

MacVector 基本操作(配列情報の編集)

MacVector で配列情報を編集するために必要な操作の一部を紹介いたします。

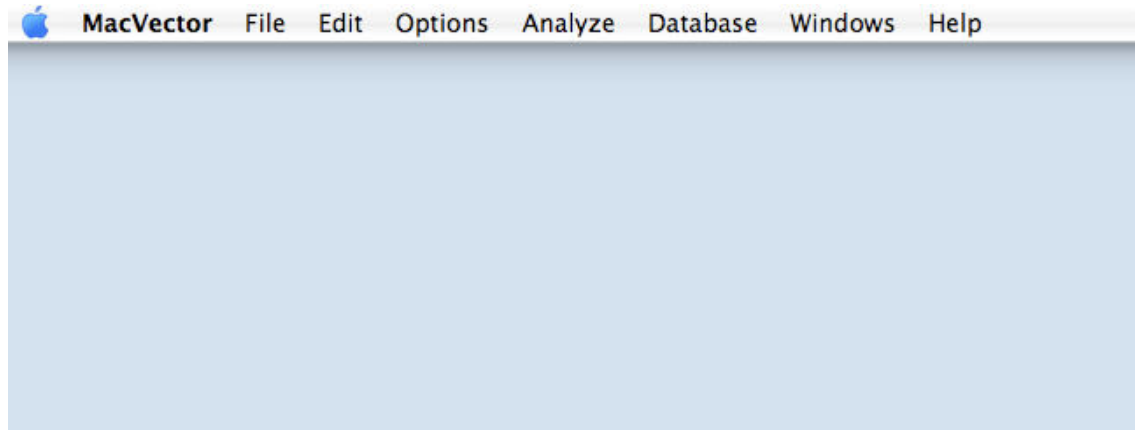
配列の編集に関しての主要な操作は下記のもので。

- A.配列情報のファイルの入手
- B.配列情報ファイルの作成(新規)
- C.制限酵素(核酸配列)の解析
- D.アノテーションの確認・編集・新規作成
- E.配列の加工(実験のシミュレーション・記録)



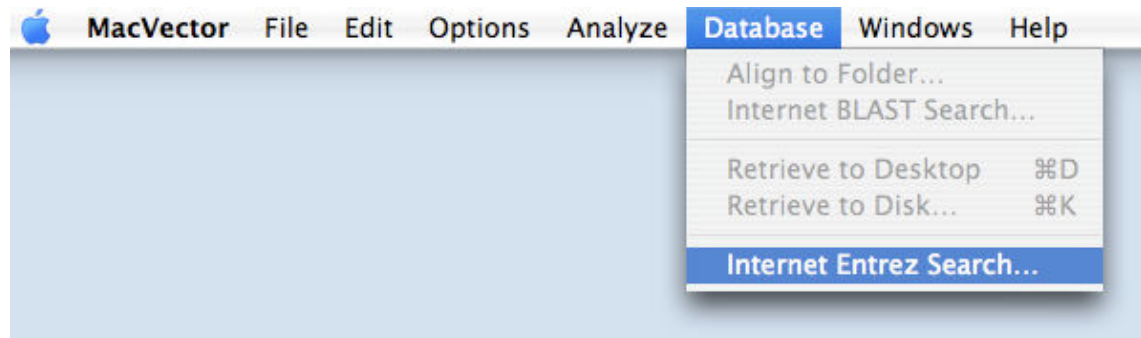
まず、MacVector を起動してください。

(注意！ MacVector は起動しただけでは何も新しいウィンドウは開きません。)

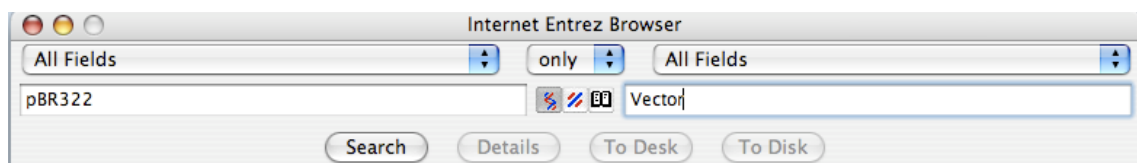


A. 配列情報のファイルの入手

MacVector で利用する配列ファイルは、公知のデータの場合 NCBI の検索エンジンから入手することができます。



メニューバーから、Internet Entrez Search...を選択します。

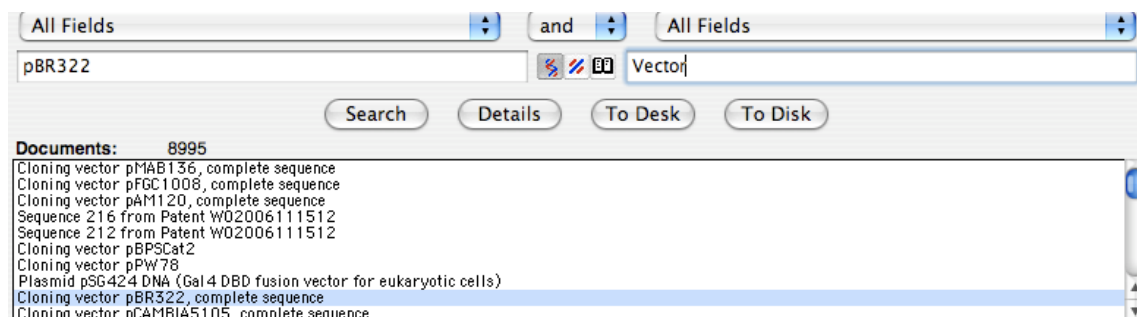


左右2つのカラムを利用して、検索するデータベースのフィールドを選択し、キーワードを選んでください。

2つのキーワードの組み合わせは、only、and、not、or の4つが可能です。

組み合わせ選択のカラムの下に、検索するデータの種類のアイコンがあります。これを選んでください。(左から、核酸配列、アミノ酸配列、文献となります。)

以上の設定が終わったら、Search ボタンをクリックして検索開始です。



ヒットしたデータベースのエントリー(DE)が表示されます。

必要なファイルの入手方法は2つあります。

All Fields and All Fields

pBR322 Vector

Search Details To Desk To Desk

Documents: 8995

Cloning vector pMAB136, complete sequence
 Cloning vector pFGC1008, complete sequence
 Cloning vector pAM1120, complete sequence
 Sequence 216 from Patent WO2006111512
 Sequence 212 from Patent WO2006111512
 Cloning vector pBPScat2
 Cloning vector pPW78
 Plasmid pSG424 DNA (Gal4 DBD fusion vector for eukaryotic cells)
 Cloning vector pBR322, complete sequence
 Cloning vector pCAMBIA5105, complete sequence

DOCUMENT ID 288958 4361 BP DS- DNA CIRCULAR Update: 11/2/06
 DEFINITION Cloning vector pBR322, complete sequence
 KEYWORDS ampicillin resistance, beta-lactamase, cloning vector, drug resistance protein, origin of replication, plasmid, tetracycline resistance
 REFERENCE [1] Medline ID [79812484]
 AUTHORS Sutcliffe, J.G.
 TITLE Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of Escherichia coli plasmid pBR322.
 JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 75, 8, 3737-3741, (1978)
 REFERENCE [2] Medline ID [80856597]
 AUTHORS Reed, R.R., Young, R.A., Steitz, J.A., Grindley, N.D. & Guyer, M.S.
 TITLE Transposition of the Escherichia coli insertion element gamma generates a five-base-pair repeat.
 JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 10, 4882-4886, (1979)
 REFERENCE [3] Medline ID [81213464]
 AUTHORS Covarrubias, L., Cervantes, L., Covarrubias, A., Soberon, X., Vichido, I., Blanco, A., Kupersztoch-Portnoy, Y.M. & Bolivar, F.
 TITLE Construction and characterization of new cloning vehicles. V. Mobilization and coding properties of pBR322 and several deletion derivatives including pBR327 and pBR328.
 JOURNAL Gene, 13, 1, 25-35, (1981)
 REFERENCE [4] Medline ID [82167416]
 AUTHORS Mariani, K.J., Soeller, W. & Zipursky, S.L.
 TITLE Maximal limits of the Escherichia coli replication factor Y effector site sequences in pBR322 DNA.
 JOURNAL J. Biol. Chem., 257, 10, 5656-5662, (1982)
 REFERENCE [5] Medline ID [82239419]
 AUTHORS Brosius, J., Cate, R.L. & Perlmutter, A.P.
 TITLE Precise location of two promoters for the beta-lactamase

