```
5'  ttcttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttct
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  70
3'  aagaacttctgctttcccggagcactatgcggataaaaatatccaattacagtactattattaccaaaga
o

        ZraI
o         |  AatII
          |   |
5'  tagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacatt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  140
3'  atctgcagtccaccgtgaaaagcccctttacacgcgccttggggataaacaaataaaaagatttatgtaa
o

5'  caaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  210
3'  gtttatacataggcgagtactctgttattgggactatttacgaagttattataactttttccttctcata
o                                                                   [green]

o

5'  gagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  280
3'  ctcataagttgtaaaggcacagcgggaataagggaaaaaacgccgtaaaacggaaggacaaaaacgagtg
o   [green]
                                  Ap
o

5'  ccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactgg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  350
3'  ggtctttgcgaccactttcattttctacgacttctagtcaacccacgtgctcacccaatgtagcttgacc
o   [green]
                                  Ap
o

5'  atctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaa
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  420
3'  tagagttgtcgccattctaggaactctcaaaagcggggcttcttgcaaaaggttactactcgtgaaaatt
o   [green]
                                  Ap
o

5'  agttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  490
3'  tcaagacgatacaccgcgccataatagggcacaactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtg
o   [green]
                                  Ap
o

o                                 ScaI
                                   |
5'  tattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaa
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  560
3'  ataagagtcttactgaaccaactcatgagtggtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcatt
o   [green]
                                  Ap
o

o                                                                   PvuI
                                                                     |
5'  gagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  630
3'  ctcttaatacgtcacgacggtattggtactcactattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcc
o   [green]
                                  Ap
o
```

```
5'  aggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
                                                                      700
3'  tcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtgttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaaccctt
                                   Ap

                                                          PstI
5'  ccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgt
                                                                      770
3'  ggcctcgacttacttcggtatggtttgctgctcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgca
                                   Ap

5'  tgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggc
                                                                      840
3'  acgcgtttgataattgaccgcttgatgaatgagatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccg
                                   Ap

5'  ggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctgga
                                                                      910
3'  cctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagccgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacct
                                   Ap

                          BsaI
5'  gccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtag
                                                                      980
3'  cggccactcgcacccagagcgccatagtaacgtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatc
                                   Ap

                     AhdI
5'  ttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctc
                                                                     1050
3'  aatagatgtgctgcccctcagtccgttgatacctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggag
                                   Ap

5'  actgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcat
                                                                     1120
3'  tgactaattcgtaaccattgacagtctggttcaaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagta
                                   Ap

5'  ttttaatttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagt
                                                                     1190
3'  aaaattaaattttcctagatccacttctaggaaaaactattagagtactggttttagggaattgcactca

5'  tttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgcg
                                                                     1260
3'  aaagcaaggtgactcgcagtctggggcatcttttctagtttcctagaagaactctaggaaaaaaagacgc
                                                   Ori
```

```
5'  cgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagcta
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1330
3'  gcattagacgacgaacgtttgtttttttggtggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgat
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  ccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagc
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1400
3'  ggttgagaaaaaggcttccattgaccgaagtcgtctcgcgtctatggtttatgacaggaagatcacatcg
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttacc
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1470
3'  gcatcaatccggtggtgaagttcttgagacatcgtggcggatgtatggagcgagacgattaggacaatgg
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  agtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataag
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1540
3'  tcaccgacgacggtcaccgctattcagcacagaatggcccaacctgagttctgctatcaatggcctattc
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  gcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaac
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1610
3'  cgcgtcgccagcccgacttgccccccaagcacgtgtgtcgggtcgaacctcgcttgctggatgtggcttg
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  tgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatcc
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1680
3'  actctatggatgtcgcactcgatactctttcgcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccatagg
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  ggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttat
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1750
3'  ccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcgtgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaata
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

5'  agtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcc
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1820
3'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtccccccgcctcgg
    ==========================================================================
    ------------------------------------------Ori-------------------------------------------

                                                                                PciI
5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
    ==========================>
    ---------------Ori---------------

5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
```

