```
5'  tggcgaatgggacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgacc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  70
3'  accgcttaccctgcgcgggacatcgccgcgtaattcgcgccgcccacaccaccaatgcgcgtcgcactgg

5'  gctacacttgccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  140
3'  cgatgtgaacggtcgcgggatcgcgggcgaggaaagcgaaagaagggaaggaaagagcggtgcaagcggc

5'  gctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcga
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  210
3'  cgaaaggggcagttcgagatttagcccccgagggaaatcccaaggctaaatcacgaaatgccgtggagct

                                          DraIII
                                          |
5'  ccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacggtttttcgccct
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  280
3'  ggggttttttgaactaatcccactaccaagtgcatcacccggtagcgggactatctgccaaaaagcggga

     AlwI'                                AlwI
     |                                    |
5'  ttgacgttggagtccacgttctttaatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatct
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  350
3'  aactgcaacctcaggtgcaagaaattatcacctgagaacaaggtttgaccttgttgtgagttgggataga

5'  cggtctattcttttgatttataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgattta
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  420
3'  gccagataagaaaactaaatattccctaaaacggctaaagccggataaccaatttttactcgactaaat

5'  acaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgcttacaatttaggtggcacttttcggggaaatg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  490
3'  tgtttttaaattgcgcttaaaattgttttataattgcgaatgttaaatccaccgtgaaaagcccctttac

5'  tgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  560
3'  acgcgccttggggataaacaaataaaaagatttatgtaagtttatacataggcgagtactctgttattgg

5'  ctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttatt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  630
3'  gactatttacgaagttattataactttttccttctcatactcataagttgtaaaggcacagcgggaataa
                                                 [Ap]

5'  ccctttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  700
3'  gggaaaaaacgccgtaaaacggaaggacaaaaacgagtgggtctttgcgaccactttcattttctacgac
    [Ap]

5'  aagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  770
3'  ttctagtcaacccacgtgctcacccaatgtagcttgacctagagttgtcgccattctaggaactctcaaa
    [Ap]
```

```
5'  tcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgt
                                                                      840
3'  agcggggcttcttgcaaaaggttactactcgtgaaaatttcaagacgatacaccgcgccataatagggca
                                  Ap

                                                          ScaI
5'  attgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcac
                                                                      910
3'  taactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtgataagagtcttactgaaccaactcatgagtg
                                  Ap

5'  cagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgag
                                                                      980
3'  gtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcattctcttaatacgtcacgacggtattggtactc
                                  Ap

                                          PvuI
5'  tgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcac
                                                                     1050
3'  actattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcctcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtg
                                  Ap

5'  aacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacg
                                                                     1120
3'  ttgtaccccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc
                                  Ap

                              PstI
5'  agcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttac
                                                                     1190
3'  tcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgcaacgcgtttgataattgaccgcttgatgaatg
                                  Ap

5'  tctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcg
                                                                     1260
3'  agatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccgcctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagc
                                  Ap

                                                          BsaI
5'  gcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattg
                                                                     1330
3'  cgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacctcggccactcgcacccagagcgccatagtaac
                                  Ap
```

AhdI

5' cagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactat 1400
3' gtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatcaatagatgtgctgcccctcagtccgttgata

Ap

5' ggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaa 1470
3' cctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggagtgactaattcgtaaccattgacagtctggtt

Ap

5' gtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatcc 1540
3' caaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagtaaaaattaaattttcctagatccacttctagg

5' tttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtaga 1610
3' aaaaactattagagtactggttttagggaattgcactcaaaagcaaggtgactcgcagtctggggcatct

5' aaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaacca 1680
3' tttctagtttcctagaagaactctaggaaaaaaagacgcgcattagacgacgaacgtttgtttttttggt

Ori

5' ccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttca 1750
3' ggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgatggttgagaaaaaggcttccattgaccgaagt

Ori

5' gcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgt 1820
3' cgtctcgcgtctatggtttatgacaggaagatcacatcggcatcaatccggtggtgaagttcttgagaca

Ori

5' agcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgt 1890
3' tcgtggcggatgtatggagcgagacgattaggacaatggtcaccgacgacggtcaccgctattcagcaca

