```
5'  ttcttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttct
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  70
3'  aagaacttctgctttcccggagcactatgcggataaaaatatccaattacagtactattattaccaaaga

        ZraI
          AatII
5'  tagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacatt
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----| 140
3'  atctgcagtccaccgtgaaaagcccctttacacgcgccttggggataaacaaataaaaagatttatgtaa

                                                          SspI
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

5'  gagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgg
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----| 630
3'  ctcttaatacgtcacgacggtattggtactcactattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcc
    ================================================================
                                   Ap
```

```
5'  aggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
                                                                      700
3'  tcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtgttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaaccctt
                                  Ap

                                                   PstI
5'  ccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgt
                                                                      770
3'  ggcctcgacttacttcggtatggtttgctgctcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgca
                                  Ap

5'  tgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggc
                                                                      840
3'  acgcgtttgataattgaccgcttgatgaatgagatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccg
                                  Ap

5'  ggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctgga
                                                                      910
3'  cctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagccgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacct
                                  Ap

5'  gccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtag
                                                                      980
3'  cggccactcgcacccagagcgccatagtaacgtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatc
                                  Ap

5'  ttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctc
                                                                     1050
3'  aatagatgtgctgcccctcagtccgttgatacctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggag
                                  Ap

5'  actgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcat
                                                                     1120
3'  tgactaattcgtaaccattgacagtctggttcaaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagta
                                  Ap

5'  ttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagt
                                                                     1190
3'  aaaattaaattttcctagatccacttctaggaaaaactattagagtactggttttagggaattgcactca

5'  tttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgcg
                                                                     1260
3'  aaagcaaggtgactcgcagtctggggcatcttttctagtttcctagaagaactctaggaaaaaaagacgc
                                                  Ori

5'  cgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagcta
                                                                     1330
3'  gcattagacgacgaacgtttgtttttttggtggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgat
                                  Ori
```

```
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'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccccgcctcgg
o   ================================================================
                                   Ori
o
                                                                  PciI
o                                                                 |
5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
o   ==========>
                 Ori
o
5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
o
                                          SapI
o                                         |
5'  cgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2030
3'  gcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtcactcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaag
o
```

```
5'  tccttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatatatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2100
3'  aggaatgcgtagacacgccataaagtgtggcgtatataccacgtgagagtcatgttagacgagactacgg
o
                        BstZ17I
o                       |
5'  gcatagttaagccagtatacactccgctatcgctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacccgcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2170
3'  cgtatcaattcggtcatatgtgaggcgatagcgatgcactgacccagtaccgacgcggggctgtgggcgg
o
5'  aacacccgctgacgcgccctgacgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2240
3'  ttgtgggcgactgcgcgggactgcccgaacagacgagggccgtaggcgaatgtctgttcgacactggcag
o
5'  tccgggagctgcatgtgtcagaggttttcaccgtcatcaccgaaacgcgcgaggcagctgcggtaaagct
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2310
3'  aggccctcgacgtacacagtctccaaaagtggcagtagtggctttgcgcgctccgtcgacgccatttcga
o
5'  catcagcgtggtcgtgaagcgattcacagatgtctgcctgttcatccgcgtccagctcgttgagtttctc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2380
3'  gtagtcgcaccagcacttcgctaagtgtctacagacggacaagtaggcgcaggtcgagcaactcaaagag
o
5'  cagaagcgttaatgtctggcttctgataaagcgggccatgttaagggcggtttttcctgtttggtcact
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2450
