# Vector NTI7.0 使用手册

#### 翻译者:宋厚辉 (浙江大学)

<i>—</i> ,	前言(Introduction)	1
<u> </u>	Chapter 1	1
三、	Chapter 2	10
四、	Chapter 3	16
五、	Chapter 4	20
	1	

# 一、前言(Introduction)

- 1. 程序附带的数据库(Vector NTI database)包括: DNA/RNA、蛋白质、内切酶、寡核苷酸、凝胶 mark。此外程序还提供数据库开发(Database Explorer)功能,用户可以自己修改、添加、拷贝感兴趣的各类数据库。
- 2. 创建新分子(有四种方法)
  - A. 用 GenBank/GenPept, EMBL/SWISS-PROT and FASTA、ASCII 等格式输入 DNA 或氨基酸。
  - B. 手工粘帖, 然后保存到数据库中
  - C. 从其他分子、接头、载体中剪切、拼接构键
  - D. 从 DNA 或 RNA 分子的编码区翻译成蛋白质
- 3. 关于新分子的序列特征图谱:利用 GenBank/GenPept, EMBL/SWISS-PROT or FASTA 等 格式输入的分子都能显示出序列和结构图,但自己手工粘帖的没有,需要自己编辑

# $\equiv$ , Chapter 1

#### Tutorial: Display Windows(显示窗口)

目的: 创建显示窗口, 并对图、序列和文本进行操作

### 1、登录 Vector NTI

安装后首次登录,系统将提示是否允许填充空库,点 OK。这样 DNA molecules, proteins, enzymes, oligos, and gel markers 将组成 NTI 的数据库。并出现下列两个窗口。

#### 2、观察出现的 Vector NTI 工作窗口 和 Database Explorer 窗口

2 United NT	
Vector N11 Line Apalyze Gel List Align Assemble Tools Window Help	
Active Pane: D 22	
Mode: 28	
Design	
Fragments 4 b	
Ready	
通开始   🍪 🗊 🚰 🖮 🔗    🔄 suite说   题]中文使   参] Chapter    学 Vector NTI 🔍 Explorin   🔮 🔗 🕕 塑墨 🌠 🚰 💶 19	9:10
Exelorien - Local Vector NTI Database	

DNA/RNA Edit View Reports	Analyze Align Database Tools	Help							
DNA/RNA Molecules	T 200 A 3 10 A	LIZ WX P	P. 3-100	11 00					
All Subbases	All database DNA/RNA Molecules								
DNA/RNA Molecules (MAIN)	Name	WWW Source	Author	Drininal Author	Length	Form	Storage Tupe	Modified	
	W Adeno2	THE PORCE	InforMax, Inc.	NCBI Entrez	35937	Linear	Basic	08/03/99 10 21:	-81
	B RPV1		InforMax Inc.	NCBI Entrez	7945	Circular	Basic	08/03/99 10 21	- 1
	DO COE1		InforMax Inc.	NCBI Entrez	6646	Ciecular	Banic	08/03/99 10 21	- 1
	[0]Lambda		InforMax Inc.	NCBI Entrez	48502	Circular	Basic	08/03/99 10:21	- 10
	19 M13		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	6407	Circular	Basic	08/03/99 10 21	- 10
	@M13mp11		InforMax, Inc.	NCBI Entres	7244	Circular	Basic	08/03/99 10:21	- 11
	@M13mp18		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	7249	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	- 10
	@M13mp19		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	7250	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	- 11
	@M13mp8		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	7229	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	- 11
	@M13mp9		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	7599	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	ACYC177		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3941	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@ pACYC184		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	4245	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	12 pAM34		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	6000	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	[9]pAT153		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3658	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@ pATH1		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3779	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pATH10		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3771	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	2 pATH11		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3772	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pATH2		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3753	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pATH20		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3784	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	@pATH21		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3787	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pATH22		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3790	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	@pATH23		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3790	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pATH3		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	3763	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@p8C1		InforMax, Inc.	NC8I Entrez	1615	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@pBLCAT2		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	4496	Circular	Basic	08/03/99 10.21	
	@p8LCAT3		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	4344	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@p8LCAT5		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	4404	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	@p8LCAT6		InforMax, Inc.	NC8I Enbez	4256	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
			InforMax, Inc.	NC8I Entrez	2961	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@p8h2KSP		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2961	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
			InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2961	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	@p8ku25KP		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2961	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	DBI/KSM		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2958	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	@ pBluKSP		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2958	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	10 pBluSKM		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2958	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	
	[] pBluSKP		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	2958	Circular	Basic	08/03/99 10.21:	
	@ p8R322		InforMax, Inc.	NCBI Entrez	4361	Circular	Basic	08/03/99 10:21:	1.2
	141-RR 375		Infohilay bon	MCRI Exhan	6996	Circular	Rario	09/03/99 10 21	-
143 DNA/RNA molecules									

上面的第一个窗口为工作窗口,由菜单栏和工具条两栏,移动鼠标到工具栏任意选项处,鼠标自动显示每个工具条的功能。

第二个窗口为 exlporing——local vector NTI database,显示的是上次打开的 DNA/RNA 或蛋白 分子。

#### 3、Create a Display Window for pBR322

**激活** exlporing——local vector NTI database 窗口中的 DNA/RNA Molecules (MAIN)数据库, 找到 pBR322 分子并双击打开。显示如下窗口:



#### 4、观察 pBR322 显示窗口

**上面的窗口**由文本区(对分子信息的文字描述,双击文件夹可以看到)、图形区(标住限制 性内切酶位点等)和序列区(全序列及酶切位点)三个部分组成。

5、显示窗口的管理(通过拖拉标尺,改变窗口、或每个显示区的相对大小)

