```
5'  ttcttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttct
                                                                        70
3'  aagaacttctgctttcccggagcactatgcggataaaaatatccaattacagtactattattaccaaaga

        ZraI
          AatII
5'  tagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacatt
                                                                       140
3'  atctgcagtccaccgtgaaaagcccctttacacgcgccttggggataaacaaataaaaagatttatgtaa

5'  caaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtat
                                                                       210
3'  gtttatacataggcgagtactctgttattgggactatttacgaagttattataactttttccttctcata

5'  gagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcac
                                                                       280
3'  ctcataagttgtaaaggcacagcgggaataagggaaaaaacgccgtaaaacggaaggacaaaaacgagtg
                                  Ap

5'  ccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactgg
                                                                       350
3'  ggtctttgcgaccactttcattttctacgacttctagtcaacccacgtgctcacccaatgtagcttgacc
                                  Ap

5'  atctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaa
                                                                       420
3'  tagagttgtcgccattctaggaactctcaaaagcggggcttcttgcaaaaggttactactcgtgaaaatt
                                  Ap

5'  agttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacac
                                                                       490
3'  tcaagacgatacaccgcgccataatagggcacaactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtg
                                  Ap

                                ScaI
5'  tattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaa
                                                                       560
3'  ataagagtcttactgaaccaactcatgagtggtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcatt
                                  Ap

                                                                  PvuI
5'  gagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgg
                                                                       630
3'  ctcttaatacgtcacgacggtattggtactcactattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcc
                                  Ap
```

```
5'  aggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  700
3'  tcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtgttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaaccctt
o   ================================================================Ap
o
o                                                                 PstI
5'  ccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  770
3'  ggcctcgacttacttcggtatggtttgctgctcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgca
o   ================================================================Ap
o
5'  tgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  840
3'  acgcgtttgataattgaccgcttgatgaatgagatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccg
o   ================================================================Ap
o
5'  ggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctgga
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  910
3'  cctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagccgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacct
o   ================================================================Ap
o
o                          BsaI
5'  gccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  980
3'  cggccactcgcacccagagcgccatagtaacgtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatc
o   ================================================================Ap
o
o                      AhdI
5'  ttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1050
3'  aatagatgtgctgcccctcagtccgttgatacctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggag
o   ================================================================Ap
o
5'  actgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1120
3'  tgactaattcgtaaccattgacagtctggttcaaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagta
o   ==========>
o   ==========Ap
o
5'  ttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1190
3'  aaaattaaattttcctagatccacttctaggaaaaactattagagtactggttttagggaattgcactca
o
5'  tttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgcg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1260
3'  aaagcaaggtgactcgcagtctggggcatcttttctagtttcctagaagaactctaggaaaaaaagacgc
o                                                   ==========================
o                                                   ==========================Ori
o
```

```
5'  cgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagcta
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1330
3'  gcattagacgacgaacgtttgtttttttggtggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgat
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  ccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1400
3'  ggttgagaaaaaggcttccattgaccgaagtcgtctcgcgtctatggtttatgacaggaagatcacatcg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttacc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1470
3'  gcatcaatccggtggtgaagttcttgagacatcgtggcggatgtatggagcgagacgattaggacaatgg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  agtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1540
3'  tcaccgacgacggtcaccgctattcagcacagaatggcccaacctgagttctgctatcaatggcctattc
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  gcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1610
3'  cgcgtcgccagcccgacttgccccccaagcacgtgtgtcgggtcgaacctcgcttgctggatgtggcttg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  tgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1680
3'  actctatggatgtcgcactcgatactctttcgcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccatagg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  ggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1750
3'  ccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcgtgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaata
o   ================================================================================
                                   Ori
o
5'  agtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1820
3'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtccccccgcctcgg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
                                                                   PciI
o                                                                  |
5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
o   ==========================>
                   Ori
o
5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
o
```

