

Gene Construction Kit 2.5 使用手册

[生物软件网](#)提供

savelife@vip.sina.com

wangkuoking@163.com 翻译

第一章：概论

安装 GCK

第一次安装 **GCK** 至少需要 6 兆磁盘空间，安装的文件包括最新的限制酶数据库、指南、样本、帮助文件、及一个载体数据库。所有的文件压缩在 **GCK** 光盘中，您只需把 **GCK** 从光盘安装到硬盘。

苹果机操作系统

下面是具体的安装过程：

1. 插入光盘，找到 **GCK** 文件夹。
2. 拖动文件夹以复制文件到硬盘。
3. 在 CD 还在计算机中时，启动刚被安装的 **GCK** 应用程序，输入个人信息。
4. 软件安装完成，阅读下面的说明，尽情使用 **GCK**。

WINDOWS 操作系统

要从光盘安装程序，请用鼠标双击 CD 上的安装程序。将生成 **GCK** 文件夹到硬盘，并更新注册表来识别 **GCK** 文件夹。

关于安装的一些说明：

在苹果机操作系统下，关键是复制光盘上的整个文件夹到硬盘，应用程序才会正常运行。如果只是将应用程序复制到硬盘，将无法正常运行。如果您有以前版本的 **GCK**，并且您希望仍旧使用旧版本的 **GCK** 生成的文件，您可以把它们放置到您从光盘上拖过来的新文件夹中。

在 WINDOWS 操作系统和 Mac 操作系统下，当您第一次运行新的 **GCK** 时，除非光盘已经在光驱中，您都会被要求插入光盘。这是唯一的一次，除非您重新格式化了您的硬盘。

GCK 升级

您可以根据需要到我们的网站升级，不过您至少需要有 2.5 版本 **GCK**。

<http://www.textco.com/updates.html>浏览是否有升级的版本。要使用更新版的应用程序，需要从站点下载并加入到硬盘上的 **GCK** 文件夹中。然后检查其是否运行正常，再删除旧的版本。不必再输入 20-30 个字符来激活新版本。

如果您有 Mac 操作系统版本的 **GCK** 光盘，其中包括 Gene Inspector™ 的一个演示版本，这是 Textco 公司的 DNA 和蛋白质分析程序，是对 **GCK** 的补充。您可以通过 Gene Inspector Demo 文件夹中的安装程序安装它。

如果您遇到任何的疑难问题可以联系我们。

我们希望您喜欢这个软件。

概述

设计 **GCK** 目的是以创新和直观的方式实现便利地操作 DNA。一支由分子生物学家和程序人员组合的研究小组经过三年半时间共同合作，设计了具有图形界面和一系列功能的 **GCK** 软件，它将极大的提高实验室的研究能力和减少实验设计的错误。

这个程序的主干在于 **construct**(构建)，代表一个 DNA 序列和所有相关的位点、重要区域、片段、注释和历史记录。**construct**(构建) 可通过四种类型的视窗被操作和分析。屏幕上的每个 **GCK** 视窗都有一个相应的文件存在。视窗的名称与文件名也相同。这四个视窗分别是：构建、目录、凝胶、图解。下面将先作简洁的描述，在手册的具体章节里有详细的说明。

对实际的 DNA 的所有操作都是在构建视窗中进行的。在构建视窗中，可以标记限制性酶或其它位点，定义感兴趣区域，产生沉默突变，编辑构建外观和它的注释。构建能以线形或环形、图形或格式化的 DNA、蛋白质序列显示。

List 视窗被用来生成、维护、编辑序列列表。这个表单包括限制酶识别序列、蛋白结合位点、连接酶、启动子等。表单中序列的切割位点能被详细说明，并且序列中注释能与任一条目联系。当序列条目被用来标记构建中的位点，注解仍与构建中被标记的每一位点联系。

Gel 视窗用来模仿凝胶电泳的模式。任何数目的酶切都能在 **Gel** 视窗中显示。部分酶切能被观察，泳道能在凝胶视窗中及不同视窗间进行剪切、粘贴。除了以图形方式观察凝胶图像外，酶

切结果也可以片段大小信息表的方式查看。

Illustration 视窗用来产生介绍或发表的文档，也被用来追踪总体的构建方案。从 **Construct**、**List**、**Gel** 视窗来的图像和文本都能被粘贴进图解窗口中，图例将被自动生成。在其它程序创建的图像和文本能被拷贝，再粘贴到 **GCK** 的视图窗口上。一旦粘贴在图解窗口，构建就会从原来的文件中分离，但仍能被 **Construct** 视窗中常用的工具编辑。另外，图解窗口包含一套全面的绘图工具来加强图解效果。

运行程序

GCK 是一个多功能的综合程序。您第一次使用时，软件功能和内容是如此广泛和全面，以致您不知要从何做起。为了使您能对 **GCK** 的功能总的概况和程序实际运行方式有所了解，在第二章我们为您提供许多具体的指南供您参考。**即使您不读这本手册的其他部分，您也应当阅读指南并遵照练习。**这些指南是为指引您而设计的，能极大地促进您对程序及其特性的理解，同时指出那些您可能没想到去查看的功能特点。**您**在指南上花费的时间在将来使用 **GCK** 的过程中将多次得到回报。

GCK具有一种简单易懂和直观的界面，并拥有广泛的“取消”能力。它还具有 *revealed complexity* 的特点，即**您**执行的操作越多，了解的细节也就越多。您应当毫不犹豫地尽力尝试。选择菜单选项、工具调色板等，看其运行。特别是**Format Menu**命令在程序的许多地方都要用到，并且以您现在无法想象的方式应用。除阅读指南外，学会使用**GCK**最好的办法是自己去试着使用菜单选项和工具。

第二章：指南

这一章包含的大量的指南将告诉您如何使用 **GCK**。您应该尽自己所能地利用指南，因为它们提供了程序如何运行的概述。**现在阅读指南将会节省您将来许多时间。****GCK** 有大量独特的特性，您不可能在其它的应用程序中见过。指南能提供让您学会这些独特的功能的途径。

在这一章的许多部分和整个手册里，您将会被要求在菜单中选择条目。为了尽可能让您作出正确清楚的选择，所有的菜单选项以下面所述的菜单字体分级显示。比如：**Edit→Select All**。这种例子表示先找到 **Edit** 菜单，再选择 **Edit** 菜单下的 **Select All** 命令。

指南 1：使用构建(construct)

也许 **Construct** 视窗是 **GCK** 中最重要的视窗。在这儿您将处理绝大多数克隆操作和准确地确定构建外观。在这一指南里，您将学会如何修改构建外观。指南 2：“标记位点”，第 2—14 页说明如何标记限制位点和 DNA 构建中的其它特性。指南 9：“时间记录法—记录克隆过程”，第 2—45 页说明 **GCK** 如何自动记录 DNA 构建过程。指南 4：“以序列的形式显示构建”，第 2—22 页，讨论以序列方式显示构建 DNA。

1. 启动 **GCK**
2. 选择 **File→Open...**命令打开指南文件夹(tutorial files)的 Bluescript KS+文件，会出现如图 2.1 所示：

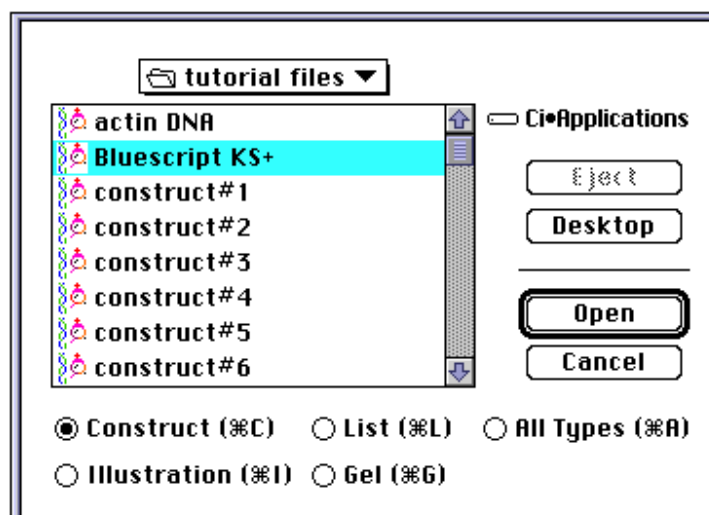


图 2.1：打开文件

这个文件夹在安装程序时生成在 **GCK** 文件夹中。底部的按钮可以让您选择在左边列表中显示不同类型的文件。由于我们正在打开构建文件，应选择 **Construct** 圆形选项按钮。当您打开其它 **GCK** 文件时，应据文件类型不同而选择不同的圆形选项按钮。选择 **Bluescript KS+**文件并按下 **Open** 按钮。您将看到图 2.2

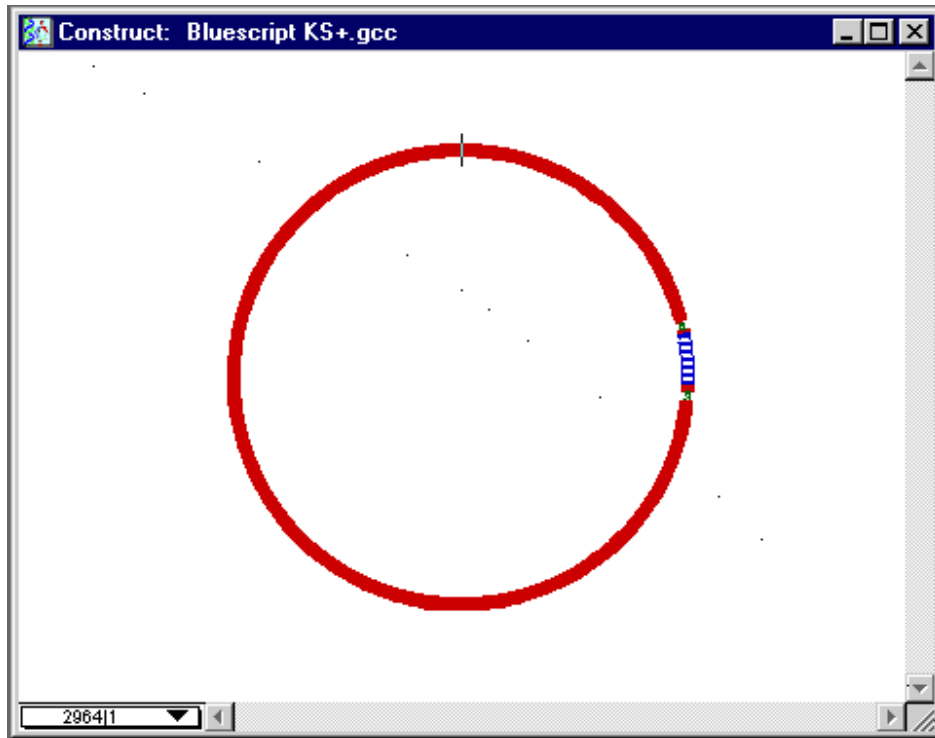


图 2.2: Bluescript KS+

3. 这个构建有大量的片段或 DNA 断片，以不同的颜色和方式显示。文件的标题显示在视窗顶部的标题栏中。在 Construct 视窗的左下角显示当前的插入点的位置。插入点是指新序列通过键入或粘贴的方式放到当前构建中的位置。在核苷酸 625 和 626 间（在您的文件中可能有不同的定位）。沿 DNA 用鼠标点击任一位置，将把插入点放到两个相邻片段之间。
4. 通过双击 DNA 红色标记部分选择它（这与标准的文本编辑程序里的选择功能相同，通过双击选定一个单词）。如图 2.3 所示，将突出显示红色部分，第 2—10 页。注意窗口左下角的指示条显示了被选择的核苷酸范围。序列常常以顺时针方向排列（或从左到右的线性构建）。您将看到 792-625 的核苷酸序列被选择，复制起始位点（构建顶部）被定义为位点 1#。

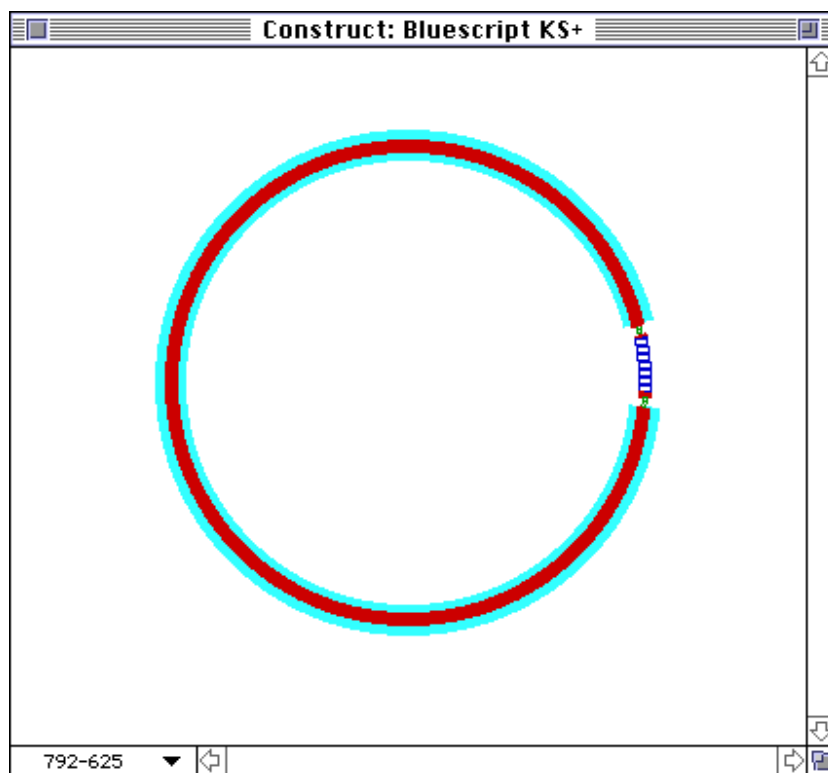


图 3: 选择片段

5. 一旦一个对象（比如一个 DNA 片段）被选定，您就能对其进行修改。选择 **Format→Lines→** 命令，选定第二条命令改变被选定 DNA 片段的宽度到 2 个像素。在 **Lines** 菜单，您可选择菜单中显示的不同序列厚度来设定宽度，或选择 **Format→Lines→Pick a Width...** 直接输入您需要的厚度。使用 **Format** 菜单，您能改变选定对象的外观。现在不要改变任何东西，但完成本节指南后，请大胆地探究 **Format** 菜单地功能。
6. 此载体包含 T3、T7 启动子和一个多克隆位点。启动子以绿色标记，多克隆位点以蓝色斑纹显示。现在选定的启动子添加方向性。在您给任何 DNA 片断添加方向之前，该 DNA 必须被选定。启动子片段相当小，可能在该放大倍数下很难选择。用鼠标点击绿色片段（位于蓝色和红色片段之间），把插入点放到我们感兴趣的位点的附近。接着选择 **Construct→Magnification→Zoom in** 命令放大结构图。然后再次选择 **Zoom in** 命令，再双击选择绿色片段的顶端部分。如图 2.4，第 2-11 页，所示。625-645 的核苷酸序列被选定。

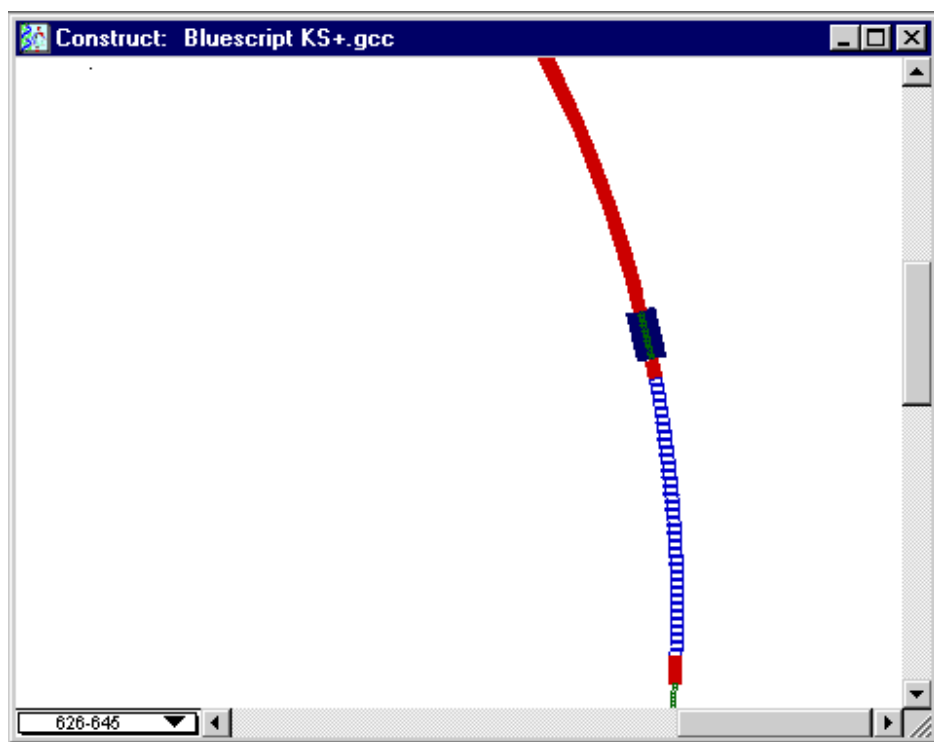


图 2.4: 放大观察

7. 选择 **Construct→Get info...**命令了解片段的命名及相关的注释。T7 启动子如图 2.5 所示。
每一 DNA 片段都有名称及相关的注释。这些注释被用来存储重要的构建信息，可以通过 **GCK** 的 **Search Files** 命令搜索(指南 10: “查找注释和文件搜索”，第 2-52 页)。我们在下一对话框中进行更多详细的讨论(指南 9: “时间记录法—跟踪克隆过程”第 2-45 页)。现在，您如果不想进行修改就按下 **Cancel** 命令。

Segment Name:

Segment Comments:

In clockwise direction

↑
↓

First Nucleotide: 626

Last Nucleotide: 645

Segment Generation: 0

图 2. 5:序列片段的信息框

8. 被选定的 T7 启动子如第 2-11 页中的图 2.4 所示。如果不是这样，请通过双击片段再选择一次。首先，通过选定 **Format→Lines→**的第三条命令修改被选定 DNA 片段的宽度到 3 个像素。下一步，通过选择 **Format→Lines→**命令，并选择 Lines 菜单的第二项选定右向的箭头来添加顺时针方向的箭头，。
9. 最后一步调整箭头的大小。通过选择 **Format→Lines→Size Arrowhead...**命令将出现图 2.6 的界面。单击并拖动对话框中鼠标可以实现重新调整箭头大小到如图所示的适当尺寸。再单击 **OK**。

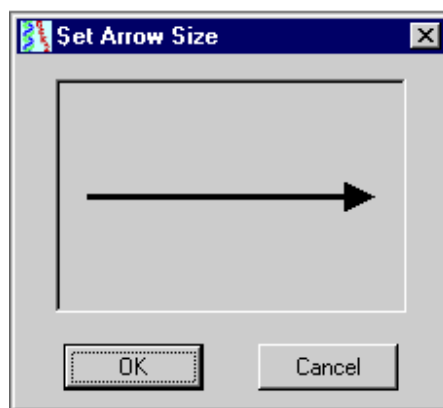


图 2.6: 箭头的大小

10. 现在我们需要以反时针方向调整 T3 启动子片段。具体步骤与 T7 的操作相同。首先，通过双击选择下游绿色片段（T3 启动子），如果看不到，可通过滚动条带出。选择 **Format→Lines→**并选择第三条线条来改变厚度。选择 **Format→Lines→**并选择左向的箭头命令。这样所添加的箭头和刚才作出的箭头大小一致，方向相反，达到对称。
11. 最后，我们需要再检查一下整个构建，所以选择 **Construct→Magnification→Fit to Window** 命令，如 2—13 页中图 2.7 所示。到此，我们已经根据需要对要构建片段的进行调整。

