



Version Juni 2004

Inhaltsverzeichnis

I. Über diese Anleitung.....	3
1. Konventionen.....	3
2. Copyright.....	3
3. Kontakt.....	3
II. DNS.....	4
1. Anzeigen von DNS-Sequenzen.....	4
2. Toolbar.....	4
3. Detail-Baum.....	4
4. Kartendarstellung.....	4
5. Sequenzdarstellung.....	7
III. Peptide.....	8
1. Toolbar.....	8
2. Funktionen.....	8
3. Sequenzdarstellung.....	8
4. Spezielle Menüs.....	8
IV. PCR und Primer Design.....	9
1. Das PCR-Modul.....	9
2. Dialog „Primer bearbeiten“.....	10
3. Dialog „Stille Mutation“.....	11
V. Sequenzierung.....	12
1. Darstellung.....	12
2. Bearbeitung.....	12
3. Toolbar.....	12
VI. Alignments.....	13
1. Starten des Alignment-Moduls.....	13
2. Dialog „Einstellungen“.....	13
3. Das Alignment-Modul.....	13
VII. Rechner.....	15
1. Rechner „Ligation“.....	15
2. Rechner „DNS-Konzentration“.....	15
3. Rechner „Protein“.....	15
VIII. Bildbetrachter.....	15
IX. Werkzeuge und Dialoge.....	16
1. Ligation.....	16
2. Einstellungen.....	16
3. Öffnen/Speichern/Datenbank verwalten.....	17
4. Importieren.....	18
5. Sequenz eingeben.....	18
6. Sequenz-Editor.....	19
7. Restriktions-Assistent.....	19
8. Projekte.....	20
9. Drucken.....	20
10. Sequenzdarstellung.....	20
11. Restriktionsenzym-Editor.....	20
X. FAQ.....	20

I. Über diese Anleitung

1. Konventionen

- Tasten werden wie folgt markiert : **Taste**
- Menüs, Regler und Buttons werden wie folgt markiert : **MENÜ**
- *Doppelklick* bezieht sich stets auf die *linke* Maustaste.
- *Kontextmenü* ist das Menü, das sich beim Klicken mit der *rechten* Maustaste öffnet.

2. Copyright

GENTle ist ©2004 by Magnus Manske, lizenziert unter GPL

Diese Anleitung ist ©2004 by Magnus Manske, lizenziert unter GFDL

3. Kontakt

Magnus Manske

AG Klein, Institut für Biochemie, Universität zu Köln

Otto-Fischer-Straße 12-14

50674 Köln

0221 – 470 3222

magnus.manske@uni-koeln.de

II. DNS

Im DNS-Modul können DNS-Sequenzen angezeigt, annotiert und bearbeitet werden.















1. Anzeigen von DNS-Sequenzen

DNS-Sequenzen können auf mehrere Arten im DNS-Modul geöffnet werden:

1. Öffnen von Datenbankeinträgen (→[IX.3](#)).
2. Öffnen von Dateien (→[IX.4](#)).
3. Manuelle Eingabe (→[IX.5](#)).
4. Aus einer Teilsequenz eines anderen DNS-Moduls

2. Toolbar

Die Toolbar (1) bietet verschiedene Funktionen und Einstellungen:

-  Neue Sequenz manuell eingeben (→[IX.5](#)).
-  Sequenz öffnen (→[IX.3](#)).
-  Sequenz speichern (→[IX.3](#)).
-  Undo (letzte Aktion rückgängig machen).
-  Ausschneiden (Strg-X).
-  Kopieren (Strg-C).
-  Einfügen (Strg-V).
-  Circularär/linear umschalten (nur für Sequenzen ohne *sticky ends*).
-  Open reading frames anzeigen/verbergen.
-  Features anzeigen/verbergen.
-  Restriktionen anzeigen/verbergen.
-  Nur Kartendarstellung anzeigen.
-  Sequenz bearbeiten.
-  Zoom Zoomen der Kartendarstellung.

3. Detail-Baum

Die Baumdarstellung (2) links oben im Modul zeigt Eigenschaften der DNS-Sequenz, der Features und der Restriktionsschnittstellen. Features und Restriktionsschnittstellen können per Doppelklick ein- bzw. ausgeblendet werden. Weitere Aktionen sind über das jeweilige Kontextmenü abrufbar.

4. Kartendarstellung

Die Kartendarstellung (3) zeigt eine Übersicht der gesamten DNS-Sequenz. Features und Restriktionsschnittstellen werden angezeigt.

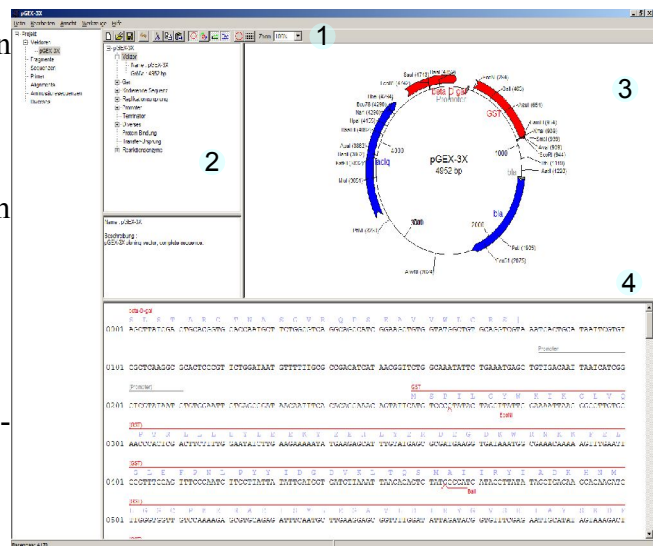


Abbildung II.1: Das DNS-Modul.

Aktionen per Maus

<i>Aktion mit</i>	<i>Maustaste</i>	<i>Funktion</i>
Hintergrund	Links	Sequenz markieren
	Links (Doppelklick)	Sequenz-Editor öffnen
	Mitte	Sequenz anzeigen
	Rechts	Kontext-Menü
Feature	Links	Verschieben
	Links (Doppelklick)	Feature bearbeiten
	Mitte	Feature-Sequenz markieren und anzeigen
	Rechts	Kontext-Menü
Restriktionsschnittstellen	Links	Verschieben
	Links (Doppelklick)	Enzymliste bearbeiten
	Mitte	Restriktions-Assistent (→ IX.7)
	Rechts	Kontext-Menü
Open reading frame	Links	ORF-Sequenz markieren
	Links (Doppelklick)	ORF-Sequenz markieren und anzeigen
	Rechts	Kontext-Menü
Gesamte Karte	Links (+Strg-Taste)	Gezoomten Ausschnitt verschieben

Kontext-Menü

Hintergrund

- SEQUENZ BEARBEITEN
- SEQUENZ TRANSFORMIEREN
- ENZYME LIMITIEREN
- PCR

- PCR
- VORWÄRTS
- RÜCKWÄRTS
- BEIDE
- MUTATION

- AUSWAHL

- AUSSCHNEIDEN
- KOPIEREN
- ALS NEUE SEQUENZ
- ENZYME, DIE HIER SCHNEIDEN
- AUSWAHL ALS NEUES FEATURE
- AMINOSÄUREN EXTRAHIEREN
- BLAST DNS
- BLAST AMINOSÄUREN

Öffnet den Sequenz-Editor (→[IX.6](#)).

Sequenz invertiert und/oder komplementär.

Zeigt nur noch Enzyme, die höchstens n -mal schneiden.

Startet das PCR-Modul (→[IV](#)).

PCR-Modul mit 3'-Primer.

PCR-Modul mit 5'-Primer.

PCR-Modul mit 3'- und 5'-Primer.

PCR-Modul mit Mutagenese-Primern.

Markierte Sequenz ausschneiden.

Markierte Sequenz in die Zwischenablage kopieren.

Ein neues DNS-Modul aus der Markierung erzeugen.

Enzyme, die in der Markierung schneiden (→[IV.3](#)).

Ein neues Feature aus der Markierung erzeugen.

Ein neues AS-Modul aus der Markierung erzeugen.

BLAST-Suche nach der DNS-Sequenz der Markierung.

BLAST-Suche nach der AS-Sequenz der Markierung.

- SEQUENZKARTE
 - IN DIE ZWISCHENABLAGHE KOPIEREN
 - SEQUENZKARTE DRUCKEN
- ORFs ANZEIGEN/VERBERGEN
- ORFs BEARBEITEN

Kopiert die Sequenzkarte in die Zwischenablage.

Druckt die Sequenzkarte.

Schaltet die Open reading frame-Darstellung an/aus.

ORF-Darstellungsoptionen.

Restriktionsschnittstellen

- RESTRIKTIONSENZYM BEARBEITEN
- ENZYM ANZEIGEN/AUSBLENDEN
- ENZYM ENTFERNEN
- RESTRIKTIONS-SITE MARKIEREN
- RESTRIKTIONS-SITE MARKIEREN UND ANZEIGEN
- ENZYM-INFORMATION ONLINE
- ZUM COCKTAIL HINZUFÜGEN
- ZUM COCKTAIL HINZUFÜGEN UND SCHNEIDEN

Restriktionsenzyme entfernen/hinzufügen/organisieren.

Alle Restriktionsschnittstellen des Enzyms anzeigen.

Das Restriktionsenzym entfernen.

Die Restriktions-Site in der Sequenz markieren.

Die Restriktions-Site in der Sequenz anzeigen.

Enzym-Information bei Rebase (Internet-Verbindung!).

Enzym zur Restriktion vorbereiten.

Restriktion mit Enzym vorbereiten und starten.

Features

- FEATURE BEARBEITEN
- FEATURE AUSBLENDEN
- FEATURE LÖSCHEN
- DNS-SEQUENZ
 - MARKIEREN
 - MARKIEREN UND ANZEIGEN
 - KOPIERE (KODIERENDE) SEQUENZ
 - FEATURE ALS NEUE SEQUENZ
 - BLAST DNS
- AMINOSÄURESEQUENZ
 - KOPIERE AMINOSÄURESEQUENZ
 - ALS NEUEN EINTRAG
 - BLAST AMINOSÄUREN

Das Feature bearbeiten (→[IX.6](#))

Das Feature ausblenden.

Das Feature löschen.

Die DNS-Sequenz des Features markieren.

Die DNS-Sequenz des Features anzeigen.

Die (kodierende) DNS-Sequenz des Features kopieren.

Ein neues DNS-Modul aus dem Feature erzeugen.

BLAST-Suche nach Feature-DNS.

Die Aminosäuresequenz des Features kopieren.

Die Aminosäuresequenz als neues Peptid-Modul.

BLAST-Suche nach Feature-AS-Sequenz.

ORFs

- ALS NEUES FEATURE
- DNS-SEQUENZ
 - KOPIERE DNS-SEQUENZ
 - ALS NEUE SEQUENZ
 - BLAST DNS
- AMINOSÄURESEQUENZ
 - KOPIERE AMINOSÄURESEQUENZ
 - ALS NEUE SEQUENZ
 - BLAST AMINOSÄUREN

Aus dem ORF ein neues Feature erzeugen.

Die DNS-Sequenz des ORFs kopieren.

Ein neues DNS-Modul aus dem ORF erzeugen.

BLAST-Suche nach ORF-DNS.

Die Aminosäuresequenz des ORFs kopieren.

Ein neues Peptid-Modul aus dem ORF erzeugen.

BLAST-Suche nach ORF-Aminosäuresequenz.

5. Sequenzdarstellung

Die Sequenzdarstellung (4) wird von vielen Modulen verwendet. Sie wird hier exemplarisch vorgestellt.

Darstellungsoptionen

Zusätzlich zur DNS-Sequenz können komplementäre Sequenz, Features, Restriktionsschnittstellen, codierte Aminosäuresequenzen und deren Protease-Schnittstellen dargestellt werden. Alle verfügbaren Darstellungsoptionen finden sich im Menü **ANSICHT**.

- Features können per Menü, Toolbar oder **F6** ein- bzw. ausgeblendet werden.
- Restriktionsschnittstellen können per Menü, Toolbar oder **F7** ein- bzw. ausgeblendet werden.
- Die komplementäre 3'→5'-Sequenz kann per Menü oder **F8** ein- bzw. ausgeblendet werden.
- Aminosäuresequenzen können per Menü oder Tastenkürzel in ihrer Darstellung verändert werden:
 - **Strg+0** Aminosäuren ausblenden.
 - **Strg+1** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame 1 anzeigen.
 - **Strg+2** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame 2 anzeigen.
 - **Strg+3** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame 3 anzeigen.
 - **Strg+4** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame -1 anzeigen.
 - **Strg+5** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame -2 anzeigen.
 - **Strg+6** Aminosäuren in der gesamten Sequenz mit reading frame -3 anzeigen.
 - **Strg+7** Aminosäuren nur bei bekanntem reading frame anzeigen.
 - **Strg+8** Aminosäuren ausblenden.
 - **Strg+Q** Aminosäuren als ein-Buchstaben-Code anzeigen.
 - **Strg+W** Aminosäuren als drei-Buchstaben-Code anzeigen.

Kontext-Menü

Das Kontext-Menü der Sequenzdarstellung entspricht in weiten Teilen dem der Kartendarstellung. Hinzugekommen sind:

- **ALS BILD KOPIEREN** Die Sequenzdarstellung als Bild in die Zwischenablage kopieren.
- **ALS BILD SPEICHERN** Die Sequenzdarstellung als Bitmap speichern.
- **SEQUENZ DRUCKEN** Die Sequenzdarstellung (bzw. den ausgewählten Bereich) drucken.

Editiermodus

Zwischen Darstellungs- und Editiermodus wird über die Toolbar oder **F2** umgeschaltet. Dabei wird die Sequenzdarstellung während des Bearbeitens der Übersichtlichkeit halber maximiert. Je nach Modul können nur bestimmte Zeichen eingegeben werden, z.B. nur A, C, G oder T im DNS-Modul. Wird eine andere Taste betätigt, erfolgt eine Nachfrage, ob andere Tasten vorübergehend erlaubt werden sollen.







Der Text-Cursor kann ähnlich einer Textverarbeitung bewegt werden. Löschen von Zeichen funktioniert ebenso. Zwischen den Modi „Einfügen“ und „Überschreiben“ kann mit der **Einfg**-Taste umgeschaltet werden, wobei sich der Cursor sichtbar verändert. In manchen Modulen (z.B. PCR, Sequenzierung) ist der Modus „Überschreiben“ fest eingestellt; hier kann auch nicht gelöscht werden.

III. Peptide

Das Peptid- oder Protein-Modul ermöglicht das Darstellen, Annotieren, Analysieren und Bearbeiten von Aminosäuresequenzen.

1. Toolbar

Funktionen der Toolbar (1):

-  Neue Sequenz manuell eingeben (→IX.5).
-  Sequenz öffnen (→IX.3).
-  Sequenz speichern (→IX.3).
-  Ausschneiden (Strg-X).
-  Kopieren (Strg-C).
-  Einfügen (Strg-V).

PLOT Zeigt einen Plot in der Sequenz an.

HORIZONTAL Zeigt die Aminosäuresequenz als eine lange Zeile an.



Abbildung III.1: Das Peptid-/Protein-Modul

2. Funktionen

Eine Liste mit Funktionen (2):

- DATEN Basisdaten der Aminosäuresequenz.
- BESCHREIBUNG Beschreibung der Aminosäuresequenz.
- SCHEMA Schematische Darstellung der Aminosäuresequenz.
- AS-GEWICHT Plot der Aminosäuresequenz nach Aminosäuregewicht.
- AS-PI Plot der Aminosäuresequenz nach isoelektrischem Punkt.
- HYDROPHOBIZITÄT Plot der Aminosäuresequenz nach Hydrophobizität.
- CHOU-FASMAN-PLOT Sekundärstrukturvorhersage nach Chou-Fasman-Methode.

3. Sequenzdarstellung

Die Sequenzdarstellung (3) entspricht weitgehend der des DNS-Moduls. Dabei wird die Aminosäuresequenz bearbeitet; die DNS-Darstellung entfällt offensichtlich. Beim Wechsel in den Editiermodus wird die Sequenzdarstellung *nicht* vergrößert.

Das Kontext-Menü entspricht weitgehend dem der Sequenzdarstellung im DNS-Modul.

4. Spezielle Menüs

- BEARBEITEN/PHOTOMETER-ANALYSE Die Daten des aktuellen Peptids werden in das Rechner-Modul „Protein“ (→VII.3.) eingetragen.
- BEARBEITEN/DNS 'ZURÜCKÜBERSETZEN' Unter Verwendung von IUPAC-Codes wird eine DNS-Sequenz erzeugt, die für das Peptid kodiert.

IV. PCR und Primer Design

In diesem Modul können Primer erstellt und „virtuelle PCR“ durchgeführt werden.








1. Das PCR-Modul

Starten des PCR-Moduls

Das PCR-Modul kann aus dem DNS-Modul gestartet werden, entweder über das Menü WERKZEUGE/PCR, oder über das Kontext-Menü in der Sequenz oder der DNS-Karte. Wenn eine Sequenz markiert ist, können automatisch Primer am Anfang bzw. am Ende der markierten Sequenz erstellt werden. Wenn die markierte Sequenz genau drei Nukleotide lang ist, können wahlweise auch Mutagenese-Primer erstellt werden. Anfangs-, End- und Mutageneseprimer können nur über das Kontext-Menü erstellt werden. Solche automatisch erstellten Primer sind in keiner Weise optimiert und bedürfen manueller Nachbearbeitung.