# 6、转换 pBR322's 图形区: 在工具栏左边的 active pane 右侧有三个按钮,用鼠标点当中那个(graphics pane)

7、 pBR322's 结构图进行操作:用户可以尝试点击 ()、 ()、 ()、 此时图形的大小会发生变化。选区设定:菜单 Edit—>set selection,输入 100bp-1000bp,然后 OK.可以看到选取在图形中用扇型框圈了起来.将鼠标移到选取的 5'端,可以看到 ,通过拖拉可以延长或缩短选区范围,同样在 3'端也能做到。如果用户一次只想移动一个碱基用直接拖拉就可能不方便,假如用户想在 5'端移动一个碱基,首先将鼠标放到 处,然后按住 shift 和键盘右侧的—>或<—箭头,则按一次箭头移动一个碱基距离。如果一次想移动 10 个碱基,则同时按住 shift+ctrl+箭头。如果用户只是粗略选择,可以直接将鼠标移到图中,用十字花拖动。将鼠标移到图的 TCr 处,此时鼠标箭头变成 ,并显示 TCr 代表的含义,如果用户此时按下鼠标,则 TCr 的编码区将被选中。</p>

### 8、检查 pBR322's nucleotide 序列

移动标尺,尽可能将更多的	为PBR322 序列显示出来,	,并点击序列中任何一处。
现在对序列显示的样式进行 molecular display setur	<sub>行设定:点击</sub> (Disp o对话框:	olay Setup)按钮,显示
Molecule Display Setup		×
Setup <u>P</u> rofile		
Save Settings As	Remove Saved Settings	Cancel
Eunctional Map	<u>M</u> otifs	Sequence
FMap Setup	Motifs Setup	Sequence Setup
		Picture Type
RMap Setup	ORF Sietup	Prefer Linear
Graphics Display Settings		
Edit	Load From File	Save To File

用户可以对序列的颜色、大小、10个一组显示还是15个一组(默认是10个 碱基一组),结构图的颜色、限制酶切图谱(注意刚开始显示的PBR322上限 制酶并不多)、ORF、Motif等进行设置。现在我们打算把序列字体的颜色由黑 色变成绿色,显示全部PBR322的酶切图。操作如下:在刚才的窗口中点 restriction map下面的 RMap setup 按钮,在出现的对话框中点 Add,再在出 现的对话框中点 select all,然后 OK。点 sequence 下面的 sequence setup, 可以看到序列长度的设置等,在 color 栏中选 green,一路点 OK。此时显示如 下:

生命经纬 www.biox.cn



我们发现限制酶是大大的多了,不过美中不足的是序列显示的是两条链(正链和 互补链),实际上一条链就够了,还有最好再和编码的氨基酸一切显示。这好办:

Μ.

先选中全序列(Ctrl-A),看到工具条中的**邮**(Translate Direct)图标

了没,点它。哈哈果然翻译成功了。不要忘了看 左右两侧的图标哟,点点 看。(注意用户在发表文章的时候,一般在文章中发表自己克隆或表达的 DNA 序列,在 DNA 序列下面还有氨基酸序列,哈哈,这不帮你做到了。什么?内切 酶怎么去掉,刚才你怎么加上去的就怎么解除吧,看看我下面的图不就是办到 了):