まず、内容の確認を“Details”をクリックして行ってください。

SYNPBR322

1

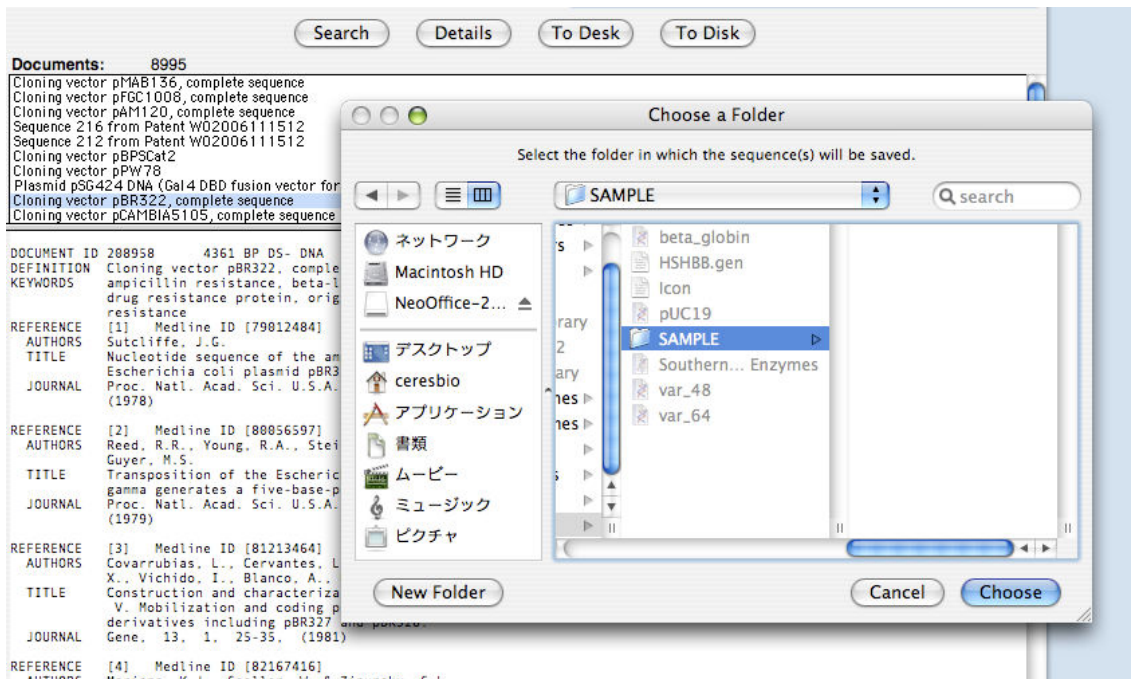
To Desk

```

TTC TCA TGT TTG ACA GCT TAT CAT CGA TAA GCT TTA ATG CCG TAG TTT ATC ACA GTT AAA TTG CTA ACG
TCA GGC ACC GCG TAT GAA ATC TAA CAA TGC GCT CAT CGT CAT CCT CCG CAC CGT CAC CCT GAA TGC TGT
CAT AAG CTT GGT TAT GCC GGT ACT GCG GGG CCT CTT GCG GAA TAT CGT CAA TTC CAA CAG CAT CCG CAG
CTA TGG GGT GCT GCT AGC GCT ATA TGC GTT GAT GCA ATT TCT ATG CCG ACC CGT TCT CCG AGC ACT GTC
CCG CTT TGG CCG CCC CCC AGT CCT GCT CCG TTC GCT ACT TGG AGC CAC TAT CAA CTA CCG GAT CAT GGC
CAC ACC CGT CCT GTG GAT CCT CTA CCG CCG ACG CAT CGT GGC CCG CAT CAC CCG CCG CAC AAG TGC GGT
TGG CCG CTA TAT CCG CAA CAT CAC CAA TGG GAA AAG TCG GGC TCG CCA CTT CCG GCT CAT AAG CCG TTT
CGG CGT GGG TAT GGT GGC ACG CCC CGT GGC CCG GGG ACT GTT GGG CCG CAT CTC CTT GCA TCG ACC ATT
TGC GGC GGC GGT GCT CAA CCG CCT CAA CCT ACT ACT GGG CTG CTT CCT AAT GCA GAA GTC GCA TAA GGG
GCG TCG ACC GAT GCC CTT GAG AGC CTT CAA CCC AGT CAG CTC CTT CCG GTG GGC CCG GGG CAT GAC TAT
CGC CCG ACT TAT GAC TGT CTT TAT TAT CAT GCA ACT CGT AAG ACA GGT GCC GGC AGC GCT CTG GGT CAT
CGG CAA GAA CCG CTT TCG CTG GAG CCG GAC GAT GAT CCG CCT GTC GCT TGC GGT ATT CCG AAT CTT GCA
CCT CCG TCA AGC CTT CGT CAC TGG TCC CCG CAC CAA ACG TTT CCG CAA GAA GAA GGC CAT TAT CCG CCG
GGC CCG CAA CCG GCT GGG CTA CCG CTT GCT GGC GTT CCG GAC GCG AAG CTG GAT GGC CTT CCC CAT TAT
TCT TCT CCG TTC CCG CCG CAT CCG GAT GCC CCG GTT GCA GGC CAT GCT GTC CAG GAA GGT AAG TGA CAA CCA
TCA GGG ACG GCT TCA AAG ATC GCT CCG GGC TCT TAC CCG CCT AAC TTC GAT CAC TGG ACC GCT GAT CGT
GGC GAT TTA TGC CCG CTC GGC GAG CAC ATG GAA CCG GTT GGC ATG GAT TGT AAG CCG CCG CCT ATA CCT
CTG CCT CCC CGC GTT GCG TCG CCG TGC ATG GAG CCG GGC CAC CTC GAC CTG AAT GAA ACG CCG CCG CAC CTC
  
```

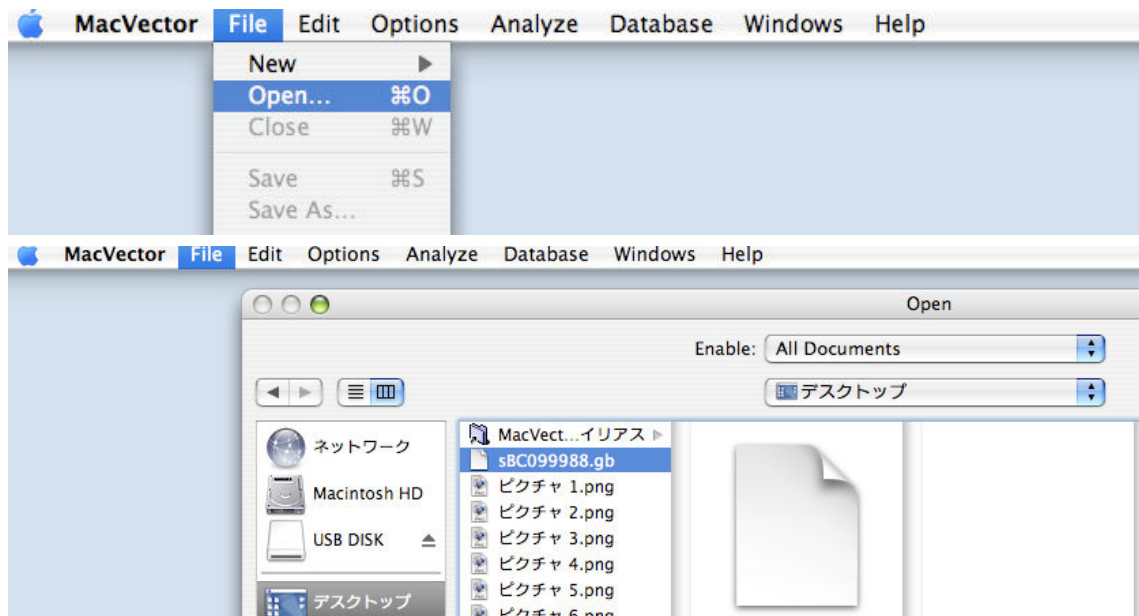
gamma generates a five-base-pair repeat.
 JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 10, 4882-4886,