Toolbar

Die Toolbar (1) des PCR-Moduls bietet folgende Funktionen:

-  Neuen Primer manuell eingeben. Dieser kann dann zur virtuellen PCR hinzugefügt werden (→IX.5).
-  Dateien (Primer) öffnen (→IX.3).
-  Primer hinzufügen. Nur gegenwärtig geöffnete Primer können zur virtuellen PCR hinzugefügt werden. Hinzugefügte Primer annealen automatisch in der optimalen Position und Richtung an der Sequenz.
-  Primer exportieren. Basierend auf der Auswahl in der Primer-Liste wird ein neuer Primer generiert, aber noch nicht gespeichert.
-  Editiermodus (=F2).
-  Features aus-/einblenden.
-  Laufweite der (virtuellen) Polymerase. Dies ist das Äquivalent zur Elongationszeit am (realen) PCR-Gerät. Beim Start des PCR-Moduls und beim Hinzufügen von Primern wird automatisch eine optimale Laufweite geschätzt; diese kann dann bei Bedarf manuell geändert werden.

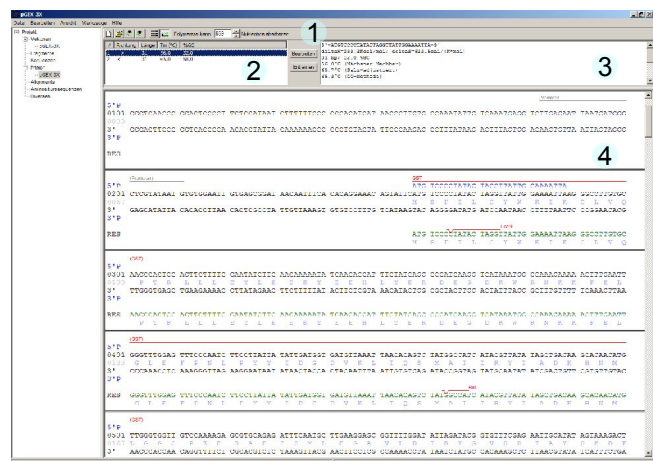


Abbildung IV.1: Das PCR-/Primer Design-Modul.

Primer-Liste

Die Primer-Liste (2) befindet sich unter der Toolbar. Sie zeigt alle in der PCR verwendeten Primer, zusammen mit einigen Eckdaten wie Länge, Schmelztemperatur und Richtung, in welcher der Primer gegenwärtig an die Sequenz annealt.

Wird ein Primer aus der Liste ausgewählt, werden weitere Details des Primers (Primersequenz, self-annealing etc.) im rechten Textfeld (3) dargestellt. Ein Doppelklick auf einen Primer in der Primer-Liste markiert diesen in der Template-Sequenz und zeigt ihn dort an.

Ein ausgewählter Primer kann

- über die Toolbar exportiert werden
- bearbeitet werden (→Dialog „Primer bearbeiten“)
- entfernt werden

Sequenz

Die Sequenzdarstellung (4) umfasst folgende Zeilen:

1. Features des Templates (diese Zeile kann ausgeblendet werden).
2. 5'-Primer.
3. Template-DNS-Sequenz (5'→3').
4. Template-Aminosäure-Sequenz. Der reading frame kann wie im DNS-Modul eingestellt werden.
5. Template-DNS-Sequenz (komplementär, 3'→5').
6. 3'-Primer.
7. Restriktionsschnittstellen der resultierenden Sequenz.
8. Resultierende Sequenz (in grün, 5'→3').
9. Resultierende Aminosäure-Sequenz. Der reading frame entspricht dem der Template-Sequenz.

Primersequenzen

Nur die beiden Primersequenzen (2. & 6. Zeile) können markiert und bearbeitet werden, wobei der „Überschreiben“-Modus fest eingestellt ist. Nukleotide können mit Hilfe der Leertaste gelöscht werden. Ein Druck auf die „Punkt“ (.)-Taste kopiert das jeweilige Nukleotid aus der Template-Sequenz.

Nukleotide, die der Template-Sequenz entsprechen, werden blau dargestellt, „Mismatches“ rot.

Ist ein „leerer“ Bereich der Primer-Sequenz ausgewählt, kann über das Kontext-Menü **AUSWAHL ALS**

NEUEN PRIMER der entsprechende Bereich der Template-DNS als neuer Primer hinzugefügt werden.

Eingeben einer Nucleotidsequenz in einen leeren Bereich der Primer-Sequenz erzeugt *keinen* neuen Primer.

Resultierende Sequenzen

Resultierende DNS- und Aminosäure-Sequenzen können über das Kontext-Menü in die Zwischenablage kopiert oder als neue DNS-/Aminosäure-Sequenz erzeugt werden. Beim Kopieren bleibt *nur* die Sequenz erhalten, Features und Restriktionsenzyme gehen verloren.

Spezielle Menüs

- Restriktionsschnittstelle rechts/links von der Markierung einfügen
Öffnet einen Auswahl-Dialog, in dem ein Restriktionsenzym gewählt werden kann. Die entsprechende Schnittstelle wird dann rechts bzw. links von der aktuellen Markierung eingefügt.

2. Dialog „Primer bearbeiten“

Dieser Dialog wird aufgerufen, indem ein Primer aus der →Primer-Liste markiert wird, und dann der Dialog über **BEARBEITEN** gestartet wird. Er dient der computergestützten Optimierung von Primern.

Rechts werden in einem Textfeld detaillierte Information zum aktuellen Primer dargestellt. Dies entspricht der Anzeige der Primer-Liste.

Links finden sich mehrere Grenzwerte, innerhalb derer automatisch Primer-Variationen erzeugt, untersucht und bewertet werden. Einstellbar sind:

#	Länge	Tm (°C)	Bewertung	Sequenz
1	26	55.1	505.0	AAACCACTAACGTTATACGATGTCG
2	25	54.5	504.7	AACCACTAACGTTATACGATGTCG
3	27	56.1	503.9	GAAACCACTAACGTTATACGATGTCG
4	24	53.8	503.6	ACCACTAACGTTATACGATGTCG
5	27	54.7	500.9	TGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
6	28	55.5	500.7	GTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
7	28	57.4	499.3	TGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
8	27	54.6	498.8	GTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
9	28	56.0	498.1	TGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
10	26	53.2	497.8	GAAACCACTAACGTTATACGATGTCG
11	29	56.8	497.6	TGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
12	26	53.7	497.3	TGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
13	29	56.4	497.1	ATGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
14	27	55.2	497.0	TGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
15	28	55.6	496.6	ATGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
16	30	57.2	496.0	ATGTGAACCACTAACGTTATACGATGTCG
17	25	56.1	495.7	ACCACTAACGTTATACGATGTCG

Abbildung IV.2: Dialog "Primer bearbeiten"

- Die Variation des 5'-Endes des Primers nach links bzw. rechts. (1)
- Die Variation des 3'-Endes des Primers nach links bzw. rechts. (2)
- Die minimale bzw. maximale Länge des Primers. (3)
- Die minimale bzw. maximale Schmelztemperatur des Primers. (4)

Bei jeder Änderung dieser Werte erfolgt eine sofortige Neuberechnung möglicher Primer unter Berücksichtigung der neuen Grenzwerte. Die berechneten Primer werden intern bewertet, und, nach absteigender Bewertung sortiert, zusammen mit einigen Eckdaten in einer Liste in der unteren Hälfte des Dialogs (5) angezeigt. Ein Doppelklick auf einen dieser Einträge legt die ausgewählte Variante als neuen Primer fest; dieser wird dann in der mittleren Zeile des Dialogs angezeigt, und das Textfeld (6) zeigt detaillierte Daten des neuen Primers an.

Mit ZURÜCKSETZEN wird der ursprünglich in der Primer-Liste ausgewählte Primer wieder hergestellt.

Mit OK wird der aktuelle Primer in das PCR-Modul übernommen. Er ersetzt dabei den ursprünglich in der Primer-Liste ausgewählten Primer.

ABBRUCH kehrt zum PCR-Modul zurück, ohne dieses zu ändern. Änderungen aus dem Dialog werden dabei verworfen.

3. Dialog „Stille Mutation“

Dieser Dialog wird aufgerufen, indem ein Primer (oder ein Teil eines Primers) in der Sequenz markiert wird. Der Dialog wird dann über das Kontext-Menü STILLE MUTATION aufgerufen.