生命经纬 www.biox.cn

聋 Vector NTI - [pB	R322]
Molecule Edit	Yiew Analyze Gel List Align Assemble Tools Window Help 문
	2 <b>]</b> • • <b>] ] ] f f i i i i i i i i i i</b>
Active Pane:	
Add •	Beneral Description
	+1 Phe Ser Cys Leu Thr Ala Tyr His Arg 🐃 Ala Leu Met Arg 🐃 Phe Ile Thr Val Lys Leu Leu 🗖
Edit Del	1 TTCTCATGTT TGACAGCTTA TCATCGATAA GCTTTAATGC GGTAGTTTAT CACAGTTAAA TTGCTAA
Mode:	+1 18≹ys Ala His Arg His Pro Arg His Arg His Pro Gily Cys Cys Arg His Arg Leu Gily Tyr Ala Gily T
Design	101 GCGCTCATCG TCATCCTCGG CACCGTCACC CTGGATGCTG TAGGCATAGG CTTGGTTATG CCGGTA
	・1 家 rg Gin His Arg Gin Ser Leu Trp Arg Ala Ala Ser Ala lle Cys Val Asp Ala lle Ser Met Arg Thr
	201 ACAGCATCGC CAGTCACTAT GGCGTGCTGC TAGCGCTATA TGCGTTGATG CAATTTCTAT GCGCAC
	+1 Pro Pro Ser Pro Ala Arg Phe Ala Thr Trp Ser His Tyr Arg Leu Arg Asp His Gily Asp His Thr
	301 CCGCCCAGTC CTGCTCGCTT CGCTACTTGG AGCCACTATC GACTACGCGA TCATGGCGAC CACACCC
	•1 我们y Arg His His Arg Arg His Arg Cys Gly Cys Trp Arg Leu Tyr Arg Arg His His Arg Trp Gly A
	401 GCCGGCATCA CCGGCGCCAC AGGTGCGGTT GCTGGCGCCT ATATCGCCGA CATCACCGAT GGGGAA
	•1 👯 eu Phe Arg Arg Giy Tyr Giy Giy Arg Pro Arg Giy Arg Giy Thr Val Giy Arg His Leu Leu Ala Cys
	501 GTTTCGGCGT GGGTATGGTG GCAGGCCCCG TGGCCGGGGG ACTGTTGGGC GCCATCTCCT TGCATG
	+1 Gin Pro Thr Thr Giy Leu Leu Pro Asn Ala Giy Val Ala *** Giy Arg Ala Ser Thr Asp Ala Leu
	601 CAACCTACTA CTGGGCTGCT TCCTAATGCA GGAGTCGCAT AAGGGAGAGC GTCGACCGAT GCCCTT
	•1 我ly Ala Giy His Asp Tyr Arg Arg Arg Thr Tyr Asp Cys Leu Leu Tyr His Ala Thr Arg Arg Thr G
	701 GCGCGGGGCA TGACTATCGT CGCCGCACTT ATGACTGTCT TCTTTATCAT GCAACTCGTA GGACAGC
	•1 178 ly Pro Leu Ser Leu Gilu Arg Asp Asp Asp Arg Pro Val Ala Cys Gily lie Arg Asn Leu Ala Arg Pro
	801 ACCGCTTTCG CTGGAGCGCG ACGATGATCG GCCTGTCGCT TGCGGTATTC GGAATCTTGC ACGCCC
	1 Thr Phe Arg Arg Gilu Ala Gily His Tyr Arg Arg His Gily Gily Arg Arg Ala Gily Leu Arg Leu Ala
	901 ACGTTTCGGC GAGAAGCAGG CCATTATCGC CGGCATGGCG GCCGACGCGC TGGGCTACGT CTTGCT
Fragments • •	+1 AMAIS IUT ASO Ser Ser Ard Phe Ard Ard His Ard Aso Ala Ard Val Ala Gilu His Ala Val Gin Ala G
Ready	1 bp 🛛 🛛
🛃 开始 🔢 🏉 🏐	🖸 🝙 🔗 📗 🔄 suite说   中文使   @] 中文使   @] Chapte   @? Vector   Q. Explorin

#### 9、对 pBR322's text 文本描述进行操作

拖动标尺,使文本区尽可能拉大。选中 Restriction Map 文件夹,然后找到 工具条中的 Expand Branch 按钮,点它。其实这和双击 restriction map 文件夹是一样的,都是打开的意思,还有它左边的按钮。在找到 Feature Map 文件夹,然后按 按钮。看到 TC(R)了没,记住它。这是一个四环素抗性 基因,在第7章中将详细叙述如何将这段基因克隆到载体 PUC19 中。

10、将 pBR322's 文本区和图区、序列区连接起来(可以让你一个一个的细 细品位 PBR322 的每个细小结构,全部看可能会眼花,那就一个一个的看吧)

激活文本区,然后找到 (Link Panes) 按钮,点它。完了,PBR322 的图 区上的任何标记都没了,成了一个圆圈。还有,序列区的酶切标记也没了。哈哈, 不用急,先点文本区的 Restriction Map 文件夹,然后点 按钮打开文件 夹里面的分支。现在看看,酶切标记又重新显示出来了。激活图形区,找到 (Standard Arrangement) 按钮了没,点它。会发现酶切图谱显示的方式 和刚才不一样了,这是标准方式。在文本区中选中 feature map 文件夹,点 打开,发现图形又变了。依次关掉 feature map 中的其他文件夹,只留

**TCR,此时图中只有 TCR 一个标记了。最后别忘了再点一下链条**,发现 图又回到原样。如下图:



#### (看看上面的时钟都 23: 12 了, 该睡觉了), 明天继续。

#### 11、打印 pBR322's 文本 description, 图形 map, 和序列 sequence

**打印文本:** 先激活文本区, (就是 active pane 右边的第一个按钮,或者直接 用鼠标在本文区点一下),然后按 expand branch 按钮打开文本区内的所有文 件夹,然后点**打印。同样**要想打印图形或序列,先激活其所在的选区,然 后按打印机图标即可。

#### 12、为 41BB\_HUMAN 创建显示窗口

点击窗口下面的 exploring——local vector NTI database 图标,打开打开 Explorer 窗口,点击窗口左上角的下拉式菜单,选 Protein Molecules (MAIN) 数据库。找到 41BB\_HUMAN's 并双击。打开窗口如下:



窗口显示结构和 DNA 序列的显示窗口一致,也包括文本区,图形区和序列区三部分。菜单和工具条也基本一样。在文本区中双击 Analysis 文件夹,则蛋白自动分析结果以表格的形式在下面显示出来。下面我们把这两个表格拷贝到 word 文档中, 先用 shift+鼠标将两个表格选中,然后点工具条中的照相机(camera)命令,在 出现的对话框中可以看到序列的 range 中的 selection 已被选中,点 Copy.,然后 打开一个 word 文档,粘帖(ctrl-V),则表格被完整的拷贝到 word 文档中了。如 下所示:

Length	255 aa
Molecular Weight	27897.66 m.w.
1 microgram =	35.845 pMoles
Molar Extinction coefficient	11250
1 A[280] corr. to	2.48 mg/ml
A[280] of 1 mg/ml	0.40 AU
Isoelectric Point	8.13
Charge at pH 7	3.72

