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

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

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

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

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

                         PsiI
                         |
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'  ttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc
    ================================================================================
                                          Ap

                                  PstI
5'  agcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1190
3'  tcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgcaacgcgtttgataattgaccgcttgatgaatg
    ================================================================================
                                          Ap

5'  tctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1260
3'  agatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccgcctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagc
    ================================================================================
                                          Ap

5'  gcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1330
3'  cgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacctcggccactcgcacccagagcgccatagtaac
    ================================================================================
                                          Ap

                                                                  AhdI
5'  cagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactat
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1400
3'  gtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatcaatagatgtgctgcccctcagtccgttgata
    ================================================================================
                                          Ap
```

```
5'  ggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaa
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1470
3'  cctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggagtgactaattcgtaaccattgacagtctggtt
o   ==========================================================>
                                  Ap
o
5'  gtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1540
3'  caaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagtaaaaattaaattttcctagatccacttctagg
o
5'  tttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtaga
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1610
3'  aaaaactattagagtactggttttagggaattgcactcaaaagcaaggtgactcgcagtctggggcatct
o
5'  aaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaacca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1680
3'  tttctagtttcctagaagaactctaggaaaaaaagacgcgcattagacgacgaacgtttgtttttttggt
o      ____________________________________________________________________
                                  Ori
o
5'  ccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1750
3'  ggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgatggttgagaaaaaggcttccattgaccgaagt
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
5'  gcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1820
3'  cgtctcgcgtctatggtttatgacaggaagatcacatcggcatcaatccggtggtgaagttcttgagaca
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
5'  agcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  tcgtggcggatgtatggagcgagacgattaggacaatggtcaccgacgacggtcaccgctattcagcaca
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
5'  cttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaatggcccaacctgagttctgctatcaatggcctattccgcgtcgccagcccgacttgccccccaagca
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
5'  gcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2030
3'  cgtgtgtcgggtcgaacctcgcttgctggatgtggcttgactctatggatgtcgcactcgatactctttc
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
5'  cgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2100
3'  gcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccataggccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcg
o   ==========================================================================
                                  Ori
o
```

```
5'  acgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttg
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2170
3'  tgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaatatcaggacagcccaaagcggtggagactgaac
o                                   Ori
o
5'  agcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttt
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
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'  gcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtgactacggaggcacattcccccctaaagacaagt
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

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

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

5'  ttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3710
3'  aacgcgagtgacgggcgaaaggtcagccctttggacagcacggtcgacgtaattacttagccggttgcgc
o           Lac I
o           <----------------------------------------------------------------
```

```
5'  cggggagaggcggtttgcgtattgggcgccagggtggtttttcttttcaccagtgagacgggcaacagct
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3780
3'  gcccctctccgccaaacgcataacccgcggtcccaccaaaaagaaaagtggtcactctgcccgttgtcga
                                   Lac I

5'  gattgcccttcaccgcctggccctgagagagttgcagcaagcggtccacgctggtttgccccagcaggcg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3850
3'  ctaacgggaagtggcggaccgggactctctcaacgtcgttcgccaggtgcgaccaaacggggtcgtccgc
                                   Lac I

                          HpaI
5'  aaaatcctgtttgatggtggttaacggcgggatataacatgagctgtcttcggtatcgtcgtatcccact
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3920
3'  ttttaggacaaactaccaccaattgccgccctatattgtactcgacagaagccatagcagcatagggtga
                                   Lac I

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
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4340
3'  gaccagtctctgtagttctttattgcggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggacc
                                   Lac I
```

MluI

```
5'  tcatccagcggatagttaatgatcagcccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttac
                                                                          4410
3'  agtaggtcgcctatcaattactagtcgggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatg
```

Lac I

```
5'  aggcttcgacgccgcttcgttctaccatcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagattt
                                                                          4480
3'  tccgaagctgcggcgaagcaagatggtagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaa
```

Lac I

```
5'  aatcgccgcgacaatttgcgacggcgcgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgac
                                                                          4550
3'  ttagcggcgctgttaaacgctgccgcgcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctg
```

Lac I

```
5'  tgtttgcccgccagttgttgtgccacgcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactt
                                                                          4620
3'  acaaacgggcggtcaacaacacggtgcgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaa
```

Lac I