Der Dialog hilft bei der Suche nach *stillen Mutationen*. Das sind Mutationen, welche eine neue Restriktionsschnittstelle einführen, die resultierende Aminosäuresequenz jedoch nicht verändern. Stille Mutationen sind hilfreich, um den Erfolg einer PCR zu überprüfen. Dabei wird die während der PCR erzeugte DNS mit dem

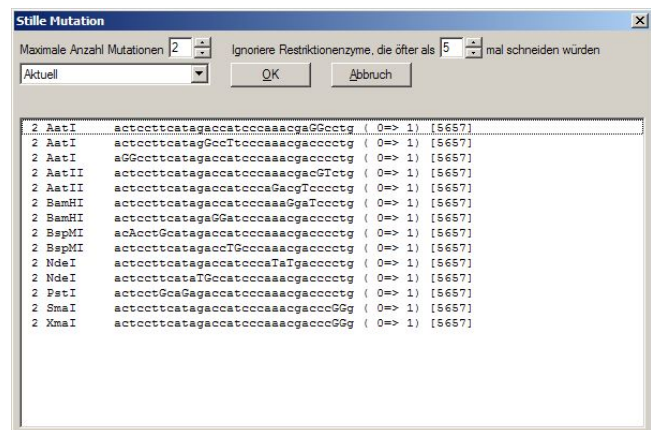


Abbildung IV.3: Dialog "Stille Mutation"

gewählten Restriktionsenzym geschnitten. Die Anzahl bzw. Länge der resultierenden DNS-Fragmente zeigt, ob durch die PCR eine neue Restriktionsschnittstelle erzeugt wurde, was den Erfolg der PCR nachweist.

Die Suche nach stillen Mutationen kann im Dialog wie folgt begrenzt werden:

- *Maximale Anzahl Mutationen.* Da Primer möglichst gut zu ihrer Zielsequenz passen sollen, ist die Zahl der eingeführten Mutationen möglichst gering zu halten.
- *Ignoriere Restriktionsenzyme, die öfter als X mal schneiden würden.* Wird der gesamte Vektor von einem Restriktionsenzym in viele Fragmente zerschnitten, ist eine zusätzliche Restriktionsschnittstelle nur schwer oder gar nicht zu erkennen.
- Die Gruppe der Enzyme, für die stille Mutationen gesucht werden, kann bestimmt werden. Alle Enzyme zu durchsuchen kann auf langsamen Computern lange dauern, und bringt viele „gute“ Resultate, die in der Praxis oft am Fehlen der Enzyme scheitern. Daher ist beim Start des Dialogs die Gruppe der aktuellen Enzyme ausgewählt.

Wird eine dieser Einstellungen verändert, werden alle passenden stillen Mutationen sofort neu berechnet. Die Liste der stillen Mutationen zeigt in jeder Zeile

- die Anzahl der nötigen Mutationen zur Einführung dieser Schnittstelle,
- den Namen des Restriktionsenzym,
- die mutierte Sequenz, wobei die originalen Nukleotide als Kleinbuchstaben und die Mutationen als Großbuchstaben dargestellt werden,

VI. Alignments

Das Alignment-Modul ermöglicht die Berechnung und Darstellung von DNS- und Aminosäure-Sequenz-Alignments.

1. Starten des Alignment-Moduls

Das Modul kann über das Menü WERKZEUGE/ALIGNMENT oder das Tastenkürzel **Strg-G** aufgerufen werden.

Beim Start des Moduls erscheint der Einstellungs-Dialog, der auch später über den entsprechenden Button aufgerufen werden kann. Beim Import eines Alignments aus einer Datei (über DATEI/IMPORTIEREN) wird dieser Dialog nicht aufgerufen, da bereits ein Alignment vorliegt, das nur noch dargestellt werden muss.

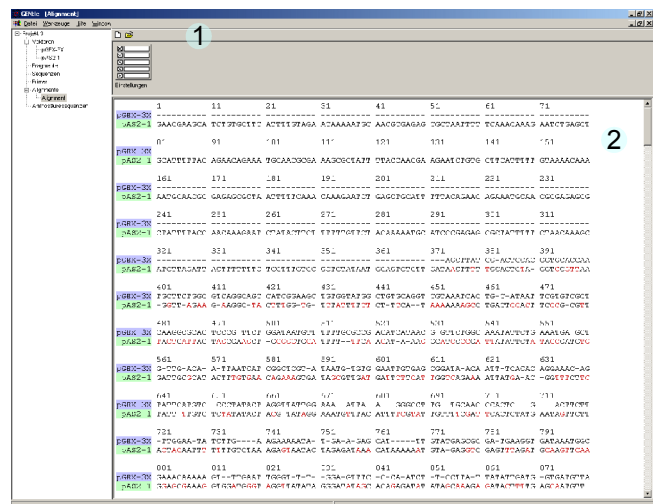


Abbildung VI.1: Das Alignment-Modul

2. Dialog „Einstellungen“

Der Einstellungs-Dialog wird entweder automatisch oder über den entsprechenden Button aufgerufen. Hier können die zu alignenden Sequenzen und deren initiale Reihenfolge, sowie der zu verwendende Alignment-Algorithmus und dessen Parameter festgelegt werden. Als Algorithmen stehen zur Verfügung:

1. **Clustal-W.** Dieser Algorithmus ist standardmäßig ausgewählt und benutzt ein externes Programm zur Berechnung. Clustal-W erzeugt *globale Alignments* (Sequenzen, die etwa gleich lang sind) von hoher Qualität.
2. **Smith-Waterman.** Ein interner Algorithmus für *lokale Alignments* (mehrere kurze Sequenzen werden gegen eine längere aligned). Dabei ist die erste Sequenz die lange „Master“-Sequenz, gegen die alle anderen Sequenzen aligned werden. Der Algorithmus ist schneller als Clustal-W, eignet sich aber nur für einfache Alignments, insbesondere zur Überprüfung von Sequenzierungen.
3. **Needleman-Wunsch.** Ein interner Algorithmus für globale Alignments. Der Algorithmus ist schneller, aber qualitativ schlechter als Clustal-W. Wie bei Smith-Waterman werden alle Sequenzen gegen die erste Sequenz aligned, *nicht* untereinander. Der Algorithmus eignet sich zum schnellen Vergleich mehrerer, (sehr) ähnlicher Sequenzen.

Achtung: Das Beenden des Dialogs mit OK führt zur Neuberechnung des Alignments. Alle manuell im Alignment vorgenommenen Änderungen (eingefügte Lücken etc.) gehen dabei verloren!

3. Das Alignment-Modul

Toolbar (1)



Neue Sequenz manuell eingeben (→[IX.5](#)).



Dateien öffnen (→[IX.3](#)).



Alignment speichern (→[IX.3](#)).

HORIZONTAL

Zeigt das Alignment als eine lange Zeile an. Das kann die Übersichtlichkeit beim Alignment vieler Sequenzen erhöhen.

MITTLERE MAUSTASTE

Aktion beim Betätigen der mittleren Maustaste. Alle Aktionen können auch in der Sequenz über das Kontext-Menü ausgewählt werden.

EINSTELLUNGEN

Öffnet den Einstellungs-Dialog.

Menü „Ansicht“

- FETT Stellt alle Zeichen fett dar.
- MONO Monochrom-Darstellung (keine Farben).
- KONSERVIERT Stellt einen Punkt '.' dar, falls die Base/Aminosäure der in der 1. Sequenz entspricht.
- NORMAL Standard-Darstellung
- INVERTIERT Weiße Schrift auf farbigem Hintergrund (Ausnahme: Lücken)
- STÄRKE DES ALIGNMENTS [nicht implementiert]
- STÄRKE DES ALIGNMENTS (INVERTIERT) [nicht implementiert]
- ÄHNLICHKEIT [nicht implementiert]
- FREQUENZ [nicht implementiert]
- FEATURES [nicht implementiert]
- RNA [nicht implementiert]
- IDENTITÄT Markiert gleiche/ähnliche Basen/Aminosäuren in einer zusätzlichen „Sequenz“.

Sequenzdarstellung (2)

Die Sequenzdarstellung des Alignments kann über das Kontextmenü angepasst werden. Dabei wird das Alignment *nicht* neu berechnet, lediglich die Darstellung wird verändert.

- Zeilen können umgeordnet werden.
- Features der Sequenz können angezeigt bzw. ausgeblendet werden. Standardmäßig werden die Features der ersten Sequenz angezeigt, die der anderen Sequenzen werden ausgeblendet.
- Lücken können eingefügt bzw. entfernt werden (in einer Zeile bzw. in allen anderen).

Ein Doppelklick auf eine Base/Aminosäure (*nicht* auf eine Lücke) öffnet das entsprechende Fenster und markiert die Stelle dort. Das kann z.B. bei der Überprüfung von Sequenzierungen hilfreich sein.

Sequenzen können in der Alignment-Darstellung *nicht* direkt bearbeitet werden. Dazu müssen die Originalsequenz bearbeitet und ein neues Alignment errechnet werden.