3'  gtcttcgcaattacagaccgaagactatttcgcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtga
o
5'  gatgcctccgtgtaagggggatttctgttcatgggggtaatgataccgatgaaacgagagaggatgctca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2520
3'  ctacggaggcacattccccctaaagacaagtacccccattactatggctactttgctctctcctacgagt
o
5'  cgatacgggttactgatgatgaacatgcccggttactggaacgttgtgagggtaaacaactggcggtatg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2590
3'  gctatgcccaatgactactacttgtacgggccaatgaccttgcaacactcccatttgttgaccgccatac
o
5'  gatgcggcgggaccagagaaaaatcactcagggtcaatgccagcgcttcgttaatacagatgtaggtgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2660
3'  ctacgccgccctggtctctttttagtgagtcccagttacggtcgcgaagcaattatgtctacatccacaa
o
5'  ccacagggtagccagcagcatcctgcgatgcagatccggaacataatggtgcagggcgctgacttccgcg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2730
3'  ggtgtcccatcggtcgtcgtaggacgctacgtctaggccttgtattaccacgtcccgcgactgaaggcgc
o
                                                        Bpu10I
o                                                       |
5'  tttccagactttacgaaacacggaaaccgaagaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
3'  aaaggtctgaaatgctttgtgcctttggcttctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgt
o
5'  gcagcagtcgcttcacgttcgctcgcgtatcggtgattcattctgctaaccagtaaggcaaccccgccag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2870
3'  cgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatagccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtc
o
```

```
                                                FspAI      MscI
5'  cctagccgggtcctcaacgacaggagcacgatcatgcgcacccgtggccaggacccaacgctgcccgaga
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2940
3'  ggatcggcccaggagttgctgtcctcgtgctagtacgcgtgggcaccggtcctgggttgcgacgggctct

                                                                      BsmI
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

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

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

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

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

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

            PshAI
5'  gcgacgatagtcatgccccgcgcccaccggaaggagctgactgggttgaaggctctcaagggcatcggtc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3710
3'  cgctgctatcagtacggggcgcgggtggccttcctcgactgacccaacttccgagagttcccgtagccag
```

```
5'  gagatcccggtgcctaatgagtgagctaacttacattaattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3780
3'  ctctagggccacggattactcactcgattgaatgtaattaacgcaacgcgagtgacgggcgaaaggtcag
                                                          Lac I

5'  gggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattggg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3850
3'  ccctttggacagcacggtcgacgtaattacttagccggttgcgcgcccctctccgccaaacgcataaccc
                                   Lac I

5'  cgccagggtggtttttctttcaccagtgagacgggcaacagctgattgcccttcaccgcctggccctga
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3920
3'  gcggtcccaccaaaaagaaaagtggtcactctgcccgttgtcgactaacgggaagtggcggaccgggact
                                   Lac I

                                                                   HpaI
5'  gagagttgcagcaagcggtccacgctggtttgccccagcaggcgaaaatcctgtttgatggtggttaacg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3990
3'  ctctcaacgtcgttcgccaggtgcgaccaaacggggtcgtccgcttttaggacaaactaccaccaattgc
                                   Lac I

5'  gcgggatataacatgagctgtcttcggtatcgtcgtatcccactaccgagatatccgcaccaacgcgcag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4060
3'  cgccctatattgtactcgacagaagccatagcagcatagggtgatggctctataggcgtggttgcgcgtc
                                   Lac I

                        BssHII
5'  cccggactcggtaatggcgcgcattgcgcccagcgccatctgatcgttggcaaccagcatcgcagtggga
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4130
3'  gggcctgagccattaccgcgcgtaacgcgggtcgcggtagactagcaaccgttggtcgtagcgtcaccct
                                   Lac I

5'  acgatgccctcattcagcatttgcatggtttgttgaaaaccggacatggcactccagtcgccttcccgtt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4200
3'  tgctacgggagtaagtcgtaaacgtaccaaacaacttttggcctgtaccgtgaggtcagcggaagggcaa
                                   Lac I

5'  ccgctatcggctgaatttgattgcgagtgagatatttatgccagccagccagacgcagacgcgccgagac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4270
3'  ggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtcggtcggtctgcgtctgcgcggctctg
                                   Lac I

                    PspOMI
                       ApaI
5'  agaacttaatgggcccgctaacagcgcgatttgctggtgacccaatgcgaccagatgctccacgcccagt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4340
3'  tcttgaattacccgggcgattgtcgcgctaaacgaccactgggttacgctggtctacgaggtgcgggtca
                                   Lac I
```

```
5'  cgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgtctggtcagagacatcaagaaataacg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4410
3'  gcgcatggcagaagtaccctcttttattatgacaactacccacagaccagtctctgtagttctttattgc
                                      Lac I

5'  ccggaacattagtgcaggcagcttccacagcaatggcatcctggtcatccagcggatagttaatgatcag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4480
3'  ggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggaccagtaggtcgcctatcaattactagtc
                                      Lac I

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'  agtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaacaagcgctcatgagcccgaagtggcgag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5110
3'  tcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgttcgcgagtactcgggcttcaccgctc
```