```
5'  tttcccgcgttttcgcagaaacgtggctggcctggttcaccacgcgggaaacggtctgataagagacacc
                                                                          4690
3'  aaagggcgcaaaagcgtctttgcaccgaccggaccaagtggtgcgccctttgccagactattctctgtgg
```

BstAPI

```
5'  ggcatactctgcgacatcgtataacgttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccggg
                                                                          4760
3'  ccgtatgagacgctgtagcatattgcaatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggccc

5'  cgctatcatgccataccgcgaaaggttttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctccctta
                                                                          4830
3'  gcgatagtacggtatggcgctttccaaaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaat

5'  tgcgactcctgcattaggaagcagcccagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatg
                                                                          4900
3'  acgctgaggacgtaatccttcgtcgggtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttac
```

SphI

```
5'  gtgcatgcaaggagatggcgcccaacagtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaaca
                                                                          4970
3'  cacgtacgttcctctaccgcgggttgtcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgt

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

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

5'  acgacgacaaggccatggcgatATCAACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttca
                                                                          5740
3'  tgctgctgttccggtaccgctaTAGTTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagt
```

Enterokinase | attB1 | TEV site

BGT25_T02a2-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'  aggcAGCACCATCGGCCTGTGCATGATTGTCAAGAACGAGACGAAGGTCATCCTGCAATGCCTCGCCAGC
                                                                          5810
3'  tccgTCGTGGTAGCCGGACACGTACTAACAGTTCTTGCTCTGCTTCCAGTAGGACGTTACGGAGCGGTCG
```

T... | BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

```
G  S  T  I  G  L  C  M  I  V  K  N  E  T  K  V  I  L  Q  C  L  A  S
179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201
```

AgeI

5' GTGCTCCCCCTTGTCGACTACGTGCTCATCGTCGACACCGGTTCCGAGGACGGCACGCAAGACCTGATAC 5880
3' CACGAGGGGGAACAGCTGATGCACGAGTAGCAGCTGTGGCCAAGGCTCCTGCCGTGCGTTCTGGACTATG

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

5' GCGGCTTTCTCGCCGATAACGGTGTCCAAGGCGCTGTCATTGACGAGCCATGGCGGGACTTCGCGTACAA 5950
3' CGCCGAAAGAGCGGCTATTGCCACAGGTTCCGCGACAGTAACTGCTCGGTACCGCCCTGAAGCGCATGTT

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

R G F L A D N G V Q G A V I D E P W R D F A Y 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' CCGGACCTTCGCCCTTGAACGATTGCGTAAAGTCGAGACTGTCGACTATGCAATGATCATCGACGCGGAC 6020
3' GGCCTGGAAGCGGGAACTTGCTAACGCATTTCAGCTCTGACAGCTGATACGTTACTAGTAGCTGCGCCTG

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

5' GATGTTCTGATCCGGGACGCCGACTTCGATCCGATCAGGTTCAAGTCGCAGATGGAACACGATTTATACG 6090
3' CTACAAGACTAGGCCCTGCGGCTGAAGCTAGGCTAGTCCAAGTTCAGCGTCTACCTTGTGCTAAATATGC

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

ZraI
AatII

5' ACGTCGAGGTGTTACATGGTGGCATTTCGTTTTATCGCCCGCAGATCTGCCGCAACCGTCTGCCGTTCGC 6160
3' TGCAGCTCCACAATGTACCACCGTAAAGCAAAATAGCGGGCGTCTAGACGGCGTTGGCAGACGGCAAGCG

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

D V E V L H G G I S F Y R P Q I C R N R L P F A
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' CTTCAAGGGCGTCCTGCACGAATATCTCGAGGCCCCTCCTGGCCATCTCACGCGGGAGACCGCCAAGGGT 6230
3' GAAGTTCCCGCAGGACGTGCTTATAGAGCTCCGGGGAGGACCGGTAGAGTGCGCCCTCTGGCGGTTCCCA

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

BaeI BaeI'

