```
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

                        ScaI
5'  tattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaa
                                                                     560
3'  ataagagtcttactgaaccaactcatgagtggtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcatt
                                Ap

                                                                  PvuI
5'  gagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgg
                                                                     630
3'  ctcttaatacgtcacgacggtattggtactcactattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcc
                                Ap
```

```
5'  aggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  700
3'  tcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtgttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaaccctt
                                   Ap

5'  ccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  770
3'  ggcctcgacttacttcggtatggtttgctgctcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgca
                                   Ap

5'  tgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  840
3'  acgcgtttgataattgaccgcttgatgaatgagatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccg
                                   Ap

5'  ggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctgga
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  910
3'  cctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagccgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacct
                                   Ap

5'  gccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  980
3'  cggccactcgcacccagagcgccatagtaacgtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatc
                                   Ap

5'  ttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1050
3'  aatagatgtgctgcccctcagtccgttgatacctacttgctttatctgtctagcgactctatccacggag
                                   Ap

5'  actgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcat
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1120
3'  tgactaattcgtaaccattgacagtctggttcaaatgagtatatatgaaatctaactaaattttgaagta
                 Ap

5'  ttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1190
3'  aaaattaaattttcctagatccacttctaggaaaaactattagagtactggttttagggaattgcactca

5'  tttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  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
5'  tatggaaaaacgcccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgtt
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1890
3'  atacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaatgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaa
o   ==========>
                Ori
o
5'  ctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1960
3'  gaaaggacgcaatagggactaagacacctattggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcg
o
5'  cgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2030
3'  gcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtcactcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaag
o
```

```
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

5'   tttccagactttacgaaacacggaaaccgaagaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgca
o    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2800
3'   aaaggtctgaaatgctttgtgcctttggcttctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgt
o

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

```
                                                                                                  AvaI
                                                                                                  BmeT110I
                                                                  FspAI
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'  ttacccttccggtaggtcggagcgcagcgcttgcggtcgttctgcatcgggtcgcgcagccggcggtac

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

                        BssHII
5'  cccggactcggtaatggcgcgcattgcgcccagcgccatctgatcgttggcaaccagcatcgcagtggga
                                                                          4130
3'  gggcctgagccattaccgcgcgtaacgcgggtcgcggtagactagcaaccgttggtcgtagcgtcaccct
                                Lac I

5'  acgatgccctcattcagcatttgcatggtttgttgaaaaccggacatggcactccagtcgccttcccgtt
                                                                          4200
3'  tgctacgggagtaagtcgtaaacgtaccaaacaacttttggcctgtaccgtgaggtcagcggaagggcaa
                                Lac I

5'  ccgctatcggctgaatttgattgcgagtgagatatttatgccagccagccagacgcagacgcgccgagac
                                                                          4270
3'  ggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtcggtcggtctgcgtctgcgcggctctg
                                Lac I

                  PspOMI
                     ApaI
5'  agaacttaatgggcccgctaacagcgcgatttgctggtgacccaatgcgaccagatgctccacgcccagt
                                                                          4340
3'  tcttgaattacccgggcgattgtcgcgctaaacgaccactgggttacgctggtctacgaggtgcgggtca
                                Lac I
```

```
5'  cgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgtctggtcagagacatcaagaaataacg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4410
3'  gcgcatggcagaagtaccctctttattatgacaactacccacagaccagtctctgtagttctttattgc
o                                   Lac I
o
5'  ccggaacattagtgcaggcagcttccacagcaatggcatcctggtcatccagcggatagttaatgatcag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4480
3'  ggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggaccagtaggtcgcctatcaattactagtc
o                                   Lac I
o
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
o
5'  tttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctcccttatgcgactcctgcattaggaagcagcc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  4970
3'  aaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaatacgctgaggacgtaatccttcgtcgg
o
5'  cagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatggtgcatgcaaggagatggcgcccaac
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5040
3'  gtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttaccacgtacgttcctctaccgcgggttg
o
5'  agtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaacaagcgctcatgagcccgaagtggcgag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  5110
3'  tcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgttcgcgagtactcgggcttcaccgctc
o
```

```
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'  AACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttcaaggcAGCCAAGCCCTACCTGTTCGT
                                                                          5460
3'  TTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagttccgTCGGTTCGGGATGGACAAGCA
    attB1                   TEV site                BGT39_T02a
    BGT39_T02a-pDONR221

    T  S  L  Y  K  K  A  G  S  E  N  L  Y  F  Q  G  S  Q  A  L  P  V  R
    26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48
5'  GACCAGGGGCGGGACCAGGGGATTTTCGCTGGTACTCTCCCGCCCGCACCGCCAAAGTTCAAGTGGACCC
                                                                          5530
3'  CTGGTCCCCGCCCTGGTCCCCTAAAAGCGACCATGAGAGGGCGGGCGTGGCGGTTTCAAGTTCACCTGGG
    BGT39_T02a
    BGT39_T02a-pDONR221