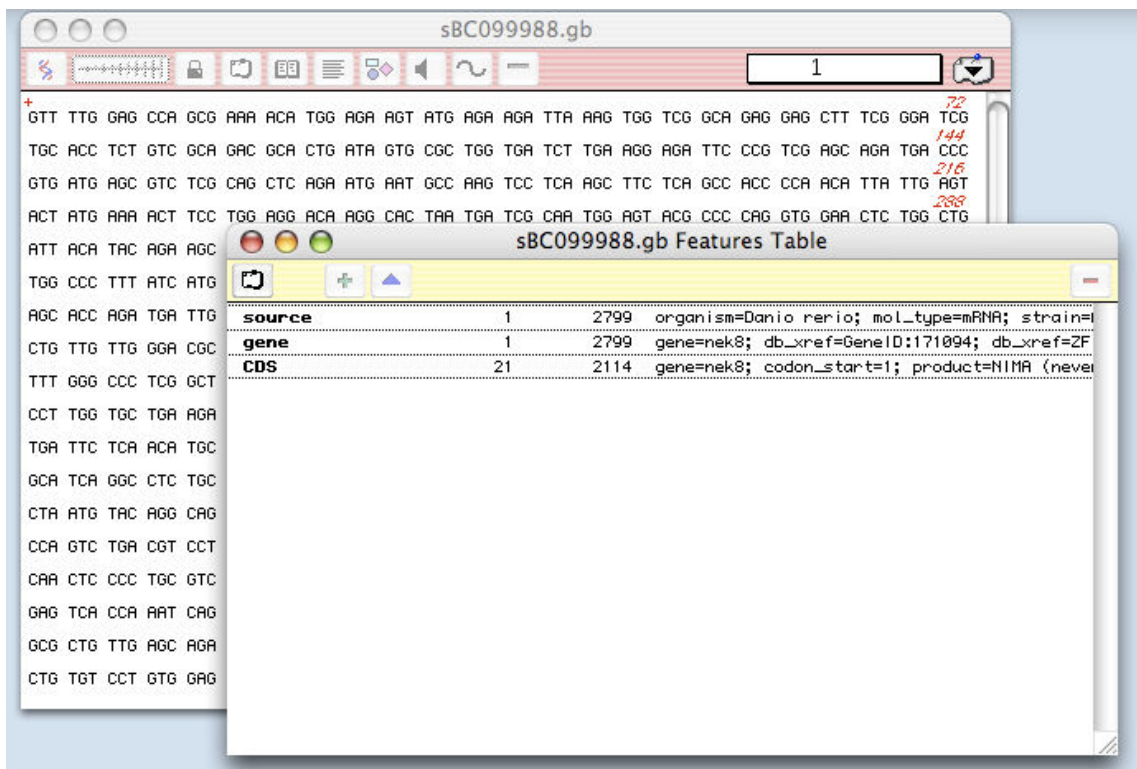
“To Desk”をクリックすると、MacVector のエディターが表示されます。(方法1)



“To Disk”をクリックすると、エディターは表示されませんが、ファイルとしてセーブすることができます。(方法2)

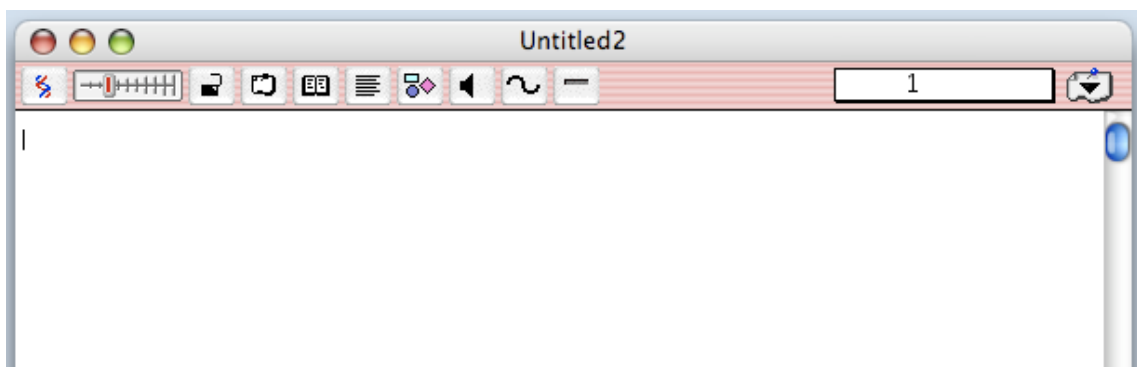
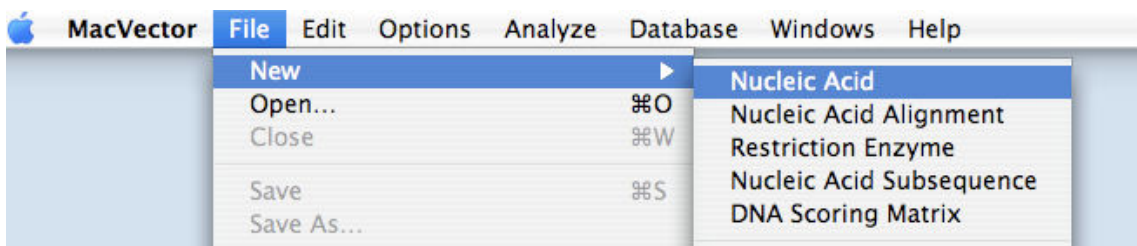
その他に、NCBI や EMBL からダウンロードした GeneBank や EMBL(SwissProt)フォーマットのテキストファイルも、アノテーションごと MacVector で利用することができます。

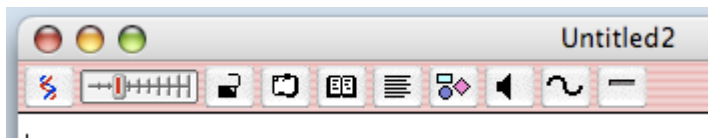




B.配列情報ファイルの作成(新規)

新しい配列ファイルを作成するには、まず空のファイルを作成します。





配列ファイルウィンドウのアイコンについて簡単に説明します。



このアイコンをクリックすることで、DNA/RNA の変更を行います。



エディタに表示される塩基(残基)のブロック数を変更できます。(連続~10 塩基区切りが可能です。)