VII. Rechner

Das Rechner-Modul kann über das Menü **WERKZEUGE/RECHNER** aufgerufen werden. Es umfasst mehrere spezialisierte Rechner für typische molekularbiologische Aufgaben. Dabei werden generell vom Benutzer einzugebende Werte blau unterlegt, sowie die Ergebnisse der Berechnung in roter Schrift dargestellt.

1. Rechner „Ligation“

Dieser Rechner ermittelt die zu pipettierenden Mengen von Insert und Vektor für eine Ligation. Einzugeben sind die Länge von Insert bzw. Vektor, deren jeweils vorliegende Konzentration, sowie das gewünschte Verhältnis von Insert zu Vektor (typischerweise 4:1 oder 5:1).

Ebenfalls anzugeben ist die gewünschte Gesamtmasse der ligierten Moleküle. Ist keine bestimmte Gesamtmasse erforderlich, kann über diesen Wert auch das Ergebnis dahingehend beeinflusst werden, dass „pipettierbare“ Mengen entstehen (z.B. 2µl statt 0.34µl).

2. Rechner „DNS-Konzentration“

Aus Photometerwerten der Absorption einer DNS-Lösung bei 260 bzw. 280 nm können Reinheit und Menge der DNS errechnet werden. Wurde eine verdünnte DNS-Lösung gemessen, kann über die Angabe der Verdünnung die DNS-Menge der Stammlösung errechnet werden; für unverdünnte DNS-Lösung ist ein Verhältnis 1:1 (Eingabe „1“) zu verwenden.

Bei der Messung von einzelsträngiger DNS/RNA bzw. Oligonukleotiden ist der entsprechende Korrekturfaktor einzugeben.

3. Rechner „Protein“

Aus Photometerwerten der Absorption einer Protein-Lösung bei 250 bzw. 280 nm können Protein-Reinheit und Konzentration berechnet werden. Die Daten können manuell eingetragen werden, oder aus dem Peptid-Modul (→[III](#)) über das Menü **BEARBEITEN/PHOTOMETER-ANALYSE** automatisch generiert werden.

VIII. Bildbetrachter

Das Bildbetrachter-Modul kann über das Menü **WERKZEUGE/BILDBETRACHTER** aufgerufen werden. Es dient zur Darstellung von digitalen Bildern, vornehmlich Gel-Bildern. Unterstützt wird momentan das IMG-Format von BioRad.

Über den Button in der linken oberen Ecke des Moduls kann das Verzeichnis gewechselt werden. Alle Dateien des Verzeichnisses werden in der Liste unter dem Button angezeigt. Das Auswählen einer Datei (*einfacher Klick!*) zeigt das entsprechende Bild an. Über das Kontext-Menü (*im Bild klicken*) kann das Bild in die Zwischenablage kopiert, als .BMP-Datei gespeichert oder ausgedruckt werden.

Bekannte Fehler:

- Möglicherweise wirkt das Bild bei der Darstellung gerastert. Auf einem Ausdruck erscheint es aber trotzdem normal.
- Wurde das Bild in der BioRad-IMG-Datei mit Beschriftungen versehen, werden diese möglicherweise leicht versetzt angezeigt.
- Wird die Bilddarstellung von einem anderen Fenster überlagert, verschwindet die Darstellung. Erneutes Auswählen der Datei stellt das Bild wieder korrekt dar.

IX. Werkzeuge und Dialoge

1. Ligation

Der Ligation-Dialog dient zur virtuellen Ligation zweier oder mehrerer DNS-Fragmente. Er kann über das Menü WERKZEUGE/LIGATION oder **Strg-L** erreicht werden.

Die linke Seite des Dialogs zeigt DNS-Sequenzen, die ligiert werden können. Einige davon werden zu Beginn automatisch ausgewählt, die Auswahl kann aber manuell verändert werden.

Die rechte Seite des Dialogs zeigt die Liste aller möglichen Produkte der Ligation dar, basierend auf der Auswahl auf der linken Seite. *Bei vielen möglichen Ligrationsprodukten kann die Neuberechnung länger dauern.* Ausgewählte Ligrationsprodukte werden durch den Button **Ligieren** als neue DNS-Module erzeugt.

Bei der Berechnung möglicher Ligrationsprodukte wird jedes zur Verfügung stehende Fragment höchstens einmal verwendet. Bei circulären Ligrationsprodukten werden zwei Formen („A-B“ und „B-A“) angezeigt, die sich nicht in der Sequenz, jedoch im Layout unterscheiden. Im Zweifelsfall sollten beide erzeugt, verglichen, und dann eines gelöscht werden.

2. Einstellungen

Über das Menü WERKZEUGE/EINSTELLUNGEN können verschiedene Einstellung für das Programm gewählt werden.

Globale Einstellungen

- | | |
|---------------------------|--|
| • SPRACHE | Momentan werden Englisch und Deutsch unterstützt. |
| • BESSERE ANZEIGE | Abschalten, falls die Anzeige zu langsam ist. |
| • ZEIGE SEQUENZNAME | Titel einer DNS-Sequenz in der Kartendarstellung zeigen. |
| • ZEIGE SEQUENZLÄNGE | Länge einer DNS-Sequenz in der Kartendarstellung zeigen. |
| • LETZTES PROJEKT LADEN | Beim Programmstart das letzte bearbeitete Projekt laden. |
| • METAFIle-FORMAT | Bilder für die Zwischenablage im Metafile-Format. |
| • SPLASHSCREEN | GENTle-Bild beim Programmstart. |
| • AUF NEUE VERSION PRÜFEN | Internet-Abfrage, ob eine neue GENTle-Version verfügbar ist. |
| • INTERNE HILFE | Internes Hilfe-Fenster (sonst: Standard-Web-Browser). |



Enzym-Einstellungen

Hier können Einstellungen für Enzyme, die automatisch in jeder DNS-Sequenz angezeigt werden sollen, vorgenommen werden. Alle Einstellungen könne separat für jede Sequenz über den Sequenz-Editor (→[IX.6](#)) angepasst und mit der Sequenz gespeichert werden.

- | | |
|---|--|
| • GLOBALE ENZYM-EINSTELLUNGEN VERWENDEN | Enzym-Einstellungen global an/aus |
| • ENZYME ZUSAMMENFASSEN | Fasst Isoenzyme in der Darstellung zusammen |
| • FARBKODIERUNG | Zeigt 1/2/3-Cutter farbig |
| • SCHNITT-MINIMUM | Zeigt nur Enzyme, die mindestens n-mal schneiden |
| • SCHNITT-MAXIMUM | Zeigt nur Enzyme, die höchstens n-mal schneiden |
| • BENUTZE ENZYME MIT ... | Zeigt nur Enzyme, die 3'/5'/Blunt-Enden erzeugen |
| • SEQUENZLÄNGE 4, 5, 6, >6 | Zeigt nur Enzyme mit Erkennungssequenz 4, 5, 6, >6 |
| • BENUTZE ENZYMGRUPPE | Zeigt nur Enzyme aus dieser Enzymgruppe |
| • ZEIGE METHYLIERUNG (DAM/DCM) | Zeigt DAM/DCM-Methylierung rot an |

3. Öffnen/Speichern/Datenbank verwalten

Dieser Dialog kann wie folgt erreicht werden:

- Über  oder  in der Toolbar
- Über **Strg-O** oder **Strg-S**
- Über die Menüs **DATEI/ÖFFNEN** oder **DATEI/SPEICHERN**
- Über das Menü **WERKZEUGE/DATENBANK VERWALTEN**

Verwaltung

Hier werden die Einträge in den Datenbanken angezeigt. Einträge können gesucht, umbenannt, kopiert, verschoben, gelöscht und ggf. gespeichert werden.

Zwei Listen

Über **ZWEI LISTEN** (1) kann zwischen einer und zwei parallelen Datenbank-Ansichten umgeschaltet werden. Die zwei-Listen-Ansicht kann benutzt werden, um Einträge zu kopieren und zu verschieben; ausserdem wird in beiden angezeigten Datenbanken gesucht. Die Datenbank kann aus der Drop-Down-Box (2) über der jeweiligen Liste (3) ausgewählt werden. Standardmäßig sind die lokale und die Standard-Datenbank ausgewählt.

In der zwei-Listen-Ansicht können Einträge verschoben werden, indem sie mit der Maus in der einen Liste „gegriffen“ und in der anderen Liste „fallengelassen“ werden. Wird während des „Fallenlassens“ **Strg** gedrückt gehalten, wird der Eintrag kopiert.

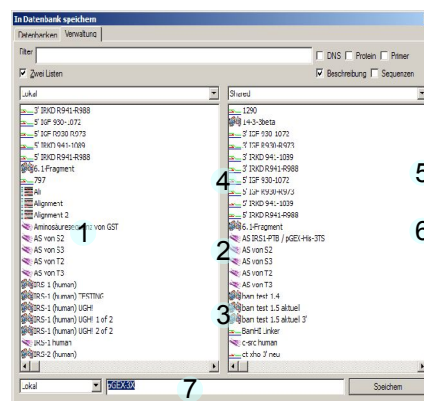


Abbildung IX.1: Datenbank verwalten.