Ori

5' cttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgt 1960
3' gaatggcccaacctgagttctgctatcaatggcctattccgcgtcgccagcccgacttgccccccaagca

Ori

5' gcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaag 2030
3' cgtgtgtcgggtcgaacctcgcttgctggatgtggcttgactctatggatgtcgcactcgatactctttc

Ori

```
5'  cgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2100
3'  gcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccataggccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcg
    ------------------------------------------Ori------------------------------
    ==============================================================================

    acgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2170
    tgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaatatcaggacagcccaaagcggtggagactgaac
    ------------------------------------------Ori------------------------------
    ==============================================================================

    agcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2240
    tcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccgcctcggatacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaa
    ------------------------------------------Ori------------------------------
    ==============================================================>

                                          PciI
    acggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatcccctgattctgtggat
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2310
    tgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaagaaaggacgcaatagggactaagacaccta

    aaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2380
    ttggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcggcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtc

                SapI
    tgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2450
    actcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaagaggaatgcgtagacacgccataaagtgtggc

    catatatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagtatacactccgctatc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2520
    gtatataccacgtgagagtcatgttagacgagactacggcgtatcaattcggtcatatgtgaggcgatag

                 Tth111I
    gctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacccgccaacacccgctgacgcgccctgacgggcttgt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2590
    cgatgcactgacccagtaccgacgcggggctgtgggcggttgtgggcgactgcgcgggactgcccgaaca

    ctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttcac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2660
    gacgagggccgtaggcgaatgtctgttcgacactggcagaggccctcgacgtacacagtctccaaaagtg

    cgtcatcaccgaaacgcgcgaggcagctgcggtaaagctcatcagcgtggtcgtgaagcgattcacagat
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2730
    gcagtagtggctttgcgcgctccgtcgacgccatttcgagtagtcgcaccagcacttcgctaagtgtcta

    gtctgcctgttcatccgcgtccagctcgttgagtttctccagaagcgttaatgtctggcttctgataaag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
    cagacggacaagtaggcgcaggtcgagcaactcaaagaggtcttcgcaattacagaccgaagactatttc
```

```
5'   cgggccatgttaagggcggtttttcctgtttggtcactgatgcctccgtgtaagggggatttctgttca
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2870
3'   gcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtgactacggaggcacattccccctaaagacaagt
o

5'   tgggggtaatgataccgatgaaacgagagaggatgctcacgatacgggttactgatgatgaacatgcccg
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2940
3'   acccccattactatggctactttgctctctcctacgagtgctatgcccaatgactactacttgtacgggc
o

5'   gttactggaacgttgtgagggtaaacaactggcggtatggatgcggcgggaccagagaaaaatcactcag
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3010
3'   caatgaccttgcaacactcccatttgttgaccgccatacctacgccgccctggtctctttttagtgagtc
o

5'   ggtcaatgccagcgcttcgttaatacagatgtaggtgttccacagggtagccagcagcatcctgcgatgc
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3080
3'   ccagttacggtcgcgaagcaattatgtctacatccacaaggtgtcccatcggtcgtcgtaggacgctacg
o

5'   agatccggaacataatggtgcagggcgctgacttccgcgtttccagactttacgaaacacggaaaccgaa
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3150
3'   tctaggccttgtattaccacgtcccgcgactgaaggcgcaaaggtctgaaatgctttgtgcctttggctt
o

                         Bpu10I
o                        |
5'   gaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgcagcagcagtcgcttcacgttcgctcgcgtatc
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3220
3'   ctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgtcgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatag
o

5'   ggtgattcattctgctaaccagtaaggcaaccccgccagcctagccgggtcctcaacgacaggagcacga
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3290
3'   ccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtcggatcggcccaggagttgctgtcctcgtgct
o

          FspAI
o         |
5'   tcatgcgcacccgtggggccgccatgccggcgataatggcctgcttctcgccgaaacgtttggtggcggg
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3360
3'   agtacgcgtgggcaccccggcggtacggccgctattaccggacgaagagcggctttgcaaaccaccgccc
o

5'   accagtgacgaaggcttgagcgagggcgtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcatcgtc
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3430
3'   tggtcactgcttccgaactcgctcccgcacgttctaaggcttatggcgttcgctgtccggctagtagcag
o

5'   gcgctccagcgaaagcggtcctcgccgaaaatgacccagagcgctgccggcacctgtcctacgagttgca
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3500
3'   cgcgaggtcgctttcgccaggagcggcttttactgggtctcgcgacggccgtggacaggatgctcaacgt
o

                                         PshAI
o                                        |
5'   tgataaagaagacagtcataagtgcggcgacgatagtcatgccccgcgcccaccggaaggagctgactgg
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3570
3'   actatttcttctgtcagtattcacgccgctgctatcagtacggggcgcgggtggccttcctcgactgacc
o

5'   gttgaaggctctcaagggcatcggtcgagatcccggtgcctaatgagtgagctaacttacattaattgcg
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3640
3'   caacttccgagagttcccgtagccagctctagggccacggattactcactcgattgaatgtaattaacgc
o
```

5' ttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcg 3710
3' aacgcgagtgacgggcgaaaggtcagccctttggacagcacggtcgacgtaattacttagccggttgcgc

Lac I

5' cggggagaggcggtttgcgtattgggcgccagggtggtttttcttttcaccagtgagacgggcaacagct 3780
3' gcccctctccgccaaacgcataacccgcggtcccaccaaaaagaaaagtggtcactctgcccgttgtcga

Lac I

5' gattgcccttcaccgcctggccctgagagagttgcagcaagcggtccacgctggtttgccccagcaggcg 3850
3' ctaacgggaagtggcggaccgggactctctcaacgtcgttcgccaggtgcgaccaaacggggtcgtccgc

Lac I

HpaI

5' aaaatcctgtttgatggtggttaacggcgggatataacatgagctgtcttcggtatcgtcgtatcccact 3920
3' ttttaggacaaactaccaccaattgccgccctatattgtactcgacagaagccatagcagcatagggtga

Lac I

BssHII

5' accgagatgtccgcaccaacgcgcagcccggactcggtaatggcgcgcattgcgcccagcgccatctgat 3990
3' tggctctacaggcgtggttgcgcgtcgggcctgagccattaccgcgcgtaacgcgggtcgcggtagacta

Lac I

5' cgttggcaaccagcatcgcagtgggaacgatgccctcattcagcatttgcatggtttgttgaaaaccgga 4060
3' gcaaccgttggtcgtagcgtcacccttgctacgggagtaagtcgtaaacgtaccaaacaacttttggcct

Lac I

5' catggcactccagtcgccttcccgttccgctatcggctgaatttgattgcgagtgagatatttatgccag 4130
3' gtaccgtgaggtcagcggaagggcaaggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtc

Lac I

PspOMI
ApaI
BstEII

5' ccagccagacgcagacgcgccgagacagaacttaatgggcccgctaacagcgcgatttgctggtgaccca 4200
3' ggtcggtctgcgtctgcgcggctctgtcttgaattacccgggcgattgtcgcgctaaacgaccactgggt

Lac I

5' atgcgaccagatgctccacgcccagtcgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgt 4270
3' tacgctggtctacgaggtgcgggtcagcgcatggcagaagtaccctcttttattatgacaactacccaca