ファイル編集の“解除/ロックする” を選択します。



FT テーブルのウィンドウを表示します。



FT 以外のアノテーションのウィンドウを表示します。



このウィンドウの内容をプリンター出力形式にして表示します。



このウィンドウの内容をグラフィックで表示します。



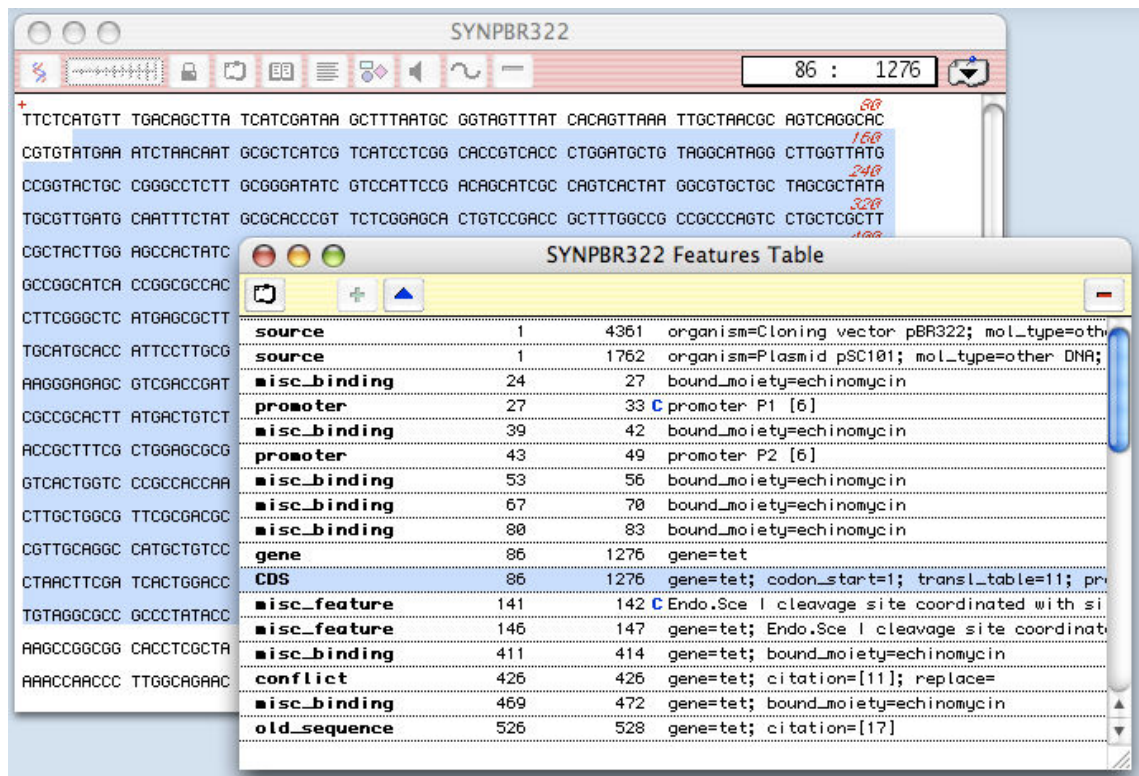
音声出力の切り替えを行います。



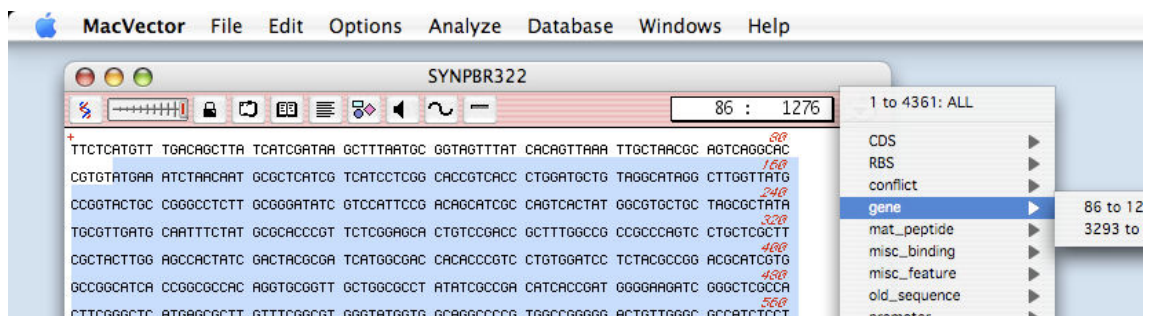
配列の形状がリニア(直鎖)状かサークル(環)状かを選択します。



相補鎖の表示を選択します。



FT のリストから任意の項目を指定すると、配列エディター上にその領域(位置)が表示されます。




配列エディター右上部のスクロールメニューにも、FT 情報が表示されます。

ここからも同様に、領域を選択することができます。

配列情報の入力にはいくつかの方法があります。

- a. 直接キーボードから入力
- b. 他のテキストエディターや Web ページからコピー&ペースト
- c. 他の MacVector のファイルから編集作成する

a. 直接キーボードから作成する場合

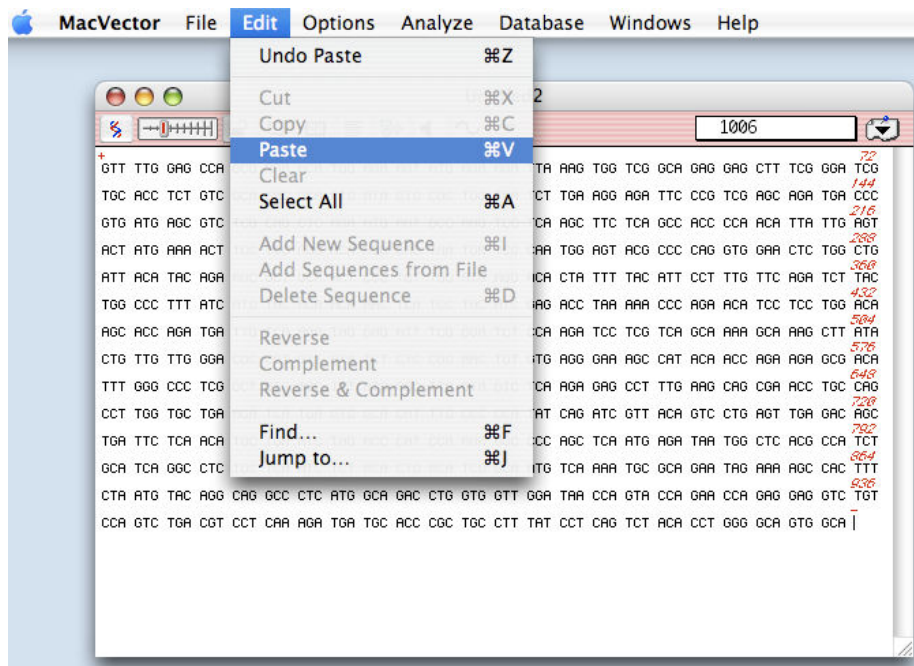
直接キーボードから入力します。この場合に  をスピーチモードにすることにより、入力した塩基が音声で確認できます。