SapI

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

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

AccI
BstZ17I

```
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
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2870
3'   cgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatagccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtc
o

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

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

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

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

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

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

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

                                     NruI                          EagI
o                                    |                             |
5'   aatggggaaggccatccagcctcgcgtcgcgaacgccagcaagacgtagcccagcgcgtcggccgccatg
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3430
3'   ttacccttccggtaggtcggagcgcagcgcttgcggtcgttctgcatcgggtcgcgcagccggcggtac
o

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

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

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

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

EcoNI

5' tttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctcccttatgcgactcctgcattaggaagcagcc 4970
3' aaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaatacgctgaggacgtaatccttcgtcgg

SphI

5' cagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatggtgcatgcaaggagatggcgcccaac 5040
3' gtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttaccacgtacgttcctctaccgcgggttg

5' agtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaacaagcgctcatgagcccgaagtggcgag 5110
3' tcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgttcgcgagtactcgggcttcaccgctc

SgrAI

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' gccatcatcatcatcatcatcatcatcacagcagcggccatatcgaaggtcgtcatatgctcgaATC 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' AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcTTAAACTTTTTAAGTATCTTT 5460
3' TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgAATTTGAAAAATTCATAGAAA

attB1 | TEV site | BGT02_T05a | BGT02_T05a-pDONR221

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

5' TTATTGACTTATGGTGTGCTTGCTATTTCGCACATTGCATTCCAAATTATTCTATGTCATAGTGACCATA 5530
3' AATAACTGAATACCACACGAACGATAAAGCGTGTAACGTAAGGTTTAATAAGATACAGTATCACTGGTAT

BGT02_T05a | BGT02_T05a-pDONR221

L L T Y G V L A I S H I A F Q I I L C H S D H
49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71

5' GACGACAGAGCAAGAAATCATTTAAGGATTTCCATAGTAACTATCAGGCTAGTGTTTCAGTCATTGTGCC 5600
3' CTGCTGTCTCGTTCTTTAGTAAATTCCTAAAGGTATCATTGATAGTCCGATCACAAAGTCAGTAACACGG

BGT02_T05a | BGT02_T05a-pDONR221

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

CspCI' CspCI
5' TGCATATAATGAAGAACCACAAATTTTGAAGAATTGTATTGATTCTATTGTGGCACAAAAAGCACCTGAC 5670
3' ACGTATATTACTTCTTGGTGTTTAAAACTTCTTAACATAACTAAGATAACACCGTGTTTTTCGTGGACTG

BGT02_T05a | BGT02_T05a-pDONR221

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

5' CTAGAGATTATTGTTGTAGATGACGGATCAAAAAATCGTGAAGAATTGATTGAAAAAGTCTATAACACTT 5740
3' GATCTCTAATAACAACATCTACTGCCTAGTTTTTTAGCACTTCTTAACTAACTTTTTCAGATATTGTGAA

BGT02_T05a | BGT02_T05a-pDONR221

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

Bsu36I

5' ATCAATCAAATCAAAATGTTAAAATTTTATTGCCTGAGGAAAACAAAGGCAAACGTCACTGTCAAAAACT 5810
3' TAGTTAGTTTAGTTTTACAATTTTAAAATAACGGACTCCTTTTGTTTCCGTTTGCAGTGACAGTTTTTGA

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

Y Q S N Q N V K I L L P E E N K G K R H C Q K 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' TGGATTTGATATTGCTAAGGGCGATATTATTGTCACAGTGGATTCAGATACCTTACTACATGATGAGAAT 5880
3' ACCTAAACTATAACGATTCCCGCTATAATAACAGTGTCACCTAAGTCTATGGAATGATGTACTACTCTTA

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

PsiI

5' GCAGTTGAAAAATTAATTCAGCGTTTTGCTTATAAGAACGTTGGGGCTGTCACTGGTGATGTTCGAGTCG 5950
3' CGTCAACTTTTTAATTAAGTCGCAAAACGAATATTCTTGCAACCCCGACAGTGACCACTACAAGCTCAGC

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

BmgBI SnaBI

5' AAAACAAAAATACGAATATCTTAACACGTCTGATTACGTATCGCTATTGGACTGCGTTTCACCAAGAGCG 6020
3' TTTTGTTTTTATGCTTATAGAATTGTGCAGACTAATGCATAGCGATAACCTGACGCAAAGTGGTTCTCGC

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

E N K N T N I L T R L I T Y R Y W T A F H Q E R
212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235

5' AGCAGCTCAAAGCCGCTTTCACGTTGTAATGTGTTGTTCTGGACCGTTTTCAGCCTATCGTAAAGAAATA 6090
3' TCGTCGAGTTTCGGCGAAAGTGCAACATTACACAACAAGACCTGGCAAAAGTCGGATAGCATTTCTTTAT

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

A A Q S R F H V V M C C S G P F S A Y R K E I
236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258

5' ATTGACAAAGTCAAAGAGAAATACATTACACAATATTTCTTAGGCGAAAATTGTACCTATGGAGATGACC 6160
3' TAACTGTTTCAGTTTCTCTTTATGTAATGTGTTATAAAGAATCCGCTTTTAACATGGATACCTCTACTGG

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

BaeI

5' GTCATTTGACAAATTTGGTTCTTGAAGAAGGCCATGACGTTGCCTTCCACAGAGATAGTAGAGTTTATAC 6230
3' CAGTAAACTGTTTAAACCAAGAACTTCTTCCGGTACTGCAACGGAAGGTGTCTCTATCATCTCAAATATG

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

BaeI'

5' TTTTGTACCTGAAACAATTCGTGGATATATCAAACAGCAAGTACGATGGAATAAAAGCTTCTATCGTGAG 6300
3' AAAACATGGACTTTGTTAAGCACCTATATAGTTTGTCGTTCATGCTACCTTATTTTCGAAGATAGCACTC

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

5' ATGCTTTGGACAATTAAGTTTGCACCTAAACGTCATTTTTATATGCTTTATGATTTGGTCATGCAATTTA 6370
3' TACGAAACCTGTTAATTCAAACGTGGATTTGCAGTAAAAATATACGAAATACTAAACCAGTACGTTAAAT

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

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

5' TCTTACCGTTTATGTTGGTTGTATCATTAATTGCTATGGCTGTCCAAACAATTTCATATCATGATTTAGG 6440
3' AGAATGGCAAATACAACCAACATAGTAATTAACGATACCGACAGGTTTGTTAAAGTATAGTACTAAATCC

BGT02_T05a

BGT02_T05a-pDONR221

I L P F M L V V S L I A M A V Q T I S Y H D L G
352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375

