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

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

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

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

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' ttgtacccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc

Ap

PstI

5' agcgtgacaccacgatgcctgcagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttac
1190
3' tcgcactgtggtgctacggacgtcgttaccgttgttgcaacgcgtttgataattgaccgcttgatgaatg

Ap

5' tctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcg
1260
3' agatcgaagggccgttgttaattatctgacctacctccgcctatttcaacgtcctggtgaagacgcgagc

Ap

BsaI

5' gcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattg
1330
3' cgggaaggccgaccgaccaaataacgactatttagacctcggccactcgcacccagagcgccatagtaac

Ap

AhdI

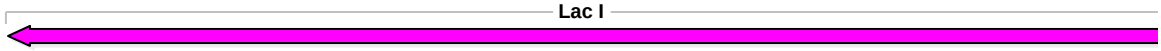
5' cagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactat
1400
3' gtcgtgaccccggtctaccattcgggagggcatagcatcaatagatgtgctgcccctcagtccgttgata

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'  aaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaacca
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
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'  gcccggtacaattcccgccaaaaaaggacaaaccagtgactacggaggcacattccccctaaagacaagt
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

5' gtgcatgcaaggagatggcgcccaacagtcccccggccacggggcctgccaccatacccacgccgaaaca 4970
3' cacgtacgttcctctaccgcgggttgtcagggggccggtgccccggacggtggtatgggtgcggctttgt

5' agcgctcatgagcccgaagtggcgagcccgatcttccccatcggtgatgtcggcgatataggcgccagca 5040
3' tcgcgagtactcgggcttcaccgctcgggctagaaggggtagccactacagccgctatatccgcggtcgt

SgrAI

5' accgcacctgtggcgccggtgatgccggccacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatcgatctcgatc 5110
3' tggcgtggacaccgcggccactacggccggtgctacgcaggccgcatctcctagctctagctagagctag

XbaI

5' ccgcgaaattaatacgactcactatagggaattgtgagcggataacaattcccctctagaaataatttt 5180
3' ggcgctttaattatgctgagtgatatccccttaacactcgcctattgttaaggggagatctttattaaaa

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

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

BglII 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

BGH01_B01b-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' aggcTTTCCTCTAGGTTATAATTATATTATTACACTGTTTGCAAATAATATCTTAAAGGGTGTGGTAAAC 5810
3' tccgAAAGGAGATCCAATATTAATATAATAATGTGACAAACGTTTATTATAGAATTTCCCACACCATTTG

T... | BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

G F P L G Y N Y I I T L F A N N I L K G V V N
179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201

5' ATGTCAAAGATAACTTTCCCAAAAGATTTCATATGGGGTTCTGCAACAGCAGCATATCAGATTGAAGGTG 5880
3' TACAGTTTCTATTGAAAGGGTTTTCTAAAGTATACCCCAAGACGTTGTCGTCGTATAGTCTAACTTCCAC

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

M S K I T F P K D F I W G S A T A A Y Q I E G
202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224

5' CATACAACGAAGACGGCAAAGGTGAATCTATATGGGACCGTTTTTCCCACACGCCAGGAAATATAGCAGA 5950
3' GTATGTTGCTTCTGCCGTTTCCACTTAGATATACCCTGGCAAAAAGGGTGTGCGGTCCTTTATATCGTCT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

5' CGGACATACCGGCGATGTTGCATGCGACCACTATCATCGTTATGAAGAAGATATCAAAATAATGAAAGAA 6020
3' GCCTGTATGGCCGCTACAACGTACGCTGGTGATAGTAGCAATACTTCTTCTATAGTTTTATTACTTTCTT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

G H T G D V A C D H Y H R Y E E D I K I M K E
249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271

5' ATCGGTATTAAATCATACAGGTTTTCCATCTCATGGCCCAGAATCTTTCCTGAAGGAACAGGTAAATTAA 6090
3' TAGCCATAATTTAGTATGTCCAAAAGGTAGAGTACCGGGTCTTAGAAAGGACTTCCTTGTCCATTTAATT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

I G I K S Y R F S I S W P R I F P E G T G K L
272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294

5' ATCAAAAGGGACTGGATTTTTACAAAAGGCTCACAAATCTGCTTCTGGAAAACGGAATTATGCCTGCAAT 6160
3' TAGTTTTCCCTGACCTAAAAATGTTTTCCGAGTGTTTAGACGAAGACCTTTTGCCTTAATACGGACGTTA

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

N Q K G L D F Y K R L T N L L L E N G I M P A I
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' CACTCTTTATCACTGGGACCTTCCCCAAAAGCTTCAGGATAAAGGCGGATGGAAAAACCGGGACACCACC 6230
3' GTGAGAAATAGTGACCCTGGAAGGGGTTTTCGAAGTCCTATTTCCGCCTACCTTTTTGGCCCTGTGGTGG

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

T L Y H W D L P Q K L Q D K G G W K N R D T T
319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341

5' GATTATTTTACAGAATACTCTGAAGTAATATTTAAAAATCTCGGAGATATCGTTCCAATATGGTTTACTC 6300
3' CTAATAAAATGTCTTATGAGACTTCATTATAAATTTTTAGAGCCTCTATAGCAAGGTTATACCAAATGAG