b. 他のテキストエディターや Web ページからコピー&ペースト

MacVector はほとんどのテキストエディターからコピー&ペーストで配列を入力することができます。この場合、配列以外の数字や記号は自動的に除去されます。

```

ORIGIN
1  gttttggagc  cagcgaaac  atggagaagt  atgagaagat  taaagtgttc  ggcagaggag
61  ctttcgggat  cgtgcacctc  tgcgcagac  gcactgatag  tgcctgggtg  atcttgaagg
121  agatcccgct  cagcagatg  acccgtgatg  agcctctcgc  agctcagaat  gaatgccaag
181  tcctcaagct  tctcagccac  ccaaacatta  ttggtacta  tgaaaacttg  ctggagcaca
241  aggcactaat  gatcgcaatg  gatgacccc  caggtggaac  tctggctgat  tacatacaga
301  agcctgcaa  ctccctgttg  gatgagaca  ctattttaca  ttccctttgt  cagatcttac
361  tggcccttta  tcatgtacac  acaaaactca  tcctacatcg  agacctaaaa  acccagaaca
421  tcctccttga  caagcaccag  atgatgttca  aatatggaga  ttctggggtc  tccaagatcc
481  tctcagcaca  aagcaaaagt  tatactattg  ttgggacgcc  gtttatatac  tctccggaac
541  tctctgagg  aagccatag  aaccagaga  gctcaatttg  ggcctctgde  tcttctattt
601  atsagcttgc  tagtctcaag  aagcctttg  aagcagcag  cctgcacgce  ttggtcttga
661  anaticatag  tggcaattt  gccccatag  cagatcgtta  caatcctgag  ttgagacagc
721  tgatttctca  catgctgaat  ctgagcccat  ccaaaaagcc  ccagctcaat  gagataatgg
781  ctccacccat  ctgcatcag  cctctgctca  atctctacac  tgacatcgcc  aatctcaaaa
841  tggcagaaat  aaaaaagcca  ctttetaatg  tacagccagg  ccctcatggc  agacctgggt
901  gttgataac  cagtaaccga  accagagag  gtctgtccag  tctgacgtcc  tcaaaatgta
961  tgcaccgct  gcccttatec  tcagttcaaa  cctggggcag  tggcaattca  actccctgpc
1021  gtctgcccat  gttaaacact  gaggtcattc  aagttctctc  gggacgcaca  cagaagatgg
1081  gagtaccaaa  atcagggagg  ctcatcacat  gggagcgccc  ctcggttggg  tccgggtgagc
1141  ccaactctgc  tggcctcttt  gagcagatgc  agccccagtt  catctccccc  ttctagaggg
1201  gctctctctc  gctctctctc  gctctctctc  gctctctctc  gctctctctc  gctctctctc
  
```



また、Web のページから直接コピー&ペーストで入力することも可能です。

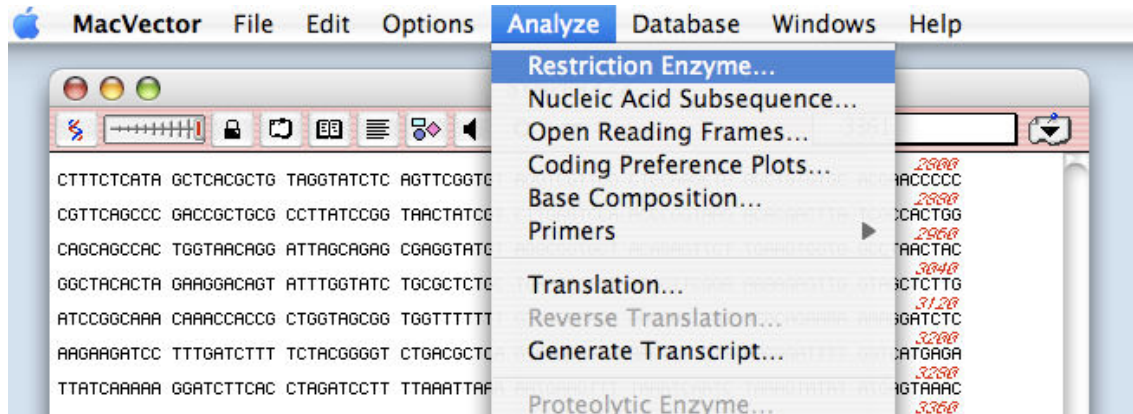
b. 他の MacVector のファイルから編集作成する。

MacVector はすでに存在するファイルを元に新しい配列ファイルを作成することがあります。

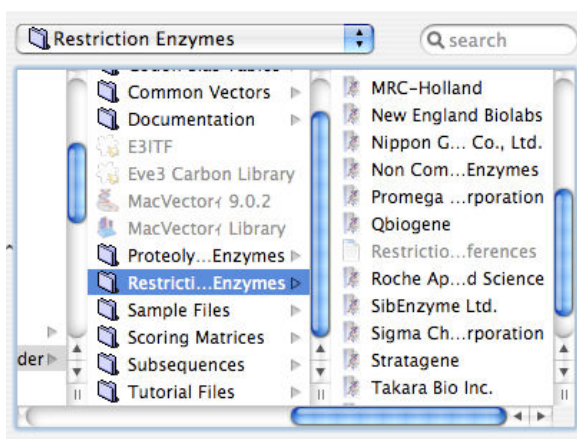
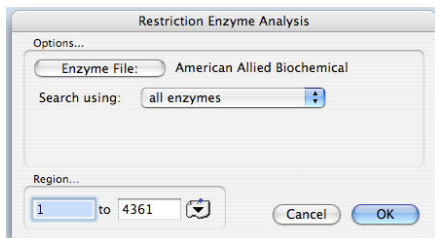
ここでは、制限酵素による切断をおこなった組み換えを例に説明を行います。

pBR322 の配列の制限酵素切断点の解析を行ってみます。

対象の配列のエディターを表示して、メニューバーから”Restriction Enzyme...”選択します。



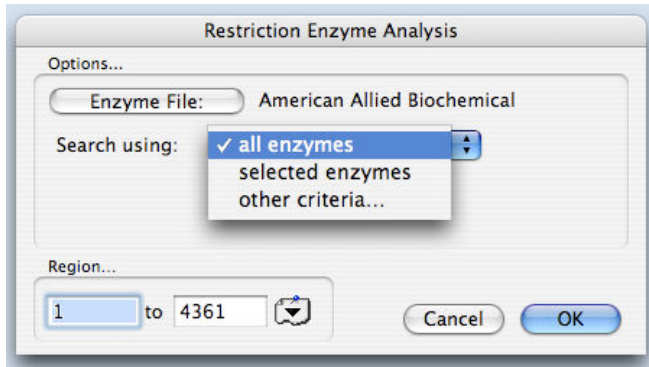
切断する制限酵素の選択を行うには、下記のパネルから利用する制限酵素のリスト“Enzyme File”を選択します。



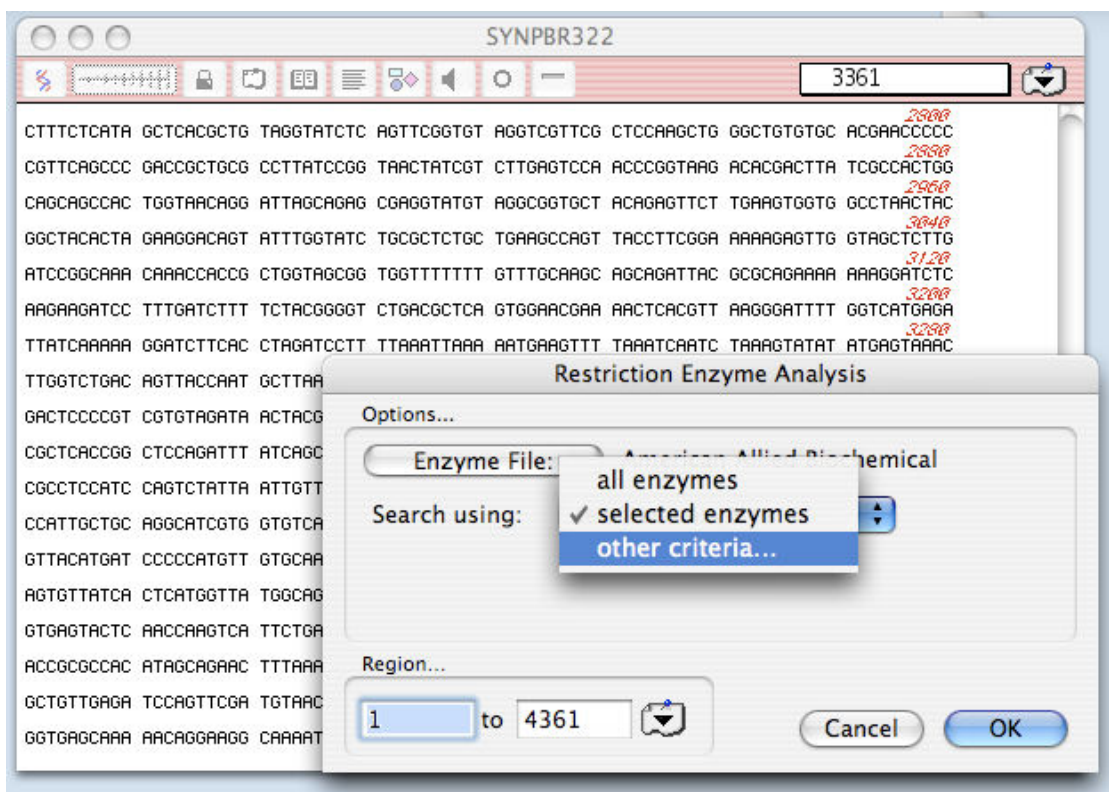
各社の制限酵素リストが表示されますが、“Commercial Restriction Enzyme”を選択すると現在購入可能な全制限酵素のリストが利用できます。

