# Takara Cut-Site Navigator 操作指南

1. 通过浏览器打开 Takara Cut-Site Navigator



2. 在「Sample Name」栏输入序列名称(可选项)



输入的序列名称将作为结果分析输出时的文件名。

3. 将要进行限制酶检索的序列信息输入「Sequence」中。

选择「Cut & Paste DNA Sequence」或「Enter your local file」,输入序列信息。 输入的序列为质粒等环状序列时,选择「Circle」;线状序列时,选择「Linear」。 可使用 N 或 R 等作为简并碱基代码。

\* 例:「Cut & Paste DNA Sequence」: 是将序列直接输入的方法。 将序列复制&粘贴在「Sequence」栏中。

	🖲 Out & Paste DNA sequence	$\odot$ Enter your local file	_
Sequence			🖲 Linear 🗇 Circle

\* 例:「Enter your local file」: 是选择上传序列文件的输入方法。

点击「Enter your local file」,显示文件选择窗口,在窗口中的 Local Disc 中选择相应的序列文件。可使用的文件格式: text 格式、fasta 格式、GenBank 格式。

Sequence	OCut & Paste DNA sequence	⊙Enter your local file	<ul> <li>Linear</li> </ul>
		[ 浏览]	OCircle

## 4. 设置检索条件

使用「Takara Cut-Site Navigator」选择限制酶时,可以设置各种检索条件。以下 6 种检索条件供您选择。

- a) Range
- b) Enzyme
- c) Cutting Type
- d) Search Methylation-Sensitive Enzymes
- e) Recognition Sequence Length
- f) Frequency

c)-f)为隐藏项目,需要显示所有检索条件时,请点击「Setting Detailes」。

	Satting Datalle
OutPo	nt 🖲 Enzyme List 🔿 Sequence 🔿 Outting Image 🖓 Methylation-Sensitive Enzymes List
	<b>↓</b>
	Setting Details
Cutting Type	Image: Sticky end(5'-)         sticky end(3'-)
Search Methylation- Sensitive Enzymes	Sm     6m     Sm       ☑     ····GATC···     ☑
	CpG methylase ( <sup>5m</sup> CG) dam methylase (G <sup>6m</sup> ATC) dcm methylase (C <sup>6m</sup> CWGG)
Recognition Sequence Length	longer than 4 💌
Frequency	Not Zero 💌

#### 每项设置的详细说明如下:

a) Range



此项设置可以用来指定限制酶切位点的序列检索范围。

输入序列检索范围的数字。

#### b) Enzyme

检索指定限制酶时,可使用此项设置,它可以用来选择一种或几种限制酶的一个或几个识别位点。

点击「Enzyme Select」按钮

Enzyme Enzyme Select click here if you choose enzymes.

点击「Enzyme Select」后, 会显示 Takara 在售的全部限制酶。

选择您所要检索限制酶左侧的复选框。

	Select Al	L							
	🖾 Aat II	C Acc I	C Acc II	🖾 Acc II	🔲 Afa I	🔲 Afi II	🔲 Alu I	🔲 Aor 13H I	🔲 Aor51 H I
	🔲 Apa I	🔲 Apal I	🔲 Bəl I	🔲 BamH I	🔲 Ban II	🔲 BciT130 I	🔲 Bcn I	🔲 Bel I	🗏 Bel I
	🔲 Bh I	🔲 BmeT110 I	🔲 BmgT120 I	🔲 Bpu1102 I	🔲 Bsp1286 I	🔲 Bsp1407 I	🔲 BspT104 I	🔲 BspT107 I	🗐 BssH I
	🔲 Bst1107 I	🔲 BstP I	🔲 BstX I	Cfr10 I	🔲 Cla I	🔲 Cpo I	🔲 Dde I	🔲 Dpn I	🗐 Dra I
	🖾 Eæ I	🔲 Eam1105 I	Eco52 I	Eco81 I	🔲 EcoO109 I	EcoO65 I	EcoR I	Eco R V	EcoT14 I
Enzyme	EcoT22 I	🔲 Fba I	🔲 Hae II	🔲 Hae 🎞	🔲 Нар II	🔲 Hha I	🔲 Hin1 I	🔲 Hinc II	🔲 Hind 🎞
	🔲 Hinf I	🕅 Hpa I	🔲 Kpn I	🔲 Mbo I	🔲 Mfl I	🕅 Mlu I	🕅 Msp I	🕅 Mun I	🕅 Nae I
	🔲 Nco I	🔲 Nde I	🔲 Nhe I	🔲 Not I	🔲 Nru I	🔲 Nsb I	🔲 PmaC I	🔲 PshA I	🗐 PshB I
	🔲 Psp1406 I	🔲 Pst I	🔲 Pvu I	🔲 Pvu II	🔲 RspRS II	🔲 Sac I	🔲 Sac II	🔲 Sal I	🗐 Sau3A I
	🖾 Sca I	🔲 Sfi I	🔲 Sma I	🗐 Smi I	🔲 SnaB I	🔲 Spe I	🔲 Sph I	🔲 Sæ8387 I	🗏 Ssp I
	🔲 Stu I	🔲 Taq I	🔲 Tth111 I	🔲 Van91 I	🔲 VpaK11B I	🔲 Xba I	🔲 Xho I	🔲 Xsp I	

