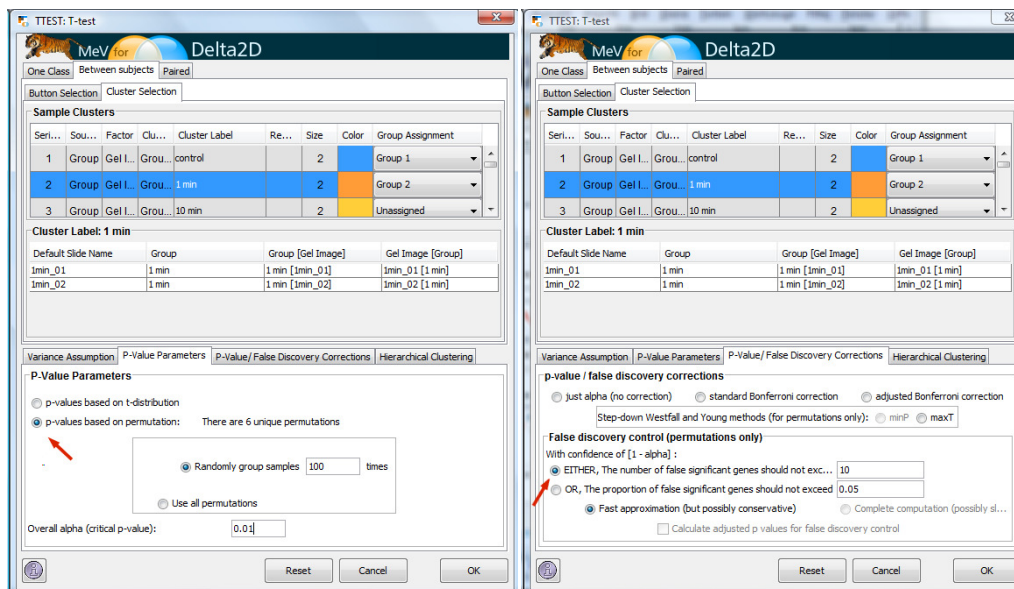
Schemat drzewa przedstawia podobieństwa pomiędzy profilami ekspresji. Jeśli wykonasz to samo dla 'Sample Tree', wszystkie kopie tej samej próbki powinny pojawić się w tym samym klastrze (poddrzewo). Jeśli tak się nie stanie, wskazuje to na fakt, że w twoim projekcie znajdują się odstępstwa – ze względu na np. problemy doświadczalne żel znacznie różni się od innych kopii. Powinieneś rozważyć usunięcie tego obrazu żelu ze swojego projektu (jeśli ukryłeś obraz scalony, wówczas otwórz ponownie Analysis).




Klastr hierarchiczny dla profili ekspresji.



Odnajdowanie białek o zmienionej ekspresji: testy statystyczne

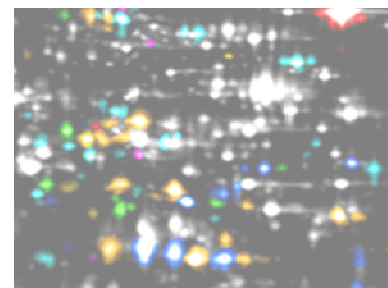
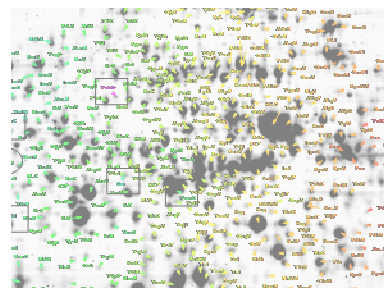
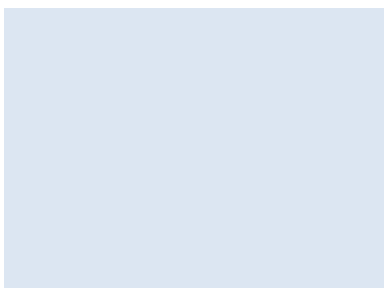
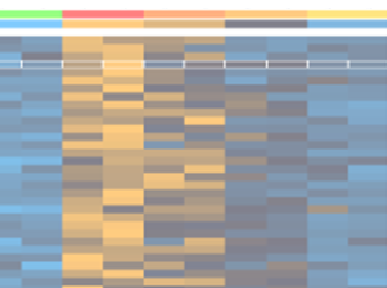


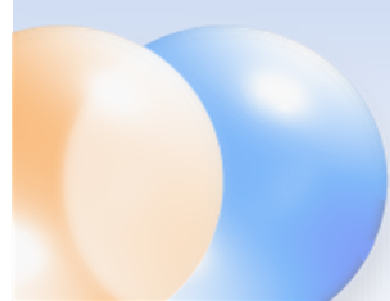
Parametry t-Test.

