```
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

                                                                    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
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1330
3'  gcattagacgacgaacgtttgtttttttggtggcgatggtcgccaccaaacaaacggcctagttctcgat
o   ================================================================================
                                   Ori
o
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'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtccccccgcctcgg
o   ================================================================================
                                   Ori
o
                                                                   PciI
o                                                                  |
5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  ataccttttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
o   ==========================>
                                   Ori
o
5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
o
```

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

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

                        AccI
                        BstZ17I                    BsaAI     Tth111I
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

                                                       Bpu10I
5'  tttccagactttacgaaacacggaaaccgaagaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgca
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
3'  aaaggtctgaaatgctttgtgcctttggcttctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgt
```

```
5'  gcagcagtcgcttcacgttcgctcgcgtatcggtgattcattctgctaaccagtaaggcaaccccgccag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2870
3'  cgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatagccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtc
o
                                                                   AvaI
o                                         FspAI      MscI          | BmeT110I
                                          |          |             | |
5'  cctagccgggtcctcaacgacaggagcacgatcatgcgcacccgtggccaggacccaacgctgcccgaga
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2940
3'  ggatcggcccaggagttgctgtcctcgtgctagtacgcgtgggcaccggtcctgggttgcgacgggctct
o
                                                                   BsmI
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'  ttaccccttccggtaggtcggagcgcagcgcttgcggtcgttctgcatcgggtcgcgcagccggcggtac
o
5'  ccggcgataatggcctgcttctcgccgaaacgtttggtggcgggaccagtgacgaaggcttgagcgaggg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3500
3'  ggccgctattaccggacgaagagcggctttgcaaaccaccgccctggtcactgcttccgaactcgctccc
o
5'  cgtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcatcgtcgcgctccagcgaaagcggtcctcgcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3570
3'  gcacgttctaaggcttatggcgttcgctgtccggctagtagcagcgcgaggtcgctttcgccaggagcgg
o
```

```
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
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4270
3'  ggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtcggtcggtctgcgtctgcgcggctctg
o                                   Lac I
o

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

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

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

o              MluI
               |
5'  cccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttacaggcttcgacgccgcttcgttctacc
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4550
3'  gggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatgtccgaagctgcggcgaagcaagatgg
o                                   Lac I
o

5'  atcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagatttaatcgccgcgacaatttgcgacggcg
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4620
3'  tagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaattagcggcgctgttaaacgctgccgc
o                                   Lac I
o

5'  cgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgactgtttgcccgccagttgttgtgccac
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4690
3'  gcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctgacaaacgggcggtcaacaacacggtg
o                                   Lac I
o

5'  gcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactttttcccgcgttttcgcagaaacgtgg
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4760
3'  cgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaaaaagggcgcaaaagcgtctttgcacc
o                 Lac I
o

5'  ctggcctggttcaccacgcgggaaacggtctgataagagacaccggcatactctgcgacatcgtataacg
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4830
3'  gaccggaccaagtggtgcgccctttgccagactattctctgtggccgtatgagacgctgtagcatattgc
o