当鼠标放在限制酶名称上时,会自动显示该限制酶的酶切位点。此项功能有利于确认指定限制酶的酶

切位点。

Select ALL							
🖾 Ast 🗉	Acc I	🖾 Acc II					
🖾 Apa I	🖾 Apal, I	🖾 Bəl I					
🖾 Bh I	ReeT110 I	ReaT12					
🔲 Bøt1107 I	🛅 G T G	CAC					
🖾 Eæ I	🖂 САС	G T G					

点击所要检索的限制酶,就会自动打开该限制酶产品的网页,便于详细确认该限制酶信息。

DNA restri producing restriction control test maximum for informa double dig	ction enzymes from Takara Bio are unsurpassed in quality and purity. We've been them for over 30 years and were the first manufacturers to offer commercially available anzymes in Japan. Each lot of every DNA restriction enzyme undergoes stringent quality s. Takara Bio DNA restriction enzymes are supplied with optimized buffers that provide activity during restriction enzyme digestion. Visit our Restriction Enzyme Applications page tion on how to digest DNA, relative activity in each Universal Buffer, star activity, buffers f estion, effects of DNA methylation, how to inactivate enzymes, and more.
V	At-A-Glance Documents Images & Data
F	eatures
C	NA Restriction Enzyme: Apal
(	GGCC C
	CCCGG G
,	
	Source: Acetobacter pasteurianus sub. pasteurianus
,	<ul> <li>Source: Acetobacter pasteurianus sub. pasteurianus</li> <li>Concentration: 8-20 units/ul; 30-60 units/ul (high concentration)</li> </ul>

默认设置时,检索对象为 Takara 的全部限制酶。

# c) Cutting Type: 可将限制酶切口类型作为检索条件 选择一种或几种切口类型 Blunt end: 平滑末端 Sticky end (5'-): 5'-突出末端 Sticky end (3'-): 3'-突出末端。

	Cutting Type				
		blunt end	sticky end( 5'- )	sticky end( 3'- )	
ľ					

默认设置时,包含3种切口类型。

#### d) Search Methylation-Sensitive Enzymes

如果限制酶识别序列中的碱基被甲基化,根据被甲基化碱基的种类及位置的不同,有时会发生该DNA 切不开的现象。

使用该检索条件可以查找所选的限制酶是否受甲基化影响。



以下3种甲基化影响可以作为检索条件

**CpG methylase(<sup>5m</sup>CG)**: 受 CpG methylase(<sup>5m</sup>CG)甲基化影响的限制酶。(例如: 哺乳类基因组 DNA 甲基化解析)。

**dam methylase(G<sup>6m</sup>ATC)**:受 dam methylase(G<sup>6m</sup>ATC)甲基化影响的限制酶。(例如:大肠杆菌来 源的甲基化酶)。

**dcm methylase(C<sup>5m</sup>CWGG)** : 受 dcm methylase(C<sup>5m</sup>CWGG)甲基化影响的限制酶。(例如:大肠杆 菌来源的甲基化酶)。

点击选择框,在结果分析中显示对碱基序列切断活性有影响的限制酶的相关信息。

以「Enzyme List」显示结果时,下面红框部分显示受甲基化影响的限制酶识别序列信息。

ample Name : ( So	none) Forma rt by Name	t 1 : Sort by Positi	on Sort by	Format 2 : Marge by Name Name Sort by Free	quency	Go GelSimulation
	Enzyme Name	Frequency	Cutting Position	Recognition Sequence	Methylation- Sensitive Enzymes	
	1 Aat II	1	2,621	GACGT/C	GA5mCGTC	more information
1	2 Acc I	1	430	GT/CGAC	GT <sup>5m</sup> CGAC	more information .
3	3		177	G/TGCAC		
	4 ApaL I	3	1,120	G/TGCAC	GTGCA <sup>5m</sup> C(G)	more information .
	5		2,366	G/TGCAC		
	0 0 117		417	0/01700		1.4