また、ご自分の良く利用する制限酵素のリストやストックのある制限酵素のリストなどを新たに作成することもできます。(制限酵素リストの作成方法参照..後述)

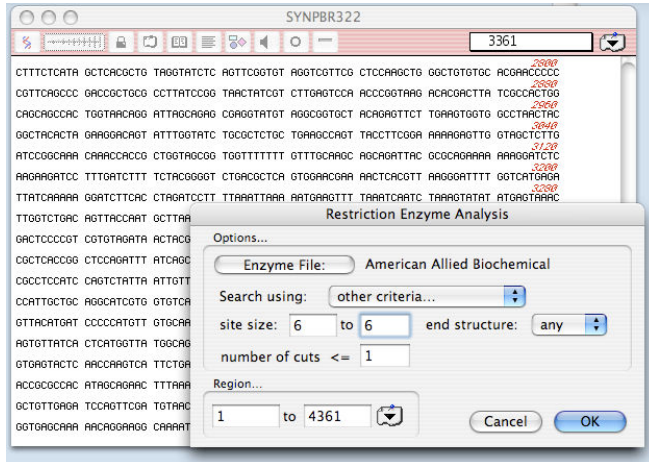
リストの全制限酵素を解析する場合は、“all enzymes”、リスト中の選択された酵素だけを利用する場合は“selected enzymes”、切断する条件を選択して解析する場合は“other criteria...”を選択します。



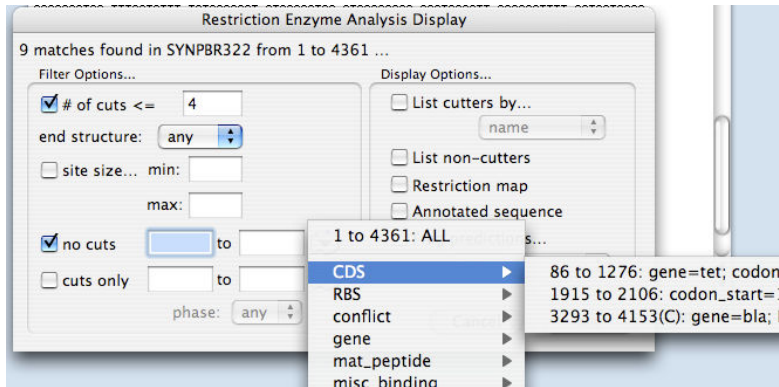
ここでは、“other criteria...”を利用した解析を行ってみます。



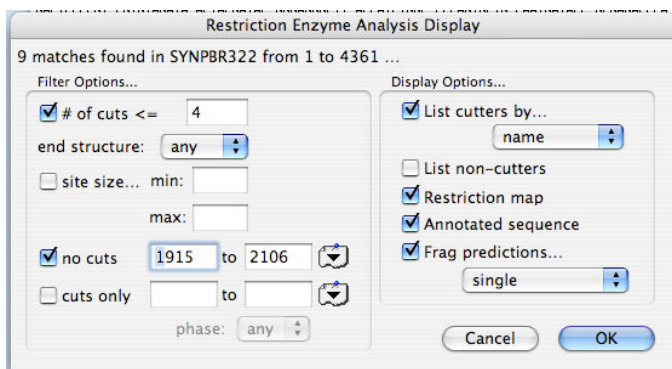
6塩基認識の制限酵素を全て選択します。



次に、特定の領域を切断する、または切断しない条件を指定します。

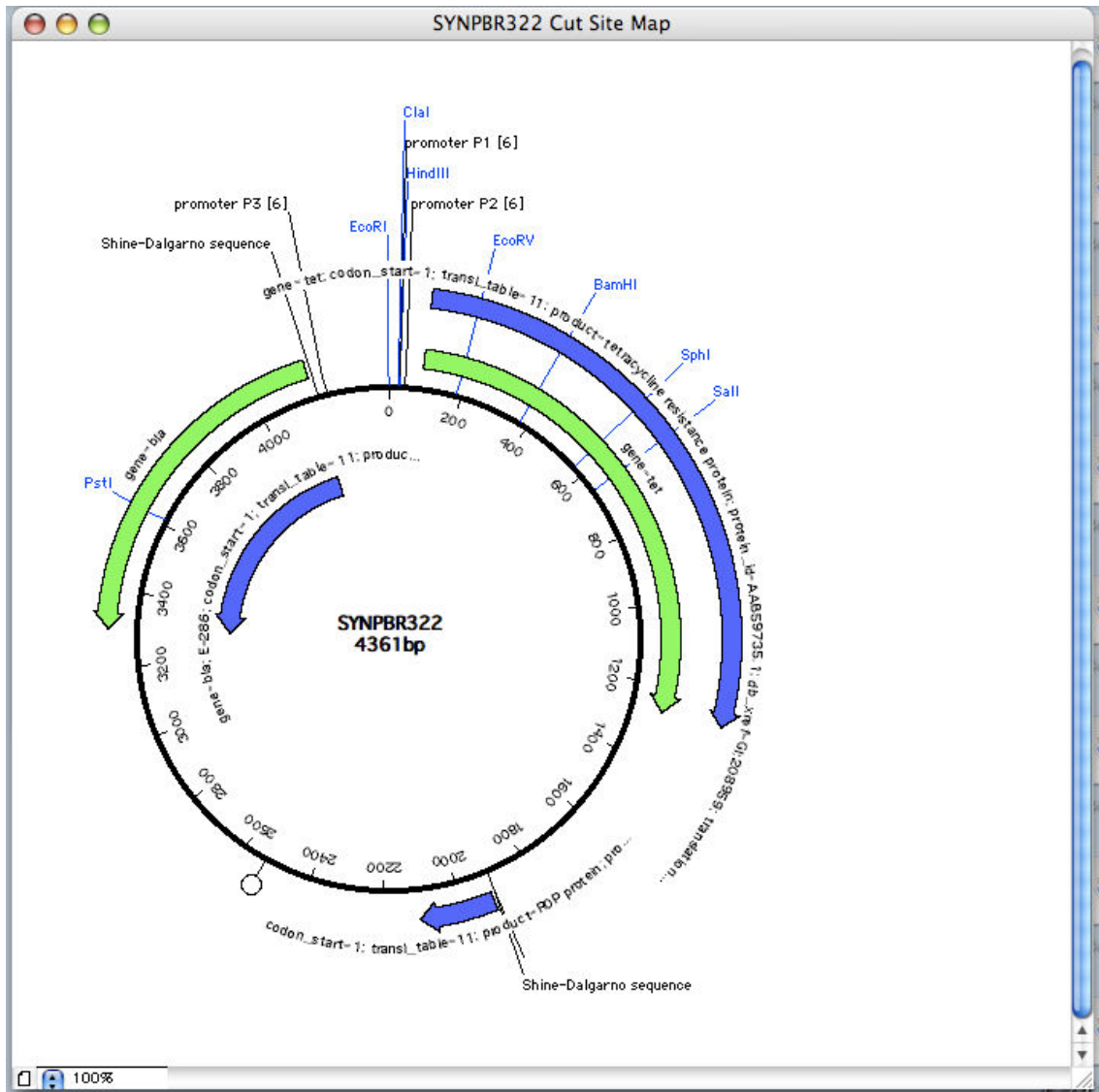


(画面の右側のリストからは、解析結果の出力方法を選択することができます。)



