

Supplementary Material

An Engineered cIMagR Tetramer with Enhanced Magnetism for Magnetic Manipulation

Peng Zhang, Xiujuan Zhou, Shenting Zhang, Peilin Yang, Zhu-An Xu, Xin Zhang, Junfeng Wang, Tiantian Cai, Yuebin Zhang, Can Xie

Table S1. Sequence information of all designed single-chain MagR variants

No.	Name	Simplified structure	Amino Acid Sequence
1	SctMagR	(GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GGGS) ₃ - (MagR-D25) - (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	GGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAALTLTPSA VQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLE YTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAALTLTPSA VQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLE YTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI*
2	E1-SCT	(GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GGGS) ₃ - (MagR-D25) - (GGGS) ₃ - (MagR-D25) - (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	GGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAAL TLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGL SYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLT LLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESF NI GGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLK DKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDS DEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLS SEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAAL TLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGL SYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLT LLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESF NI*

3	E2-SCT	(GGGS)₂- (MagR-D25)- (GGGS)₂- (MagR-D25)- (GGGS)₄- (MagR-D25)- (GGGS)₂- (MagR-D25)	GGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAALTLTPSA VQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLE YTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKD KPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDS EEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSS EFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAALT LTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGL SYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI *
4	E3-SCT	(GGGS)₂- (MagR-D25)- (GGGS)₂- (MagR-D25)- (GGGS)₃- (MagR-D25)- (GGGS)₃- (MagR-D25)	GGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSAALTLTPSA VQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLE YTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAAL TLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI NI*
5	EA-SCT	(GGGS)₂- (MagR-D25)- (GGGS)₃- (MagR-D25)- (GGGS)₄- (MagR-D25)- (GGGS)₃- (MagR-D25)	GGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSAAL TLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGSGGGSGGGSAALTLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI

			KGTCGCGESFNI*
6	SCD	(GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR-D25)	GGGSGGGGSA ALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRFIEKKAQLTLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKPAA LTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQL TLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGES FNI*
7	nSCT	(GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR-D25) - (AGDRTGPLG EQKPLEDFQ) - (MagR-D25) - (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR-D25)	GGGSGGGGSA ALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRFIEKKAQLTLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKPAA LTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQL TLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGES FNI AGDRTGPLGEQKPLEDFQ AALTTPSAVQKIK ELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKS KGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEMMDYV EDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQP SGTYLPIPKP AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVG KVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQD GVRFIEKKAQLTLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFNNP NIKGTCGCGESFNI*
8	S1F	(MagR-FL) - (GGGS) ₂ - (MagR-D25) - (GGGS) ₃ - (MagR-D25) - (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEM YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSG GGGSA ALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG RTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFI EKKAQLTLLGTEMMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGSGGGGSA ALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRFIEKKAQLTLLGTEM YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSG GGGSA ALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG RTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRFI

			EKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI*
9	S2F	(MagR-FL)- (GGGS) ₂ - (MagR-D25)- (GGGS) ₁ - (MagR-FL)- (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFI EKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS MASSASSVVRATVRAVSKRKI QATRAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFI EKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS AALTTPSAVQKIKEL LKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKG DSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVED KLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI*
10	E1F	(MagR-FL)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)- (GGGS) ₄ - (MagR-D25)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVG KVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQD GVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNN PNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTR GCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEK KAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI GGGSGGGS AALTTPSAVQKIK ELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKS KGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYV EDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI*