Amino Acid(s)	Number count	% by weight	% by frequency
Charged	83	36.68	32.55
(RKHYCDE)			
Acidic (DE)	25	10.85	9.80
Basic (KR)	29	14.43	11.37
Polar (NCQSTY)	90	34.08	35.29
Hydrophobic	67	27.06	26.27
(AILFWV)			
A Ala	11	3.02	4.31
C Cys	25	9.33	9.80
D Asp	11	4.51	4.31
E Glu	14	6.34	5.49
F Phe	16	8.14	6.27
G Gly	21	4.85	8.24
H His	2	0.96	0.78
l lle	7	2.83	2.75
K Lys	13	5.85	5.10
L Leu	21	8.48	8.24
M Met	3	1.38	1.18
N Asn	12	4.88	4.71
P Pro	18	6.38	7.06
Q GIn	12	5.40	4.71
R Arg	16	8.58	6.27
S Ser	22	7.12	8.63
T Thr	17	6.24	6.67
V Val	11	3.97	4.31
W Trp	1	0.63	0.39
Y Tyr	2	1.12	0.78
B Asx	23	9.39	9.02
Z Glx	26	11.74	10.20
X Xxx	0	0.00	0.00

# 13、为 1B14\_HUMAN 创建显示窗口

重新回到 exploring——local vector NTI database 窗口,找到 1B14\_HUMAN 分子并双击打开。如下图:

生命经纬 www.biox.cn

Image: Sector NTI - [18]       Image: Molecule Edit 1       Image: Sector NTI - [18]       Image: Sector NTI - [18]       Image: Sector NTI - [18]	14_HUMAN] View Analyze Gel List Align Assemble Tools Window Help 🙆 🗐 ඟ 🕬 🔂 🎒 😚 🚏 🖧 🖓 🛱 🎉 🕸 🕄 🐯 🌚 🆓	_ & × _ & ×
Active Pane:		
Add - Edit Del Mode: CB Design	Image: Standard Fields   Standard Fields     Image: Standard Fields   The 2     Image: Standard Fields   The 2     Image: Standard Fields   The 1     Image: Standard Fields   The 1 </th <th>Stand 17 Tra 16 Stand Con</th>	Stand 17 Tra 16 Stand Con
	1 MRVTAPRTLL LLLWGAVALT ETWAGSHSMR YFHTSVSRPG RGEPRFITVG 51 YVDDTLFVRF DSDAASPREE PRAPWIEOEG PEYWDRETOI CKAKAOTDRE	
	101 DLRTLLRYYN QSEAGSHTLQ NMYGCDVGPD GRLLRGYHQD AYDGKDYIAL	
	151 NEDLSSWTAA DTAAQITQRK WEAARVAEQL RAYLEGECVE WLRRYLENGK	
	201 ETLQRADPPK THVTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT WQRDGEDQTQ	
	301 SSOSTVPIVG IVAGLAVLAV VVVPSGEEQK TICHVQHEGL PKPLILKWEP	
	351 TVPRALMCLS Q	
Fragments		end
		1 aa 🛛 🔀

注意该蛋白分子图形上的各种特征显示的十分紧凑,大有眼花缭乱的感觉,为了 方便起见,我们可以按刚才介绍的 link 命令来逐一显示各个 feature。操作方 法和 DNA 分子一致。

关闭窗口,结束,当最后一个窗口关闭是屏幕提示 this will end your vector NTI session,点确定(OK)关闭。

 $\Xi$ , Chapter 2

Tutorial: Molecule Operations 分子操作

目的:对 pBR322 的 general data, feature map, and sequence 进行编辑(注意蛋白质和 DNA 分子的操作是一样的)

1、登录 Vector NTI 程序(刚刚说完,不用再教了吧)

2、打开 pBR322 的显示窗口(再罗嗦一遍吧,程序 vector NTI— Exploring local vector NTI Database— DNA/RNA Molecules (MAIN)— PBR322,双击。)

# 3、对 pBR322's 的常用数据 (general data) 进行编辑

## 在文本区的最上面,双击 PBR322 名字,弹出下面窗口:

Edit pBR32	22	×			
General	DNA/RNA	Molecule User Fields Comments Keywords			
© Ci	ircular near	© DNA © RNA			
Extra-C	Chromosome	Replication			
м в	acteria	TYeast Animal/Other Eukaryotic			
- Replice	on Type —				
PI	lasmid	Phagemid			
	osmid	T Virus			
E PI	hage				
Description: ATCC 37017, ATCC 31344: Cloning vector plasmid pBR322, complete genome.					
		OK Cancel Apply Help			

1<sup>st</sup>:给PBR322加关键词:点keywords,在弹出的关键词窗口中输入My own plasmid,点Add。回到DNA/RNA Molecular 窗口,将最下面的 description中的内容替换成My pBR322。点OK(确定)。注意屏幕的左上 角pBR322\*,在PBR322的后面有一个星号,说明现在显示的是PBR322的 修饰形式。现在我们要在数据库中保存这一结果:

菜单 molecular—save as,在弹出的对话框中输入序列的名字 My pBR322,点 OK。这时发现星号不见了,说明结果已保存到数据库中,这时数据库中关于 PBR322 的 DNA 分子有两个,一个是原始的 PBR322 (就是最初打开的那个),另一个就是我们保存的那个 my PBR322。

### 4、 编辑 My pBR322's 序列

激活序列区,菜单 edit——set selection,在对话框中输入范围 21-40,点 OK。 会发现序列选区内含有 Clal 和 Hindll 两个酶切位点。点击菜单 edit——

