



**Achtung:**

**Bitte lesen Sie sorgfallig die nachfolgenden Instruktionen. Folgen Sie den Anweisungen, bevor Sie die Software nutzen.**



**Hinweis:**

**Alle Anstrengungen wurden unternommen, um Fehler in Text und Abbildungen zu vermeiden. Sollten dennoch Fehler auftreten, übernimmt BioSciTec GmbH keine Verantwortung für Fehler in dieser Beschreibung.**



BioSciTec GmbH  
Westerbachstrasse 47  
60489 Frankfurt/Main  
Deutschland  
Tel:+49 (0) 69.420.828.84  
Fax:+49 (0) 69.420.828.86



Version 6.0  
Februar 2007

**Copyright Informationen**

Die Inhalte dieses Dokuments sind Eigentum der BioSciTec GmbH. Die Inhalte dürfen nicht ohne schriftliche Einwilligung kopiert, reproduziert und auf Dritte übertragen werden.

Copyright  BioSciTec GmbH. All rights reserved. Printed in Germany 2007

Document Version 10.0

## A. Allgemeines

### A.1. Über das vorliegende Manual

- Allgemeine Informationen
- Installation der Software
- Arbeiten mit der Software

### A.2. Warnungen, Hinweise, Informationen und Zeichen



**Hinweis:** Gibt Hilfen und Arbeitserleichterungen



**Achtung:** Weist auf die Gefahren für Leib, Leben und Geräte hin, die entstehen können, wenn die Anleitungen nicht befolgt werden.



**Stopp:** Eine Handlung könnte die Software und Daten unbrauchbar machen



Hergestellt durch



Herstellungsdatum

### A.3. Sicherheit

- Nutzen Sie die Software nur, wenn kein weiteres Programm auf dem Rechner ausgeführt wird. Applikationen, die für das stabile Arbeiten der Windowsoberfläche benötigt werden, sind selbstverständlich in Betrieb zu lassen.
- Lesen Sie alle Informationen in diesem Dokument. Haben Sie Probleme den Text zu verstehen, so wenden Sie sich bitte an Ihren Betreuer der Softwarelizenz. Das Nicht-Einhalten von Vorschriften kann die Software zerstören.
- Achten Sie bitte auf alle Hinweise, Warnungen und Stopps in diesem Text

- Versuchen Sie niemals Dateien, die unmittelbar zur Software gehören, zu löschen oder zu verschieben. Versuchen Sie nicht, diese mit einem- oder zwei Mausklicks zu öffnen.



**Achtung:**  
**Verändern Sie die Software, oder halten Sie nicht die Nutzungsvereinbarungen ein, so wird die Garantie für ein funktionierendes Arbeiten erlöschen.**

#### **A.4. Gelanalyse-Software Gelscan 6.0**

Gelscan ist eine Software zur Auswertung von Gelen und Blots aller Arten. Die Software Gelscan liest, beispielsweise über einen Scanner, oder Kamera Bilder von Gelen und Blots ein, und analysiert die Bande. Gelscan berechnet die Anzahl der Banden einer Lane, berechnet die Stärke der Banden, vergleicht sie zu den anderen Banden des Gels. Gelscan vergleicht Bandenmuster und sucht nach Ähnlichkeiten in anderen Gelen.

#### **A.4. Allgemeine Warnungen**

Gelscan wird in der ausschließlich in der Forschung und Entwicklung eingesetzt. Die Software Gelscan 6 unterstützt die automatische Auswertung von Gelen, Blots, Line-Blots usw. Das Programm regelt ferner die Archivierung der Auswertungen in Form von Bildern und Ergebnistexten. Gelscan darf nicht zur Bewertung von Patientenmaterial genutzt werden.



**Achtung:**  
**Gelscan darf nur in der Forschung und Entwicklung verwendet werden. Gelscan darf nicht für in vitro Diagnostik eingesetzt werden.**

#### **A.5. Grenzen der Methode**

Die Software ersetzt nicht das menschliche Auge, d.h. eine Kontrolle ist immer notwendig. Schwierigkeiten treten bei schwachen Banden auf, die für das Auge noch sichtbar sind, aber von der Software nicht mehr erkannt werden oder bei Streifen mit einem starken Hintergrund. Dort erweist sich die Bandenzuordnung bzw. Bandenfindung als schwierig.

---

## Inhaltsverzeichnis

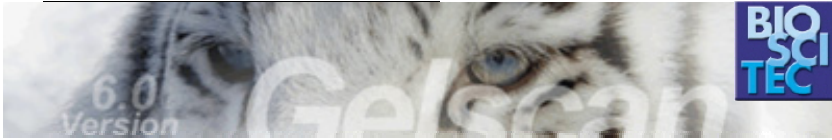
<b>A. Allgemeines</b>	<b>II</b>
A.1. Über das vorliegende Manual	II
A.2. Warnungen, Hinweise, Informationen und Zeichen	II
A.3. Sicherheit	II
A.4. Gelanalyse-Software Gelscan 6.0	III
A.4. Allgemeine Warnungen	III
A.5. Grenzen der Methode	III
<b>1 Installation</b>	<b>2</b>
1.1 Der Softwareschutz	2
1.1.1 Freischaltung durch einen Registriercode	2
1.2 Die Programminstallation	3
1.3 Programmorientierung, Registrierung	3
<b>2 Auswertung in 5 Minuten: Kurzmanual</b>	<b>7</b>
<b>3 Einlesen der auszuwertenden Bilder 8 - 16 bit</b>	<b>17</b>
3.1 Abfrage der Anzahl der Banden und des Geltyps	18
3.2 Verschiedene Importfilter für Pictures	20
<b>4 Bildbearbeitung</b>	<b>23</b>
4.1 Zoom	23
4.2 Adjust image	23
4.2.1 Brightness, Contrast	23
4.2.2 Auto-Adjustment	25
4.3 Image Control: Drehen, Spiegeln, Beschneiden	27
4.4 Overlay Image	28
<b>5 Die drei Hauptmodi des Programms</b>	<b>30</b>
5.1 Markierung der Lanes und Banden im Expressionmodus	30
5.2 Schräg gelaufene Gele werden in der Berechnung berücksichtigt	35
<b>6 Die Expressionsanalyse</b>	<b>37</b>
6.1 Automatische Nachbearbeitung der Banden	38
6.2 Manuelle Nachbearbeitung der Banden	39

---

6.2.1	Banden mit 'Schultern'	39
6.2.2	Manuelles Hinzufügen und Löschen von Banden	40
6.3	Weitere Funktionen des Graphikmodus	42
6.3.1	Multilane	43
6.3.2	Histogramm Overlay	44
6.3.3	Darstellung der errechneten Werte über den Graphen	45
<b>7</b>	<b>Quantifizierungen (Standardfenster)</b>	<b>47</b>
7.1	Umrandungsmodus (Quantify)	47
<b>8</b>	<b>Standardfenster</b>	<b>49</b>
8.1	Erstellen einer Standardeichkurve	49
8.1.1	Standard mit mehreren bekannten Mengen	50
8.1.2	Auswahl unbekannter Banden	51
8.1.3	Mengenberechnungen mit nur einer bekannten Menge	52
<b>9</b>	<b>Molekulargewichtsberechnungen</b>	<b>54</b>
9.1	Molecular Weight Analysis (für zwei oder mehr Marker)	55
9.2	Molecular Weight Analysis Fenster (MWA)	57
9.2.1	Automatisches Matchen von Markern	59
9.2.2	Manuelles Matchen von Markern	60
9.3	Marker definieren und bearbeiten	62
9.3.1	Neue Marker definieren	62
9.3.2	Marker bearbeiten	63
<b>10</b>	<b>Ergebnisse (Resultfenster)</b>	<b>65</b>
<b>11</b>	<b>Statistische Darstellung (Statistikregister)</b>	<b>67</b>
<b>12</b>	<b>Hintergrundberechnungen (Backgroundfenster)</b>	<b>70</b>
12.1	Halbautomatische Veränderung des Background	71
12.2	Manuelle Hintergrundberechnung	73
12.3	Valley to Valley Background Substraction	74
<b>13</b>	<b>Kurven Report und bekannte Verteilungswerte</b>	<b>78</b>
13.1	Banden verbinden und Integralklammern verbinden	82

---

<b>14</b>	<b>Datenbanken speichern Ihre Ergebnisse</b>	<b>84</b>
14.1	Speicherung der Daten in der Datenbank	84
14.2	Laden eines Gels aus der Datenbank	85
<b>15</b>	<b>Cluster Analyse System (CAS)</b>	<b>88</b>
15.1	Speichern der Gele in der CAS-Datenbank	88
15.2	CAS-Daten werden in Dendrogramm umgewandelt	93
15.3	Verbessern der CAS-Ergebnisse	94
<b>16</b>	<b>Bandfinder 1.5 (RFLP-Analyse)</b>	<b>98</b>
16.1	Synchronisation von Banden und Definition einer Standardlane	98
16.1.1	Picture Options und Change Band Position	101
<b>17</b>	<b>Definition einer Standardlane</b>	<b>104</b>
17.1.1	Bandensuche in SQL-fähigen Datenbanken	106
17.1.2	Speicherung von Gelmustern in einer Datenbank	106
<b>18</b>	<b>Protocols: Gelmanagement und GLP</b>	<b>111</b>
18.1	Gelmanagement mit Gelscan	111
18.1.1	Veröffentlichung von Ergebnissen in Word™	112
18.1.2	Veröffentlichung von Daten in Powerpoint™	114
18.1.3	Veröffentlichung der Daten in Excel	115
18.2	GLP-Protokoll	116
<b>19</b>	<b>Datensicherung (Backup)</b>	<b>117</b>
19.1	Backup Database	117
19.2	Restore Database	118
19.3	Ein komfortables Druckmenü zur optimalen Präsentation Ihrer Daten	118
<b>20</b>	<b>Andere Programmsymbole und Menü</b>	<b>120</b>



(Copyright by BioSciTec 2007)  
Manual Auflage 8, Januar 2007  
written by Dr. Robert Jäger

Herzlichen Glückwunsch zum Kauf dieser Software aus dem Hause der BioSciTec GmbH.

Die BioSciTec GmbH ist eine Firma aus Deutschland, deren Mitarbeiter aus den verschiedensten wissenschaftlichen Fachrichtungen wie z.B. Molekularbiologie, Zellbiologie, Klinik und Medizinische Dokumentation kommen. Diese Praxisnähe haben wir in unsere Programme eingebunden und sind bestrebt, unsere Software weiterhin auf die Bedürfnisse unserer Kunden abzustimmen.

Die Version 6.0 von GELSCAN ist bereits 10 Jahre auf dem Markt. Die Software wurde stetig weiterentwickelt und enthält überwiegend Kundenanforderungen.

GELSCAN Professional ist eine Software, mit der sich wissenschaftliche Auswertungen leicht und verständlich vornehmen lassen. Hier können Blots und Gele kalkuliert werden, in Datenbanken gesichert werden und mit Hilfe der einfachen Exportfunktionen gewonnenen Daten, schnell in den gängigen Statistik- und Textprogrammen präsentiert werden.

**Viel Spaß beim Arbeiten wünscht Ihnen Ihr BioSciTec-Team.**

# 1 Installation

## 1.1 Der Softwareschutz

Dieses Programm ist durch einen Registriercode kopiergeschützt. Um das Programm installieren zu können, sollten Sie die Betriebssysteme Windows 2000/XP/Vista auf Ihrem Rechner installiert haben.

### 1.1.1 Freischaltung durch einen Registriercode

**Gelscan**-Lizenzen können mit Hilfe eines Registrierungsschlüssels freigeschaltet werden. Haben Sie Interesse an einer Lizenz, so melden Sie sich bei der Firma BioSciTec [www.bioscitech.de](http://www.bioscitech.de), oder bei Ihrem Vertragspartner der Wahl. Innerhalb von wenigen Stunden sichern wir Ihnen die Mitteilung des Registriercodes zu. Der Code enthält verschlüsselt Ihren Namen.

**Achtung:**

**Nur wenn das Registrierungsfenster Ihren Namen trägt, handelt es sich um eine Vollversion. Der Registrierschlüssel enthält folgende Einträge:**

**Username:**

**(Uni oder Firma) – (Institutsangabe oder Abteilung) - (einen Namen**

**Userkey:**

**(Nummern und Ziffernreihenfolge)**

**Die Daten müssen mit allen Satzzeichen eingegeben werden.**

Haben Sie zuvor Gelscan bereits als Demoverision genutzt, so geben Sie unter **Info** und **Register Program**, die Daten ein und das Programm wird für die vollständige Nutzung freigeschaltet. Je nach

Betriebssystem müssen Sie nach der Freischaltung der Software das Programm Gelscan oder Gelscript noch einmal starten. Bewahren Sie den Code und die Original-CD sorgfältig auf. Einige Kunden haben keine Daten-CD, da Sie die Software über das Netz herunter geladen haben.

## 1.2 Die Programminstallation

Nehmen Sie die CD-ROM aus der Verpackung und legen diese in das entsprechende Laufwerk Ihres Computers ein. Suchen Sie im Ordnerverzeichnis (Explorer) die Setup-Datei und starten Sie diese.

Nach der Installation starten Sie das Programm **Gelscan 6.0**, indem Sie mit dem Mauszeiger auf das Symbol doppelklicken. **Gelscan** läuft optimal unter **True Color** (1.6 Mio. bis 32 Bit. Farbtiefe, s. auch Beschreibung Gelscript). Die Version Gelscan 6.0. läuft optimal unter **True Color** und mit einer Auflösung von **1280 x 1024** oder größer. Die minimale Auflösung sollte **1024 x 765** nicht unterschreiten.

## 1.3 Programmorientierung, Registrierung

Nach dem Eröffnungsbild (Abb. 1.1), welches Sie mit einem Klick darauf schließen können, befinden Sie sich im Hauptprogramm. Das Programm präsentiert sich Ihnen mit übersichtlichen Navigationselementen. Dadurch werden während der Berechnungen nur die für Sie wichtigen Informationen angezeigt, was zu keiner Zeit zu einer Unübersichtlichkeit führt. Die obere Reihe beinhaltet alle wichtigen

**Funktionsbuttons** (klickbare Objekte). Diese -auch **Icons** genannten- Schalter sind für die komplette Auswertung und Präsentation wichtig. Wenn Sie mit dem Mauszeiger auf einen Button gehen, wird nach einer kurzen Ruhephase in einem Hilfsfenster die Funktion des Buttons beschrieben (Quick-Info). Abb. 1.1 zeigt das Eröffnungsbild der neuen Programmoberfläche.

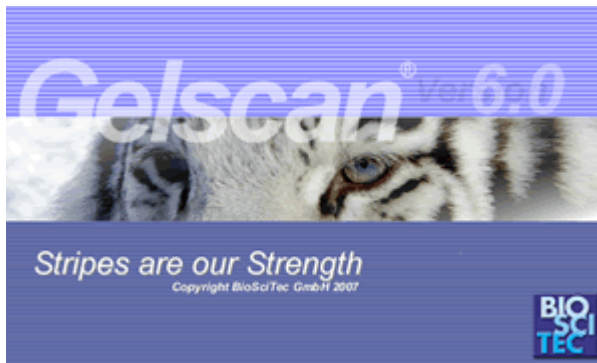


Abb. 1.1 Eröffnungsbild

### Die neue Navigation (Linkleiste)

Auf der linken Seite sehen sie die neue Navigationsleiste der neuen Gelscan 6.0 Version. Übersichtlich wählen Sie hier, wie im Internet, Links aus, die Sie an die richtigen Orte bringen. Durch einfaches Klicken auf die Links werden die Funktionen ausgeführt. Einige Funktionen sind nach dem Start ausgeblendet. Im Beispiel **Imaging**, können Sie durch einen Klick auf den kleinen Doppelpfeil die Untermenüs schließen und Öffnen.

**Imaging**



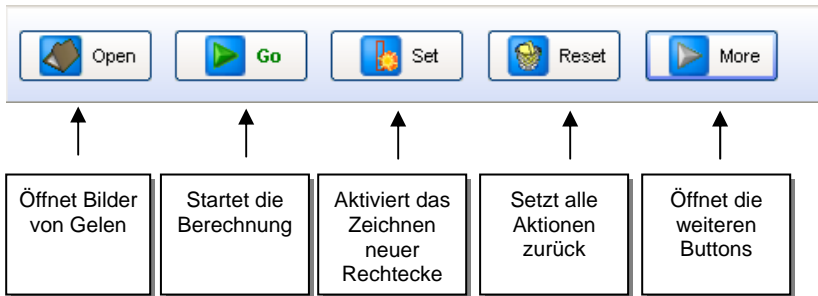
The screenshot shows the GELSCAN 6.0 software interface with five callout boxes pointing to specific sections:

- Mode:** A callout box points to the 'Mode' section, which includes 'Set Expression', 'Set Mol. Weight', and 'Set Quantify'. The text says: "Hier wählen Sie die verschiedenen Berechnungsmodi aus".
- Navigation:** A callout box points to the 'Navigation' section, which includes 'Picture', 'Graphview', 'Graphic', 'Results', 'Charts', 'Standard', and 'Background'. The text says: "Hier wählen Sie, wie Sie Ihre Ergebnisse dargestellt haben möchten, als Graphik oder in Zahlen usw.". This callout also points to the 'Results' and 'Charts' options.
- Imaging:** A callout box points to the 'Imaging' section, which includes 'Merge Pictures', 'Import pictures', 'Import DC Picture', 'Image Control', 'Adjust Image', and 'Overlay Image'. The text says: "Hier können Sie besondere Formate importieren, Bilder bearbeiten, Bilder zusammenführen usw.". This callout also points to the 'Import pictures' and 'Import DC Picture' options.
- Documentation:** A callout box points to the 'Documentation' section, which includes 'Gelmanagement', 'GLP', and 'Database'. The text says: "Hier können Sie Ihre Ergebnisse veröffentlichen, Berichte erstellen, Daten speichern usw.". This callout also points to the 'GLP' and 'Database' options.
- Programs:** A callout box points to the 'Programs' section, which includes 'MicroArrayAssay', 'BiDirectional Gel', 'RFLP Analysis', and 'Cluster Analysis'. The text says: "Hier finden sie Zusatzprogramme, die bei Bedarf zusätzlich erworben werden müssen.". This callout also points to the 'RFLP Analysis' and 'Cluster Analysis' options.

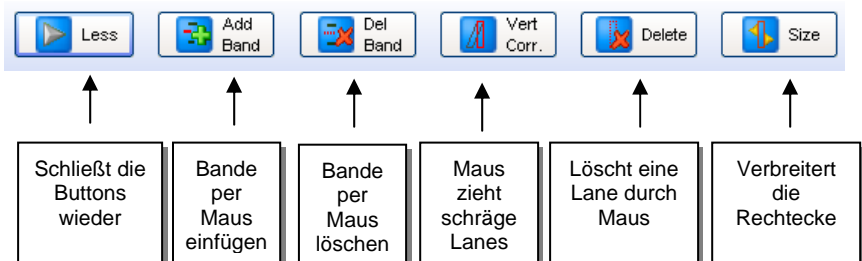
## Buttonleiste

Neben der neuen Linkleiste finden Sie auf der oberen Seite der Gelscan Softwar die wichtigsten Buttons. Nach dem Start sehen Sie die fünf wichtigsten Buttons. Durch einen Klick auf den Button **More**, sehen Sie weitere Buttons die Ihnen die Arbeit erleichtern.

### Zeigt die ersten 5 Buttons nach dem Start



### Zeigt die erweiterten Buttons



## 2 Auswertung in 5 Minuten: Kurzmanual

(für versierte Computeranwender)

### 1. Installation

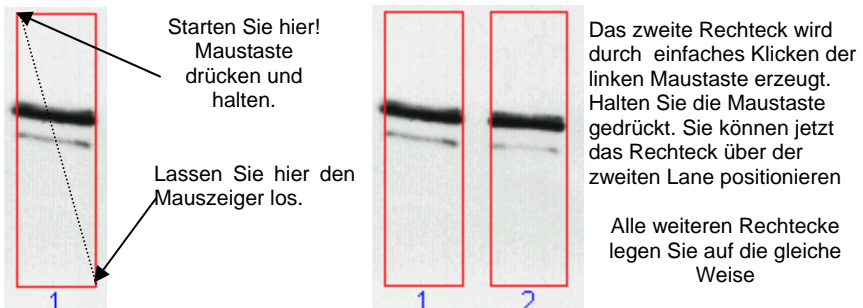
Das Setup der Software leitet Sie durch die Installation. Tragen Sie nach der Installation der Software Ihren Schlüsselcode ein und starten das Programm erneut.

### 2. Bild laden

Öffnen Sie durch Drücken der Taste **File open**. Wählen Sie den Pfad Ihrer Bilder. Nun können Sie, durch Doppelklicken auf das Bild, Ihr gewünschtes Bild in das Hauptprogramm überführen

### 3. Berechnung im Expressionsmodus

Ignorieren Sie beim ersten Arbeiten das nachfolgende Fenster **Type of Gel** und drücken auf **OK**.



**WICHTIG:** Ziehen Sie jetzt bei gehaltener Maustaste ein Rechteck Ihrer Wahl über die Banden der ersten Lane und lassen die Maustaste anschließend los. Durch erneutes **einmaliges** Drücken und

Festhalten der Maustaste entsteht ein Abbild des ersten Rechtecks. Legen Sie es bei gehaltener Maustaste über die zweite Lane und lassen die Maustaste los. Verfahren Sie auf die beschriebene Art mit den weiteren Lanes auf Ihrem Gel. In der Abb. 2.1 sehen Sie, wie die Rechtecke über den Banden liegen sollten. Bei Fehlversuchen drücken Sie den **Reset Button** (Abb. 2.1) und wiederholen den Vorgang. Schräg gelaufene Lanes können manuell nachbearbeitet werden. Drücken Sie den Button **Vert.Corr** (*Schräge Lanes*) und drücken bei gehaltener Maustaste in den unteren Teil Ihres ausgewählten Rechtecks. Dort erscheint bei gehaltener Maustaste eine gestrichelte Linie, die sich wie ein Pendel hin und her bewegen lässt. Optimieren Sie die Schräge Ihrer Lanes und lassen die Maustaste los.

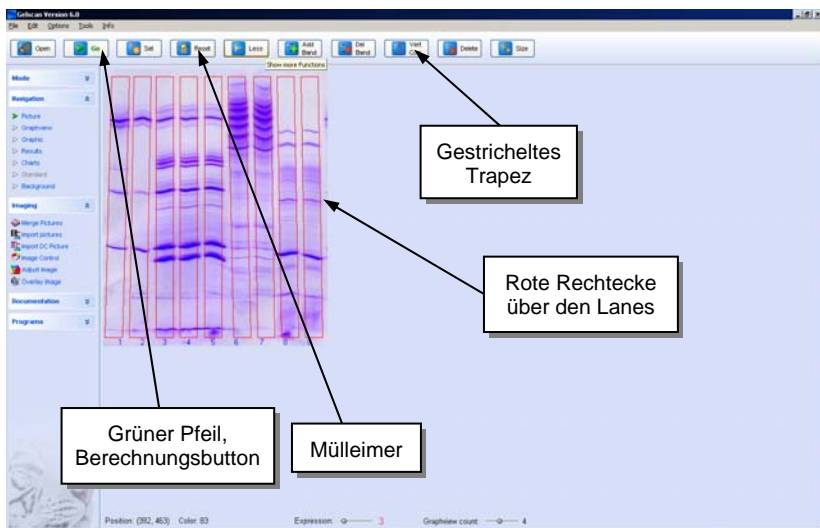


Abb. 2.1 Rechtecke über den Banden und die entsprechenden Buttons

Nun führen Sie durch Drücken des **Go Button** (*grüner Pfeil*) die Berechnung durch. Gelscan markiert jetzt alle Banden, die sie gefunden hat.

#### 4. Ergebnisse und Navigation

Nun haben Sie Ihr erstes Gel berechnet. Wechseln Sie anschließend in der **Linklist** unter **Navigation** in die **Graphic**. Hier können sie alle Ergebnisse grafisch und numerisch anzeigen lassen. Durch Scrollen der **First Bar** (Abb. 2.2) nach rechts gelangen Sie in die Histogramme der weiteren berechneten Lanes. Im **GraphViewfenster (Linklist)** sehen Sie die graphische Darstellung aller berechneten Lanes. Ein Doppelklick auf die jeweilige Graphik bringt Sie sofort in das Graphikfenster. Gehen Sie in das **Resultfenster** und sehen Sie sich Ihre Ergebnisse an.

#### 5. Graphikfenster

Hier haben Sie eine Reihe von manuellen Nachbearbeitungsmöglichkeiten. Sie können die Klammern bei gehaltener Maustaste manuell verschieben. Des Weiteren können Sie durch die Buttons **(+)** und **(x)** einzelne Banden einfügen bzw. löschen. Der **Multilanebutton** legt alle berechneten Histogramme übereinander. In diesem Block von Buttons haben Sie des Weiteren die Möglichkeit, **Valley to Valley**-Background Berechnungen durchzuführen.

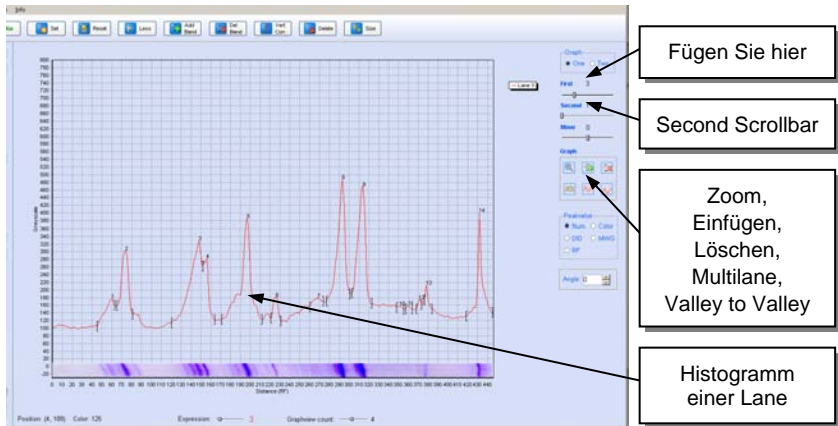


Abb. 2.2 Graphikfenster mit den wichtigsten Funktionen

## 6. **Backgroundfenster** (Abb. 2.3)

Der Computer errechnet automatisch den Hintergrundgrauwert. Hierzu werden Hintergrundlinien zwischen die Banden gelegt und die errechneten Median- und Mittelwerte in den Tabellen angezeigt. Gemessen wird allerdings nur der blaue Teil der Linie. Ist das Gel an dieser Stelle durch z.B. ineinander laufende Banden verunreinigt, so kann mit der Option **Top**, **Middle** und **Bottom** ein anderer, aktiver Teil der Hintergrundlinie ausgewählt werden. Aktivieren Sie jetzt die Hintergrundberechnung. Hierzu schalten Sie **Activate?** auf **Yes**. Im **Resultfenster** wurde der Hintergrund nun berechnet und von der **Absolute Integrated Density (AID)** abgezogen. Das Ergebnis ist in der Spalte **Differential Integrated Density (DID)** abzulesen.

