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

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

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

5'  tattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaa
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++| 560
3'  ataagagtcttactgaaccaactcatgagtggtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcatt
    ================================================================
                                   Ap

                                                                    PvuI
5'  gagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++| 630
3'  ctcttaatacgtcacgacggtattggtactcactattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcc
    ================================================================
                                   Ap

5'  aggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++| 700
3'  tcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtgttgtacccctagtacattgagcggaactagcaaccctt
    ================================================================
                                   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
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1400
3'  ggttgagaaaaaggcttccattgaccgaagtcgtctcgcgtctatggtttatgacaggaagatcacatcg
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttacc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1470
3'  gcatcaatccggtggtgaagttcttgagacatcgtggcggatgtatggagcgagacgattaggacaatgg
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  agtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1540
3'  tcaccgacgacggtcaccgctattcagcacagaatggcccaacctgagttctgctatcaatggcctattc
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  gcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1610
3'  cgcgtcgccagcccgacttgccccccaagcacgtgtgtcgggtcgaacctcgcttgctggatgtggcttg
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  tgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1680
3'  actctatggatgtcgcactcgatactctttcgcggtgcgaagggcttccctctttccgcctgtccatagg
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  ggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttat
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1750
3'  ccattcgccgtcccagccttgtcctctcgcgtgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaata
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
5'  agtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1820
3'  tcaggacagcccaaagcggtggagactgaactcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccccgcctcgg
o   ==========================================================================
                                   Ori
o
                                                                   PciI
o                                                                  |
5'  tatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
o   ==========>
                 Ori
o
5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
o
                                          SapI
o                                         |
5'  cgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2030
3'  gcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtcactcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaag
o
```

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

                        BstZ17I                 BsaAI    Tth111I
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
```

```
                                                                                  AvaI
                                                FspAI        MscI                 BmeT110I
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

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

                                        NruI                                EagI
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
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3780
3'  ctctagggccacggattactcactcgattgaatgtaattaacgcaacgcgagtgacgggcgaaaggtcag
o                                                          Lac I
o

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

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

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

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

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

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

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

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

```
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

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' 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' AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcGTAAAAGATTTATTAACCCCC 5460
3' TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgCATTTTCTAAATAATTGGGGG

attB1 TEV site BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

SalI

5' GATTATATCTTCGAGTCCAGCTGGGAAGTATGTAATAAAGTGGGAGGGATATACACCGTATTGTCGACAC 5530
3' CTAATATAGAAGCTCAGGTCGACCCTTCATACATTATTTCACCCTCCCTATATGTGGCATAACAGCTGTG

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

5' GGGCGAATACATTGCAGGAAAAATTCCGCGACAGAATTTTTTTCATAGGTCCTGATGTGTGGCAAGGAAA 5600
3' CCCGCTTATGTAACGTCCTTTTTAAGGCGCTGTCTTAAAAAAAGTATCCAGGACTACACACCGTTCCTTT

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

R A N T L Q E K F R D R I F F I G P D V W Q G K
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' AGAGAACCCTCTATTCATCGAGTCGGATAATCTGTGCGCTGACTGGAAAAAGCACGCATTCAAAAACGAT 5670
3' TCTCTTGGGAGATAAGTAGCTCAGCCTATTAGACACGCGACTGACCTTTTTCGTGCGTAAGTTTTTGCTA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

E N P L F I E S D N L C A D W K K H A F K N 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' CATCTTTCCGTCCGTGTAGGACGATGGAATATACCCGGTGAACCCATTGTCATCCTTGTTGATTTCCAAC 5740
3' GTAGAAAGGCAGGCACATCCTGCTACCTTATATGGGCCACTTGGGTAACAGTAGGAACAACTAAAGGTTG

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

PsrI PsrI'

5' CTTTTTTTGAACAGAAGAACGAAATTTACACAGAAATGTGGAATCGTTTTCAAGTAGACTCGTTGCACGC 5810
3' GAAAAAAACTTGTCTTCTTGCTTTAAATGTGTCTTTACACCTTAGCAAAAGTTCATCTGAGCAACGTGCG

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

P F F E Q K N E I Y T E M W N R F Q V D S L H A
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' TTATGGCGATTACGACGAGGCTTCGATGTTTTCGTATGCTGCCGGAAAAGTAGTAGAGAGTTTCTACCGC 5880
3' AATACCGCTAATGCTGCTCCGAAGCTACAAAAGCATACGACGGCCTTTTCATCATCTCTCAAAGATGGCG