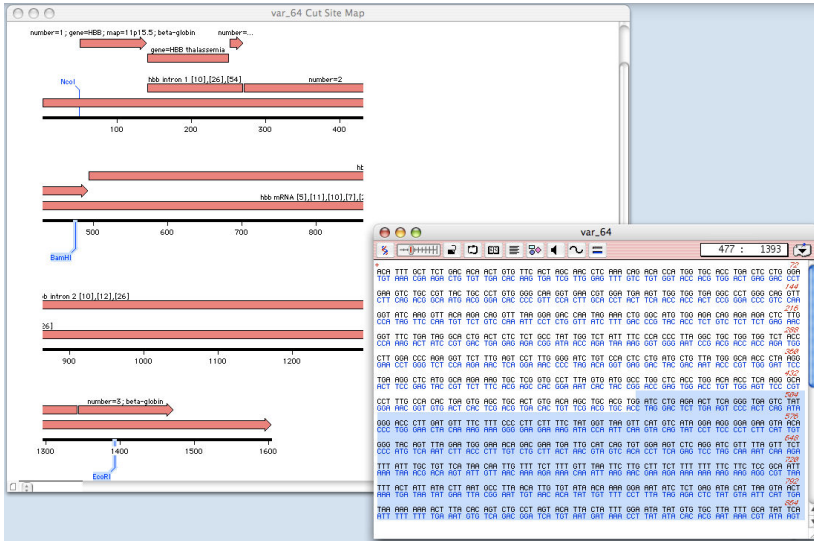
OK をクリックして解析開始です。

下記のように制限酵素の切断点が表示されます。

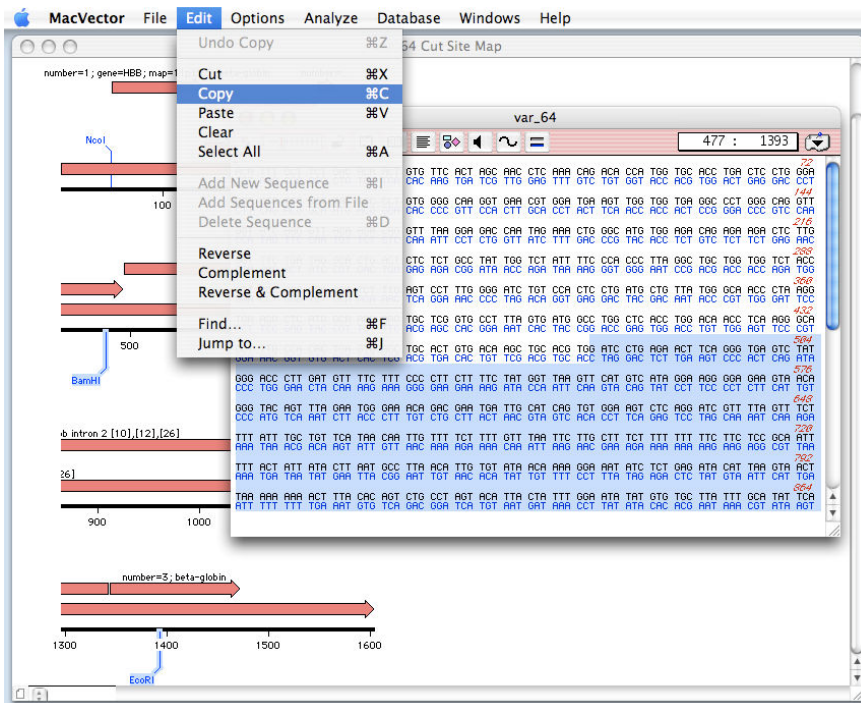


配列エディター上で組み換えの作業を行ってみます。

クローニングされた配列を同様に制限酵素で切断しました。



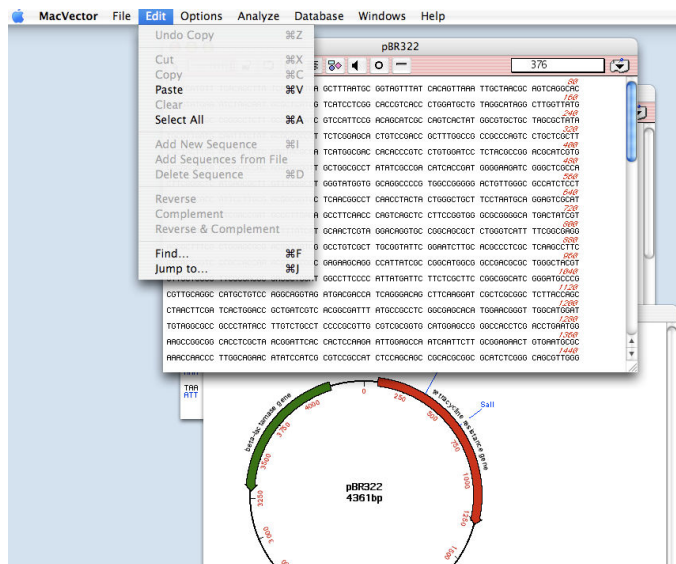
BamH1 と EcoR1 で切断される領域をグラフィック画面上から選択すると、配列エディターが自動的にその領域を表示します。(選択方法は、control キーを押しながら、画面上の2つの制限酵素切断点をマークします。)



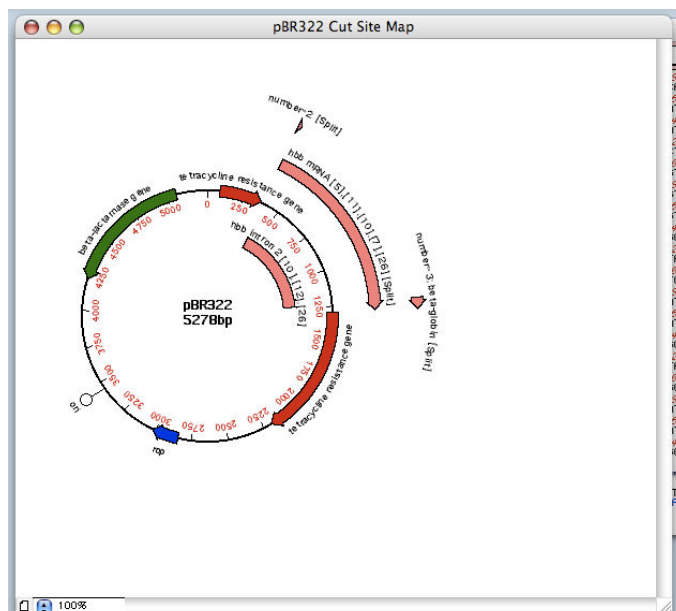
メニューバーの Edit から Copy を選択します。

次に、pBR322 を切断した場合の、グラフィック画面を表示します。
 (ここでは、制限酵素の種類を減らしてあります。)

BamH1 をマークすると配列エディター上の切断点にポインターが移動しますので、メニューバーの Edit から Past を選択します。



すると、pBR322 の切断点地図 BamH1 サイトに断片が挿入されたマップが表示されます。
 このファイルを別名で保存すれば、新しい編集配列のファイルの完成です。