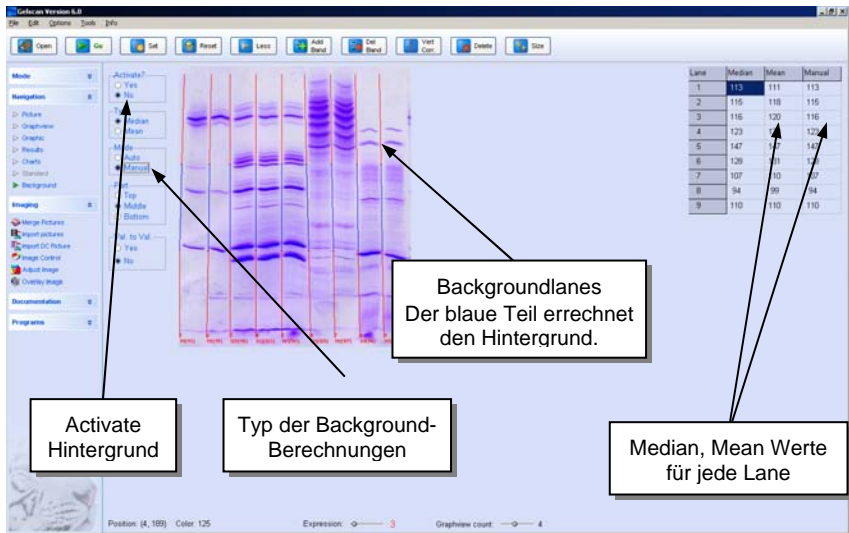


Abb. 2.3 Backgroundmodus und die wichtigsten Funktionen

## 7. Standardfenster

Errechnen Sie anhand des folgenden Beispiels unbekannte Mengen. Stellen Sie im Menü auf der linken Seite der Software unter **Mode** (*Modus*, Abb. 2.4) auf **Quantity** um. Legen Sie ein kleines Rechteck um eine Bande, deren Konzentration Sie kennen und drücken Sie den **Go-Button** (

Abb. 2.4). Wenn die Bande nicht sauber umrandet wurde, löschen Sie Ihr Rechteck (Mülleimer) und legen ein kleineres Rechteck um die Bande. Ist die Umrandung noch nicht optimal, ändern Sie den Wert neben **Quantity** (*untere Leiste der Software*, Abb. 2.4) und drücken erneut den Berechnungsbutton.



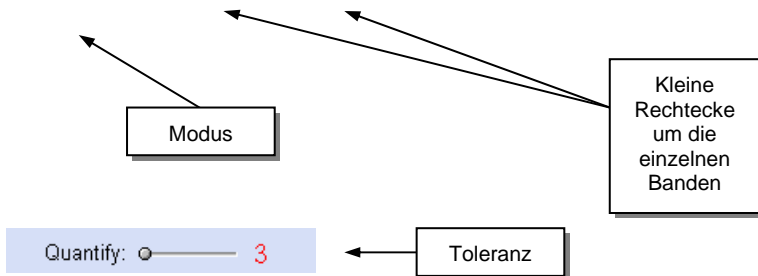


Abb. 2.4 Kleine Rechtecke um die Banden

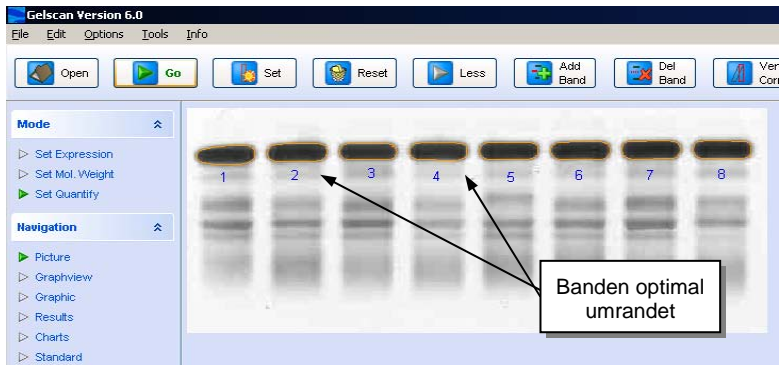


Abb. 2.5 Prinzip der Bandenumrandung

Wechseln Sie jetzt in das **Standardfenster**. Drücken Sie auf **Copy Data** und der errechnete Flächenwert wird in die linke Tabelle eingetragen. Geben Sie in die rechte Spalte hinter dem Flächenwert über die Tastatur den Wert, der die Menge der Bande angibt, ein (Abb. 2.6). Drücken Sie nach dem Eintrag die Taste **Calculate Standard**. Jetzt ist der Flächenwert der bekannten Menge zugewiesen.

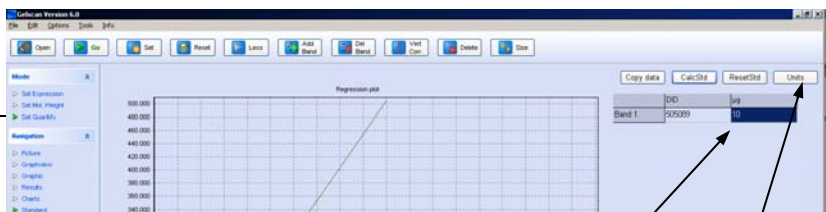


Abb. 2.6 Standardfenster bei der Berechnung von Mengen

Wechseln Sie anschließend wieder in der **Navigation** in das **Picturefenster**. Gehen Sie mit dem Mauszeiger auf den Button **Set** (obere Leiste dritter Button von links). Setzen Sie weitere Rechtecke durch einen Mausklick auf eine oder mehrere unbekannte Banden. Drücken Sie jetzt wieder den **GO-Button** (grüner Pfeil)(Abb. 2.1). Die unbekannte Menge wird Ihnen jetzt im **Resultfenster**, unter dem Eintrag  **$\mu\text{g}$**  oder der Einheit Ihrer Wahl, (Abb. 2.6) angezeigt.

## 8. Molekulargewichtsberechnungen

Wechseln Sie im **Mode** Menü ( Abb. 2.4) zu **Mol. Weight**. Wählen Sie für dieses Beispiel das Bild **wester.bmp** im Demomodus aus. Geöffnet wird ein Western Blot mit einem **Rainbow high** Standardmarker auf der linken Seite des Gels. Lassen sie die Einstellung im Fenster (Anzahl der Lanes) auf Null. Nun legen Sie wiederum Rechtecke über die Lanes. Die Rechtecke müssen in diesem Modus nicht mehr exakt über den Banden liegen, da hier nur die Bandenpositionen gesucht werden und nicht mehr

quantifiziert wird. Drücken Sie anschließend den Go-Button (grüner Pfeil, Abb. 2.1), um die Berechnung durchzuführen. Die Positionen werden jetzt auf dem Gel angezeigt (Abb. 2.7). Überprüfen Sie, ob alle Positionen auf dem Marker gefunden wurden. Wenn ja, drücken Sie OK. Fehlen Positionen, bzw. es wurden zu viel gefunden, klicken Sie **revise gel**. Überflüssige Positionen auf dem Marker können Sie jetzt durch Drücken des **(x)** oder **(+)** Buttons auf der oberen Menüleiste entfernen oder hinzugefügen (Abb. 2.7). Im Anschluß an die manuellen Veränderungen drücken Sie erneut den **Go-Button**. Jetzt öffnet sich ein neues Fenster. Im Molekular Weight Analysis-Fenster (Abb. 2.7) stehen Ihnen alle Möglichkeiten einer perfekten Massenberechnung zur Verfügung. Hier wollen wir uns nur auf das Wesentliche konzentrieren. Der Referenzmarker ist auf der linken Seite rot angezeigt. Aktivieren Sie nun das Kästchen unter dem Marker. Unter **Selekt Marker** auf der linken Seite wählen Sie den Marker aus (hier: Rainbow Marker). Unter **Select Band** darunter ist die kleinste Gewichtseinheit des Markers vorselektiert (14.3 kD). Klicken Sie nun einmal auf die Markierung der untersten Bande des Markers auf der linken Seite. Automatisch werden nun alle Markermassen zugewiesen (Abb. 2.7). Mit **Refresh Marker** können Sie die zugewiesenen Banden wieder löschen, ein anderes Gewicht aus dem kleinen Fenster auswählen und der entsprechenden Bande zuweisen.

The screenshot shows the 'Molecular Weight Analysis' software interface. The window title is 'Molecular Weight Analysis / Isoelectric Point 1.5'. The main area displays a gel image with molecular weight markers on the left and sample lanes on the right. A 'Molecular Weight Options' panel is on the left, with 'Rainbow marker low RPN 755' selected under 'Select Marker'. A table on the right lists marker masses in kDa.

No.	MGM
0	3000
1	2900
2	2800
3	2700
4	2600
5	2500

Abb. 2.7 Durchführung der Molekulargewichtsberechnung

**Wichtig:**

**Achten Sie bitte darauf, dass immer nur richtige Positionen auf dem Marker erkannt werden, da sonst die korrekte Zuweisung der Markerpositionen nicht stimmt.**

**Calculate.** Jetzt werden alle unbekanntenen Massen auf Ihrem Gel berechnet. Durch Drücken des **OK-Buttons** überführen Sie das Gel in das Hauptprogramm.

## 9. Weitere Möglichkeiten

Nachdem Sie eine Kalkulation vorgenommen haben, öffnen Sie unter

dem Menüpunkt **Documentation Database**. Hier haben Sie die Möglichkeiten, Ihre Arbeit unter verschiedenen Angaben abzuspeichern. Versuchen Sie auch, nach einer weiteren Arbeit, über **Load** abgespeicherte Daten wieder auf Ihren Rechner zu holen.

Versuchen Sie das Programm und die weiteren Möglichkeiten selbst zu erforschen oder lesen Sie das nachfolgende ausführliche Manual.

### 3 Einlesen der auszuwertenden Bilder 8 - 16 bit

Digitale Bilder von Gelen und Blots, welche über eine Geldokumentationsanlage aufgenommen wurden, lassen sich auf Disketten, übers Netzwerk oder über USB-Sticks gespeichert in das Programm einlesen. Das Programm unterstützt dabei alle gängigen Bildformate wie z.B. tif, bmp, gif, jpg usw. Bilder können aber auch über die integrierte Twain<sup>®</sup>-Schnittstelle mit Hilfe eines angeschlossenen Scanners direkt ins Programm eingelesen werden. Durch Drücken des Buttons **Open** gelangt man in den Auswahlbereich der zu ladenden Bilder. Hier können die auf der Diskette oder der Festplatte vorhandene Bilder als **Thumbnails** (kleine Bildvorschau) bereits vorbegutachtet und ausgewählt werden (Abb. 3.1). Durch Doppelklicken auf das Bild Ihrer Wahl wird es ins Hauptprogramm überführt. Auch die Auswahl der Bilder im Textfeld auf der linken Seite des Fensters (Windows-Pfad) überführt die Bilder ins Hauptprogramm (Abb. 3.1).

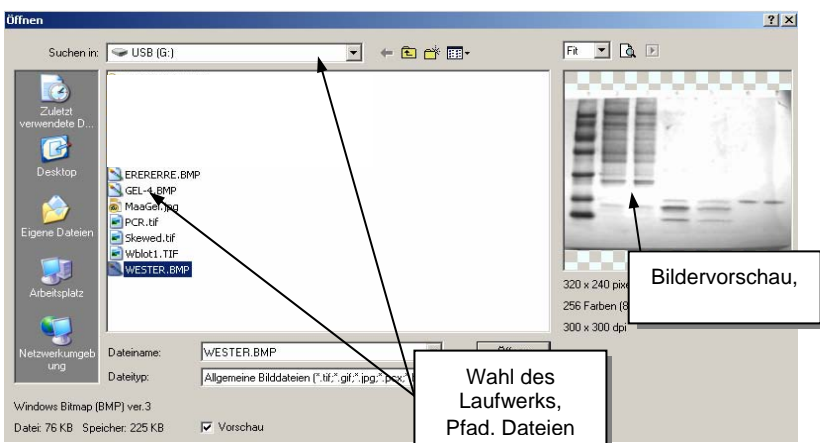


Abb. 3.1 Fenster mit Thumbnail und Pfad der Files

### 3.1 Abfrage der Anzahl der Banden und des Geltyps

Nachdem Sie das Bild im Dialog **Open** ausgewählt haben und Ihre Wahl durch Doppelklicken bestätigt haben, öffnet sich ein neues Dialogfenster (**Type of Gel**, Abb. 3.2).

In diesem Fenster zeigt eine automatische Erkennung an, ob es sich um weiße Banden (z.B. Ethidium-Bromidgel) oder schwarze Banden (z.B. radioaktiv markiertes Gel) handelt (**white bands/black bands**). Diese Einstellungen sind bei falscher Erkennung auch manuell veränderbar. Ein weiteres Feld fragt den Anwender nach der Anzahl der Lanes, die er bearbeiten möchte. Hier lassen sich mit Hilfe der Scrollbar Werte größer Null einstellen.

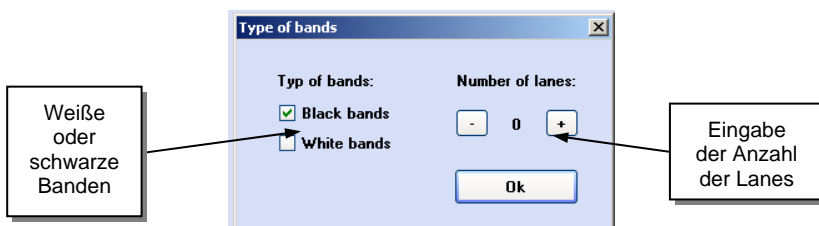


Abb. 3.2 Dialogfenster Type of Gel

Nach der Eingabe einer Zahl größer Null schaltet das Programm intern auf einen **Autolanemodus** um. Hier werden später, nach der manuellen Erstellung der Rechtecke für die ersten zwei Lanes, alle weiteren automatisch markiert (Halbautomatik). Dieser Vorgang wird weiter unten ausführlich beschrieben.

Wird keine Zahl in die Box eingetragen, so bleibt die Null

voreingestellt und die **manuelle Bandenmarkierung** wird aktiviert. Da bei den verschiedenen Anwendern nicht immer alle Banden ausgewertet werden, hat sich dieser Modus durchgesetzt. Durch Drücken der **OK-Taste** wird das Fenster geschlossen.

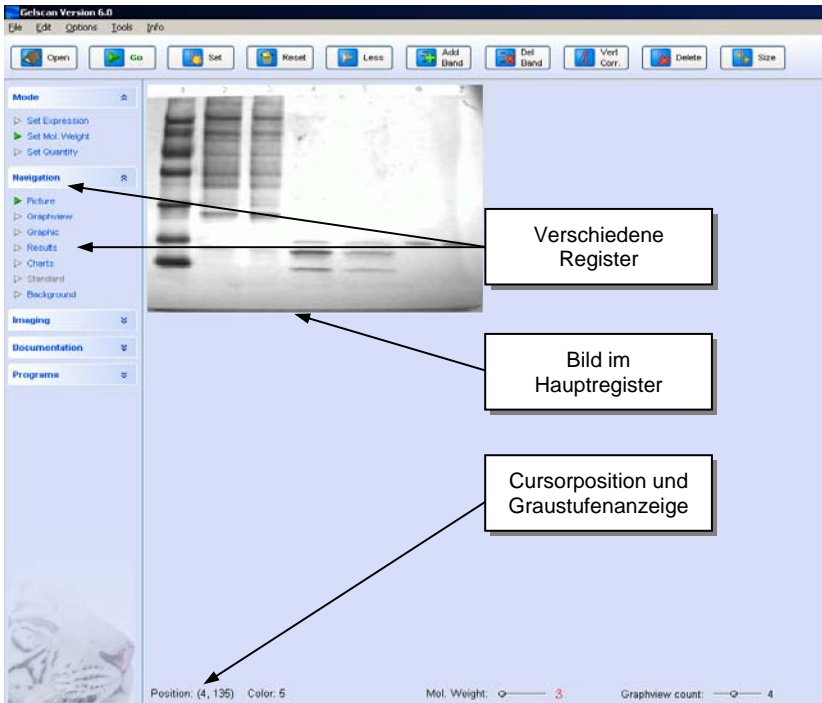


Abb. 3.3 Hauptmodul im Überblick mit Pulldown-Menüs und Buttonleiste

### 3.2 Verschiedene Importfilter für Pictures

Gelscan verfügt über eine Reihe von Importfiltern für verschiedene Bildtypen und Sonderformate. Unter dem Menü **Imaging** auf der linken Seite der Software, finden Sie den Filter für den Import von Pictures (**Import pictures**). Hier können Farbbilder in Graustufenbilder umgewandelt werden. Drücken Sie den Button **Open** und suchen Sie das Farbbild, welches Sie in ein Graustufenbild überführen möchten. Die Größe mit der das Bild auf Ihren Bildschirm zu sehen sein soll, können Sie mit den Optionen **No change** bis **Eighth** einstellen.

<b>No Change</b>	Größe wie Bild aufgenommen wurde
<b>Screen</b>	Anpassen der Größe auf Bildschirm
<b>Half</b>	Die Hälfte der ursprünglichen Größe
<b>Fourth</b>	Ein Viertel der ursprünglichen Größe
<b>Sixth</b>	Ein Sechstel der ursprünglichen Größe
<b>Eighth</b>	Ein Achtel der ursprünglichen Größe

Drücken Sie anschließend auf **Convert to Greyscale** und verlassen das Fenster mit **Close**.

Unter **Imaging** finden Sie **Import DC-Pictures**. Hier werden die gleichen Funktionen, wie oben beschrieben, angeboten. Dieses Fenster organisiert den Import von 16 bit Graustufen Bildern und Dünnschichtchromatographien (**DC-Import**).

## **Merge Pictures**

Im Menüregister auf der linken Seite finden Sie unter **Imaging**, den Link **Merge pictures**. Dieses Modul ermöglicht Ihnen den Import von bis zu vier Bildern in die Software Gelscan. Die Software berechnet Ihnen also vier gleiche Gele in einem Arbeitsschritt. Auch lassen sich die Lanes und Banden optimal vergleichen.

Öffnen Sie das **Merge picture** Fenster. Sie können nun, wenn Ihre Bilder die sie gemeinsam auswerten möchten, durch mehrfach Auswahl von bis zu vier Bildern, gleichzeitig öffnen. Markieren Sie hierzu, bei gedrückter **Shift-Taste** (Großschreibetaste, STRG), Ihre Bilder in Ihrem Ordner. Drücken Sie anschließend auf Öffnen. Nun werden alle gewählten Bilder in einer Vorschau nebeneinander angezeigt.

Drücken Sie nun den Button **Merge**, werden die Bilder im unteren Teil des Fensters erneut angezeigt. Mit **Close** verlassen Sie das Fenster und überführen Ihre Bilder in das Hauptfenster.

Sie haben aber auch die Möglichkeit im **Merge Fenster** Bilder einzeln einzuladen. Möchten Sie die Reihenfolge der Bilder ändern, oder eines löschen und ein Neues laden, so können Sie das mit den Tasten **Load** und **Delete** durchführen.

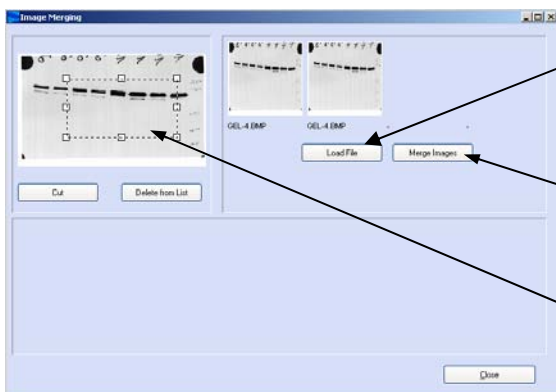
Mit dem Befehl **Cut** im **Merge Picture Fenster** können Sie die Bilder, die sie zusammenführen möchten, zurechtschneiden. Hierzu wählen Sie ein Bild auf der rechten Seite. Das Bild erscheint nun im kleinen Fenster auf der linken Seite. Ziehen Sie einen Rahmen um den Bereich den Sie ausschneiden möchten. Drücken Sie nun **Cut**. Nun wird der ausgeschnittene Bereich vergrößert dargestellt. Das gestrichelte Fenster ist immer noch ansatzweise zu sehen. Drücken

Sie nun auf das zweite Bild welches Sie schneiden wollen, wird der Rahmen in der Größe und Position des ersten Ausschneidens angezeigt. Dies hilft Ihnen die Ausschneidefenster beide Gele gleich zu halten. Drücken Sie erneut **Cut** und beide Gele sind gleichmäßig beschnitten worden. Drücken Sie danach **Merge** und **Close** und die Bilder werden zusammengeführt.



**Hinweis:**

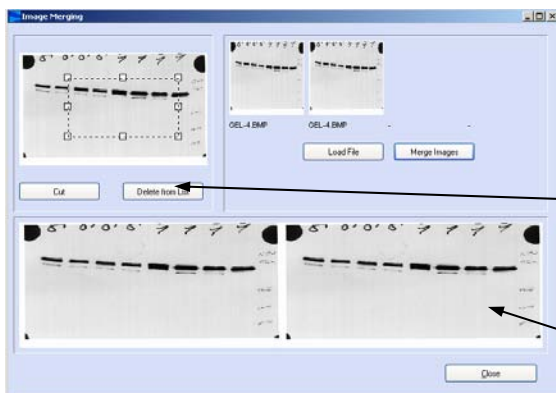
Für eine Auswertung von mehreren Gelen, müssen die Gele die gleichen Ausmaße haben.



Laden Sie hier ihre Bilder in den Merge-Dialog

Fügen Sie hier Ihre Bilder zusammen

Schneiden Sie Bereiche aus Ihren Gelen heraus.



Löscht Bilder aus der Mergeliste

Zeigt die zusammengeführten Gele

## 4 Bildbearbeitung

### 4.1 Zoom

Das Bild des auszuwertenden Gels befindet sich jetzt im Hauptteil des Programms und kann sofort berechnet werden. Sie haben auch die Möglichkeit, das Bild zu verändern (Größe, Farbe etc.).

Mit den folgenden Funktionen können Sie das angezeigte Bild vergrößern oder verkleinern. Die Funktionen hierfür finden Sie unter dem Pulldown Menü **Edit**. Der Zoomfaktor lässt sich unter Zoomsteps einstellen.

<b>Zoom in</b>	oder Taste (Ctrl und I)	=	Verkleinern
<b>Zoom out</b>	oder Taste (Ctrl und O)	=	Vergrößern

### 4.2 Adjust image

#### 4.2.1 Brightness, Contrast

Um Bilder aufzuarbeiten, besonders nach dem **Scannen**, beinhaltet das Programm ein komplettes **bildbearbeitendes Zusatzprogramm**. Drücken Sie auf der linken Seite unter **Imaging**, den Link **Adjust image**. Dieser öffnet ein neues Fenster mit einer Kopie Ihres aufgenommenen Gels.

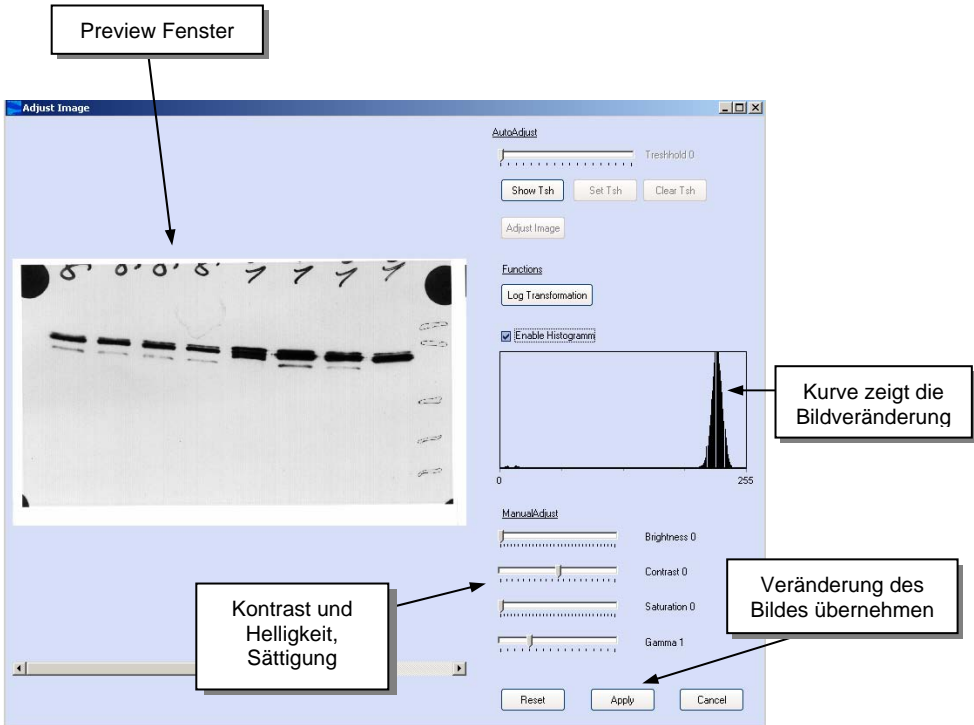


Abb. 4.1 Adjust Image mit den verschiedenen Funktionen der Bildbearbeitung

Die manuelle Sektion in diesem Fenster regelt die Helligkeit, Kontrast, Sättigung der Farben und die Gamma Korrektur (Abb. 4.1). Das Drücken der **Apply-Taste** übergibt das veränderte Bild in das Hauptregister.

### 4.2.2 Auto-Adjustment

Mit dieser Funktion können Sie überbelichtete Gele in die lineare Färbung zurückholen. Ab einer bestimmten Farbstufe z.B. der Farbe Schwarz, kommt die Intensitätsmessung der Bande in eine Plateauform. Dies bedeutet, dass es nach der Farbe Schwarz keinen Bereich mehr gibt, der messbar wäre. Die Software versucht die Überbelichtung, angewendet auf alle Banden des Gels, wieder abzuziehen. Dieser Vorgang gelingt allerdings nur bei schwach überbelichteten Gelen, bei denen die Plateauphase gerade erst begonnen hat.



**Achtung:**

Bei einem Auto-Adjustment können schwache Banden verloren gehen.

Gehen Sie in der Navigation auf **Imaging** und klicken auf den Link **Adjust Image**. Klicken Sie den Button **Show Tsh. Tsh**, bedeutet **Threshold = Grenze**. Ziehen Sie nun den Regler **Threshold** langsam nach rechts. Überbelichtet Bereiche werden nun langsam orange-rot eingefärbt. Beim Beginn des Einfärbens der Banden, sollte gestoppt werden. Drücken Sie nun auf den Button **Adjust Image**. Die Software behandelt nun alle Bereiche in der die Farbe enthalten ist. Ein Kommentar „**Adjustment finished**“ zeigt Ihnen, dass der Vorgang beendet wurde. Mit **Apply** können Sie das veränderte Bild der Software übergeben.

Drücken Sie **Set Tsh**, so werden die Einstellungen der Schwelle gespeichert und Sie können den Schwellenwert bei dem nächsten Bild exakt anwenden. **Clear Tsh** löscht Ihre Einstellung wieder.



Abb. 4.2 Registerkarte der Equalization

(Abb. 4.2) zeigt Ihnen das Adjust Image Fenster und die Funktionen. Die **LOG-Transformation** eine weitere Imaging Variante, kann auf besonders dunkle Gele/Bilder angewendet werden.