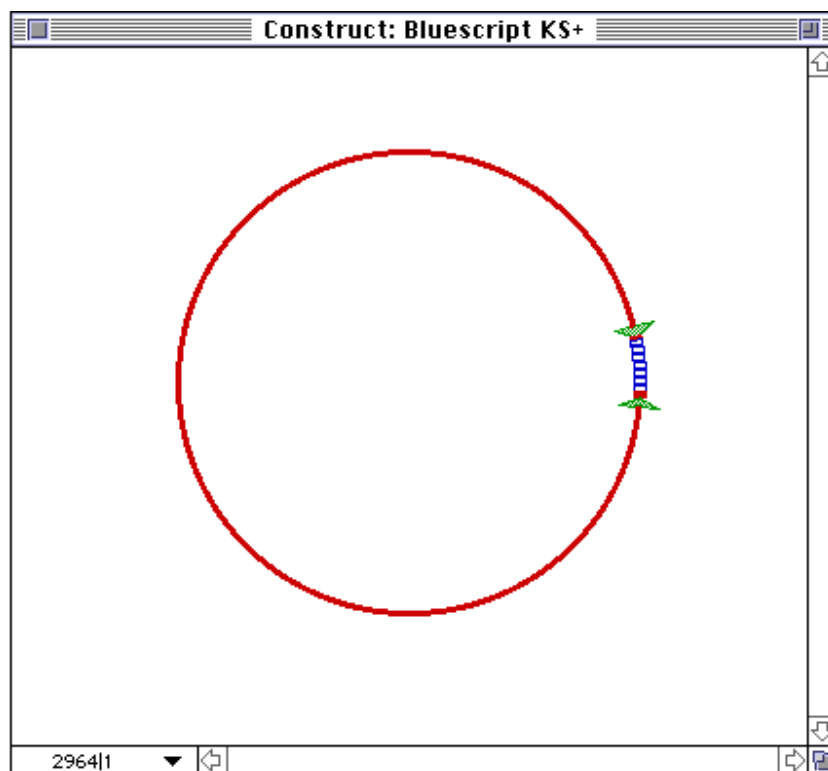


图 2.7: 修改 Bluescript KS+

12. 以新的名称对构建进行保存。在桌面上产生一个文件夹用来保存不同的指南文件，独立的文件夹有利于找到需要的文件。选择 **File→Save As...** 命令,命名新文件为 **construct#1**，并保存在您自己的文件夹（请不要替换指南文件因为其他人以后要用到），当然您自己要清楚文件是保存在何处的，您以后将会需要它。

您现在可以退出或继续到指南 2: 第 2-14 页的“标记位点”。如果继续，就让刚建立的 **construct#1** 文件保持打开；如果不，就关闭文件。

指南 2: 标记位点

1. 启动 **GCK** 及您在指南 1 中建立的 **construct#1** 文件，如果没有，您可以打开我们提供的指南文件夹中的 **construct#1** 文件。
2. 接着标记仅位于多克隆区域，其他地方没有的限制性酶切位点。首先，双击具有蓝色线纹，定位在大约 3 点钟的多克隆片段，您将看到该片段被选择。

3. 选择 **Construct→Features→Mark Sites...** 命令，将看到如图 2.8 所示。完整版手册对该对话框有更详细的讨论。现在，确保商业列表在对话框顶端的弹出菜单中显示。酶的列表将出现在左边的可滚动区域。按下 **Add All→** 命令，把列表中的所有酶都加入到右边的 Enzymes to mark 列表中。

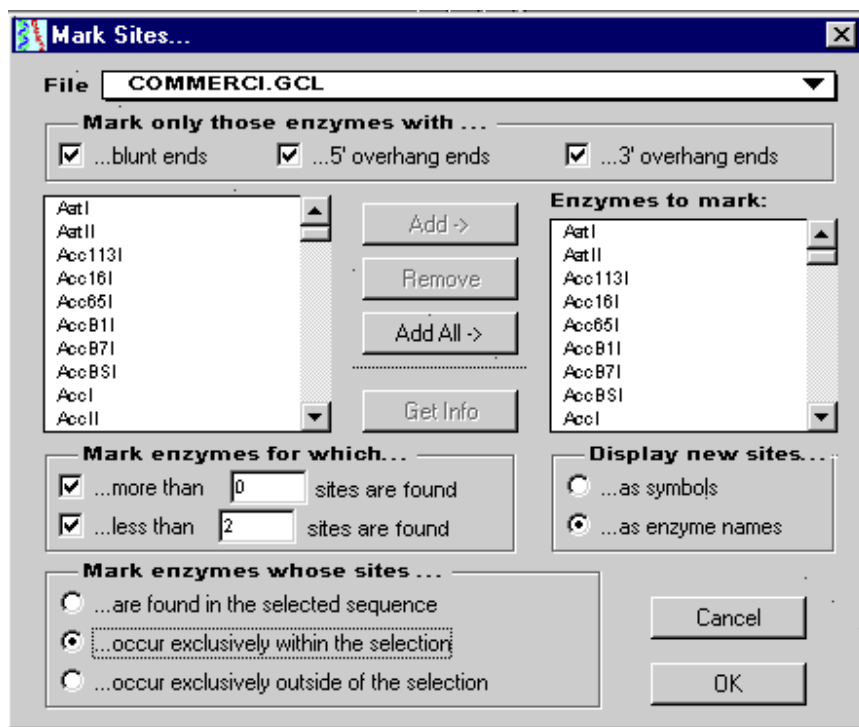


图 2.8: 标记的限制位点

4. 在左边的中间部份，按照图 2.8 所示设定数字，也即指定所选酶的酶切次数大于 0 次，小于 2 次，即单一切割酶。
5. 最后，选择对话框左下角中间的圆形选项，指定所选的酶只能在被选定 DNA 片段进行特异性切割。现在选择 **OK** 命令以标记位点。
6. 被标注的构建如图 2.9A 所示，可看到位点挤塞在一起。在所有新标记的位点仍然被选定的时候，执行 **Format→Site Markers→Automatic Arrangement**。该命令将重新排列位点标记，以消除位点标记重叠现象，最后结果看上去如图 2.9B 所示。

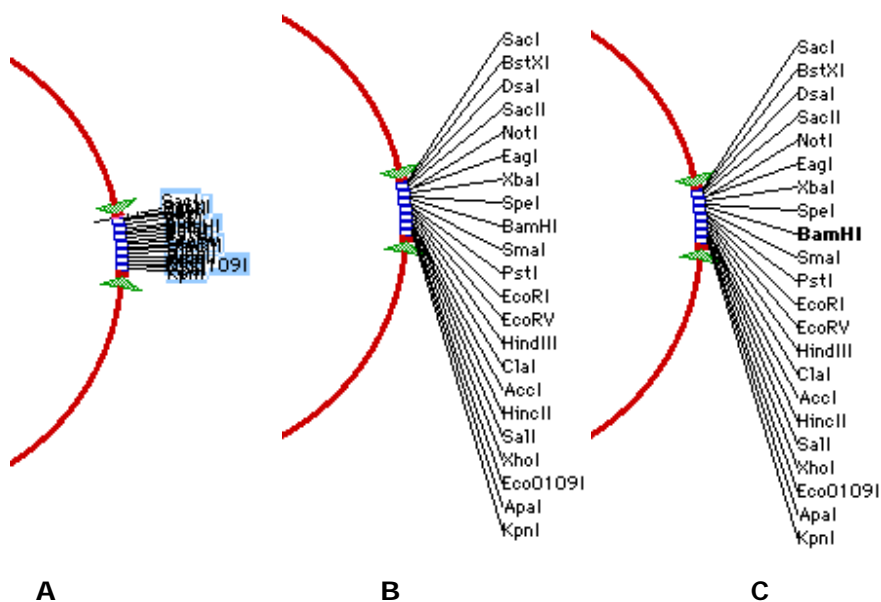


图 2.9: 标记位点

7. 正如 DNA 片段被选定那样，当一个位点标记被选择时，您可以通过在 **Format** 菜单中的条目改变位点标记的显示。单击 **BamHI** 标记，并用 **Format→Style** 命令使标记文字粗体化。选择 **Format→Size** 菜单设置文字大小为 10 点。结果如图 2.9C 所示。
8. 在 **BamHI** 位点标记被选定的情况下，选择 **Construct→Get Info...** 命令（或按 **Ó-I (Mac)** 或 **ctrl-I (Windows)**），将提供给您如图 2.10 所示的信息。如果您愿意，实际上能改变酶的名称（不是一个好主意）或在注释文本框中输入有关注解。在对话框下部的可水平滚动区域指示着酶切位点所在的实际序列。红点所围成的矩形指定限制性酶的识别序列，两个箭头指出该酶实际切割位点。通过单击一个箭头并拖动它可以改变切割位点。不保存任何改动，点击 **Cancel** 退出对话框。

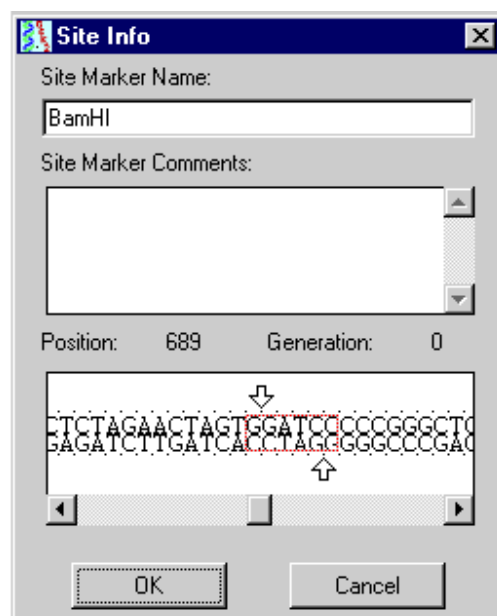


图 2.10: 位点标记的信息对话框

9. 选择 **File→Save As...**命令，命名文件名为 **construct#2** 并保存在您自己的文件夹中（请不要替换我们提供指南的文件，因为其他人可能在以后用得着）。在下一指南中您也将用得着。

您可以退出或继续到第 2-18 页的指南 3：“标记开放阅读框”。如果您要继续，就让这个您刚建立的 **construct#2** 文件保持打开状态，如果不，请关闭此文件。

指南 3：标记开放阅读框

1. 启动 **GCK**，打开您最近创建的 **construct#2** 文件。如果您没创建此文件，可以打开我们提供的指南文件夹中的 **construct#2**。
2. 在本节指南中，您将完成这个构建的注释，并学会如何去定义 open reading frames（开放阅读框，ORFs）。首先，执行 **Construct→Display→Show Construct Title** 命令，构建的标题和长度将出现在视窗中心。
3. 现在选择 **Construct→Features→Find Open Reading Frames...**命令，将看到如图 2.11 所示的对话框。对话框提供有关程序如何寻找 ORFs 的全部信息。minimum ORF length（最短的

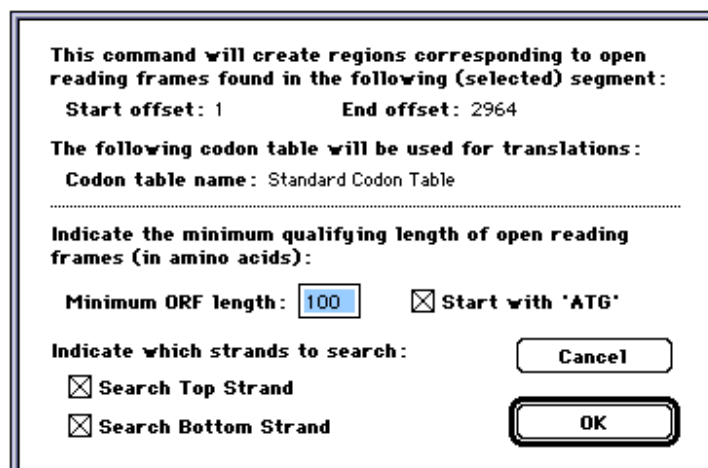


图 2.11: 搜索开放阅读框

ORF 长度) 条目告诉程序只显示 100 至更多个氨基酸的 ORFs。正如在完整手册中解释到的, 您可以有选择的使用遗传密码表并确定搜索 DNA 单链或双链。如果您寻找的 ORFs 在外显子中, 您可能需要关闭 Start with 'ATG' 检验框, 程序将会搜索所有的, 而不单是从 ATG 开始的开放阅读框。如图所示, 调整好对话框以后, 按下 OK 按钮, 开始搜索 ORFs。

4. 在运行 ORF 搜索命令之后, 将会在构建视窗中看到两个新的对象: 箭头表示两个不同的 ORFs 被搜索到, 如图 2.12 所示。两个 ORFs 被突出显示, 这些 ORFs 代表着重要区域或范围。除了位点标记和 DNA 片段外, 区域使视窗中能被显示的第三种对象。区域可通过 **Format→Regions→**子菜单来修改格式。

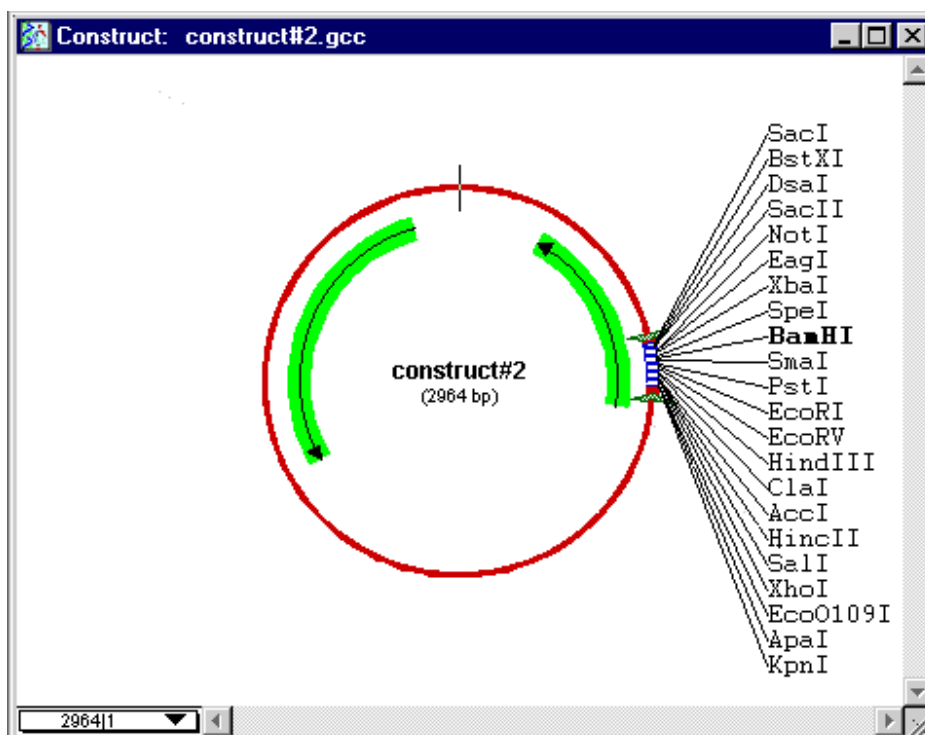


图 2.12: 被标记的开放阅读框

- 单击视窗中的某处可取消选定的区域。现在单击右边与多克隆位点交迭的那个区域。可通过选择 **Construct→Get Info...** 命令得到图 2.13，第 2-20 页。这个对话框包含被选定区域的信息。您能通过单击 **Top Strand** 或 **Bottom Strand** 命令改变区域的方向。改变 **First Nucleotide** 或 **Last Nucleotide** 条目中的数字可修改区域的长度。**Protein Sequence** 条目决定是翻译此区域还是以实际的 DNA 序列显示（指南 4：“把构建作为序列显示”，第 2-22 页提供更多的信息）。

Region Name: open reading frame#1		<input checked="" type="checkbox"/> Protein Sequence	
Region Comments: <div style="border: 1px solid black; height: 60px; width: 100%;"></div>		Protein Direction <input type="radio"/> Top Strand -----> <input checked="" type="radio"/> <--- Bottom Strand	
Region Generation: 0		First Nucleotide:	244
		Last Nucleotide:	846
		OK	Cancel

图 2.13: 区域的对话框信息

6. 该区域是 β -半乳糖苷酶区，因此在 **Region Name** 文本框中键入 beta-galactosidase，您也可以 在 **Region Comments**（区域注释）文本框中输入注解。名称和注解都可被 **GCK** 搜索到（指南 10：“搜索注解和文件”，第 2-52 页）。在本例中，应当输入有关这个载体，及多克隆位点是如何中断 β -半乳糖苷酶编码区的一些注解。然后单击 **OK**，关闭对话框。
7. 区域仍被选定的情况下，选择 **Format→Regions→Show Region Names** 命令，将在视窗中显示区域的名称。您可以选定这个名称，并使用 **Format** 菜单下合适的条目改变文本的外观。区域名称文本能在构建视窗中自由拖动。当区域名称被选定后，区域名称将随区域被突出，以清楚显示区域与哪个文本相连接。
8. 鼠标点击选择左边的区域，选择 **Construct→Get Info...**命令，修改区域的名称为“ampicillin resistance”并加入注释，从而指出基因产物是“ β -内酰胺酶”。再点击 **OK**。
9. 说明一下，当您选择一个区域后，在 **Format** 菜单中会出现许多条目，通过这些条目菜单您可修改构建中箭头的显示，甚至可通过 **Format→Lines...**命令修改箭头的方向。这些都与图 2.13 中修改蛋白质方向的操作相同。
10. 选择 **File→Save As...**命令，并命名文件为 construct#3,保存在您自己的文件夹中（请不要改动我们提供的指南文件，因为其他人可能用得着），您在下一指南中可能会需要。现在可退出或继续到指南 4：“以序列的形式显示构建”，第 2-22 页。如果您要继续学习指南 4，那就让刚建立的 construct#3 文件继续打开。如果不需要，就关闭该文件。

指南 4：以序列的形式显示构建

1. 到现在为止，我们操作的是图形形式的构建，但都是在一个真实的 DNA 序列下进行。启动 **GCK**，打开您在前一个指南中保存的 construct#3 文件。如果没有这个文件，您可开启我们提供的 construct#3 文件。
2. 选择 **Construct→General Info...**命令，将看到图 2.14。构建的综合信息作为一个整体随同构建保存，不从属于任何特异的片段或 DNA 区域。这意味着如果重新修改构建或剪切和粘贴 DNA 片段，综合信息也不会丢失。这对保存某些信息如 construct#3 中显示的 DNA 存储位置及其它信息非常有用。结合文件搜索功能（指南 10：“查找注释和文件搜索”，第 2-52 页），注释能被用来建立有关您的克隆 DNA 的信息数据库。

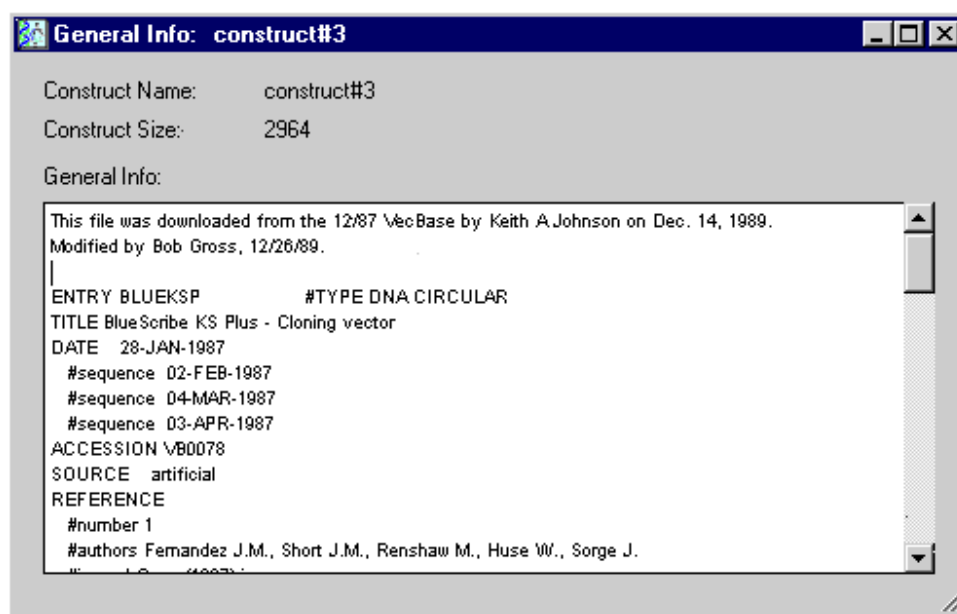


图 2.14: 序列综合信息对话框

3. 运用滚动条直到您看到说明 f1 DNA 含有复制起始位点，其片段位于序列 3-458 的信息。现在我们所希望做的是指出该特定 DNA 片段的位置，但如何在没有任何的标记的图形构建中确定 DNA 位置？解决方法是把构建看作一段序列，而不是图形。关闭综合信息窗口，再选择 **Construct→Display→Display Sequence** 命令。将显示图 2.15。如果您的显示与图 2.15 不同，请滚动序列直到窗口的顶端，注意图形查看模式和序列查看模式的关联。可看到颜色得以保持、位点被标记，区域被指示。然而，由于我们指定标记区域是蛋白质区域（图 2.13，第 2-20 页），翻译出的肽显示在实际的 DNA 序列之下。邻近氨基酸序列的小三角指出翻译的方向。