以「Sequence」显示结果时,受甲基化影响的限制酶用 \* 标记。



以「Methylation-Sensitive Enzymes List」显示结果时,只显示受甲基化影响的限制酶。

Sample N	ame	:(none)						
			Form	at 1 :		Format 2 : Marge	e by Name	
		Sort	by Name	Sort by Posi	tion	Sort by Name So	rt by Frequency	
		Enzyme Name	Total Recognition Frequency	Uncutting Frequency	Uncutting Position	Recognition Sequence	Methylation- Sensitive Enzymes	
	1	Aat II	1	1	2,621	GACGT/C	GA <sup>5m</sup> CGTC	more information
	2	Acc I	1	1	430	GT/CGAC	GT <sup>5m</sup> CGAC	more information
	3				3	CG/CG	5mCG5mCG	
	4				108	CG/CG	5mCG5mCG	
	5				653	CG/CG	5mCG5mCG	
	6				853	CG/CG	5mCG5mCG	
	7	Acc II	8	8	1,434	CG/CG	5mCG5mCG	more information
	8				1,764	CG/CG	5mCG5mCG	
	9				2,257	CG/CG	5mCG5mCG	
	10				2,589	CG/CG	5mCG5mCG	
					1.100	0/70040	0700+870(0)	1.6 12

## e) Recognition Sequence Length

根据限制酶识别 DNA 序列长度进行检索。

- 打开下拉式菜单,选择「4」「5」「6」。
- [4]:选择识别序列为4 bp 以上限制酶。
- [5]:选择识别序列为5 bp 以上限制酶。
- 「6」:选择识别序列为6 bp 以上限制酶。

Recognition Sequence Length	longer than	4 💌
Frequency	Not Zero 💌	5 6

# f) Frequency:

根据限制酶切断 DNA 序列的频率进行检索。 打开下拉式菜单,选择「Not Zero」和「0~5」

Frequency	Not Zero		
OutPut	0 1 2 3 4 5	ist	

「Not Zero」: 序列中至少有1个酶切位点的限制酶。

- [0]: 序列中没有酶切位点的限制酶。 [1]: 序列中有 1 个酶切位点的限制酶。
- [2]: 序列中有 2 个酶切位点的限制酶。 [3]: 序列中有 3 个酶切位点的限制酶。
- [4]:序列中有 4 个酶切位点的限制酶。 [5]:序列中有 5 个酶切位点的限制酶。
  - 加立只的限制酶。 [5]:序列中有 5 个酶切位

# 5. 检索条件设置结束后,在「OutPut」处选择检索表示方法。

可从「Enzyme List」、「Sequence」、「Cutting Image」和「Methylation-Sensitive Enzymes List」四种表示形式中选择。

OuPut @Enzyme List O Sequence O Cutting Image O Methylation-Sensitive Enzymes List

注意!如果您使用 R、N 等简并碱基代码,输出结果将会包含多个对应酶切位点。 详细表示方法如下:

\* [Enzyme List]

符合检索条件的限制酶将以表格形式显示。 以表格形式表示的限制酶可进一步根据限制酶名称或切断频率进行排序。 点击「Sort by Name」或「Sort by Frequency」。

Sample N	lame	:(none)									
			Form	at 1 :		Format 2 : Marge	by Name				
		Sort	by Name	Sort by Posi	ition	Sort by Name So	rt by Frequency				
		Enzyme Name	Total Recognition Frequency	Uncutting Frequency	Uncutting Position	Recognition Sequence	Methylation- Sensitive Enzymes				
	1	Aat II	1	1	2,621	GACGT/C	GA <sup>5m</sup> CGTC	more information			
	2	Acc I	1	1	430	GT/CGAC	GT <sup>5m</sup> CGAC	more information			
	3					3	CG/CG	5mCG5mCG			
	4						108	CG/CG	5mCG5mCG		
	5								653	CG/CG	5mCG5mCG
	6				853	CG/CG	5mCG5mCG				
	7	Acc II	8	8	1,434	CG/CG	5mCG5mCG	more information			
	8							1,764	CG/CG	5mCG5mCG	
	9				2,257	CG/CG	5mCG5mCG				
	10				2,589	CG/CG	5mCG5mCG				
				· ·	1 100	0/70010	ama a (Ema/a)	1.6			

### \* [Sequence]

碱基序列上显示相应限制酶的酶切位点。

(限制酶右侧括号中的数字表示该酶切位点的位置。)

Sample	a Name : (none) Go GetSimulation
	□ Frame 1 5'-) □ Frame 2 5'-) □ Frame 3 5'-) Export File(Only Simple Stranded) Export File(ALL)
	□ Frame 4@'-) □ Frame 5@'-) □ Frame 6@'-)
1	TCOSDCGTTTCOSTCATGACGATGACACTCCAGCACTGCAGCTCCCDDAGACAGCCGTCACACGCTGTCTGTCAGCGGAGCAGCAGCAGCCGCCCCACCGGGCGGTGTCOGCGGGTGGCCDGGGGTGGCCDGGGGTGGCCDGGGGTGGCCGGGGGGGG
151	CESENTCHARDCHARTTGTACTGAGAGTGCACCATTGCOGTGTGAATACCCCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCSCACAGATGCGTAACCAGCATCGCCCATTCCGCCATTGCGCCAACTGTTGCGAAGGGCCAATCGCTGCCTAGCCAGCGTGCGGCCAACGGTGCGCGAACGGTGCGCGAGGGCCAACGGTGCGGCCAACGGTGCGCGAGGCGATGCGCGCAACGGTGCGCGAGGCGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGAGGGCGGGGGG
301	TA000040070000AAAA0000001T000CT00AA00004T1AAACT000A00001T10100A0010000001T01AAAAA00A000000AAT00AA00000000
451	TT9925TANTCATGSTCATADCTGTTTCCTGTGTGGAAATTGTTATCC3ETCACAATTGCCACCAACAACATACC5402052AAAAGCGTGAAGCGCGG950502CTAATGAGGAGZTAACTGACATTAATTGCGTTGC5CTCACTGCCC AACC32CATTAGTACCAGTATC3ACAAAAGSGACACACTTTAACATAGSGAGGGTTAAGCTGTGTTGTATCCTC3502CTCGCTATTTCACATTTC53ACC2CAC5GGATACTGACTGACTATAATTGCGTAGGGGGGGGGG
601	GETTICEAGTOGEDAAACTGTOGTOGCAGETGCATTAATAGATGOGECAAGGEOGGGAGAGGEOGGTTIGGGTATGGGCOGETTICCGGTCGCETGGCTGGGTGGGETGGGTGGGETGGGTGGGGCGGGGGGGG
751	CRETCHANGEDEETAATACEETTATCHCREAGAATCHCEEGEATAHCCCHEEGAAAAAAAAATCHCEEGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
901	
1051	GCCCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTGCGTGTAGGTGGTGCGCGCGGTGCGCCCGCGGCGGCGCGCGC
1201	TTATOBCACTOBCAGEAGCACTOSTAACABGATTAGCAGAGCGAGEATGTAGCAGGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTAGGAGCAGAGAAGAAGTATTGGTATCTCCGCTCGCGAGGCGAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT

如果要显示与碱基序列相对应的氨基酸序列,分别选择[Frame 1~6],就会显示相应的氨基酸序列。

Sample	Name : (none) Go GetSimulation
	Frame 1 6 <sup>+</sup> -) □ Frame 2 6 <sup>+</sup> -) □ Frame 3 6 <sup>+</sup> -) Export File(Only Single Stranded ) Export File(ALL)
	□ Frame 43'-) □ Frame 53'-) □ Frame 63'-)
1	S R V S V B T V K T S D T C S S R R R S O L V C K R B P G A D K P V R A R O R V L A G V G A G L T B TCODDCETTIGSTGATGACGETGACAACCTCTGACACATCCAGECTCCCCGGAGGCETCAACAGCTTGTCTGTTAGCCGGAGGCGCCGCCCGCCGCCTGCCGCCTGACGCCGCCTGCCT
151	R H O S R L Y * E C T I C G Y K Y R T D A * G E N T A S G A I R H S G C A T Y G K G D R C G P L R Y CODENTCHARGEMENTTEMPTICATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y CODENTCHARGEMENT CONCENTRATION OF A C C P L R Y C C C C C C P L R Y C C C C C C C C C C C C C C C C C C C
301	Y A S W R K G D Y L O G D * Y G * R O G F P S H D Y Y K R R P Y N S S S Y P G D P L E S T C R H A S TACOCCASTICACCAMACAGOGATCTICCTCAAAACCOCATAGOGCAGOTTTICCOACTICATAAACCAACCACTGACTCCCTAAATCCAACCTCCCACCACCTCAAACCACCCCCTAAAACCACC
451	LA * S W S * LF P V * N C Y P L T I P H N I R A G S I K C K A W G A * * V S * L T L I A L R S L P TIGDODIANTONTONTONTONTONTONTONTONTONTONTONTONTON
601	A F O S G N L S C O L H * * I G O R A G R G G L R I G R S S A S S L T D S L R S Y Y R L R R A Y S A GCTITICEASTOSSEAMACETETICSTGCCAGETGCATTAATGAATGOSSCAGEGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
751	H S K A Y I R L S T E S G D N A G K N N * A K G 0 0 K A R N R K K A A L L A F F H R L R P P D E H H CACTCAMAGEOSGTAATCCGGTTATCCACAGMATCAGEGGGTAMCOCCAGEAMGAMCATGTGAGCAMAAGEOCAGGAMCCGTAMAAGEOCOCCGTTGCGGGGGTTCCCGAGCGATCAC GTGAGTTTCCCCACAGMATAGEGGTTTACTCCCCTATTGCGTCCTTTCTGTACACTCGTTTTCCGGGTCGTTTTCCGGGCGTTTTTCCGGCGGC

