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

5'  gctacacttgccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccg
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  140
3'  cgatgtgaacggtcgcgggatcgcgggcgaggaaagcgaaagaagggaaggaaagagcggtgcaagcggc

5'  gctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcga
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  210
3'  cgaaaggggcagttcgagatttagcccccgagggaaatcccaaggctaaatcacgaaatgccgtggagct

                                          DraIII
                                          |
5'  ccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacggtttttcgccct
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  280
3'  ggggtttttgaactaatcccactaccaagtgcatcacccggtagcgggactatctgccaaaaagcggga

     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'  gactatttacgaagttattataacttttccttctcatactcataagttgtaaaggcacagcgggaataa
                                                 [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'  ttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc
                                   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
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2100
3'  gcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccataggccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcg
o                                   Ori
o
5'  acgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2170
3'  tgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaatatcaggacagcccaaagcggtggagactgaac
o                                   Ori
o
5'  agcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgcccagcaacgcggcctttt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2240
3'  tcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccgcctcggatacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaa
o                                   Ori
o
o                                   PciI
5'  acggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatcccctgattctgtggat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2310
3'  tgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaagaaaggacgcaatagggactaagacaccta
o
5'  aaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2380
3'  ttggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcggcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtc
o
o              SapI
5'  tgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2450
3'  actcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaagaggaatgcgtagacacgccataaagtgtggc
o
o                                                                BstZ17I
5'  catatatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagtatacactccgctatc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2520
3'  gtatataccacgtgagagtcatgttagacgagactacggcgtatcaattcggtcatatgtgaggcgatag
o
o               Tth111I
5'  gctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacccgccaacacccgctgacgcgccctgacgggcttgt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2590
3'  cgatgcactgacccagtaccgacgcggggctgtgggcggttgtgggcgactgcgcgggactgcccgaaca
o
5'  ctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttcac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2660
3'  gacgagggccgtaggcgaatgtctgttcgacactggcagaggccctcgacgtacacagtctccaaaagtg
o
5'  cgtcatcaccgaaacgcgcgaggcagctgcggtaaagctcatcagcgtggtcgtgaagcgattcacagat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2730
3'  gcagtagtggctttgcgcgctccgtcgacgccatttcgagtagtcgcaccagcacttcgctaagtgtcta
o
5'  gtctgcctgttcatccgcgtccagctcgttgagtttctccagaagcgttaatgtctggcttctgataaag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
3'  cagacggacaagtaggcgcaggtcgagcaactcaaagaggtcttcgcaattacagaccgaagactatttc
o
```

```
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                          BclI                MluI
5'  tcatccagcggatagttaatgatcagcccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4410
3'  agtaggtcgcctatcaattactagtcgggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatg
o                                   Lac I
o
5'  aggcttcgacgccgcttcgttctaccatcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagattt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4480
3'  tccgaagctgcggcgaagcaagatggtagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaa
o                                   Lac I
o
5'  aatcgccgcgacaatttgcgacggcgcgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4550
3'  ttagcggcgctgttaaacgctgccgcgcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctg
o                                   Lac I
o
5'  tgtttgcccgccagttgttgtgccacgcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4620
3'  acaaacgggcggtcaacaacacggtgcgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaa
o                                   Lac I
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

5' accgcacctgtggcgccggtgatgccggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatcgatctcgatc 5110
3' tggcgtggacaccgcggccactacggccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagctagagctag

XbaI

5' ccgcgaaattaatacgactcactatagggaattgtgagcggataacaattcccctctagaaataatttt 5180
3' ggcgctttaattatgctgagtgatatccccttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaa

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 BglII 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

BGT10_T01b1-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' aggcTTCCAGCCCCTATTAGACGCTTATACAGACAGCACCCGTTTAGATGAAACCGATTATAAGCCCCCA 5810
3' tccgAAGGTCGGGGATAATCTGCGAATATGTCTGTCGTGGGCAAATCTACTTTGGCTAATATTCGGGGGT

T... | Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

MfeI

5' TTAAATATAGCCCTAGCCAATTGGTGGCCTTTGGATAAAAGAGAAAGCAAAGGGTTTAGGCGTTTTATCT 5880
3' AATTTATATCGGGATCGGTTAACCACCGGAAACCTATTTTCTCTTTCGTTTCCCAAATCCGCAAAATAGA

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

AflII

5' TGTATTTCATCTTAAGCCAACGCTACACAATCACCCTCCACCAAAACCCTAACGAACCCTCCGATCTTGT 5950
3' ACATAAAGTAGAATTCGGTTGCGATGTGTTAGTGGGAGGTGGTTTTGGGATTGCTTGGGAGGCTAGAACA

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

AgeI

5' CTTTGGCAGTCCTATTGGATCAGCCAGAAAAATCCTATCCTATCAAAACACTAAAAGGGTGTTTTACACC 6020
3' GAAACCGTCAGGATAACCTAGTCGGTCTTTTTAGGATAGGATAGTTTTGTGATTTTCCCACAAAATGTGG

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' GGTGAAAATGAAGTCCCTAATTTCAATCTCTTTGATTACGCCATAGGCTTTGATGAATTGGACTTTAGAG 6090
3' CCACTTTTACTTCAGGGATTAAAGTTAGAGAAACTAATGCGGTATCCGAAACTACTTAACCTGAAATCTC

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

BsmI NheI BmtI

5' ATCGTTATTTGAGAATGCCTTTATATTACGCTAGCTTGCATTATAAAGCCGAGAGCGTGAATGACACCAC 6160
3' TAGCAATAAACTCTTACGGAAATATAATGCGATCGAACGTAATATTTCGGCTCTCGCACTTACTGTGGTG

Catalytic Module
BGT10_T01b1
BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' CGCGCCCTACAAACTCAAAGACAACAGCCTTTATGCTTTAAAAAAGCCCTCCCATCATTTTAAAGAAAAC 6230
3' GCGCGGGATGTTTGAGTTTCTGTTGTCGGAAATACGAAATTTTTTCGGGAGGGTAGTAAAATTTCTTTTG

Catalytic Module
BGT10_T01b1
BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' CACCCTAATTTATGCGCAGTAGTGAATGATGAGAGCGATCCTTTGAAAAGAGGGTTTGCGAGCTTTGTCG 6300
3' GTGGGATTAAATACGCGTCATCACTTACTACTCTCGCTAGGAAACTTTTCTCCCAAACGCTCGAAACAGC

Catalytic Module
BGT10_T01b1
BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' CGAGCAACCCTAACGCTCCTATAAGGAACGCTTTCTATGACGCTTTAAATTCTATTGAGCCAGTTACTGG 6370
3' GCTCGTTGGGATTGCGAGGATATTCCTTGCGAAAGATACTGCGAAATTTAAGATAACTCGGTCAATGACC

Catalytic Module
BGT10_T01b1
BGT10_T01b1-pDONR221

A S N P N A P I R N A F Y D A L N S I E P V T G
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' GGGAGGGAGCGTGAAAAACACTTTAGGCTATAACGTCAAAAACAAGAGCGAGTTTTTAAGCCAATACAAA 6440
3' CCCTCCCTCGCACTTTTTGTGAAATCCGATATTGCAGTTTTTGTTCTCGCTCAAAAATTCGGTTATGTTT

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

G G S V K N T L G Y N V K N K S E F L S Q Y K
389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411

5' TTCAATCTGTGTTTTGAAAACACTCAAGGCTATGGCTATGTAACTGAAAAAATCATTGACGCTTATTTCA 6510
3' AAGTTAGACACAAAACTTTTGTGAGTTCCGATACCGATACATTGACTTTTTTAGTAACTGCGAATAAAGT

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' GCCACACCATTCCCATTTATTGGGGGAGTCCTAGCGTGGCGAAAGACTTTAACCCTAAGAGTTTTGTGAA 6580
3' CGGTGTGGTAAGGGTAAATAACCCCCTCAGGATCGCACCGCTTTCTGAAATTGGGATTCTCAAAACACTT