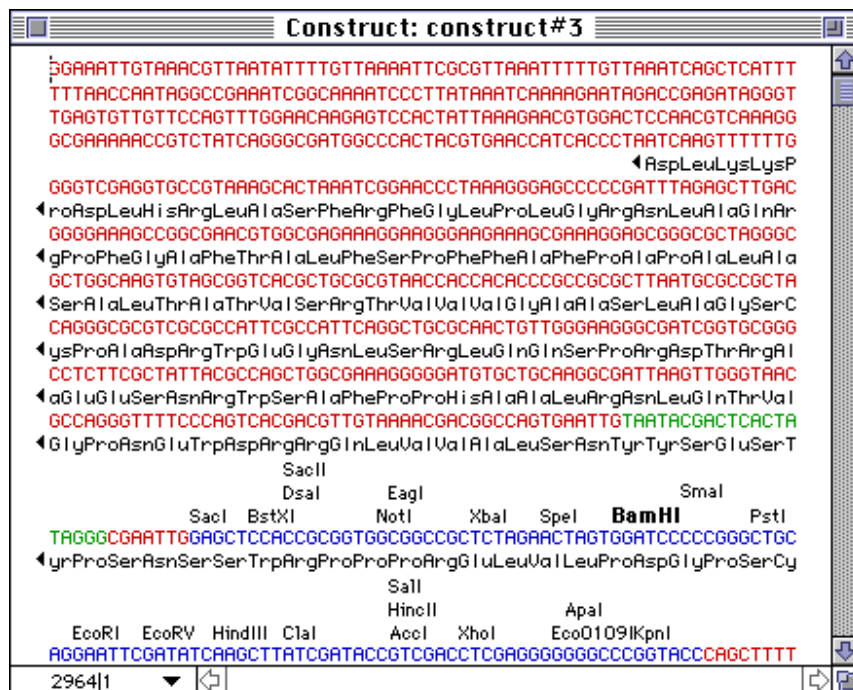


图 2.15: 把构建作为序列

4. 在我们标记 f1 复制起点前，需要能识别标记的核苷。通过 **Construct→Display→Show Positions** 命令加入位点指示功能。还记得在图形构建中，通过双击来选定 DNA 片段吗？在序列查看模式下也是一样的。所以双击 DNA 序列中的任何位置就能选定整个片段。可试着双击 DNA 序列中的任一部位了解片段是如何被定义的。您会注意到片段的边缘是标记位点或有颜色改变或文本特征改变。
5. 在插入点（鼠标指针）在 DNA 序列中任何地方时，选择 **Edit→Select All** 命令，将会选择所有的 DNA 序列。现在选择 **Format→Grouping→Group by Tens** 命令，将十个为一组排列 DNA 序列。注意在 **Format→Grouping** 菜单中有一个选项可确定 DNA 序列分组的大小。这是有用的，比如在操作类似 8 聚物的重复序列时，您可定义分组大小为 8，从而轻易显示该重复序列。
6. 以十个密码为一组更有利于序列观察和确定特殊位置，但不利于观察被翻译的那部分 DNA 序列。对被翻译序列要以和密码子对应的三个核苷酸为组排列。有两种方法可实现，可通过鼠标单击并在相应 DNA 区域上拖动，选择与肽相应的那部分 DNA 序列。另有一个更方便的方法，就是双击氨基酸序列。这其实是 **GCK** 中的一种固定的特性，使选定相应区域的 DNA 片段更容易。在任何区域双击都会选定相应的 DNA 序列。所以双击 β -半乳糖苷酶基因的氨基酸序列（序列范围是 244-846）。并选择 **Format → Grouping → Group by**

Threes。

7. 现在需要指出复制的起点。指定复制的起点，不但会在整个构建中使用到，并将会使从许多的序列中指定那些可能要标记的区域成为一件轻松、形象的事。您可以指定一种颜色来代表复制起点。选择 **Format→Color→Add a Color...** 命令，如图 2.16 所示。输入“origin of replication”在颜色所指定的内容条目中，再按 **OK**。从颜色选择栏中选定一种颜色。现在您已经为复制起点设定了一种新的颜色。这种颜色会在 **Format→Color** 菜单中出现。**GCK** 允许定义您自己的颜色并予以命名，这一功能提供了一条简便的办法来显示重要特征，比如：启动子、增强子和 DNA 上的其它位点。如果您的所有构建都使用您自定的标准颜色来显示，您只通过识别颜色就能轻松认出构建的特定功能。

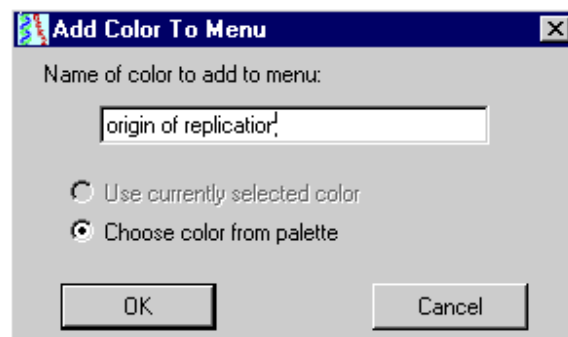


图 2.16: 填色对话框

8. 让我们来利用刚设定的新颜色来辨别构建复制起点。用鼠标选择核苷酸序列 3-458。可通过观看视窗左下角的显示来确定选择核苷序列的正确性。选择 **Construct→Features→Make Region...** 命令，将出现如图 2.17 所示的对话框。确定您输入了正确的名称并输入注释在注释条目中。这不是蛋白质序列，所以不必复选 **Protein sequence** 条目。确定序列起止从 3 到 458。按 **OK**。

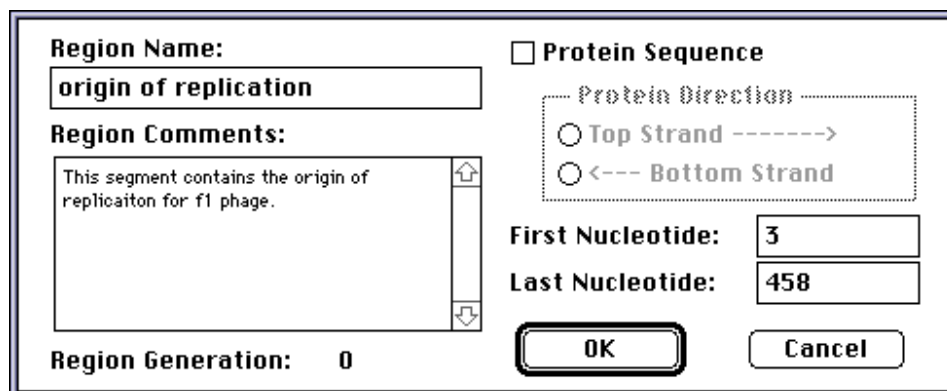


图 2.17: 建立一个新的区域

9. 新建立的区域将被选定，现在能改变它的外观。选择 **Format→Lines** 命令并选择在两个末端都有箭头的线条。这样选定区域将会出现两个箭头。
10. 在区域仍被选择的前提下，选择 **Format→Color→origin of replication** 命令，通过修改序列的颜色来显示其功能。
11. 如果您愿意，您也可使用 **Format** 菜单修改线条的厚度和箭头。完成后将看到类似图 2.18，第 2-26 页所示。现在您通过颜色就能轻松识别出复制起点，并且双击该区域就可选定相应的 DNA 序列。

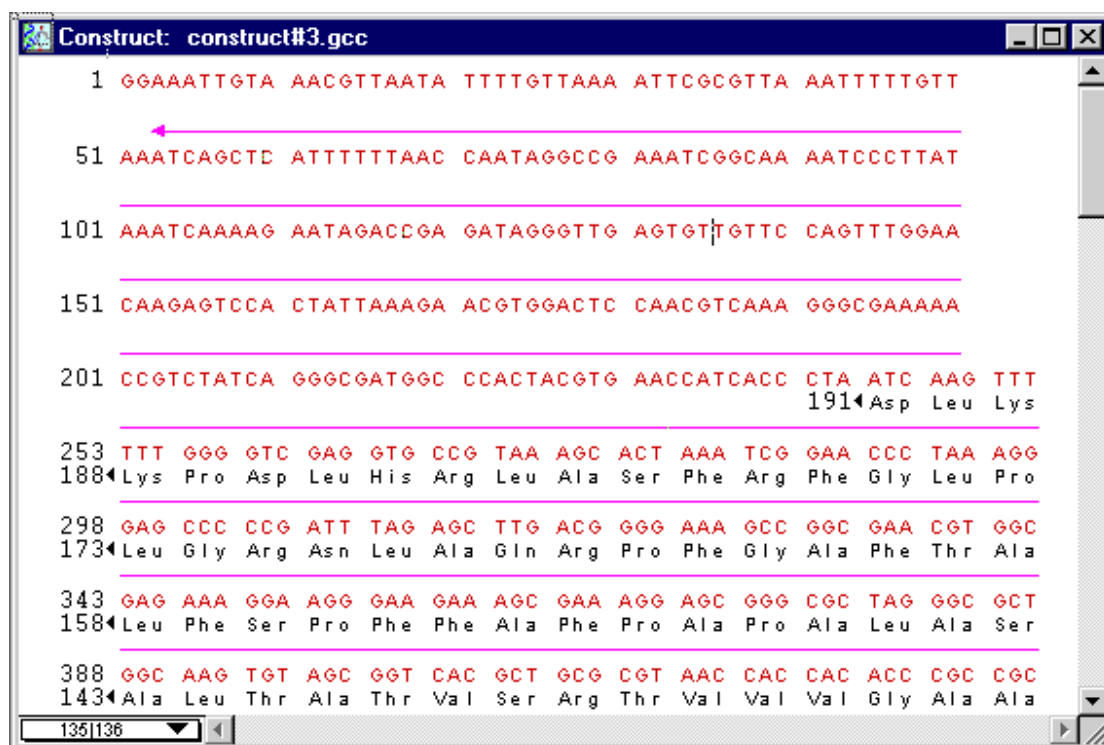


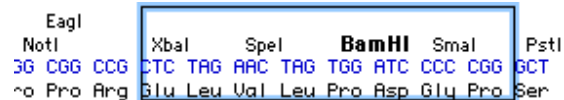
图 2.18:指定复制起点

12. 选择 **File→Save As...** 命令，命名文件为 construct#4 并保存在您自己的文件夹中（请不要替换我们提供的指南文件，因为其他人以后可能会用得上）。在下一指南中您将会需要这个文件。该指南将介绍如何在构建视窗中改善序列的外观。

现在您可以退出或继续到指南 5：“修改构建的外观”，在第 2-27 页。如果您要继续，就让您建立的 construct#4 文件保持打开。如果不继续，就关闭该文件。

指南 5：修改构建的外观

1. 启动 **GCK** 和您在前面指南中保存的 **construct#4** 文件，如果您没有这个文件，可以打开我们提供的指南文件夹中的 **construct#4** 文件。
2. 用 **Format** 菜单中的许多条目就可以修改序列的外观。从核苷酸序列 10-33，通过鼠标拖动来选择富含 AT 的片段。现在选择 **Format→Font→Times** 命令，注意尽管 Times 不是等宽字体，**GCK** 仍保持间隔字符以致整个序列每一个字符占有相同的宽度。现在选择 **Format→Style→Bold** 命令，粗体字符会比不是粗体字符的宽，所以这部分的序列将会长一点。不过您可以通过选择 **Format→Style→Condense** 命令调整，该命令将会压缩字符间距。您可以修改 DNA 片段的颜色、字体和类型使之有助于突出某一特性。现在您可以尽量尝试以下。
3. 另一种方法能被用来阐述 DNA 序列的某一特性。就是通过使用框架（Frames）。为了理解框架是如何工作的，可选择 676-699 的核苷酸序列（位于多克隆位点区域）。选择 **Construct→Features→Make Frame** 命令，将在您所选择的 DNA 片段四周建立一个框架，并包括氨基酸序列的区域和位点标记。结果类似图 2.19 所示。该框架被选定（突出显示），其中附有所有与框架内特定 DNA 片段相关的信息。



EagI
NotI XbaI SpeI BamHI SmaI PstI
3G CGG CCG CTC TAG AAC TAG TGG ATC CCC CGG GCT
no Pro Arg Glu Leu Val Leu Pro Asp Gly Pro Ser

图 2.19：一个序列框

4. 通常，**Format** 菜单就能改变框架的外形。注意框架必须被选定（即突出显示）。**Format** 菜单中的适宜的条目才能对框架的发挥作用。对选择的框架，选择 **Format→Lines...** 命令，并选择菜单中第二条线的厚度（2 个像素宽）。选择 **Format→Color→Yellow** 命令，再选择 **Format→Fill** 命令填充。您可以尝试选择不同的方式和颜色来了解它的功能。（如果您计划打印序列，记得使用浅色来填充，这样可突出正文。）
5. 说明框架包含位点标记，DNA 和区域。您能限制框架中附有哪些东西，通过选择 **Construct→Features→Set Frame Contents...** 命令，如图 2.20 所示。这个对话框允许您指定哪些条目在框架中被附上。设定您的对话框如图所示，再按 OK。

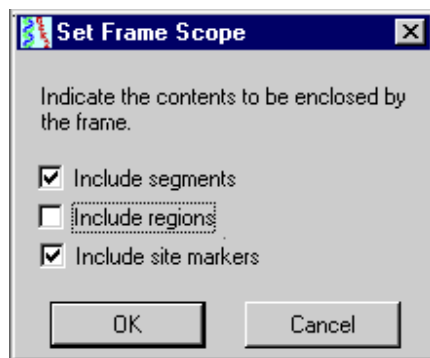


图 2.20: 设定框架内容

6. 区别 DNA 序列和蛋白质序列有一定的困难，所以让我们来更改蛋白质序列的外观。单击选择蛋白质序列，再选择 **Format→Font→Times** 命令，接着选择 **Format→Style→Italic** 命令。您的视窗将如图 2.21 所示，在第 2-29 页。GCK 改变序列的显示有许多方法，这就提供了很大的灵活性来突出您所操作的任何序列的任一特性。

613 GGC CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG CGA ATT GGA GCT
 58 Ala Leu Ser Asn Tyr Tyr Ser Glu Ser Tyr Pro Ser Asn Ser Ser
 SacII EagI
 BstXI DsaI NotI XbaI SpeI **BamHI** SmaI PstI
 658 CCA CCG CGG TGG CGG CCG CTC TAG AAC TAG TGG ATC CCC CGG GCT
 53 Trp Arg Pro Pro Pro Arg Glu Leu Val Leu Pro Asp Gly Pro Ser

图 2.21: 修改的序列框

7. 选择 **Construct→Display→Display Graphics** 命令。注意您定义的复制起点区域也以图形形式出现，并如其在序列形式显示的那样被选择。两种不同显示形式的构建有着直接的相关性。您在图形中的修改会出现在序列中，相同在序列中的修改也会在图形中出现。图形只是以更形象的方式来显示您的构建。在克隆片段过程中（指南 8：“克隆一 DNA 片段和无突变”，第 2-39 页），这是维持一个轻松的使用界面的关键因素。
8. 单击 BamHI 位点标记名称，再通过按 Ctrl-A 或选择 **Edit→Select All** 命令选择所有的位点标记。我们需要修改除 BamHI 位点以外的所有位点标记的外观，所以我们需要选择除 BamHI 位点以外的所有位点。标准的方法是一直按 shift 键，同时单击 BamHI 位点（这又称 shift-clicking）。确定您已经选定了除 BamHI 位点以外的所有位点。现在选择 **Format→Site Markers→Show Site As Symbol** 命令，结果类似图 2.22 所示，第 2-30 页。注意您可能没有如图所示的同样符号。

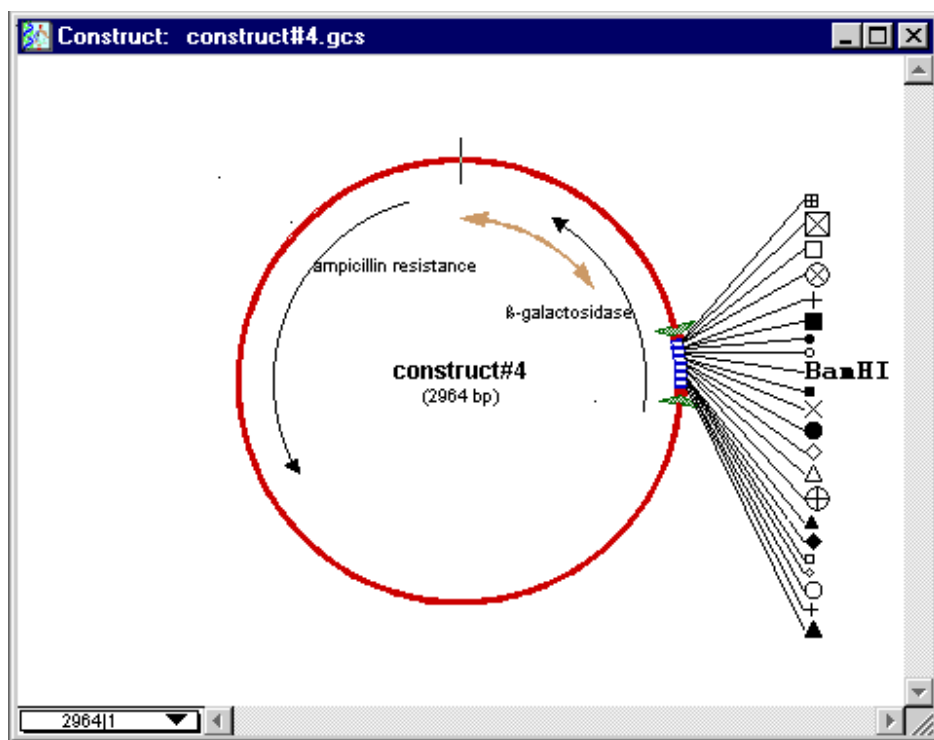


图 2.22: 符号表示标记位点

9. 选择 **File→Save As...** 命令，命名文件为 **construct#5** 并保存在您自己的文件夹中（请不要替换我们提供的指南文件，因为其他人以后可能会用得上）。您将会在下一指南中再次需要这个文件。下一指南介绍如何用您的新载体 DNA 载体作为外来的 DNA 接受体。

现在您可以退出或继续到指南 8：“克隆—DNA 片段和沉默突变”，在第 2-39 页。如果您要继续，就让您刚建立的 **construct#5** 文件仍然打开。如果不继续，就关闭文件。