Suchen

Über den **FILTER** (4) können Einträge effizient gesucht werden. Ein oder mehrere Suchbegriffe können dort eingetragen werden; Suchbegriffe werden durch Leerzeichen getrennt, und nur Einträge, die *alle* Suchbegriffe beinhalten, werden angezeigt.

Standardmäßig werden alle Typen von Einträgen durchsucht und angezeigt. Über **DNS**, **PROTEIN** und **PRIMER** (5) kann man die Suche auf die angewählten Typen einschränken.

Standardmäßig wird auch die Sequenz-Beschreibung durchsucht; dies kann durch Abwählen von **BESCHREIBUNG** unterbunden werden. Zusätzlich kann auch die **SEQUENZ** selbst durchsucht werden (6).

Öffnen

Einen einzelnen Eintrag kann man durch einen Doppelklick öffnen. Mehrere Einträge können, als Gruppe durch Ziehen eines Rahmens mit der linken Maustaste oder durch Auswahl mehrerer Einträge bei gedrückter **Strg**-Taste, ausgewählt und über das Kontext-Menü **Öffnen** oder durch drücken der **Eingabetaste** (**Return** oder **Enter**) geöffnet werden.

Über das Kontext-Menü können Einträge umbenannt oder permanent gelöscht werden.

Speichern

Soll eine Sequenz gespeichert werden, sind unten im Dialog neue Elemente (7) zu sehen:

- Eine Drop-Down-Box mit der Datenbank, in der die Sequenz gespeichert werden soll. Bei einer neuen Sequenz ist die Standard-Datenbank ausgewählt, sonst die Datenbank, aus der die Sequenz ursprünglich geladen wurde.
- Der Name, unter dem die Sequenz gespeichert werden soll.
- Der **SPEICHERN**-Button.

Bestehende Einträge werden (mit Nachfrage) überschrieben, *wenn die bestehende Sequenz identisch ist*. Sollte die zu speichernde Sequenz sich in ihrer Nukleotid- bzw. Aminosäureabfolge von der bestehenden unterscheiden, muss sie unter einem anderen Namen gespeichert werden, oder die bestehende Sequenz muss zuerst über das Kontext-Menü gelöscht werden.

Wird ein Eintrag in der/einer der Liste(n) ausgewählt, ändert sich der Name der zu speichernden Sequenz entsprechend. Das ist hilfreich, wenn der neue Name der Sequenz einem bestehenden ähneln soll.

Datenbank

Hier können ganze Datenbanken neu erstellt oder existierende hinzugefügt werden. Außerdem können Einträge für Datenbanken (*nicht* die Datenbanken selbst!) entfernt (ENTFERNEN) oder zur Standard-Datenbank erklärt werden (ALS STANDARD).

Datei-Datenbanken (Sqlite) und MySQL-Datenbanken können über die entsprechenden HINZUFÜGEN-Buttons zur Liste der Datenbanken hinzugefügt werden. Bei Datei-Datenbanken wird dabei nur der Dateiname benötigt; MySQL-Datenbanken benötigen mehr Informationen. Datei-Datenbanken sind einfach anzulegen (NEU) und zwecks Transport oder Backup zu duplizieren (kopieren der Datei genügt), werden aber bei großen Datenbeständen oder beim Zugriff über Netzwerk zunehmend langsamer. MySQL-Datenbanken sind komplizierter anzulegen und zu verwalten, bieten aber einen Geschwindigkeitsvorteil. Die lokale Datenbank ist eine Datei-Datenbank. Sie wird beim ersten Programmstart automatisch angelegt und kann nicht entfernt werden.

4. Importieren

Der Importieren-Dialog kann über das Menü DATEI/IMPORTIEREN oder **Strg-I** erreicht werden. Über ihn können Sequenzen aus Dateien in GENTle geladen werden. Standardmäßig prüft GENTle jede der ausgewählten Dateien auf ihr Format (mehrere Dateien können durch das Gedrückthalten von **Strg** ausgewählt werden). Es kann aber auch ein Format vorgegeben werden. Folgende Formate können importiert werden:

- GenBank
- GenBank XML
- Clone
- ABI/AB1 (Sequenzierer-Format)
- FASTA
- PDB (3D-Format, Import als annotierte Sequenz)
- Eine Reihe weiterer, einfacher Formate

5. Sequenz eingeben

Der Eingabe-Dialog kann über das Menü DATEI/SEQUENZ EINGEBEN oder über **Strg-N** erreicht werden. Über ihn können Sequenzen manuell eingegeben werden. Es können Titel der Sequenz, Format/Typ, sowie die Sequenz selbst eingegeben werden. An Formaten stehen zur Auswahl:

- DNS
- Aminosäuren
- GenBank
- GenBank-XML
- Primer

Bei den Formaten DNS und Aminosäuren werden nicht-passende Zeichen (z.B. Ziffern) automatisch entfernt. Handelt es sich bei der Sequenz um einen Primer, *muss* als Typ auch Primer angegeben werden (*nicht* DNS).

6. Sequenz-Editor

Im Sequenz-Editor können Eigenschaften der Sequenz, Features, sowie die zu verwendenden Restriktionsenzyme und Proteasen angegeben und bearbeitet werden. Alle Änderungen werden erst durch OK in die Sequenz übernommen.

Eigenschaften

Hier können Sequenzname und -Beschreibung geändert werden. Handelt es sich um eine DNS-Sequenz, können hier auch *sticky ends* angegeben werden.

Features

Hier werden die Features der Sequenz angezeigt. Es können Features hinzugefügt, gelöscht und verändert werden. Änderungen an einem Feature müssen nicht bestätigt werden, es genügt, ein anderes Feature auszuwählen oder OK zu drücken.

Die Einstellung `LESERASTER` ist nur verfügbar, wenn als Typ „Kodierende Sequenz“ ausgewählt wurde. Wenn der Punkt `KODIEREND` angewählt ist, wird dir Sequenz 5'→3' gelesen (Standard), andernfalls 3'→5'. `AUSWAHL LÖSCHEN` bezieht sich nur auf die *Auswahl* eines Features; um ein Feature zu löschen, `FEATURE LÖSCHEN` benutzen.

Über `FEATURE BEARBEITEN` können verschiedene Darstellungs-Varianten des Features gewählt werden:

- `FÜLLFARBE` Die Farbe, mit der das Feature in der Kartendarstellung gezeigt wird.
- `DARSTELLUNG IN SEQUENZ` Die Form des Features in der Sequenzdarstellung.
- `OFFSET BENUTZEN` Aminosäure-Offset in der Sequenzdarstellung.

Restriktionsenzyme

Auf der linken Seite werden alle aktuell in der Sequenz verwendeten Restriktionsenzyme angezeigt. Auf der rechten Seite sind alle definierten Enzym-Gruppen angezeigt. Die Enzyme in der ausgewählten Gruppe werden rechts unten angezeigt. Enzyme können zwischen den Listen über die mittig angeordneten Buttons bewegt werden.

Restriktionsenzyme (2)

Dies entspricht weitgehend den globalen Enzym-Einstellungen (→[IX.2](#)), welche hier für diese Sequenz angepasst werden können. Die vorgenommen Änderungen werden zusammen mit der Sequenz gespeichert.

Proteasen

Hier können Proteasen ausgewählt werden, deren Schnittstellen dann in der Sequenz angezeigt werden. Neue Proteasen können zur Liste hinzugefügt werden.

- Beispiel : Thermolysin
 - Sequenz : !DE|AFILMV
 - Erklärung : „nicht D oder E“, „dann Schnitt“, „dann A, F, I, L, M oder V“
- Beispiel : Proline-endopeptidase
 - Sequenz : HKR, P|!P
 - Erklärung : „H, K oder R“, „dann P“, „dann Schnitt“, „dann nicht P“

7. Restriktions-Assistent

Der Restriktions-Assistent kann über das Menü `WERKZEUGE/RESTRIKTIONS-ASSISTENT` oder über die Auswahl einer Restriktionsschnittstelle in der Kartendarstellung einer DNA-Sequenz durch die mittlere Maustaste gestartet werden (→[II.4](#)). Im letzten Fall wird das ausgewählte Enzym

automatisch markiert.

Auf der linken Seite des Dialogs werden die verfügbaren Enzyme angezeigt, abhängig von den Einstellungen unter GRUPPE und UNTERAUSWAHL. Die Liste kann nach Enzym oder Anzahl der Schnitte durch Klicken auf den entsprechenden Titel sortiert werden. Ist ein Enzym ausgewählt, werden die Schnittpositionen und Fragmente unten links angezeigt.

