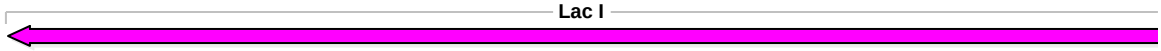
```
5'  tggcgaatgggacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgacc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  70
3'  accgcttaccctgcgcgggacatcgccgcgtaattcgcgccgcccacaccaccaatgcgcgtcgcactgg

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

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

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

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

5'  cggtctattcttttgatttataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgattta
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  420
3'  gccagataagaaaactaaatattccctaaaacggctaaagccggataaccaatttttactcgactaaat

5'  acaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgcttacaatttaggtggcacttttcggggaaatg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  490
3'  tgtttttaaattgcgcttaaaattgttttataattgcgaatgttaaatccaccgtgaaaagcccctttac

5'  tgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  560
3'  acgcgccttggggataaacaaataaaaagatttatgtaagtttatacataggcgagtactctgttattgg

5'  ctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttatt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  630
3'  gactatttacgaagttattataactttttccttctcatactcataagttgtaaaggcacagcgggaataa
                                                 [=========================]
                                                          Ap

5'  ccctttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  700
3'  gggaaaaaacgccgtaaaacggaaggacaaaaacgagtgggtctttgcgaccactttcattttctacgac
    [=============================================================================]
                                          Ap

5'  aagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  770
3'  ttctagtcaacccacgtgctcacccaatgtagcttgacctagagttgtcgccattctaggaactctcaaa
    [=============================================================================]
                                          Ap
```

```
5'  tcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgt
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  840
3'  agcggggcttcttgcaaaaggttactactcgtgaaaatttcaagacgatacaccgcgccataatagggca
    ================================================================================
                                          Ap

                                                                      ScaI
5'  attgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  910
3'  taactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtgataagagtcttactgaaccaactcatgagtg
    ================================================================================
                                          Ap

5'  cagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgag
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  980
3'  gtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcattctcttaatacgtcacgacggtattggtactc
    ================================================================================
                                          Ap

                                                PvuI
5'  tgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcac
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1050
3'  actattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcctcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtg
    ================================================================================
                                          Ap

5'  aacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacg
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  1120
3'  ttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc
    ================================================================================
                                          Ap

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

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

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

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

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

```
5'  acgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttg
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2170
3'  tgctccctcgaaggtcccccttttgcggaccatagaaatatcaggacagcccaaagcggtggagactgaac
o                                   Ori
o
5'  agcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttt
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2240
3'  tcgcagctaaaaacactacgagcagtcccccgcctcggatacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaa
o                                   Ori
o
o                                   PciI
5'  acggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatcccctgattctgtggat
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2310
3'  tgccaaggaccggaaaacgaccggaaaacgagtgtacaagaaaggacgcaatagggactaagacaccta
o
5'  aaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcag
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2380
3'  ttggcataatggcggaaactcactcgactatggcgagcggcgtcggcttgctggctcgcgtcgctcagtc
o
o                SapI
5'  tgagcgaggaagcggaagagcgcctgatgcggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccg
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2450
3'  actcgctccttcgccttctcgcggactacgccataaaagaggaatgcgtagacacgccataaagtgtggc
o
o                                                       BstZ17I
5'  catatatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagtatacactccgctatc
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2520
3'  gtatataccacgtgagagtcatgttagacgagactacggcgtatcaattcggtcatatgtgaggcgatag
o
o                Tth111I
5'  gctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacccgccaacacccgctgacgcgccctgacgggcttgt
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2590
3'  cgatgcactgacccagtaccgacgcggggctgtgggcggttgtgggcgactgcgcgggactgcccgaaca
o
5'  ctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttcac
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2660
3'  gacgagggccgtaggcgaatgtctgttcgacactggcagaggccctcgacgtacacagtctccaaaagtg
o
5'  cgtcatcaccgaaacgcgcgaggcagctgcggtaaagctcatcagcgtggtcgtgaagcgattcacagat
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2730
3'  gcagtagtggctttgcgcgctccgtcgacgccatttcgagtagtcgcaccagcacttcgctaagtgtcta
o
5'  gtctgcctgttcatccgcgtccagctcgttgagtttctccagaagcgttaatgtctggcttctgataaag
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2800
3'  cagacggacaagtaggcgcaggtcgagcaactcaaagaggtcttcgcaattacagaccgaagactatttc
o
5'  cgggccatgttaagggcggtttttcctgtttggtcactgatgcctccgtgtaagggggatttctgttca
o   ----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|  2870
3'  gcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtgactacggaggcacattcccccctaaagacaagt
o
```