指南 6：输入基因库序列文件

通过高级输入功能，**GCK** 能在因特网上搜索 GeneBank，查找文件，并能直接导入 **GCK**。通过一个您可自定义的转换系统，所有 GeneBank 的特性都可以被一一对应地转换成 **GCK** 特性。下面的指南将阐述这些特性的基本要素。有关显示在 Macintosh 和 Windows 操作系统上有所不同。但在每个操作系统平台上程序的运行方式都一样。

1. 启动 **GCK**，选择 **Choose File→Deluxe Import→Conversion Defaults** 命令。将看到如图 2.23 所示。该窗口显示了默认的转换方式，决定了基因银行特性表中列出的不同特性如何转化

Feature	Help
✓ Segment	%1
Comment	%2
Region	%3
Protein	%4
Frame	%5
Marker	%6
Turn On	%=
Turn Off	%-

图 2.24: GCK 特性类型菜单

3. 您可以用鼠标点击左边列表中的任一条目，解说就会在右边的记述界面中出现。一旦您已经选择了列表中的一个条目，您就可以使用 **GCK** 的 **Format** 菜单中的任何可用的选项来改变 **GCK** 的外观。试着使用 **Format** 菜单中的选项改变列表中部分特性的外观。这使您能完全控制各种 **GenBank** 的特性被转换为 **GCK** 的特性的方式，这个程序称为映射。
4. 如果您不喜欢某个 **GenBank** 特性映射到 **GCK** 特性的默认方式，您可以通过选择 **Format** 菜单中的选项指定一个不同的 **GCK** 特性（如图 2.24）。选择列表中的条目，再从 **Feature** 菜单中选择您所喜欢的在 **GCK** 中用来代表该条目的特性。一旦您选择了 **GCK** 的特性，其就会在 **Conversion Defaults** 对话框中显示出来（如图 2.23，第 2-31 页），您可以在其中指定其性质。如果您要保存转化默认值，选择 **File→Deluxe Import→Save Conversion Defaults** 命令保存。这可使保存转换方式，便于以后访问。可以保存多个“转化文件”，每一个都有不同的转化设置。用 **File→Deluxe Import→Restore Conversion Defaults** 命令将允许您选择使用一个不同的转化文件作为计算机上的默认转化表。关闭 **Conversion Defaults** 视窗。
5. 选择 **File→Deluxe Import→Open Sequence File** 命令，打开文件 `gbmam_sample.gbk`。这个文件是从 **GenBank** 下载的，并且在同一文件中包含各种不同的序列。当您打开文件，将看到图 2.25。在这个文件中五个不同的序列条目在左边的 **Entries** 栏中列出。当其中之一的条目被选定时，（如 `BTBAINH1`），来自特性表的特性会在中间的 **Feature** 栏中列出。最后，当某一特性被选定时（如：`enhancer`）与特性相关的信息将显示在 **Source** 框中，这里列出的是 **GenBank** 条目信息。转换偏好使您能决定您要程序如何运行这个转化工作。现在打开文件看您可有哪些选项。
6. 点击 **Convert to GCK** 命令。将会出现图 2.26。这个视窗显示对于该正被输入的特定的 DNA，能有哪些特性。在本例中，5' UTR 和外显子特性被关闭，并且不会在 **GCK** 构建的结果中显示。这里可视的转化是通过使用转化默认值实现，但您仍可随时任意进行修改。
7. 按下 **Save Construct** 键，根据您如何设置转移优先参数，您将自然看到（或通过一、两个

对话框) 图 2.27, 这是一个新的 **GCK** 构建视窗。显示了新特性如何描绘出这个特定序列。这些步骤示范了您如何引入一个已有的 GenBank 文件到 **GCK** 中。



图 2.27:一段输入序列

指南 7: 从基因库中搜索并取回相关序列

下列步骤将演示如何在基因库中搜索并取回相关序列, 以及将它们自动输入 **GCK**。

1. 首先, 您需要将计算机联入网络。如果电脑还未在线, 请现在开始连接。操作开始时执行 **File>Deluxe Import>Retrive Sequence**, 您会看到图 2.28。

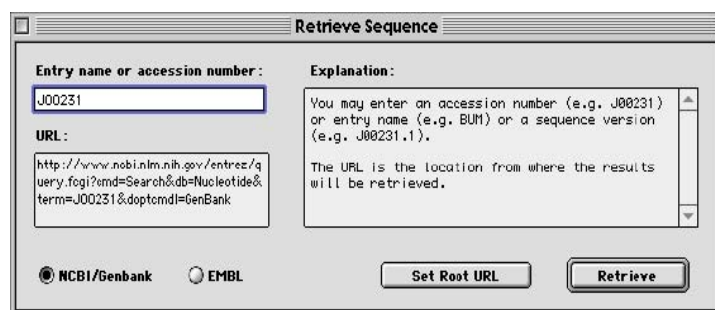


图 2.28: 基因序列的搜索

输入“J00231” (或其它您感兴趣的基因序列号或基因名称) 到左上角的框中。您输入序列号或基因名称后, 左下角的框中会出现一条 URL 地址 (此地址是不可编辑的, 只是显示 **GCK** 目前的工作状态)。这条 URL 地址将被送往您所指定的服务器, GenBank 或 EMBL 是两个默认的选择。您也可通过按下“**Set Root URL**”键指定一条本地服务器。

2. 按下 Retrieve 后就开始连接您所设定的数据库并寻找您所要的序列。一旦序列被找到，您将看到一个类似于图 2.25，所示的窗口。因而您只需按着前面指南中所述的同样步骤来完成序列被引入 GCK 的过程（“输入基因库序列文件”指南）。
3. 您也可以使用 GCK 来进行 GenBank 的搜寻工作。执行 **File > Deluxe Import > Search GenBank** 后将出现一个对话框来设定 GenBank 的搜索工作，如图 2.29 所示。值得注意的是，弹出菜单使您可按需来定义数据库内被搜索的字段。

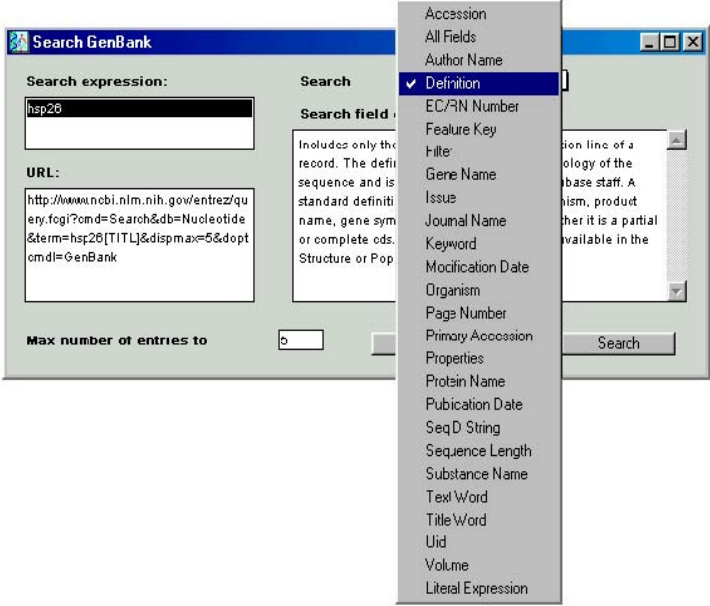


图 2.29：使用 GCK 的 GenBank 搜索功能

键入您的搜索关键词然后按下 Search 按钮后将出现一个进度对话框，告诉您程序的进展程度，接着您将看到一个列表，列有符合您所需的条款。这一列表类似于图 2.25。现在您感兴趣的序列已存于您的硬盘上，可以被直接导入 GCK 了。

4. 如果此 DNA 源文件有一些不明确的特征条款，您可以按下您可以看到的 **Location Prefs** 键，进入图 2.30，从而重新设定那些特征区域，给以新的解释。这个窗口列有 NCBI 规定的用于解释 GenBank 源文件的多个特征的多种方式。其中一些方式不能被直接转换成 GCK 格式，因而您就不得不在这个窗口上处理这些情况。

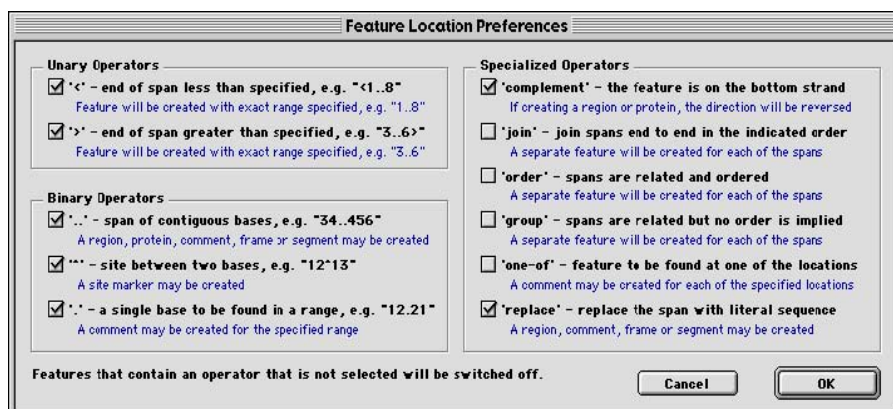


图 2.30: 特征区域参数表

通过强大的导入功能， 您会得心应手的尝试不同方式的操作，而基因搜索工作方式也是如此简单， 与使用 NCBI 网站进行 Entrey 搜索如出一辙。

指南 8: 克隆 DNA 片段及沉默突变

这一指南的目的是利用在前面指南得到的构建，用它来组合一段新的 DNA。 为此， 您将学习如何复制及粘贴 DNA 片段及如何追踪构建过程。

1. 启动 GCK， 打开您在前面指南中保存的文件 **construct#5**，如果您没有这一文件， 您可以直接调取 tutorials 文件夹中的 **construct#5**。
2. 打开 tutorials 文件夹中的 **hsp70** 文件。 这一文件含有一个基因， 该基因将被用来作为我们待克隆片段的来源。请留意在这个文件上那段标为阅读框的部分。 我们将克隆一个含有这一部分的片段到 **construct#5** 的 BamHI 位点。
3. 首先要做的是标记 **hsp70** 上的 BamHI 位点。 确认 **hsp70** 窗口为当前视窗， 然后执行 **Construct** ► **Features** ► **Mark Sites**, [或者按下 Ó-M (Mac)/ctrl-M (Windows)]。 选取左边列表的 BamHI， 按下 **Add** →按钮， 将这一内切酶位点加入到右边的标记酶列表中（见图 2.8， 第 2—14 页）。选择 **displaz new sites as enyznme names**. 按下 **OK** 键以标记这些位点， 然后您就看到图 2.31。

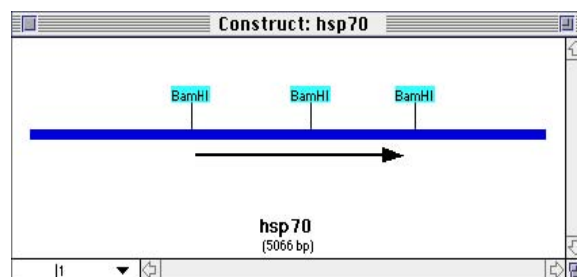


图 2.31: hsp70 构建

注释 d: 这一序列来自于果蝇的 hsp70 基因。原始序列被改造过以用于这一指南。不要将这一序列当作真正的 hsp70 使用。

4. 为了将我们感兴趣的片段切下，我们必须解决中间那个 BamHI 造成的麻烦。在实验室，您也许可以做部分酶切，然后从胶上回收那段含整个编码区的片段。因而您可以在 GCK 上通过拖拉鼠标覆盖第一至第三个 BamHI 位点以选取这一整个部分。这一部分能被拷贝并粘贴到质粒中去。另一个消除中间 BamHI 的替代办法是通过沉默突变。这种突变可以在不影响 DNA 编码的情况下除去那个 BamHI 位点。这是我们将在这一指南中学习的方法。
5. 要进行沉默空变，首先您必须全面了解所涉及的阅读框。为此，通过双击选取 hsp70 构建上的那段部分，执行 **Construct** ▶ **Features** ▶ **Remove Sites by Silent Mutation**。然后您将看到一个熟悉的对话框，如图 2.32 所示。

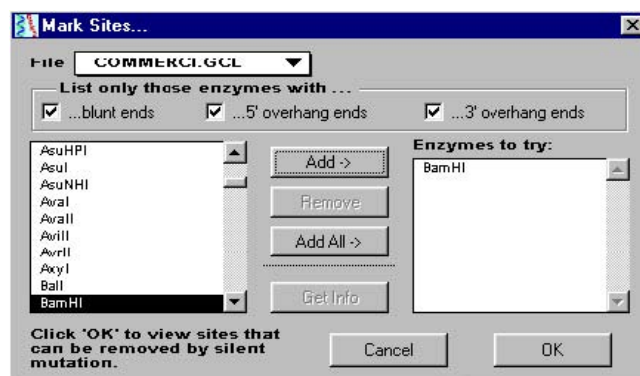


图 2.32: 位点标记对话框

选择图中左列的 BamHI 位点，按下 **Add >** 键，将它加至右列的 **Enzymes to try**。按下 **OK**，您将看到图 2.33。

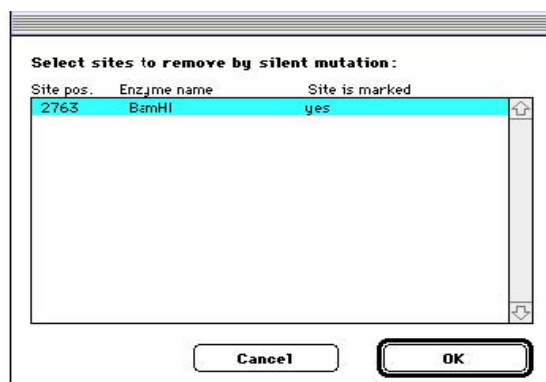


图 2.33: 选择被消除位点以制造沉默突变

点击列表中的 BamHI 以选择它(如果列表中有一个以上的 BamHI 位点, 任选其一或选更多), 按下 **OK**。

6. 这将迎来另一个对话框, 这一对话框包含一系列不同的可用于消除 BamHI 位点却又不改变 DNA 编码信息的可能方案。如图 2.34 所示。

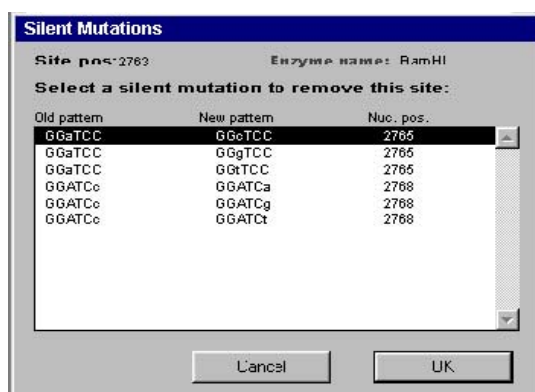


图 2.34: 沉默突变对话框

原始序列显示在第一栏, 可能的修改序列显示在第二栏。被改变的核苷酸以小字体显示。选择列表中的第一条(如图所示), 然后按下 **OK** 键。

7. 您现在应该会注意到 **hsp70** 构建上的那个中间的 BamHI 位点已经消失了。实际的核苷酸序列已作了如图 2.34 小字体部分所示的改变。执行 **File** ► **Save As**, 命名当前文件为 **hsp70(Bam-)**, 保存于您自己的文件夹中(注意不要用该文件取代提供的原始文件, 因为他人可能以后需要这些原始文件)。您所保存的文件将在指南 12: “图解说明”, 第 2—63 页中用到。
8. 现在您就要开始克隆了。点击 DNA 片段左侧的 BamHI 位点, 将鼠标指针拖到足以覆盖两个 BamHI 位点间的整个 DNA 部分。整个片段将被突出显示。

注释 e: 您可能注意到点击选择时, 鼠标会“停顿”在先前的 BamHI 位点处, 这是因为改变后的核苷酸有不同的颜色, 代表了序列的边界。

9. 执行 **Edit ▸ Copy** [or press ⌘-C (Mac)/ ctrl-C (Windows)], 拷贝这一片段到剪贴板上。
通过选择窗口菜单或点击 **construct#5** 使之成为当前窗口。
10. 您现在需要告诉 **GCK** 您把剪贴板上的 BamHI 片断粘贴到哪个位置。为此, 您必须首先把插入点定位到 **construct#** 中的 BamHI 位点。最简便的办法是点击 BamHI 的位点标记文本。
现在就开始做。
11. 您终于准备要着手实际的克隆步骤了。执行 **Edit ▸ Paste**. 您将看到一个警告窗口, 告诉您正在进行的剪辑操作将破坏当前构建中的一个区域(跨越多克隆位点区的 β -半乳糖苷酶)。按下对话框中的 **OK**, 您将看到图 2. 35.

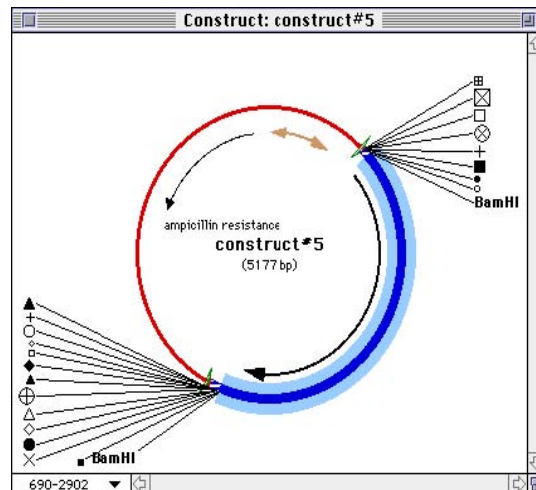


图 2. 35: 沉默突变构建的剪辑

注释 f: 这一提示是警告您可能没有意识到您所作的剪辑操作。如果您把序列粘贴入这个构建的一个特征区, 您所作的操作将损害这一特征。因此, 有必要去除残留的有关特征描述, 以防止任何混乱或不明确的注释继续存在。

12. 可以留意到的是, 图中来自 hsp70 的编码区保持完整, 显示于窗口中部的构建大小已作调整, 以反映片段插入后的大小。因为片段插入至 BamHI 位点中, 因而可看到两端的 BamHI 位点标记。
13. 执行 **File ▸ Save As**, 命名新文件为 **construct#6**, 保存于您自己的文件夹中(注意不要用该文件取代提供的原始文件, 因为其他人以后可能要使用这些原始文件)。
14. 确保蓝色的插入 DNA 片段仍然被选中, 然后执行 **Edit ▸ Special Paste**. 由于 hsp70 片段仍然被保留在剪贴板上(内存中), 粘贴操作将造成剪贴板上的构建取代当前选择区。这就好比在 word 操作中用剪贴板上的文字去取代选择区的内容。操作完成后, 您将看到图 2. 36.

