



**Figure S8.** Map of trial plasmid pTOP2S-EGFP-NEO5-APRT1i. RNAi cassette and *NEO5* cassette were excised from pAPRT1i-NEO5 and then integrated into the *SalI*–*ApaI* sites of pTOP2S-EGFP-NEO4 [1].

ACGT: TOP2S ORF

acgt: TOP2S 3' UTR

3' UTR of BTU1

EGFP

polyA signal

ACGT: APRT1 CDS

NEO5 cassette

MTT1 promoter

**Linker**

GTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA  
TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGA  
GTATTC AACATTTCCGTGTCGCCCTTATCCCTTTTTTGC GGCA TTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTC  
ACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCG  
AACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGA  
GCACTTTTAAAGTTC TGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCG  
GTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTA

CGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACACTGCGGCCA  
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATC  
ATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACA  
CCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAG  
CTTCCC GGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGG  
CCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCA  
TTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGG  
CAACTATGGATGAACGAAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC  
TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCATTTTTAATTTAAAAGGA  
TCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACT  
GAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCT  
GCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAA  
CTCTTTTTCCGAAGGTAACGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGC  
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACTCGCTCTGCTAATCCTGT  
TACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTAC  
CGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGA  
CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA  
AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGG  
GAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGT  
GATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTTACGGTTCCTGG  
CCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA  
TTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA  
GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTCATTAAT  
GCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTT  
AGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTG  
TGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCGCGCAATTAACC  
CTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTCACGCTAAGGAGCAGACCTCGAAAATGAAGAAGAGTAG  
CTGACCAAAAAAAGAGTTCTGAATGAAGGAGAACCAAAAGTATAGCTTAAAATAAAAAATAACA  
AAAGAAATAAATGATGAAGATCTTGAATATAATTTGTTTAAGGATGAAAAGCCAAAGTAAAAAAG  
CCTCCTGCTACTGCTGCTTCAAATCAAAGAAAGTGATAAATAAAAAATGAAGATGATGATGAAGAC  
TTTAATGATGATTTATCAGAAGATGAAAAACCAAAGAAGAAAAGGTCCAATTAACCTTAATCAAAA  
ACCAAAAAATAGAAAAATGAAAGTGAAGATGAAGATTTTAATAGCAAAGAATCTGATGAAAAACCT  
AAATAAAGAAAATCTAATTCTAACTCATAAAAAGCAAGGAAACCTAAGAAAATGAGTGATGATGAG  
GGAGAAGAAGATGATGATTTTATCATACTGATGAGGATTCTGATGAAGAAAAACCTAAGAAGAGA  
AAGAGTAATGCAACAAAACCTAAAAATAATAAAGAAGATAAAGATAATCAAAAGTCTAAAAAAAAT  
AGAACCGATTCACCAAAACTTAAAATAACAAATTCAGAAGATGAAGATGTTGCTGAATTAAAGCAA  
AATGAAGTTTTATAAACGAGAACAAGAGGTAAAAGAAACCAATTCCTCGTAAAATGATCATTGAT  
AATTCTGATGAAGATTTCACTGAAGAGGAAGAATTTGGAATAGCAAAAAGAAATCAGTAAATAGT  
AAAAGCCAAAAAAAATAAAAAGACGATGAATCATCGGATGAATGCTATTTCCGGATCCATGGTTTCT  
AAGGGTGAAGAACTTTTCACTGGTGTGTTCCCTATTTTAGTTGAATTAGATGGTGATGTTAATGGT  
CACAAATTTTCTGTTTCAGGTGAAGGTGAAGGTGATGCTACTTATGGTAAGTTAACTCTTAAATTT  
ATTTGTACTIONTGGTAAGTTACCTGTTCCCTGGCCTACTTTAGTTACTACTCTTACTTATGGTGTT  
CAATGCTTTTCAAGATACCCTGATCACATGAAGCAACATGATTTCTTTAAGTCTGCTATGCCTGAA  
GGTTATGTTCAAGAAAGAACTATTTTCTTTAAAGATGATGGTAATTATAAACTAGAGCTGAAGTT