```
5'  tgggggtaatgataccgatgaaacgagagaggatgctcacgatacgggttactgatgatgaacatgcccg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  2940
3'  acccccattactatggctactttgctctctcctacgagtgctatgcccaatgactactacttgtacgggc
o

5'  gttactggaacgttgtgagggtaaacaactggcggtatggatgcggcgggaccagagaaaaatcactcag
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3010
3'  caatgaccttgcaacactcccatttgttgaccgccatacctacgccgccctggtctctttttagtgagtc
o

5'  ggtcaatgccagcgcttcgttaatacagatgtaggtgttccacagggtagccagcagcatcctgcgatgc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3080
3'  ccagttacggtcgcgaagcaattatgtctacatccacaaggtgtcccatcggtcgtcgtaggacgctacg
o

5'  agatccggaacataatggtgcagggcgctgacttccgcgtttccagactttacgaaacacggaaaccgaa
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3150
3'  tctaggccttgtattaccacgtcccgcgactgaaggcgcaaaggtctgaaatgctttgtgcctttggctt
o

5'  gaccattcatgttgttgctcaggtcgcagacgttttgcagcagcagtcgcttcacgttcgctcgcgtatc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3220
3'  ctggtaagtacaacaacgagtccagcgtctgcaaaacgtcgtcgtcagcgaagtgcaagcgagcgcatag
o

5'  ggtgattcattctgctaaccagtaaggcaaccccgccagcctagccgggtcctcaacgacaggagcacga
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3290
3'  ccactaagtaagacgattggtcattccgttggggcggtcggatcggcccaggagttgctgtcctcgtgct
o

          FspAI
o         |
5'  tcatgcgcacccgtggggccgccatgccggcgataatggcctgcttctcgccgaaacgtttggtggcggg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3360
3'  agtacgcgtgggcaccccggcggtacggccgctattaccggacgaagagcggctttgcaaaccaccgccc
o

5'  accagtgacgaaggcttgagcgagggcgtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcatcgtc
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3430
3'  tggtcactgcttccgaactcgctcccgcacgttctaaggcttatggcgttcgctgtccggctagtagcag
o

5'  gcgctccagcgaaagcggtcctcgccgaaaatgacccagagcgctgccggcacctgtcctacgagttgca
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3500
3'  cgcgaggtcgctttcgccaggagcggcttttactgggtctcgcgacggccgtggacaggatgctcaacgt
o