Lac I

```
5'  ctggtcagagacatcaagaaataacgccggaacattagtgcaggcagcttccacagcaatggcatcctgg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4340
3'  gaccagtctctgtagttctttattgcggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggacc
o   ------------------------------------------------------------------------
                                      Lac I
o   ========================================================================
o
o                                BclI                MluI
5'  tcatccagcggatagttaatgatcagcccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4410
3'  agtaggtcgcctatcaattactagtcgggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatg
o   ------------------------------------------------------------------------
                                      Lac I
o   ========================================================================
o
5'  aggcttcgacgccgcttcgttctaccatcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagattt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4480
3'  tccgaagctgcggcgaagcaagatggtagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaa
o   ------------------------------------------------------------------------
                                      Lac I
o   ========================================================================
o
5'  aatcgccgcgacaatttgcgacggcgcgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4550
3'  ttagcggcgctgttaaacgctgccgcgcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctg
o   ------------------------------------------------------------------------
                                      Lac I
o   ========================================================================
o
5'  tgtttgcccgccagttgttgtgccacgcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4620
3'  acaaacgggcggtcaacaacacggtgcgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaa
o   ------------------------------------------------------------------------
                                      Lac I
o   ========================================================================
o
5'  tttcccgcgttttcgcagaaacgtggctggcctggttcaccacgcgggaaacggtctgataagagacacc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4690
3'  aaagggcgcaaaagcgtctttgcaccgaccggaccaagtggtgcgccctttgccagactattctctgtgg
o
o              BstAPI
5'  ggcatactctgcgacatcgtataacgttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccggg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4760
3'  ccgtatgagacgctgtagcatattgcaatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggccc
o
5'  cgctatcatgccataccgcgaaaggttttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctccctta
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4830
3'  gcgatagtacggtatggcgctttccaaaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaat
o
o                  EcoNI
5'  tgcgactcctgcattaggaagcagcccagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4900
3'  acgctgaggacgtaatccttcgtcgggtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttac
o
o             SphI
5'  gtgcatgcaaggagatggcgcccaacagtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaaca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4970
3'  cacgtacgttcctctaccgcgggttgtcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgt
o
```

```
5'  agcgctcatgagcccgaagtggcgagcccgatcttccccatcggtgatgtcggcgatataggcgccagca
                                                                          5040
3'  tcgcgagtactcgggcttcaccgctcgggctagaaggggtagccactacagccgctatatccgcggtcgt

                    SgrAI
5'  accgcacctgtggcgccggtgatgccggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatcgatctcgatc
                                                                          5110
3'  tggcgtggacaccgcggccactacggccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagctagagctag

                                                                 XbaI
5'  ccgcgaaattaatacgactcactatagggaattgtgagcggataacaattcccctctagaaataatttt
                                                                          5180
3'  ggcgctttaattatgctgagtgatatcccttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaa
            T7 Promoter                Lac Operator

        BarI                                BarI'
5'  gtttaactttaagaaggagatatacatatgagcgataaaattattcacctgactgacgacagttttgaca
                                                                          5250
3'  caaattgaaattcttcctctatatgtatactcgctattttaataagtggactgactgctgtcaaaactgt
                                  Trx Tag

                                  M  S  D  K  I  I  H  L  T  D  D  S  F  D
                                  1  2  3  4  5  6  7  8  9  10 11 12 13 14

                                                                 RsrII
5'  cggatgtactcaaagcggacggggcgatcctcgtcgatttctgggcagagtggtgcggtccgtgcaaaat
                                                                          5320
3'  gcctacatgagtttcgcctgccccgctaggagcagctaaagacccgtctcaccacgccaggcacgtttta
                                  Trx Tag

T  D  V  L  K  A  D  G  A  I  L  V  D  F  W  A  E  W  C  G  P  C  K  M
15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38
5'  gatcgccccgattctggatgaaatcgctgacgaatatcagggcaaactgaccgttgcaaaactgaacatc
                                                                          5390
3'  ctagcggggctaagacctactttagcgactgcttatagtcccgtttgactggcaacgttttgacttgtag
                                  Trx Tag

I  A  P  I  L  D  E  I  A  D  E  Y  Q  G  K  L  T  V  A  K  L  N  I
39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61
5'  gatcaaaaccctggcactgcgccgaaatatggcatccgtggtatcccgactctgctgctgttcaaaaacg
                                                                          5460
3'  ctagttttgggaccgtgacgcggctttataccgtaggcaccatagggctgagacgacgacaagtttttgc
                                  Trx Tag

D  Q  N  P  G  T  A  P  K  Y  G  I  R  G  I  P  T  L  L  L  F  K  N
62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84
```

```
5'  gtgaagtggcggcaaccaaagtgggtgcactgtctaaaggtcagttgaaagagttcctcgacgctaacct
                                                                          5530
3'  cacttcaccgccgttggtttcacccacgtgacagatttccagtcaactttctcaaggagctgcgattgga
```

Trx Tag

```
G  E  V  A  A  T  K  V  G  A  L  S  K  G  Q  L  K  E  F  L  D  A  N  L
85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108
```