SapI

```
5'  cgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2030
3'  gcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtcactcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaag

5'  tccttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatatatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgcc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2100
3'  aggaatgcgtagacacgccataaagtgtggcgtatataccacgtgagagtcatgttagacgagactacgg

5'  gcatagttaagccagtatacactccgctatcgctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacccgcc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2170
3'  cgtatcaattcggtcatatgtgaggcgatagcgatgcactgacccagtaccgacgcggggctgtgggcgg

5'  aacacccgctgacgcgccctgacgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2240
3'  ttgtgggcgactgcgcgggactgcccgaacagacgagggccgtaggcgaatgtctgttcgacactggcag

5'  tccgggagctgcatgtgtcagaggttttcaccgtcatcaccgaaacgcgcgaggcagctgcggtaaagct
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2310
3'  aggccctcgacgtacacagtctccaaaagtggcagtagtggctttgcgcgctccgtcgacgccatttcga

5'  catcagcgtggtcgtgaagcgattcacagatgtctgcctgttcatccgcgtccagctcgttgagtttctc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2380
3'  gtagtcgcaccagcacttcgctaagtgtctacagacggacaagtaggcgcaggtcgagcaactcaaagag

5'  cagaagcgttaatgtctggcttctgataaagcgggccatgttaagggcggtttttcctgtttggtcact
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2450
3'  gtcttcgcaattacagaccgaagactatttcgcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtga

5'  gatgcctccgtgtaagggggatttctgttcatgggggtaatgataccgatgaaacgagagaggatgctca
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2520
3'  ctacggaggcacattccccctaaagacaagtacccccattactatggctactttgctctctcctacgagt

5'  cgatacgggttactgatgatgaacatgcccggttactggaacgttgtgagggtaaacaactggcggtatg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2590
3'  gctatgcccaatgactactacttgtacgggccaatgaccttgcaacactcccatttgttgaccgccatac

5'  gatgcggcgggaccagagaaaaatcactcagggtcaatgccagcgcttcgttaatacagatgtaggtgtt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2660
3'  ctacgccgccctggtctctttttagtgagtcccagttacggtcgcgaagcaattatgtctacatccacaa

5'  ccacagggtagccagcagcatcctgcgatgcagatccggaacataatggtgcagggcgctgacttccgcg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2730
3'  ggtgtcccatcggtcgtcgtaggacgctacgtctaggccttgtattaccacgtcccgcgactgaaggcgc

5'  tttccagactttacgaaacacggaaaccgaagaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgca
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
3'  aaaggtctgaaatgctttgtgcctttggcttctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgt

5'  gcagcagtcgcttcacgttcgctcgcgtatcggtgattcattctgctaaccagtaaggcaaccccgccag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2870
3'  cgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatagccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtc
```

```
                                                                                  AvaI
                                                  FspAI        MscI                 BmeT110I
5'  cctagccgggtcctcaacgacaggagcacgatcatgcgcacccgtggccaggacccaacgctgcccgaga
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  2940
3'  ggatcggcccaggagttgctgtcctcgtgctagtacgcgtgggcaccggtcctgggttgcgacgggctct

5'  tgcgccgcgtgcggctgctggagatggcggacgcgatggatatgttctgccaagggttggtttgcgcatt
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3010
3'  acgcggcgcacgccgacgacctctaccgcctgcgctacctatacaagacggttcccaaccaaacgcgtaa

5'  cacagttctccgcaagaattgattggctccaattcttggagtggtgaatccgttagcgaggtgccgccgg
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3080
3'  gtgtcaagaggcgttcttaactaaccgaggttaagaacctcaccacttaggcaatcgctccacggcggcc

5'  cttccattcaggtcgaggtggcccggctccatgcaccgcgacgcaacgcggggaggcagacaaggtatag
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3150
3'  gaaggtaagtccagctccaccgggccgaggtacgtggcgctgcgttgcgcccctccgtctgttccatatc

5'  ggcggcgcctacaatccatgccaacccgttccatgtgctcgccgaggcggcataaatcgccgtgacgatc
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3220
3'  ccgccgcggatgttaggtacggttgggcaaggtacacgagcggctccgccgtatttagcggcactgctag

5'  agcggtccagtgatcgaagttaggctggtaagagccgcgagcgatccttgaagctgtccctgatggtcgt
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3290
3'  tcgccaggtcactagcttcaatccgaccattctcggcgctcgctaggaacttcgacagggactaccagca

                  BspMI
5'  catctacctgcctggacagcatggcctgcaacgcgggcatcccgatgccgccggaagcgagaagaatcat
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3360
3'  gtagatggacggacctgtcgtaccggacgttgcgcccgtagggctacggcggccttcgctcttcttagta

                                      NruI                                EagI
5'  aatggggaaggccatccagcctcgcgtcgcgaacgccagcaagacgtagcccagcgcgtcggccgccatg
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3430
3'  ttaccccttccggtaggtcggagcgcagcgcttgcggtcgttctgcatcgggtcgcgcagccggcggtac

5'  ccggcgataatggcctgcttctcgccgaaacgtttggtggcgggaccagtgacgaaggcttgagcgaggg
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3500
3'  ggccgctattaccggacgaagagcggctttgcaaaccaccgccctggtcactgcttccgaactcgctccc

5'  cgtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcatcgtcgcgctccagcgaaagcggtcctcgcc
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3570
3'  gcacgttctaaggcttatggcgttcgctgtccggctagtagcagcgcgaggtcgctttcgccaggagcgg

5'  gaaaatgacccagagcgctgccggcacctgtcctacgagttgcatgataaagaagacagtcataagtgcg
    ----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|----+----|  3640
3'  cttttactgggtctcgcgacggccgtggacaggatgctcaacgtactatttcttctgtcagtattcacgc
```