# new——**Replace Sequence 21 bp-40 bp**,将窗口中第 23 和 24 位的 TC 删除分别用 AA 代替,窗口将显示如下:

Rep	lace Sequ	ience 21 bp - 40	bp				×
	Cu <u>t</u>	<u>С</u> ору	<u>P</u> aste	<u> </u>		DK	Cancel
	21	TCAAAGATAA	GCTTTAATGC				
inse	erted 2, dele	ited 2			before 26 bp		

**注意该窗口**左下脚显示有: inserted 2, delete 2, 什么意思都不用说了。点 OK, 注意序列中的 Clal 位点立刻消失了。如下图所示:

Vector NTI - [My	7 <b>pBR322 *]</b> Vjew Analyze <u>G</u> el List Align Assemble Tools <u>Wi</u> ndow <u>H</u> elp	_ 8 ×
	⊴ ⊠ ∽ ∾ L = 6 7 6. 4 8 2 2 2 2 2 4 9 6 %	
Active Pane:		
Add Add Edit Del Mode: B Design	My pBR322 General Description Standard Fields Original Author Feature Map Restriction Map	×
	EcoFi 1 TTCTCATGTT TGACAGCTTA TCAAAGATAA GCTTTAATGC GGTAGTTTAT CACAGGTAAA AAGAGTACAA ACTGTCGGAAT AGTTTCTTAT CGAAATTAGC CCATCAAATA GTGTCAATT 101 GCGCTCATCG TCATCCTCGG CACCGTCACC CTGGATATCCG TAGGCATAGG CTTGGTTATC 101 GCGCTCATCG TCATCCTCGG CACCGTCACC CTGGATATCG TGCGATAGG CTTGGTTATC	TTGCTAI AACGAT CCGGTA
	201 ACAGGATEGE CAGTEACTAT GEGETGETEGE TAGEGETATA TECETTGATE GAATETATATA TGTEGTAGEG GTEAGTGATA CEGEACGAEG ATEGEGATAT AEGEAACTAE GTTAAAGATA	GCGCACC
	301 CCGCCCAGTC CTGCTCGCTT CGCTACTTGG AGCCACTATC GACTACGCGA TCATGGCGAC GGCGGGTCAG GACGAGCGAA GCGATGAACC TCGGTGATAG CTGATGCGCT AGTACCGCTG	CACACC( GTGTGG(
	401 GCCGGCATCA CCGGCGCCCC AGGTGCGGTT GCTGGCGCCCT ATATCGCCGA CATCACCGAT CGGCCGTAGT GGCCGCGGTG TCCACGCCAA CGACCGCGGA TATAGCGGCT GTAGTGGCTA	GGGGAA( CCCCTT(
	501 GTTTCGGCGT GGGTATGGTG GCAGGCCCCG TGGCCGGGGG ACTGTTGGGC GCCATCTCCT CAAAGCCGCA CCCATACCAC CGTCCGGGGC ACCGGCCCCC TGACAACCCG CGGTAGAGGA	TGCATG( ACGTAC(
	601 CAACCTACTA CTGGGCTGCT TCCTAATGCA GGAGTCGCAT AAGGGAGAGC GTCGACCGAT GTTGGATGAT GACCCGACGA AGGATTACGT CCTCAGCGTA TTCCCTCTCG CAGCTGGCTA	GCCCTT( CGGGAA(
Fragments + >	701 GCGCGGGGGCA TGACTATCGT CGCCGCACTT ATGACTGTCT TCTTTATCAT GCAACTCGTA	GGACAG
Ready	21 bp - 40 bp (20 bp) 41 bp (3	/ 🔝

5、将 My pBR322 的修改结果取消,不保存到数据库

注意刚才修改完后,在屏幕左上角 My pBR322 的后面,有一个星号,说明当前显示的分子已经修改,下面将修改结果取消,点击菜单 molecular—— Revert To Saved,点 OK 确定。此时数据库将刚才的修改结果取消了。(如果需要保存修改结果则在 molecular 菜单中选 save as 命令)

#### 6、如何插入新的序列片段

通常在编辑序列的时候需要在序列图谱中插入一段基因或者一段特征序列,先找 到序列中的 AP(R)标志(3293 bp-4156 bp)和 TC(R)标志(86 -1276 bp),菜单 edit—Set Caret Position,输入 200,将光标打到 200bp处,下面我们要在此位置处输入 10个 T 碱基。点菜单 edit—new— 一insert sequence 200bp,在出现的对话框中输入 10个 T,点 OK,然后又 出现一个对话框,问你是否确认当前的序列已经修改(CDS TC(R) is affected by sequence editing, Delete, Delete All, Keep, and Keep All),点 keep.我们发现在 200bp 序列处多了 10个 T。我们将鼠标移 到 AP(R)处,我们发现其位置已经顺时针移了 10个碱基(3303 bp-4166 bp)。其实,在原始序列中一旦插入一段序列后,系统会自动改变图谱中各特 征的相对位置,如果插入的序列位于某一特征序列的内部,我们点 Keep,NTI 会自动向 3′端移动。现在我们将鼠标移到 TCR处,发现其 3′端已经后移了 10 个碱基(1286),不过 5′端没动哟。如下图所示:



#### 7、编辑 TC(R) 信号特征

将鼠标移到图形的 TCr 处,当箭头变成"手"的形状时双击(或者点鼠标右键,选 feature properties),在出现的对话框中用户可以修改 TCr 的位置、名称和 描述。我们将名称(name)由 TC(R)改成 Old TC(R),然后在最下面的 description 中输入描述: "10 bp fragment inserted",点 OK。则 图形结构变成:



#### 8、 删除 P2\_P 信号,并加入新的序列特征

在图谱中找到 P2P,选中,点鼠标右键,选 Delete Feature From Fmap (或者从 edit 菜单中选择此命令),此时 NTI 将提示 P2\_P will be deleted from the feature map,点 OK (确定)。我们发现图谱中 P2P 已经没有了。 下面我们我为 PBR322 序列加入一个新的特征:

edit——set selection——输入 3000-3500bp, 点 OK。在工具条中找到 (add features) 按钮, 点它。(也可以从 edit——new——add feature to FMap 进入)。在出现的对话框 feature name 中输入 New Feature, 注意 NTI 默认的特征类型(feature type)为 Misc. Feature, 用户可以



下面将 **My pBR322 的**修改结果保存到数据库中:菜单 molecular——save as,(如果不想改名的话)点 OK,NTI 将提示 **My pBR322 已经存在,是否 覆盖,点 overwrite**.

# 9、 修改 My pBR322 的起始坐标(这样可使刚才插入的 10bp 片段和最初 的 PBR322 具有一致的坐标系)

菜单 Molecule—operations—Advanced (DNA/RNA)— Change Starting Coordinate。在出现的对话框 new start(新的起始点位置)输入: 11 (因为刚才插入了 10bp,所以起始点是 1+10=11)。点 OK,此时 NTI 会提示当前坐标已被修改,是否继续,点 OK 确定。现在我们会发现显示窗口中 TCR 的位置已经变成了(76bp-1276bp),还有 AP(R)的位置(3293 bp-4156 bp),这都和最初的 PBR322 一致。如下图:



#### 从列表中选择自己认可的特征。最后点 OK。如图:

### 10、退出显示窗口,关闭 NTI

# 四、Chapter 3

# Tutorial: Working With A Molecule's Graphical Representation(对分子图形的展示进行操作)

目的:以 DNA 分子为例,对分子图形的展示进行操作(蛋白质的操作和 DNA 类似),为 pBR322 图形创建一个展示窗口,并保存到分子文档中

# 1、登录 Vector NTI 程序

### 2、新窗口打开 PBR322(与前两章的打开方式略有不同)

在 NTI 主窗口中,点击工具条最左边的打开文件夹(或者 molecular——Open), 在弹出的 Open 窗口中点击 database DNA/RNAs,在列表中找到 PBR322,然 后 OK。

### 3、显示窗口的调整

**比如我们**想观察图象的详细情况,首先用标尺拖动图形窗口,至于序列和文本区,可以很小,因为我们的目的是看图。然后点 **或 让**图形放大或缩小,直到满意为止,如果用户想一步步的看放大效果,可以按住 shift 的同时点 **。** 

### 4、修改图形的自动排列设置

按住 ctrl 的同时,点 (Standard Arrangement),用户可以根据弹出的小菜单,来选择图形线条的粗细和字体的大小,直到满意为止。

# 5、修改图形的编码区信号( CDS signals)设置

**点中图形**中任意编码区(粗箭头),然后按鼠标右键,在弹出的下拉菜单中,选 CDS Display Setup,用户可以在弹出的 Graphics Display Setup 对话框中修改 所选编码区的名称、颜色标记、箭头的粗细等,(实际上 NTI 默认的就很好了)。用户也可以通过点 more 来进行更多的修改(比如字体和大小等,和 word 中字体

的处理很相似),修改完后一路 OK 点下去即可。注意这种修改只是针对本窗口中的分子,对其他分子没有影响。比如我们将箭头填充成兰色。下面我们保存这一设

置:点击 (display setup) 右侧的小三角形符号,在弹出的菜单中选 Save Settings As, 然后在弹出的窗口中给刚才的设置风格取个名字,不妨叫 blue,

点 OK,注意此时 NTI 会提示是否保存其他没用过的风格,点 NO。现在再点击 (display setup) 右侧的小三角形符号我们会发现 blue 已经在下拉菜单上了。 (注意这种改变一改就是好几个箭头一块改,如果只想改一个箭头的颜色,请看第 6条)

#### 6、打开图片编辑方式

NTI提供了两种编辑图片的方式,分子编辑方式(默认)和图片编辑方式。激活图 形区然后按 (edit picture)按钮。然后点中图形中任意标记或者箭头,按 住鼠标右键,在弹出的下拉菜单中选 properties(属性)或者 style(风格)等,进行 设置,注意此时设置的仅仅是所选的箭头或者标记,而不是整个分子(在第5条中 设的确是整个分子,请注意比较,也就是第5条的方法是分子编辑方式,两种方式

的转换通过 学 按钮)。

### 7、将 TC(R)箭头变成兰色网格

操作如下,占中 萨姆,点中 TCR 箭头,按住鼠标右键,选 properties—	
Properties	
Line Fill Shape	
Fill	
Pattern:	
ill,按右图方式选择:OKCancelApplyHelp	

点 OK (如果是中文操作系统, OK=确定)