MscI

```
5'  ggccggttctggttctggccatatgcaccatcatcatcatcattcttctggtctggtgccacgcggttct
                                                                          5600
3'  ccggccaagaccaagaccggtatacgtggtagtagtagtagtaagaagaccagaccacggtgcgccaaga
```

T...g | His6-tag | Thrombin

```
A  G  S  G  S  G  H  M  H  H  H  H  H  H  S  S  G  L  V  P  R  G  S
109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131
```

BstBI | Acc65I | KpnI

```
5'  ggtatgaaagaaaccgctgctgctaaattcgaacgccagcacatggacagcccagatctgggtaccgacg
                                                                          5670
3'  ccatactttctttggcgacgacgatttaagcttgcggtcgtgtacctgtcgggtctagacccatggctgc
```

En...e

```
G  M  K  E  T  A  A  A  K  F  E  R  Q  H  M  D  S  P  D  L  G  T  D
132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154
```

NcoI

```
5'  acgacgacaaggccatggcgatATCAACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttca
                                                                          5740
3'  tgctgctgttccggtaccgctaTAGTTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagt
```

Enterokinase | attB1 | TEV site

BGH02_B01c-pDONR221

```
D  D  D  K  A  M  A  I  S  T  S  L  Y  K  K  A  G  S  E  N  L  Y  F  Q
155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178

5'  aggcCTTTATCCTAAAGAGAGTGAAACAAGAGAGGTAAAGGATTTGTCAGGAGTGTGGGAGTTTAGAACC
                                                                          5810
3'  tccgGAAATAGGATTTCTCTCACTTTGTTCTCTCCATTTCCTAAACAGTCCTCACACCCTCAAATCTTGG
```

T... | BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

```
G  L  Y  P  K  E  S  E  T  R  E  V  K  D  L  S  G  V  W  E  F  R  T
179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201
```

5' GAATCTGATAAAAATTATATCCTCATGCCAGTTCCTGCAAGTTTTAACGACATCACACAAGATATTAATT 5880
3' CTTAGACTATTTTTAATATAGGAGTACGGTCAAGGACGTTCAAAATTGCTGTAGTGTGTTCTATAATTAA

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

E S D K N Y I L M P V P A S F N D I T Q D I N
202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224

AgeI

5' TAAGAGATTATGTTGGCAGAGTATATTATAAAAAATCCTTCTTTATACCGGTTTATTGGAAAGAAAGAAA 5950
3' ATTCTCTAATACAACCGTCTCATATAATATTTTTTAGGAAGAAATATGGCCAAATAACCTTTCTTTCTTT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

L R D Y V G R V Y Y K K S F F I P V Y W K E R N
225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248

5' TATTTTTTTGAGGGTGGGAGCAGCAGCTCATTTTTCTGAGGTTTATGTAAATGGTAATTTAGTGACTAAA 6020
3' ATAAAAAAACTCCCACCCTCGTCGTCGAGTAAAAAGACTCCAAATACATTTACCATTAAATCACTGATTT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

I F L R V G A A A H F S E V Y V N G N L V T K
249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271

5' CACAAAGGAGGATTTCTTCCTTTCGAGGCAGAGATCTCTAAATTTGTAAATTATGGACAAGAAAATATTA 6090
3' GTGTTTCCTCCTAAAGAAGGAAAGCTCCGTCTCTAGAGATTTAAACATTTAATACCTGTTCTTTTATAAT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

H K G G F L P F E A E I S K F V N Y G Q E N I
272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294

5' TAGAAATTATGGTAGACAACACTTTAACTTGGGATGTTCTTCCTCCTGGAGAATTAAAAGTTATTGAGGA 6160
3' ATCTTTAATACCATCTGTTGTGAAATTGAACCCTACAAGAAGGAGGACCTCTTAATTTTCAATAACTCCT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

I E I M V D N T L T W D V L P P G E L K V I E D
295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318

NsiI

5' CGAAATGCATCCTAAAGGATATAAGGTTTTGAATTATTATTTTGATTTTTTTAATTACTCTGGAATTCAC 6230
3' GCTTTACGTAGGATTTCCTATATTCCAAAACTTAATAATAAAACTAAAAAAATTAATGAGACCTTAAGTG