### 4.3 Image Control: Drehen, Spiegeln, Beschneiden

Mit Hilfe der **Image Control** (in der linken Menüleiste unter **Imaging**), lassen sich Eigenschaften von Bildern und physikalische Bildveränderungen durchführen (Abb. 4.3).

#### **Rotate cklockwise 90°**

Durch Drücken des Buttons Rotation um 90 Grad, wird das Bild jedes Mal um 90° gedreht.

#### **Rotate cklockwise 180°**

Durch Drücken des Buttons Rotation um 180 Grad, wird das jedes Mal um 180° gedreht

#### **Mirror vertical**

Spiegelt das Bild vertikal.

#### **Mirror horizontal**

Spiegelt das Bild horizontal.

#### **Invert image**

Ein Druck auf den Button **Invert** führt zum Invertieren des Bildes. Ein erneutes Klicken auf den Button führt wieder zur Farbumkehr in den Ausgangszustand.

#### **Cut Rect.**

Nach dem Drücken dieses Buttons lässt sich eine Region (Rechteck) auswählen, die ausgeschnitten werden kann. Sie können ein Rechteck aus jeder Ecke des Bildes oder jede der vier Seiten einzeln

bei gehaltener Maustaste ausrichten, um das Bild zu beschneiden. Wenn Sie den Button **Cut Rect.** drücken, wird alles, was außerhalb des Rechteckes liegt, gelöscht.

### **Rotate**

In das Fenster können Sie eine Gradzahl eingeben. Ein Druck auf den Button Rotate dreht das Bild im Uhrzeigersinn um die eingegebene Gradzahl.

### **OK, Sichern**

Übergibt das bearbeitete Bild in das Hauptregister.

### **Cancel, Abbrechen**

Bildänderungen werden nicht übernommen.



Abb. 4.3 Funktionen Image Control

## **4.4 Overlay Image**

Mit dieser neuen Funktion können Sie Gele direkt vergleichen. Auch Bandenintensitäten können mit der Overlaytechnik besser dargestellt werden. Musterunterschiede von Banden können Sie durch die Transparenzfunktion sofort detektieren.

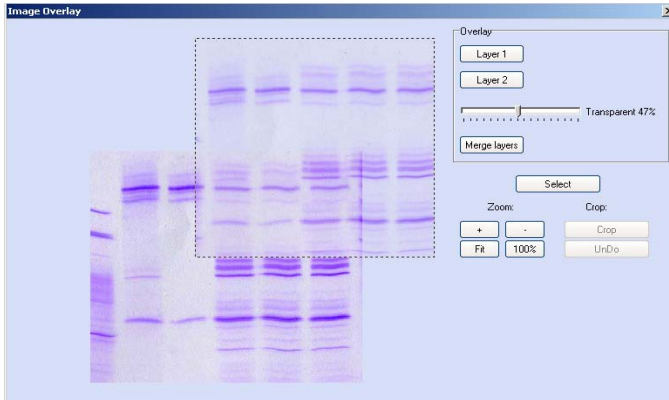


Abb.4.4 zeigt das Overlayfenster

Öffnen Sie das **Overlayfenster** unter **Imaging**. Klicken Sie nun auf den Button **Layer 1**. Suchen Sie ein Bild Ihrer Wahl und gehen Sie anschließend auf den **Layer 2**. Hier laden Sie ein Bild, welches Sie über das Erste legen möchten. Mit den Funktionen **Fit** und **Zoom** können Sie Ihre Bilder in der Größe verändern.

Schieben Sie nun den **Transparentregler** langsam nach rechts und Sie sehen, wie das zweite Bild langsam durchsichtiger wird. Mit der Maus können Sie nun das transparente Bild über dem ersten Bild bewegen. Wenn Sie die gewünschte Position gefunden haben, drücken Sie den Button **Merge**. Beide Bilder werden jetzt miteinander verschmolzen. Mit **Close** übergeben Sie das Bild in das Hauptfenster. Mit der Funktion **Select** haben Sie die Möglichkeit, aus den Bildern, die Sie übereinander legen möchten, spezielle Bereiche herauszuschneiden. Selektieren Sie auf dem Gel einen Bereich mit der Maus und drücken anschließend **Crop**. Mit **Undo** können Sie den Zustand rückgängig machen.

## 5 Die drei Hauptmodi des Programms

Das Programm verfügt über drei Berechnungsmodi.

1. **Expression** (semiquantitativ)
2. **Quantify** (quantitativ)
3. **Mol.Weight** (Molekulargewichtberechnungen)

### 5.1 Markierung der Lanes und Banden im Expressionmodus

In diesem Modus lassen sich Expressionsvergleiche und semiquantitative Berechnungen durchführen.

Hierzu wird mit Hilfe der Maus ein beliebig großes **Rechteck** auf oder um die erste Lane gelegt (Modell 5.1). Es lassen sich ebenfalls kleine Rechtecke um einzelne Banden legen.

In diesen Rechtecken werden alle Bildpunkte von rechts nach links und von oben nach unten aufsummiert und anschließend rechnerisch gemittelt. Daraus errechnet sich die Schwarzfärbung einer Bande inklusive des Hintergrundes, welcher später noch abgezogen werden kann. Als Ergebnis bleibt schließlich der eigentliche Wert der zu messenden Bande.

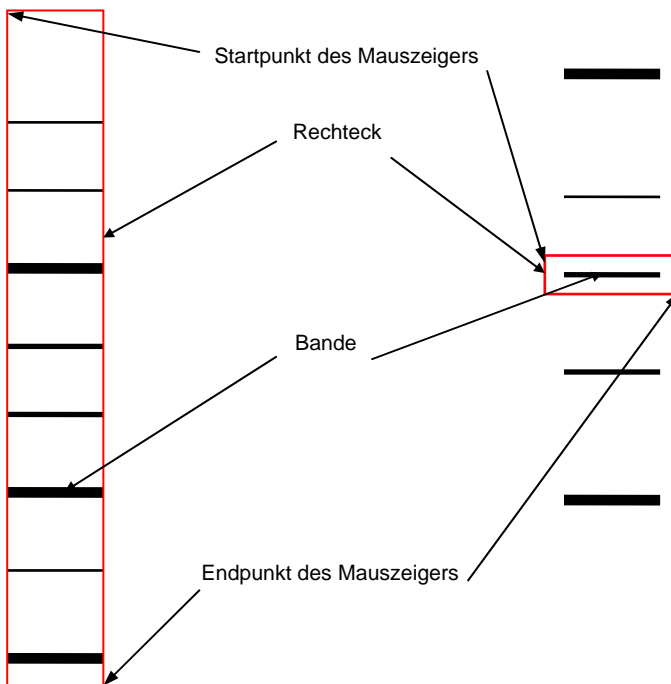
#### ***Erstellung eines Rechtecks***

Ein **Rechteck** wird durch Ziehen oder Umranden der Bande oder Lane mit gehaltener Maustaste durchgeführt (Modell 5.1). Nach dem Loslassen der Maustaste wird das gewünschte Objekt über die Lane bzw. Bande gezeichnet. Machen Sie sich an dieser Stelle erst einmal

mit der Technik des Gestaltens eines Rechtecks vertraut. Beginnen Sie in der linken Ecke oberhalb der ersten Lane. Halten Sie die linke Maustaste gedrückt. Dann führen Sie den Mauszeiger langsam nach unten ans Ende der Lane in der rechten unteren Ecke. Während Sie den Mauszeiger bewegen, sehen Sie bereits die Entstehung des Rechtecks. Sind Sie mit dem Rechteck zufrieden, lassen Sie die Maustaste los und das fertige Rechteck wird gezeichnet. Sind Sie nicht zufrieden, können Sie das Rechteck sofort wieder löschen. Drücken Sie hierzu den Button **Delete rectangle** (Rechteck löschen, Abb. 5.1) und anschließend auf das zu löschende Rechteck.

### Rechteck um eine Lane

### Rechteck um eine Bande einer Lane



Modell 5.1 Zeichnen eines Rechtecks um eine Lane bzw. Bande (Markierung)

Durch erneutes Drücken und gleichzeitiges Festhalten der Maustaste wird ein Abbild des ersten Rechtecks dargestellt. Legen Sie dieses Objekt über die zweite zu berechnende Lane oder Bande und lassen Sie die Maustaste los. Nun wird dieses Rechteck über der zweiten Lane/Bande angezeigt. Achten Sie bitte darauf, dass die Rechtecke sich nicht überlappen.



**Hinweis:**

Die von links nach rechts auf einem Gel aufgetragenen Bahnen werden als Lanes bezeichnet. Hierbei enthält eine Lane überwiegend mehrere Banden.

**Automatischer Modus:** Ist der automatische Modus zuvor aktiviert worden (Eintragung der Anzahl der Lanes im Fenster *Type of Gel*), so werden nach dem Setzen des zweiten Rechtecks auf die zweite Lane, die vorgegebene Anzahl der Lanes automatisch gesucht und markiert. Selbstverständlich können Sie, neben Verschiebung und Löschen der einzelnen Markierungen, alle Optimierungen auch mit der Maus manuell vornehmen (Abb. 5.1).

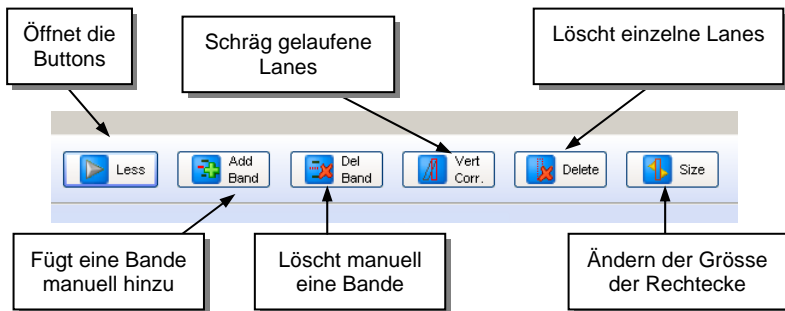
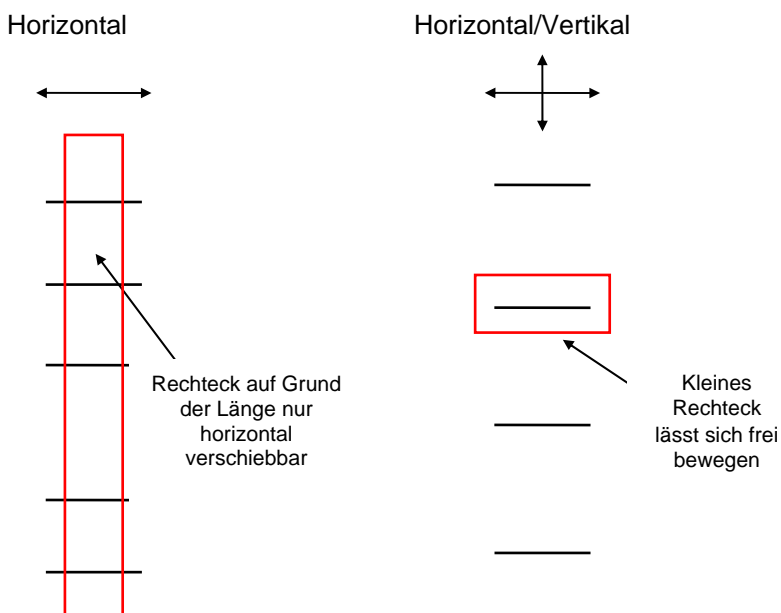


Abb. 5.1 Buttons zur manuellen Nachbearbeitung der gesetzten Rechtecke

Wenn Sie mit dem Mauszeiger in eine Bandenmarkierung gehen, verändert sich diese und zeigt Ihnen bei Bewegung die Möglichkeiten der Markierungsverschiebung an. Die Verschiebung der Rechtecke geschieht bei gedrückter Maustaste (Modell 5.2, set lane-Button aktiviert).

Haben Sie **nur einzelne** Banden umrandet, so lassen sich die Markierungen in alle Richtungen verschieben (Modell 5.2). Bei markierten Lanes mit mehreren Banden können die Rechtecke aufgrund ihrer Größe nur horizontal verschoben werden (Modell 5.2).



Modell 5.2

Bewegungen der Rechtecke auf dem Gel

**Ausnahmen:**

Benötigen Sie in speziellen Fällen untereinander verschieden lange Rechtecke, so können Sie unter dem Menüpunkt **Optionen** den Befehl **Lock vert. Move** deaktivieren. Jetzt sind alle Größen von Rechtecken auf dem Bildschirm frei bewegbar.

Um einzelne Rechtecke zu löschen, klicken Sie das Symbol **Delete Rectangle** (Abb. 5.1.). Dieses löscht einzeln jedes Rechteck mit einem Mausklick. Wenn Sie alle Rechtecke löschen wollen, so drücken Sie den **Mülleimer**. Der Mülleimer löscht alle bis zu diesem Zeitpunkt ausgeführten Aktionen, ausgenommen der Standardberechnungen, auf die wir später noch eingehen werden.

**Manueller Modus:** Sind zuvor keine Banden zahlenmäßig in das Fenster **Type of Gel** (Abb. 3.2). eingetragen worden, so müssen alle Rechtecke per Hand gesetzt werden. Abb. 5.2 zeigt das Hauptmodul und die mit Rechtecken markierten Banden. Auch hier bleibt Ihnen eine komplette manuelle Nachbearbeitung der Rechtecke, wie oben beschrieben, offen.

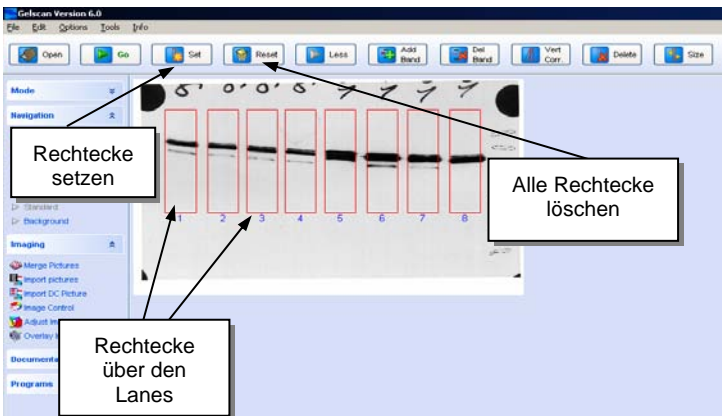


Abb. 5.2 Markierte Lanes im Expressionsmodus

## **5.2 Schräg gelaufene Gele werden in der Berechnung berücksichtigt**

Sie sollten bei Problemgelen mit schiefen Lanes im manuellen Modus alle Rechtecke mit der Hand über die Lanes legen.

Mit Hilfe einer Ausgleichsfunktion lassen sich schief gelaufene Gele und Blots berechnen. Ziehen Sie hierzu, bei gehaltener Maustaste, ein möglichst optimales Rechteck über die schräge Lane. Verfahren Sie so mit den weiteren Lanes auf Ihrem Gel. Achten Sie darauf, dass Sie im oberen Teil der Gele versuchen, die Banden der Lane exakt in Ihr Rechteck einzuschließen. In der Regel laufen die Lanes erst im mittleren oder unteren Abschnitt aus der Spur.

Aktivieren Sie nun den Button (Vert.Cor) mit dem schrägen Rechteck (Abb. 5.1, Abb. 5.2). Jetzt klicken Sie einmal in den unteren Teil des auszurichtenden Rechtecks und halten die Maustaste gedrückt. Es erscheint eine gestrichelte rote Linie. Diese können Sie jetzt mit der Maus wie ein Pendel nach rechts oder links bewegen.

Am besten Sie orientieren sich an einer unteren Bande der Lane, die aus der Spur gelaufen ist. Suchen Sie die Mitte der Bande und lassen anschließend die Maustaste los. Jetzt wird das Rechteck neu gezeichnet und Ihre Lane besser erfasst (Abb. 5.3). Sie haben auch hier jederzeit die Möglichkeit, wieder in das Rechteck zu klicken (Maustaste festhalten) um die Optimierung zu verbessern. Verfahren Sie mit den weiteren Lanes auf die gleiche Weise und drücken anschließend den Berechnungsbutton.

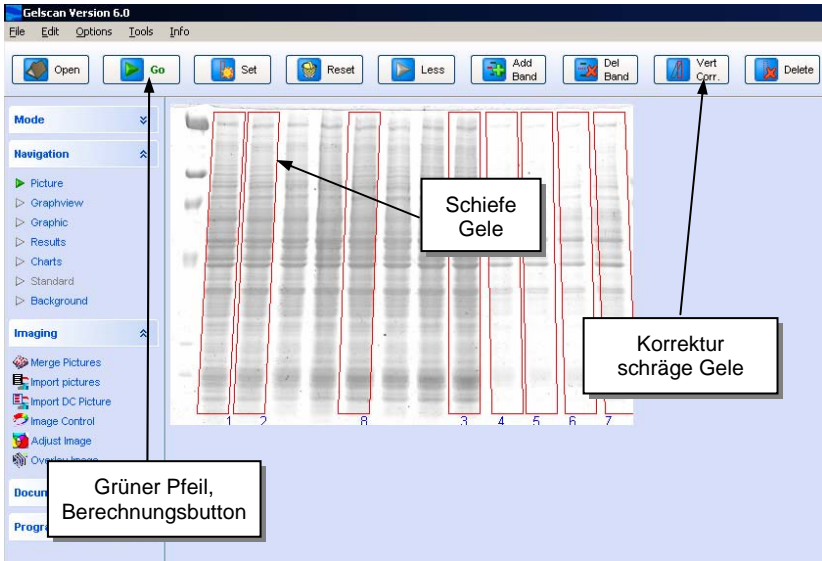


Abb. 5.3 Gel mit verzerrter Geometrie und modifizierten Rechtecken

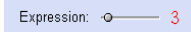
## 6 Die Expressionsanalyse

Nachdem nun alle Lanes oder Banden markiert sind, kann die Auswertung beginnen. Durch Betätigung des Berechnungsbuttons (**grüner Pfeil, Go**), kann jetzt die Intensität (Schwarzfärbung der Banden) errechnet werden. Nachdem der Button mit dem grünen Pfeil gedrückt wurde, sucht der Rechner automatisch die verschiedenen Banden auf dem Gel. Sie werden durchnummeriert und mit roten Markierungen versehen. Nun wechseln Sie in das **Graphikfenster**. Hier werden die Werte der ersten berechneten Lane oder Bande als Histogramm angezeigt. Die y-Achse gibt die Intensität der errechneten Grauwerte (0-256) an (8 bit Graustufen). Bei 16-bit Graustufen Bildern werden auf der y-Achse bis zu 65550 Grauwerte angezeigt. Bei Farbbildern mit 1,6 Mio. Farben werden die entsprechenden Farbwerte angezeigt.

Am Beispiel von 8 bit Bildern werden wir in dieser Anleitung die Beschreibung fortfahren. Zum besseren Verständnis, der Wert 0 steht im Rechner für die Farbe Weiß, während Schwarz den Wert 256 zugewiesen bekommt.

Die x-Achse gibt die Position der Werte an, die bei Abtastung des Rechtecks oder der Linie von oben nach unten ermittelt werden (Pixel/RF-Wert).

## 6.1 Automatische Nachbearbeitung der Banden

In diesem Histogramm werden die Banden aufgrund ihrer Höhe und Steigung ausgewählt und durch schwarze Integralklammern gekennzeichnet. Die Öffnung der Klammern zeigt dabei immer auf die zu berechnende Fläche unter der Kurve. Die Empfindlichkeit (**Sensitivity**), mit der die Banden in die Berechnung einbezogen werden, ist im Programm voreingestellt. Nach der ersten Berechnung der Banden wird in der oberen Buttonreihe eine  rote Zahl **3** angezeigt. Diese Zahl gibt die Empfindlichkeit (**Sensitivity**) an, mit der die Banden auf dem Gel ermittelt werden. Hier lässt sich die Empfindlichkeit mit dem rechts befindlichen Regler höher und niedriger einstellen. Bei Einstellungen kleiner 3 findet das Programm weitere Banden geringerer Intensität auf dem Gel und bei Einstellungen größer 3 nur Banden höherer Intensität. Nach einer Änderung der roten Zahl muss die Bandenberechnung durch Drücken des **Go-Button** erneut ausgeführt werden.



**Achtung: Hierbei werden alle alten Einstellungen und Ergebnisse überschrieben.**

Um Routinearbeit zu beschleunigen, gibt es die Möglichkeit, nach der Bandenermittlung automatisch in das **Graphview**-Fenster zu gelangen. Im Pulldown-Menü **Options** kann durch Drücken der Funktion **Switch to graphview** ein automatisches Wechseln in den **Graphview-Modus** aktiviert werden.

## 6.2 Manuelle Nachbearbeitung der Banden

### 6.2.1 Banden mit 'Schultern'

In Gelen mit schlechter Qualität oder Banden mit so genannten 'Schultern', können die Integralgrenzen hin und wieder unzureichend gesetzt sein. Zu diesem Zweck lassen sich die Grenzen ebenfalls manuell verändern. Die Grenzen (schwarze Klammern, Abb. 6.1) können mit dem Cursor berührt und per Mausklick verschoben werden. Alle Veränderungen der Klammern werden sofort in den Berechnungen festgehalten.

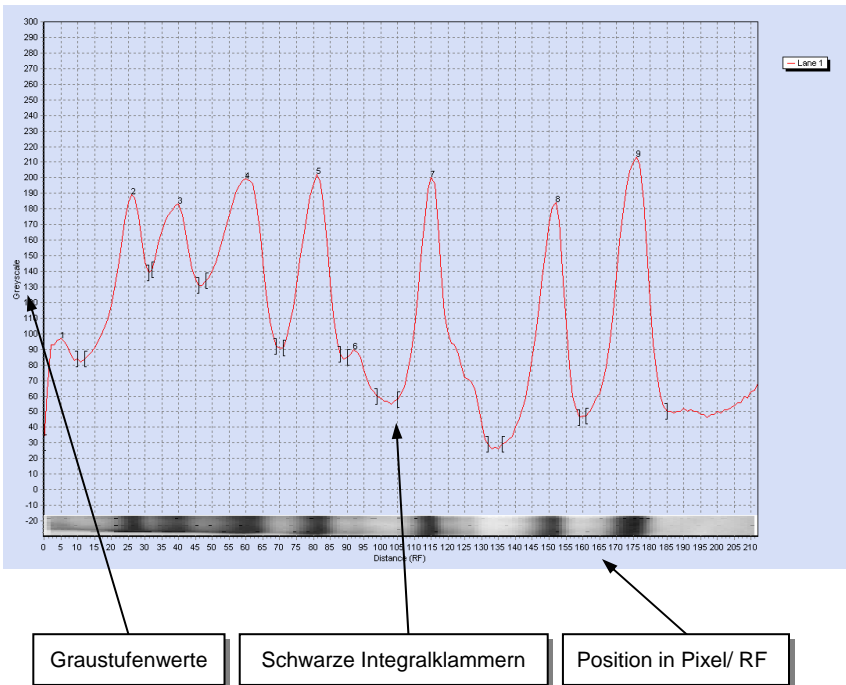


Abb. 6.1 Histogramm einer Lane mit den verschiedenen Banden

## 6.2.2 Manuelles Hinzufügen und Löschen von Banden

In vereinzelt Fällen werden Bilder trotz der Regulation der Empfindlichkeit nicht richtig erfasst. Hier können entweder Banden ausgelassen werden oder aber Banden fälschlich erkannt werden. Zu diesem Zweck verfügt das Programm über ein manuelles Modul, Banden bzw. Kurven durch einfaches Klicken mit der Maus einzufügen oder zu löschen.

Im **Pictureregister** lassen sich Banden mit Hilfe der auf der obersten Buttonleiste befindlichen Schalter **(+)** und **(x)** manuell einfügen und herausnehmen (Abb. 6.2). Hierzu klicken Sie auf den **(+)**-Schalter und anschließend auf eine unmarkierte Bande Ihrer Wahl (Abb. 6.2). Nach dem Mausklick wird die Bande an der gewünschten Position markiert. Das Löschen von überflüssigen Banden geschieht nach dem gleichen Prinzip.

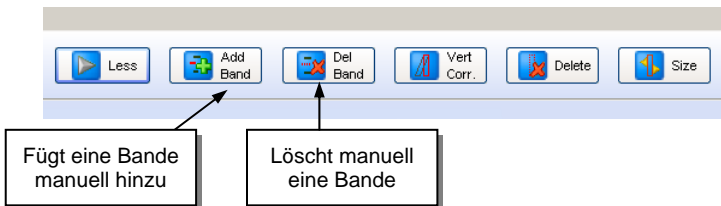


Abb. 6.2 Einfügen und Löschen von Banden im Picturefenster

**Im Graphikfenster** befinden sich auf der rechten Seite ebenfalls zwei Schalter mit der Aufschrift **(+)** und **(x)** (Abb. 6.3). Durch Drücken des Schalters, **(+)** kann vor eine Kurve im Histogramm, durch Klicken der linken Maustaste, eine Integralklammer eingefügt werden. Das so geöffnete Integral wird automatisch hinter der Kurve durch eine zweite Klammer geschlossen. Sie haben somit eine Bande eingefügt, welche gleichzeitig berechnet wurde. Durch Drücken des Schalters **(x)** können Sie, mit Hilfe eines Mausclicks zwischen zwei Klammern (innerhalb eines Integrals), eine vorhandene Bande löschen.

Als weiteres Tool einer sehr exakten manuellen Bandennachbearbeitung, dient die Funktion **Zoom Graphik** (Abb. 6.3). Nach Drücken des Lupenbuttons auf der rechten Seite im Graphikfenster ziehen Sie, bei gehaltener Maustaste, ein Rechteck über den zu vergrößernden Teil Ihres Histogramms (achten Sie darauf, dass Sie von links oben nach rechts unten Ihr Rechteck ziehen). Die **Zoom Graphik** gibt Ihnen die Möglichkeit, alle Banden, welche im Histogramm angezeigt werden, zu vergrößern und somit die Integralgrenzen genauer setzen zu können. Nach der Bearbeitung können Sie durch ein umgekehrtes Rechteck (nun von rechts unten nach links oben) den Zoomfaktors auf die Originaleinstellung zurückstellen.

Diese umfangreichen Bearbeitungsformen geben den verschiedenen Anwendern die Möglichkeit einer intensiven Gelbearbeitung.

### 6.3 Weitere Funktionen des Graphikmodus

Um alle weiteren Banden auf dem Schirm sichtbar zu machen, kann man auf der Scrollbar **First** nach rechts alle Histogramme der Lanes nacheinander auf den Bildschirm holen (Abb. 6.3). So ist die Möglichkeit gegeben -wenn notwendig- manuell alle Kurven nachzuarbeiten.