5' cccgatcttccccatcggtgatgtcggcgatataggcgccagcaaccgcacctgtggcgccggtgatgcc 5180
3' gggctagaaggggtagccactacagccgctatatccgcggtcgttggcgtggacaccgcggccactacgg

BglII

5' ggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatctcgatcccgcgaaattaatacgactcactatagggg 5250
3' ccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagagctagggcgctttaattatgctgagtgatatcccc

T7 Promoter

XbaI BarI NcoI

5' aattgtgagcggataacaattcccctctagaaataattttgtttaactttaagaaggagatataccatgg 5320
3' ttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaacaaattgaaattcttcctctatatggtacc

Lac O

M
1

BarI' NdeI

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' AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcAACGACGGCGACGGGACGCCC 5460
3' TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgTTGCTGCCGCTGCCCTGCGGG

attB1 TEV site BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

AlaI' AlaI

5' GCGGCTGCGGCGCGGGAGAGGCGGTTCGGCCCGCTGGGCACGGCCCTGGTGATCATCCCGACCTACAACG 5530
3' CGCCGACGCCGCGCCCTCTCCGCCAAGCCGGGCGACCCGTGCCGGGACCACTAGTAGGGCTGGATGTTGC

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

5' AGGCGGAGAACATCAAGGCGATCGTCACGCGTGTGCGCGAGGCCGTCCCCGAGGCACACGTGCTCGTGGC 5600
3' TCCGCCTCTTGTAGTTCCGCTAGCAGTGCGCACACGCGCTCCGGCAGGGGCTCCGTGTGCACGAGCACCG

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

E A E N I K A I V T R V R E A V P E A H V L V A
72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95

NotI

5' CGACGACAACAGCCCCGACGGCACCGGCAAGCTCGCCGACGAACTGGCGGCCGCGGACGACCACGTCCAG 5670
3' GCTGCTGTTGTCGGGGCTGCCGTGGCCGTTCGAGCGGCTGCTTGACCGCCGGCGCCTGCTGGTGCAGGTC

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

5' GTCATGCACCGCAAGGGCAAGGAAGGGCTGGGCGCCGCCTACCTCGCCGGCTTCCGCTGGGGCCTGGAGC 5740
3' CAGTACGTGGCGTTCCCGTTCCTTCCCGACCCGCGGCGGATGGAGCGGCCGAAGGCGACCCCGGACCTCG

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

V M H R K G K E G L G A A Y L A G F R W G L E
119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141

5' ACGGCTACGGCGTGCTGATCGAGATGGACGCCGACGGCTCCCACCAGCCCGAGGAACTGCCCCGTCTGCT 5810
3' TGCCGATGCCGCACGACTAGCTCTACCTGCGGCTGCCGAGGGTGGTCGGGCTCCTTGACGGGGCAGACGA

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

H G Y G V L I E M D A D G S H Q P E E L P R L L
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' GACCGCCCTCAAGGGCGCCGACCTCGTCCTCGGCTCGCGCTGGGTGCCCGGCGGCCGGGTGGTCAACTGG 5880
3' CTGGCGGGAGTTCCCGCGGCTGGAGCAGGAGCCGAGCGCGACCCACGGGCCGCCGGCCCACCAGTTGACC

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

```
5'  CCCAAGTCCCGCGAGATCATCTCGCGTGGCGGCAGCATGTACTCGAGAATCGCGCTCGACCTGCCGCTGC
                                                                          5950
3'  GGGTTCAGGGCGCTCTAGTAGAGCGCACCGCCGTCGTACATGAGCTCTTAGCGCGAGCTGGACGGCGACG
```

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

AbsI

```
5'  GCGACATCACCGGCGGCTACCGCGCCTTCCGCCGCGAGACCCTGGAGGGGCTCGGCCTCGAGGAGGTCGC
                                                                          6020
3'  CGCTGTAGTGGCCGCCGATGGCGCGGAAGGCGGCGCTCTGGGACCTCCCCGAGCCGGAGCTCCTCCAGCG
```

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

PasI
BseRI

```
5'  CTCCCAGGGGTACTGCTTCCAGGTCGACCTCGCCCGCCGGGCGATCAAGGCCGGCTATCACGTCGTGGAG
                                                                          6090
3'  GAGGGTCCCCATGACGAAGGTCCAGCTGGAGCGGGCGGCCCGCTAGTTCCGGCCGATAGTGCAGCACCTC
```

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

```
S  Q  G  Y  C  F  Q  V  D  L  A  R  R  A  I  K  A  G  Y  H  V  V  E
236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258
5'  GTGCCGATCACGTTCGTGGAGCGGGAACTCGGCGACTCCAAGATGAGCCGCGACATCCTGGTGGAGGCCC
                                                                          6160
3'  CACGGCTAGTGCAAGCACCTCGCCCTTGAGCCGCTGAGGTTCTACTCGGCGCTGTAGGACCACCTCCGGG
```

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

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

RsrII

```
5'  TGTGGCGGGTCACCACGTGGGGCGTGGGGGAGAGGGTCGGCAAGGTGCTCGGCCGCGACAGGCGGTCCGG
                                                                          6230
3'  ACACCGCCCAGTGGTGCACCCCGCACCCCCTCTCCCAGCCGTTCCACGAGCCGGCGCTGTCCGCCAGGCC
```

BGT02_T03b

BGT02_T03b-pDONR221

```
L  W  R  V  T  T  W  G  V  G  E  R  V  G  K  V  L  G  R  D  R  R  S  G
282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305
```

```
5'  CACGGCGGCCGACGGGCAGACGGCCTCGAGCGGGACCGACGGGCGGACGGCCTCGAGCGACAGGTCGACG
                                                                          6300
3'  GTGCCGCCGGCTGCCCGTCTGCCGGAGCTCGCCCTGGCTGCCCGCCTGCCGGAGCTCGCTGTCCAGCTGC
    BGT02_T03b
    BGT02_T03b-pDONR221

    T   A   A   D   G   Q   T   A   S   S   G   T   D   G   R   T   A   S   S   D   R   S   T
    306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328

                                                StuI
                                                AvrII
5'  GACTCCCTCGACGAGTCGGCGAAGGCGTCCGACGCCAAGGCCTAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGG
                                                                          6370
3'  CTGAGGGAGCTGCTCAGCCGCTTCCGCAGGCTGCGGTTCCGGATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACC
    BGT02_T03b                                  attB2
    BGT02_T03b-pDONR221

    D   S   L   D   E   S   A   K   A   S   D   A   K   A   .
    329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343

                BamHI                                                 BlpI
5'  TTGATtcgaggatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaa
                                                                          6440
3'  AACTAagctcctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggcgactcgtt
                                                                T7 Terminator

5'  taactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaactatat
                                                                          6510
3'  attgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctccttgatata
    T7 Terminator

5'  ccggatatcccgcaagaggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcatccagggtgacg
                                                                          6580
3'  ggcctatagggcgttctcccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgtaggtcccactgc

5'  gtgccgaggatgacgatgagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgttagcaatttaact
                                                                          6650
3'  cacggctcctactgctactcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaatcgttaaattga

                        HindIII     ClaI                        EcoRI
5'  gtgataaactaccgcattaaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa
                                                                          6703
3'  cactatttgatggcgtaatttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt
```