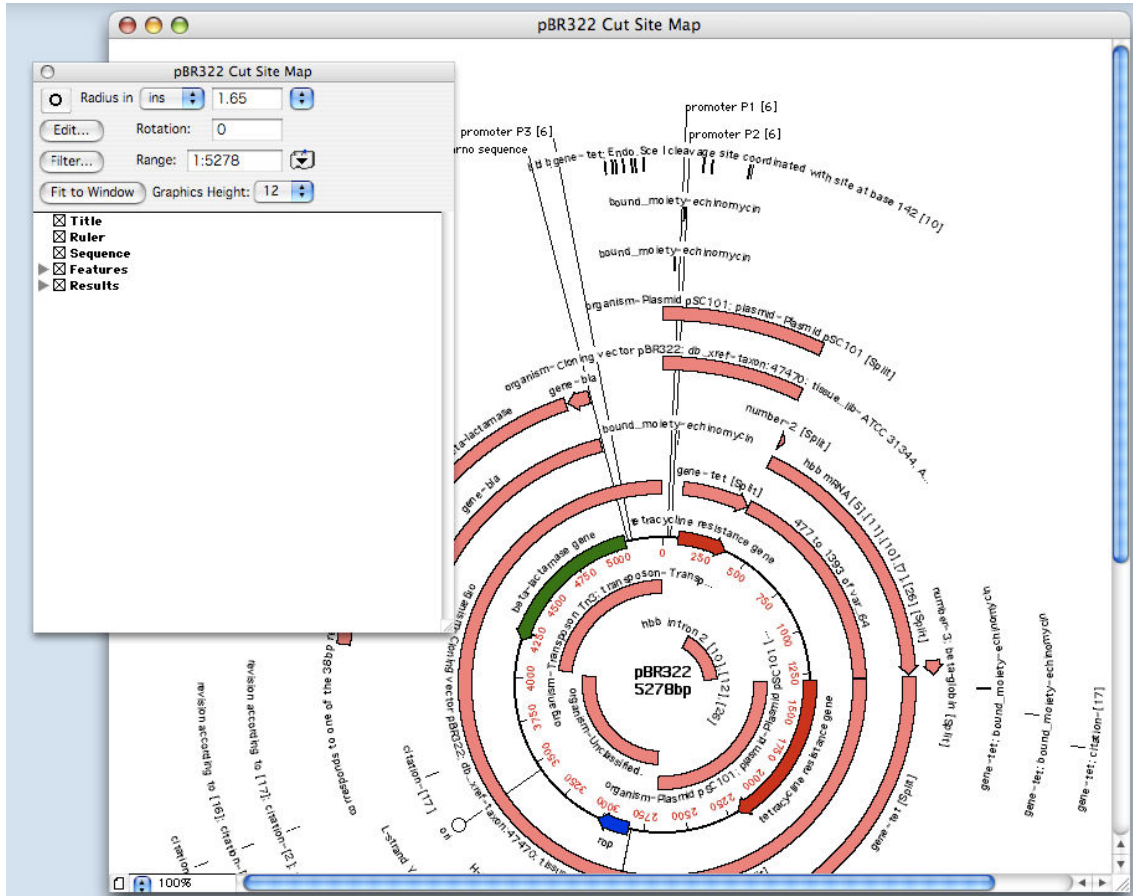


(注意！ これらの作業を行う場合は、配列エディターの編集ロックを解除しておく必要があります。元のデータを損なわないようにするために、あらかじめコピーを行ったファイルを用意することをお勧めします。)

通常、グラフィック画面には Graphic Platte と呼ばれる編集パネルが表示されます。

これ进行操作することにより、グラフィックの表示内容を変更することが可能です。

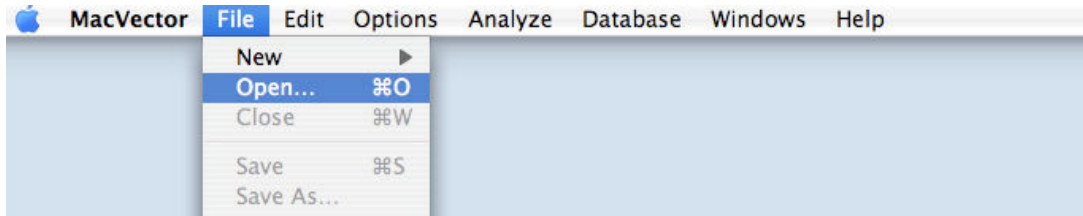
(もし、Graphic Platte が表示されていない場合は、メニューバーの“Windows”から“Show Graphic Platte”を実行してください。)



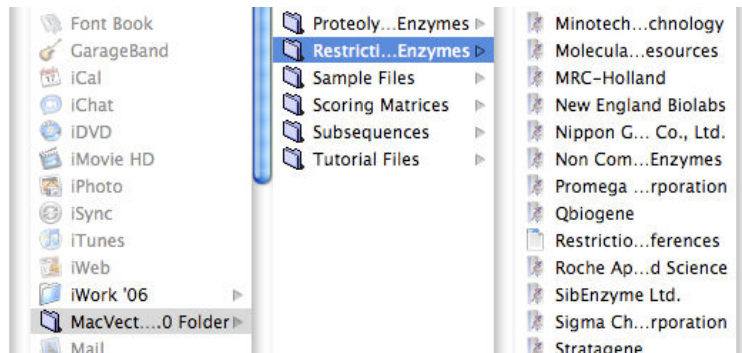
(参考資料：制限酵素リストの作成方法)

制限酵素解析に利用する酵素のリストは自由に作成&編集することができます。

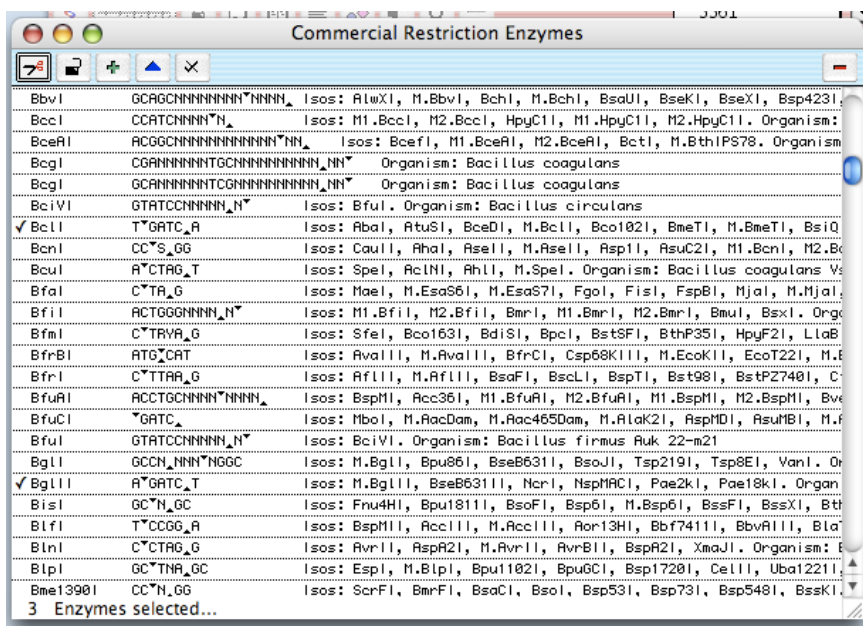
まず、メニューバーの“File”から“Open”を選択してください。



MacVector フォルダの中にある Restriction Enzymes フォルダを選択し、任意の制限酵素ファイルを選びます。



ファイルのロックを解除して、利用する制限酵素を選択します。(control キーを同時に押すことで、複数の酵素を選択できます。全クリアーは右端のボタンをクリックします。)



上部にあるボタンは、+マークが新規の制限酵素の登録用です。

△マークを押すと、選択した制限酵素のアイソザイムが表示されます。

最後に、メニューバーの“File”>“Save as..”で新規の制限酵素ファイルを登録します。