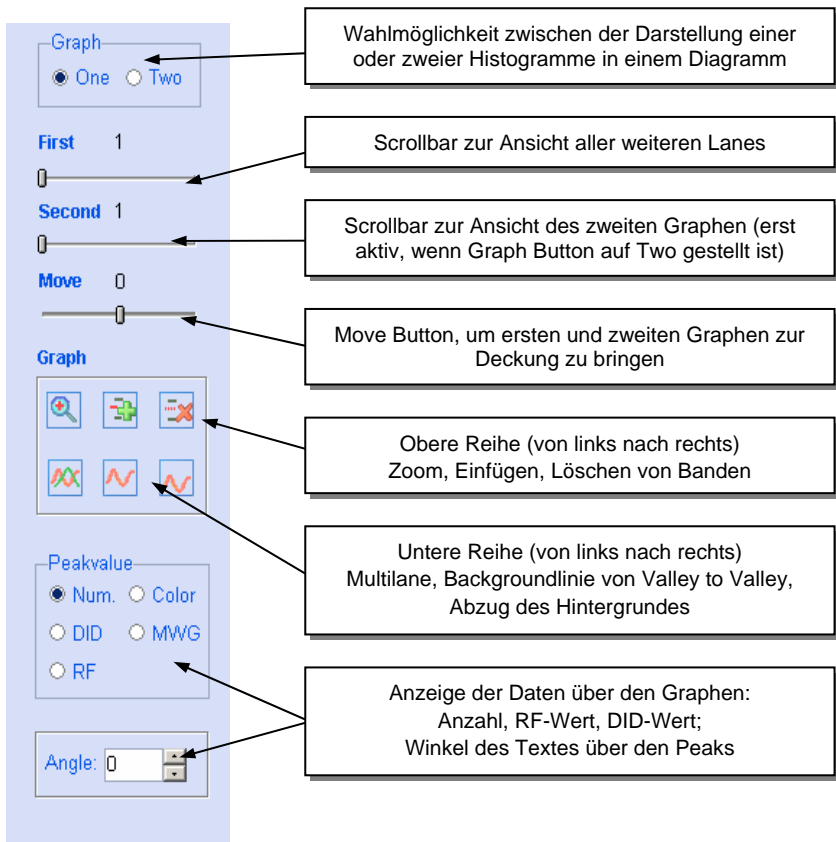



Abb. 6.3 Graphikmodus und die Funktionsbuttons

### 6.3.1 Multilane

Durch einen Druck auf die **Show Multilane** (  , Abb. 6.3) öffnet sich ein neues Fenster (Abb. 6.4) In diesem Fenster kann der Anwender schnell und übersichtlich, verschieden starke Expressionen ausgewählter Banden, miteinander vergleichen. Rechts wird ein komprimiertes Abbild des Gels gezeigt. Die Qualität des Bildes fällt aufgrund der starken Komprimierung unterschiedlich aus. Es dient dem Anwender lediglich als visuelle Entscheidungshilfe, welche der Banden gleichzeitig im Histogramm dargestellt werden sollen. Die Kästchen lassen sich per Mausklick aktivieren. Einzelne oder alle Histogramme können gleichzeitig dargestellt werden. Quittiert wird die Auswahl mit der OK-Taste.

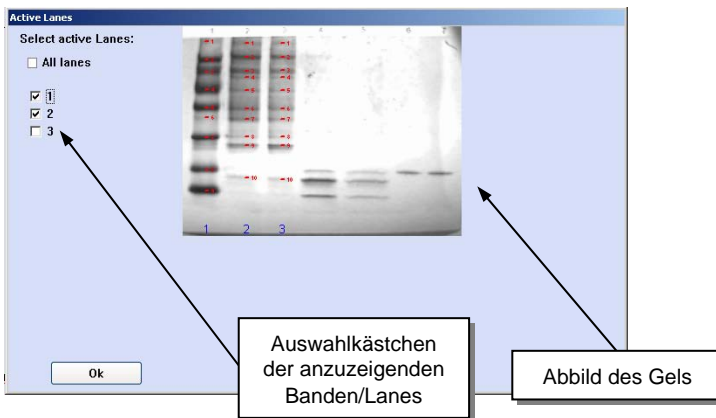


Abb. 6.4 Multilanefenster mit Funktionen

### 6.3.2 Histogramm Overlay

Mit dieser Funktion lassen sich verschiedene Histogramme übereinander legen und vergleichen. So ist es möglich, bekannte Bandenmuster (z. B. unbehandelte Proben, Kontrollen) mit behandelten Proben zu vergleichen und die Unterschiede zu detektieren. Hierzu werden komplexe Histogramme einfach übereinander gelegt.

**Beispiel:** Sie haben ein Gel mit 14 Lanes im Expressionsmodus markiert und anschließend berechnet. Nach dem Drücken des Berechnungsbutton gelangen Sie in das Graphikfenster. Dort wird Ihnen die erste markierte Bahn als Histogramm präsentiert. Wie bereits erwähnt, können Sie durch Klicken nach rechts auf der **First Scrollbar**, alle weiteren berechneten Bahnen betrachten. Durch Anklicken der Checkbox **Two** wird die **Second Scrollbar** aktiviert (Abb. 6.3). Durch Drücken auf die **Second Scrollbar** wird in der Graphik, die zweite berechnete Bahn im gleichen Diagramm in Blau dargestellt. Sie können diese beiden Histogramme nun zur Deckung bringen, indem Sie mit dem **Move Button** (Abb. 6.3) das blaue Histogramm über das erste (rote) Histogramm ziehen. In dieser Position lassen sich sehr gute Expressionsvergleiche zwischen den einzelnen Histogrammen durchführen. So haben Sie die Möglichkeit, im Zusammenspiel mit der **First** und **Second Bar** (Abb. 6.3) alle auf einem Gel befindlichen Banden miteinander zu vergleichen.

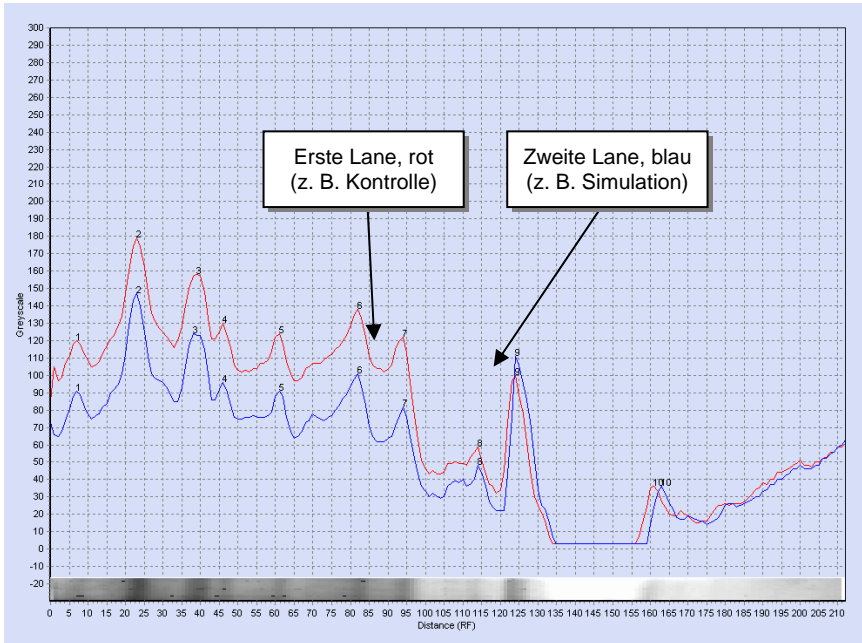


Abb. 6.5 Histogramm Overlay - Vergleich verschiedener Bandenmuster

### 6.3.3 Darstellung der errechneten Werte über den Graphen

Mit der **Peakvalue**-Funktion (Abb. 6.3, Abb. 6.6) erhalten Sie die Möglichkeit, verschiedene Werte der einzelnen Banden über den Graphen anzuzeigen. Hier lassen sich die **Bandenummerierung (Num.)**, die **Rate of Flow-Werte (RF)** sowie die errechnete Fläche **Differential Integrated Density (DID)** und die **Molecular Weights (MWG**, nur im Berechnungsmodus Mol.Weight, siehe Kapitel 9) anzeigen. Die Werte können mit Hilfe des **Angle**-Fensters in allen Winkeln über den Peaks angezeigt werden. Tragen Sie einen Wert

größer Null ein, so wird der Text in dem von Ihnen gewählten Winkel angezeigt. Besonders angenehm ist diese Eigenschaft, wenn Peaks in der Graphik sehr eng aneinander liegen. Hier können horizontal angezeigte Werte von den Nachbarwerten zum Teil schlecht unterschieden werden. Es bietet sich in diesem Fall an, die Werte im 45° oder 90° Winkel anzuzeigen. Die Abb. 6.6 zeigt ein Beispiel der Flächenwerte in 45° über den Peaks.

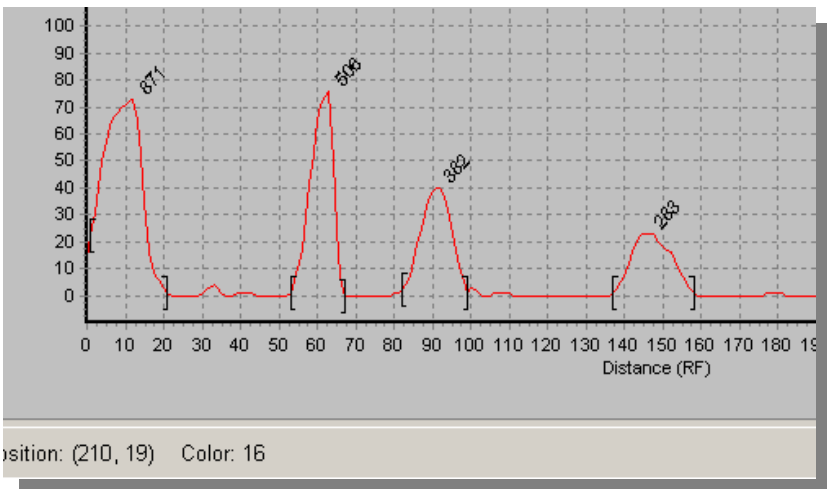


Abb. 6.6 Darstellung der DID-Werte über den Peaks im 45°-Winkel

Die Funktionen der Buttons **Valley to Valley** und **Subtraction Valley to Valley** sind in Kapitel 12 näher erläutert.

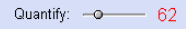
## 7 Quantifizierungen (Standardfenster)

Der Standardmodus dient der Berechnung unbekannter Mengen im Vergleich mit bekannten Substanzmengen.

**Standardkurve:** Im ersten Schritt muss eine Standardkurve erstellt werden. Hierzu müssen bekannte Mengen oder Expressionswerte in ansteigender Konzentration auf einem Gel aufgetragen werden. Da später die Berechnungen unbekannter Werte mit Hilfe einer linearen Regression durchgeführt werden, sollte darauf geachtet werden, dass die eingesetzten Standardmengen in einem Gel linear ansteigen. An dieser Stelle muss auf einen neuen Berechnungsmodus eingegangen werden.

### 7.1 Umrandungsmodus (Quantify)

Diese Berechnungsform ermöglicht eine genaue Kalkulation der Banden. Mit Hilfe des Umrandungsmodus ist es möglich die Bande exakt zu umranden und alle Grauwerte innerhalb dieser Umrandung zu errechnen. Hierfür werden die ausgewählten Banden zunächst mit Hilfe eines Rechtecks umschlossen. Dabei gelten die gleichen Auswahlkriterien wie bei der Markierung mit Linien oder Rechtecken. Ziehen Sie bei gehaltener Maustaste ein möglichst *kleines* Rechteck um die Bande und lassen die Taste dann los. Die weitere Auswahl wird, wie bereits beschrieben, vorgenommen. Nach der Markierung der letzten Bande wird durch Drücken des **Berechnungsbuttons** (grüner Pfeil) die automatische Suche nach den Grenzen der Banden begonnen. Hier werden, nach einem intern berechneten Toleranzwert, die Grenzen der Banden berechnet und eingezeichnet. Ist dieser Wert

zu niedrig, d.h. die Bandengrenzen wurden zu weit gesetzt, hat der Anwender die Möglichkeit, durch manuelles Verändern des Toleranzwertes (  **Sensitivity**), die Banden neu einzugrenzen. Hierzu können die Werte bei 8 bit Bildern von 0-255 reguliert werden. Bei 16 bit Graustufenbildern können die Werte von 0-65536 reguliert werden. Nach einer manuellen Veränderung des Wertes muss zur Neuberechnung erneut der **Go-Button** gedrückt werden.

## 8 Standardfenster

Mit Hilfe der dreidimensionalen Funktion und der im Umrandungsmodus gewonnenen Daten, können nun sehr exakte Mengeberechnungen durchgeführt werden.

Zum Erstellen einer Standarddeichkurve klicken Sie bitte auf das Standardfenster. Im oberen Teil der Programmseite befinden sich vier Schalter (Abb. 8.1).

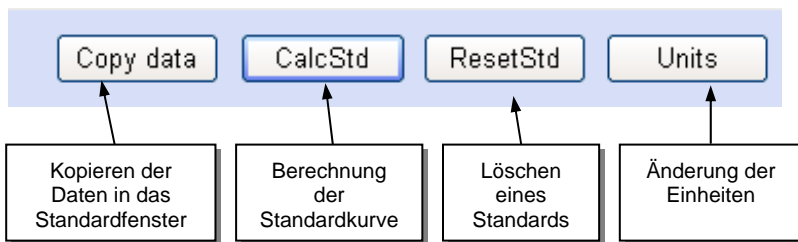


Abb. 8.1 Buttons zur Bedienung des Standardfensters

Durch einmaliges Drücken der **Copy Data** Taste werden die zuvor mit Hilfe des Umrandungsmodus errechneten Werte in die Standardtabelle übertragen. Diesen Flächenwerten (DID) können jetzt manuell bekannte Mengenwerte zugeordnet werden.

### 8.1 Erstellen einer Standarddeichkurve

Mit Hilfe von bekannten Stoffmengen (Proteine, DNA oder RNA), welche auf einem Gel aufgetragen wurden, lassen sich mit Hilfe dieses Programmteils unbekannte Mengen berechnen. Es muss bei der Erstellung einer Standarddeichkurve darauf geachtet werden, dass die bekannten Proben etwa in linear ansteigenden Mengen auf das Gel aufgetragen werden.

### 8.1.1 Standard mit mehreren bekannten Mengen

Jetzt lässt sich durch Umranden der Banden, vom *kleinsten* Wert bis hin zum *größten* bekannten Wert, eine Eichkurve erstellen. Hierzu werden die Daten im Standardfenster durch **Copy Data** (

Abb. 8.2) übernommen. Anschließend können die bekannten Mengenwerte in der Tabelle hinter den einzelnen Werten eingegeben werden. Hierbei unterstützt die Funktion **Units**, auf der linken Seite, die Gewährleistung der richtigen Einheiten. Hier können Sie von **Prozent** bis **µg** und **cDNA-Kopien** alles eintragen. Auch im Resultfenster werden die Einheiten nach Ihren Eintragungen angepasst.

Durch Klicken der Taste **Calc. Std.** werden die Daten in das Diagramm überschrieben und es wird eine **lineare Regression** errechnet und durch eine grüne Linie dargestellt.

Auf der x-Achse werden Ihre gewählten Einheiten gegen die Flächenwerte auf der y-Achse aufgetragen. Die Berechnungs-Grundlage, die mathematische Funktion, wird Ihnen zur Hilfe unterhalb des Diagramms angezeigt.

Das Programm speichert alle Einstellungen und unbekannte Bandenflächen können jetzt, im Vergleich zur Regressionsgerade, berechnet werden.

Abb. 8.2 zeigt das Standardfenster.

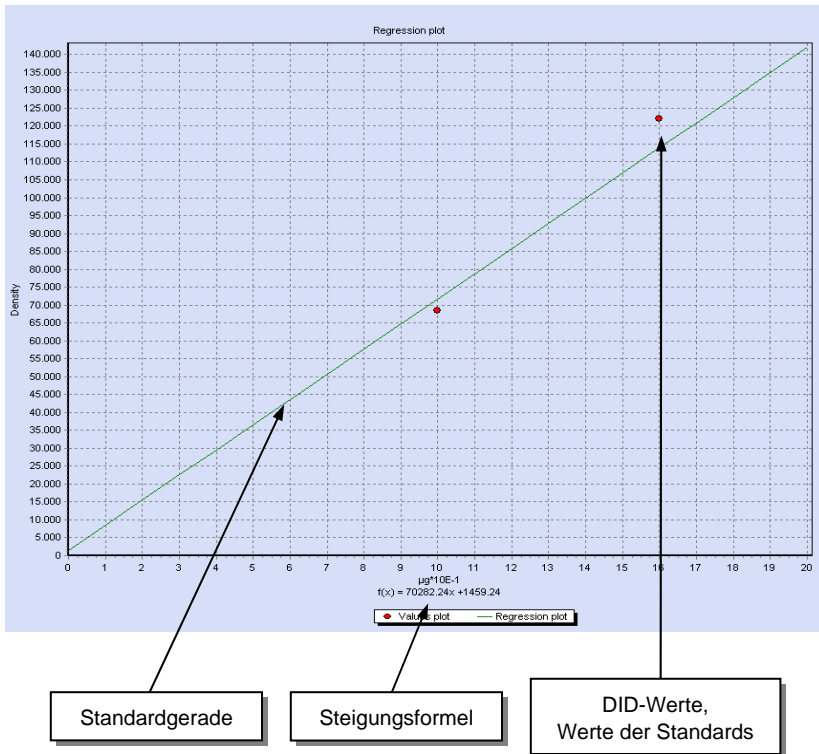


Abb. 8.2 Standardeichkurve

### 8.1.2 Auswahl unbekannter Banden

Jetzt können im **Picturefenster** neue unbekannte Banden errechnet werden. Durch Klicken auf den Button **Set lane rectangle** (Abb. 5.1.) können weitere Rechtecke gleicher Größe auf unbekannte Banden gelegt werden. Ein erneutes Drücken des Berechnungsbutton (grüner Pfeil) kalkuliert die Menge der unbekanntes Bande. Im **Resultfenster** wird der errechnete Wert, in der Spalte **Ihrer gewählten Einheit**,

angezeigt. Da alle Werte für eine Mengenermittlung voreingestellt und geeicht wurden, können jetzt auch alle Markierungen gelöscht werden und die unbekanntes Banden mit neuen Markierungen versehen werden. Das anschließende Drücken der Umrandungstaste berechnet jetzt alle Mengen der ausgewählten Banden.



### **ACHTUNG !**

Es sei darauf hingewiesen, dass eine Mengenermittlung von Banden nur innerhalb eines Gels nahezu hundertprozentig auszuführen ist. Im Vergleich zu anderen Gelen müssen die Versuche und Versuchsbedingungen alle standardisiert werden. Als Beispiel sollten bei einem Ethidiumbromid- gefärbten PCR-Agarosegel die eingesetzten Mengen des Ethidiumbromids immer exakt gleich sein, das Gel immer annähernd gleich dick gegossen werden, die Aufnahmen des Gels immer mit der gleichen Entfernung des Gels zur Kamera und die gleichen Belichtungszeiten, Kontrast usw. eingehalten werden, um Vergleiche zwischen verschiedenen Gelen überhaupt möglich zu machen.

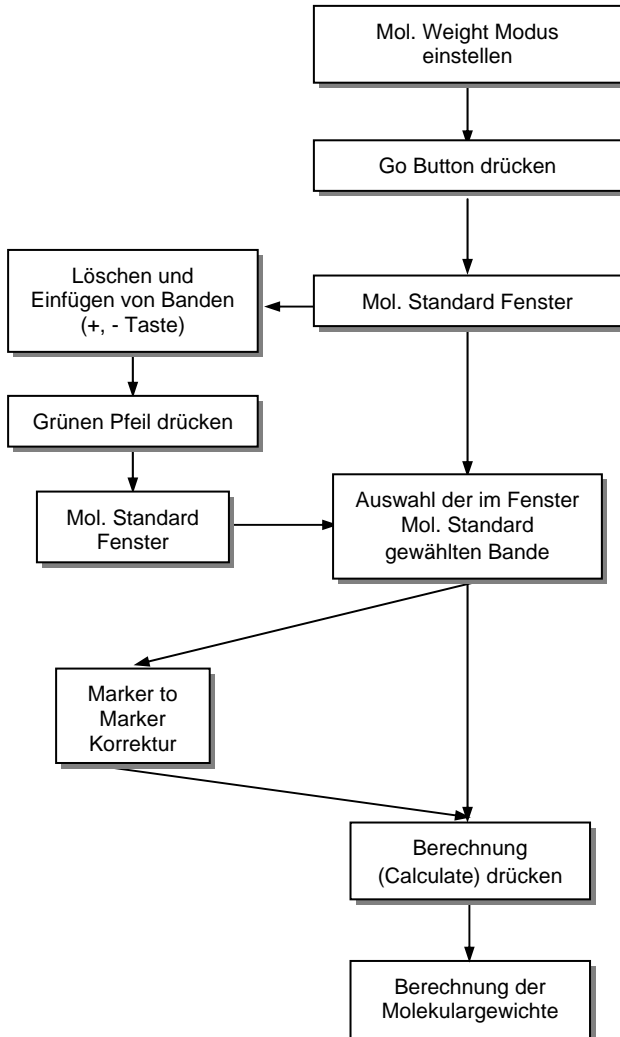
#### **8.1.3 Mengenermittlungen mit nur einer bekannten Menge**

Erst durch das Betätigen des Button **Reset Std** (Abb. 8.1) im Standardfenster werden alle Standardberechnungen gelöscht. Es ist eine weitere Möglichkeit, unbekanntes Mengen zu berechnen. Haben

Sie zum Beispiel ein Proteingel mit Coomassie oder Silber gefärbt, so können Sie, sofern Sie auf dem Gel eine bekannte Menge eines Protein X als Kontrolle mitlaufen haben, mit Hilfe dieser Kontrolle auf die unbekanntenen Mengen des Protein X z.B. aus verschiedenen Zellen vor und nach einer Behandlung schließen.

Hierzu lesen Sie das Gel in das Programm ein und wählen Sie zunächst den Modus **Quantify**. Anschließend ziehen Sie ein Rechteck um die Bande mit der bekannten Menge und drücken den Berechnungsbutton. Jetzt wechseln Sie in das Standardfenster und Drücken **Copy Data**. Neben der errechneten Fläche tragen Sie jetzt die passende Konzentration ein und quittieren den Vorgang mit **Calculate Standard (ClcStd)**. Das Programm errechnet jetzt eine Regressionslinie. Wechseln Sie jetzt in das **Picturefenster**, setzen Sie dort über alle weiteren Banden die Rechtecke und drücken anschließend zur Berechnung erneut den **Go-Button**. Die Konzentrationen der unbekanntenen Banden werden jetzt im **Resultfenster** in der Spalte **Einheit Ihrer Wahl** angezeigt. Auch hier gelten die Hinweise im Vergleich mit Substanzen auf verschiedenen Gelen. Durch den **Resetbutton** im Standardfenster können alle Standardwerte gelöscht werden.

## 9 Molekulargewichtsberechnungen



Schema 9.1 Ablaufschema der Molekulargewichtsbestimmung

## 9.1 Molecular Weight Analysis (für zwei oder mehr Marker)

Im Modus **Mol. Weight** (  , **type of calculation**) ist es möglich, mit einem Molekulargewichtsmarker, der als Referenz auf dem Gel mitläuft, die Molekulargewichte der übrigen auf dem Gel befindlichen Banden zu ermitteln. Bei den Berechnungen der Massengewichte werden die Banden bzw. Lanes, wie schon bei den vorangegangenen Berechnungen beschrieben, ebenfalls durch Rechtecke markiert.

Nach Drücken des **Go-Buttons** werden nach einer kurzen Berechnungszeit alle Banden, durch kleine rote Markierungen gekennzeichnet. Abb. 9.1 zeigt den markierten Zustand aller Banden.

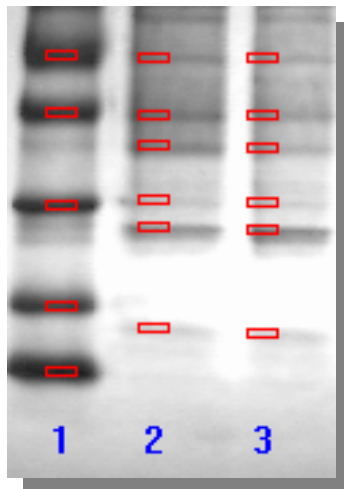


Abb. 9.1 Bandenmarkierung im Mol. Weight.-Modus

Nach der Markierung der Banden erscheint ein weiteres kleines Fenster (Abb. 9.3). Sie können nun entscheiden, ob Sie einzelne Banden nacharbeiten möchten oder aber mit der Erkennung der Banden zufrieden sind und weiterberechnen möchten.

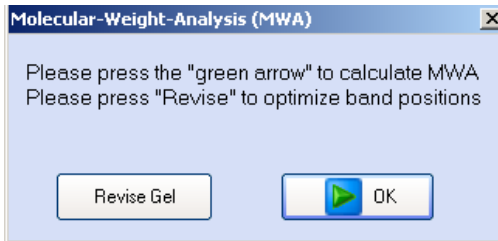


Abb. 9.2 Auswahlfenster nach der Markierung der Banden



**Hinweis:**

Wenn in der Markerbande aufgrund von Verunreinigungen des Gels oder aufgrund einer niedrig eingestellten Sensitivität falsche Banden gefunden werden, so können diese manuell entfernt werden. Drücken Sie dazu den Button "Revise Gel" in dem sich öffnenden Fenster (Abb. 9.1).

Auch hier können die beiden Buttons (+) bzw. (-) auf der obersten Buttonleiste benutzt werden. Drücken Sie den Button (-) und gehen Sie mit dem Cursor auf die zu löschende Bande. Der Cursor verändert über der Bande seine Form und Sie können mit einem Mausklick die Bande entfernen bzw. einfügen.

## 9.2 Molecular Weight Analysis Fenster (MWA)

Nachdem Sie die Banden auf Ihrem Gel bearbeitet haben, öffnet sich nach Drücken des **Go-Buttons** das Molecular Weight Analysis Fenster.

Mit dem **MWA** haben Sie die Möglichkeit, Gele mit mehr als zwei Markern zu matchen. Das **MWA** bietet die Bearbeitung großer Gele mit starken Smile Effekten. Außerdem werden die Einstellungen zur Berechnung der Massengewichte vorgenommen.

**Molecular Weight Options**

Select Marker: Cluster Analysis

Select Band: 100

Lane: 1 Band: 9

Calculate Ok

Matching Sensitivity: 50

Set Marker Refresh Marker

Band Options:

Align Bands ?

Auswahl des Markers und einer bekannten Position

Auswahl einer bekannten Markerbande

Abb. 9.3 MWA-Fenster

Zunächst wählen Sie eine Lane auf dem Gel (Marker) als Referenzmarker. Hierzu klicken Sie in die **kleine Checkbox** unterhalb der von Ihnen gewählten Markerlane. Außerdem müssen Sie im Kästchen **Reference Marker:** die entsprechende Lane angeben. Dann wählen Sie Ihren Marker im Pulldownmenü **Select Marker:** aus (siehe auch Abb. 9.3). In diesem Standardfenster sind einige bekannte Standardmarker bereits enthalten. Ist Ihr Marker nicht vorhanden, so haben Sie die Möglichkeit, Ihren eigenen Marker zu definieren. Nachfolgend in diesem Kapitel wird beschrieben, wie Sie einen bekannten oder eigenen Marker in die Software einfügen.

Nach der Auswahl der Markerlane und des Markers müssen Sie eine bekannte Position innerhalb des Markers per Mausklick aktivieren. Wählen Sie in dem kleinen Fenster **Select Band:** die Position, die Sie einer Bande auf der Markerlane zuweisen wollen.