AAATTTGAAGGTGATACTTTAGTTAATAGAATTGAACTTAAAGGTATTGATTCAAGGAAGATGGT  
AATATTCTTGTCATAAACTTGAATATAATTACAATTCTCATAATGTTTACATTATGGCTGATAAG  
CAAAGAATGGTATTAAAGTTAATTTTAAAATTAGACATAATATTGAAGATGGTTCAGTTCAATTA  
GCTGATCATTATCAACAAAATACTCCTATTGGTGATGGTCCTGTTCTTTTACCTGATAATCACTAC  
TTATCTACTCAATCAGCTTTATCTAAAGATCCTAATGAAAAAAGAGATCATATGGTTCTTTTAGAA  
TTTGTTACTGCTGCTGGTATTACTCTTGGTATGGATGAATTATATAAGACTAGTTGACGAACTGA  
ATCGGTGAGCTAAACCAACCAATCAACATAATAAACTTTATTATTTTTACTTTAAGCATCTTACTGT  
TGTTGTAATAGTAGAGAAAAGAAATACCCAATTAACCTTCATTCACATAACATTAATATCTATAACA  
TCTTTTTTCTCACATATATACAACCTCTCTAAATCAACAAATAACTTTTTAAAATAATGGATATAT  
ATTAACAAAATAATATATCTCTTTTTACAAAATAGTTCTTATATAAATACGTATTCTGCACTCACC  
CGCATTTTTCACAAACAAAACATACCAAAAAAATTCTTACTTCTACATGTTTCCTTTCTTATTATT  
ACAAAATTATTTTATAAATAGCATAACAAAATAAATACAATAAAAAAATAAACAAAATCCAGATCC  
CCCGGGCTGCAGGAATTCGATGTCGACTTGATATCTTCAAAGTATGGATTAATTATTTCAAATTAT  
TAGAAGGTAATTAATCTGCATAAATTCAAACCTATAAAAAATAAAACATTAATAATTAATCAACCTT  
ATTGAAGCATCAAAATCTGAATCTCTAGAAAGACTGATTCTGATTGGATAATTTTTCGGCGCTAAG  
GATTTTGGATTAAAGAAAATTAGATTTAATTATTAATCATGATTTGAATAGGATAGCAAGAATATT  
TGTTTGGTTTAAAAGGAAAGCGGGTAATTATCAAAAATTTATAAATAATTTTAAAACAATAAATA  
GAAAACAATAAGATTATAAAAACTTACAAAATGATTGAACAAGATGGTTTACACGCTGGTTCT  
CCCGCCGCTTGGGTCGAAAGACTTTTTCGGTTATGACTGGGCTCAACAAACCATCGGTTGCTCTGAT  
GCCGCCGCTTCCGTCTTTCTGCTCAAGGTCGTCCTGTTCTTTTCGTCAAGACCGACCTTCTGGT  
GCCCTTAATGAACTTCAAGATGAAGCTGCCCGTCTTTCTTGGCTTGCCACCACCGGTGTTCCCTGC  
GCTGCTGTCCTTGACGTTGTCACTGAAGCCGGTAGAGACTGGCTTCTTTTAGGTGAAGTCCCGGT  
CGAGATCTTCTTTCTTCTCACCTTGCTCCTGCGGAAAAAGTTTCTATCATGGCTGATGCTATGCGT  
CGTCTTCATACCCTTGATCCCGCTACCTGCCCTTTCGACCACCAAGCCAAACATCGTATCGAACGT  
GCTCGTACTCGTATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAAGATGATCTTGACGAAGAACATCAAGGTCTT  
GCCCTGCCGAACTTTTCGCCAGACTTAAGGCCGTATGCCCGACGGTGAAGATCTTGTGCTCACC  
CATGGTGAATGCTTACCCAATATCATGGTTGAAAATGGTCGTTTTTCTGGTTTTCATCGACTGT  
GGTCGCTTGGTGTGCGCGACCGTTATCAAGATATTGCCTTAGCTACCCGTGATATCGCTGAAGAA  
CTTGGTGGTGAATGGGCTGACCGTTTTCTTGTCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTCTCAACGT  
ATCGCCTTCTATCGTCTTCTTGACGAATTCTTCTGAGATCCTTAAATTAATAATTAATATATATT  
TACAACTTTTCATATAAAAAATAAATATATTATATAAAATTAATTTTTAGTGTATTATATTAACATTA  
AAGCACCAAAAAACGTGTTAATATACTACTATAAAAAATAAATTTATTCCAAATTGACTAAAATCA  
TTATTTTACAACCTCATTTGTATATATATTTTATGTCAATTATTTTTTTTAACTTTCTAAAAAAA  
AATTCCTCTTCACATACATGTTAGCTCTTAAAAATTTGTCTGCAAATCCAATAATAATATTTTTTT  
TTGCCATTAAATTTTCAAATTTTTACTGGAAAAATGCAGCCCGGGGATCAGACAATTTATTTCTA  
AAAAATATTTAAAATAAAAAATAAAGGGTTTTGAATAACTCCTTTAATTTAAATACACATTTT  
TAAATTTTTTTTAGCTCTTTAAATATTCATAAAAAATAAAAAATACTAACTAAAATAAATAAAAA  
GATAATAATGATTAAAGGTATAATACTGAATAAGAAAAACATAATAGAGTACTTATTTTTTATAT  
CACTATTTTTAATATCTTGAAAGCAAACTTTTTTATATATCTTAAAATATATTGTATCGTTTATT  
CAATTATTTCTTTAAATTTCAAATATATTGATAAAAAAGATGACATGTTTTTTAAAGAAAACATG  
AAATATAAAATAGATAAATATCAATTATTTTATTTATTAATATATAAGCTGCTCAAACATAGCT  
CATTCAATTATAATATGTGAATCATTAAATTTCAAATATTACTCATTATTTAGGCTATCATT  
TATTTTTTATTTTCAATTATCCGTTTCTATTATTTTTTAATATTAAGTTGTGATTCTTGAATTTTG  
TGTCATGAATTATTTGTAAATCTTTTTATTTCTGATAAAAAATAAATTTGATTGACTCATGATTT

AAATCATGAGTCAACCTAACTAATTTTCAAATTTCTTCTATTCTAAAATATAGATGTGATTCTTGA  
ATCTCTCTTGAATATAAAGTAATTTTTTATATTTCTGATATAATTCTTAGCTACGTGATTCACGAT  
TTATGCAATGATCCATATAAAATAATGTAAATAGTGTATATATATATATTCGTCTTTTTTATTCTT  
TATATAATTTAAAAAAATTAAAAAAATTAATAAAGCTCTAATAAAAATAATAATACTAACT  
TAAACATCCCGGGGGATCCGGATTACTAAAATTAAGAAATAGGTAAAGTTATTAGCGAAAACCTCA  
GAAATATTCCTGATTTCCCTTAACCTGGTATTATCTTTAAAGATATTGCTCCTCTCCTCTCTAATC  
CTGCCATTTTTAAGCGTATTACTGATGCTTTTGTAATTGCTTTGAAGGACATTGATTTTGATAAAA  
TTGTTATCTTAGAATCTAGAGGTTTTATTTTTGGAACCGCTATTGGTTTACAAATGGGAAAGGGAT  
TAATTTAATCAGAAAGAAAGGCAAACCTACCTGGTAAGGTTGAATAATTCTCATTTCGACTTAGAAT  
ACGGTAAGGATGTTTTTCAAAGTCAAGTGATGCTTTAGCTAAAGGTGAAAAGTTGTTATTGTTG  
ATGATATTCTAGCTACTGGTGGAACTGCTGATGCAGCTTGCAGATTAGTTGAAAAGGTAGGAGGAG  
TAGTATAAGCTGTTATGTTCTTTACCAAATTAAGGATCTTAAGGGCGAAGAAAGATTATCTAAAT  
ACAAGGTTATTAATCTTCATATTGAATGGATCCGTAAGTAACGGATATGCAAAAAGtaacaatt  
ttaggcttttataaaaaataggaagcaggccggcggTAGATAAAAAGAAGAATTCAAAGGCTGCAGC  
ATTCAATATGAAGATTAATAACCTTGTATTTAGATAATCTTTCTTCGCCCTTAAGATCCTTAATTT  
GGTAAAGGAACATAACAGCTTATACTACTCCTCTACCTTTTTCAACTAATCTGCAAGCTGCATCAG  
CAGTTCACCAGTAGCTAGAATATCATCAACAATAACAACTTTTTCACCTTAGCTAAAGCATCAC  
TTTGAATTTCAAAAACATCCTTACCGTATTCTAAGTCGAATGAGAATTATTCAACCTTACCAGGTA  
GTTTGCCTTTCTTTCTGATTAATAATTAATCCCTTTCCCATTTGTAAACCAATAGCGGTTCCAAAA  
TAAAACCTCTAGATTCTAAGATAACAATTTTATCAAAATCAATGTCTTCAAAGCAATTACAAAAG  
CATCAGTAATACGCTTAAAAATGGCAGGATTAGAGAGGAGAGGAGCAATATCTTTAAAGATAATAC  
CAGGTTAAGGGAAATCAGGAATATTTCTGAAGTTTTCGCTAATAACTTTACCTATTTCTTAATTTT  
AGTAATCCCTGCAGGCGAACTGAATCGGTCAGCTAAACCAACCAATCAACATAATAAACTTTATTA  
TTTTTACTTAAGCATCTTACTGTTGTTGTAATAGTAGAGAAAGAAATACCCAATTAACCTTCATTCA  
CATAACATTAATATCTATAAACATCTTTTTTCTCACATATATACAACCTCTCTAAATCAACAAATAA  
CTTTTTAAAAATAATGGATATATATTAACAAAATAATATATCTCTTTTTTACAAAATAGTTCTTATA  
TAAATACGTATTCTGCACTCACCCGCATTTTTTCACAACAAAAACATACCAAAAAAATCTTACTTC  
TACATGTTTCCTTTCTTATTATTACAAAATTATTTTATAAATAGCATACAAAAATAAATACAATAA  
AAAAATAAACAAAATCCTTTTTTTATTTTGAATTATTTAAACAAATATTTTCAATCAATCAGTCAG  
TCAGCATAATATTAAGCAACAAAACAAACCAAGTTGTTTTTATAGTTTTTTAATTGCTTTTCAG  
TACTATAAATAAATTTGTTATTACTTCAAGATTGATAAACTTCTTTTTTTAAATTAATATCTATGA  
ATGAATAAATAAGTTGATATCTCTTTTTTAACTTGTTTTCTCTCTTTTACTTACTTGCCAATTTTT  
TTTTTAAATTAAGAAATATCTTTTTTATTTTTCAAACAAAATTTATTTTTCCCTTGATACAAA  
ACCCCTTTATTTAAATAAAATCTTTATGCCATCAATAGCCACATCTTCTCGAGGGGGGGCCcat  
gcattcattcaatcaatcaatcacactcagctttaaataatfttaaaaagatattccgcaaatttta  
gaatttaagttggtaaaaaagttatcaaatttgcaatatttctattgatttatatatttatcaa  
tcagtcaatgctgacgatgtaatttaaaagatgtggtgttttttctagattatttaactaattatt  
aatatttaagaaatfttttaaaaatftttgaaatttattaaaagtttaaaatttgttaaaaaataatt  
aaaaattaaagtaaaagaaaaataaaaatgatagacaattagaatataggaagtgacgacgaat  
tagatatttatgaaccaggaacttcaggcgtatgaaaatattttatatagtttgattgtaaatagg  
ttaaataagatatagcttaaatcttttcaattctaaaataggaaatcattagctacttgaaaagaa  
actttaatacattaaatgattaggttttaggagctagaaaaaagctatcctcaacatttatgaaa  
aactatctgaaagctaatttgctatttctggaagtaaaaattatctctttagaaactcaaatcaag  
ctaaattatttcattttttgcaaatatttaagtggtttctcaatagatcatggttaagttcaataa

ataattattataatgtttttcggatagagcagagaagattagagaataactctatcaaaattatttc  
tgagtaatTTTTattaattttaattgctatgttttttaataaatgttttgaattcagattattgt  
ccaaatgtgatgatatgtaacctttcttaccttatgtgatatctattgtttgtgagagagttaatt  
gccaagaccGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTT  
ACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCAACCTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTT  
CGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAA  
TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGT  
GACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCTTTCTCGCCAC  
GTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTT  
ACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATA  
GACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGG  
AACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCCGCCTA  
TTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTAC  
AATTTAG

## References

1. Akematsu, T.; Fukuda, Y.; Garg, J.; Fillingham, J. S.; Pearlman, R. E.; Loidl, J. Post-meiotic DNA double-strand breaks occur in *Tetrahymena*, and require Topoisomerase II and Spo11. *eLife* **2017**, *6*, e26176, doi:10.7554/eLife.26176.