    D  Q  G  R  D  Q  G  I  F  A  G  T  L  P  P  A  P  P  K  F  K  W  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' GCCTGGATACCTATACCTGGGCGATCATCGCGGTGTTTGCTTTAGTCACGCGTTTTACAGGTTTGAGCAG 5600
3' CGGACCTATGGATATGGACCCGCTAGTAGCGCCACAAACGAAATCAGTGCGCAAAATGTCCAAACTCGTC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

R L D T Y T W A I I A V F A L V T R F T G L S S
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' TGCAACCGCCTCAGGCACCCCAGTTTTTGATGAAAAACACTACGTCCCACAAGCCTGGGACATGGTCCGC 5670
3' ACGTTGGCGGAGTCCGTGGGGTCAAAAACTACTTTTTGTGATGCAGGGTGTTCGGACCCTGTACCAGGCG

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

AlaI'

5' TCCTGGATCAACCCCATCACCGGCGGCATTGAATCCAACCCCGGCTACGGACTCGTCGTTCACCCACCGT 5740
3' AGGACCTAGTTGGGGTAGTGGCCGCCGTAACTTAGGTTGGGGCCGATGCCTGAGCAGCAAGTGGGTGGCA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

AlaI DraIII

5' TGGCCAAACAACTTGAAGCACTCGGTGAATGGGTCTTCGGATACACCCCCCTCGGCTGGCGCATCATGGT 5810
3' ACCGGTTTGTTGAACTTCGTGAGCCACTTACCCAGAAGCCTATGTGGGGGGAGCCGACCGCGTAGTACCA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

BbvCI AleI

5' CGCCATTTTCGGAACACTCACCATTTTCGCCATCATGGCAATCGCGCGGCGCCTCAGCGGATCCACCATG 5880
3' GCGGTAAAAGCCTTGTGAGTGGTAAAAGCGGTAGTACCGTTAGCGCGCCGCGGAGTCGCCTAGGTGGTAC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

A I F G T L T I F A I M A I A R R L S G S T M
166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188

5' GTGACTTTCATCGCCGGAATTCTCGCGCTTGCCGACGGCGTCCTCCTCGTCTCATCACGCTTCGGCATGC 5950
3' CACTGAAAGTAGCGGCCTTAAGAGCGCGAACGGCTGCCGCAGGAGGAGCAGAGTAGTGCGAAGCCGTACG

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

5' TGGACATCTTCCTTGTTTTCTTCATCACCGCAGCAGCATGGGCATTGATCCGAGACCACCAACAAATGCA 6020
3' ACCTGTAGAAGGAACAAAAGAAGTAGTGGCGTCGTCGTACCCGTAACTAGGCTCTGGTGGTTGTTTACGT

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

L D I F L V F F I T A A A W A L I R D H Q Q M H
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' CCAACGCCTCAACGATTTACTCCTCACCAACGGCCAAATCACCAAAGACTTTGGCCCCCGATTCGGCTTC 6090
3' GGTTGCGGAGTTGCTAAATGAGGAGTGGTTGCCGGTTTAGTGGTTTCTGAAACCGGGGGCTAAGCCGAAG

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

Q R L N D L L L T N G Q I T K D F G P R F G F
236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258

5' CGATGGTGGCGTTTCACCACAGGTGTATTCCTTGGTCTCGCGCTCTCCGTCAAATGGTCCGGACTGTACT 6160
3' GCTACCACCGCAAAGTGGTGTCCACATAAGGAACCAGAGCGCGAGAGGCAGTTTACCAGGCCTGACATGA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

R W W R F T T G V F L G L A L S V K W S G L Y
259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281

5' ACATCGCATTCTTCGGCCTGACCAGCGTGTTCCTAGACTTGTGGCTGCGCAAACGCTACGGCGTCCGACG 6230
3' TGTAGCGTAAGAAGCCGGACTGGTCGCACAAGGATCTGAACACCGACGCGTTTGCGATGCCGCAGGCTGC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

Y I A F F G L T S V F L D L W L R K R Y G V R R
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' CTACGTCACCGGCACCCTAAAAAATGACGTCATCCCAGCGCTCGGCTCCTTGGTGATCATCCCTGCCCTG 6300
3' GATGCAGTGGCCGTGGGATTTTTTACTGCAGTAGGGTCGCGAGCCGAGGAACCACTAGTAGGGACGGGAC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

5' CTTTATATCTGGAGCTGGCGAGCCTGGTTCGCCTCCGAAACCTCCGTCTACCGCCACGCCAAAACAGACG 6370
3' GAAATATAGACCTCGACCGCTCGGACCAAGCGGAGGCTTTGGAGGCAGATGGCGGTGCGGTTTTGTCTGC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