5'  ttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccgggcgctatcatgccataccgcgaaaggt
o   +++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|+++++|  4900
3'  aatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggcccgcgatagtacggtatggcgctttcca
o
```

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

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' AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcCGTGTTTTTATCATTTCTTTA
5460
3' TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgGCACAAAAATAGTAAAGAAAT

attB1 | TEV site | BGT25_T02c
BGT25_T02c-pDONR221

T S L Y K K A G S E N L Y F Q G R V F I I S 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' AATCAAAAAGTGTGCGATAAATTTGGTTTGGTTTTTAGAGACACCACAACTTTACTCAATAATATCAACG
5530
3' TTAGTTTTTCACACGCTATTTAAACCAAACCAAAAATCTCTGTGGTGTTGAAATGAGTTATTATAGTTGC

BGT25_T02c
BGT25_T02c-pDONR221

N Q K V C D K F G L V F R D T T T L L N N I 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' CCACCCACCACCAAGCGCAAATTTTTGATGCGATTTATTCCAAGACTTTTGAAGGCGGGTTGCACCCCCT
5600
3' GGTGGGTGGTGGTTCGCGTTTAAAAACTACGCTAAATAAGGTTCTGAAAACTTCCGCCCAACGTGGGGGA

BGT25_T02c
BGT25_T02c-pDONR221

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

5' AGTTAAAAAGCATTTACACCCTTATTTCATCACGCAAAATATCAAAGACATGGGGATTGCAACCAGTCTC
5670
3' TCAATTTTTCGTAAATGTGGGAATAAAGTAGTGCGTTTTATAGTTTCTGTACCCCTAACGTTGGTCAGAG

BGT25_T02c
BGT25_T02c-pDONR221

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

5' ATCAGTGAGGTTTCTAAGTTTTATTACGCTTTAAAATACCATGCGAAATTTATGAGCTTGGGGGAGCTTG
5740
3' TAGTCACTCCAAAGATTCAAAATAATGCGAAATTTTATGGTACGCTTTAAATACTCGAACCCCCTCGAAC

BGT25_T02c
BGT25_T02c-pDONR221

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

EcoICRI
SacI

5' GGTGCTATGCGAGCCATTATTCGTTGTGGCAAAAATGCATAGAGCTCAATGAAGCGATCTGTATTTTAGA 5810
3' CCACGATACGCTCGGTAATAAGCAACACCGTTTTTACGTATCTCGAGTTACTTCGCTAGACATAAAATCT

BGT25_T02c

BGT25_T02c-pDONR221

G C Y A S H Y S L W Q K C I E L N E A I C I L 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

5' AGACGATATAACCTTGAAAGAGGATTTTAAAGAGGGCTTGGATTTTTTAGAAAAACACATCCAAGAGTTA 5880
3' TCTGCTATATTGGAACTTTCTCCTAAAATTTCTCCCGAACCTAAAAAATCTTTTTGTGTAGGTTCTCAAT

BGT25_T02c

BGT25_T02c-pDONR221

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

5' GGCTATGCGCGTTTGATGCATTTATTGTATGATGCCAGCGTGAAAAGTGAGCCTTTAAACCATAAAAACC 5950
3' CCGATACGCGCAAACTACGTAAATAACATACTACGGTCGCACTTTTCACTCGGAAATTTGGTATTTTTGG

BGT25_T02c

BGT25_T02c-pDONR221

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

5' AAGAGATACAAGAGCGTGTGGGGATCATTAAAGCTTATAGCCATGGGGTGGGGACGCAAGGCTATGTGAT 6020
3' TTCTCTATGTTCTCGCACACCCCTAGTAATTTCGAATATCGGTACCCCACCCCTGCGTTCCGATACACTA

BGT25_T02c

BGT25_T02c-pDONR221

Q E I Q E R V G I I K A Y S H G V G T Q G Y V I
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' CACGCCCAAGATTGCCAAAGTTTTTTTGAAACACAGCCGAAAATGGGTTGTTCCTGTGGATACGATAATG 6090
3' GTGCGGGTTCTAACGGTTTCAAAAAAACTTTGTGTCGGCTTTTACCCAACAAGGACACCTATGCTATTAC

BGT25_T02c

BGT25_T02c-pDONR221

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

```
5'  GACGCTACTTTTATCCATGGCGTGAAAAATCTGGTGTTACAACCTTTTGTGATCGCTGATGATGAGCAAA
                                                                      6160
3'  CTGCGATGAAAATAGGTACCGCACTTTTTAGACCACAATGTTGGAAAACACTAGCGACTACTACTCGTTT
    ------------------------------------- BGT25_T02c -------------------------------------
    ------------------------------------- BGT25_T02c-pDONR221 ---------------------------------

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

5'  TCTCTACGATAGCGCGAAAAGAAGAACCCTATAGCCCTAAAATCGCTCTAATGAGAGAACTCCATTTTAA
                                                                      6230
3'  AGAGATGCTATCGCGCTTTTCTTCTTGGGATATCGGGATTTTAGCGAGATTACTCTCTTGAGGTAAAATT
    ------------------------------------- BGT25_T02c -------------------------------------
    ------------------------------------- BGT25_T02c-pDONR221 ---------------------------------

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

                                                                                BamHI
5'  ATTTTTGAAATGGTGGCAGTTTGTATAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATtcgaggatccgg
                                                                      6300
3'  TAAAAACTTTACCACCGTCAAACATATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAagctcctaggcc
    ---------- BGT25_T02c ----------
                                        ------------------------------
                                                  attB2
    ---------- BGT25_T02c-pDONR221 ----------

    F   L   K   W   W   Q   F   V   .
    306 307 308 309 310 311 312 313 314

                                                  BlpI
5'  ctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacccct
                                                                      6370
3'  gacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattgggga
                                                  ---------- T7 Terminator ----------

5'  tggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaactatatccggatatcccgcaaga
                                                                      6440
3'  accccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctccttgatataggcctatagggcgttct
    ---------- T7 Terminator ----------

5'  ggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcatccagggtgacggtgccgaggatgacgat
                                                                      6510
3'  ccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgtaggtcccactgccacggctcctactgcta

5'  gagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgttagcaatttaactgtgataaactaccgcat
                                                                      6580
3'  ctcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaatcgttaaattgacactatttgatggcgta
```

```
                ClaI                        EcoRI
                |                           |
5'   taaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa
     ----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------|-- 6616
3'   atttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt
```