```
5'  ACATTTCTATCATTATTTGCTTGTTTTGATTCTGATCGCTATTTTCCGTTCACTGTATGGTATTTATCGA
                                                                      6510
3'  TGTAAAGATAGTAATAAACGAACAAAACTAAGACTAGCGATAAAAGGCAAGTGACATACCATAAATAGCT
    ------------------------------------------------ BGT02_T05a ------------------------------------------------
    ------------------------------------------------ BGT02_T05a-pDONR221 ------------------------------------------------

    H   F   Y   H   Y   L   L   V   L   I   L   I   A   I   F   R   S   L   Y   G   I   Y   R
    376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398

5'  ACTAAAGACATTGGATTTTTACTCTTTGTTTTATATGGCTTTATGCACGTACTAATTCTATTACCTGTTC
                                                                      6580
3'  TGATTTCTGTAACCTAAAAATGAGAAACAAAATATACCGAAATACGTGCATGATTAAGATAATGGACAAG
    ------------------------------------------------ BGT02_T05a ------------------------------------------------
    ------------------------------------------------ BGT02_T05a-pDONR221 ------------------------------------------------

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

5'  GATTCTATGCACTATTCACATTGAAATCGACAAAATGGGGAACGCGATAGGACCCAGCTTTCTTGTACAA
                                                                      6650
3'  CTAAGATACGTGATAAGTGTAACTTTAGCTGTTTTACCCCTTGCGCTATCCTGGGTCGAAAGAACATGTT
    ---------------------- BGT02_T05a ----------------------  ---------- attB2 ----------
    ------------------------------------------------ BGT02_T05a-pDONR221 ------------------------------------------------

    R   F   Y   A   L   F   T   L   K   S   T   K   W   G   T   R   .
    422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438

                        BamHI                                                                                   BlpI
5'  AGTGGTTGATtcgaggatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctg
                                                                      6720
3'  TCACCAACTAagctcctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggcgac
    -- attB2 --                                                                                  -- T7...r --

5'  agcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaac
                                                                      6790
3'  tcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctccttg
    ------------------------------------------ T7 Terminator ------------------------------------------

5'  tatatccggatatcccgcaagaggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcatccaggg
                                                                      6860
3'  atataggcctatagggcgttctccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgtaggtccc

5'  tgacggtgccgaggatgacgatgagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgttagcaatt
                                                                      6930
3'  actgccacggctcctactgctactcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaatcgttaa

                                                ClaI                                EcoRI
5'  taactgtgataaactaccgcattaaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa
                                                                      6988
3'  attgacactatttgatggcgtaatttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt
```