MfeI

5' GCACCATCACAGAAGACTCCATCCTGCAGCTCTTCCCTGAGTCAATTGCGGGCTGGATCCACTATCACAT 6440
3' CGTGGTAGTGTCTTCTGAGGTAGGACGTCGAGAAGGGACTCAGTTAACGCCCGACCTAGGTGATAGTGTA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

PasI

5' CAGCGTCCTGGAATTCCACGGCTCACTGACCACATCCTCAGGTCACAGCCACCCCTGGGATTCCAAGCCG 6510
3' GTCGCAGGACCTTAAGGTGCCGAGTGACTGGTGTAGGAGTCCAGTGTCGGTGGGGACCCTAAGGTTCGGC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

S V L E F H G S L T T S S G H S H P W D S K P
376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398

SalI

5' TGGGCCTGGCTTGTCTCCGGTCGACCCATCCTCTACTTCTCCTCCACCGACATCTCCTGCGACGTTGGCG 6580
3' ACCCGGACCGAACAGAGGCCAGCTGGGTAGGAGATGAAGAGGAGGTGGCTGTAGAGGACGCTGCAACCGC

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

AarI

5' GCACCTGCCGACGCATGATCTACCTCTTCGGCACGCCCGCCATTTGGTGGCTGACAGTCCCAGTCATTCT 6650
3' CGTGGACGGCTGCGTACTAGATGGAGAAGCCGTGCGGGCGGTAAACCACCGACTGTCAGGGTCAGTAAGA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

G T C R R M I Y L F G T P A I W W L T V P V I L
422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445

BmgBI

5' GTGGGCGCTGTGGTCTTTCTTCGCACGTCGGAGTCGTGGCTATGTTGTCCCGCTGGTTGCTTTCGCCGCA 6720
3' CACCCGCGACACCAGAAAGAAGCGTGCAGCCTCAGCACCGATACAACAGGGCGACCAACGAAAGCGGCGT

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

W A L W S F F A R R S R G Y V V P L V A F A A
446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468

5' GGATTTTTACCGTGGCTTGCAGCATACGACCGCCAAATGTACTTCTTCTACGCCACCGCCCTAGTTCCAT 6790
3' CCTAAAAATGGCACCGAACGTCGTATGCTGGCGGTTTACATGAAGAAGATGCGGTGGCGGGATCAAGGTA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

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

5' TCACCATCATCATGTTGGCACTCGCCTGCGGTGAACTGTGGGGCCGTGGAAAAATGACCCCCACTGGCTT 6860
3' AGTGGTAGTAGTACAACCGTGAGCGGACGCCACTTGACACCCCGGCACCTTTTTACTGGGGGTGACCGAA

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

F T I I M L A L A C G E L W G R G K M T P T G L
492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515

CspCI SacII CspCI'

5' AACCCGCGGATCAATGGCAGTGGTCACCTACATTTCCCTCGTGGTGATGATGTTTCTCGCGTTTTCGCCA 6930
3' TTGGGCGCCTAGTTACCGTCACCAGTGGATGTAAAGGGAGCACCACTACTACAAAGAGCGCAAAAGCGGT

BGT39_T02a

BGT39_T02a-pDONR221

T R G S M A V V T Y I S L V V M M F L A F S P
516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538

```
5'  CTGTTTTACGGATTTGTCATCCCAGATTATGTCTACGAATCCTTGATGTGGTTCCCAAGCTGGCGCTAGG
                                                                          7000
3'  GACAAAATGCCTAAACAGTAGGGTCTAATACAGATGCTTAGGAACTACACCAAGGGTTCGACCGCGATCC
    ------------------------------------------------ BGT39_T02a ----------
    ------------------------------------------------ BGT39_T02a-pDONR221 ----------

    L   F   Y   G   F   V   I   P   D   Y   V   Y   E   S   L   M   W   F   P   S   W   R   .
    539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561

5'  ACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATtcgaggatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgag
                                                                          7070
3'  TGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAagctcctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactc
        ========== attB2 ----------
    -- BGT3...R221 --

                        BlpI
5'  ttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggtt
                                                                          7140
3'  aaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaa
                    ---------------------------------- T7 Terminator ----------

5'  ttttgctgaaaggaggaactatatccggatatcccgcaagaggcccggcagtaccggcataaccaagcct
                                                                          7210
3'  aaaacgactttcctccttgatataggcctatagggcgttctccgggccgtcatggccgtattggttcgga
    -- T... --

5'  atgcctacagcatccagggtgacggtgccgaggatgacgatgagcgcattgttagatttcatacacggtg
                                                                          7280
3'  tacggatgtcgtaggtcccactgccacggctcctactgctactcgcgtaacaatctaaagtatgtgccac

                                                    HindIII     ClaI
5'  cctgactgcgttagcaatttaactgtgataaactaccgcattaaagcttatcgatgataagctgtcaaac
                                                                          7350
3'  ggactgacgcaatcgttaaattgacactatttgatggcgtaatttcgaatagctactattcgacagtttg

5'  atgagaa
                                                                          7357
3'  tactctt
```