



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 Sall–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

GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGA
GTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTC
ACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCG
AACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGA
GCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCG
GTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTA

CGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACACTGCGGCCA
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATC
ATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACA
CCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAG
CTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGG
CCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCA
TTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGG
CAACTATGGATGAACGAAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC
TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACCTTCATTTTTTAATTTAAAGGA
TCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACT
GAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCT
GCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAA
CTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGT
TACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTAC
CGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGA
CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGG
GAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGT
GATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGG
CCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA
TTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA
GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATTAAT
GCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTT
AGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTG
TGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCGCGCAATTAACC
CTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTCACGCTAAGGAGCAGACCTCGAAAATGAAGAAGAGTAG
CTGACCAAAAAAAGAGTTCTGAATGAAGGAGAACCAAAAAGTATAGCTTAAAATAAAAAATAACA
AAAGAAATAAATGATGAAGATCTTGAATATAATTTGTTTAAGGATGAAAAGCCAAAGTAAAAAAG
CCTCCTGCTACTGCTGCTTCAAATCAAAGAAAGTGATAAATAAAAAATGAAGATGATGATGAAGAC
TTTAATGATGATTTTATCAGAAGATGAAAAACCAAAGAAGAAAAGGTCCAATTAACTTAATCAAAA
ACCAAAAAATAGAAAAATGAAAGTGAAGATGAAGATTTTAATAGCAAAGAACTTGATGAAAAACCT
AAATAAAGAAAATCTAATTCTAACTCATAAAAAGCAAGGAAACCTAAGAAAATGAGTGATGATGAG
GGAGAAGAAGATGATGATTTTATCATACCTGATGAGGATTCTGATGAAGAAAAACCTAAGAAGAGA
AAGAGTAATGCAACAAAACCTAAAAATAATAAAGAAGATAAAGATAATCAAAAGTCTAAAAAAAAT
AGAACCGATTCACCAAAACCTAAAATAACAAATTCAGAAGATGAAGATGTTGCTGAATTAAAGCAA
AATGAAGTTTTATAAACCAGAACAAGAGGTAAAAGAAACCAATTCCTCGTAAATGATCATTGAT
AATTCTGATGAAGATTTCACTGAAGAGGAAGAATTTGGAAATAGCAAAAAGAAATCAGTAAATAGT
AAAAGCCAAAAAAAATAAAAAGACGATGAATCATCGGATGAATGCTATTTCCGGATCCATGGTTTCT
AAGGGTGAAGAACTTTTCACTGGTGTGTTCCCTATTTTAGTTGAATTAGATGGTGATGTTAATGGT
CACAAATTTTCTGTTTCAGGTGAAGGTGAAGGTGATGCTACTTATGGTAAGTTAACTCTTAAATTT
ATTTGTACTACTGGTAAGTTACCTGTTCCCTGGCCTACTTTAGTTACTACTCTTACTTATGGTGTT
CAATGCTTTTCAAGATACCCGTGATCACATGAAGCAACATGATTTCTTTAAGTCTGCTATGCCTGAA
GGTTATGTTCAAGAAAGAACTATTTTCTTTAAAGATGATGGTAATTATAAACTAGAGCTGAAGTT

AAATTTGAAGGTGATACTTTAGTTAATAGAATTGAACTTAAAGGTATTGATTTCAGGAAGATGGT
AATATTCTTGGTCATAAACTTGAATATAATTACAATTCTCATAATGTTTACATTATGGCTGATAAG
CAAAAGAATGGTATTAAAGTTAATTTTAAATTAGACATAATATTGAAGATGGTTCAGTTCAATTA
GCTGATCATTATCAACAAAATACTCCTATTGGTGATGGTCCTGTTCTTTTACCTGATAATCACTAC
TTATCTACTCAATCAGCTTTATCTAAAGATCCTAATGAAAAAGAGATCATATGGTTCTTTTAGAA
TTTGTTACTGCTGCTGGTATTACTCTTGGTATGGATGAATTATATAAGACTAGTTGAGCGAACTGA
ATCGGTCAGCTAAACCAACCAATCAACATAATAAACTTTATTATTTTTTACTTTAAGCATCTTACTGT
TGTTGTAATAGTAGAGAAAGAAATACCCAATTAACTTCATTACATAACATTAATATCTATAAACA
TCTTTTTTCTCACATATATACAACCTCTCTAAATCAACAAATAACTTTTTTAAAAATAATGGATATAT
ATTAACAAAATAATATATCTCTTTTTTACAAAATAGTTCTTATATAAATACGTATTCTGCACTCACC
CGCATTTTTTCACAACAAAACATACCAAAAAAATTCTTACTTCTACATGTTTCCTTTCTTATTATT
ACAAAATTATTTTTATAAATAGCATACAAAATAAATACAATAAAAAAATAAACAAAATCCAGATCC
CCCGGGCTGCAGGAATTCGATGTCGACTTGATATCTTCAAAGTATGGATTAATTATTTCAAATTAT
TAGAAGGTAATTAATCTGCATAAATTCAAACCTATAAAAAATAAAACATTAAAATTAATTCAACCTT
ATTGAAGCATCAAAATCTGAATCTCTAGAAAGACTGATTCTGATTGGATAATTTTTTCGGCGCTAAG
GATTTTGGATTAAAGAAAATTAGATTTAATTATTAATCATGATTGAATAGGATAGCAAGAATATT
TGTTTGGTTTAAAGGGAAAGCGGGTAATTATCAAAAATTTATAAATAATTTTAAACAATAAATA
GAAAAACAAATAAGATTATAAAAACTTACAAAATGATTGAACAAGATGGTTTACACGCTGGTTCT
CCCGCCGCTTGGGTCGAAAGACTTTTTCGGTATGACTGGGCTCAACAAACCATCGGTTGCTCTGAT
GCCGCCGTCTTCCGTCTTTCTGCTCAAGGTCGTCCTGTTCTTTTCGTCAAGACCGACCTTTCTGGT
GCCCTTAATGAACTTCAAGATGAAGCTGCCCGTCTTTCTTGGCTTGCCACCACCGGTGTTCCCTTGC
GCTGCTGTCCTTGACGTTGTCACTGAAGCCGGTAGAGACTGGCTTCTTTTAGGTGAAGTCCCCGGT
CGAGATCTTCTTTCTTCTCACCTTGCTCCTGCCGAAAAAGTTTCTATCATGGCTGATGCTATGCGT
CGTCTTCATACCCTTGATCCCGCTACCTGCCCTTTCGACCACCAAGCCAAACATCGTATCGAACGT
GCTCGTACTCGTATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAAGATGATCTTGACGAAGAACATCAAGGTCTT
GCCCCTGCCGAACTTTTCGCCAGACTTAAGGCCCGTATGCCCGACGGTGAAGATCTTGTCGTCACC
CATGGTGAATGACCTGCTTACCCAATATCATGGTTGAAAATGGTCGTTTTTCTGGTTTCATCGACTGT
GGTCGTCTTGGTGTGCGCGACCGTTATCAAGATATTGCCTTAGCTACCCGTGATATCGCTGAAGAA
CTTGGTGGTGAATGGGCTGACCGTTTTCTTGTCTTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTCTCAACGT
ATCGCCTTCTATCGTCTTCTTGACGAATTCTTCTGAGATCCTTAAATTAAAAATTCAATATATATT
TACAACTTTTCATATAAAAAATAATATATTATATAAAATTAATTTTTTAGTGTATTATATTAACATTA
AAGCACCAAAAAACGTGTTAATATACTACTATAAAATATAATTTATTTCAAATTGACTAAAATCA
TTATTTTACAACCTCATTTGTATATATATTTTATGTCAATTATTTTTTTTAACTTTCTAAAAAAA
AATTCCTCTTCACATACATGTTAGCTCTTAAAAATTTGTCTGCAAATCCAATAATAATATTTTTTT
TTGCCATTAAATTTTCAAATTTTTTACTGGAAAAATGCAGCCCCGGGGGATCAGACAATTTATTTCTA
AAAAATATTTAAAAATAAAAAATAAAGGGTTTTGAATAACTCCTTTAATTTAAATACACATTTT
TAAATTTTTTTTAGCTCTTTAAATATTCATAAAAAATAAAAAATACTAACTAAAAATAAATAAAAA
GATAATAATGATTAAAGGTATAATACTGAATAAGAAAAACATAATAGAGTACTTATTTTTTTATAT
CACTATTTTTTAATATCTTGAAAGCAAACTTTTTTTATATATCTTAAATATATTTGTATCGTTTATT
CAATTATTTTCTTTAAATTTCAAATATATTGATAAAAAAGATGACATGTTTTTTTAAAGAAAACATG
AAATATAAAATAGATAAATATCAATTATTTTATTTATTAATATATAAGCTGCTCAAAACATAGCT
CATTCAATTAATAATATGTGAATCATTAATTTTCAAATATTAATCATTATTTAGGCTATCATT
TATTTTTTTATTTTCAATTATCCGTTTCTATTATATTTTAAATATTAAGTTGTGATTCTTGAATTTTG
TGTCATGAATTATTTGTAAATCTTTTTATTTCTGATAAAAAATAAATTGATTGACTCATGATTT

AAATCATGAGTCAACCTAACTAATTTTCAAATTCCTTCTATTCTAAAATATAGATGTGATTCTTGA
ATCTCTCTTGAATATAAAGTAATTTTTTATATTTCTGATATAATTCTTAGCTACGTGATTCACGAT
TTATGCAATGATCCATATAAAATAATGTAAATAGTGTATATATATATATTCGTCTTTTTTTATTCTT
TATATAATTTAAAAAAATTAAAAAAATTTAATAAAGCTCTAATAAAATAAATAATAACTAACT
TAAACATCCCGGGGGATCCGGATTACTAAAATTAAGAAATAGGTAAAGTTATTAGCGAAAACCTTCA
GAAATATTCCTGATTTCCCTTAACCTGGTATTATCTTTAAAGATATTGCTCCTCTCCTCTCTAATC
CTGCCATTTTTAAGCGTATTACTGATGCTTTTGTAATTGCTTTGAAGGACATTGATTTTGATAAAA
TTGTTATCTTAGAATCTAGAGGTTTTATTTTTGGAACCGCTATTGGTTTACAAATGGGAAAGGGAT
TAATTTTAATCAGAAAGAAAGGCAAACCTACCTGGTAAGGTTGAATAATTCTCATTCGACTTAGAAT
ACGGTAAGGATGTTTTTGAAATTCAAAGTGATGCTTTAGCTAAAGGTGAAAAGTTGTTATTGTTG
ATGATATTCTAGCTACTGGTGGAACCTGCTGATGCAGCTTGCAGATTAGTTGAAAAGGTAGGAGGAG
TAGTATAAGCTGTTATGTTCTTTACCAAATTAAGGATCTTAAGGGCGAAGAAAGATTATCTAAAT
ACAAGGTTATTAATCTTCATATTGAATGGATCCGTAAGTAACGGATATGCAAAAGtaaacaatt
ttaggcttttataaaaaataggaagcaggccggcgTAGATAAAAGAAGAATTCAAAGGCTGCAGC
ATTCAATATGAAGATTAATAACCTTGTATTTAGATAATCTTTCTTCGCCCTTAAGATCCTTAATTT
GGTAAAGGAACATAACAGCTTATACTACTCCTCTACCTTTTCAACTAATCTGCAAGCTGCATCAG
CAGTTCACCAGTAGCTAGAATATCATCAACAATAACAACCTTTTTCACCTTTAGCTAAAGCATCAC
TTTGAATTTCAAAAACATCCTTACCGTATTCTAAGTCGAATGAGAATTATTCAACCTTACCAGGTA
GTTTGCCTTTCTTTCTGATTAAATTAATCCCTTTCCCATTTGTAAACCAATAGCGGTTCCAAAA
TAAAACCTCTAGATTCTAAGATAACAATTTTATCAAAATCAATGTCCTTCAAAGCAATTACAAAAG
CATCAGTAATACGCTTAAAAATGGCAGGATTAGAGAGGAGAGGAGCAATATCTTTAAAGATAATAC
CAGGTTAAGGGAAATCAGGAATATTTCTGAAGTTTTCGCTAATAACTTTACCTATTTCTTAATTTT
AGTAATCCCTGCAGGCGAACTGAATCGGTCAGCTAAACCAACCAATCAACATAATAAACTTTATTA
TTTTTACTTAAGCATCTTACTGTTGTTGTAATAGTAGAGAAAGAAATACCCAATTAACCTTCATTCA
CATAACATTAATATCTATAAACATCTTTTTTCTCACATATATACAACCTCTCTAAATCAACAAATAA
CTTTTTTAAAAATAATGGATATATATTAACAAAATAATATATCTCTTTTTTACAAAATAGTTCTTATA
TAAATACGTATTCTGCACTCACCCGCATTTTTCACAACAAAAACATACCAAAAAAATTCTTACTTC
TACATGTTTCCTTTCTTATTATTACAAAATTATTTTATAAATAGCATACAAAAATAAATACAATAA
AAAAATAAACAAAAATCCTTTTTTTATTTTGAATTATTTTAAACAAATATTTTCAATCAATCAGTCAG
TCAGCATAATATTAAAGCAACAAACAAACCAAGTTGTTTTTATAGTTTTTTAATTGCTTTTCAG
TACTATAAATAAATTTGTTATTACTTCAAGATTGATAAACTTCTTTTTTTAAATTAAATATCTATGA
ATGAATAAATAAGTTGATATCTCTTTTTTAACCTGTTTTCTCTTTTACTTACTTGCCAATTTTTT
TTTTTAAATTAAAGAAATATCTTTTTATTTTTCAAAAACAAAATTTATTTTCCCTTGTATACAAA
ACCCCTTTATTTAAATAAAATCTTTATGCCCATCAATAGCCACATCTTCTCGAGGGGGGGGCCcat
gcattcattcaatcaatcaatcacactcagctttaataatttaaaaagatatccgcaaatttta
gaatttaagttggtaaaaaagttatcaaatttgcaatatttctattgatttatatatttatcaa
tcagtcaatgctgacgatgtaatttaaaagatgtgttggttttctagattatttaactaattatt
aatatttaagaaatttttaaaaattttgaaatttattaaaagtttaaaatttggttaaaaaataatt
aaaaaattaaagtaaaagaaaaataaaaaatgatagacaattagaatataggaagtgcgacgaat
tagatatattatgaaccaggaacttcaggcgatgaaaatattttatatagtttgatttgtaatagg
ttaaataagatatagcttaaatcttttcaattctaaaataggaaatcattagctacttgaaaagaa
actttaatacattaaatgattaggttttaggagctagaaaaaagctatcctcaacatttatgaaa
aactatctgaaagctaatttgctatttctggaagtaaaaattatctctttagaaactcaaatcaag
ctaaattatttcatttttgcaaataatttaagtggtttctcaatagatcatggttaagttcaataa

ataattattataatgttttttcggatagagcagagaagattagagaataactctatcaaaattatttc
tgagtaatttttattaattttaattgctatgttttttaataaatgttttgaattcagattattgt
ccaaatgtgatgatatgtaacctttcttaccttatgtgatatctattgtttgtgagagagttaatt
gccaagaccGGTACCCAATTGCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTT
ACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACCCAACCTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTT
CGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAA
TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGT
GACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTCTCGCCAC
GTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTT
ACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATA
GACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGG
AACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTA
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.