## 8、放大 TC(R)箭头

点中 TCR 后,当鼠标在箭头附近移动时,会出现两种十字形标记: 和 ,通 过鼠标拖动 可以改变箭头的胖瘦,而拖动 则可以改变箭头的相对位置(移到 圆内或圆外)。如果想让箭头按圆圈转动,可以在按住 ctrl+shift 同时,拖动 。 注意这种拖动并不能修改分子本身,仅仅是改变位置而已,如果想修改分子中的标 记,请使用第二章介绍的方法。现在,拖来拖去是不是将箭头拖的乱七八糟了,那 就按 取消吧。如下图:



### 9、修改 TC(R)标记的格式

将鼠标移到 TCr 标记上,双击。显示下面的对话框(就是属性)

Properties	×
Text Line	
<u>I</u> ext:	
(CN)	
<u>S</u> ubstitutions:	
@N signal/enzyme/motif/molecule name 💌 Insert	
Font Arial Bold 8	
OK Cancel Apply Help	

点 Font,选择斜体 18 号字,点 OK。TCR 将显示如下图:



Arrangement)按钮,使标记的信号回到标准位置,如果图片已经修改,NTI还会不厌其烦的提示是否继续,点确定吧。

10、加入文本注释

看到窗口工具条最右侧的"回形针"符号了没,点它(说什么,没反应?哈哈,那你肯定把了忘了,如果没反应,点了后再点回形针肯定行),在弹出的对话框中输入"Clone into pUC19",点 OK。此时加入的注释出现在圆圈的中央,用鼠标拖到 TCr 的下面即可(什么?字体太小,哈哈,点中鼠标右键从 properties 中选择字体的大小和颜色)。如下图:



如果觉得不爽,可以先选中刚才添加的文本,点菜单edit——Delete Annotation 进行删除。注意以上修改的仅仅是显示的界面,NTI并不能将修改的显示结果保存 到数据库中,所以用户也可以发现在左上角并没有\*号标记,也就是数据库中的分 子没有改变,如果想让它改变的话,只能将文件存到文档文件中了。

11、将 pBR322 分子显示结果保存到文档文件中

菜单 Molecule——save as——save as file,名称 NTI 已经给起好了,就是 pBR322.gb。选择好要保存的目录,点 OK。如果感觉刚才创建的 blue 比较爽,

可以在保存前选择 三 右侧的三角按钮选择 blue。此时系统会提示是否创建 html 文件描述分子,点 yes (这样我们可以和朋友通过 internet 进行交流了)。 注意该文档完全与数据库相关联,其显示的信息与数据库中的信息一致。但风格与 数据库不同,比如箭头的颜色、字体的大小等(当然由用户决定)。现在用户可以 先关闭文档然后再打开就可以发现显示的风格和数据库中的风格完全不同(不过内 容还是一样的)。注意:对于原先数据库中没有的分子(比如用户根据自己的需要 自己构建或从 GENBANK 下载的,并不能直接修改显示风格,如果想修改其显示 风格,先将该分子保存到数据库中,这样就可以了)

#### 退出程序

五、Chapter 4

#### Vector NTI 工具和 internet 连接

目的:将本地数据发送到 internet 上,并进行 BLAST 搜索,序列对排、比较和分析等

### 1、登录 Vector NTI

#### 2、在新窗口 打开 pBR322

3、通过 exploring local vector NTI database 窗口(切记)选中 pBR322 整个分子并利用 BLAST 搜索工具进行序列比较(注意:如果不是通过 exploring 窗口,而是通过 NTI 主窗口"打开"命令,打开 PBR322,则最终的搜索结果不 会直接显示在屏幕上,而是发到用户指定的 email 中,但结果都是一样的)

选中后,点 exploring local vector NTI database 窗口中的 Tools—— Compare Against——GenBank via BLAST on NCBI Server,在弹出的 菜单中按下面窗口选择全序列和正链并点 OK 确认(注意保证网络连接正常,否则 无法连接到 Genbank):

ata 🔀
Sequence OK
n Only Cancel
nentary
nentary

当连接成功后,将弹出 NCBI 入口口,如下图所示(不过由于使用的 internet 浏览 器不同,可能每个人显示的窗口可能不一样,我使用的示 IE5.0):

2 NLBJ Blast - Microsoft Internet Explorer			_ 면 스
			4
地址(D)   極) C:\Documents and Settings\lyric song\Local Settings\Temp\tmp\$0.htm	<u> </u>		链接 >>
			<b></b>
S NCBI nucleotide-nucleotide BLAST			
Nucleotide Protein Translations Retrieve results for an RID			
tgctacgcagtcaggcaccgtatgaatctaccatggctcatcgtcatcctcgg			
Search caccgtcaccctggatgctgtaggcataggcttggttatgccggtactgccgggcctctt			
geggggatategteeatteegaeagtategeeagtategegegeg			
Set subsequence From: To:			
Choose database nr			
Now: BLAST! of Reset query Reset all			
Options for advanced blasting			
		白白筋	<b>_</b>
	1×1	DHENE	

# 点 blast,弹出如下窗口:

🚰 NCBI Blast - Microsoft Internet Explorer	<u>a</u> ×
文件(E) 编辑(E) 查看(Y) 收藏(A) 工具(I) 帮助(H)	
午后退 + **   地址① 種 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi 🔽 🔗	转到
链接 🛃 Windows 🖉 免费的HotMail 🛃 自定义链接	
Your request has been successfully submitted and put into the Blast Queue.	-
$\mathbf{Query} = (4361 \text{ letters})$	
The request ID is 1008254165-27502-26572	
The results are estimated to be ready in 1 minutes 20 seconds but may be done sooner.	
Please press "FORMAT!" when you wish to check your results. You may change the formatting options for your result via the form below and press "FORMAT!" again. You may also request results of a different search by entering any other valid request ID to see other recent jobs.	4
Format	
Show 🔽 Graphical Overview 🗹 NCBI-gi Alignment 💌 in HTML 💌 format	
Number of: Descriptions 100 💌 Alignments 50 💌	
Alignment view Pairwise	<b>_</b>
<li>Internet</li>	