1. Kliknij klawisz .
2. Wybierz 'p-values based on permutations' (pierwsza czerwona strzałka).
3. W części okna dialogowego 'False discovery control' określ limity 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 , aby zobaczyć mapę ciepłą pokazującą jedynie istotne spoty.

Uwaga:

Więcej informacji na temat analizy statystycznej znajdziecie Państwo w Delta2D. Oprócz Delta2D, 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.





5 Present Results

Tworzenie interaktywnych raportów-HTML

Wybierz jeden z poniższych raportów z menu 'Reports':



**Project
Summary**



Spot Album



**Spot
Quantities**



Labels

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

Szczegółowe informacje dotyczące wybranych /zaznaczonych spotów. Kliknij **barchart / id**, aby wybrać spot w Delta2D i otwórz dla niego szczegółowy raport.

Umieszczenie w spisie wszystkich oznakowań lub tych dla wybranych /zaznaczonych spotów, w tym scout 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

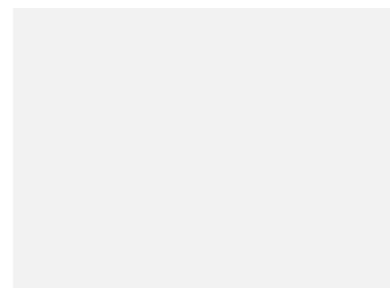
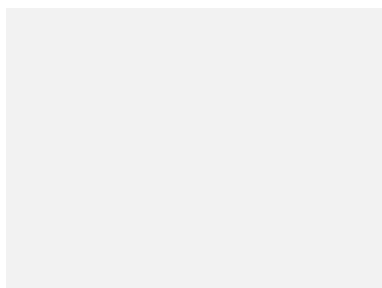
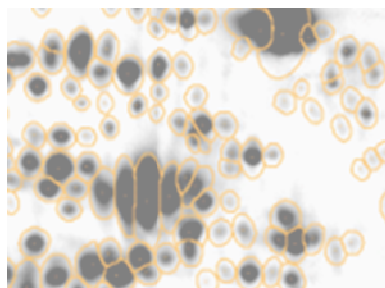
1. Otwórz 'Dual View' dla jakiegokolwiek pary obrazów żelu.
2. Wybierz 'Export' > 'Export to PowerPoint' i potwierdź wciskając .
3. Postępuj zgodnie z poleceniami na ekranie, aby utworzyć slajd w MS PowerPoint.

Uwaga:

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 jakiegokolwiek pary obrazów żelu.
2. Wybierz 'Export' > 'Export Picklists', a następnie wybór urządzenia oraz żel, z którego chciałbyś wybrać spoty.
3. Potwierdź wciskając .



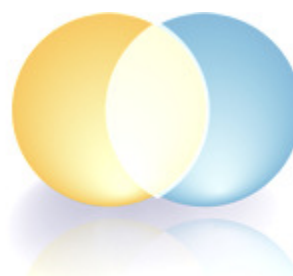
Gdzie mogę dowiedzieć się więcej na temat Delta2D?

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 udostępniemy więcej materiału w demonstracji na żywo w sieci.

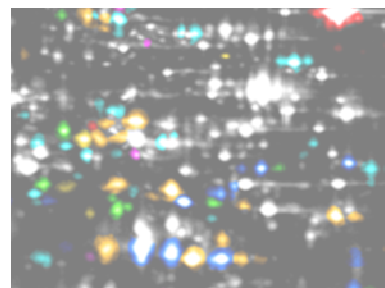
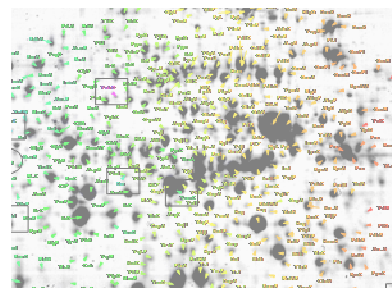
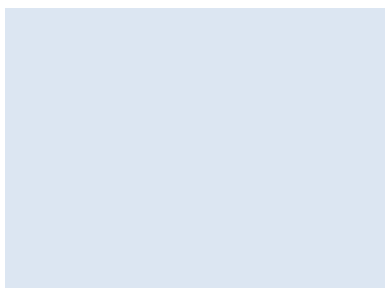
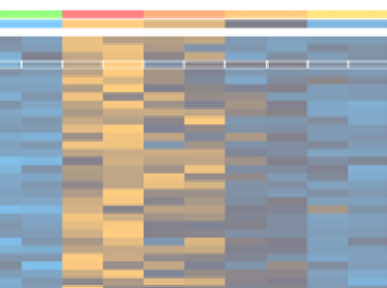
Uwaga:

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 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