\*表示终止密码子或无法推测的氨基酸。

点击「Export File (Only Single Stranded)」或「Export File(ALL)」, 输出 text 格式的文件保存在本地硬盘中。

Export File(Only Single Stranded) Export File(ALL)

请参考以下 2 种结果输出形式。

[Export File (Only Single Stranded)]: 只输出指定区域的单链碱基序列信息。



「Export File(ALL)」:输出界面中显示全部的碱基序列信息、氨基酸序列信息和限制酶信息。

 $\begin{array}{l} \textbf{s} \textbf{rest} \textbf$ 

## \* [Cutting Image]

图示酶切位点在序列中的位置。

在 Cutting Image 中点击 2 个指定的部位,标记×后,点击 [Submit] 键,可放大指定的示意图部分。 放大过度时,点击 [Range Clear] 键,取消指定的范围后,再点击 [Submit] 键就会返回放大前的 初期序列状态。

有时酶切位点重复时,限制酶名称也会重复,不是错误信息。 根据实际情况适当地使用放大功能,确认内容。

需要确认名称重复的限制酶时,将 OutPut 形式变换为「Sequence」并进行确认。

Sample Nam	e : (none) Range Clear		Go	GelSimulation
611	 PvRa18EBaniI Hae II			
1011	×   Hae I	 ABstp1/286 I	 Mbo II	
1411	Mfi Mfi Mbo II	Mfi IMfi Dra I Dra I	BspT107 I	Cfr10 I
1811	 PshB I	 NBbaji1406 I	 Pvu I Eae I	Sca I
2211	Hin1 I			

### \* [Methylation-Sensitive Enzymes List]

使用「Methylation-Sensitive Enzymes」检索受甲基化影响的限制酶时,只选择与检索条件相符的限制酶。

Sample Na	me	(none)								
Format 1 :						Format 2 : Marge by Name				
		Sort	by Name	Sort by Posi	ition	Sort by Name So				
		Enzyme Name	Total Recognition Frequency	Uncutting Frequency	Uncutting Position	Recognition Sequence	Methylation- Sensitive Enzymes			
	1	Aat II	1	1	2,621	GACGT/C	GA5mCGTC	more information .		
E	2	Acc I	1	1	430	GT/CGAC	GT <sup>5m</sup> CGAC	more information .		
	3			8	3	CG/CG	5mCG5mCG			
Г	4				108	CG/CG	5mCG5mCG			
Ē	5				653	CG/CG	5mCG5mCG			
Ē	6				853	CG/CG	5mCG5mCG			
Ē	7	Acc II	8		8	8	1,434	CG/CG	5mCG5mCG	more information
E F	8				1,764	CG/CG	5mCG5mCG	n n		
Ē	9				2,257	CG/CG	5mCG5mCG			
Ē	10					L	2,589	CG/CG	5mCG5mCG	
				-	1.100	0/70010	ama a (Emp/a)			

## \* [Go GelSimulation]

点击各表示形式右侧的「Go GelSimulation」,显示所选择的限制酶切断 DNA 后的模拟电泳图谱。左面的蓝色条带是表示片段大小的 Marker。



# \* [All Clear]

点击 "All Clear"键, 检索条件和输入的信息将全部恢复至初期设定状态。