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

Y G D Y D E A S M F S Y A A G K V V E S F Y R
166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188

5' TACAACCTGACAGAAACGGATAAGGTGGTATATCAGGCACATGAATGGATGACCGGAATGGGAGCACTTT 5950
3' ATGTTGGACTGTCTTTGCCTATTCCACCATATAGTCCGTGTACTTACCTACTGGCCTTACCCTCGTGAAA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

5' ATGTACAGGAAGCTGTCCCCGAAGTGGCTACTATTTTTACAACCCACGCTACTTCCATCGGACGTTCGAT 6020
3' TACATGTCCTTCGACAGGGGCTTCACCGATGATAAAAATGTTGGGTGCGATGAAGGTAGCCTGCAAGCTA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

Y V Q E A V P E V A T I F T T H A T S I G R S 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

PsiI

5' AGCCGGCAATCATAAGCCGCTGTATGACTATCTGTTTGCTTATAACGGTGACCAGATGGCGCAGGAACTG 6090
3' TCGGCCGTTAGTATTCGGCGACATACTGATAGACAAACGAATATTGCCACTGGTCTACCGCGTCCTTGAC

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

5' AATATGCAGTCAAAGCACTCTATTGAGAAGCAGACGGCGCATTATGTAGACTGTTTTACGACAGTAAGTG 6160
3' TTATACGTCAGTTTCGTGAGATAACTCTTCGTCTGCCGCGTAATACATCTGACAAAATGCTGTCATTCAC

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

BstBI

5' AAATCACGAATAACGAGTGCAAGGAATTGCTCGACAAACCGGCAGACGTAGTACTGATGAACGGTTTCGA 6230
3' TTTAGTGCTTATTGCTCACGTTCCTTAACGAGCTGTTTGGCCGTCTGCATCATGACTACTTGCCAAAGCT

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

E I T N N E C K E L L D K P A D V V L M N G F E
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' AGACGATTTCGTACCTAAAGGCAGTACATTTACCGGAAAACGTAAACGTGCCCGCTCATTGATGTTGAAC 6300
3' TCTGCTAAAGCATGGATTTCCGTCATGTAAATGGCCTTTTGCATTTGCACGGGCGAGTAACTACAACTTG

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

D D F V P K G S T F T G K R K R A R S L M L N
306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328

Acc65I
KpnI

5' GTAGCCAATAAATTGTTGGGAACAAATCTGGATGACGATACGTTAATTATCGGTACCAGTGGTCGATATG 6370
3' CATCGGTTATTTAACAACCCTTGTTTAGACCTACTGCTATGCAATTAATAGCCATGGTCACCAGCTATAC

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

V A N K L L G T N L D D D T L I I G T S G R Y
329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351

5' AATTCAAGAACAAGGGTATTGACGTATTCCTGGAGTCATTGAACCGTCTGAACAGGGATAAAAAGCTCCA 6440
3' TTAAGTTCTTGTTCCCATAACTGCATAAGGACCTCAGTAACTTGGCAGACTTGTCCCTATTTTTCGAGGT

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

E F K N K G I D V F L E S L N R L N R D K K L H
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' TAAGAACGTATTGGCGTTTATCAATGTCCCCGGTTGGGTAGGAGATCCCCGTGAAGACTTGCAGGAACGT 6510
3' ATTCTTGCATAACCGCAAATAGTTACAGGGGCCAACCCATCCTCTAGGGGCACTTCTGAACGTCCTTGCA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

K N V L A F I N V P G W V G D P R E D L Q E 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' CTGAAAAGCAAAGAAAAATTTGATACACCGCTTGAAGTTCCTTTCATCACTCATTGGCTGCACAATATGA
6580
3' GACTTTTCGTTTCTTTTTAAACTATGTGGCGAACTTCAAGGAAAGTAGTGAGTAACCGACGTGTTATACT

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

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

5' CGCATGACCAAGTGCTGGATATGCTGAAATATCTGGGGATGGGCAACCGTCCCGATGATAAAGTAAAGGT
6650
3' GCGTACTGGTTCACGACCTATACGACTTTATAGACCCCTACCCGTTGGCAGGGCTACTATTTCATTTCCA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