**Beispiel:** In diesem Gel in wählen wir einen Proteinmarker. Wir wählen ein Massengewicht, in unserem Fall 14,3 kD. Wir suchen die Bande auf dem Marker und klicken auf die Bande (Abb. 9.4).

Die anderen Markerbanden werden automatisch zugewiesen.

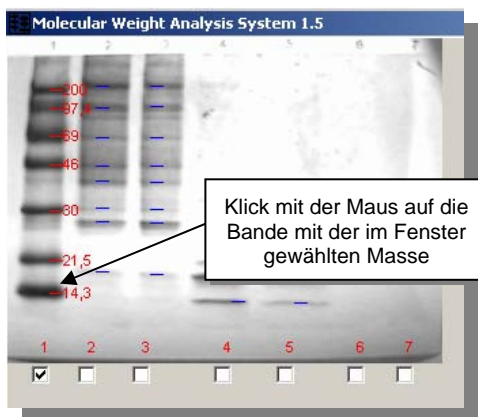


Abb. 9.4 Ausgewählte Standardbande

### 9.2.1 Automatisches Matchen von Markern

Nach der automatischen Zuordnung aller Standardbanden haben Sie nun die Möglichkeit, eine Berechnung durchzuführen. Drücken Sie hierzu auf den **Calculate**-Button.

Haben Sie weitere Marker auf Ihrem Gel, so wählen Sie die, die Sie für eine optimale Berechnung des Gels benötigen, aus. Hierzu aktivieren Sie die kleinen Kästchen unter den entsprechenden Lanes und drücken anschließend **Set Marker**. Jetzt werden die Marker über das Gel hinweg gematched (Abb. 9.5). Bei extrem schief gelaufenen Gelen (Smile) kann es vorkommen das Standards nicht immer perfekt gematched werden. Hier hilft der **Schieberegler** (Sensitivity) die Eigenschaften des Matchens zu optimieren.

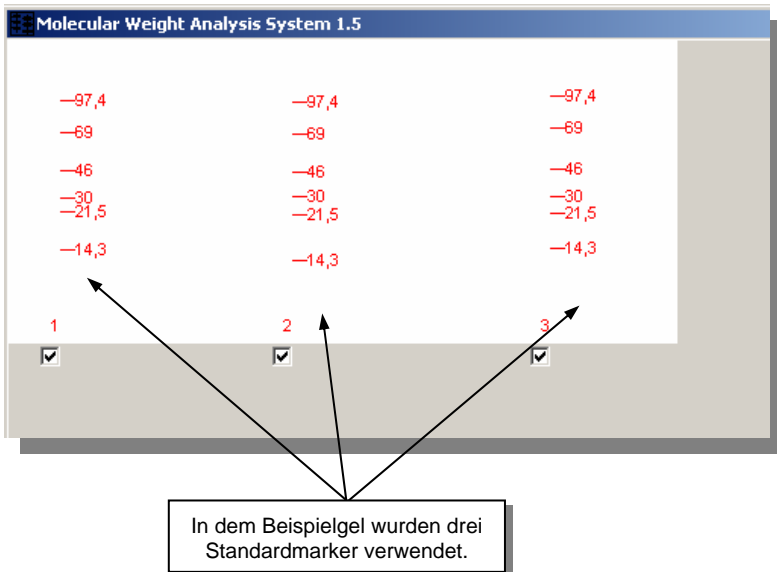



Abb. 9.5 Drei Standards über das Gel gematched

Schieben Sie den **Sensivity Regler** weiter nach rechts und drücken erneut **Calculate**. Wiederholen Sie den Vorgang solange bis das Ergebnis des Matchens zufrieden stellend ist.

### 9.2.2 Manuelles Matchen von Markern

Werden mit Hilfe des automatischen Matchen die gewünschten Marker dennoch nicht zufrieden stellend zugeordnet, haben Sie die Möglichkeit, eine manuelle Zuordnung durchzuführen. Hierzu Klicken Sie im **MWA-Fenster** auf den Button . Im nachfolgenden Fenster stehen Ihnen nun die zu matchenden Marker gegenüber (Abb. 9.6).

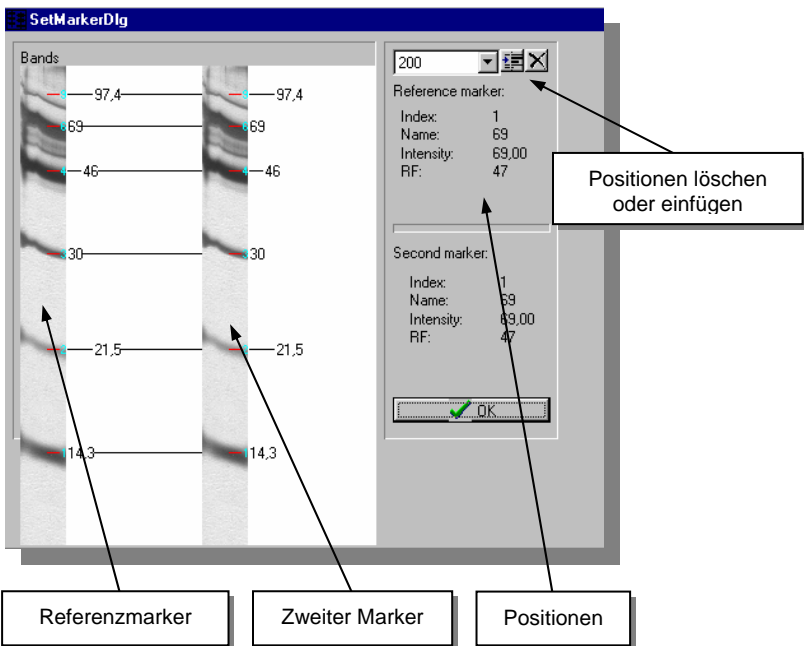


Abb. 9.6 Manuelles Ausrichtungsfenster zum Matchen

Jetzt orientieren Sie sich am linken Marker. Beginnen Sie entweder von oben nach unten oder aber von unten nach oben mit der Zuordnung. Gehen Sie mit dem Mauszeiger auf den roten Strich der zu matchenden Position auf dem linken Marker. Sobald Sie mit dem Mauszeiger die gewünschte Position berührt haben, werden die Werte gespeichert. Gehen Sie jetzt auf den zweiten Marker (rechts) an die Position, die dem Referenzmarker entsprechen würde und klicken Sie auf die linke Maustaste. Nun wird der Wert dem zweiten Marker zugewiesen. Verfahren Sie mit allen Positionen wie beschrieben. Zum Einfügen oder Löschen vorhandener Positionen drücken Sie die Abb. 9.6 in bezeichneten Buttons. Nach der erfolgreichen Zuordnung der einzelnen Markerpositionen verlassen Sie das Fenster.

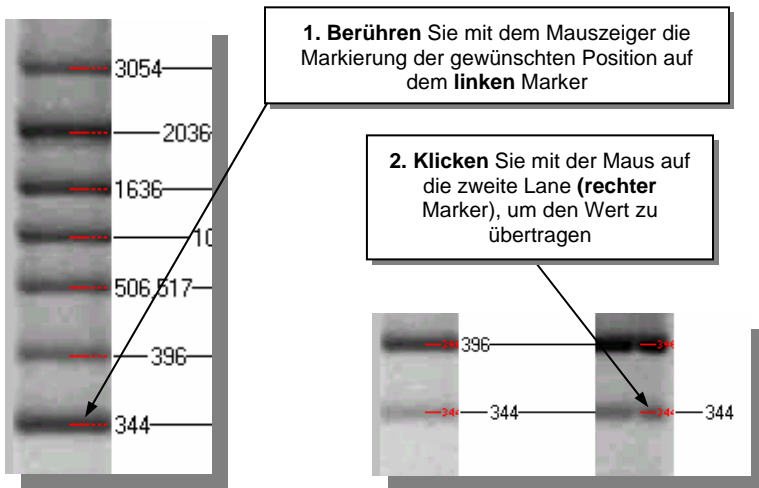


Abb. 9.7 Mechanismus des manuellen Matching

Nun kann das Gel berechnet werden. Drücken Sie hierzu die **Calculate**-Taste. Das berechnete Gel kann jetzt durch Drücken der OK-Taste ins Hauptprogramm überführt werden. Die Tasten **Visible** und **Grid** geben Hilfe bei der Ansicht und beim Zuordnen von Banden. Im Hauptprogramm können die Bilder selbstverständlich in der Datenbank abgelegt werden.

### 9.3 Marker definieren und bearbeiten

Das Programm bietet die Möglichkeit, unter dem Menü **Tools, Define Marker**, zur Definition eigener Marker.

#### 9.3.1 Neue Marker definieren

Klicken Sie auf **New**, so können Sie in das erste Feld **Name of Marker** Ihrem neuen Marker einen eigenen Namen geben. Im zweiten Fenster können Sie wählen, wie viel Stellen hinter dem Komma bei der Berechnung angezeigt werden sollen. In einer Liste (**List of markers**) können Sie Ihre Massengewichte eintragen. Jetzt bestätigen Sie die Eintragungen mit **OK** und quittieren mit OK. Sie können Ihren neu definierten Marker sofort bei Berechnungen einsetzen.

**Hinweis:**

Tragen Sie die neuen Werte in umgekehrter Reihenfolge (vom größten zum kleinsten Wert) in die Liste ein.

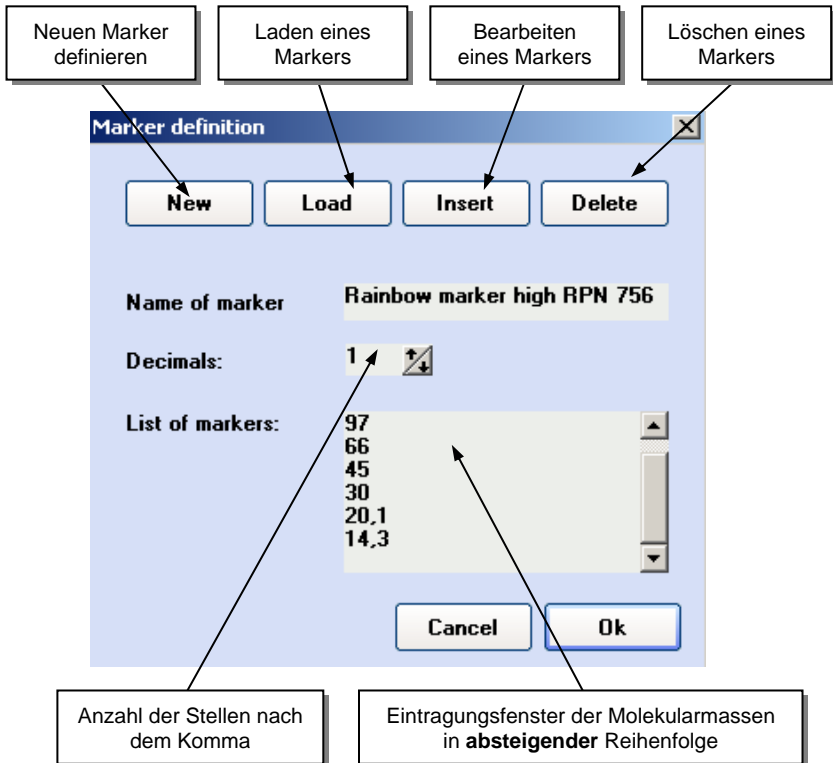


Abb. 9.8 Fenster der Marker-Definition

### 9.3.2 Marker bearbeiten

**Load** ermöglicht das Verändern bereits vorhandener Marker. Hierzu werden die Marker geladen und manuell verändert. Das Drücken des Buttons **Insert**, um die neuen Eintragungen zu übernehmen, fordert Sie zum Überschreiben der alten Werte auf. **Delete** löscht alle durch **Load** aufgerufenen Werte.

**Hinweis:**

Die Anzahl der Stellen hinter dem Komma können entscheidend werden, wenn wie im Beispiel von Proteingelen die Banden nur wenige Kilodalton auseinander liegen. Hier können zum Teil nur geringe Massenunterschiede durch Dezimalstellen detektiert werden.

Die Farbe, die Schriftart und die Grösse der Zahlenwerte können frei geändert werden. Im Pull Down Menü **Edit** lassen sich diese Einstellungen ändern.

**Fonts****Molecular Weight****Picture****Graphic chart**

## 10 Ergebnisse (Resultfenster)

Mit einem Klick auf das **Resultfenster** gelangen Sie in den Ergebnisteil des Programms. Hier sind alle Daten der Berechnung aufgelistet. Gleichzeitig wird ein Hilfsfenster geöffnet (Abb. 10.1). Die Werte, die markiert werden, sind die Daten des gerade im Hilfsfenster angezeigten Histogramms. Durch Herunterscrollen des Hilfsfensters werden simultan, zu den neuen Histogrammen, immer die aktuellen Daten markiert.

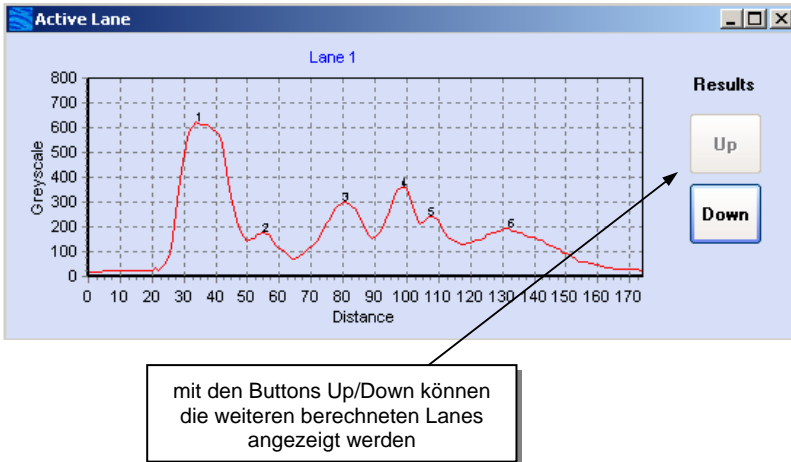


Abb. 10.1 Hilfsfenster (es dient der visuellen Unterstützung der Ergebnisse)

## Beschreibung der Werte

Lane	Anzeige der Bahnen (Lanes)
Band	Anzeige der Bande (oder mehreren Banden)
Height	Höhe des Histogramms in Graustufen 0-256
AID	Absolute Integrated Density
IBG	Integrated Background (Hintergrund)
DID	Differential Integrated Density
%DID	Prozentuale Verteilung der DID
RF	X-Werte vom Beginn des Rechteck (oben)
Einheit	Mengenberechnung in Einheiten Ihrer Wahl
Mol.Weight	Molekulargewicht

Tabelle 1 Erklärung der Bezeichnungen im Resultfenster

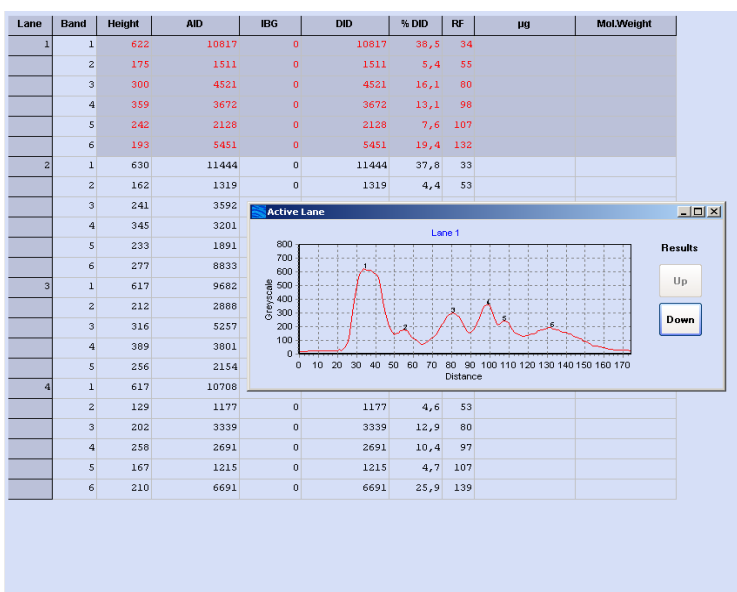


Abb. 10.2 Resultfenster im Überblick mit eingeblendetem Hilfsfenster

## 11 Statistische Darstellung (Statistikregister)

Durch ein Klick auf das **Statistikregister** (Abb. 11.1) gelangt man in den Teil des Programms, in dem alle Ergebnisse im Überblick dargestellt sind. Hier lassen sich alle Werte miteinander vergleichen und graphisch darstellen. Als nützliche Hilfe dient auch hier wieder eine Abbildung des Gels..

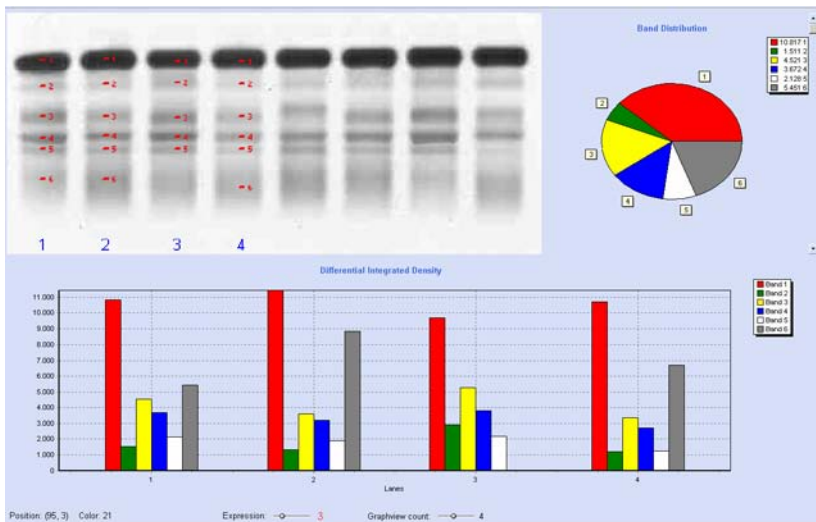


Abb. 11.1 Register des statistischen Überblicks

In der Balkengraphik (Abb. 11.2 und Abb. 11.3) im unteren Teil des Bildschirms wird die **Differential Integrated Density (DID)** aller ausgewerteten Lanes und Banden dargestellt. Unter dem Menüpunkt **Options**, in der obersten Menüleiste, lassen sich hier die Anordnungen der Balken verändern. Mit dem Befehl **Group bands** können Banden, innerhalb einer Lane, miteinander verglichen werden (Abb. 11.2, **Group lanes inaktiv**) oder aber gleiche Banden verschiedener Lanes (Abb. 11.3, **Group bands aktiviert**).

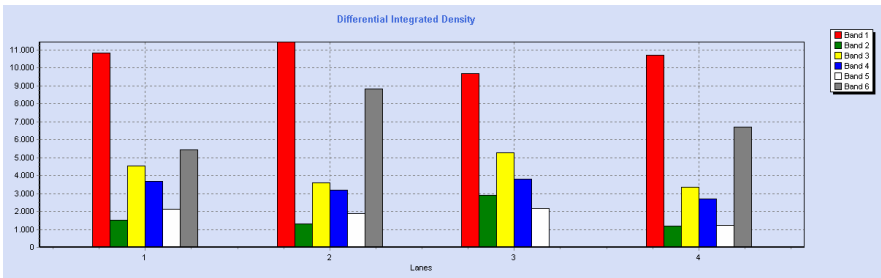


Abb. 11.2 Balkendiagramm der Banden innerhalb einer Lane

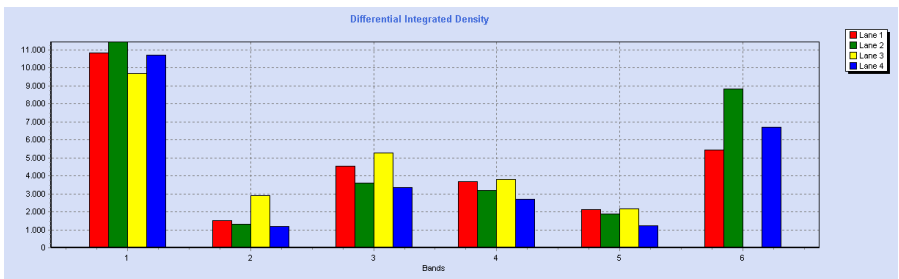


Abb. 11.3 Balkendiagramm gleicher Banden in verschiedener Lane

Rechts (Abb. 11.4) oben in diesem Register findet man die prozentuale Verteilung der Banden einer Bahn aufgeführt. Diese Werte erlangen allerdings erst eine Bedeutung, wenn mehr als eine Bande pro Lane berechnet wird, da bei einer Bande immer 100% angezeigt werden. Die verschiedenen Lanes lassen sich durch Scrollen nacheinander aufrufen.

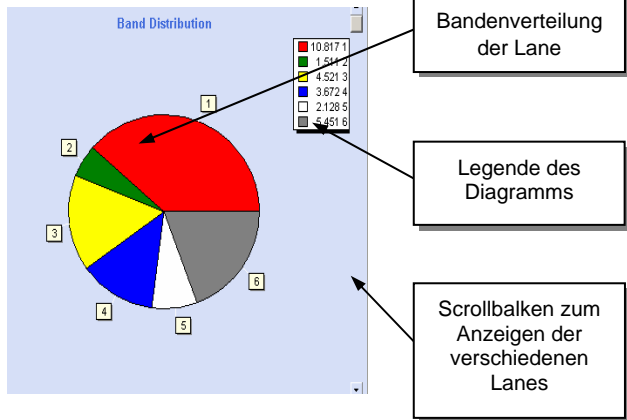


Abb. 11.4 Tortendiagramm der ersten Lane

## 12 Hintergrundberechnungen (Backgroundfenster)

Zu diesem Zeitpunkt möchten wir Sie mit der Berechnung des **Hintergrundgrauwertes** vertraut machen. Der Background oder Hintergrundgrauwert, geht bei allen Bandenberechnungen mit ein. Wie bereits vorher beschrieben, beruhen die Berechnungen aller Banden auf einer Graustufenberechnung von 0 bis 256 (8bit). Dabei muss beachtet werden, dass die Hintergrundfärbung des Gels, mit in die Berechnung einbezogen wird. Um die spezifischen Bandengrauwerte zu errechnen, muss der Hintergrundgrauwert berechnet und von den Banden gleichmäßig abgezogen werden. Gelscan berechnet automatisch den Hintergrundgrauwert für jede einzelne Lane oder Bande eines Gels. Während die Banden durch rechteckige Flächen berechnet werden, wird der Hintergrund zwischen den Lanes berechnet (Abb. 12.1). Hier sollten keine spezifischen Bandeninformationen liegen. Dieser Bereich eignet sich somit sehr gut um die Hintergrundfärbung des Gels zu berechnen und später von den spezifischen Bandenwerten abzuziehen. Das Programm zeichnet automatisch zwischen den Banden/Lanes **Grauwertlinien** ein. Die aus den Linien errechneten Werte werden unter den Linien angezeigt. Hier wird neben dem medianen Hintergrund, auch der gemittelte Wert berechnet. In einzelnen Fällen liegt der mittlere Hintergrund etwas höher als der Median ermittelte. Die Tabelle wird eingeblendet wenn Sie von Auto auf Manual umschalten.

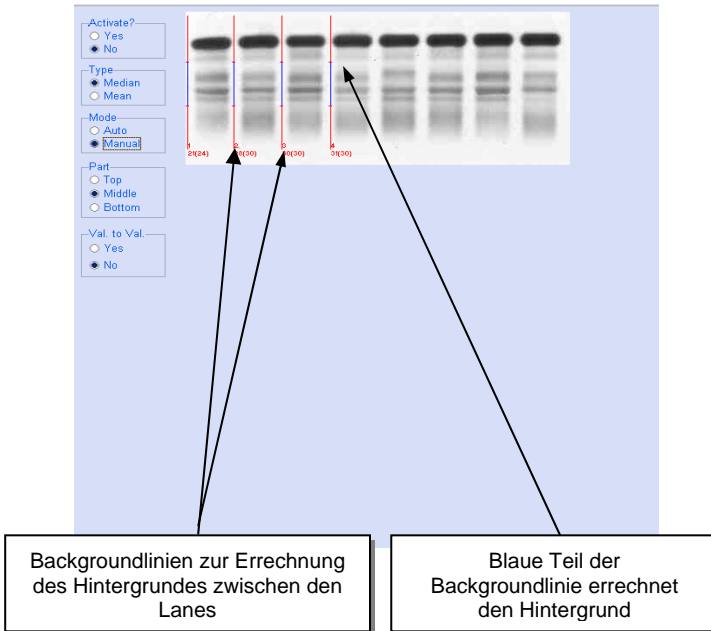


Abb. 12.1 Gel im Backgroundfenster mit Hintergrundlinien

## 12.1 Halbautomatische Veränderung des Background

In vereinzelt Fällen kommt es vor, dass die Berechnung des Hintergrundgrauwertes nicht optimal ausfällt. Auch hier besitzt das Programm eine Reihe von Funktionen den Hintergrund optimal zu berechnen (Abb. 12.2). Im **Backgroundfenster** befindet sich auf der linken Seite die Rubrik **Background**. In diesen Feldern lässt sich der Bereich, der zur Berechnung des Backgrounds genutzt wird, bestimmen. Es wird nicht die ganze Linie zur Berechnung herangezogen, sondern nur der blau markierte Teil der Linie (Abb. 12.1). Sollte ein Teil des Gels zwischen den Banden verschmutzt oder

sollte das Gel ein wenig schräg gelaufen sein, so dass die Backgroundlinien durch dunkle Regionen laufen und die Hintergrundwerte zu hoch liegen, so kann durch Drücken der Felder *Top*, *Middle* und *Bottom* der Bereich gewechselt werden. Auf diese Weise lassen sich hohe Hell- und Dunkelschwankungen zwischen den Banden zum größten Teil ausgleichen.

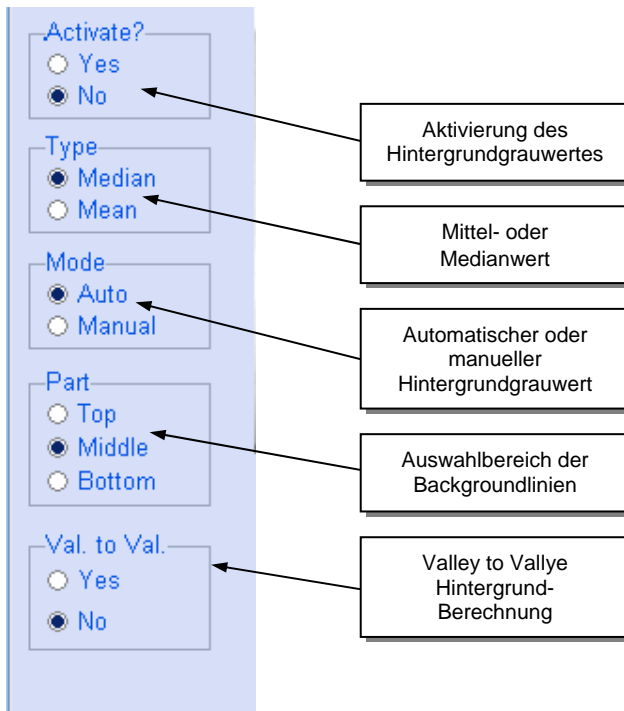


Abb. 12.2 Funktionsbuttons im Backgroundfenster

## 12.2 Manuelle Hintergrundberechnung

In diesem Modus lassen sich per Hand in die Spalte **Manual** eigene Werte eintragen. In der **Manualspalte** stehen die errechneten **Median**-Werte der ersten Spalte (Abb. 12.3). In dieser manuellen Spalte kann man jetzt einzelne Werte verändern, ohne alle weiteren Werte, die bereits passen, erneut eintragen zu müssen. Wenn Werte manuell verändert wurden, muss die Checkbox in der Mitte der Seite von **Auto** auf **Manual** umgeschaltet werden.

Lane	Median	Mean	Manual
1	24	25	24
2	22	22	22
3	18	20	18
4	18	19	18
5	22	23	22
6	30	30	30
7	24	24	24

The diagram shows three text boxes on the right side of the table, each with an arrow pointing to a specific column:

- The top box, labeled "Spalte zur Eintragung manueller Werte", has an arrow pointing to the "Manual" column.
- The middle box, labeled "Spalte der berechneten Medianwerte", has an arrow pointing to the "Median" column.
- The bottom box, labeled "Spalte der berechneten Mittelwerte", has an arrow pointing to the "Mean" column.

Abb. 12.3 Tabelle der errechneten Hintergrundgrauwerte für jede Lane

Um die Hintergrundberechnung zu aktivieren, muss die vorhandene Checkbox auf **Yes** gestellt werden. Durch anschließendes erneutes Drücken der **Calculatetaste** im **Backgroundfenster** werden die Backgroundwerte von allen Banden abgezogen. Um den Vorgang visuell zu verfolgen, schalten Sie die Checkbox auf **Yes** und gehen

anschließend in das Graphikfenster (Abb. 12.2). Jetzt können Sie die Berechnung starten und Sie werden sehen wie die/das angezeigte Histogramm um den abgezogenen Hintergrundgrauwert kleiner wird.



**Achtung:**

**Wenn Sie bis zum Zeitpunkt der Hintergrundberechnung bereits manuelle Veränderungen im Histogramm vorgenommen haben (z.B. Veränderungen der Integralgrenzen), so werden alle manuellen Veränderungen durch Drücken der Calculate Taste (grüner Pfeil) *auf der oberen Programmleiste* gelöscht. Wenn Sie dennoch den Background zu diesem Zeitpunkt abziehen wollen, ohne Ihre Veränderungen zu verlieren, drücken Sie die Calculate Taste (kleiner grüner Pfeil) im Backgroundfenster.**

### 12.3 Valley to Valley Background Substraction

Hier werden Sie auf eine weitere Variante der Background Berechnung hingewiesen. Bei gleichmäßigem Hintergrundverlauf auf dem zu berechnenden Gel empfiehlt sich, die Berechnung des Backgrounds nach dem **Valley to Valley** Prinzip. Hier werden von der Software durch Aktivierung des **Valley to Valley** Buttons (Abb. 12.2) im Backgroundfenster die offenen Integralklammern durch eine direkte gestrichelte Linie verbunden (Abb. 12.4).

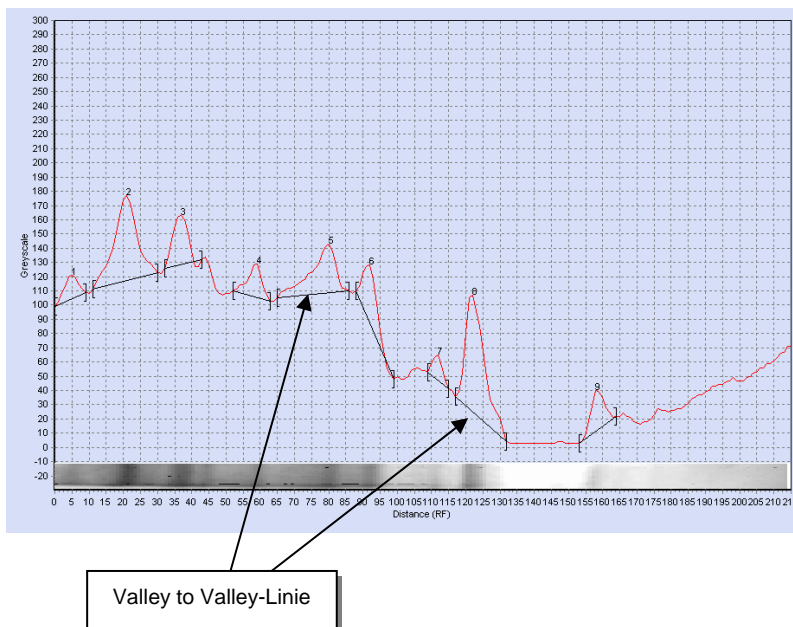


Abb. 12.4 Linie zwischen den offenen Integralklammern

Die eingezeichnete Linie grenzt das Areal unter der Kurve ein. Simultan werden die Werte der Fläche unter der Kurve neu berechnet und im Ergebnisregister eingetragen. Der Wert unterhalb der gestrichelten Linie wird als Background definiert und von der Gesamtfläche subtrahiert. Auch dieser Wert wird als **IBG (Integrated Background)** im Resultfenster eingetragen. Man hat aber auch die Möglichkeit, **die Valley to Valley** Funktionen im Graphikfenster auszuführen. Hierzu befinden sich auf der rechten Seite des Graphikfensters eine Gruppe von sechs Buttons (Abb. 12.5). Die

unteren beiden rechten sind für die **Valley to Valley**-Berechnung vorbelegt.

Drückt man den linken der beiden Buttons wird die gestrichelte Linie eingezeichnet. Bei erneutem Drücken wird die Linie wieder entfernt. Wenn Sie den darunter liegenden Button **DID (Differential integrated Density)** aktivieren, wird Ihnen immer der aktuell errechnete Flächenwert oberhalb der Kurve angezeigt. Durch Drücken des rechten Buttons haben Sie die Möglichkeit, den Background visuell zu subtrahieren (Abb. 12.6). Nun wird Ihnen das Histogramm abzüglich des Backgroundwertes auf dem Monitor angezeigt.

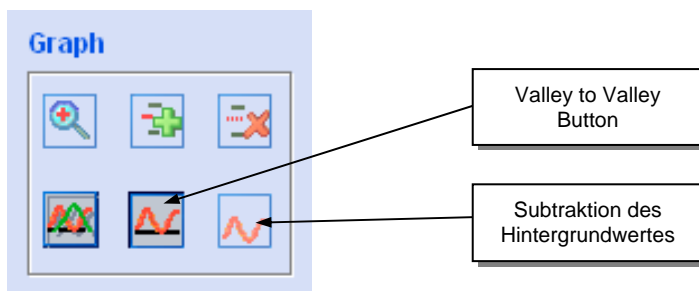


Abb. 12.5 Gruppe der Buttons mit den Valley to Valley-Funktionen

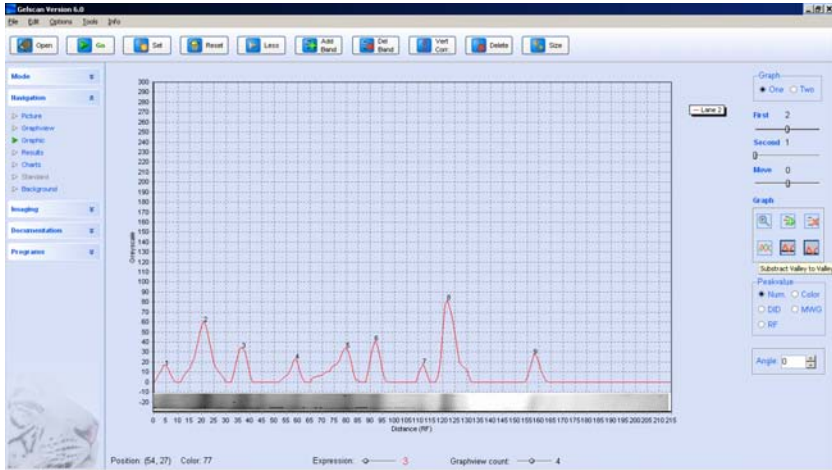
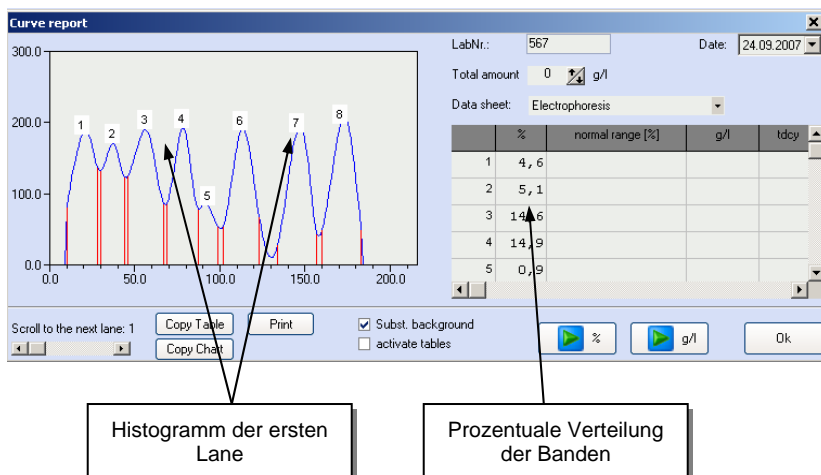


Abb. 12.6 Histogramm nach dem Abzug des Hintergrundes

## 13 Kurven Report und bekannte Verteilungswerte

Dieses Modul ermöglicht Ihnen eine schnelle Berechnung, der in einer Elektrophorese aufgetrennten Banden. Zum Öffnen dieses Fensters klicken Sie unter dem Pull Down Menü **Tools** auf **curve report**.

Wenn Sie zuvor ein beliebiges Gel ausgewertet haben und anschließend das **Curve report** Fenster geöffnet haben, werden die prozentualen Verteilungen aller Banden angezeigt (Abb. 13.1).



Histogramm der ersten  
Lane

Prozentuale Verteilung  
der Banden

Abb. 13.1 Fenster Curve-Report

Neben den prozentualen Verteilungen der Banden lassen sich auch Mengen berechnen. Hierzu müssen Sie zuvor eine Datentabelle anlegen. Wechseln Sie hierzu in das Fenster **Tools** zu dem Programmpunkt **Edit range** (Abb. 13.2).

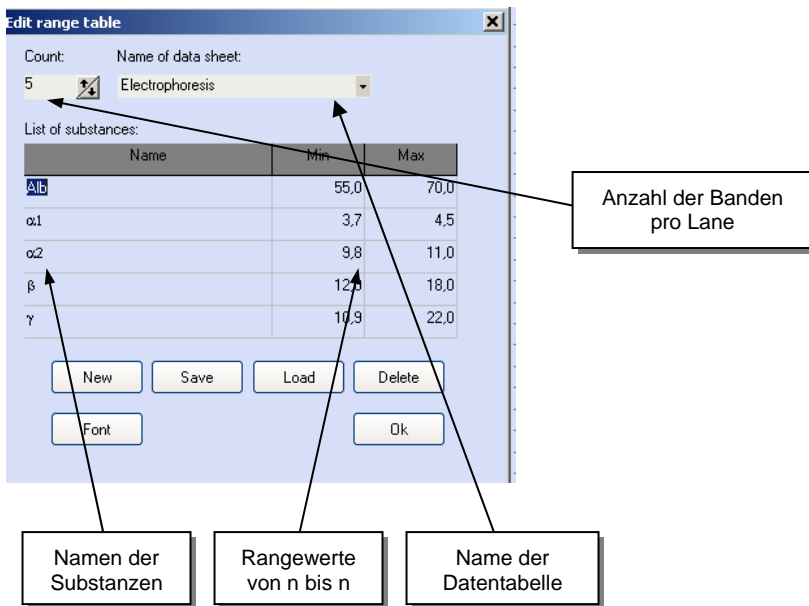


Abb. 13.2 Fenster Edit Range

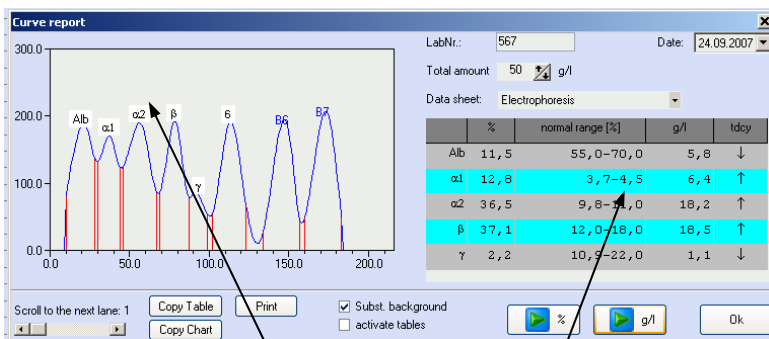
In diesem Fenster definieren Sie die Namen der zu untersuchenden Banden und wie im Beispiel der Serumelektrophorese, zusätzlich einen Mini- und Maximalwert (Range) für die Proteine (Substanzen). Anschließend können Sie Ihre Werte unter Ihrem Namen abspeichern. So stehen Ihnen, bei der Berechnung immer gleicher Gele, Ihre Daten schnell zur Verfügung. Nutzen Sie zum Speichern, Laden und Löschen die Buttons auf der unteren Seite des Fensters.

Nach dem Eintrag in die Datenbank wechseln Sie wieder in das Fenster **curve report**.

**Hinweis:**

Nach der Definition einer Datentabelle sind die Anzahl der zu berechnenden Bande vorgegeben. Sie können mit dieser Datentabelle nur Gele mit immer gleicher Bandenzahl berechnen. Banden die zuviel oder zuwenig gefunden wurden, können nicht in der Berechnung berücksichtigt werden.

Abb. 13.3 sehen Sie erneut nur die prozentuale Verteilung der Banden. Öffnen Sie nun das Pull Down Fenster **Data sheet** auf der oberen Seite und wählen den Namen ihrer zuvor gespeicherten Datentabelle aus. Anschließend drücken Sie den **grünen Pfeil** mit der **g/l** Aufschrift. Nun sehen Sie Ihre Bandenbezeichnungen über den Banden angezeigt. Neben den Prozentwerten sehen Sie Ihre Min- und Max-Werte eingetragen.



Bandenbezeichnung

Rangewerte

Abb. 13.3 Kurven-Report einer Serumelektrophorese mit Berechnungen

Geben Sie nun in das Fenster **Total amount** ihre zuvor berechnete Gesamtmenge ein. Im Beispiel der Serumelektrophorese tragen wir 50g/l Gesamtprotein ein. Anschließend drücken Sie erneut die Taste mit dem grünen Pfeil g/l und die Software errechnet die Proteinmenge für jede einzelne Bande. In der letzten Spalte (Tendency (tdcy)) zeigen Ihnen Pfeile, die Abweichungen von den definierten Werten an. Pfeil nach oben bedeutet eine Abweichung nach oben, während ein Pfeil nach unten eine Abweichung nach unten anzeigt (Abb. 13.4).

	%	normal range [%]	g/l	tdcy
Alb	11,5	55,0-70,0	5,8	↓
α1	12,8	3,7-4,5	6,4	↑
α2	36,5	9,8-11,0	18,2	↑
β	37,1	12,0-18,0	18,5	↑
γ	2,2	10,9-22,0	1,1	↓

Abb. 13.4 Data sheet

### 13.1 Banden verbinden und Integralklammern verbinden

Im Fenster **Edit bands** (Abb. 14e) unter dem Pull down Menü **Tools** haben Sie die Möglichkeit, Banden zu verbinden. In dem geöffneten Fenster können Sie im oberen Bereich die Banden auswählen, die Sie verbinden möchten. Tragen Sie in das Fenster die erste von zwei hintereinander folgenden Banden ein. In das Fenster **to** tragen Sie die Bande ein, die mit der vorderen Bande verbunden werden soll. Am Beispiel in dem abgebildeten Fenster werden die Banden 4 und 5 miteinander verbunden. In dem kleinen Fenster mit dem Namen **Lane** zeigen Sie an, in welcher Lane Sie die Banden zusammenführen möchten. Aktivieren Sie den Button **All Lanes**, so werden alle in unserem Beispiel gewählten vierten und fünften Banden verbunden. Durch Drücken des Button **Do** wird der Vorgang aktiviert.

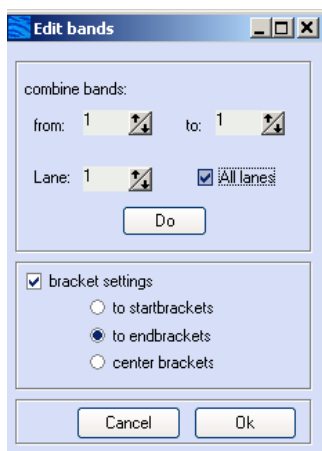


Abb. 13.5 Edit Bands (Modify)

Im unteren Teil des abgebildeten Fensters haben Sie die Möglichkeit, das Setzen der Integralklammern zu beeinflussen.

Normalerweise werden alle Banden mit einer Startklammer (öffnen des Integrals) und einer Endklammer (schließen eines Integrals) automatisch berechnet. Liegen mehrere Banden in einer Lane, so werden die Banden immer von einer Startklammer und einer Endklammer eingeschlossen. Täler (Valleys) zwischen zwei Banden werden von der Berechnung ausgeschlossen. Dies ist im allgemeinen ein erwünschter Zustand. In einigen Fällen darf aber zwischen den Banden kein von der Berechnung ausgeschlossener Raum entstehen. Hier bietet das Programm die Möglichkeit, die Start- und Endklammern zusammen zulegen. So wird nach dem Setzen einer Endklammer am Ende einer Bande sofort die Startklammer für die nächste Bande angesetzt (Abb. 13.6). Wenn Sie die Checkbox **bracket setting** aktiviert haben, können Sie wählen welche Klammern zusammengeführt werden. Testen Sie die verschiedenen Möglichkeiten.

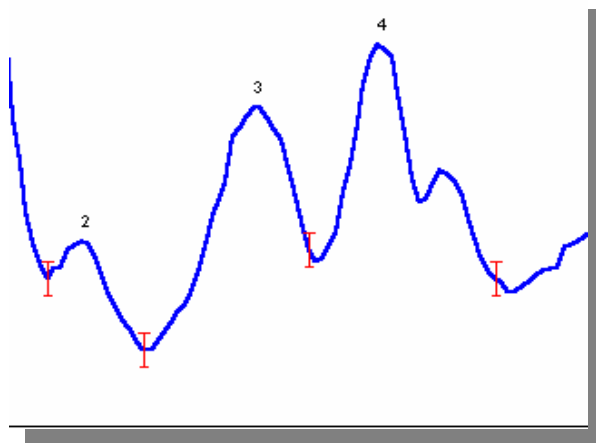


Abb. 13.6 Kurven mit verbundenen Klammern (Brackets)

## 14 Datenbanken speichern Ihre Ergebnisse

Gelscan beinhaltet eine komfortable Datenbank. In dieser Datenbank lassen sich alle gewonnenen und kalkulierten Daten abspeichern. Sie öffnen die Datenbank im linken Menü durch den Link **Database** unter **Documents**. Des Weiteren steht Ihnen neben einer Passwortsicherung Ihrer Daten eine umfangreiche Suchfunktion zur Verfügung.

### 14.1 Speicherung der Daten in der Datenbank

Nachdem Sie Ihr Gel ausgewertet haben, öffnen Sie die Datenbank (Abb. 14.1). Um einen neuen Eintrag in der Datenbank vorzunehmen drücken Sie den Button mit der Bezeichnung **New**. Bei jedem neuen Eintrag müssen Sie diesen Button drücken um alle Eintragungsfelder zu löschen. Bei der ersten Eingabe sind alle Felder leer.

In dem Feld **Namen** können Sie nun ihren Namen eintragen. Anschließend gehen Sie in das Feld **Description** und wählen eine freie Beschreibung für ihr Gel. Das **Datum** ist immer aktualisiert. Im Feld für **Geltyp** können Sie eine eigene Bezeichnung für Ihr Gel eintragen oder aber durch Öffnen des Fensters (Pfeil nach unten) eine voreingestellte Bezeichnung auswählen (z.B. Western Blot). In der **Comment Box** haben Sie die Möglichkeit, kurze Kommentare zu Ihrem Versuch einzutragen.

Jetzt haben Sie alle Grundeintragungen ausgeführt und können durch Drücken des Schalters **Save** Ihre Berechnungen in der Datenbank ablegen. Abb. 14.1 zeigt die Datenbankeingabemaske.

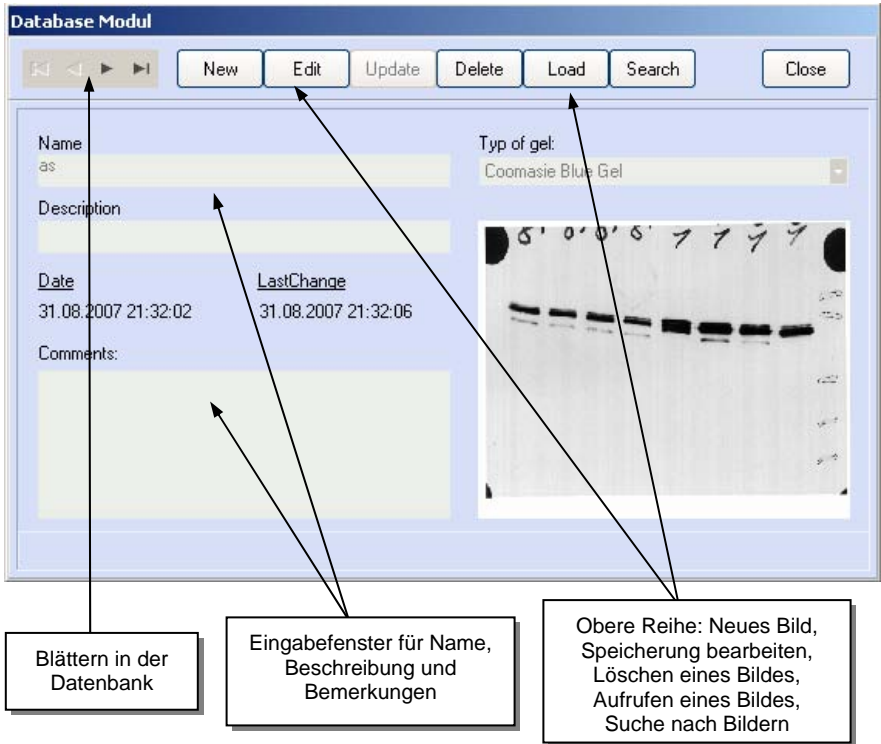


Abb. 14.1 Eingabemaske der Datenbank

## 14.2 Laden eines Gels aus der Datenbank

Durch Drücken des Buttons **Load** (Abb. 14.1) können Sie Ihre in der Datenbank abgelegten Bilder und Daten wieder auf den Rechner holen. Nach dem Öffnen der Datenbank wird in der Maske das erste in der Bank abgelegte Bild angezeigt. Sie haben nun zwei Möglichkeiten Ihre Daten zu finden.

## 1 Manuelle Suche durch die Bedienung der Seitentasten (Pfeiltasten)

### 2 Automatische Suche mit Hilfe einer Suchfunktion

#### 1 Manuell

Die **Pfeile** in der oberen Buttonleiste führen Sie in die von Ihnen gewünschte Richtung innerhalb der Datenbank. **Der Pfeil ohne Balken** auf der Spitze lässt Sie jeweils um ein Blatt nach vorne oder zurück blättern. Durch Drücken des **Pfeils mit Balken** auf der Spitze werden Sie zum Ende oder zum Anfang der Datenbank. Geführt. Wo Sie sich gerade innerhalb der Datenbank befinden, wird durch ein **Zahlenpaar** auf der rechten Seite der Maske angezeigt (z.B. **3/15**). Hier zeigt die linke Zahl in der eckigen Klammer Ihre Position an, während die rechte Zahl die Gesamtanzahl aller gespeicherten Daten anzeigt. Drücken Sie solange auf die Pfeiltasten bis Sie Ihr Bild in dem kleinen Vorschaumonitor Ihrer Maske erkennen. Durch Drücken der **Load**-Taste wird Ihr Bild in das Hauptprogramm überführt. Haben Sie allerdings zuvor ein anderes Bild im Hauptprogramm geladen so wird Ihnen mitgeteilt, dass Sie alle alten Daten verlieren werden. Sie müssen dann die eingeblendete Warnung mit **Yes** quittieren.

#### 2 Automatisch

Sie haben des Weiteren die Möglichkeit, nach bestimmten von Ihnen definierten Wörtern zu suchen. Durch Drücken des Buttons **Search** öffnet sich ein komfortables Suchfenster. Hier haben Sie die Möglichkeit, nach Ihrer **Description, Namen, Datum oder Comment** zu suchen. Aktivieren Sie die Art (z.B. Description) nach der Sie

suchen wollen und geben Ihre Beschreibung in das leere Fenster ein. Dabei ist es nicht wichtig ob Sie Groß- oder Klein schreiben. Durch das Drücken der **OK-Taste** wird Ihre Arbeit gesucht und in der Maske angezeigt. Sollten mehrere Arbeiten, z.B. mit Ihrem Namen nach dem Sie gesucht hatten existieren, so drücken Sie den **Button** mit der Aufschrift **Next** und Sie werden die weiteren Arbeiten mit Ihrem Namen erhalten. Mit **Prior** gelangen Sie zurück. Durch Drücken der **OK-Taste** wird Ihr ausgewähltes Bild dann wieder in die Hauptdatenmaske überführt. Mit **Load** übergeben Sie Ihre Bildwahl dann in das Hauptprogramm. Auch hier kommt es zur Abfrage ob im Hauptprogramm bearbeitete Daten überschrieben werden sollen. Wenn Sie Ihre Daten mit einem Passwort gesichert hatten müssen Sie jetzt in das geöffnete Passwortfenster Ihr Schlüsselwort eintragen und bestätigen. Abb. 14.2 zeigt die Lademaske der Datenbank.

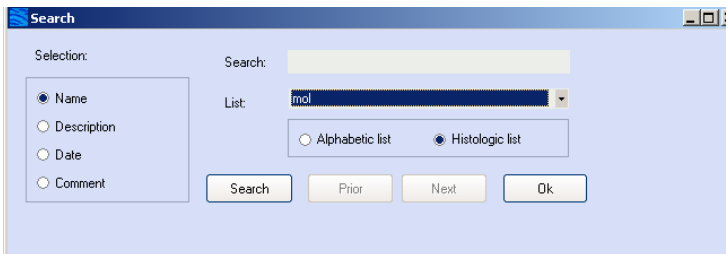


Abb. 14.2 Datensuchmaske zum Laden abgelegter Files

Neben der spezifischen Suche nach Wörtern unter den Rubriken **Name**, **Description**, **Datum** und **Comment** haben Sie auch die Möglichkeit, in einer **alphabetischen Liste** oder in der Liste der letzten Bearbeitungen (**Histologic list**) nachzuschlagen. Nach jeder Auswahl drücken Sie die **Search** Taste und anschließende den **OK-Button**.

## 15 Cluster Analyse System (CAS)

Gelscan Professional stellt eine weitere Datenbank zur Verfügung. Die **CAS-Datenbank** ermöglicht die Abspeicherung von Gelen und die Suche nach identischen oder ähnlichen Bandenmustern. Vorbereitet wird die Suche durch eine Größenbestimmung der Banden. Dies wird durch die Massengewichtsberechnung im **Molecular Weight**-Modus bestimmt. Berechnet man die Masse und damit die Größe einer Bande mit Hilfe von Molekularmarkern (Standard), so ist die Größe von Banden auch in anderen Gelen relativ exakt zu berechnen. Obwohl darauf geachtet werden sollte, dass Gele, die später miteinander gematched werden sollen, alle gleich behandelt werden sollten. Da der Marker auf jedem Gel mitläuft ist es möglich, Position und Größe gleicher Banden über viele Gele hinweg exakt zu definieren. Die auf einen molekularen Standard bezogenen Clusteranalyse, ermöglicht so die freie Suche nach gleichen oder ähnlichen Bandenmustern auf einem Gel oder über mehrerer Gele hinweg. Mit Hilfe von Dendrogrammen und verschiedener mathematischer Algorithmen lassen sich solche Analysen übersichtlich darstellen.

### 15.1 Speichern der Gele in der CAS-Datenbank

Zunächst müssen Sie, wie im Kapitel der Molekulargewichtsanalyse beschrieben ein Gel berechnen. Diese Werte dienen nicht der Berechnung der Molekülmassen, sondern der Berechnung der Positionen der Banden auf dem Gel. Hierbei ist unerheblich welchen Marker Sie für Ihr Gel verwenden. Entscheidend ist nur, dass Sie mindestens einen Marker auf dem Gel einsetzen, besser noch zwei, um Smileeffekte auf dem Gel auszugleichen. Zur Berechnung der

Positionen, öffnen Sie das Markerfenster im **Molecular Weight Analysis Modul (Kapitel 9)** und wählen die Position **Cluster Analysis**.

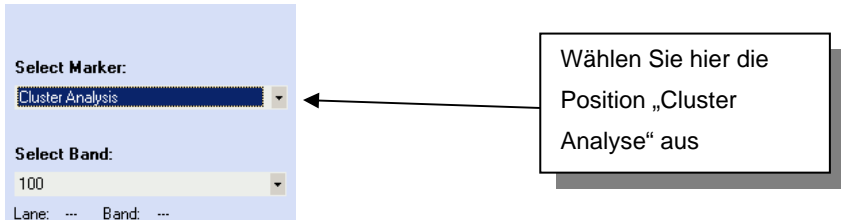


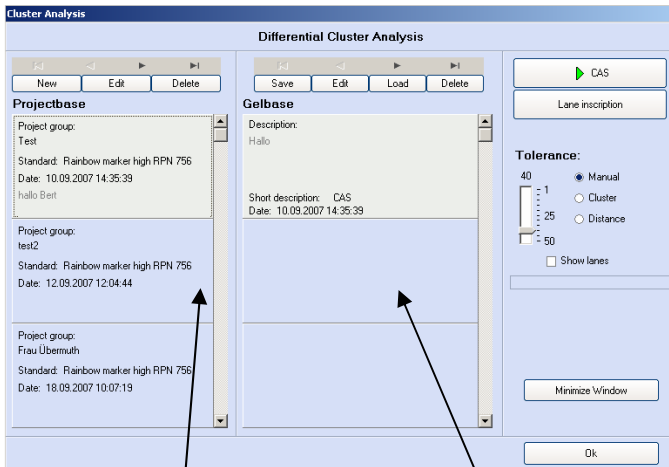
Abb. 15.1 Auswahlfenster für die Clusteranalyse

Gehen Sie wie in der Molekulargewichtsberechnung (Kapitel 9) beschrieben vor. Berechnen Sie Ihr Gel mit dem **Cluster Analysis** Marker, ganz gleich welchen Marker sie auf das Gel aufgetragen haben. Der **Cluster Analysis** Marker zählt nur die Banden von unten nach oben durch und gibt jeder Bande einen Wert im Abstand von genau 100 Pixeln. Weisen Sie der untersten Bande des Markers die Zahl 100 zu. Alle weiteren Banden werden nun mit 200, 300 usw. bezeichnet. Nun drücken Sie auf **Calculate** und wechseln Sie mit der **OK-Taste** zurück ins Gelscan Hauptmenü.

**Nun können Sie mit der eigentlichen CAS-Analyse beginnen.**

Wechseln Sie nun in das CAS-Tool. CAS ist ein Zusatzprogramm und ist in der Standardversion der Gelscan nicht enthalten. Unter der Adresse [www.bioscitec.de](http://www.bioscitec.de) können Sie sich über eine nachträgliche Freischaltung informieren.

Drücken Sie untern dem Link **Programs** auf **Cluster Analysis** um die CAS- Datenbank zu öffnen. Nachfolgend öffnet sich ein Fenster (Abb. 15.2).



Die linke Seite zeigt die übergeordnete Projektdatenbank

Die rechte Seite zeigt die Geldatenbank

Abb. 15.2 CAS-Fenster mit Projekt und Geldatenbank

In der übergeordneten **Projektdatenbank** werden Projekte angelegt mit Gelen gleichen Typs. Innerhalb eines Projekts können somit mehrere Gele abgelegt werden. Um unser erstes Gel in der CAS abzuspeichern, müssen wir zunächst ein Projekt anlegen. Drücken Sie auf der linken Seite den Button **New**. Nun tragen Sie in das Fenster (Abb. 15.3) einen Projektnamen ein. Darunter wählen Sie aus der Liste den zuvor gewählten **Cluster Analysis** Marker aus. Das Fenster Description erlaubt Ihnen eine kurze Beschreibung des Projekts.

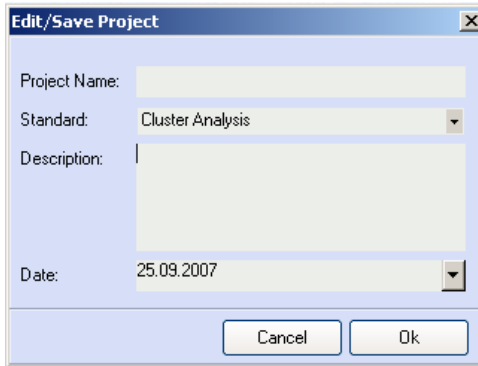
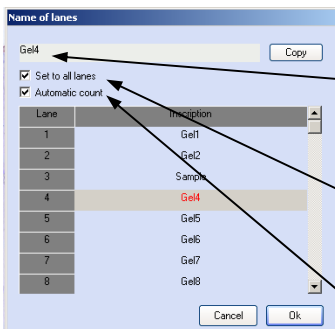


Abb. 15.3 Projekte bearbeiten und speichern

Nach dem Quittieren durch den OK-Button können Sie jetzt das Gel unter ihrem Projektnamen auf der rechten Seite in die Geldatenbank ablegen. Wenn Sie den **Save**-Button drücken, werden Sie darauf hingewiesen, zuerst die den Lanes auf Ihrem Gel einen Namen zu geben. Abb. 15.4 und Abb. 15.5 zeigen Ihnen, wie die Lanes Ihres Gels automatisch beschriftet werden.



Schreiben Sie in das obere Fenster einen Namen für Ihre Lanes.

Drücken Sie **Copy** und aktivieren Sie das Kästchen **Set to all lanes**

Aktivieren Sie das Kästchen Automatic count um alle Namen zu nummerieren.

Abb. 15.4 Beschriftungsfenster

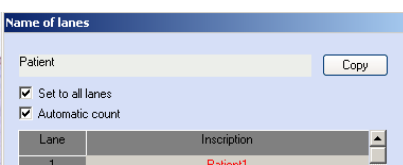


Abb. 15.5 Automatische Beschriftung eines Gels mit gleichem Namen

Es besteht selbstverständlich auch die Möglichkeit, jeder einzelnen Lane einen Namen zu geben. Hierzu schreiben Sie einen Namen in das obere Fenster und drücken anschließend die **Copy-Taste**. Verfahren Sie mit jeder Lane auf diese Weise. Verlassen Sie das Fenster mit der OK-Taste.

**Hinweis:**

**Sie haben im Namenfenster nur die Möglichkeit, bis zu 8 Buchstaben zu nutzen. Nutzen Sie mehr und möchten mit der Automatic count-Option eine automatische Nummerierung durchführen, werden Buchstaben Ihres Lane-Namen zu Lasten der Zahlen abgezogen.**

Drücken Sie nun erneut die **Save-Taste**. Tragen Sie nun in das Fenster eine Beschreibung Ihres Gels ein. In das darunter liegende Feld tragen Sie bitte einen Kurznamen für das Gel ein. Diese

Beschreibung werden Sie später im Dendrogramm wieder finden. Sie dient der eigentlichen Gel-Differenzierung.



**Hinweis:**

**Auch die Short Description bietet Ihnen nur Platz für 8 Buchstaben.**

## 15.2 CAS-Daten werden in Dendrogramm umgewandelt

Nachdem Sie nun ein Gel in der CAS-Datenbank abgelegt haben, unterstützt das CAS-System eine graphische Darstellung Ihrer Daten. Drücken Sie hierzu den CAS-Button mit dem grünen Pfeil. Nun wird Ihnen ein Dendrogramm Ihrer berechneten Daten angezeigt. Abb. 15.6 zeigt ein Dendrogramm.

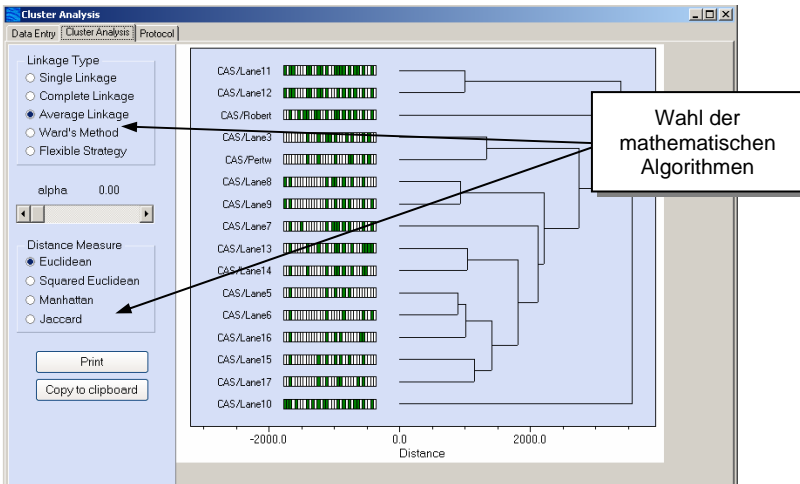
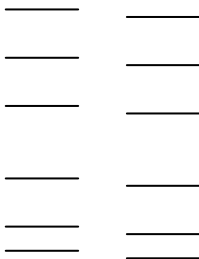


Abb. 15.6 Dendrogramm aus der CAS-Datenbank

### 15.3 Verbessern der CAS-Ergebnisse

Die CAS-Analyse funktioniert durch eine Bestimmung der Positionen der Banden auf einem Gel. Da diese Positionen sehr exakt bestimmt werden ist es sehr schnell möglich, dass Banden, die in zwei Lanes nebeneinander liegen, aber nur ein wenig verschoben sind, nicht gleich gesetzt werden. Dies ist löblich für das Programm aber nicht erwünscht. Hier bieten wir jetzt zwei Berechnungsarten an, die eine Bande innerhalb einer Lane beobachten und nach rechts und links von der Bande schauen, ob es eine entsprechende Bande gibt. Auch wenn diese etwas nach oben oder nach unten verschoben ist, setzt der Rechner diese jetzt gleich. So verfährt er mit jeder einzelnen Bande. Das Ziel ist es, das Muster von Bandenexpressionen, auch wenn sie leicht verschoben sind, anzugleichen. Das Model zeigt die Ausgleichsfunktion.



Obwohl die Lanes etwas zueinander verschoben sind, erkennt die Software das Muster der Ersten und der Zweiten und setzt beide Lanes in der Analyse gleich.

Diese Ergebniskorrektur erzielen Sie mit dem **Toleranzregler** auf der rechten Seite des Fensters. Im Prinzip können Sie die Toleranz frei regulieren. Hier bietet sich allerdings ein weiterer automatischer Mode an, diese Verschiebungen auszurichten. Neben dem Toleranzregler finden Sie die Buttons **Manual**, den wir zunächst einmal aussen vor lassen wollen, **Cluster** und **Distance**.

Die Buttons **Cluster** und **Distance** übernehmen die automatische Funktion des Angleichens. Hierbei werden alle möglichen Positionen durchspielt. Dabei wird darauf geachtet, dass es zu keine Bande doppelt zugewiesen wird. Dieser Vorgang kann bei mehreren Gelen einige Zeit dauern.

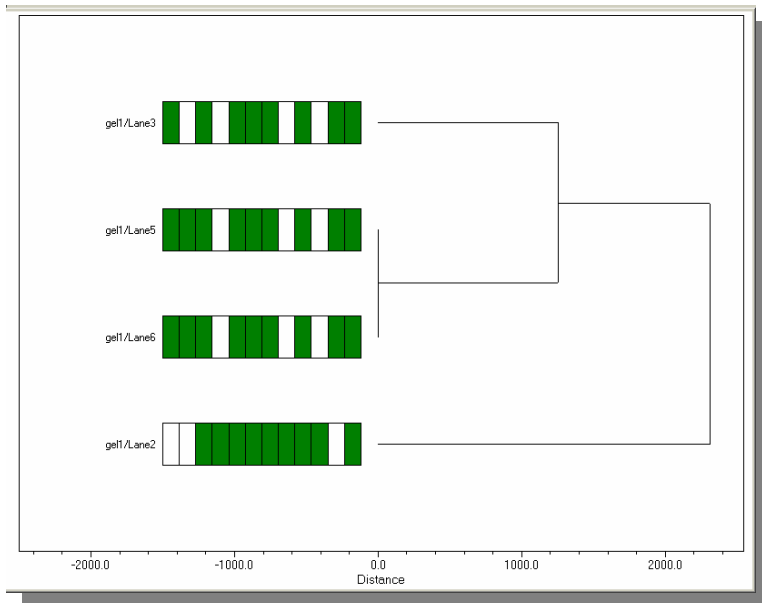


Abb. 15.7 Dendrogramm mit Bandenmuster

Testen Sie die einzelnen Einstellungen durch. Sie haben auch die Wahl im Modus **Manual** die Toleranzeinstellungen per Hand einzustellen. Abb. 15.7.

Um zu Überprüfen ob die Software die Banden richtig gematched hat, drücken Sie den Button **Cluster Table**. Hier werden Ihnen die Banden der Lane in tabellarischer Form übersichtlich dargestellt. Auf der linken Seite der Tabelle Abb. 15.8 stehen die Positionen auf die

einzelnen Banden gematched werden.

	gel1/Lane2	gel1/Lane3	gel1/Lane5	gel1/Lane6
1420	-----	band 1	band 1	band 1
1253	-----	-----	band 2	band 2
1183	band 1	band 2	band 3	band 3
1171	band 2	-----	-----	-----
1104	band 3	band 3	band 4	band 4
1050	band 4	band 4	band 5	band 5
990	band 5	band 5	band 6	band 6
961	band 6	-----	-----	-----
687	band 7	band 6	band 7	band 7
461	band 8	-----	-----	-----
275	-----	band 7	band 8	band 8
226	band 9	band 8	band 9	band 9

Abb. 15.8 Tabellarische Übersicht über die Zuordnung der Banden

Für einen besseren Überblick, drücken Sie bitte den Button **Minimize Window** und Sie können alle Daten übersichtlich auf dem Bildschirm begutachten.

**Weiteres:** Unter den beiden Reitern im Dendrogramm Fenster finden Sie ein Protokoll der Rechenergebnisse und eine Datentabelle.

Sie haben nun die Möglichkeit, mehrere Gele unter dem gleichen Projekt abzuspeichern. Haben Sie ein weiteres Gel berechnet, so öffnen Sie das **CAS-Modul** und speichern das Gel unter **Save** direkt in die Geldatenbank.

Die weiteren Funktionen der Datenbank sind:

1. **Edit** Bearbeiten der aktuellen Daten
2. **Load** Laden eines Gels aus der Datenbank
3. **Delete** Löschen eines Gels/Projekts



**Hinweis:**

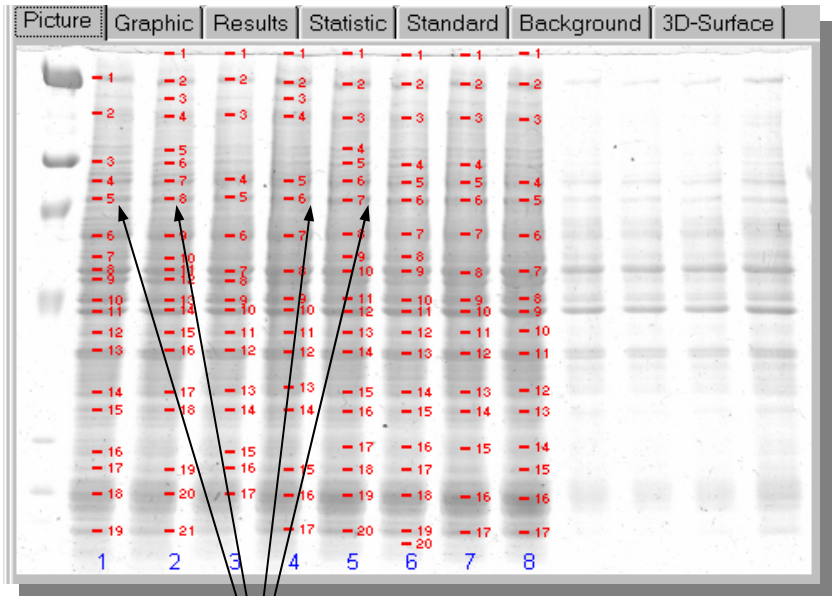
**Achten Sie bitte immer darauf, dass Sie Gele, die zusammen gehören, immer unter einem Projektnamen abgespeichert sind. Gele können nur**

## 16 Bandfinder 1.5 (RFLP-Analyse)

Mit Hilfe dieses integrierten Zusatzprogramms erhalten Sie die Möglichkeit, in einer Datenbank gezielt nach bestimmten Merkmalen zu suchen. Beispielsweise Sie suchen nach eine bestimmten Bande oder einem Bandenexpressionsmuster in Gelen, die Sie bereits abgearbeitet und in der Datenbank gespeichert haben. Das Programm lässt sich in Menü **Programs** auf der linken Seite unter **RFLP** starten. Sie können dieses Programm nur dann nutzen, wenn Sie eine Version von **Gelscan** erworben haben, bei der das Programm frei geschaltet wurde. In der Standardversion von Gelscan ist diese Programmeinheit nicht nutzbar. Hier ist die Funktion nicht aktiviert. Wollen Sie diese Software nutzen, so haben Sie die Möglichkeit, diese Tool nachträglich frei schalten zu lassen. Wenden Sie sich bitte an die Herstellerfirma der Software **BioSciTec GmbH**. Die Adresse ([www.bioscitech.de](http://www.bioscitech.de)) finden Sie im Pulldown-Menü **Info** und **Show info**.

### 16.1 Synchronisation von Banden und Definition einer Standardlane

Am Beispiel der folgenden berechneten Abbildung sehen Sie, dass die Banden einer Lane nur von oben nach unten durchnummeriert wurden. Banden gleichen Gewichts/Größe, die in verschiedenen Lanes genau nebeneinander liegen, sind, wie auch in diesem Beispiel oft unterschiedlich nummeriert. Dies liegt an der unterschiedlichen Anzahl von Banden der verschiedenen Lanes (Abb. 16.1).



Gleiche Bande, aber aufgrund der Anzahl der Banden der Lanes unterschiedlich nummeriert

Unterschiedliche Nummerierung (vergrößerte Ansicht)

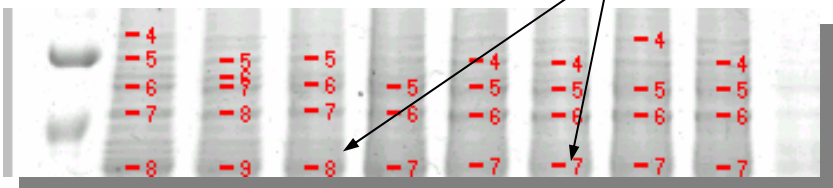


Abb. 16.1 Nummerierung von Banden

Im ersten Teil der Funktionen des Bandfinder 1.5 verdeutlichen wir, wie man das Problem, dargestellt in Abb. 16.1, lösen kann. Zuerst muss das Bild im **Expression Mode** (siehe Kapitel 6) wie in Abb. 16.2, vorliegen. Anschließend wechseln Sie in das Programm



Abb. 16.3 Muster der gefundenen Banden nach der Synchronisation

### 16.1.1 Picture Options und Change Band Position

Mit den Buttons **Picture Options** (Abb. 16.4) haben Sie die Möglichkeit, die gefundenen Positionen zu überprüfen. Der Button **Visible** hinterlegt das Originalgelbild und der Button **Grid** fügt eine Gitter ein um verschobene Banden zu verfolgen. Mit der Schaltern **Print** und **Copy to Clipboard** lässt sich das Bild der gefundenen Banden drucken bzw. in andere Programme exportieren.

Es kann vorkommen, dass bei besonders schräg gelaufenen Gelen die Banden nicht befriedigend zugewiesen werden konnten. Hierzu lassen sich die Positionen der Banden manuell bearbeiten. Mit den

Buttons des Fensters **Change Position**, können Sie die Banden selbst editieren. Klicken Sie hierzu auf eine Bande deren Wert sie ändern möchten. Positionieren den Mauszeiger nun auf der ausgewählten Bande und drücken Sie nach der Veränderung des Mauszeigers (Pfeil zu Hand) die Maustaste. Im Block der **Change Position** werden die aktuellen Daten nun angezeigt.

<b>LANE</b>	<b>Hier wird die aktuelle Lane angezeigt</b>
<b>BAND</b>	<b>Die aktuelle Bande wird angezeigt</b>
<b>VALUE</b>	<b>Der zugeordnete Wert der Bande wird angezeigt</b>

Wählen Sie nun im Fenster **Value** den neuen Wert aus, so wird dieser neben der Bande im Gelbild aktualisiert. Wollen Sie einen Bandenwert ganz ausblenden, so setzen Sie den Wert im **Value Fenster** auf  $-1$ .



### Hinweis

Überprüfen Sie bevor Sie weiterarbeiten das ganze Gel ob die Zuordnung der gefundenen Banden richtig ist. Ändern Sie erst alle Fehlzusammenhänge manuell und führen dann Ihre Arbeit fort. Zu einem späteren Zeitpunkt ist eine Nachbearbeitung nicht mehr ohne großen Aufwand möglich.

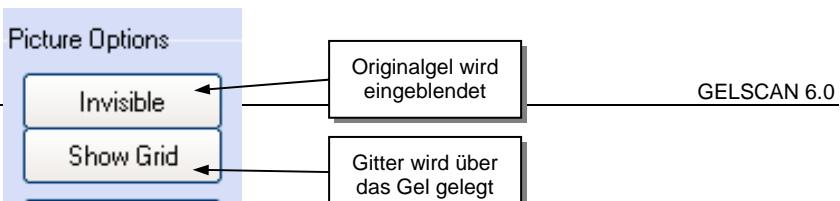
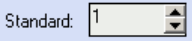


Abb. 16.4 Buttons zu Gelbearbeitung

In Abb. 16.2 wurde nach der Berechnung automatisch die erste Lane als Standardlane definiert. So werden alle Banden gesucht und nummeriert, die im Standard vorhanden sind. Banden auf dem Gel, die im Standard **nicht** vorhanden sind, werden **nicht** angezeigt. Sie haben die Möglichkeit, die Standardlane selbst zu definieren. Hierzu wählen Sie in dem Standardfenster  neben der **Calculatetaste** eine neue Lane aus. Drücken Sie anschließend erneut die Taste **Calculate**. Nun haben Sie eine neue Standardlane definiert und damit auch entschieden, welche Banden auf dem Gel gefunden werden sollen.

## 17 Definition einer Standardlane

In dem Feld Standard haben Sie die Möglichkeit, den Standardbanden einen Namen zuzuweisen. Gleichzeitig definieren Sie die Banden die auf dem Gel zugeordnet werden sollen.

Klicken Sie mit dem Mauszeiger auf Ihre definierte Standardlane und wählen Sie eine Bande aus. Wenn Sie die Bande mit dem Mauszeiger berühren ändert sich der Pfeil in eine Hand. Drücken Sie jetzt die Maustaste. Der Cursor springt in der Standardtabelle auf die ausgewählte Position. Tragen Sie hier einen Namen oder z.B. einen Buchstaben ein und verfahren Sie weiter wie oben beschrieben. Nach der Definition der letzten Standardbande drücken Sie erneut die **Calculatetaste**. Abb. 17.2 veranschaulicht, dass nur Ihre ausgewählten Banden innerhalb des Gels zugewiesen werden.

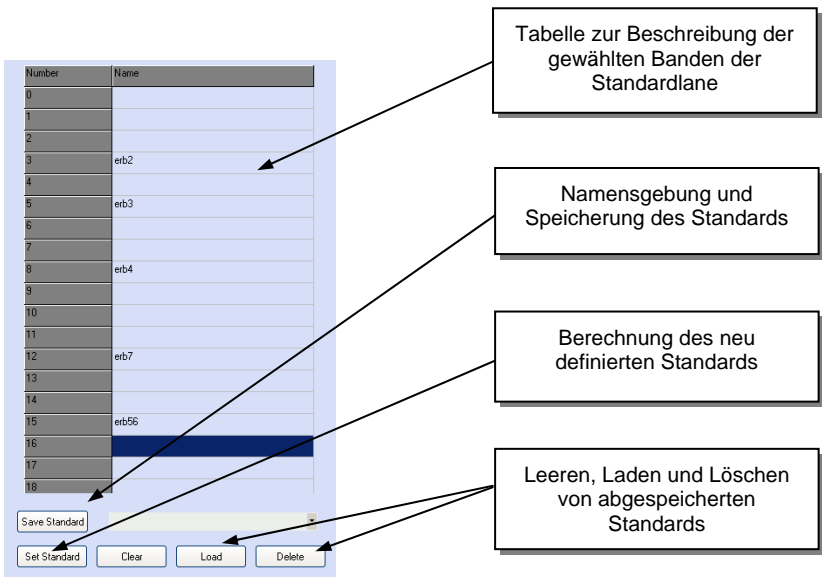


Abb. 17.1 Tabelle und Speicherfunktionen der Standards

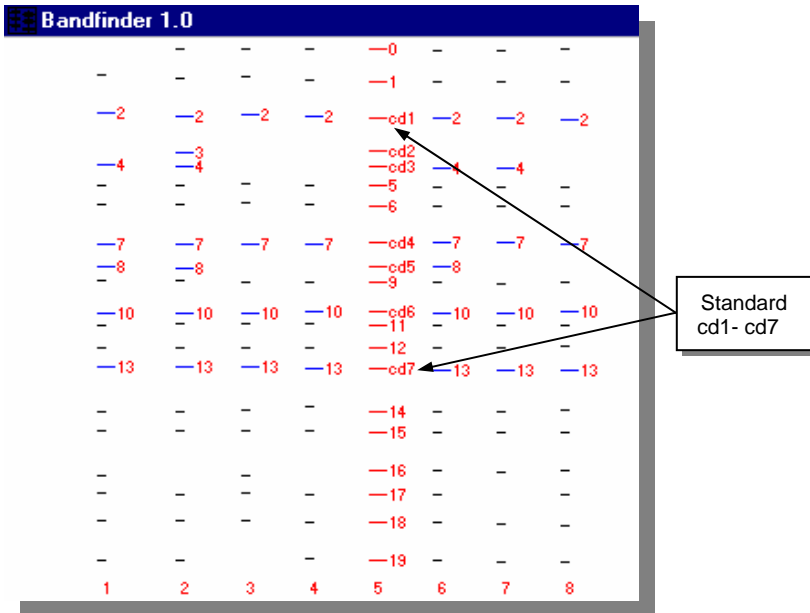


Abb. 17.2 Zuordnung der Banden nach Definition der Standardbanden

Sind Sie nach der Auswahl und der Namensgebung Ihrer Standardbanden zufrieden so sollten Sie Ihren Standardmarker sichern. Hierzu geben Sie in das Feld neben dem Button **Save Standard** einen Namen Ihrer Wahl ein und drücken anschließend den Button **Save Standard**. Durch den Eintrag Ihres eigenen Standards können Sie bei der Bearbeitung des nächsten Gels den Standard aus der Datenbank heraussuchen und durch Drücken der **Load-Taste** den Marker wieder aktivieren und das neue Gel sofort berechnen.