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

PasI

5' ACAATGAACCCGGTGTTGTTTCTTTGCTTGGCCACTTTTTAGGAATTCATGCCCCTGGGATAAAAGACCT 6370
3' TGTTACTTGGGCCACAACAAAGAAACGAACCGGTGAAAAATCCTTAAGTACGGGGACCCTATTTTCTGGA

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

H N E P G V V S L L G H F L G I H A P G I K D 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' CCGCACTTCATTGGAAGTCTCGCACAATCTTCTTTTGTCCCACGGCAAGGCCGTGAAACTGTTTAGAGAA 6440
3' GGCGTGAAGTAACCTTCAGAGCGTGTTAGAAGAAAACAGGGTGCCGTTCCGGCACTTTGACAAATCTCTT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

BbvCI

5' ATGAATATTGACGCCCAAATTGGAATAGCTCTCAATTTATCTTACCATTATCCCGCATCCGAAAAAGCTG 6510
3' TACTTATAACTGCGGGTTTAACCTTATCGAGAGTTAAATAGAATGGTAATAGGGCGTAGGCTTTTTCGAC

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

5' AGGATATTGAAGCAGCGGAATTGTCATTTTCTCTGGCGGGAAGGTGGTATCTGGATCCTGTGCTAAAAGG 6580
3' TCCTATAACTTCGTCGCCTTAACAGTAAAAGAGACCGCCCTTCCACCATAGACCTAGGACACGATTTTCC

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

E D I E A A E L S F S L A G R W Y L D P V L K G
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' CCGGTATCCTGAAAACGCATTGAAACTTTATAAAAAGAAGGGTATTGAGCTTTCTTTCCCTGAAGATGAC 6650
3' GGCCATAGGACTTTTGCGTAACTTTGAAATATTTTTCTTCCCATAACTCGAAAGAAAGGGACTTCTACTG

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

BsmI

5' CTGAAACTTATCAGTCAGCCAATAGACTTCATAGCATTCAACAATTATTCTTCGGAATTTATAAAATATG 6720
3' GACTTTGAATAGTCAGTCGGTTATCTGAAGTATCGTAAGTTGTTAATAAGAAGCCTTAAATATTTTATAC

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

AarI
BspMI

5' ATCCGTCCAGTGAGTCAGGTTTTTCACCTGCAAACTCCATATTAGAAAAGTTCGAAAAAACAGATATGGG 6790
3' TAGGCAGGTCACTCAGTCCAAAAAGTGGACGTTTGAGGTATAATCTTTTCAAGCTTTTTTGTCTATACCC

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

D P S S E S G F S P A N S I L E K F E K T D M G
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' CTGGATCATATATCCTGAAGGCTTGTATGATCTGCTTATGCTCCTTGACAGGGATTATGGAAAGCCAAAC 6860
3' GACCTAGTATATAGGACTTCCGAACATACTAGACGAATACGAGGAACTGTCCCTAATACCTTTCGGTTTG

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

5' ATTGTTATCAGCGAAAACGGAGCCGCCTTCAAAGATGAAATAGGTAGCAACGGAAAGATAGAAGACACAA 6930
3' TAACAATAGTCGCTTTTGCCTCGGCGGAAGTTTCTACTTTATCCATCGTTGCCTTTCTATCTTCTGTGTT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

5' AGAGAATCCAATATCTTAAAGATTATCTGACCCAGGCTCACAGGGCAATTCAGGACGGTGTAAACTTAAA 7000
3' TCTCTTAGGTTATAGAATTTCTAATAGACTGGGTCCGAGTGTCCCGTTAAGTCCTGCCACATTTGAATTT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

K R I Q Y L K D Y L T Q A H R A I Q D G V N L K
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' AGCATACTACTTGTGGTCGCTTTTGGACAACTTTGAATGGGCTTACGGGTACAACAAGAGATTCGGAATC 7070
3' TCGTATGATGAACACCAGCGAAAACCTGTTGAAACTTACCCGAATGCCCATGTTGTTCTCTAAGCCTTAG

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

5' GTTCACGTAAATTTTGATACGTTGGAAAGAAAAATAAAGGATAGCGGCTACTGGTACAAAGAAGTAATCA 7140
3' CAAGTGCATTTAAAACTATGCAACCTTTCTTTTTATTTCCTATCGCCGATGACCATGTTTCTTCATTAGT

BGH01_B01b

BGH01_B01b-pDONR221

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

EcoICRI
SacI

5' AAAACAACGGTTTTTAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATatcggatccgaattcgagctccg 7210
3' TTTTGTTGCCAAAAATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAtagcctaggcttaagctcgaggc

BGH01_B01b

attB2

BGH01_B01b-pDONR221

K N N G F .
645 646 647 648 649 650

PspXI
XhoI
AvaI
NotI
EagI
SalI
BmeT110I

5' tcgacaagcttgcggccgcactcgagcaccaccaccaccaccactgagatccggctgctaacaaagcccg 7280
3' agctgttcgaacgccggcgtgagctcgtggtggtggtggtggtgactctaggccgacgattgtttcgggc

BlpI

5' aaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgg 7350
3' tttccttcgactcaaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcc

T7 Terminator

5' gtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaactatatccggat 7393
3' cagaactccccaaaaaacgactttcctccttgatataggccta

T7 Terminator