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

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

5'  ttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcg
o   ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  3710
3'  aacgcgagtgacgggcgaaaggtcagccctttggacagcacggtcgacgtaattacttagccggttgcgc
o
```



5' cggggagaggcggtttgcgtattgggcgccagggtggtttttcttttcaccagtgagacgggcaacagct 3780
3' gcccctctccgccaaacgcataacccgcggtcccaccaaaaagaaaagtggtcactctgcccgttgtcga
Lac I

5' gattgcccttcaccgcctggccctgagagagttgcagcaagcggtccacgctggtttgccccagcaggcg 3850
3' ctaacgggaagtggcggaccgggactctctcaacgtcgttcgccaggtgcgaccaaacggggtcgtccgc
Lac I

HpaI
5' aaaatcctgtttgatggtggttaacggcgggatataacatgagctgtcttcggtatcgtcgtatcccact 3920
3' ttttaggacaaactaccaccaattgccgccctatattgtactcgacagaagccatagcagcatagggtga
Lac I

BssHII
5' accgagatgtccgcaccaacgcgcagcccggactcggtaatggcgcgcattgcgcccagcgccatctgat 3990
3' tggctctacaggcgtggttgcgcgtcgggcctgagccattaccgcgcgtaacgcgggtcgcggtagacta
Lac I

5' cgttggcaaccagcatcgcagtgggaacgatgccctcattcagcatttgcatggtttgttgaaaaccgga 4060
3' gcaaccgttggtcgtagcgtcacccttgctacgggagtaagtcgtaaacgtaccaaacaacttttggcct
Lac I

5' catggcactccagtcgccttcccgttccgctatcggctgaatttgattgcgagtgagatatttatgccag 4130
3' gtaccgtgaggtcagcggaagggcaaggcgatagccgacttaaactaacgctcactctataaatacggtc
Lac I

PspOMI
ApaI
BstEII
5' ccagccagacgcagacgcgccgagacagaacttaatgggcccgctaacagcgcgatttgctggtgaccca 4200
3' ggtcggtctgcgtctgcgcggctctgtcttgaattacccgggcgattgtcgcgctaaacgaccactgggt
Lac I

5' atgcgaccagatgctccacgcccagtcgcgtaccgtcttcatgggagaaaataatactgttgatgggtgt 4270
3' tacgctggtctacgaggtgcgggtcagcgcatggcagaagtaccctcttttattatgacaactacccaca
Lac I

5' ctggtcagagacatcaagaaataacgccggaacattagtgcaggcagcttccacagcaatggcatcctgg 4340
3' gaccagtctctgtagttctttattgcggccttgtaatcacgtccgtcgaaggtgtcgttaccgtaggacc
Lac I

```
                                BclI                MluI
5'  tcatccagcggatagttaatgatcagcccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgcaccgccgctttac
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4410
3'  agtaggtcgcctatcaattactagtcgggtgactgcgcaacgcgctcttctaacacgtggcggcgaaatg
                                      Lac I

5'  aggcttcgacgccgcttcgttctaccatcgacaccaccacgctggcacccagttgatcggcgcgagattt
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4480
3'  tccgaagctgcggcgaagcaagatggtagctgtggtggtgcgaccgtgggtcaactagccgcgctctaaa
                                      Lac I

5'  aatcgccgcgacaatttgcgacggcgcgtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgac
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4550
3'  ttagcggcgctgttaaacgctgccgcgcacgtcccggtctgacctccaccgttgcggttagtcgttgctg
                                      Lac I

5'  tgtttgcccgccagttgttgtgccacgcggttgggaatgtaattcagctccgccatcgccgcttccactt
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4620
3'  acaaacgggcggtcaacaacacggtgcgccaacccttacattaagtcgaggcggtagcggcgaaggtgaa
                                      Lac I

5'  tttcccgcgttttcgcagaaacgtggctggcctggttcaccacgcgggaaacggtctgataagagacacc
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4690
3'  aaagggcgcaaaagcgtctttgcaccgaccggaccaagtggtgcgccctttgccagactattctctgtgg

            BstAPI
5'  ggcatactctgcgacatcgtataacgttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccggg
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4760
3'  ccgtatgagacgctgtagcatattgcaatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggccc

5'  cgctatcatgccataccgcgaaaggttttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctccctta
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4830
3'  gcgatagtacggtatggcgctttccaaaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaat

                EcoNI
5'  tgcgactcctgcattaggaagcagcccagtagtaggttgaggccgttgagcaccgccgccgcaaggaatg
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4900
3'  acgctgaggacgtaatccttcgtcgggtcatcatccaactccggcaactcgtggcggcggcgttccttac

           SphI
5'  gtgcatgcaaggagatggcgcccaacagtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaaca
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   4970
3'  cacgtacgttcctctaccgcgggttgtcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgt

5'  agcgctcatgagcccgaagtggcgagcccgatcttccccatcggtgatgtcggcgatataggcgccagca
    ----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+   5040
3'  tcgcgagtactcgggcttcaccgctcgggctagaaggggtagccactacagccgctatatccgcggtcgt
```

SgrAI

5' accgcacctgtggcgccggtgatgccggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatcgatctcgatc 5110
3' tggcgtggacaccgcggccactacggccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagctagagctag

XbaI

5' ccgcgaaattaatacgactcactatagggaattgtgagcggataacaattcccctctagaaataatttt 5180
3' ggcgctttaattatgctgagtgatatcccttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaa

T7 Promoter — Lac Operator

BarI — BarI'

5' gtttaactttaagaaggagatatacatatgagcgataaaattattcacctgactgacgacagttttgaca 5250
3' caaattgaaattcttcctctatatgtatactcgctattttaataagtggactgactgctgtcaaaactgt

Trx Tag

M S D K I I H L T D D S F D
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

RsrII

5' cggatgtactcaaagcggacggggcgatcctcgtcgatttctgggcagagtggtgcggtccgtgcaaaat 5320
3' gcctacatgagtttcgcctgccccgctaggagcagctaaagacccgtctcaccacgccaggcacgtttta

Trx Tag

T D V L K A D G A I L V D F W A E W C G P C K M
15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38

5' gatcgccccgattctggatgaaatcgctgacgaatatcagggcaaactgaccgttgcaaaactgaacatc 5390
3' ctagcggggctaagacctactttagcgactgcttatagtcccgtttgactggcaacgttttgacttgtag

Trx Tag

I A P I L D E I A D E Y Q G K L T V A K L N I
39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61

5' gatcaaaaccctggcactgcgccgaaatatggcatccgtggtatcccgactctgctgctgttcaaaaacg 5460
3' ctagttttgggaccgtgacgcggctttataccgtaggcaccatagggctgagacgacgacaagtttttgc

Trx Tag

D Q N P G T A P K Y G I R G I P T L L L F K N
62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84

```
5'  gtgaagtggcggcaaccaaagtgggtgcactgtctaaaggtcagttgaaagagttcctcgacgctaacct
                                                                          5530
3'  cacttcaccgccgttggtttcacccacgtgacagatttccagtcaactttctcaaggagctgcgattgga
```

Trx Tag

```
G  E  V  A  A  T  K  V  G  A  L  S  K  G  Q  L  K  E  F  L  D  A  N  L
85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108
```

MscI

```
5'  ggccggttctggttctggccatatgcaccatcatcatcatcattcttctggtctggtgccacgcggttct
                                                                          5600
3'  ccggccaagaccaagaccggtatacgtggtagtagtagtagtaagaagaccagaccacggtgcgccaaga
```

T...g | His6-tag | Thrombin

```
A  G  S  G  S  G  H  M  H  H  H  H  H  H  S  S  G  L  V  P  R  G  S
109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131
```

BstBI | Acc65I | KpnI

```
5'  ggtatgaaagaaaccgctgctgctaaattcgaacgccagcacatggacagcccagatctgggtaccgacg
                                                                          5670
3'  ccatactttctttggcgacgacgatttaagcttgcggtcgtgtacctgtcgggtctagacccatggctgc
```

En...e

```
G  M  K  E  T  A  A  A  K  F  E  R  Q  H  M  D  S  P  D  L  G  T  D
132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154
```

NcoI

```
5'  acgacgacaaggccatggcgatATCAACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttca
                                                                          5740
3'  tgctgctgttccggtaccgctaTAGTTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagt
```

Enterokinase | attB1 | TEV site

BGT41_T01a2-pDONR221

```
D  D  D  K  A  M  A  I  S  T  S  L  Y  K  K  A  G  S  E  N  L  Y  F  Q
155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178

