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

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

                                                        SspI
5'  caaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtat
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  210
3'  gtttatacataggcgagtactctgttattgggactatttacgaagttattataacttttccttctcata

5'  gagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcac
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  280
3'  ctcataagttgtaaaggcacagcgggaataagggaaaaaacgccgtaaaacggaaggacaaaaacgagtg
                                Ap

5'  ccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactgg
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  350
3'  ggtctttgcgaccactttcattttctacgacttctagtcaacccacgtgctcacccaatgtagcttgacc
                                Ap

5'  atctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaa
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  420
3'  tagagttgtcgccattctaggaactctcaaaagcggggcttcttgcaaaaggttactactcgtgaaaatt
                                Ap

5'  agttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacac
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  490
3'  tcaagacgatacaccgcgccataatagggcacaactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtg
                                Ap

5'  tattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaa
    ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  560
3'  ataagagtcttactgaaccaactcatgagtggtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcatt
                                Ap

                                                                    PvuI
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

BsaI

5' gccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtag 980
3' cggccactcgcacccagagcgccatagtaacgtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatc
Ap

AhdI

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
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  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'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccccgcctcgg
                                   Ori

5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
    +++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|++++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
                                   Ori

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

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

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

                        BstZ17I                 BsaAI
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

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

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

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

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

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

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

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

```
5'  cgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgtctggtcagagacatcaagaaataacg
    +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4410
3'  gcgcatggcagaagtaccctcttttattatgacaactacccacagaccagtctctgtagttctttattgc
    ------------------------------------------------------------------------
                                      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

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
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'  AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcATCGAGCGCGCCCGAGCGCTG
                                                                          5460
3'  TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgTAGCTCGCGCGGGCTCGCGAC
    attB1                   TEV site                BGT25_T02a4
    BGT25_T02a4-pDONR221

    T  S  L  Y  K  K  A  G  S  E  N  L  Y  F  Q  G  I  E  R  A  R  A  L
    26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48
5'  TTGCACGGTGCCGGCGACACGCCGGTATTCACTGCCGCCACGCCTCCGGGCGCCGTACCGATGCCAGATC
                                                                          5530
3'  AACGTGCCACGGCCGCTGTGCGGCCATAAGTGACGGCGGTGCGGAGGCCCGCGGCATGGCTACGGTCTAG
    BGT25_T02a4
    BGT25_T02a4-pDONR221

    L  H  G  A  G  D  T  P  V  F  T  A  A  T  P  P  G  A  V  P  M  P  D
    49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71
```

```
5'  GACATGTCGAGCCGCCGCAAATTCACCTAATAAACTTGGACAGCAGCGTCGAGCGCTGGCGCAAATATCA
                                                                          5600
3'  CTGTACAGCTCGGCGGCGTTTAAGTGGATTATTTGAACCTGTCGTCGCAGCTCGCGACCGCGTTTATAGT
```

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

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

SgrDI

```
5'  AGATAGGAATCCTCATCTAGCCGCCAATACAATTCGGGTATCGGCCGTCGACGGAGCATCCCTCGATAGG
                                                                          5670
3'  TCTATCCTTAGGAGTAGATCGGCGGTTATGTTAAGCCCATAGCCGGCAGCTGCCTCGTAGGGAGCTATCC
```

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

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

```
5'  TCGACCTTGCAAGCCTTGGTGGACGATGGAGTGATTGCCGAGGATTGCGGGTATCTGCCGGGCGCATTGG
                                                                          5740
3'  AGCTGGAACGTTCGGAACCACCTGCTACCTCACTAACGGCTCCTAACGCCCATAGACGGCCCGCGTAACC
```

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

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

```
5'  GATGTGCTCTATCGCACATCAACTTGTGGAAGTTAGCGGTATCCGAGAAGCGGCCAATTACCATTTTCGA
                                                                          5810
3'  CTACACGAGATAGCGTGTAGTTGAACACCTTCAATCGCCATAGGCTCTTCGCCGGTTAATGGTAAAAGCT
```