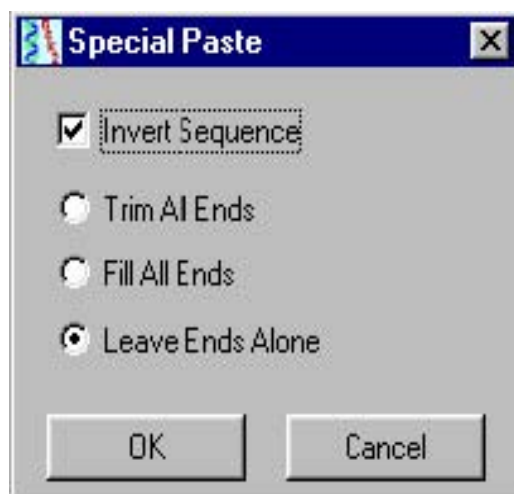


图 2.36: 特殊粘贴

在图 2.36 中，选择“**Invert Sequence**”和“**Leave Ends Alone**”按钮，按下 **OK** 键。当前被选中的 hsp70 片段就将被逆转的相同 DNA 代替，也就是翻了个身。

15. 执行 **File** ▶ **Save As**，以 **construct#7** 命名该文件，保存它到您自己的文件夹中（注意不要用该文件取代提供的原始文件，因为他人可能仍需要这些原始文件）。由于 hsp70 片段会以均等机会以两种方向插入 BamHI 位点，所以这两种构建（**construct#6** 和 **construct#7**）代表着实际实验中的两种可能的结果。您就可以用这些构建及 **GCK** 去预测凝胶图谱，这一点将在指南 11，“凝胶电泳和方向分析”，第 2—58 页，有更详细的描述。这一节给我们演示了 **GCK** 是如何轻松地替换 DNA 和生成两种方向的插入序列构建。
16. 本指南结束前，我们还可以学习怎样在 **GCK** 中粘贴 BamHI 为末端的 DNA 片段到非 BamHI 位点处。既然剪贴板上还保留有这样的 DNA 片段，您所需要做的仅是定义构建中那个待粘贴的插入位点。为此，点击任何构建中的位点标记符号以选取该位点。
17. 当 DNA 上的插入光标点定位于被选中的插入位点时，执行 **Edit** ▶ **Paste** [快捷键：⌘-V (Mac)/ctrl-V (Windows)]。这将招来一个连接对话框，如图 2.37 所示。

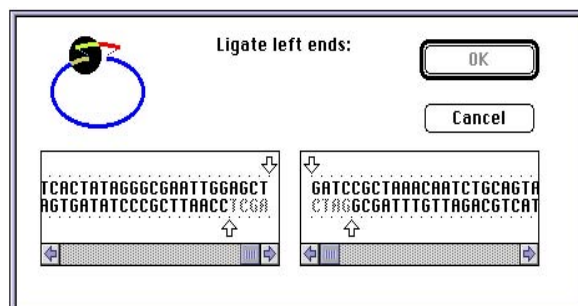


图 2.37: 连接对话框

由于插入片段的两端（剪贴板中 DNA 的 BamHI 端点）与构建的被选位点不相匹配，GCK 将不允许您将这两种片段融合一起（连接）。对话框中的序列记述地是图中左上角的连接点的情况。在本例中，左边的序列是载体选择性酶切后的结果；而右边的序列是剪贴板上 BamHI 酶切后的 DNA 片段末端序列。上下箭头指示着实际酶切部位，展示了酶切后 DNA 片段的粘性末端。请注意 OK 按钮失去功能，因为此时这种连接操作是生物学上不可行的。您可以通过拖动鼠标移动箭头来调整连接末端。一旦相容的末端被找到，OK 按钮就又被激活，同时您将不得不处理另一个存在于插入片段和目标 DNA 间的连接匹配问题。执行 **Edit ▸ Special Paste** 是处理这一问题的快捷途径，这将在指南“特殊粘贴”中详细讨论。目前请按下 **Cancel**。

18. 关闭 **construct#6** 和 **hsp70 (Bam-)**，但不要保存任何所作改变。现在您可以继续学习下一指南或退出这一程序。

指南 9: 时间记录法—追踪克隆过程

GCK 最有用的功能之一被称之为时间记录法。这一功能使得您可以在单个文件中保存同一序列的各种面貌，同时您也可以追踪整个构建过程。认识到在一个构建中尽管富于变化，您面对的仍只是同一序列这一点很重要。时间记录法将带给您极大的灵活性，因为它可以以多种方式显示同一序列，从而得以展现该序列的一些关键特征。

1. 启动 GCK，打开 **tutorial files** 文件夹中的 **pBR322** 文件。您将看到图 2.38。这是一个只标有少量内切限制性内切酶位点的标准构建图。请留意那个标有名字及位置的 **Sall** 位点。这种标记可以由执行菜单 **Format ▸ Site Markers** 来设定。窗口右下角有一刻度标记显示图谱的比例尺。比例尺可由命令 **Construct ▸ Display ▸ Show/Hide Sites** 来显现或隐藏。

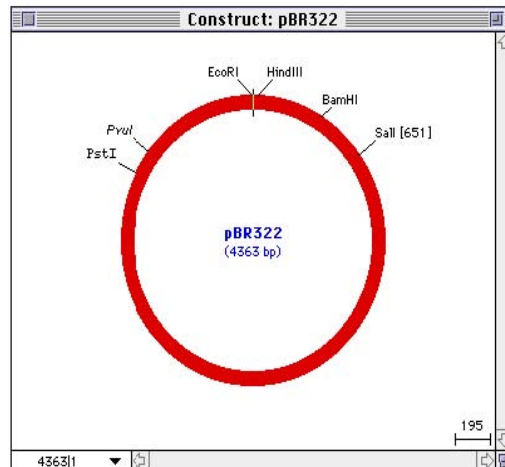


图2.38: 图形视图下的pBR322

2. 执行 **Construct** ▶ **Display** ▶ **Display Sequence** 后将显示图 2.39,第2-46 页。您将会看到, 时间记录法既能显现构建图, 也保存着构建的序列。 这个序列图是比较简单的那种, 10 个序列一组, 标有少量酶切位点。

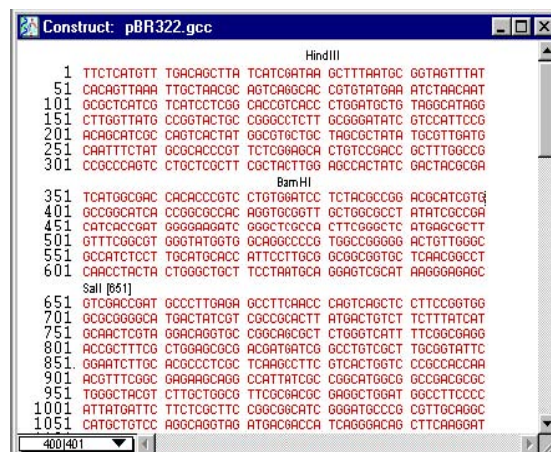


图2.39: 序列视图下的pBR322

3. 执行**Construct** ▶ **Display** ▶ **Display Graphics**后图示就恢复到图2.38。时间记录法的各种功能可由执行**Format** ▶ **Chronography** 子菜单而获得。构建的每一种不同的显示图被归为不同的代。注意**Chronography**菜单底部是三种不同命名的代, 即**restrictions sites, regions of interest**, 和**DNA sources**。这代表了出现在构建中的三种不同的代。当前被显示的代在菜单中被标记。执行**Format** ▶ **Chronography** ▶ **Show Previous Generation**。将出现图 2.40, 第2—46页, 这是既往的一代, 被命名为generation#1(最近的一代被称作generation#0)。在这一代中, 编码区域和复制的起始位点一起显示。

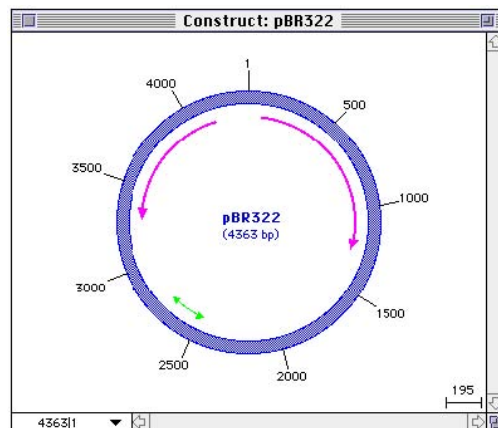


图2.40: pBR322 Generation#1

4. 执行Construct ▸ Display ▸ Display Sequence。您将看到图2.41。注意序列现在以三个一组的方式排列，四环素抗性基因翻译的氨基酸也被显示。这并非一个不同的序列，仅仅是显示方式不同而已。

图2.41: pBR322 Generation#1的序列

5. 执行Construct ▸ Display ▸ Display Graphics，接着再次执行Format ▸ Chronography ▸ Show Previous Generation，您将看到该构建最早的一代。如图2.42，第2—48页所示。这一代显示了三个用来构建初始pBR322质粒的不同片断。
6. 在蓝色片断大约12点到5点方向双击。现在执行Construct ▸ Get Info... [或按Ó-I (Mac)/ctrl-I (Windows)]。您将看到图2.43，第2—48页。这里提供了构建中每个DNA片断的来源。如果认真地记录每个DNA片断的来源，有关构建整个过程的记录将很容易维护。所有输入的注释也能用GCK的文件搜索功能查到（参见指南10：“查找注释和文件搜索”，第2—52页）。按下Cancel按钮回到图形视窗。执行Edit ▸ Select All [or pressing Ó-A

(Mac)/ctrl-A (Windows)]以选定整个构建。

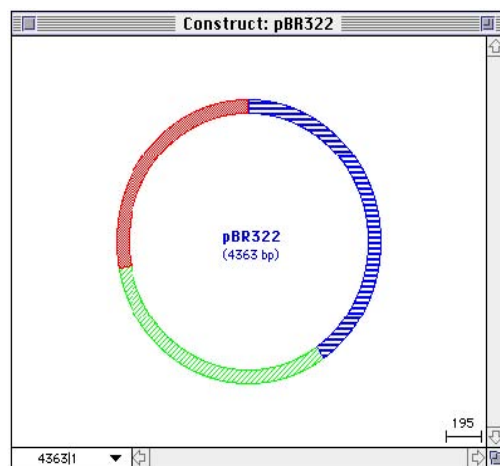


图2.42: pBR322 Generation#2

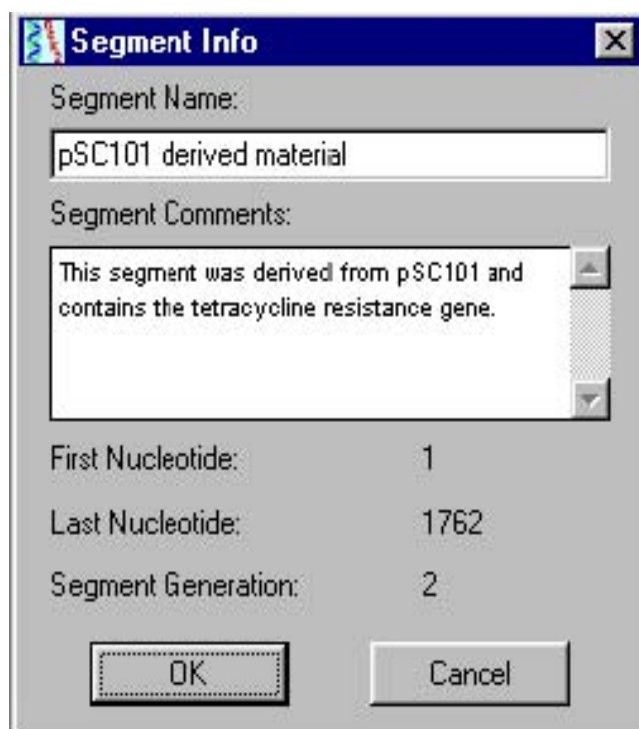


图2.43: 片段信息

7. 执行**Format** ▶ **Chronography** ▶ **Restriction Sites**, 回到构建最近的一代。记住, 您在本节指南中看到的实际上只是同一序列的不同查看形式。

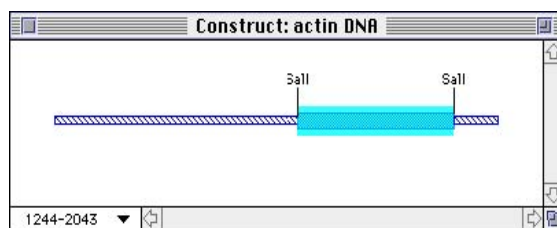


图2.44: Actin DNA的Sall片断

8. 执行**File** ▸ **Open**，打开tutorial files文件夹中名为actin DNA的文件。在Sall片断上双击以选择它（图2.44），执行**Edit** ▸ **Copy**。我们将把这个片断克隆到pBR322上。
9. 在pBR322视窗上点击一次，使其成为激活窗口。接着把插入点放置到DNA上的Sall位点。您可以通过在Sall位点上点击或点击Sall标签。一旦插入点正确定位，执行**Edit** ▸ **Paste**以粘贴actin DNA Sall片断到pBR322的Sall位点。您将会得到一个关于您将删除一个区域的警告（四环素抗性基因在那里，尽管您看不到——点击OK），接着您将看到图2.45，第2—49页。注意Sall标记的位置已经更新，位于视窗中心的构建的尺寸也已经改变。

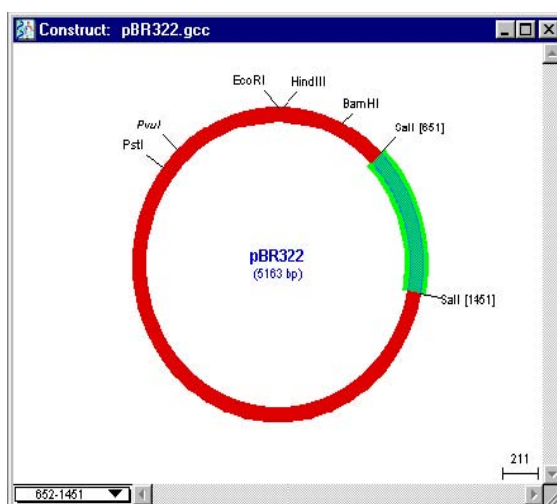


图2.45: pBR322中的Actin片断

10. 执行**Edit** ▸ **Select All**以选定整个构建。接着执行**Format** ▸ **Chronography** ▸ **Show Previous Generation**。将出现图2.46。您现在看到的是当actin 片断被复制时，actin DNA的前一代也被复制。当一个DNA片断被复制时，该片断的所有代都被复制。这样提供了一条方便的途径以保持对DNA不同片断来源的追踪。如果每个片断的注解都被输入，通过观察不同的代将总是很容易勾画出整个构建的历史。

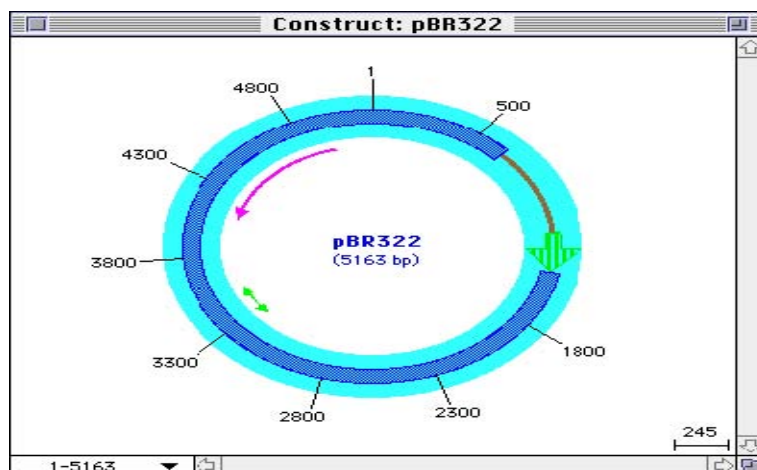


图2.46: pBR322中的Actin片断, Generation#1

11. 再次执行**Format ▶ Chronography ▶ Show Previous Generation**, 将出现图2.47, 第2—51页。注意actin 片断现在仅仅是一条灰白色的线, 这是由于该片断没有那么远的代。在actin 片断起始处的DNA上点击一次以去除对整个构建的选择。
12. 执行**Construct ▶ Display ▶ Display Sequence**以在generation#2中查看整个构建的序列形式。注意。灰色也被用来显示actin序列本身。您能使用不同的代来保留不同的序列外观, 也可以用来保留不同的图形外观。

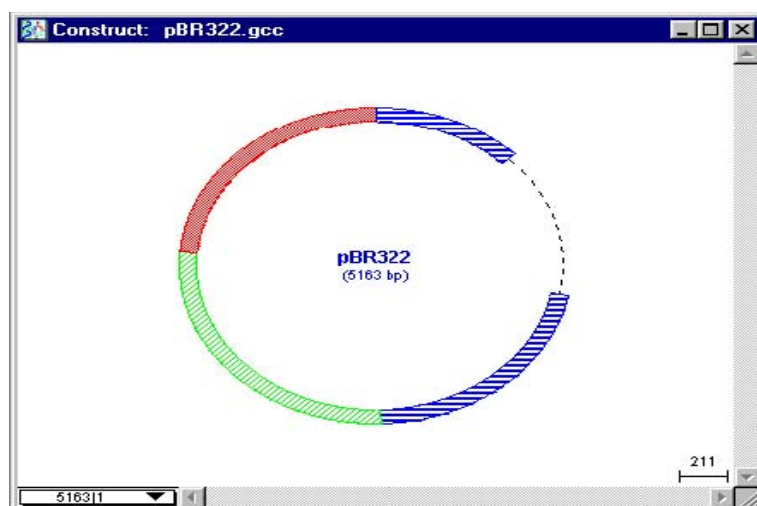


图2.47: pBR322中的Actin片断, Generation#1

13. 您也许发现在某些复杂的构建中, 可能会积累很多代。当一次只能移动一代时, 在不同的代之间切换有时很困难。在GCK中, 利用**Format ▶ Chronography ▶**子菜单, 您可以跳到任何一代。在这个菜单的底部有一个所有代的清单。选择您感兴趣的代即可进入其中。
14. 来探究一下代的不同格式。现在变换回图形显示 (**Construct ▶ Display ▶ Display**

Graphics)。尝试选取一个片段并改变其代。注意如何才能同时显示不同片断的不同代。这对用您想要的方式显示序列和图形提供了很大的灵活性

本节指南结束。由于您不再需要刚刚制作的那个构建，所以请关闭所有打开的文件，并不要保存任何变动。

指南 10：查找注释和文件搜寻

在前面的指南中您已经看到如何输入有关位点标记、DNA片断、时间记录法的代和其他感兴趣区域的注释。如果您在一个构建中有许多的代，要记住您在构建的哪个部位存有信息或者信息存在哪个文件，有时可能会比较困难。而且，如果您把某些信息如某一特定构建的存储地点保存下来，并作为和每个构建相关的一般信息的一部分，那么能够快速搜寻您所有的文件以获得一个清单就会很有用。例如，存在211房间冰箱中的所有构建的清单。这一任务可以用**GCK**的文件搜索（File Searching）功能来完成。

1. 启动**GCK**并打开tutorial files文件夹中的pBR322文件。您可能还记得这个载体中有一个原始的复制品，但是在您的视野中看不到，也记不起它是和哪一代相关。通过采用Search Comments的功能，您可以找到具有这一特点的位点。
2. 执行Construct ► Search Comments...，将显示一个对话框。在Key Text区键入“origin”，点击Search。将会显示图2.48。这次搜寻将用关键词“origin”在所有与时间记录、片断、区域、位点标记或部分一般信息有关的注释和特征名中查找。通过利用对话框左边的复选框，您可以把搜索限定到构建的某一特定属性中。

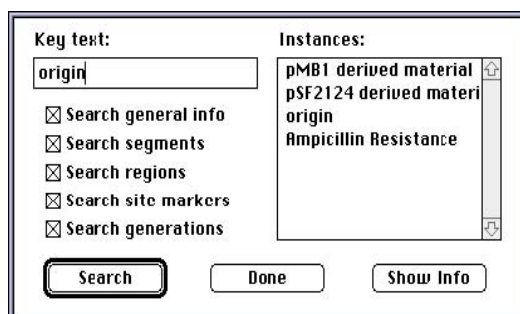


图2.48：搜索注释

3. 图2.48右侧列表包含了所有在名字或评注中含有单词“origin”的东西。点击列表右边的单词“origin”，并点击**Show Info**以查看有关匹配的上下文。如图2.49所示。这是标准的“get info”

对话框。注意单词“origin”在**Region Comments**区高亮显示，这样您就能迅速发现它在哪里。从这个对话框中可知，复制区是从2484到2723，并能被作为一个区域在generation#1中找到（如对话框左下角所示）。

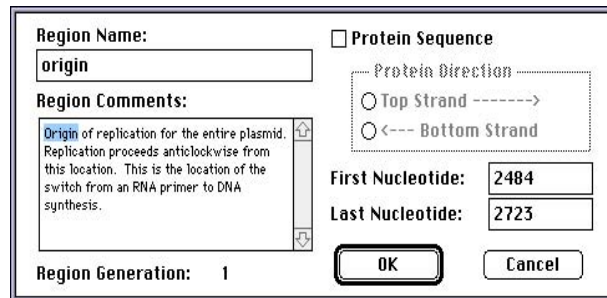


图2.49：查找Origin

4. 仅在单个的构建中查看时，搜索评注非常有用。但是如果在某一磁盘或某个特定文件夹甚至公共文件服务器上某一文件夹中的所有文件中查询，又该怎么办。这正是文件搜索功能的出发点。文件搜索功能让您能建立一个更精确的搜索标准并找到在您磁盘上的所需文件。执行**File** ➤ **Search Files...**，将出现图2.50，第2-54。在该对话框顶部的那一行中输入您的搜索标准。现在，我们将做一个简单的搜索。只需在最上一行键入“room 211”。当前的目标是找出所有在评注中指明其储存在211房间的文件。如果您认真地为您的每个文件输入评注，文件搜索能作为您的构建数据库的搜索工具发挥作用。
5. 注意搜索框将显示您正在搜索的文字。在对话框的**Find Match In**部分，您可以确定是搜索DNA序列还是评注（和标题）。此处选择**Any Comments**圆形按钮，接着您需要指定**Search Directory**（搜索目录）。这是您希望搜寻到满足搜寻条件的匹配结果所在的文件夹。如果您选择还含有其他子文件夹的文件夹，并且您还要搜索这些子文件夹中的内容，那就必须选择对话框底部的**Check Subdirectories**复选框。

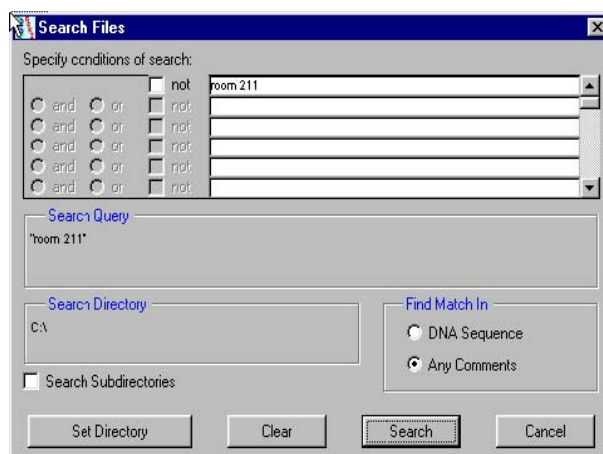


图2.50：搜索文件（#1）

6. 点击**Set Directory** button按钮以指定您希望搜寻的目录（文件夹），如图2.51所示。对话框底部的两个按钮使您能够指定搜寻哪个目录。在本例中，点击**Current Directory**按钮，将会选定名为**GCK**的目录（文件夹）。这是由于该目录内容正在视窗中列出，且目录名显示在列表上面的下拉菜单框中。点击**Selected Directory**按钮将会选择名为**GCK vectors**的目录，这正是列表清单中被选中的目录。在本指南中，点击**Current Directory**按钮以指定您的搜寻范围是整个**GCK**文件夹。

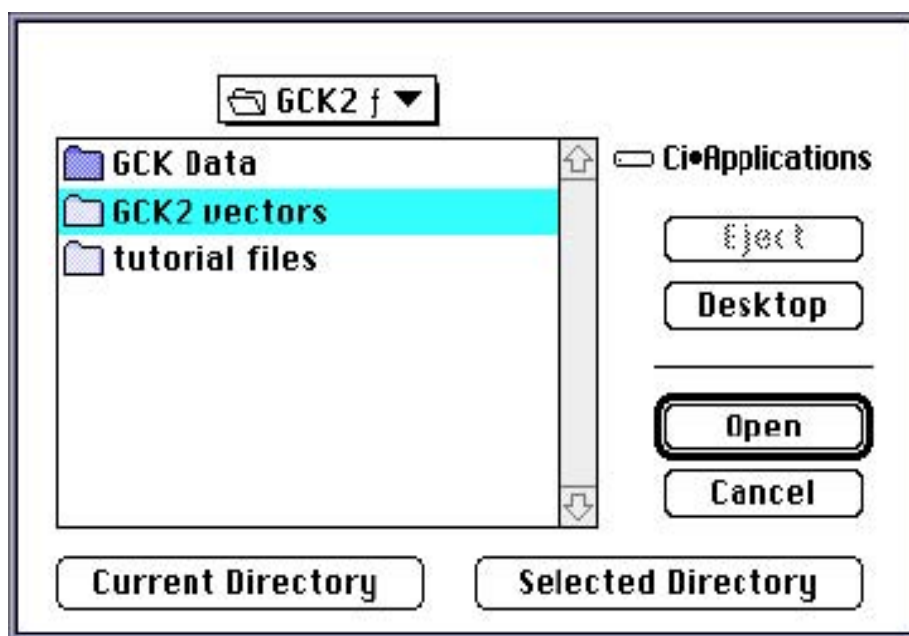


图2.51：设置目录

7. 现在您已经做好搜索的准备。按下搜索按钮。您会看见一个进度指示器提示您进展情况，接着您会看见如图2.52所示。该视窗显示搜索策略并列出所有匹配搜索条件的文件。可以

通过在列表中的某文件上点击以打开该文件。您也可以按**Save List**按钮以创建包含所有和您的查询匹配的文件名列表的文本文件。这对创建一个清单有用，例如储存在211房间的所有构建的清单。

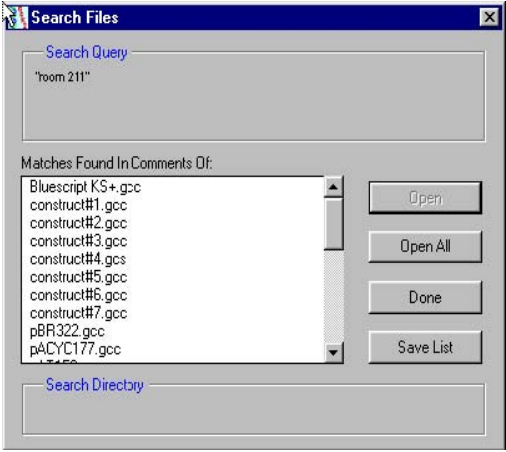


图2.52: 搜索结果（#1）

8. 让我们来做另一次搜寻。再次执行**File** ➤ **Search Files...**，如图2.53，第2-56页所示填写查询条件。在本例中，搜寻更加复杂。我们正在查找包含ampicillin(氨苄青霉素)和galactosidase（半乳糖苷酶），但不含tetracycline（四环素）的文件。您可以尝试and, or, and not按钮（有时又被称为布尔操作符）的不同联合，查看搜索框以观察它们是如何工作的。如图所示设置查询，接着按下**Search**按钮。

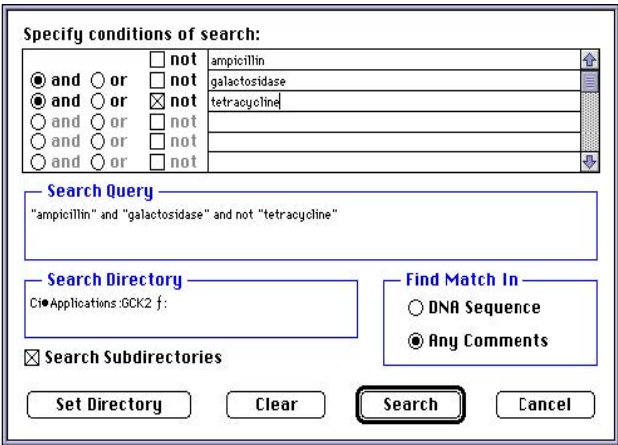


图2.53: 搜索文件（#2）

9. 您将看到和图2.52，第2-55页类似的另一个列表。但是如果某些人不输入应有的评注如何？如果文件只是输入序列不加注释如何（即没有评注）。如果注释事实上不完整，搜索结果就不是那么有意义（特别是您在搜索不含有某些文本如tetracycline的文件时）。为解决这一问

题，GCK允许您搜索时利用序列信息代替评注。再次执行**File** ▸ **Search Files...**。现在选择圆形的标有DNA Sequence的按钮。我们要查询同时含有ampicillin和β-galactosidase基因的构建。您可以用一条15个核苷酸序列代表每个基因。就ampicillin抗性(β-lactamase基因)而言，键入CAACATTTCGGTGTC(您可以利用小写字母工具)；就β-galactosidase而言，键入GCGGATAACAATTTC。屏幕显示如图2.54，第2-56所示。一切就绪后按下Search按钮。

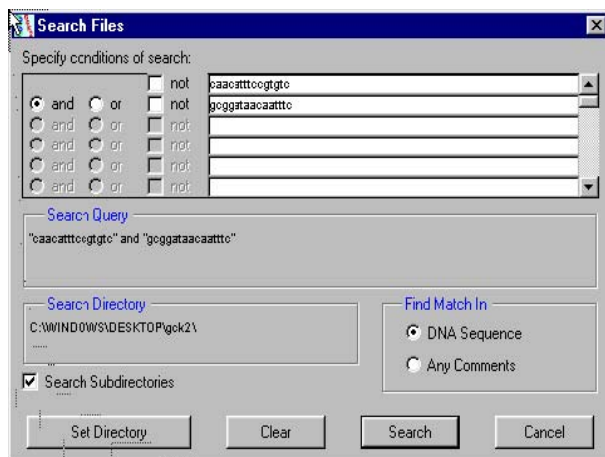


图2.54: 搜索结果 (#2)

10. 所得的搜索结果将会非常准确，因为每个文件都有一个DNA序列。这样，如果一个文件同时含有两个待查询序列，该文件将显示在列表中。您的搜索结果和图2.55相似。在本例中，由于pGFP被选择，因此pGFP的存放路径被显示在视窗的**search directory**区。
11. 本节指南结束。您此时应该关闭所有视窗(不要把任何改动保存到pBR322中)。

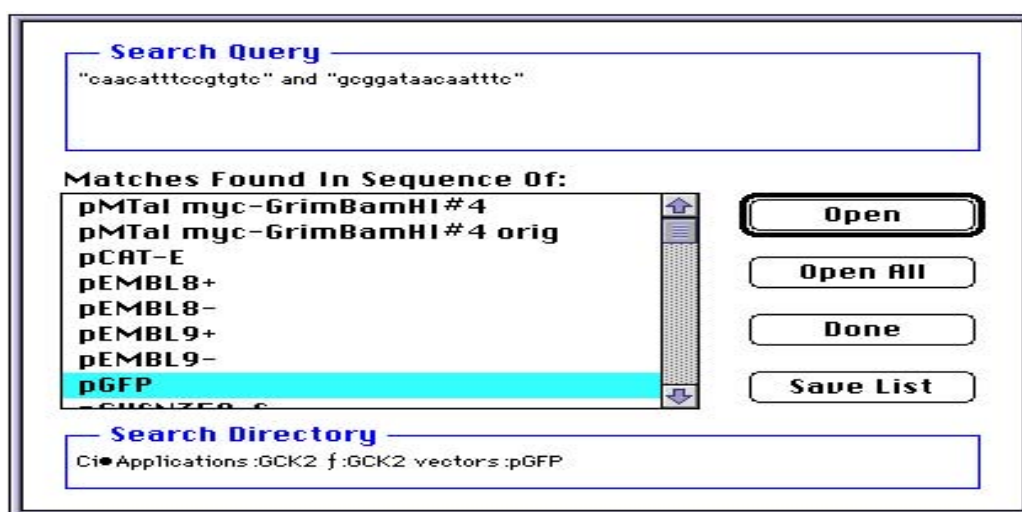




图2.55: 搜索结果 (#3)

文件搜寻是本软件一种很强大的功能。您也许选择把您单位所有的构建储存到一个文件服务器上。如果用户尽责地输入注释，那么任何人都能搜寻到单位中所有文件的注释，并且通过查看注释了解到应该联系谁以获得所需构建。

指南 11：跑胶和方向分析

在一次克隆工作中，经常需要分析克隆的每一步是否成功。所采用的典型手段是凝胶电泳。本节指南将指导您如何在**GCK**中跑胶。

1. 启动**GCK**，打开您在指南8：“克隆一条DNA片断和沉默突变”（见第2页）中创建的文件construct#6和construct#7。如果您没有这些文件，可使用安装在您的tutorial files文件夹中的同名文件。记住这些文件代表了一个以两种不同方向分别克隆入载体的hsp70片断。在本节指南中，我们将通过电泳区分这两种不同方向的克隆。
2. 点击construct#6视窗或从**Window**菜单中选择它，使其成为当前视窗。只能在DNA上点击一次以确保您没有选择任何DNA片断。您将看见一个闪烁的插入点。执行**Construct**  **Features**  **Mark Sites** [**Ó-M (Mac)**/**ctrl-M (Windows)**]。在左边的列表中找到BfaI，双击它以使其移动到右侧的列表中。继续找到BsiHKAI并将它移到右侧的列表中。此时对话框如图2.56所示。搜索策略建立后按OK键。

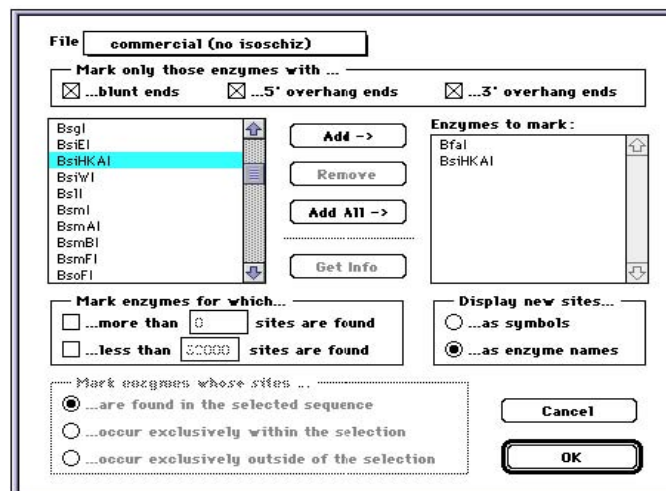


图 2.56:: 标记位点

3. 您将看见construct#6上有许多标记位点。在视窗背景的某个地方点击以去除对目前标记位点

的选择。双击一个BfaI位点。双击一个位点名字将选择所有同名的其他位点。您的视窗将会如图 2.57所示。

4. 执行**Edit** ➤ **Copy**以复制已选位点到剪贴板中。注意您不是在复制一个DNA序列，而是一套位点标记。
5. 执行**File** ➤ **New...**，会出现图2.58.。点击Gel圆形按钮，指明您将创建一个新的Gel window。接着敲入orientation analysis作为新的文件名。按下OK按钮以创建一个新的Gel视窗。如图 2.59所示。左边的是分子量大小标准。视窗顶部闪烁的三角形显示插入点，这是下一条泳道将要创建的地方。
6. 执行**Edit** ➤ **Paste**以粘贴位点标记到泳道1。如图2.60A (61页)所示。该图显示了凝胶上限制性酶切片段预计迁移情况。在凝胶视窗靠近右上角的地方点击鼠标，刚好在胶条标签上方。这样将把闪烁的三角形插入点放置到该位置。

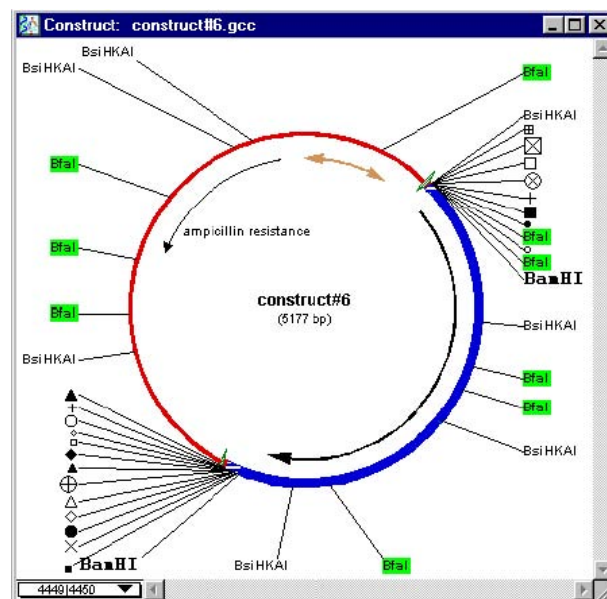


图 2.57: construct#6 中标记的Bfa I 位点

注释 g: 实际上，在剪贴板中不是单纯的位点标记，而是附有标记位点位置的构建DNA。这样才可以被转化为 Gel window中的片断。

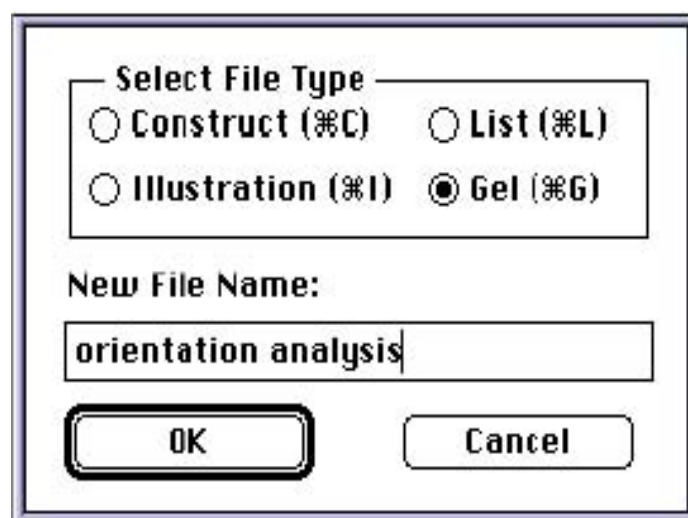


图2.58: 创建一个新的凝胶视窗

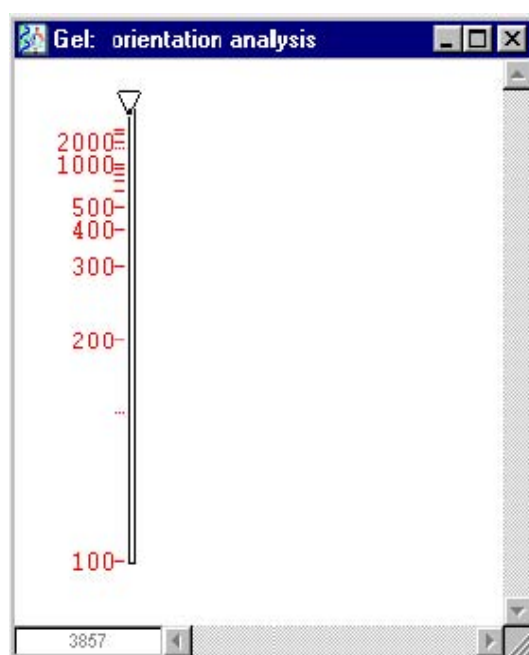


图2.59: 空的凝胶视窗

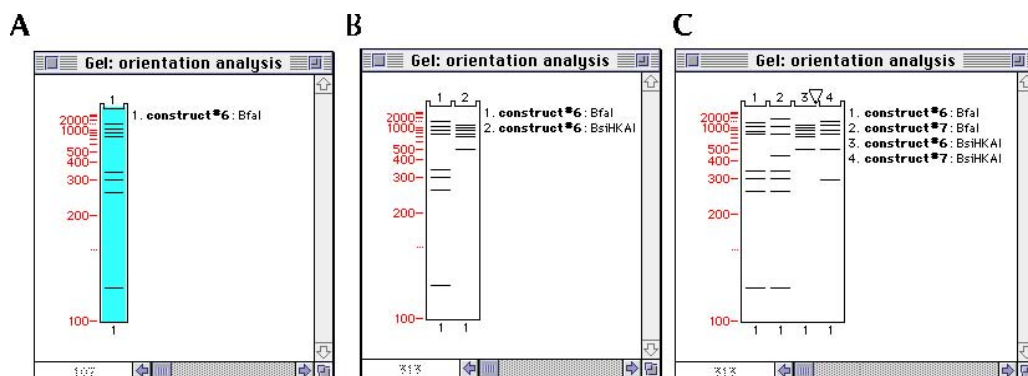


Figure 2.60: Orientation analysis gels

图2.60:凝胶方向分析

7. 现在把construct#6视窗再次调到前方。在BsiHKA I位点上双击以选择所有该位点。执行**Edit** **Copy**以复制所有已选的位点到剪贴板中。
8. 回到凝胶视窗，确认三角形在凝胶的右方，执行**Edit** **Paste**以粘贴位点标记到泳道2。如图2.60B所示。这就是construct#6酶切消化后的图形，其中hsp70以顺时针方向插入。
9. 在construct#7中，hsp70以逆时针方向插入，为了比较construct#6和construct#7酶切图的差异，只需对construct#7重复上述类似的系列步骤。
10. 通过标记位点 (**Construct** **Features** **Mark Sites**)，用construct#7 DNA重复Bfa I和BsiHKA I位点酶切，您将再次看见类似图2.56，第2-58页所示)
11. 在construct#7视窗中，双击Bfa I位点上以选择所有该位点，选择**Edit** **Copy**以复制所有的已选位点到剪贴板。
12. 转到orientation analysis凝胶视窗（如果您找不到，可利用Window菜单），在凝胶上部泳道1和泳道2之间点击鼠标，此举将把闪烁的三角形插入点放置到该位置。执行**Edit** **Paste**以粘贴位点标记到新的泳道2，注意construct#6/BsiHKA I消化带现在是泳道3
13. 最后，回到construct#7视窗，选择所有BsiHKA I位点，把它们复制并粘贴到凝胶的右边（这将成为泳道4）。如图2.60C所示。
14. 如果您想添加一条标准泳道，您可在tutorial files文件夹中打开一个名为standards gel的文件，其中含有一些标准的酶切标记条带。点击您感兴趣的泳道以选择它（将会高亮显示）。复制并粘贴到您的orientation analysis胶中。如果您希望看看最后是什么样，可以打开tutorial files文件夹中的名为orientation analysis的文件i。
15. 如果您在做实际的克隆实验并在跑胶，通过将实际的凝胶和所预测的跑胶结果比较，您就能区分插入的方向是否正确。打开Sample Files文件夹中的名为real gel analysis的描述文件，可以看到一个真实的例子。您将在指南12：“制作描述”，第 2-63.了解到关于描述的知识。