PshAI

5' gcgacgatagtcatgccccgcgcccaccggaaggagctgactgggttgaaggctctcaagggcatcggtc
3' cgctgctatcagtacggggcgcgggtggccttcctcgactgacccaacttccgagagttcccgtagccag 3710

5' gagatcccggtgcctaatgagtgagctaacttacattaattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtc
3' ctctagggccacggattactcactcgattgaatgtaattaacgcaacgcgagtgacgggcgaaaggtcag 3780

Lac I

BsaXI'

5' gggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattggg
3' ccctttggacagcacggtcgacgtaattacttagccggttgcgcgcccctctccgccaaacgcataaccc 3850

Lac I

BsaXI

5' cgccagggtggtttttctttcaccagtgagacgggcaacagctgattgcccttcaccgcctggccctga
3' gcggtcccaccaaaaagaaaagtggtcactctgcccgttgtcgactaacgggaagtggcggaccgggact 3920

Lac I

HpaI

5' gagagttgcagcaagcggtccacgctggtttgccccagcaggcgaaaatcctgtttgatggtggttaacg
3' ctctcaacgtcgttcgccaggtgcgaccaaacggggtcgtccgcttttaggacaaactaccaccaattgc 3990

Lac I

5' gcgggatataacatgagctgtcttcggtatcgtcgtatcccactaccgagatatccgcaccaacgcgcag
3' cgccctatattgtactcgacagaagccatagcagcatagggtgatggctctataggcgtggttgcgcgtc 4060

Lac I

BssHII

5' cccggactcggtaatggcgcgcattgcgcccagcgccatctgatcgttggcaaccagcatcgcagtggga
3' gggcctgagccattaccgcgcgtaacgcgggtcgcggtagactagcaaccgttggtcgtagcgtcaccct 4130

Lac I

5' acgatgccctcattcagcatttgcatggtttgttgaaaaccggacatggcactccagtcgccttcccgtt
3' tgctacgggagtaagtcgtaaacgtaccaaacaacttttggcctgtaccgtgaggtcagcggaagggcaa 4200

Lac I

5' ccgctatcggctgaatttgattgcgagtgagatatttatgccagccagccagacgcagacgcgccgagac
3' ggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtcggtcggtctgcgtctgcgcggctctg 4270

Lac I

PspOMI ApaI BstEII

5' agaacttaatgggcccgctaacagcgcgatttgctggtgacccaatgcgaccagatgctccacgcccagt 4340
3' tcttgaattacccgggcgattgtcgcgctaaacgaccactgggttacgctggtctacgaggtgcgggtca

Lac I

5' cgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgtctggtcagagacatcaagaaataacg 4410
3' gcgcatggcagaagtaccctctttattatgacaactacccacagaccagtctctgtagttctttattgc

Lac I

BclI

5' ccggaacattagtgcaggcagcttccacagcaatggcatcctggtcatccagcggatagttaatgatcag 4480
3' ggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggaccagtaggtcgcctatcaattactagtc

Lac I

MluI

5' cccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttacaggcttcgacgccgcttcgttctacc 4550
3' gggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatgtccgaagctgcggcgaagcaagatgg

Lac I

5' atcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagatttaatcgccgcgacaatttgcgacggcg 4620
3' tagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaattagcggcgctgttaaacgctgccgc

Lac I

5' cgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgactgtttgcccgccagttgttgtgccac 4690
3' gcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctgacaaacgggcggtcaacaacacggtg

Lac I

5' gcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactttttcccgcgttttcgcagaaacgtgg 4760
3' cgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaaaaagggcgcaaaagcgtctttgcacc

Lac I

5' ctggcctggttcaccacgcgggaaacggtctgataagagacaccggcatactctgcgacatcgtataacg 4830
3' gaccggaccaagtggtgcgccctttgccagactattctctgtggccgtatgagacgctgtagcatattgc

5' ttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccgggcgctatcatgccataccgcgaaaggt 4900
3' aatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggcccgcgatagtacggtatggcgctttcca

```
5'  tttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctcccttatgcgactcctgcattaggaagcagcc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4970
3'  aaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaatacgctgaggacgtaatccttcgtcgg

                                                        SphI
5'  cagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatggtgcatgcaaggagatggcgcccaac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5040
3'  gtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttaccacgtacgttcctctaccgcgggttg

5'  agtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgcccgaaacaagcgctcatgagcccgaagtggcgag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5110
3'  tcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgttcgcgagtactcgggcttcaccgctc

                                                                SgrAI
5'  cccgatcttccccatcggtgatgtcggcgatataggcgccagcaaccgcacctgtggcgccggtgatgcc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5180
3'  gggctagaaggggtagccactacagccgctatatccgcggtcgttggcgtggacaccgcggccactacgg

                                        BglII
5'  ggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatctcgatcccgcgaaattaatacgactcactatagggg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5250
3'  ccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagagctagggcgctttaattatgctgagtgatatcccc
                                                        T7 Promoter

                                XbaI                    BarI
5'  aattgtgagcggataacaattcccctctagaaataattttgtttaactttaagaaggagatataccatgg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5320
3'  ttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaacaaattgaaattcttcctctatatggtacc
    Lac O

                                                                        M
                                                                        1
            BarI'
5'  gccatcatcatcatcatcatcatcatcatcacagcagcggccatatcgaaggtcgtcatatgctcgaATC
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5390
3'  cggtagtagtagtagtagtagtagtagtgtcgtcgccggtatagcttccagcagtatacgagctTAG
    His10-tag                                   X-factor

    G  H  H  H  H  H  H  H  H  H  H  S  S  G  H  I  E  G  R  H  M  L  E  S
    2  3  4  5  6  7  8  9  10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25
5'  AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcGAGTCACCAAAGCAAGGTCAA
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5460
3'  TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgCTCAGTGGTTTCGTTCCAGTT
    attB1                   TEV site                    BGH18_B05b
    BGH18_B05b-pDONR221

    T  S  L  Y  K  K  A  G  S  E  N  L  Y  F  Q  G  E  S  P  K  Q  G  Q
    26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48
```

5' AAAGTTGTTGGGTATTTTCCTTCGTGGGGCATTTACGGACGTAATTATCAAGTTGCAGACATTGATGCAT 5530
3' TTTCAACAACCCATAAAAGGAAGCACCCCGTAAATGCCTGCATTAATAGTTCAACGTCTGTAACTACGTA

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

K V V G Y F P S W G I Y G R N Y Q V A D I D A
49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71

5' CAAAGCTAACTCATTTAAACTACGCTTTCGCTGATATTTGCTGGAATGGAAAACATGGAAACCCTTCTAC 5600
3' GTTTCGATTGAGTAAATTTGATGCGAAAGCGACTATAAACGACCTTACCTTTTGTACCTTTGGGAAGATG

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

S K L T H L N Y A F A D I C W N G K H G N P S T
72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95

5' TCACCCCGATAATCCAAATAAACAAACGTGGGACTGTAAAGAATCTGGTGTACCACTGCAAAATAAAGAA 5670
3' AGTGGGGCTATTAGGTTTATTTGTTTGCACCCTGACATTTCTTAGACCACATGGTGACGTTTTATTTCTT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

H P D N P N K Q T W D C K E S G V P L Q N K E
96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118

5' GTCCCTAATGGTACTCTCGTACTCGGTGAACCATGGGCCGATGTCACAAAATCTTATCCTGGCTCAGGTA 5740
3' CAGGGATTACCATGAGAGCATGAGCCACTTGGTACCCGGCTACAGTGTTTTAGAATAGGACCGAGTCCAT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

V P N G T L V L G E P W A D V T K S Y P G S G
119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141