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

```
G  C  A  L  S  H  I  N  L  W  K  L  A  V  S  E  K  R  P  I  T  I  F  E
142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
```

BseRI

```
5'  GGACGACGTCTACTCGTCGTTCAACTTTCTTGAGGAGTCGACTCGCATTCTGTCCATGGCTCCAGAGAAC
                                                                          5880
3'  CCTGCTGCAGATGAGCAGCAAGTTGAAAGAACTCCTCAGCTGAGCGTAAGACAGGTACCGAGGTCTCTTG
```

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

```
D  D  V  Y  S  S  F  N  F  L  E  E  S  T  R  I  L  S  M  A  P  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
```

AjuI'

5' TGGGATATGGTAAAGTGGGGATTCAATTTCGACCCTCTATTCCTGTGGTTGAACTTCGATTTCTCCAAAG 5950
3' ACCCTATACCATTTCACCCCTAAGTTAAAGCTGGGAGATAAGGACACCAACTTGAAGCTAAAGAGGTTTC

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

W D M V K W G F N F D P L F L W L N F D F S K
189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211

AjuI

5' CCAAGCTGGAGTTCTACAACCGACAACACAAACAGATTCCGGCCCAATTTCAATCTGAAACCTATCCGCG 6020
3' GGTTCGACCTCAAGATGTTGGCTGTTGTGTTTGTCTAAGGCCGGGTTAAAGTTAGACTTTGGATAGGCGC

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

A K L E F Y N R Q H K Q I P A Q F Q S E T Y P 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

SpeI EcoICRI SacI

5' ATCTCTTATCCGACTAGTCCATTCCTTTGGTGCAATGGCTTATTCAGTAACTCCAAGGGGAGCTCAAGTA 6090
3' TAGAGAATAGGCTGATCAGGTAAGGAAACCACGTTACCGAATAAGTCATTGAGGTTCCCCTCGAGTTCAT

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

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

BstBI AbsI PspXI XhoI

5' CTTCTTGAAAAATGCCTACCTCTTCGAAAGCGGCTTATTCCGTTTCCTGGGACTGGAGTGGTCCTCGAGG 6160
3' GAAGAACTTTTTACGGATGGAGAAGCTTTCGCCGAATAAGGCAAAGGACCCTGACCTCACCAGGAGCTCC

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

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

SacII NsiI

5' ATGAGGGCATCGACTGCGCAATGTCCGCGGTGTATGACTCGATGCATGCGTTCGTCTGCATGCCGCCACT 6230
3' TACTCCCGTAGCTGACGCGTTACAGGCGCCACATACTGAGCTACGTACGCAAGCAGACGTACGGCGGTGA

BGT25_T02a4

BGT25_T02a4-pDONR221

D E G I D C A M S A V Y D S M H A F V C M P P L
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' GGTCATTCACGACGACGAGCAGGCATCAGATCGGGAAGTCGCGAATCGGCAGTAGGACCCAGCTTTCTTG 6300
3' CCAGTAAGTGCTGCTGCTCGTCCGTAGTCTAGCCCTTCAGCGCTTAGCCGTCATCCTGGGTCGAAAGAAC

BGT25_T02a4 attB2

BGT25_T02a4-pDONR221

V I H D D E Q A S D R E V A N R Q .
306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323

BamHI

5' TACAAAGTGGTTGATtcgaggatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccac 6370
3' ATGTTTCACCAACTAagctcctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtg

attB2

BlpI

5' cgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaagga 6440
3' gcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcct

T7 Terminator

5' ggaactatatccggatatcccgcaagaggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcatc 6510
3' ccttgatataggcctatagggcgttctccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgtag

5' cagggtgacggtgccgaggatgacgatgagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgttag 6580
3' gtcccactgccacggctcctactgctactcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaatc

HindIII ClaI EcoRI

5' caatttaactgtgataaactaccgcattaaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa 6643
3' gttaaattgacactatttgatggcgtaatttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt