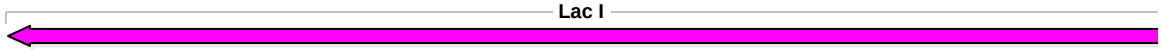
```
5'  tggcgaatgggacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgacc
    ++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|++++|  70
3'  accgcttaccctgcgcgggacatcgccgcgtaattcgcgccgcccacaccaccaatgcgcgtcgcactgg

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

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

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

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

                         PsiI
                         |
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

5'  attgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcac
                                                                      910
3'  taactgcggcccgttctcgttgagccagcggcgtatgtgataagagtcttactgaaccaactcatgagtg
                                  Ap

5'  cagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgag
                                                                      980
3'  gtcagtgtcttttcgtagaatgcctaccgtactgtcattctcttaatacgtcacgacggtattggtactc
                                  Ap

5'  tgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcac
                                                                     1050
3'  actattgtgacgccggttgaatgaagactgttgctagcctcctggcttcctcgattggcgaaaaaacgtg
                                  Ap

5'  aacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacg
                                                                     1120
3'  ttgtacccccctagtacattgagcggaactagcaacccttggcctcgacttacttcggtatggtttgctgc
                                  Ap

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'  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'  tcgcagctaaaaacactacgagcagtccccccgcctcggatacctttttgcggtcgttgcgccggaaaaa
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'  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

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

5' ggcatactctgcgacatcgtataacgttactggtttcacattcaccaccctgaattgactctcttccggg 4760
3' ccgtatgagacgctgtagcatattgcaatgaccaaagtgtaagtggtgggacttaactgagagaaggccc

5' cgctatcatgccataccgcgaaaggttttgcgccattcgatggtgtccgggatctcgacgctctccctta 4830
3' gcgatagtacggtatggcgctttccaaaacgcggtaagctaccacaggccctagagctgcgagagggaat

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' 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

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

5' acgacgacaaggccatggcgatATCAACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTctgaaaacttgtactttca 5740
3' tgctgctgttccggtaccgctaTAGTTGTTCAAACATGTTTTTTCGTCCGAgacttttgaacatgaaagt

Enterokinase | attB1 | TEV site

BGH35_B04b-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' aggcAGTCCACTGACTATTCAAGGCAAACAATTAATGCTGAACGATCGTCCGTTTCGAATTATAGCCGGC 5810
3' tccgTCAGGTGACTGATAAGTTCCGTTTGTTAATTACGACTTGCTAGCAGGCAAAGCTTAATATCGGCCG

T... BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' GCCATCCATTATTTTCGCGTTGTTCCGGAGTACTGGCGCGACCGCCTGCTTAAATTGAAGGCATGCGGGT 5880
3' CGGTAGGTAATAAAAGCGCAACAAGGCCTCATGACCGCGCTGGCGGACGAATTTAACTTCCGTACGCCCA

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

A I H Y F R V V P E Y W R D R L L K L K A C 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' TTAATACGGTTGAAACTTACGTGCCGTGGAATTTCCATGAGCCGGAGGAAGGCCGCTTTGTATTCGAGGG 5950
3' AATTATGCCAACTTTGAATGCACGGCACCTTAAAGGTACTCGGCCTCCTTCCGGCGAAACATAAGCTCCC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

F N T V E T Y V P W N F H E P E E G R F V F E G
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' CATGGCGGATCTGGAGAAGTTCATCGCGCTTGCCGGCGAACTGGGATTGTACGCGATTGTTCGTCCAAGC 6020
3' GTACCGCCTAGACCTCTTCAAGTAGCGCGAACGGCCGCTTGACCCTAACATGCGCTAACAAGCAGGTTCG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' CCGTACATTTGCGCGGAGTGGGAGTTTGGCGGATTGCCGGCATGGCTGCTCAAAGACCCCGGCATGCGCC 6090
3' GGCATGTAAACGCGCCTCACCCTCAAACCGCCTAACGGCCGTACCGACGAGTTTCTGGGGCCGTACGCGG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' TGCGCTGCAGCTATAAGCCGTTCCTGGACAAAGCGGATGCTTATTACGACGAACTGATCCCGCGCCTGAC 6160
3' ACGCGACGTCGATATTCGGCAAGGACCTGTTTCGCCTACGAATAATGCTGCTTGACTAGGGCGCGGACTG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

L R C S Y K P F L D K A D A Y Y D E L I P R L T
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' CCCGTTCCTGTCCACCAAGGGCGGTCCGCTCATCGCGATGCAGATCGAGAACGAGTACGGCAGCTACGGC 6230
3' GGGCAAGGACAGGTGGTTCCCGCCAGGCGAGTAGCGCTACGTCTAGCTCTTGCTCATGCCGTCGATGCCG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' AACGATAAAACGTATCTCAACTACCTGAAGGAAGCACTCGTCAAACGCGGCGTGGATGTACTGCTATTTA 6300
3' TTGCTATTTTGCATAGAGTTGATGGACTTCCTTCGTGAGCAGTTTGCGCCGCACCTACATGACGATAAAT

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' CCTCTGACGGACCGGAAGATTTTATGCTGCAAGGCGGCATGGTTGAAGGCGTATGGGAAACGGTTAATTT 6370
3' GGAGACTGCCTGGCCTTCTAAAATACGACGTTCCGCCGTACCAACTTCCGCATACCCTTTGCCAATTAAA

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

T S D G P E D F M L Q G G M V E G V W E T V N F
365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388

BbvCI
BsmI

5' CGGATCCCGTTCGGCTGAGGCATTCGCCAAGCTGCAGGAATATCAGCCGGATCAGCCGCTTATGTGCATG 6440
3' GCCTAGGGCAAGCCGACTCCGTAAGCGGTTCGACGTCCTTATAGTCGGCCTAGTCGGCGAATACACGTAC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' GAATTTTGGAACGGCTGGTTCGACCACTGGGGGGAGACTCATCATACCCGCGGCGCCGCGGATGTTGCCC 6510
3' CTTAAAACCTTGCCGACCAAGCTGGTGACCCCCCTCTGAGTAGTATGGGCGCCGCGGCGCCTACAACGGG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

E F W N G W F D H W G E T H H T R G A A D V 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' TGGTGCTTGACGAGATGCTGGCAGCCGGTGCTTCGGTCAATTTCTATATGTTCCATGGGGGGACCAACTT 6580
3' ACCACGAACTGCTCTACGACCGTCGGCCACGAAGCCAGTTAAAGATATACAAGGTACCCCCCTGGTTGAA

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

L V L D E M L A A G A S V N F Y M F H G G T N F
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' CGGCTTTTTCAGCGGAGCGAACTACACGGACAGACTGCTTCCGACGGTTACGAGCTACGACTACGATTCG 6650
3' GCCGAAAAAGTCGCCTCGCTTGATGTGCCTGTCTGACGAAGGCTGCCAATGCTCGATGCTGATGCTAAGC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

G F F S G A N Y T D R L L P T V T S Y D Y D 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' CCGCTTAGCGAGAGCGGGGAATTGACGGAGAAATATTATGCCGTTCGCGAAGTCATTGCCAAGTATGCGG 6720
3' GGCGAATCGCTCTCGCCCCTTAACTGCCTCTTTATAATACGGCAAGCGCTTCAGTAACGGTTCATACGCC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

P L S E S G E L T E K Y Y A V R E V I A K Y A
482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504

5' AGCTCGGACCGCTTGAGCTGCCGGCGCAAATCGTGGCAAAAAGCTTCGGTAGCGTGCGTATGACTGGCCA 6790
3' TCGAGCCTGGCGAACTCGACGGCCGCGTTTAGCACCGTTTTTCGAAGCCATCGCACGCATACTGACCGGT

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

E L G P L E L P A Q I V A K S F G S V R M T G Q
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' AGCTCGGCTGCTCGCTTCGCTTGATGAGTTGTCCGTACCGATTCCAAGCGTGTGCCCGGAGCCGATGGAG 6860
3' TCGAGCCGACGAGCGAAGCGAACTACTCAACAGGCATGGCTAAGGTTCGCACACGGGCCTCGGCTACCTC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

A R L L A S L D E L S V P I P S V C P E P M E
529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551

5' CAGTATGGCCAAAACTCGGGGTTTATCCTGTACGCGACGCATTTAACCGGCCCGCGTCCGGCAAGCCGCC 6930
3' GTCATACCGGTTTTGAGCCCCAAATAGGACATGCGCTGCGTAAATTGGCCGGGCGCAGGCCGTTCGGCGG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

Q Y G Q N S G F I L Y A T H L T G P R P A S R
552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574

SbfI BspMI

5' TCAACCTGCAGGAGGTTCATGACCGCGCGCTTATCTTTATTGACGGCGTGTTCAAAGGCGTTATTGAACG 7000
3' AGTTGGACGTCCTCCAAGTACTGGCGCGCGAATAGAAATAACTGCCGCACAAGTTTCCGCAATAACTTGC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

L N L Q E V H D R A L I F I D G V F K G V I E R
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' CTCCAACCCGGAGCATGATCTCGTATTTGACGTACCGCCCGGCGGCGTGGAGCTGGCCATTCTCGTCGAG 7070
3' GAGGTTGGGCCTCGTACTAGAGCATAAACTGCATGGCGGGCCGCCGCACCTCGACCGGTAAGAGCAGCTC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

BsiWI

5' AATATGGGACGGATCAATTACGGTCCGCACATGAAGGATGTTAAGGGAATTACCGAAGGCGTACGTTTCG 7140
3' TTATACCCTGCCTAGTTAATGCCAGGCGTGTACTTCCTACAATTCCCTTAATGGCTTCCGCATGCAAAGC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

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

5' GACAGCAGTTCCTGTTTAATTGGACGGTGCGCCCGTTGCCGCTGGATGACCTGTCCAAACTGCAATTTTC 7210
3' CTGTCGTCAAGGACAAATTAACCTGCCACGCGGGCAACGGCGACCTACTGGACAGGTTTGACGTTAAAAG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

G Q Q F L F N W T V R P L P L D D L S K L Q F S
645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668

5' TGCTTTAAGCAGTCAACCGTGCCTTCAGCCGTCCTTCTATCGGGGCGAGTTCGAAGTGGATGAGCCGGCC 7280
3' ACGAAATTCGTCAGTTGGCACGGAAGTCGGCAGGAAGATAGCCCCGCTCAAGCTTCACCTACTCGGCCGG

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

A L S S Q P C L Q P S F Y R G E F E V D E P A
669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691

5' GACACGTTCCTAAGCATGAAAGGGTGGACCAAGGGTGTTGCCTATATGAACGGCTTTAATCTGGGTCGTT 7350
3' CTGTGCAAGGATTCGTACTTTCCCACCTGGTTCCCACAACGGATATACTTGCCGAAATTAGACCCAGCAA

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

D T F L S M K G W T K G V A Y M N G F N L G R
692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714

5' ATTGGGAGATTGCGCCTCAAGAAACGTTGTACATTCCGGGGCCGCTGCTCCGCACGGGCAAAAACGAGAT 7420
3' TAACCCTCTAACGCGGAGTTCTTTGCAACATGTAAGGCCCCGGCGACGAGGCGTGCCCGTTTTTGCTCTA

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

Y W E I A P Q E T L Y I P G P L L R T G K N E I
715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738

5' CATCGTATTCGAGCTGCACGCAGCGGAGTCCGCAAGCGTTAGCCTGCTGGACTGCCCGGTATTAAATAAG 7490
3' GTAGCATAAGCTCGACGTGCGTCGCCTCAGGCGTTCGCAATCGGACGACCTGACGGGCCATAATTTATTC

BGH35_B04b

BGH35_B04b-pDONR221

I V F E L H A A E S A S V S L L D C P V L N K
739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761

EcoRI SalI

5' CAATAGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTTGATatcggatccgaattcgagctccgtcgacaagctt 7560
3' GTTATCCTGGGTCGAAAGAACATGTTTCACCAACTAtagcctaggcttaagctcgaggcagctgttcgaa

attB2

BGH35_B04b-pDONR221

Q .
762 763

NotI PspXI XhoI

5' gcggccgcactcgagcaccaccaccaccaccactgagatccggctgctaacaaagcccgaaaggaagctg 7630
3' cgccggcgtgagctcgtggtggtggtggtggtgactctaggccgacgattgtttcgggctttccttcgac

5' agttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataaccccttggggcctctaaacgggtcttgagggg 7700
3' tcaaccgacgacggtggcgactcgttattgatcgtattggggaaccccggagatttgcccagaactcccc

T7 Terminator

5' tttttgctgaaaggaggaactatatccggat

7732

3' aaaaaacgactttcctccttgatataggccta

T7 ...or