Die rechte Liste zeigt den Restriktions-„Cocktail“. Mit den Enzymen im „Cocktail“ wird später die Restriktion durchgeführt. Die dabei entstehenden Fragmente werden rechts unten angezeigt. Enzyme können durch ZUM COCKTAIL hinzugefügt und durch RESTRIKTIONSENZYM ENTFERNEN aus dem „Cocktail“ gelöscht werden. Über FERTIG gelang man zurück zur Sequenz, wobei der „Cocktail“ gespeichert wird; ABBRUCH verläßt den Restriktions-Assistenten und verwirft die vorgenommenen Änderungen.

STARTE RESTRIKTION erzeugt die Fragmente als neue DNA-Module, wobei die Originalsequenz erhalten bleibt. KEINE FRAGMENTE UNTER ___ BASENPAARE ERSTELLEN limitiert dabei die Fragmente auf eine Mindestgröße; diese Option ist abschaltbar.

8. Projekte

Ein Projekt ist eine Sammlung von Sequenzen, die zusammengehören. Projekte können über DATEI/PROJEKT SPEICHERN bzw. F12 gespeichert oder über DATEI/PROJEKT LADEN bzw. F11 geladen werden. Je nach Einstellungen (→IX.2) wird das zuletzt verwendete Projekt beim Start von GENTle automatisch geöffnet.

Projekte speichern nur die Namen/Datenbanken der Sequenzen des Projekts, *nicht* die Sequenzen selbst. Wird eine der Sequenzen des Projekts verschoben, umbenannt oder gelöscht, wird diese Sequenz beim nächsten Öffnen des Projekts nicht mit geöffnet werden. Ein entsprechender Hinweis wird dabei angezeigt.

9. Drucken

Sequenz- und Kartendarstellungen können über deren Kontext-Menü gedruckt werden. Über das Menü Datei/Bericht drucken kann auch eine Übersichtsseite gedruckt werden, auf der sowohl die Kartendarstellung als auch eine Liste der Features und Daten der Sequenz dargestellt werden. Der Bericht umfasst *nicht* die Sequenz selbst.

10. Sequenzdarstellung

- Die gesamte Sequenz kann mit **Strg-A** oder über das Menü BEARBEITEN/ALLES MARKIEREN ausgewählt werden.
- Mit **Strg-F** oder über das Menü BEARBEITEN/SUCHEN kann innerhalb einer Sequenz gesucht werden.

11. Restriktionsenzym-Editor

Dieser Dialog dient zur Verwaltung von Restriktionsenzymen. Er entspricht dem Restriktionsenzym-Teil des Sequenz-Editors (→IX.6).

X. FAQ

Frequently asked questions – Häufig gestellte Fragen

Q: Warum will GENTle sich dauernd mit dem Internet verbinden?

A: Eine Internetverbindung muss für BLAST- und Rebase-Suchen vorhanden sein.

A: Beim Start von GENTle wird per Internet überprüft, ob eine neue Version von GENTle verfügbar ist. Dies kann über WERKZEUGE/EINSTELLUNGEN unterbunden werden.

- Q: Warum kann ich bei einer ausgewählten DNA-Sequenz keine BLAST-Suche für die Aminosäuresequenz durchführen oder Aminosäuren extrahieren?
- A: Es muss ein Leseraster ausgewählt sein.

GNU Free Documentation License

Version 1.2, November 2002

Copyright (C) 2000,2001,2002 Free Software Foundation, Inc.

59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

0. PREAMBLE

The purpose of this License is to make a manual, textbook, or other functional and useful document "free" in the sense of freedom: to assure everyone the effective freedom to copy and redistribute it, with or without modifying it, either commercially or noncommercially. Secondly, this License preserves for the author and publisher a way to get credit for their work, while not being considered responsible for modifications made by others.

This License is a kind of "copyleft", which means that derivative works of the document must themselves be free in the same sense. It complements the GNU General Public License, which is a copyleft license designed for free software.

We have designed this License in order to use it for manuals for free software, because free software needs free documentation: a free program should come with manuals providing the same freedoms that the software does. But this License is not limited to software manuals; it can be used for any textual work, regardless of subject matter or whether it is published as a printed book. We recommend this License principally for works whose purpose is instruction or reference.

1. APPLICABILITY AND DEFINITIONS

This License applies to any manual or other work, in any medium, that contains a notice placed by the copyright holder saying it can be distributed under the terms of this License. Such a notice grants a world-wide, royalty-free license, unlimited in duration, to use that work under the conditions stated herein. The "Document", below, refers to any such manual or work. Any member of the public is a licensee, and is addressed as "you". You accept the license if you copy, modify or distribute the work in a way requiring permission under copyright law.

A "Modified Version" of the Document means any work containing the Document or a portion of it, either copied verbatim, or with modifications and/or translated into another language.

A "Secondary Section" is a named appendix or a front-matter section of the Document that deals exclusively with the relationship of the publishers or authors of the Document to the Document's overall subject (or to related matters) and contains nothing that could fall directly within that overall subject. (Thus, if the Document is in part a textbook of mathematics, a Secondary Section may not explain any mathematics.) The relationship could be a matter of historical connection with the subject or with related matters, or of legal, commercial, philosophical, ethical or political position regarding them.

The "Invariant Sections" are certain Secondary Sections whose titles are designated, as being those of Invariant Sections, in the notice that says that the Document is released under this License. If a section does not fit the above definition of Secondary then it is not allowed to be designated as Invariant. The Document may contain zero Invariant Sections. If the Document does not identify any Invariant Sections then there are none.

The "Cover Texts" are certain short passages of text that are listed, as Front-Cover Texts or Back-Cover Texts, in the notice that says that the Document is released under this License. A Front-Cover Text may be at most 5 words, and a Back-Cover Text may be at most 25 words.

A "Transparent" copy of the Document means a machine-readable copy, represented in a format whose specification is available to the general public, that is suitable for revising the document straightforwardly with generic text editors or (for images composed of pixels) generic paint programs or (for drawings) some widely available drawing editor, and that is suitable for input to text formatters or for automatic translation to a variety of formats suitable for input to text formatters. A copy made in an otherwise Transparent file format whose markup, or absence of markup, has been arranged to thwart or discourage subsequent modification by readers is not Transparent. An image format is not Transparent if used for any substantial amount of text. A copy that is not "Transparent" is called "Opaque".

Examples of suitable formats for Transparent copies include plain ASCII without markup, Texinfo input format, LaTeX input format, SGML or XML using a publicly available DTD, and standard-conforming simple HTML, PostScript or PDF designed for human modification. Examples of transparent image formats include PNG, XCF and JPG. Opaque formats include proprietary formats that can be read and edited only by proprietary word processors, SGML or XML for which the DTD and/or processing tools are not generally available, and the machine-generated HTML, PostScript or PDF produced by some word processors for output purposes only.

The "Title Page" means, for a printed book, the title page itself, plus such following pages as are needed to hold, legibly, the material this License requires to appear in the title page. For works in formats which do not have any title page as such, "Title Page" means the text near the most prominent appearance of the work's title, preceding the beginning of the body of the text.

A section "Entitled XYZ" means a named subunit of the Document whose title either is precisely XYZ or contains XYZ in parentheses following text that translates XYZ

in another language. (Here XYZ stands for a specific section name mentioned below, such as "Acknowledgements", "Dedications", "Endorsements", or "History".) To "Preserve the Title" of such a section when you modify the Document means that it remains a section "Entitled XYZ" according to this definition.

The Document may include Warranty Disclaimers next to the notice which states that this License applies to the Document. These Warranty Disclaimers are considered to be included by reference in this License, but only as regards disclaiming warranties: any other implication that these Warranty Disclaimers may have is void and has no effect on the meaning of this License.

2. VERBATIM COPYING

You may copy and distribute the Document in any medium, either commercially or noncommercially, provided that this License, the copyright notices, and the license notice saying this License applies to the Document are reproduced in all copies, and that you add no other conditions whatsoever to those of this License. You may not use technical measures to obstruct or control the reading or further copying of the copies you make or distribute. However, you may accept compensation in exchange for copies. If you distribute a large enough number of copies you must also follow the conditions in section 3.

You may also lend copies, under the same conditions stated above, and you may publicly display copies.

3. COPYING IN QUANTITY

If you publish printed copies (or copies in media that commonly have printed covers) of the Document, numbering more than 100, and the Document's license notice requires Cover Texts, you must enclose the copies in covers that carry, clearly and legibly, all these Cover Texts: Front-Cover Texts on the front cover, and Back-Cover Texts on the back cover. Both covers must also clearly and legibly identify you as the publisher of these copies. The front cover must present the full title with all words of the title equally prominent and visible. You may add other material on the covers in addition. Copying with changes limited to the covers, as long as they preserve the title of the Document and satisfy these conditions, can be treated as verbatim copying in other respects.