5' CAACTTGGGAAGATTGTGATAAATACGCACGCTGCGGAAATTTCGGCGAACTGAAACGATTAAAAGCTAA 5810
3' GTTGAACCCTTCTAACACTATTTATGCGTGCGACGCCTTTAAAGCCGCTTGACTTTGCTAATTTTCGATT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

T T W E D C D K Y A R C G N F G E L K R L K A K
142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165

5' GTATCCTCACTTAAAAACAATTATTTCTGTTGGTGGCTGGACTTGGTCTAACCGCTTTTCTGACATGGCC 5880
3' CATAGGAGTGAATTTTTGTTAATAAAGACAACCACCGACCTGAACCAGATTGGCGAAAAGACTGTACCGG

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

Y P H L K T I I S V G G W T W S N R F S D M A
166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188

5' GCTGATGAAAAAACAAGAAAAGTATTCGCTGAATCTACAGTCGATTTCCTACGCGAATATGGATTTGACG 5950
3' CGACTACTTTTTTGTTCTTTTCATAAGCGACTTAGATGTCAGCTAAAGGATGCGCTTATACCTAAACTGC

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

A D E K T R K V F A E S T V D F L R E Y G F D
189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211

5' GCGTTGATTTAGATTGGGAATATCCGGGCGTAGAAACGATTCCTGGTGGTAGTTATCGTCCTGAAGATAA 6020
3' CGCAACTAAATCTAACCCTTATAGGCCCGCATCTTTGCTAAGGACCACCATCAATAGCAGGACTTCTATT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

G V D L D W E Y P G V E T I P G G S Y R P E D K
212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235

BstBI

5' GCAAAACTTCACCCTACTCCTTCAAGAAGTTCGAAATGCATTAACGAAAGCTGGTGCAGAAGATGGCAAA 6090
3' CGTTTTGAAGTGGGATGAGGAAGTTCTTCAAGCTTTACGTAATTGCTTTCGACCACGTCTTCTACCGTTT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

Q N F T L L L Q E V R N A L T K A G A E D G K
236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258

5' CAATATTTACTAACAATCGCATCAGGTGCAAGCCAACGTTATGCCGATCATACAGAGCTAAAGAAAATCT 6160
3' GTTATAAATGATTGTTAGCGTAGTCCACGTTCGGTTGCAATACGGCTAGTATGTCTCGATTTCTTTTAGA

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

Q Y L L T I A S G A S Q R Y A D H T E L K K I
259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281

5' CTCAAATACTGGATTGGATTAATATTATGACATATGATTTCCACGGTGGATGGGAAGCTACTTCTAACCA 6230
3' GAGTTTATGACCTAACCTAATTATAATACTGTATACTAAAGGTGCCACCTACCCTTCGATGAAGATTGGT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

S Q I L D W I N I M T Y D F H G G W E A T S N H
282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305

SnaBI

5' TAATGCAGCTCTATACAAAGATCCAAATGACCCAGCAGCGGATACGAAATTTTACGTAGATGGTGCGATA 6300
3' ATTACGTCGAGATATGTTTCTAGGTTTACTGGGTCGTCGCCTATGCTTTAAAATGCATCTACCACGCTAT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

N A A L Y K D P N D P A A D T K F Y V D G A I
306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328

5' GACATTTATACAAATGAAGGGGTTCCAGCAGATAAACTCGTATTAGGTGTACCATTTTACGGACGCGGAT 6370
3' CTGTAAATATGTTTACTTCCCCAAGGTCGTCTATTTGAGCATAATCCACATGGTAAAATGCCTGCGCCTA

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

D I Y T N E G V P A D K L V L G V P F Y G R G
329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351

SexAI

5' GGAAAAGTTGTGGAAAAGAAAATAACGGACAATACCAACCTTGTAAACCAGGTAGTGATGGAAAGCTCGC 6440
3' CCTTTTCAACACCTTTTCTTTTATTGCCTGTTATGGTTGGAACATTTGGTCCATCACTACCTTTCGAGCG

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

W K S C G K E N N G Q Y Q P C K P G S D G K L A
352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375

AgeI

5' TTCTAAAGGTACTTGGGATGATTATTCTACCGGTGACACAGGTGTATACGATTATGGTGATTTAGCGGCT 6510
3' AAGATTTCCATGAACCCTACTAATAAGATGGCCACTGTGTCCACATATGCTAATACCACTAAATCGCCGA

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

S K G T W D D Y S T G D T G V Y D Y G D L A A
376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398