### 17.1.1 Bandensuche in SQL-fähigen Datenbanken

Mit der Berechnung der Gele und der Bandenzuordnung nach definierten Standardlanes ist die Vorarbeit zur Suche in Datenbanken bereits abgeschlossen. Wenn Sie wie oben beschrieben Ihre Gele alle gleich behandeln und die Standards auf allen Gelen gleich zugeordnet haben, dann erhalten Sie die Möglichkeit, auf z.B. über hundert Gelen in einer Datenbank nach bestimmten Bandenmerkmalen zu suchen.

### 17.1.2 Speicherung von Gelmustern in einer Datenbank

Nach der Bearbeitung der Gele können Sie Ihre Ergebnisse in einer Datenbank ablegen (siehe Kapitel 15). Hierzu wählen Sie einen Projekt Namen und tragen ihn in das Fenster **Project Title** ein. Abb. 17.3 gibt eine Orientierung der Datenbank Optionen.

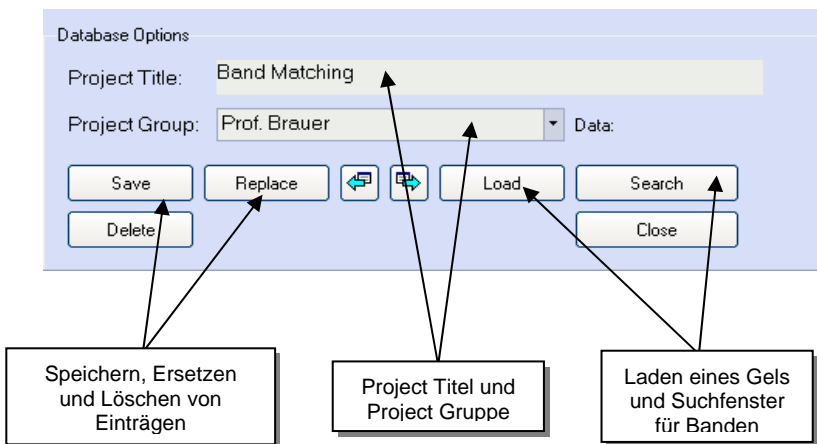


Abb. 17.3 Fenster zur Bearbeitung der Datenbankeinträge

Nach dem Eintrag des Projektnamens sollten Sie eine Gruppe definieren in der immer die gleiche Art von Gelen zur übergeordneten Suche abgelegt werden. So macht es keinen Sinn, nach einem Bandenmuster in PCR- und Proteingelen zu suchen. Mit der **Project Group** definieren sie so genannte **Suchkorridore** in der nur nach einem Merkmal gesucht wird (z.B. Proteinexpressionsmuster von Gänseblümchen, welche weltweit gepflückt und sequenziert wurden).

Nach der Wahl der Namen drücken Sie die Taste **Save**. Jetzt wird das Gel mit allen Informationen und gekoppelt an Ihren Standard in einer Datenbank abgelegt. Wenn Sie Ihr zweites und drittes Gel auf diese Weise abgearbeitet und abgespeichert haben können Sie mit einer Bandensuche über mehrere Gele beginnen. Öffnen Sie hierzu das Programm Bandfinder und suchen Sie mit Hilfe der **Pfeiltasten** unter **Database Options** Ihr Gel welches Sie mit den anderen vergleichen wollen. Drücken Sie nach Ihrer Auswahl auf die Taste **Load**.

Das Gel wird nun geöffnet und auf der rechten Seite angezeigt. Jetzt drücken Sie den **Search** Button und auf der rechten Seite öffnet sich ein Fenster mit kleinen anklickbaren Kästchen. Die Anzahl der Kästchen gibt die Anzahl der gesamten Standardbanden wieder. Ausgewählt sind allerdings hier nur Ihre definierten Standardbanden. Nach diesen angekreuzten Banden soll nun gesucht werden. Sie können also sofort **Run** drücken (Abb. 17.4)



#### Hinweis

Sie können allerdings auch zusätzlich weitere Banden, nach denen gesucht werden sollte, ankreuzen.



Abb. 17.4 Aktivierte Banden, nach denen gesucht werden soll

Nachdem Sie den Button **Run** gedrückt haben sehen Sie eine Tabelle. Hier wird die Bandenexpression der einzelnen Gele in Form einer Matrix aufgelistet. **Grüne Kreuze** bedeuten das Vorhandensein einer Bande während **rote Kreise** den Verlust einer Bande signalisieren. Abb. 17.5 erklärt die einzelnen Werte und Ergebnisse.

		cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	cd6	cd7	cd8	cd9	cd10	cd11	
1. Tumor Matching (12.04.99)		Std	cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	cd6	cd7	cd8	cd9	cd10	cd11
	Lane 2	x	x	x	x	x	x	x	x	o	x	x	
	Lane 3	x	o	x	o	x	x	x	x	x	x	o	
	Lane 4	x	o	x	o	o	x	x	x	o	x	x	
	Lane 5	x	x	x	x	o	x	x	x	x	x	x	
	Lane 6	x	x	x	x	o	x	x	x	x	x	x	
	Lane 7	x	x	x	o	o	x	x	x	x	o	x	
	Lane 8	x	o	x	o	o	x	x	x	x	x	x	
2. Tumor Matching 1 (13.04.99)		Std	cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	cd6	cd7	cd8	cd9	cd10	
	Lane 2	x	x	x	x	x	x	o	x	x	x	o	
	Lane 3	x	o	x	x	x	x	x	x	x	o	o	
	Lane 4	x	o	x	x	x	o	o	x	x	x	o	
	Lane 5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	o	
	Lane 6	x	x	x	x	x	x	o	x	x	x	o	
	Lane 7	x	o	x	x	o	x	x	x	x	x	o	
	Lane 8	o	o	x	x	x	o	x	x	x	x	o	
3. Tumor Matching 2 (14.04.99)		Std	cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	cd6	cd7	cd8	cd9	cd10	
	Lane 2	x	x	o	x	x	x	o	x	x	x	o	
	Lane 3	x	o	x	x	x	x	x	x	x	o	o	

<<< OK >>>

Verschiedene Gele  
einer Projekt Gruppe

Lanes und  
Standardbanden

Abb. 17.5 Ergebnistabelle der Bandensuche in einer Projektgruppe

Auf der linken Seite des Monitors wird immer noch das erste Gel angezeigt. Wollen Sie weitere Gele der Suche, in diesem Beispiel 3 **Tumor Matching 2** (14.04.99), ansehen, so klicken Sie einfach auf den **Namen des Gel** in der Tabelle. Jetzt wird das ausgewählte Gel

auf der linken Seite angezeigt.

Sie haben jetzt auch die Möglichkeit, die Tabelle zu drucken oder über die Zwischenablage (**Print**-Button, **Copy to Clipboard**-Button) in andere Programme zu überführen. Der **Export** Button speichert die Daten im Ascii-Format im Binärcode für Statistikprogramme.

Abb. 17.6 zeigt eine Beispiel der Exportfunktion, zum Beispiel in Word.

1. Tumor Matching (12.04.99)	Std	cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	
Lane 2	x	x	x	x	x	x	
Lane 3	x	-	x	-	x	x	
Lane 4	x	-	x	-	-	x	
Lane 5	x	x	x	x	-	x	
Lane 6	x	x	x	x	-	x	
Lane 7	x	x	x	-	-	x	
Lane 8	x	-	x	-	-	x	
2. Tumor Matching 1(13.04.99)	Std	cd1	cd2	cd3	cd4	cd5	
Lane 2	x	x	x	x	x	x	-
Lane 3	x	-	x	x	x	x	x
Lane 4	x	-	x	x	x	-	-
Lane 5	x	x	x	x	x	x	x
Lane 6	x	x	x	x	x	x	-
Lane 7	x	-	x	x	-	x	x
Lane 8	-	-	x	x	x	-	x

Abb. 17.6 Auszug eine exportierten Tabelle

## 18 Protocols: Gelmanagement und GLP

### 18.1 Gelmanagement mit Gelscan

**Wichtig:**

**Um das Gelmanagement-Tool nutzen zu können, müssen Sie die einzelnen Programme der Office Versionen 97, 2000 oder 2003, 2007 von Microsoft™ auf Ihrem Rechner installiert haben.**

Mit Word™ können Sie komplette Versuchsprotokolle erstellen. Powerpoint™ hilft Ihnen Diavorträge und Posterpräsentationen vorzubereiten. Excel™ archiviert Tabellen und erweitert die statistischen Möglichkeiten der mit Gelscan gewonnenen Ergebnisse.

Gelscan setzt konsequent auf die Anbindung an Programme, die für die Veröffentlichung von Daten bereitstehen. Gelscan hat eine direkte, makroähnliche Schnittstelle zu den Programmen von Microsoft™. Gelscan arbeitet mit Word™, Powerpoint™ und Excel™ über eine automatische Exportfunktion zusammen.

Mit dem **Gelmanagement**-Tool (Menüpunkt **Protocols**) haben Sie die Möglichkeit, verschiedene Ergebnisse per Mausklick zu veröffentlichen.

### 18.1.1 Veröffentlichung von Ergebnissen in Word™

Öffnen Sie in Gelscan ein Gel und berechnen Sie dieses z.B. im Expressionsmodus. Nun steht Ihnen ein Modul zur Verfügung, das einzelne oder auch alle Ergebnisse in Form verschiedener Diagramme, Graphiken, Bilder und Texttabellen exportiert. Aktivieren Sie in der linken Menüleiste unter **Documentation** den Punkt **Gelmanagement**. In dem abgebildeten Fenster (Abb. 18.1) können Sie auf der rechten Seite entscheiden, welche Daten in Word™ veröffentlicht werden soll. Zur Auswahl stehen:

1. **Picture** (Das Gelbild )
2. **Graphic/** (Das Histogramm der berechneten Lanes)
3. **Area Overview** (Balkendiagramm der Intensitäten (DID))
4. **Pie Overview** (Kuchendiagramm der Banden einer Lane)
5. **Standardchart** (Geeichte Standardkurve)
6. **Results** (Ergebnistabelle aller errechneten Werte)
7. **GLP-Protocol** (Protokoll aller durchgeführten Aktionen)

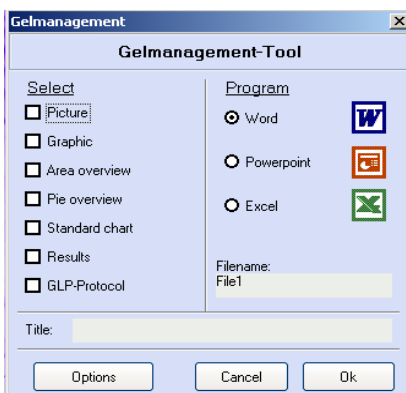


Abb. 18.1 Gelmanagementmodul zur automatischen Veröffentlichung

Möchten Sie Ihrem Protokoll zusätzliche Informationen beifügen, so drücken Sie den Button **Options** (Abb.19.1). Tragen Sie dort in den oberen Zeilen einen Text Ihrer Wahl ein. Sie haben auch die Möglichkeit eine Tabelle z.B. zur Legende für Ihr Gelbild, einzubinden. Bei immer gleichen Gelen können Sie die Tabelle auch abspeichern und im nächsten Protokoll wieder hinzufügen. Verlassen Sie das Fenster mit dem **Ok-Button**.

Aktivieren Sie jetzt mit einem Mausklick die Form Ihrer Ergebnisse, die Sie veröffentlichen möchten. Auf der rechten Seite ist das Textprogramm Word™ bereits aktiviert. Drücken Sie jetzt den **Ok-Button**.

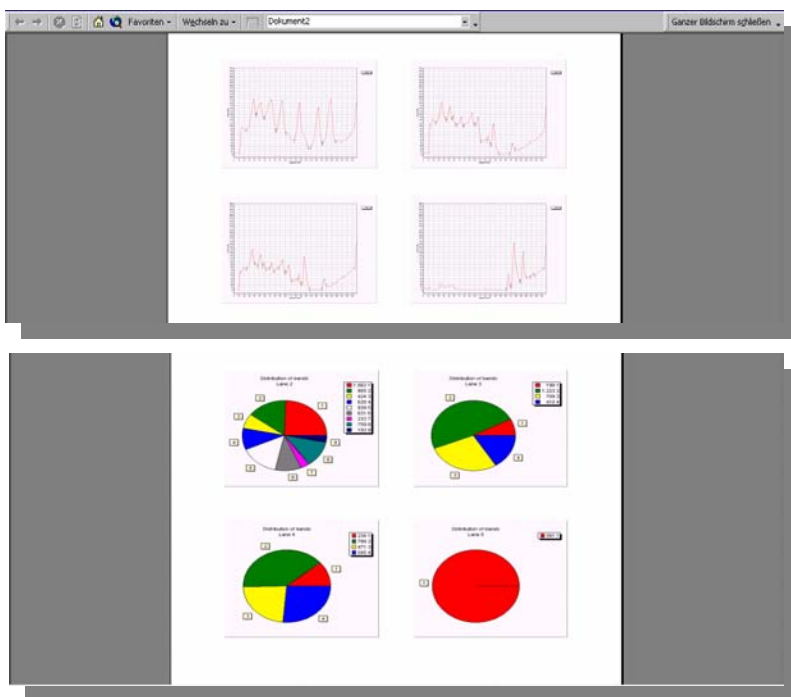


Abb. 18.2 Daten in Word™

Nach der Veröffentlichung Ihrer Daten (Abb. 18.2) haben Sie nun weiterhin die Möglichkeit, Bilder und Graphiken ausführlich zu beschreiben.

### 18.1.2 Veröffentlichung von Daten in Powerpoint™

Aktivieren Sie auf der rechten Seite nun das Programm Powerpoint™. Auf der linken Seite haben Sie nun die Möglichkeit, alle Punkte, außer der **Results**, zu veröffentlichen. Da alle folgenden Daten jeweils einzeln auf eine Folie exportiert werden, ist es unmöglich, die Datentabelle, welche unter Umständen sehr lang werden kann, auf einer Powerpointfolie darzustellen. Das folgende Bild (Abb. 18.3) zeigt die Veröffentlichung der Graphiken und Bilder in Powerpoint™.

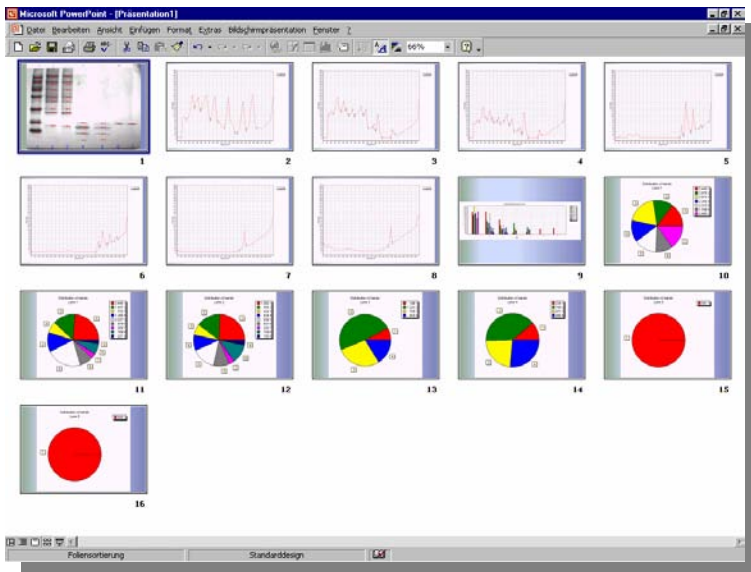


Abb. 18.3 Powerpoint-Übersicht über Folienvortrag oder Postererstellung

### 18.1.3 Veröffentlichung der Daten in Excel

In Excel wird Ihnen nur der Export von Daten angeboten. Hier können nur Results exportiert werden (Abb. 18.4). Durch Drücken des OK-Buttons werden die Daten automatisch in eine neue Excel-Matrix eingetragen. Hier haben Sie jetzt die Möglichkeit, neue Graphiken zu erstellen.

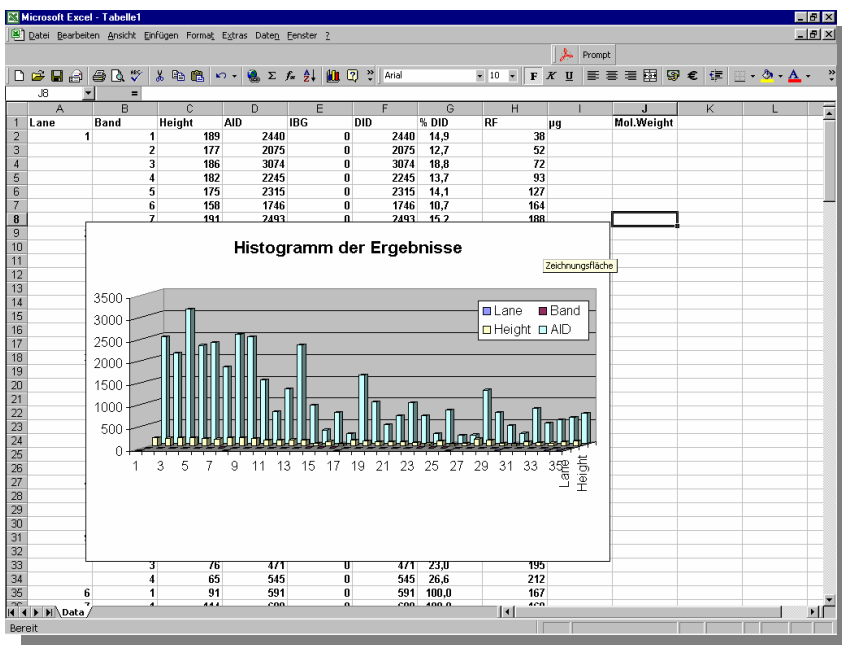


Abb. 18.4 Excel-Sheet mit neuer Graphik der Gelscan 5-Daten

## 18.2 GLP-Protokoll

Im GLP-Modul werden in vier Registern (Abb. 18.5) alle Veränderungen und Schritte, die Sie am Bild vornehmen, gespeichert. In der **Picture History** werden Bildbearbeitungsschritte, die Sie in **Image Effects** (4.2) und **Image Control** (4.3) vornehmen, protokolliert. Die **General Information** zeigen Bildangaben wie Name, Speicherpfad und Größe. In den **Advanced Information** werden Usernamen, Datum und Berechnungsmodus gespeichert. Dieses Fenster aktualisiert sich, in der **Work History** werden zu jedem Bild diese Informationen dauerhaft gespeichert.

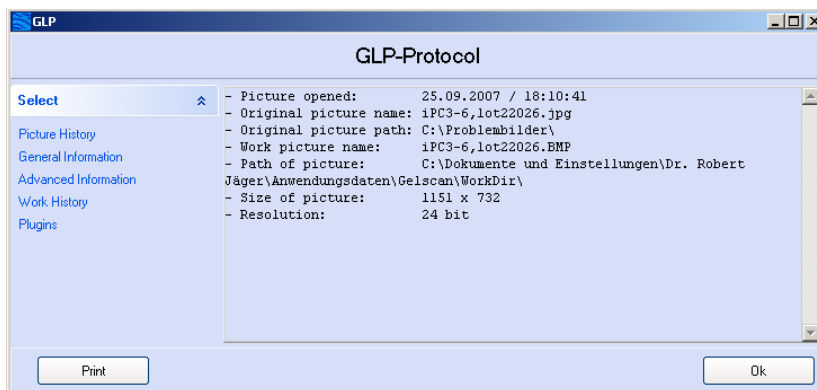


Abb. 18.5 GLP-Protokoll (hier Register Advanced Information)

Dieses Protokoll wird mit dem bearbeiteten Bild in der Datenbank abgelegt.

## 19 Datensicherung (Backup)

Gelscan verfügt über eine komfortable Sicherung aller gespeicherten Daten. Ein Backup-System ermöglicht eine Qualitätssicherung. Mit einem Knopfdruck werden alle in der Datenbank gespeicherten Daten komprimiert und auf einem gewählten Ziellaufwerk abgelegt. Kommt es durch einen Zufall zu einem Computerfehler oder zu einer Schädigung der Hardware verlieren Sie alle gespeicherten Daten. Haben Sie jedoch ein Backup Ihrer Daten durchgeführt z.B. auf einem Streamer oder einer ZIP<sup>®</sup> -Diskette können Sie Ihrer Daten wiederherstellen. Auch nach einer Neuinstallation auf einem anderen Rechner lassen sich alle Daten wiederherstellen.

### 19.1 Backup Database

Für ein **Backup** gehen Sie in das Pulldown Menü **Tools** und klicken auf die Schaltfläche **Backup Database**. Jetzt wird automatisch ein Abbild der Datenbank erstellt. Abb. 19.1 zeigt das Backup/Restore Fenster.

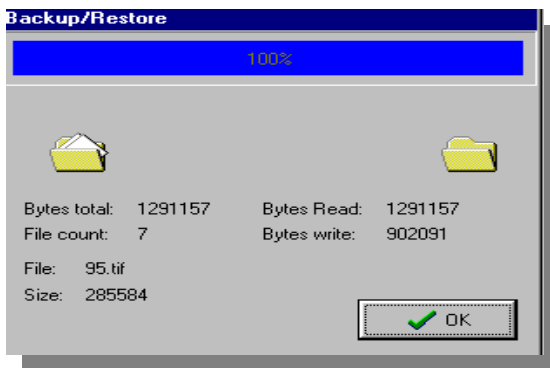


Abb. 19.1 Backup/Restore Fenster

Ändern Sie nicht den Zielpfad Ihres Backup`s, so werden die Daten in  
GELSCAN 6.0

ein Backup Verzeichnis im Verzeichnis Gelscan abgelegt. Sie können aber auch das Ziel Ihrer Daten selbst bestimmen. Hierzu wählen Sie unter dem Pulldown Menü **Tools** den Punkt **Set Backup drive**. Hier können Sie einen eigenen Pfad und Ziellaufwerk auswählen.

## 19.2 Restore Database

Mit einem Mausklick auf Restore Database werden alle Daten wieder zurück in die Datenbank gelesen, dabei ist es nicht entscheidend wo sich der Pfad befindet. Bei einem Zugriff auf externe Geräte, sollten diese bei einem Zurückspielen der Daten angeschlossen sein.

## 19.3 Ein komfortables Druckmenü zur optimalen Präsentation Ihrer Daten

Ein sehr übersichtliches Druckmenü mit komfortabler Ausstattung rückt Ihre Daten ins richtige Licht.

In den oberen zwei freien Fenstern haben Sie die Möglichkeit, eine eigene **Überschrift** und eine **Fußnote** zu erstellen. Diese werden aber nur mit dem **Resultfenster** ausgedruckt. Sie haben weiterhin die Möglichkeit auszuwählen, welches Register ausgedruckt werden soll. Außerdem können Sie das **Format**, in dem das **aktuelle Datum** gedruckt wird, frei wählen (z.B. amerikanisches oder deutsches Datumsformat). Möchten Sie ein **Picture** ausdrucken, so haben Sie die Möglichkeit einige bestimmte Lanes auszuwählen. Aktivieren Sie **Fit to page** um das Gelbild horizontal auf einer Din A4 Seite auszudrucken. Drücken Sie auf Single Lanes um bestimmte Lanes auszuwählen. Nach der Auswahl des Bildes drücken Sie auf den OK-

Button. Nun sehen Sie in einen **Print preview** Fenster Ihre ausgewählten Lanes. Durch Drücken des Druckersymbols wird der Druckervorgang gestartet. Abb. 19.2 zeigt das Druckermenü.

**Achtung:**

Nur wenn Sie ein „Picture“ drucken möchten, sehen Sie ein Preview Fenster des Druckauftrages. Alle anderen Druckaufträge werden direkt gedruckt.

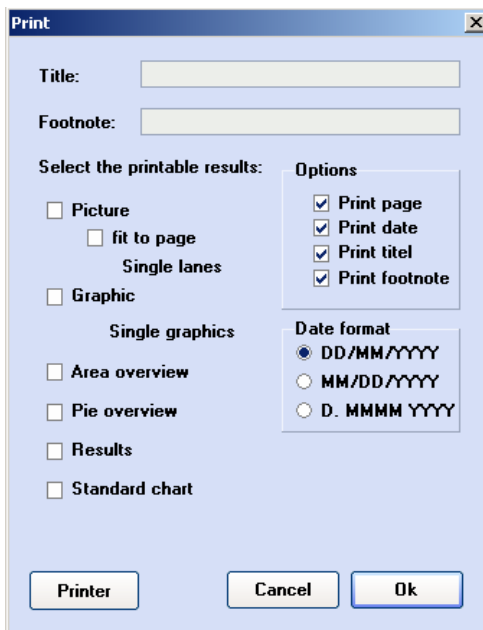


Abb. 19.2 Druckmenü

## 20 Andere Programmsymbole und Menü

Im Pulldown Menü **Help** befinden sich die Buttons **Abbreviation und die Homepage der jeweiligen Vertriebsfirma**. Wenn Sie einen Browser (Internet Explorer™ oder den Netscape Navigator™) auf Ihrem Rechner installiert haben, können Sie direkte Fragen an die Hersteller dieser Software richten. Sie haben ebenfalls die Möglichkeit, sich über das Internet bei der Firma **BioSciTec, Science Group** ([www.bioscitech.de](http://www.bioscitech.de)) registrieren zu lassen. Unter dem Menüpunkt **Abbreviations** sind kurz alle im Programm benutzten Abkürzungen erklärt. Der Anwender kann zu jedem Zeitpunkt durch Öffnen des Menüs die Erklärungen aufrufen.

**Hinweis:**

Das Online Manual ist als PDF-File™ an die Software gebunden. Haben Sie keinen Acrobat Reader™ auf Ihrem Rechner, so müssen Sie ihn von unserer CD installieren. Verlassen Sie zur Installation des Acrobat Readers™ die Gelscan Umgebung.

Die Info Box unter dem Menüpunkt **Info** zeigt die Daten der Entwickler dieses Programms.

Bei direkten Fragen wenden Sie sich an die Firma **BioSciTec** unter den angegebenen Adressen.