5'  aggcACCGAAGAAAGAAAGAATCAAAAGCAAGAAGGCTCTAAAGTAAAAACATTCCCAGTCTCTTTTGCT
                                                                          5810
3'  tccgTGGCTTCTTTCTTTCTTAGTTTTCGTTCTTCCGAGATTTCATTTTTGTAAGGGTCAGAGAAAACGA
```

T... | BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' TTAGGTGAAATTAAAGAAAACATCACTATTACGACTAATAGCGCTTCTAATACTTCAAAGGAACAAAAAA 5880
3' AATCCACTTTAATTTCTTTTGTAGTGATAATGCTGATTATCGCGAAGATTATGAAGTTTCCTTGTTTTTT

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' GATTTGGAGACCAGAGTAAAACTATAAAGAAAAAAGATACCAATACAATTACTAAACCTTCCAAAGATCA 5950
3' CTAAACCTCTGGTCTCATTTTGATATTTCTTTTTTCTATGGTTATGTTAATGATTTGGAAGGTTTCTAGT

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

R F G D Q S K T I K K K D T N T I T K P S K D Q
225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248

SwaI

5' AATCATTAATCAAGCATTTAAATTTCATTCACAAGGCAATATAAAAGAAGCAGCAAAAAATTATCAATAT 6020
3' TTAGTAATTAGTTCGTAAATTTAAAGTAAGTGTTCCGTTATATTTTCTTCGTCGTTTTTTAATAGTTATA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

I I N Q A F K F H S Q G N I K E A A K N Y Q Y
249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271

5' TTCATTAATCAAGGTTTCTCTGACCACATGGTTTTTTCTAATTATGGAGCAATATTAAGAGATCTTGGTA 6090
3' AAGTAATTAGTTCCAAAGAGACTGGTGTACCAAAAAAGATTAATACCTCGTTATAATTCTCTAGAACCAT

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' ATTTACAAGATGCAGAATTATATACTCGCAAAGCAATTAAAATTAATCCTAATTACGCATTGGCTTACTC 6160
3' TAAATGTTCTACGTCTTAATATATGAGCGTTTCGTTAATTTTAATTAGGATTAATGCGTAACCGAATGAG

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

N L Q D A E L Y T R K A I K I N P N Y A L A Y S
295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318

5' TAATCTGGGAAATGTATTAAAAGATCTTGGTAAGTCACAAGATGCAGAATTGTCATACCGCAAAGCAATT 6230
3' ATTAGACCCTTTACATAATTTTCTAGAACCATTCAGTGTTCTACGTCTTAACAGTATGGCGTTTCGTTAA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

N L G N V L K D L G K S Q D A E L S Y R K A I
319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341

5' CAAATTAATCCTAATTACGCAGATGCACATTACAATCTGGGAATAATATTGAAAGAACTTGGTAATTTAC 6300
3' GTTTAATTAGGATTAATGCGTCTACGTGTAATGTTAGACCCTTATTATAACTTTCTTGAACCATTAAATG

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

Q I N P N Y A D A H Y N L G I I L K E L G N L
342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364

NsiI

5' AAGACGCAGAATTGTCATATCGCAAAGCAATTCAAATTAATCCTAATTACGCAGATGCATATTCCAATCT 6370
3' TTCTGCGTCTTAACAGTATAGCGTTTCGTTAAGTTTAATTAGGATTAATGCGTCTACGTATAAGGTTAGA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

Q D A E L S Y R K A I Q I N P N Y A D A Y S N L
365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388

5' GGGAAATGTATTAAAAGATCTTGATAATTTACAAGACGCAGAATTGTCATACCGCAAAGCAATTCAAATT 6440
3' CCCTTTACATAATTTTCTAGAACTATTAAATGTTCTGCGTCTTAACAGTATGGCGTTTCGTTAAGTTTAA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' AATCCTAGTTACGCAGACGCATATTCAAATCTGGGAAATGTATTAAAAGATCTTGGTAATTTACAAGACG 6510
3' TTAGGATCAATGCGTCTGCGTATAAGTTTAGACCCTTTACATAATTTTCTAGAACCATTAAATGTTCTGC

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' CAGAGTTGTCATACCGCAAAGCAATTCAAATTAATCCTGATTACGCAGAGGCGCATTTCAATCTAGGAAA 6580
3' GTCTCAACAGTATGGCGTTTCGTTAAGTTTAATTAGGACTAATGCGTCTCCGCGTAAAGTTAGATCCTTT

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' TCTATTAAAAGATCTTGGTAAATTACAAGACGCAGAGTTGTCATATCGCAAAGCAATTCAAATCAAATCT 6650
3' AGATAATTTTCTAGAACCATTTAATGTTCTGCGTCTCAACAGTATAGCGTTTCGTTAAGTTTAGTTTAGA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' GATTACGCTGAGGCGCATTACAATCTAGGAATCATATTGAAAGACCTTGGTAATTTACAAGACGCAGAAT 6720