点 format,此时 NCBI 将正式开始搜索(注意这个过程可能需要几分钟,请耐心 等待,窗口下面会显示该过程需要的时间,比如 This page will be

# automatically updated in 105 seconds until search is done),结果显示如下:

🗿 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi - Microsoft Internet Explorer	_ 8 ×
文件(E) 编辑(E) 查看(V) 收藏(A) 工具(I) 帮助(H)	-
S NCBI results of <b>BLAST</b>	<b>A</b>
BLASTN 2.2.1 [Apr-13-2001]	
Reference: Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schäffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.	
RID: 1008254502-2617-15380	
Query= (4361 letters)	
Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences). 1,061,644 sequences: 4,690,481,408 total letters	
If you have any problems or questions with the results of this search please refer to the <b>BLASI FAQs</b>	
Taxonomy reports	
Distribution of 218 Blast Hits on the Query Sequence	•

### 用户可以通过拖动滚动条查看结果(很多的),找到gi 416343 gb U03501.1 YRP7 Yeast

replicating vector YRp7, c... <u>8528</u> 0.0了没,点它。屏幕将显示此克隆载体的详细信息 (Genbank格式),如下图所示:

👛 NCBI Sequen	ice Viewer - Microsoft Internet Explorer	<u>_ 8 ×</u>
〕 文件(E) 編辑	碣(E) 查看(Y) 收藏(A) 工具(I) 帮助(H)	地址(D)   198
」 │雑接 秦〕Winde	aws 剧色费的HotMail 剧白定义链接	,
Jaesse 🛃 minde	A Distribution - Electronic	
	EGETCAGGAT AS IGACTT CONSCIONT AGAIN GATCGGATC CCCGGCCC PARATTATATAGC TCGATCGAT C1	<u> </u>
$\geq$ $\sim$		
PubMed	Nucleotide Protein Genome Structure PopSet Taxonomy	OMIM Books
Search A	Nucleotide 🔻 for Go Clear	
boar on ,	Limits Preview/Index History Clinboard	Details
Display	default Save Text Add to Clipboard	Dotano
		Dubbled Terresources
	001. Teast replicating[g1:416343]	PubMed, Taxonomy
LOCUS	VERT E217 by DNA simpler SVN 17-NOV-1003	
DEFINITION	Yeast replicating vector YRD7. complete sequence.	
ACCESSION	U03501	
VERSION	U03501.1 GI:416343	
KEYWORDS		
SOURCE	Cloning vector YRp7.	
ORGANISM	Cloning vector YRp7	
	artificial sequence: vectors.	
REFERENCE	1 (bases 1 to 5817)	
AUTHORS	Struhl,K., Stinchcomb,D.T., Scherer,S. and Davis,R.W.	
TITLE	High-frequency transformation of yeast: Autonomous replication of	
	hybrid DNA molecules	
JOURNAL	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76, 1035-1039 (1979)	
MEDLINE	79180126	
REFERENCE	2 (bases 1 to 5817)	
AUTHORS	Stillman, D. J.	
TITLE	Direct Submission	
JOURNAL	Submitted (16-NOV-1993) David J. Stillman, Dept. of Cellular, Viral	
	and Molecular Biology, University of Utah Medical Center, Salt Lake	-
@		🔮 Internet

# 4、 刚才的搜索结果<u>gi|416343|gb|U03501.1|YRP7</u>转化成NTI文档 格式:操作如下:

在浏览器中点:编辑──全选,然后编辑──复制,将屏幕拷贝到键盘上(或者直接点击窗口中的 add to clipboard)。回到 NTI 主窗口,点: tools──open ──GenBank From Clipboard──online database,按下图所示:



选中 Pacyc177 后, Genbank 文本自动以 NTI 格式显示出来(注意,如果用 户安装了 simvector 软件后,那就用不着 NTI 费心了, sim vector 会帮我们 自动打开),如下图(是 simvector 帮俺打开的,和 NTI 格式一样,不过感觉 更爽):



### 5、利用序列比较工具 alignment

在 exploring local vector NTI database 窗口中,选择 protein molecular 数据库,利用 shift+鼠标选中 41BB\_HUMAN 和 41BB\_MOUSE,然后点击菜单 align——Multiple Sequences on BCM Server,NTI 将以 FASTA 格式打开搜索窗口,点 submit,如果网络连接正 常,多序列比较结果显示如下: 生命经纬 www.biox.cn



下面我们利用 ExPASy 服务器上的 ProtScale 程序分析结果,先回到 exploring local vector NTI database 窗口中,选中 41\_HUMAN 分子,然 后点击菜单 Analyze—Protein Scales (hydrophobicity etc.) via ProtScale on ExPASy Server, NTI 将打开蛋白质分析窗口,点 submit, 如果网络连接正确,则结果显示在如下窗口中: (用户可以通过此窗口查看该蛋白 所有二级结果信息,很爽的,还有很酷的图形呢)

6、保存搜索结果