If the required texts for either cover are too voluminous to fit legibly, you should put the first ones listed (as many as fit reasonably) on the actual cover, and continue the rest onto adjacent pages.

If you publish or distribute Opaque copies of the Document numbering more than 100, you must either include a machine-readable Transparent copy along with each Opaque copy, or state in or with each Opaque copy a computer-network location from which the general network-using public has access to download using public-standard network protocols a complete Transparent copy of the Document, free of added material. If you use the latter option, you must take reasonably prudent steps, when you begin distribution of Opaque copies in quantity, to ensure that this Transparent copy will remain thus accessible at the stated location until at least one year after the last time you distribute an Opaque copy (directly or through your agents or retailers) of that edition to the public.

It is requested, but not required, that you contact the authors of the Document well before redistributing any large number of copies, to give them a chance to provide you with an updated version of the Document.

4. MODIFICATIONS

You may copy and distribute a Modified Version of the Document under the conditions of sections 2 and 3 above, provided that you release the Modified Version under precisely this License, with the Modified Version filling the role of the Document, thus licensing distribution and modification of the Modified Version to whoever possesses a copy of it. In addition, you must do these things in the Modified Version:

- **A.** Use in the Title Page (and on the covers, if any) a title distinct from that of the Document, and from those of previous versions (which should, if there were any, be listed in the History section of the Document). You may use the same title as a previous version if the original publisher of that version gives permission.
- **B.** List on the Title Page, as authors, one or more persons or entities responsible for authorship of the modifications in the Modified Version, together with at least five of the principal authors of the Document (all of its principal authors, if it has fewer than five), unless they release you from this requirement.
- **C.** State on the Title page the name of the publisher of the Modified Version, as the publisher.
- **D.** Preserve all the copyright notices of the Document.
- **E.** Add an appropriate copyright notice for your modifications adjacent to the other copyright notices.
- **F.** Include, immediately after the copyright notices, a license notice giving the public permission to use the Modified Version under the terms of this License, in the form shown in the Addendum below.
- **G.** Preserve in that license notice the full lists of Invariant Sections and required Cover Texts given in the Document's license notice.
- **H.** Include an unaltered copy of this License.
- **I.** Preserve the section Entitled "History", Preserve its Title, and add to it an item stating at least the title, year, new authors, and publisher of the Modified Version as given on the Title Page. If there is no section

Entitled "History" in the Document, create one stating the title, year, authors, and publisher of the Document as given on its Title Page, then add an item describing the Modified Version as stated in the previous sentence.

- **J.** Preserve the network location, if any, given in the Document for public access to a Transparent copy of the Document, and likewise the network locations given in the Document for previous versions it was based on. These may be placed in the "History" section. You may omit a network location for a work that was published at least four years before the Document itself, or if the original publisher of the version it refers to gives permission.
- **K.** For any section Entitled "Acknowledgements" or "Dedications", Preserve the Title of the section, and preserve in the section all the substance and tone of each of the contributor acknowledgements and/or dedications given therein.
- **L.** Preserve all the Invariant Sections of the Document, unaltered in their text and in their titles. Section numbers or the equivalent are not considered part of the section titles.
- **M.** Delete any section Entitled "Endorsements". Such a section may not be included in the Modified Version.
- **N.** Do not retile any existing section to be Entitled "Endorsements" or to conflict in title with any Invariant Section.
- **O.** Preserve any Warranty Disclaimers.

If the Modified Version includes new front-matter sections or appendices that qualify as Secondary Sections and contain no material copied from the Document, you may at your option designate some or all of these sections as invariant. To do this, add their titles to the list of Invariant Sections in the Modified Version's license notice. These titles must be distinct from any other section titles.

You may add a section Entitled "Endorsements", provided it contains nothing but endorsements of your Modified Version by various parties—for example, statements of peer review or that the text has been approved by an organization as the authoritative definition of a standard.

You may add a passage of up to five words as a Front-Cover Text, and a passage of up to 25 words as a Back-Cover Text, to the end of the list of Cover Texts in the Modified Version. Only one passage of Front-Cover Text and one of Back-Cover Text may be added by (or through arrangements made by) any one entity. If the Document already includes a cover text for the same cover, previously added by you or by arrangement made by the same entity you are acting on behalf of, you may not add another; but you may replace the old one, on explicit permission from the previous publisher that added the old one.

The author(s) and publisher(s) of the Document do not by this License give permission to use their names for publicity for or to assert or imply endorsement of any Modified Version.

5. COMBINING DOCUMENTS

You may combine the Document with other documents released under this License, under the terms defined in section 4 above for modified versions, provided that you include in the combination all of the Invariant Sections of all of the original documents, unmodified, and list them all as Invariant Sections of your combined work in its license notice, and that you preserve all their Warranty Disclaimers.

The combined work need only contain one copy of this License, and multiple identical Invariant Sections may be replaced with a single copy. If there are multiple Invariant Sections with the same name but different contents, make the title of each such section unique by adding at the end of it, in parentheses, the name of the original author or publisher of that section if known, or else a unique number. Make the same adjustment to the section titles in the list of Invariant Sections in the license notice of the combined work.

In the combination, you must combine any sections Entitled "History" in the various original documents, forming one section Entitled "History"; likewise combine any sections Entitled "Acknowledgements", and any sections Entitled "Dedications". You must delete all sections Entitled "Endorsements."

6. COLLECTIONS OF DOCUMENTS

You may make a collection consisting of the Document and other documents released under this License, and replace the individual copies of this License in the various documents with a single copy that is included in the collection, provided that you follow the rules of this License for verbatim copying of each of the documents in all other respects.

You may extract a single document from such a collection, and distribute it individually under this License, provided you insert a copy of this License into the extracted document, and follow this License in all other respects regarding verbatim copying of that document.

7. AGGREGATION WITH INDEPENDENT WORKS

A compilation of the Document or its derivatives with other separate and independent documents or works, in or on a volume of a storage or distribution medium, is called an "aggregate" if the copyright resulting from the compilation is not used to limit the legal rights of the compilation's users beyond what the individual works permit. When the Document is included in an aggregate, this License does not apply to the other works in the aggregate which are not themselves derivative works of the Document.

If the Cover Text requirement of section 3 is applicable to these copies of the Document, then if the Document is less than one half of the entire aggregate, the Document's Cover Texts may be placed on covers that bracket the Document within the aggregate, or the electronic equivalent of covers if the Document is in electronic form. Otherwise they must appear on printed covers that bracket the whole aggregate.

8. TRANSLATION

Translation is considered a kind of modification, so you may distribute translations of the Document under the terms of section 4. Replacing Invariant Sections with translations requires special permission from their copyright holders, but you may include translations of some or all Invariant Sections in addition to the original versions of these Invariant Sections. You may include a translation of this License, and all the license notices in the Document, and any Warranty Disclaimers, provided that you also include the original English version of this License and the original versions of those notices and disclaimers. In case of a disagreement between the translation and the original version of this License or a notice or disclaimer, the original version will prevail.

If a section in the Document is Entitled "Acknowledgements", "Dedications", or "History", the requirement (section 4) to Preserve its Title (section 1) will typically require changing the actual title.

9. TERMINATION

You may not copy, modify, sublicense, or distribute the Document except as expressly provided for under this License. Any other attempt to copy, modify, sublicense or distribute the Document is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

10. FUTURE REVISIONS OF THIS LICENSE

The Free Software Foundation may publish new, revised versions of the GNU Free Documentation License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns. See <http://www.gnu.org/copyleft/>.

Each version of the License is given a distinguishing version number. If the Document specifies that a particular numbered version of this License "or any later version" applies to it, you have the option of following the terms and conditions either of that specified version or of any later version that has been published (not as a draft) by the Free Software Foundation. If the Document does not specify a version number of this License, you may choose any version ever published (not as a draft) by the Free Software Foundation.

How to use this License for your documents

To use this License in a document you have written, include a copy of the License in the document and put the following copyright and license notices just after the title page:

Copyright (c) YEAR YOUR NAME.

Permission is granted to copy, distribute and/or modify this document under the terms of the GNU Free Documentation License, Version 1.2 or any later version published by the Free Software Foundation;

with no Invariant Sections, no Front-Cover Texts, and no Back-Cover

Texts. A copy of the license is included in the section entitled "GNU Free Documentation License".

If you have Invariant Sections, Front-Cover Texts and Back-Cover Texts, replace the "with...Texts." line with this:

with the Invariant Sections being LIST THEIR TITLES, with the
Front-Cover Texts being LIST, and with the Back-Cover Texts being LIST.

If you have Invariant Sections without Cover Texts, or some other combination of the three, merge those two alternatives to suit the situation.

If your document contains nontrivial examples of program code, we recommend releasing these examples in parallel under your choice of free software license, such as the GNU General Public License, to permit their use in free software.