16. 本节冗长的指南结束。谢谢您能坚持看完。关闭所有打开的文件，但不要保存任何改动。

.注释h: 记住该文件是一个Gel文件，因此为了能选择该文件以打开它，您需要在打开的对话框中按Gel按钮，参见图2.1, 第2-8.页

.注释i: 记住该文件是一个Illustration文件，因此为了能选择该文件以打开它，您需要在打开的对话框中按Illustration按钮，参见图2.1, 第2-8.页

指南 12: 制作图解

在前面的指南中您每次只操作了一种文件类型——一个结构视窗或一个凝胶窗。但是，当您在设计一个克隆策略时，经常必须在同一文档中包含许多不同的结构和凝胶以及相关描述文字。这正是图解视窗的功能。完整版使用手册提供有关这一功能更详尽的细节。本节指南立足于给您一个关于图解视窗能做什么用的总体印象。

1. 启动**GCK**，打开位于tutorial files文件夹的文件construct#5，这是我们在克隆中将用到的载体。
2. 在构建上点击，执行**Edit ▸ Select All**，接着执行**Edit ▸ Copy**，把整个构建复制到剪贴板。
3. 执行**File ▸ New...**并点击**Illustration**圆形按钮以选择创建一个新的**Illustration**视窗（参见图2.58,第2-60页中的对话框）。命名新的视窗为“cloning project”，按下OK按钮。一个新的图解将被创建。
4. 在新的视窗中您将看见一个闪烁的指针，代表即将粘贴到视窗中物件的左上角定位点。在视窗中距视窗上沿和左沿各约3cm的位置点击鼠标，并执行**Edit ▸ Paste**，这将把construct#5粘贴到图解视窗中。您此时可能需要使视窗大一些以便能看清正在运行的事件。
5. 注意已粘贴的构建有八个手柄（小的方形实心框）围绕着它的边缘，提示您可以在视窗中拖动并改变其尺寸。另外注意，由于图解视窗目前是激活窗口，现在菜单条上多了**Illustration**菜单。执行**Illustration ▸ Set Construct Scale...**，并输入300到对话框中，如图2.61，第2—64页所示。按下OK按钮。图解窗设置尺度选项使您能确保任何特定的图解中，所有的构建都以您需要的精确尺度来绘制。这一操作会使您的构建看起来有点丑。标题对构建来说太大，中间紫红色区箭头和线的厚度也会显得太大。这都需要修改。

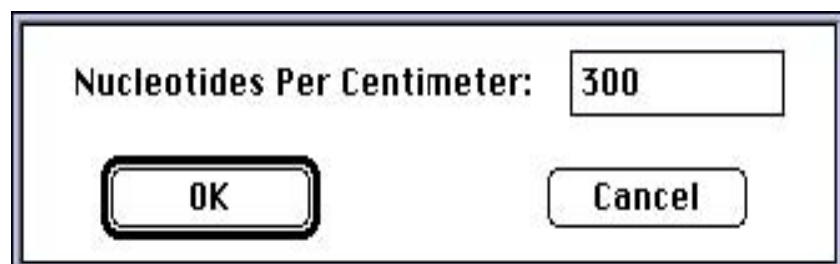


图2.61：设置构建尺度

6. 图解窗最强大的功能之一是所操作的对象可以在它们自己的视窗中那样编辑。只需在construct#5上双击即可进入编辑状态。这称为是对象成为目标，或靶向对象。现在靶向construct#5。注意现在菜单栏上除了**Illustration**菜单外，还有一个**Construct**菜单。在构建标题上点击，把它拖动到构建园环的底部。利用**Format** ▾ **Lines** ▾ 调整紫红色区线的宽度和箭头的尺寸。如果显示了区域名字，可用**Format** ▾ **Regions** ▾ **Hide Region Names**以隐藏该名字。尽量使结果看起来如图2.62，第2-65页所示。
7. 现在给图解添加一个标题。点击位于图解视窗左下角的“T”按钮以激活文本工具（Text tool）。在图解视窗左上角点击鼠标，将出现一个闪烁的插入点。在键入任何文字之前，需要用**Format**菜单设置字体和字体的尺寸。选择Times作为字体，设置字体大小为36。键入“An Important Cloning Project”。现在不要担心文本的外观，我们将在下面的步骤中修改它。
8. 您看到的是覆盖在构建上的大字体文本。如果要修改，您需要调整刚刚创建文本对象的尺寸。您现在正在文本对象中编辑文本（当前对象），但是您需要能把文本对象作为一个整体对象来编辑。这和编辑构建并要改变构建的尺寸的情况相似（也就是您刚刚操作过的）。点击图解视窗的空白区，去除对文本对象的选择。接着在文本对象上单击一次选择文本对象整体。该文本对象周围将会出现八个手柄。用文本对象右上边的手柄向视窗的右侧边界方向拖动其右边界。结果将类似图2.63。

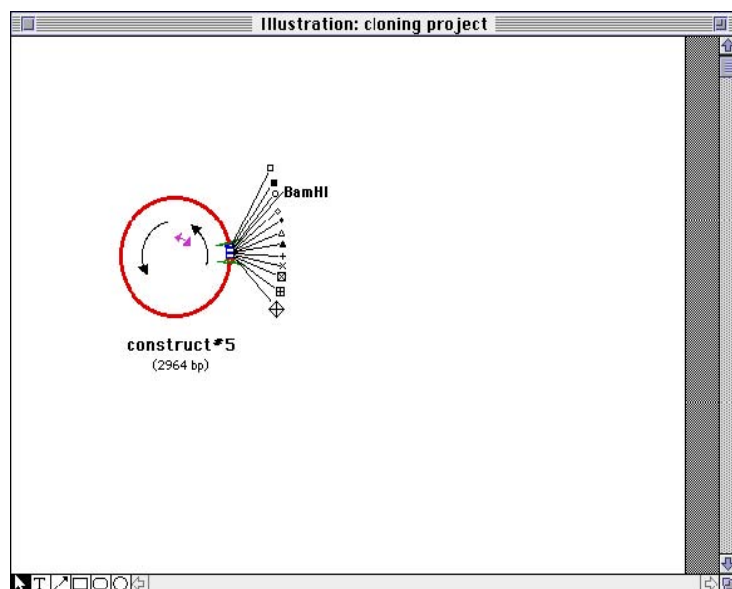


图2.62：图解 # 1

9. 打开tutorial files文件夹中的hsp70文件。如您在指南2：“标记位点”中所作的那样，标记所有BamHI位点（这里将会有三个位点）。
10. 在hsp70 DNA上点击一次，接着按下Ó-A/ctrl-A（或选择**Edit** ▶ **Select All**）以选择整个构建。通过按下Ó-C/ctrl-C（或选择**Edit** ▶ **Copy**）复制此构建到剪贴板。
11. 在图解视窗上点击或利用视窗菜单，使图解视窗出现在最前面。在construct#5的右边点击鼠标并粘贴(**Edit** ▶ **Paste**)。hsp70构建太大以致不能在一个页面中放下。因此执行**Illustration** ▶ **Set Construct Scale...**，接着把尺度设为800 nts/cm，结果如图2.64所示。
12. 现在打开hsp70(Bam-)文件，选择整个构建。复制并粘贴到图解视窗中的hsp70构建下面。如同您在上一步中所做的，把此构建的尺寸设定为800 nts/cm.
13. 我们将在图解中说明在使hsp70变成hsp70(Bam-)的过程中做了些什么。为了做到这一点，我们需要在这两个构建之间键入一些描述性的文字。为了给这些文字留出空间，您首先需要把hsp70的构建标题移到它自己上面（如果您要提前看结果如何，请参见图2.65）。在hsp70构建上双击使其成为目标，接着把这个构建的标题拖到DNA上方。

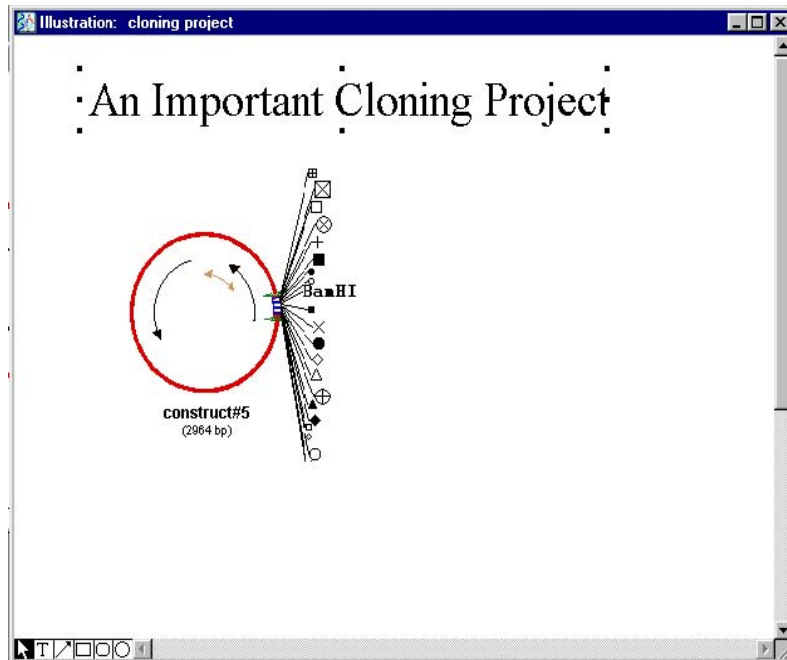


图2.63: 图解 # 2

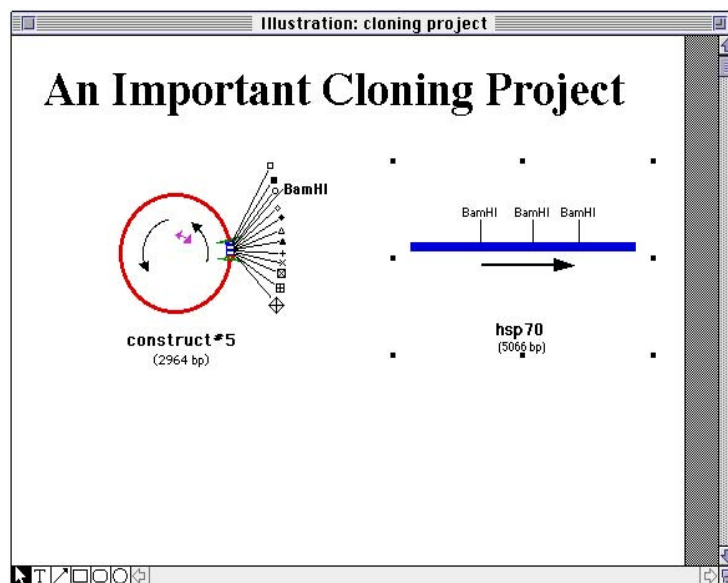


图2.64: 图解 # 3

14. 现在在视窗的左下角再次点击“T”工具以使您能输入有关步骤的描述。在两个线性构建之间点击（一个闪烁的插入点将会出现）并利用格式菜单把字体设为Geneva/Arial 9 point纯文本。键入关于改造hsp70步骤的描述。

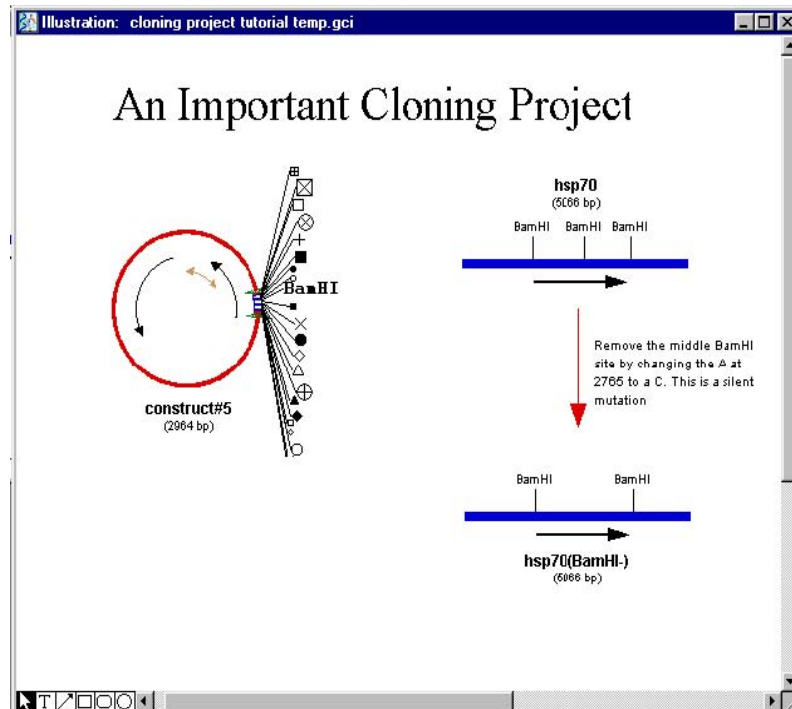


图2.65：图解 # 4

15. 点击位于图解视窗左下角的箭头工具（arrow tool，左数第3个），绘制一条如图2.65所示从上到下的垂直箭头。
16. 现在需要在construct#5.中创建一个位点标记符号的图例。在construct#5上双击，使之成为目标。在一个位点标记上点击并按下 $\text{O-A}/\text{ctrl-A}$ (**Edit** \blacktriangleright **Select All**)以选择所有的位点。持续按下shift键并点击BamHI以取消对BamHI位点的选择。选择 $\text{O-C}/\text{ctrl-C}$ (**Edit** \blacktriangleright **Copy**)，把已选的所有位点复制到剪贴板中。
17. 点击标有construct#5的图解窗，将位点标记粘入视窗中($\text{O-V}/\text{ctrl-V}$)。拖动您刚创建的图例到construct#5的左边，如图2.66所示。
18. 完成这个项目需要更多的步骤，但是到现在您应该能体会到图解窗的风格了。您可以打开tutorial files文件夹中的cloning project文件来看看最终的图解看起来会是怎样。大胆地探研现已完成的图解文件以了解其他的技巧。注意您也可以把凝胶条带复制并粘贴到图解视窗中作为该视窗中其他信息的补充。Sample Files文件夹中也有一些有趣的例子。

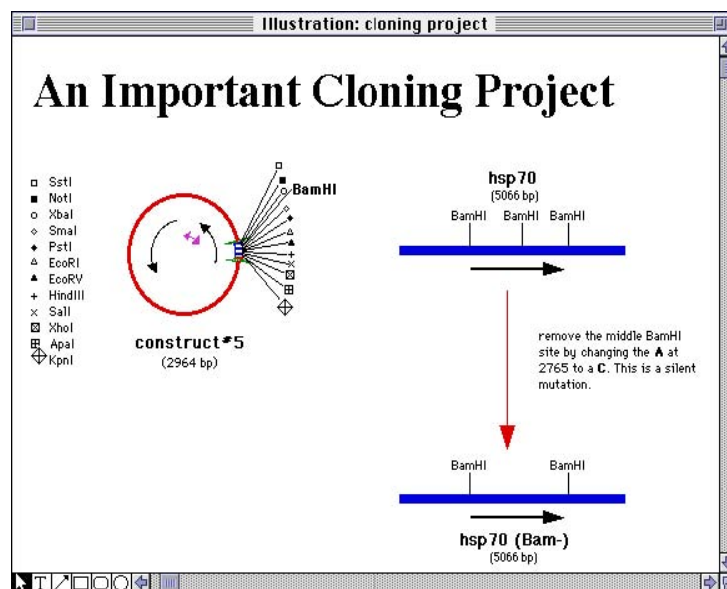


图2.66: 图解 # 5

本节指南结束。关闭所有打开的视窗，但是请不要保存任何变动到程序提供的指南文件夹中，以便将来其他人使用该指南。

指南 13: 处理通用型构建

很多时候，特别是当您刚开始处理一段DNA，您有可能知道一段克隆片断的限制性酶切图谱，但是您还不清除这段DNA的具体序列。这样的通用型构建能用**GCK**处理。对该片断的操作可以象对其他任何已知序列的DNA片断一样操作。

- 1 启动**GCK**。您将看见一个未命名的构建视窗作为激活视窗出现。要创建一个含有5000个核苷酸的通用构建，执行**Construct** ▶ **Insert Ns...** (Ó-H/ctrl-N)。将会出现图2.67。输入5000并点击OK按钮。

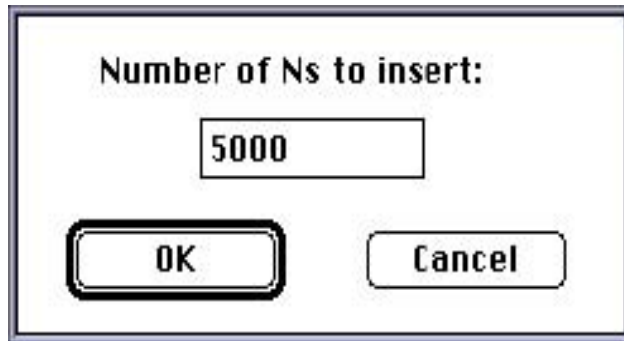


图2.67: 插入Ns

- 2 现在您将有一个含有5000个Ns的线性构建。在图形外观下，该构建仅显示为一条水平线。执行**Construct** ▶ **Display** ▶ **Display Sequence**使构建以核苷酸序列的形式显示。现在，您需要将限制性酶切位点放在构建的特定位置上。
- 3 执行**Construct** ▶ **Features** ▶ **Place Sites...** (**Ó-J/ctrl-J**)，将出现图2.68,第2-70页。该图和您以前看到的位点对话框（图2.8, 第2-14）非常相似。在顶部列表中选择内切酶，点击**Add**按钮，把它们移到底部的**Sites to Place**列表中。本节指南选择BamHI 和EcoRI来示范。
下一步是指定您将要放到构建中的每一个酶切位点的位置。首先在底部列表中选择一个内切酶，接着指定所选酶的放置位置就可完成该操作。在底部列表中选择BamHI，接着按下右边的**Locate**按钮。将会出现如图2.69所示的定位位点对话框。