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

E M H P K G Y K V L N Y Y F D F F N Y S G I H
319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341

Bsu36I

5' AGGCCTGTGGTAATATATACCACTCCTAAGGTATATATTAAAGATTTTTCTGTTATTACTGAACTAAGTA 6300
3' TCCGGACACCATTATATATGGTGAGGATTCCATATATAATTTCTAAAAAGACAATAATGACTTGATTCAT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

R P V V I Y T T P K V Y I K D F S V I T E L S
342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364

5' ATAATTCTGCATTGGTAAAGTACAGTATTGAAAGTGAAGGTAATAATTTTCAAGTTATTTTAAGAGATAA 6370
3' TATTAAGACGTAACCATTTCATGTCATAACTTTCACTTCCATTATTAAAAGTTCAATAAAATTCTCTATT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

N N S A L V K Y S I E S E G N N F Q V I L R D K
365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388

5' AGATAAAAATATAGTAGCAGAGAATTTTGGTAAATCAGGAGTTTTAGAGGTAAAAAATCCAAAATTATGG 6440
3' TCTATTTTTATATCATCGTCTCTTAAAACCATTTAGTCCTCAAAATCTCCATTTTTTAGGTTTTAATACC

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

D K N I V A E N F G K S G V L E V K N P K L W
389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411

5' GAGCCTGGAAATCCTTATCTATATAATTTAGAGATTAAACTTTTGGAAAAAGACAACTTTGATATTTATA 6510
3' CTCGGACCTTTAGGAATAGATATATTAAATCTCTAATTTGAAAACCTTTTTCTGTTGAAACTATAAATAT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

E P G N P Y L Y N L E I K L L E K D N F D I Y
412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434

5' GAATGGACATAGGAATAAGGACGGTAAGAGTAGAGGGAAAACAGTTTCTTATAAATGAGAAACCATTTTA 6580
3' CTTACCTGTATCCTTATTCCTGCCATTCTCATCTCCCTTTTGTCAAAGAATATTTACTCTTTGGTAAAAT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

R M D I G I R T V R V E G K Q F L I N E K P F Y
435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458

5' CTTTAAGGGTTTTGGTAAGCATGAGGACTCAGATATAAGGGGAAAAGGTTTAGATCAAGTTATTAACATT 6650
3' GAAATTCCCAAAACCATTCGTACTCCTGAGTCTATATTCCCCTTTTCCAAATCTAGTTCAATAATTGTAA

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

F K G F G K H E D S D I R G K G L D Q V I N I
459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481

5' AAAGATTTTAATTTATTGAAATGGATAGGGGCAAACTCTTTTAGAACCTCTCACTATCCCTATAGCGAGG 6720
3' TTTCTAAAATTAAATAACTTTACCTATCCCCGTTTGAGAAAATCTTGGAGAGTGATAGGGATATCGCTCC

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

K D F N L L K W I G A N S F R T S H Y P Y S E
482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504

5' AGATACTTTTCCTTGCTGACCAATATGGGATAGCTGTTATTGAGGAAGCTCCAGCTGTTGGGTTAAATTT 6790
3' TCTATGAAAAGGAACGACTGGTTATACCCTATCGACAATAACTCCTTCGAGGTCGACAACCCAATTTAAA

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

E I L F L A D Q Y G I A V I E E A P A V G L N L
505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528

5' ATGGAACCGTAATGAAAAAGTTTTTACTGAAGGAAGGGTTGATGGAAAGACATTAGAGCATCATTTAGAA 6860
3' TACCTTGGCATTACTTTTTCAAAAATGACTTCCTTCCCAACTACCTTTCTGTAATCTCGTAGTAAATCTT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

W N R N E K V F T E G R V D G K T L E H H L E
529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551

5' ATTATGAGGGAACTTATAGCGAGGGATAAAAATCATCCGAGTGTAATTATGTGGAGCGTAGCTAATGAGG 6930
3' TAATACTCCCTTGAATATCGCTCCCTATTTTTAGTAGGCTCACATTAATACACCTCGCATCGATTACTCC

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

I M R E L I A R D K N H P S V I M W S V A N E
552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574

5' CGGCAACTTACGAAGATGGAGCAGAGGAATATTTTAGGAGAGTTATAGAGGAAACAAGAAGGCTCGATCC 7000
3' GCCGTTGAATGCTTCTACCTCGTCTCCTTATAAAATCCTCTCAATATCTCCTTTGTTCTTCCGAGCTAGG

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

A A T Y E D G A E E Y F R R V I E E T R R L D P
575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598

5' TACAAGACCAATAACCATAGTAGAAAATACTAAGGCAAGTGAGACGAAAGTAAGTAAATATGTTGATGTG 7070
3' ATGTTCTGGTTATTGGTATCATCTTTTATGATTCCGTTCACTCTGCTTTCATTCATTTATACAACTACAC

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

T R P I T I V E N T K A S E T K V S K Y V D V
599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621

5' ATATGTGTTAATAGATACTATTCATGGTATACCGATTCGGGAGATTTAAGTGTTATTGAATATCAACTTG 7140
3' TATACACAATTATCTATGATAAGTACCATATGGCTAAGCCCTCTAAATTCACAATAACTTATAGTTGAAC

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

I C V N R Y Y S W Y T D S G D L S V I E Y Q L
622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644

5' AAAGAGATCTTAGAGAGTGGTATGAATTATACAGAAAGCCGATAATTCTCTCTGAGTTCGGGGCAGATGC 7210
3' TTTCTCTAGAATCTCTCACCATACTTAATATGTCTTTCGGCTATTAAGAGAGACTCAAGCCCCGTCTACG

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

E R D L R E W Y E L Y R K P I I L S E F G A D A
645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668

5' TATTTCTGGATTTCATTCTGATCCTCCCTTAATGTTTACAGAGGAGTATCAACAAGAGATGATTAAAAGA 7280
3' ATAAAGACCTAAAGTAAGACTAGGAGGGAATTACAAATGTCTCCTCATAGTTGTTCTCTACTAATTTTCT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

I S G F H S D P P L M F T E E Y Q Q E M I K R
669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691

5' TTTGTGGGAGTTCTTGACAGGCTTGATTTTGTTGTGGGAGAGCATATTTGGAATTTTGCTGATTTTATGA 7350
3' AAACACCCTCAAGAACTGTCCGAACTAAAACAACACCCTCTCGTATAAACCTTAAAACGACTAAAATACT

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

F V G V L D R L D F V V G E H I W N F A D F M
692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714

5' CGAAACAGAGTATAACGAGGGTAGTGGGCAATAAGAAAGGGGTTTTTACAAGGAATAGACAGCCTAAAAT 7420
3' GCTTTGTCTCATATTGCTCCCATCACCCGTTATTCTTTCCCCAAAAATGTTCCTTATCTGTCGGATTTTA

BGH02_B01c

BGH02_B01c-pDONR221

T K Q S I T R V V G N K K G V F T R N R Q P K M
715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738

5' GGTGGCTCATTTTTTGAAAGAGAGATGGAGTAAATTACCTGATTTTTGGGAAAAATAGGACCCAGCTTTC 7490
3' CCACCGAGTAAAAAACTTTCTCTCTACCTCATTTAATGGACTAAAAACCCTTTTTATCCTGGGTCGAAAG

BGH02_B01c

attB2

BGH02_B01c-pDONR221

V A H F L K E R W S K L P D F W E K .
739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757

BamHI EcoICRI SacI SalI HindIII NotI EagI PspXI XhoI AvaI BmeT110I

5' TTGTACAAAGTGGTTGATatcggatccgaattcgagctccgtcgacaagcttgcggccgcactcgagcac 7560
3' AACATGTTTCACCAACTAtagcctaggcttaagctcgaggcagctgttcgaacgccggcgtgagctcgtg

attB2

5' caccaccaccaccactgagatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccg 7630
3' gtggtggtggtggtgactctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggc

BlpI

5' ctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggagg

7700

3' gactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctcc

T7 Terminator

5' aactatatccggat

7714

3' ttgatataggccta