3' CTAATGCGACTCCGCGTAATGTTAGATCCTTAGTATAACTTTCTGGAACCATTAAATGTTCTGCGTCTTA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

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

5' TTTATAATCGCAAAGCAATTCAAATCAAACCTGATTACGCTGAGGCGCATTTCAATCTGGGAATCATATT 6790
3' AAATATTAGCGTTTCGTTAAGTTTAGTTTGGACTAATGCGACTCCGCGTAAAGTTAGACCCTTAGTATAA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

F Y N R K A I Q I K P D Y A E A H F N L G I I L
505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528

5' GAAAGACCTTGGTAATTTACAAGACGCAGAATTCTCATATCGCCAAGCAATTCAAATCAAACCTGATTAC 6860
3' CTTTCTGGAACCATTAAATGTTCTGCGTCTTAAGAGTATAGCGGTTCGTTAAGTTTAGTTTGGACTAATG

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

K D L G N L Q D A E F S Y R Q A I Q I K P D Y
529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551

5' GCAGATGCCTACTCCAATCTGGGAAATGTATTAAAAGATCTTGGTAAGTTAAAAGACGCAGAATTGTCAT 6930
3' CGTCTACGGATGAGGTTAGACCCTTTACATAATTTTCTAGAACCATTCAATTTTCTGCGTCTTAACAGTA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

A D A Y S N L G N V L K D L G K L K D A E L S
552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574

5' ATCGCAAAGCAATTCAAATCAAACCTGATTACGCTGAGGTTTATTCCAATCTGGGAAATGTATTAAAAGA 7000
3' TAGCGTTTCGTTAAGTTTAGTTTGGACTAATGCGACTCCAAATAAGGTTAGACCCTTTACATAATTTTCT

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

Y R K A I Q I K P D Y A E V Y S N L G N V L K D
575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598

5' TCTTGGTAATTTACAAGACGCAGAATTTTCATACCGCAAAGCAATTCAAATCAAACCTGATTACGCAGAT 7070
3' AGAACCATTAAATGTTCTGCGTCTTAAAAGTATGGCGTTTCGTTAAGTTTAGTTTGGACTAATGCGTCTA

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

L G N L Q D A E F S Y R K A I Q I K P D Y A D
599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621

5' GCTTACTCCAATCTGGGAAATATATTAAAAGAGCTAAGTAATTTCACTGACGCTATAAATCAATTCAAGG 7140
3' CGAATGAGGTTAGACCCTTTATATAATTTTCTCGATTCATTAAAGTGACTGCGATATTTAGTTAAGTTCC

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

A Y S N L G N I L K E L S N F T D A I N Q F K
622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644

5' ATGCACTAAAATTGAACAATGAATTAACATCAGCTCAGACTGGTTTAATGTCAACTCAGGGTAATATATG 7210
3' TACGTGATTTTAACTTGTTACTTAATTGTAGTCGAGTCTGACCAAATTACAGTTGAGTCCCATTATATAC

BGT41_T01a2

BGT41_T01a2-pDONR221

D A L K L N N E L T S A Q T G L M S T Q G N I C
645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668

BseRI

5' CGATTGGAGTGATGAGGAGACTCATAATAAATGGCTTAAATCACTTGGTATTAAAGGATAGGACCCAGCT 7280
3' GCTAACCTCACTACTCCTCTGAGTATTATTTACCGAATTTAGTGAACCATAATTTCCTATCCTGGGTCGA

BGT41_T01a2 attB2

BGT41_T01a2-pDONR221

D W S D E E T H N K W L K S L G I K G .
669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688

PspXI
XhoI
AvaI
EcoICRI
SacI
NotI
EagI
BamHI
SalI
HindIII
BmeT110I

5' TTCTTGTACAAAGTGGTTGATatcggatccgaattcgagctccgtcgacaagcttgcggccgcactcgag 7350
3' AAGAACATGTTTCACCAACTAtagcctaggcttaagctcgaggcagctgttcgaacgccggcgtgagctc

attB2

5' caccaccaccaccaccactgagatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctgagttggctgctgcca 7420
3' gtggtggtggtggtggtgactctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgactcaaccgacgacggt

BlpI

5' ccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaagg 7490
3' ggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactccccaaaaaacgactttcc

T7 Terminator

5' aggaactatatccggat 7507
3' tccttgatataggccta