5' TTTCGCGTGGCGACGGGGCGTGGCGGAGCACGCAGTCAAAACCCACGAAAGTACCAGGACGACTCGGCCG 6300
3' AAAGCGCACCGCTGCCCCGCACCGCCTCGTGCGTCAGTTTTGGGTGCTTTCATGGTCCTGCTGAGCCGGC

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

5' TTCTTGAAAATGCGCTTGCAACGGAGACCGACCCCTTTCTTGTTTCGCGATACACCTTCTATCTGGCGCA 6370
3' AAGAACTTTTACGCGAACGTTGCCTCTGGCTGGGGAAAGAACAAAGCGCTATGTGGAAGATAGACCGCGT

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

V L E N A L A T E T D P F L V S R Y T F Y L A Q
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' GAGCTACAGGGATTCCGGCGAGCGTGAAAAATCACTCGCGAACTATCTGAAGCGCGCCGATCTAGGTTTT 6440
3' CTCGATGTCCCTAAGGCCGCTCGCACTTTTTAGTGAGCGCTTGATAGACTTCGCGCGGCTAGATCCAAAA

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

BseRI

5' TGGGACGAGGAGGTCTATGTCAGCCTGCTTGAGGCGGGCAACCTCATGGCAGCATTGGGGCGGCCATTCG 6510
3' ACCCTGCTCCTCCAGATACAGTCGGACGAACTCCGCCCGTTGGAGTACCGTCGTAACCCCGCCGGTAAGC

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

W D E E V Y V S L L E A G N L M A A L G R P F
412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434

BspMI

5' ACGAGGTCGTTGCCGCCTTTGAGCGCGCGGCGCAGGTCGTCCCCGCCCGCGCGGAGGCTCTACACGCTGC 6580
3' TGCTCCAGCAACGGCGGAAACTCGCGCGCCGCGTCCAGCAGGGGCGGGCGCGCCTCCGAGATGTGCGACG

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

D E V V A A F E R A A Q V V P A R A E A L H A A
435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458

BsmI

5' GAGCCTCTATTGCCGCAACCAGGGCCGGAATGCGGAAGGAACGGAATTTGCGCGTCGAGGGCTCGACCTT 6650
3' CTCGGAGATAACGGCGTTGGTCCCGGCCTTACGCCTTCCTTGCCTTAAACGCGCAGCTCCCGAGCTGGAA

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

PasI

5' GTTCAACCCGCCGGACTTTTCATTCAGCCCTGGGTTTACGATTACGGACTGCTCGACGAGTTTGCTGTCA 6720
3' CAAGTTGGGCGGCCTGAAAAGTAAGTCGGGACCCAAATGCTAATGCCTGACGAGCTGCTCAAACGACAGT

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

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

5' ATGCCTACTGGGCAGGCGCCTACCGGGAATCGCTCGACGCTTGTCTAAAATTGCTCGCCTCCGACAAATT 6790
3' TACGGATGACCCGTCCGCGGATGGCCCTTAGCGAGCTGCGAACAGATTTTAACGAGCGGAGGCTGTTTAA

BGT25_T02a2

BGT25_T02a2-pDONR221

N A Y W A G A Y R E S L D A C L K L L A S D K 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

AjuI' AjuI

5' GCCTGCGGAAATGGCGAAGCGTGTGGTGGCCAACGCTCGCTTCGCCACCGGCAAGCTTCCGTAGGACCCA 6860
3' CGGACGCCTTTACCGCTTCGCACACCACCGGTTGCGAGCGAAGCGGTGGCCGTTCGAAGGCATCCTGGGT

BGT25_T02a2 a...

BGT25_T02a2-pDONR221

P A E M A K R V V A N A R F A T G K L P .
529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549

EcoICRI
BamHI EcoRI SacI NotI PspXI

5' GCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATatcggatccgaattcgagctccgtcgacaagcttgcggccgactc
6930
3' CGAAAGAACATGTTTCACCAACTAtagcctaggcttaagctcgaggcagctgttcgaacgccggcgtgag

attB2

B...

5' gagcaccaccaccaccaccactgagatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctg
7000
3' ctcgtggtggtggtggtggtgactctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgac

BlpI

5' ccaccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaa
7070
3' ggtggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactt

T7 Terminator

5' aggaggaactatatccggat
7090
3' tcctccttgatataggccta