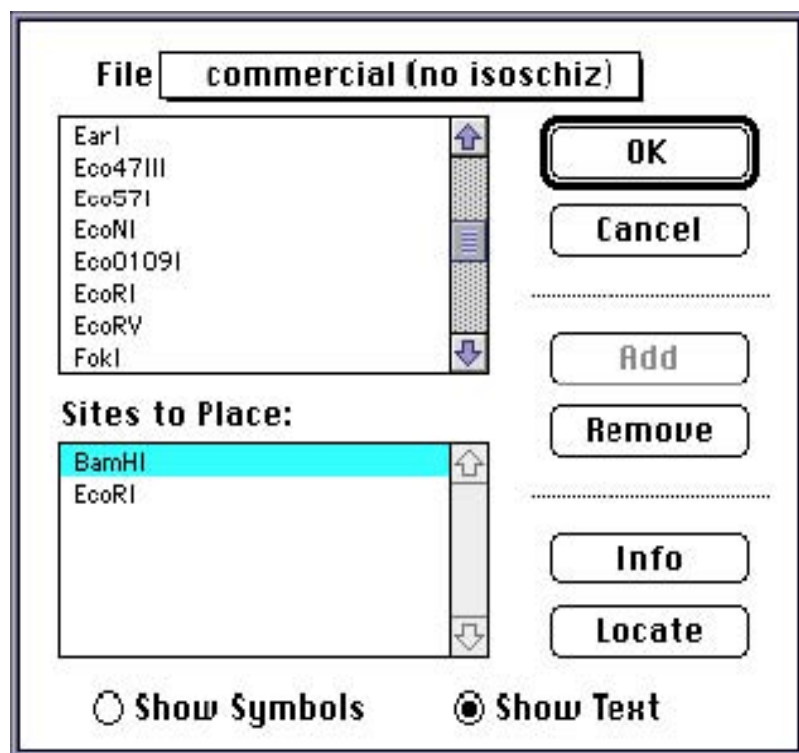


图2.68：放置位点对话框

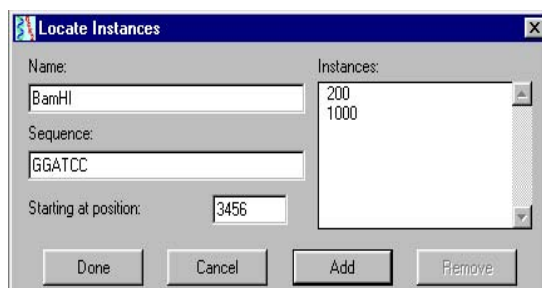


图2.69：定位位点对话框

- 4 该对话框提供了有关所选的内切酶的信息并让您定义酶切位点的位置。在Starting at position 文本框键入200，按下**Add**按钮，把这个定位点添加到待放置位点的列表中，它们会在右边“instances”列表中出现。接着键入点1000并添加到列表中。继续添加3456。现在您在右边的列表中就有了三个定位点。做完这些后，按下**Done**按钮完成BamHI位点的定位工作。
5. 在列表（图2.68，第2-70页）中选择EcoRI，并按下Locate按钮。在出现的定位位点对话框图2.69,第2-70页)中输入2000和4000作为EcoRI位点定位。现在您已经指定了内切酶和它们的位置，因此按下OK按钮以实际地放置这些位点。
6. 在图2.70中您可以看到BamHI识别位点序列已经实际替换了一些Ns。这样一个“真实”的位

点能被相应的酶切开，并用来产生相应的DNA片断。

7. 执行**Construct** ▶ **Display** ▶ **Display Graphics**，将出现图2.71，第2-72页。您现在能选择DNA片断，并如同在前面指南处理关于完全序列DNAs的克隆步骤中所做的那样利用它们。您可用实际的序列来替换通用构建中的Ns。

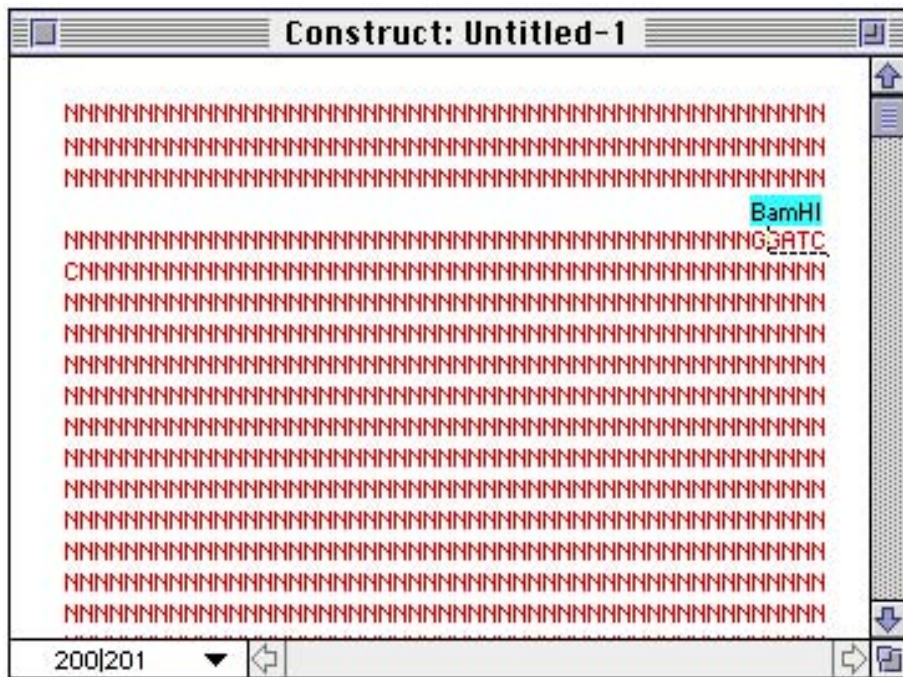


图2.70：一个放置的位点（序列视图）

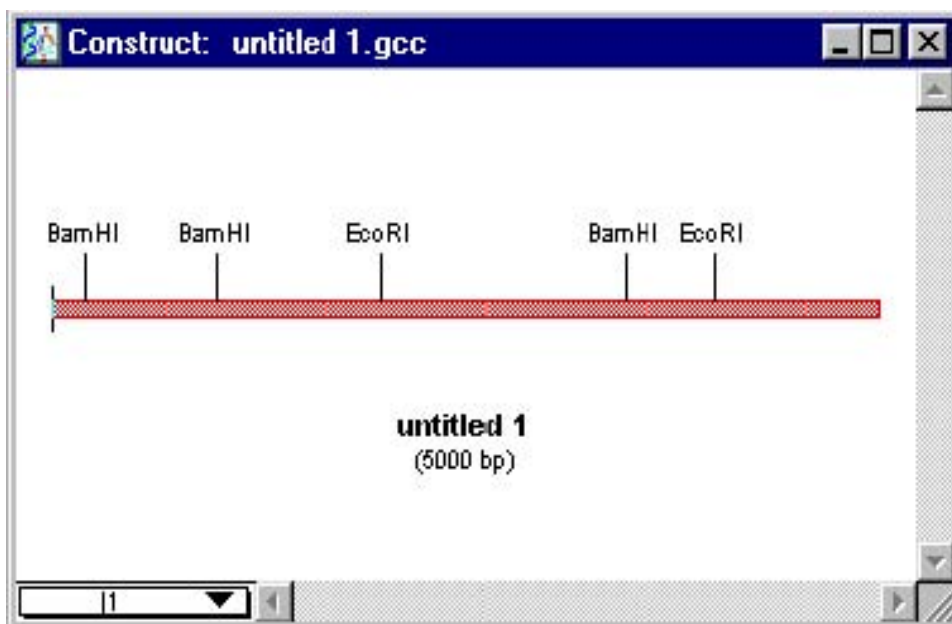


图2.71：放置位点（图形视图）

本节指南结束。关闭打开的视窗（不要保存任何改动，您以后再也不需要这些文件了。）

指南 14：输入和输出序列以及其他信息

人们经常会获得其他格式的序列并可能希望在**GCK**软件中操作，这一问题可通过把序列输入到**GCK**来解决。大多数其他格式实际上是把序列信息组织成一种特殊格式的普通文本文件。也许最常见的格式是**GenBank**或**GCG**格式。仅仅是简单的序列文件（只有序列）也非常常见，并且经常是您从测序设备中得到的输出形式。

1. 启动**GCK**，并执行**File** ➤ **Import**开始输入，如图2.72所示。利用在文件列表上的下拉菜单，进入**DNAs to import**文件夹，该文件夹在**GCK**安装的同时建立。这个文件夹中有多种不同文件格式的DNA，可用于您练习输入。对话框上的圆形按钮使您能指定您认为文件属于的那种类型。在圆形按钮上点击可以改变可见的文件列表。**Gene Inspector**和**DNA Inspector**文件不是单纯的文本文件，因此在这些按钮中的一个上点击，将限制文件列表显示的只有那些特殊类型（非文本）文件。

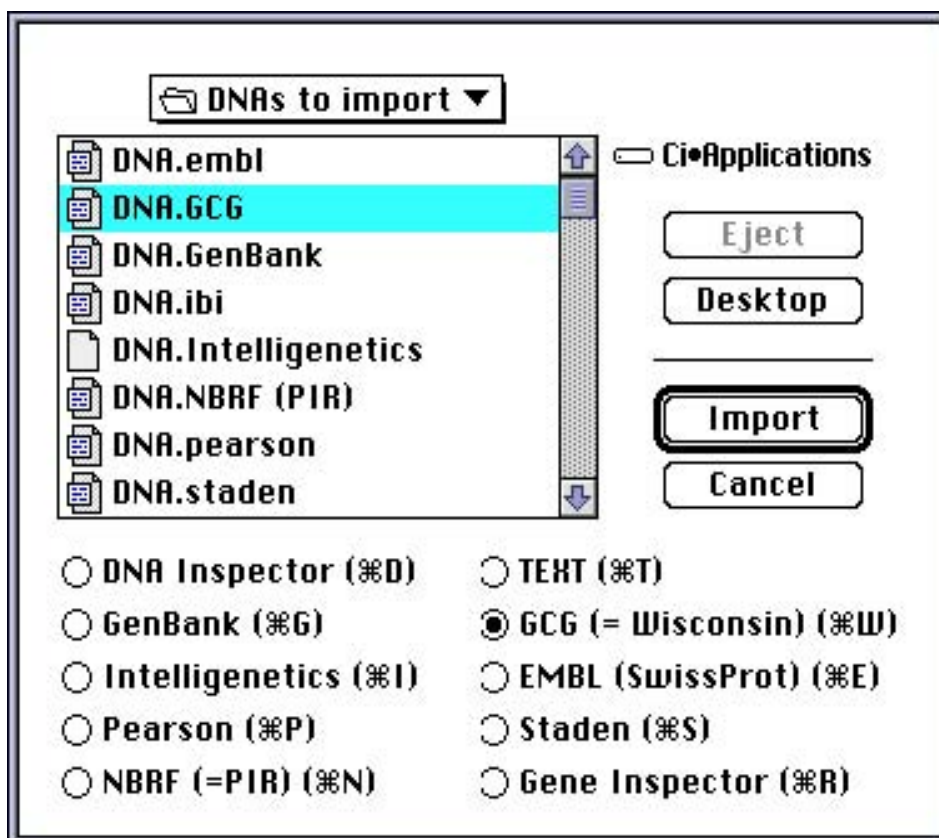


图2.72: 输入序列对话框

2. 点击GCG按钮，选择要输入的文件DNA.GCG，如图2.72，第2-73页所示。按下Import按钮。
3. 该序列现在将被输入并且在新的构建视窗中显示为序列形式。任何与文本文件相关的特定格式的注释将被输入并放置在构建的General Info中。执行**Construct** ▶ **General Info**…可以查看目前作为特殊的GCG格式文件一部分的注释信息。
4. Gene Inspector™ 文件（仅用于Macintosh 机器）可能包含多个序列。因此您会看到如图2.73所示对话框。当一个含有多个序列的文件被选择时，这个对话框就会出现。您必须选择其中的一个序列并按下**Import**按钮。

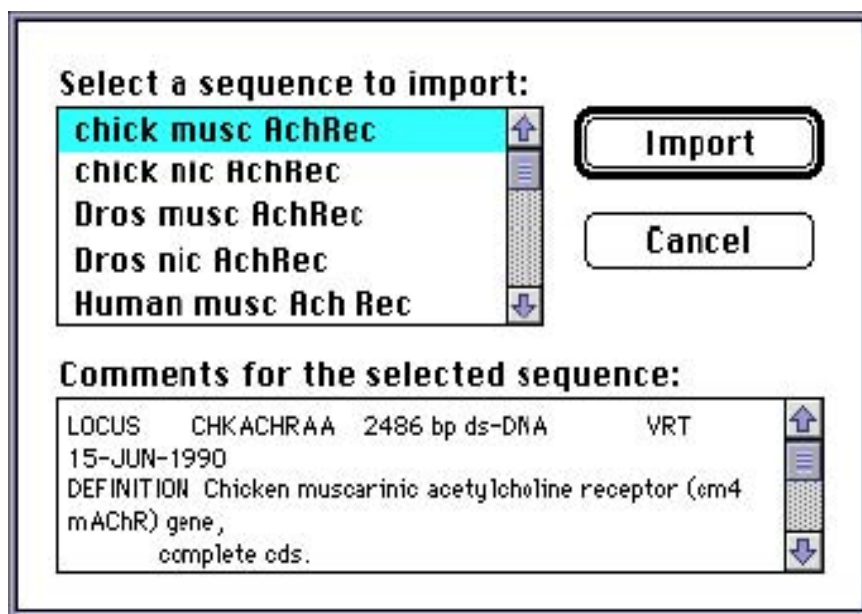


图2.73：从Gene Inspector中输入序列

5. 输出（Exporting）文件信息是**GCK**和其他应用程序交流的另一种途径。由于**GCK**既可以以图形的形式又可以以序列格式显示信息，两种格式都能被输出。执行**File** ➤ **Open...**并打开tutorial files文件夹中的pBR322文件。该文件将会以图形外观打开。
6. 执行**File** ➤ **Export...**，如图2.74所示。PICT文件是一种Macintosh机器下标准的图形文件，能够被Mac或Windows操作系统下的大多数图像处理程序打开。因此选择这里显示的PICT file圆形按钮将创建一个能被输入图形软件包的文件。如果希望在不能识别PICT文件的软件中能使用**GCK**图形，您应该选择JPEG选项。**DNA Sequence as TEXT file**按钮会创建一个仅有DNA序列的文本文件，能被任何字处理软件和几乎其他任何序列分析软件包打开。除非您真的对用其他软件处理该输出文件有兴趣，否则点击**Cancel**，以取消对话框。

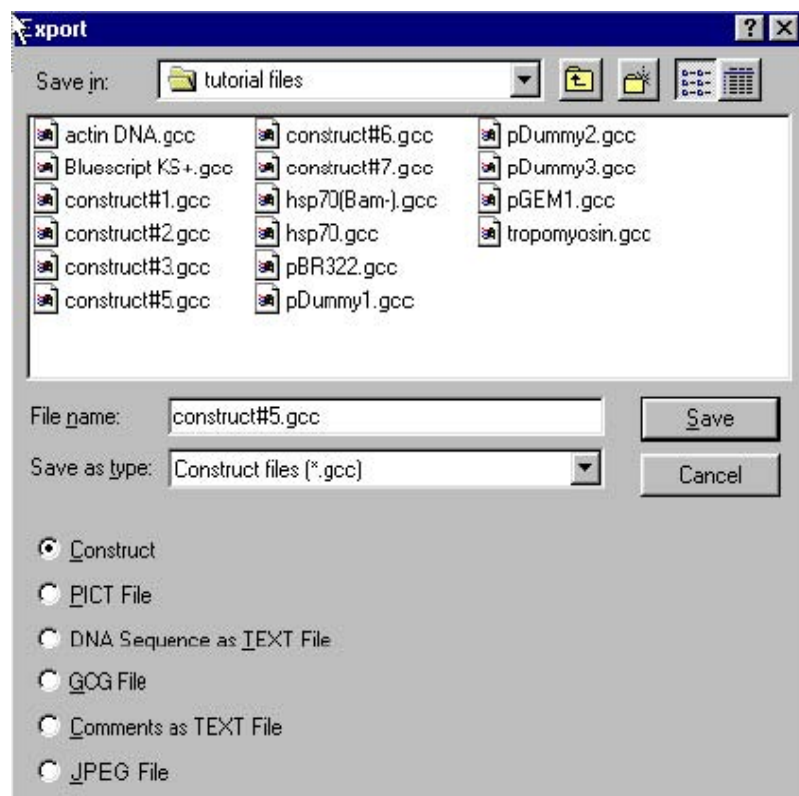


图2.74: 输出（图形）

7. 在pBR322视窗激活的情况下，执行**Construct** ▸ **Display** ▸ **Display Sequence**，改变构建的查看方式到序列模式。现在，执行**File** ▸ **Export...**，会出现一个略有不同的对话框，如图2.75所示。此时有一个名为Formatted Listing as TEXT file的额外选项。该选项将产生一个包括所有线性编号，限制性位点，空间和氨基酸序列的文本文件。注意，为了让这些输出的文件在其他程序中也能正确地查看，您必须使用单空格的字体，如Monaco或Courier。

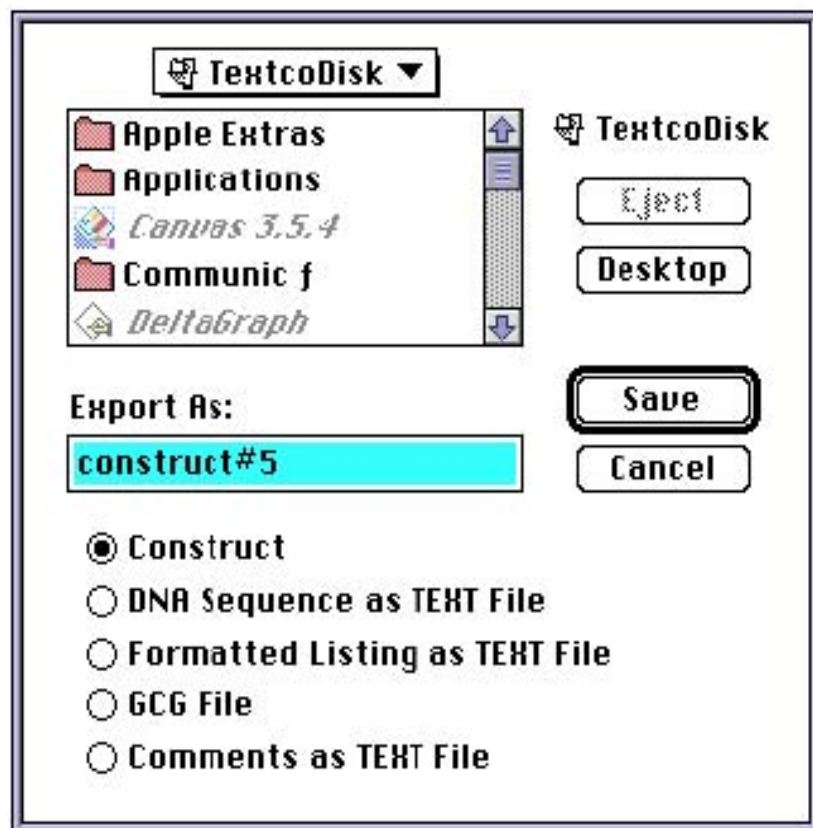


图2.75: 输出（序列）

本节指南结束。若需要更多您感兴趣特点的细节，请在使用手册的其他地方查看。

指南 15: 高级输入