5' AATTATGTTAATAAAAATGGTTTTGTTCGCGGATGGAACGATATAGCGAAAGTACCTTATTTATATAATG
6580
3' TTAATACAATTATTTTTACCAAAACAAGCGCCTACCTTGCTATATCGCTTTCATGGAATAAATATATTAC

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

N Y V N K N G F V R G W N D I A K V P Y L Y N
399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421

5' CGACTACAGGTACATTTATTAGCTACGATGATAATGAATCTATGAAATATAAAACAGACTATATAAAAAC
6650
3' GCTGATGTCCATGTAAATAATCGATGCTACTATTACTTAGATACTTTATATTTTGTCTGATATATTTTTG

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

A T T G T F I S Y D D N E S M K Y K T D Y I K T
422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445

5' AAAAGGTTTAAGTGGCGCAATGTTTTGGGAGCTTAGCGGAGATTGCCGTACAAGTCCAAAATATAGTTGT
6720
3' TTTTCCAAATTCACCGCGTTACAAAACCCTCGAATCGCCTCTAACGGCATGTTCAGGTTTTATATCAACA

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

K G L S G A M F W E L S G D C R T S P K Y S C
446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468

5' AGTGGACCAAAATTACTTGATACGTTAGTAAAAGAATTACTAGGTGGACCTATTACTCAAAAAGATACTG
6790
3' TCACCTGGTTTTAATGAACTATGCAATCATTTTCTTAATGATCCACCTGGATAATGAGTTTTTCTATGAC

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

S G P K L L D T L V K E L L G G P I T Q K D T
469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491

5' AGCCACCAACAAACGTAAAAAATATTGTTGTTACAAATAAAAATTCAAGCTCAGTTCAATTAAACTGGAA
6860
3' TCGGTGGTTGTTTGCATTTTTTATAACAACAATGTTTATTTTTAAGTTCGAGTCAAGTTAATTTGACCTT

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

E P P T N V K N I V V T N K N S S S V Q L N W N
492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515

```
5'  TGCATCTACTGATAACGTAGGAGTTACGGAATATGAAATTACTGCTGGGGAAGAGAAATGGAGTACAACA
                                                                          6930
3'  ACGTAGATGACTATTGCATCCTCAATGCCTTATACTTTAATGACGACCCCTTCTCTTTACCTCATGTTGT
```

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

```
    A   S   T   D   N   V   G   V   T   E   Y   E   I   T   A   G   E   E   K   W   S   T   T
    516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538

5'  ACAAATAACATTACAATTAAAAACTTAAAATCTAATACAGAATACAAATTTTCAATAATAGCAAAAGATG
                                                                          7000
3'  TGTTTATTGTAATGTTAATTTTTGAATTTTAGATTATGTCTTATGTTTAAAAGTTATTATCGTTTTCTAC
```

BGH18_B05b

BGH18_B05b-pDONR221

```
    T   N   N   I   T   I   K   N   L   K   S   N   T   E   Y   K   F   S   I   I   A   K   D
    539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561

5'  CCGCTGGGAATAAATCACAGCCTACTTCTATTATTGTAAAAACAGACGATGCTTAGGACCCAGCTTTCTT
                                                                          7070
3'  GGCGACCCTTATTTAGTGTCGGATGAAGATAATAACATTTTTGTCTGCTACGAATCCTGGGTCGAAAGAA
```

BGH18_B05b attB2

BGH18_B05b-pDONR221

```
    A   A   G   N   K   S   Q   P   T   S   I   I   V   K   T   D   D   A   .
    562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580

                                BamHI
5'  GTACAAAGTGGTTGATtcgaggatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgcca
                                                                          7140
3'  CATGTTTCACCAACTAagctcctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggt
```

attB2

```
5'  ccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaagg
                                                                          7210
3'  ggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcc
```

T7 Terminator

```
5'  aggaactatatccggatatcccgcaagaggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcat
                                                                          7280
3'  tccttgatataggcctatagggcgttctccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgta

5'  ccagggtgacggtgccgaggatgacgatgagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgtta
                                                                          7350
3'  ggtcccactgccacggctcctactgctactcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaat

                                    HindIII   ClaI                   EcoRI
5'  gcaatttaactgtgataaactaccgcattaaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa
                                                                          7414
3'  cgttaaattgacactatttgatggcgtaatttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt
```