T H D Q V L D M L K Y L G M G N R P D D K V K V
422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445

5' GATTTTTGTGCCTTGCTATCTGGACGGGCGTGATGGTATCCTGAATAAAGAGTATTATGATATATTGCTG
6720
3' CTAAAAACACGGAACGATAGACCTGCCCGCACTACCATAGGACTTATTTCTCATAATACTATATAACGAC

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

I F V P C Y L D G R D G I L N K E Y Y D I L L
446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468

5' GGACAGGATTTGAGTGTATATGCTTCCTATTACGAACCGTGGGGATATACTCCGCTGGAAAGTGTAGCGT
6790
3' CCTGTCCTAAACTCACATATACGAAGGATAATGCTTGGCACCCCTATATGAGGCGACCTTTCACATCGCA

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

G Q D L S V Y A S Y Y E P W G Y T P L E S V A
469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491

5' TCCGTGTGCCTACCATTACTACTGATCTGGCAGGTTTTGGCCTTTGGGTGAACAGCCTGAAGAATCAGCA
6860
3' AGGCACACGGATGGTAATGATGACTAGACCGTCCAAAACCGGAAACCCACTTGTCGGACTTCTTAGTCGT

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

F R V P T I T T D L A G F G L W V N S L K N Q H
492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515

```
5'  TGGCATCAATGATGGAGTGGAAGTGCTGCATCGTTCGGACTATAATGATTCGGAAGTGGCGGATGGCATC
                                                                          6930
3'  ACCGTAGTTACTACCTCACCTTCACGACGTAGCAAGCCTGATATTACTAAGCCTTCACCGCCTACCGTAG
```

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

```
    G  I  N  D  G  V  E  V  L  H  R  S  D  Y  N  D  S  E  V  A  D  G  I
    516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538

5'  AAAGATACGATTACGCTGTTTGCAGATAAGTCGGAAAAAGAAGTGAAGGAGATCCGTAAGCATGCGGCAG
                                                                          7000
3'  TTTCTATGCTAATGCGACAAACGTCTATTCAGCCTTTTTCTTCACTTCCTCTAGGCATTCGTACGCCGTC
```

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

```
    K  D  T  I  T  L  F  A  D  K  S  E  K  E  V  K  E  I  R  K  H  A  A
    539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561

5'  ATGTTGCAGAGCAGGCATTGTGGAAACACTTCATTCAATATTATTACGAGGCTTATGATATTGCCTTGCG
                                                                          7070
3'  TACAACGTCTCGTCCGTAACACCTTTGTGAAGTAAGTTATAATAATGCTCCGAATACTATAACGGAACGC
```

BGT03_T01c

BGT03_T01c-pDONR221

```
    D  V  A  E  Q  A  L  W  K  H  F  I  Q  Y  Y  Y  E  A  Y  D  I  A  L  R
    562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585

                                                                   BamHI
5'  CAATGCCATGAAGCGTCAGTTAGGCTAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATtcgaggatccgg
                                                                          7140
3'  GTTACGGTACTTCGCAGTCAATCCGATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAagctcctaggcc
```

BGT03_T01c

attB2

BGT03_T01c-pDONR221

```
    N  A  M  K  R  Q  L  G  .
    586 587 588 589 590 591 592 593 594

                                                   BlpI
5'  ctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacccct
                                                                          7210
3'  gacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattgggga
```

T7 Terminator

```
5'  tggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaactatatccggatatcccgcaaga
                                                                          7280
3'  accccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcctccttgatataggcctatagggcgttct
```

T7 Terminator

```
5'  ggcccggcagtaccggcataaccaagcctatgcctacagcatccagggtgacggtgccgaggatgacgat
                                                                          7350
3'  ccgggccgtcatggccgtattggttcggatacggatgtcgtaggtcccactgccacggctcctactgcta
```

```
5'   gagcgcattgttagatttcatacacggtgcctgactgcgttagcaatttaactgtgataaactaccgcat
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  7420
3'   ctcgcgtaacaatctaaagtatgtgccacggactgacgcaatcgttaaattgacactatttgatggcgta
o
          HindIII     ClaI
o         |           |
5'   taaagcttatcgatgataagctgtcaaacatgagaa
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|+  7456
3'   atttcgaatagctactattcgacagtttgtactctt
o
```