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

S H T I P I Y W G S P S V A K D F N P K S F V N
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' CGTTTGTGATTTTAAAAACTTTGATGAAGCGATTGATTACGTGAGATACTTGCACACGCACCCAAACGCT 6650
3' GCAAACACTAAAATTTTTGAAACTACTTCGCTAACTAATGCACTCTATGAACGTGTGCGTGGGTTTGCGA

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' TATTTAGACATGCTCTATGAAAACCCTTTAAACACCCTTGATGGGAAAGCTTACTTTTACCAAAATTTGA 6720
3' ATAAATCTGTACGAGATACTTTTGGGAAATTTGTGGGAACTACCCTTTCGAATGAAAATGGTTTTAAACT

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' GTTTTAAAAAAATCCTAGATTTTTTTAAAACGATTTTAGAAAACGACACGATCTATCACGATAACCCTTT 6790
3' CAAAATTTTTTTAGGATCTAAAAAAATTTTGCTAAAATCTTTTGCTGTGCTAGATAGTGCTATTGGGAAA

Catalytic Module

BGT10_T01b1

BGT10_T01b1-pDONR221

S F K K I L D F F K T I L E N D T I Y H D N P F
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' CATTTTCTATCGCGATTTGAATGAGCCTTTAGTAGCTATTGATGATTTGAGGGTTAATTATGATGATTTG 6860
3' GTAAAAGATAGCGCTAAACTTACTCGGAAATCATCGATAACTACTAAACTCCCAATTAATACTACTAAAC

Catalytic Module

BGT10_T01b1

DDLRVNY Repeats

BGT10_T01b1-pDONR221

I F Y R D L N E P L V A I D D L R V N Y D D L
529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551

5' AGGGTTAATTATGATGATTTGAGGGTTAATTATGATGATTTGAGGGTTAATTATGATGATTTGAGGGTTA 6930
3' TCCCAATTAATACTACTAAACTCCCAATTAATACTACTAAACTCCCAATTAATACTACTAAACTCCCAAT

BGT10_T01b1

DDLRVNY Repeats

BGT10_T01b1-pDONR221

R V N Y D D L R V N Y D D L R V N Y D D L R V
552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574

5' ATTATGATGATTTGAGGGTTAATTATGATGATTTGAGGGTTAATTATGATCGCCTTTTACAAAACGCTTC 7000
3' TAATACTACTAAACTCCCAATTAATACTACTAAACTCCCAATTAATACTAGCGGAAAATGTTTTGCGAAG

BGT10_T01b1

DDLRVNY Repeats

Unknown

BGT10_T01b1-pDONR221

N Y D D L R V N Y D D L R V N Y D R L L Q N A S
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' GCCTTTATTAGAACTCTCTCAAAACACCACTTTTAAAATCTATCGCAAAGCCTATCAAAAATCCTTACCT 7070
3' CGGAAATAATCTTGAGAGAGTTTTGTGGTGAAAATTTTAGATAGCGTTTCGGATAGTTTTTAGGAATGGA

BGT10_T01b1

Unknown

BGT10_T01b1-pDONR221

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

5' TTGTTGCGCACCATAAGGAGATGGGTTAAAAAATAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATatcg 7140
3' AACAACGCGTGGTATTCCTCTACCCAATTTTTTATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAtagc

BGT10_T01b1 attB2

Unknown

BGT10_T01b1-pDONR221

L L R T I R R W V K K .
622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633

BamHI EcoRI EcoICRI SacI SalI NotI EagI PspXI XhoI AvaI BmeT110I

5' gatccgaattcgagctccgtcgacaagcttgcggccgcactcgagcaccaccaccaccaccactgagatc 7210
3' ctaggcttaagctcgaggcagctgttcgaacgccggcgtgagctcgtggtggtggtggtggtgactctag

BlpI

5' cggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacc 7280
3' gccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattgg

T7 Terminator

5' ccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaactatatccggat 7342
3' ggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctccttgatataggccta

T7 Terminator