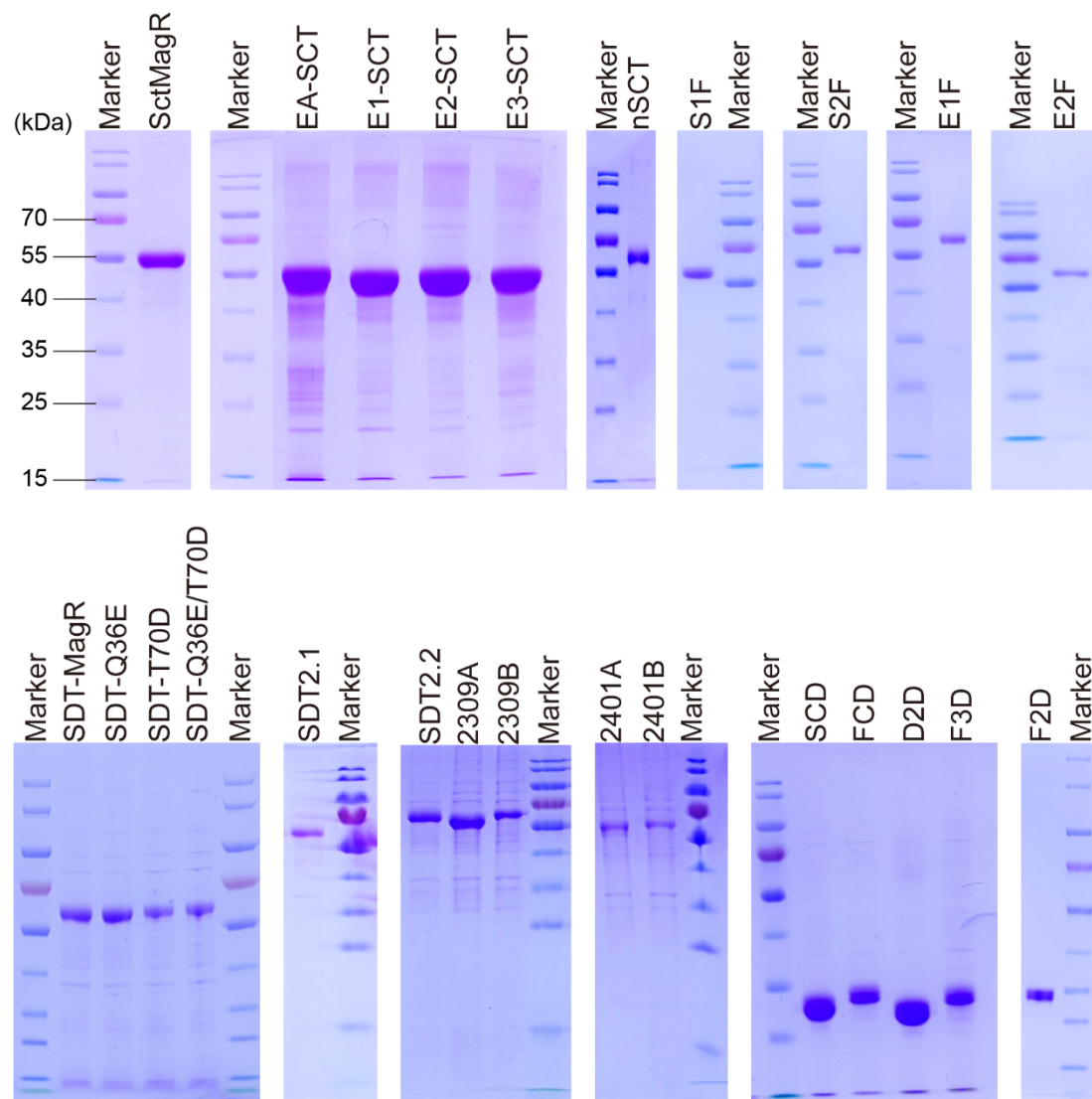
11	E2F	(MagR-FL)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)- (GGGS) ₄ - (MagR-FL)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEMD YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSG GGGSGGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVG VKVGVTRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQD GVRVFIEKKAQLTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFNN PNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGGS MASSASSV RATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAVQKIKELLK KPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDS DEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEMDYVEDKLS SEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGGS GGGSA AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGVKVGV RTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGV RVFIE KKAQLTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCG CGESFNI*
12	F2D	(MagR-FL)- (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEMD YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSG GGGSA AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGVKVGV RTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGV RVFI EKKAQLTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGT CGCGESFNI*
13	F3D	(MagR-FL)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEMD YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGSG GGGSGGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVG VKVGVTRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQD GVRVFIEKKAQLTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFNN PNIKGTCGCGESFNI*
14	D2D	(GGGS) ₂ - (MagR-D25)- (GGGS) ₂ - (MagR-D25)	GGGSGGGGS AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGV RVFIEKKAQLTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGSGGGGS AALTTPSA VQKIKELLKDKPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLE YTKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI*
15	FCD	(MagR-FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGVKVGVTRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEMD YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQ QPSGTYLPIPKPA AALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV

			GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI*
16	SDT	(GGGS) ₂ - (MagR-D25)- (GSGPQQPS GTYLPIKP)- (MagR-D25)- (GGGS) ₃ - (MagR-D25)- (GSGPQQPS GTYLPIKP)- (MagR-D25)	GGGSGGGSAAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQPSGTYLPIKP PAA LTLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQL TLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGES FNI GGGSGGGS AAALTTPSAVQKIKELL KDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGD SDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKL SSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQPSGTYLPIKP AAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRV FIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKG TCGCGESFNI*
17	SDT- Q36E	(GGGS) ₂ - (MagR ^{Q36E} - D25)- (GSGPQQPS GTYLPIKP)- (MagR ^{Q36E} - D25)- (GGGS) ₃ - (MagR ^{Q36E} - D25)- (GSGPQQPS GTYLPIKP)- (MagR ^{Q36E} - D25)	GGGSGGGSAAALTTPSAVEKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQPSGTYLPIKP PAA LTLTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQL TLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGES FNI GGGSGGGS AAALTTPSAVEKIKELL KDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGD SDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKL SSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQPSGTYLPIKP AAALTTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRV FIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKG TCGCGESFNI*
18	SDT- T70D	(GGGS) ₂ - (MagR ^{T70D} - D25)- (GSGPQQPS GTYLPIKP)- (MagR ^{T70D} - D25)- (GGGS) ₃ - (MagR ^{T70D} - D25)-	GGGSGGGSAAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQPSGTYLPIKP PAA LTLTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQL TLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGES FNI GGGSGGGS AAALTTPSAVQKIKELL KDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYDKSKGD SDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKL

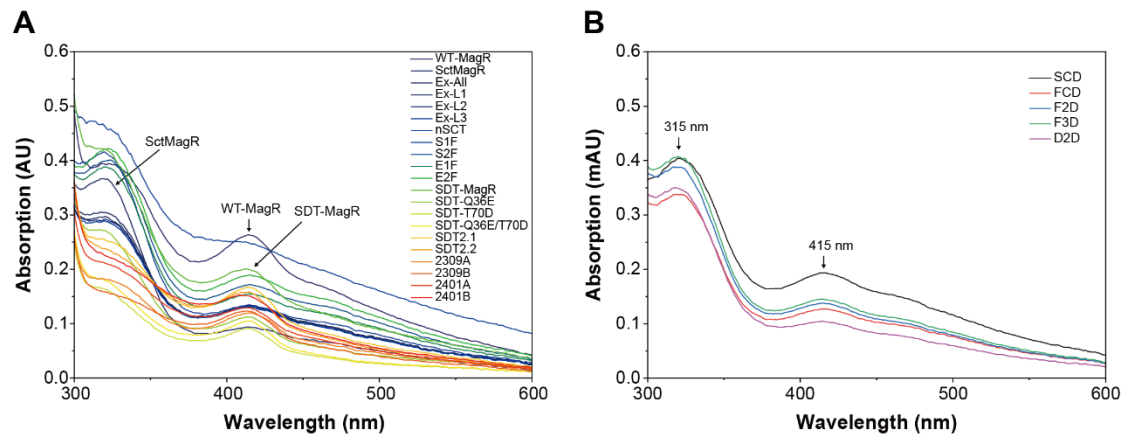
		(GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR ^{T70D} - D25)	SSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKP AAALTLTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKG TCGCGESFNI*
19	SDT- Q36E/T 70D	(GGGS) ₂ - (MagR ^{Q36E/T70} - D25)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR ^{Q36E/T70} - D25)- (GGGS) ₃ - (MagR ^{Q36E/T70} - D25)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR ^{Q36E/T70} - D25)	GGGS GGGSAAALTLTTPSAVEKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQ DGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKP AA LTLTTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQL TLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGES FNI GGGS GGGS GGGS AAALTLTTPSAVEKIKELL KDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYDKSKGD SDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKL SSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKP AAALTLTTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVG VRTRGCNGLSYTLEYDKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKG TCGCGESFNI*
20	SDT2.1	(MagR ^{Q36E} - FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR ^{Q36E} - D25)- (GGGS) ₃ - (MagR ^{Q36E} - D25)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR ^{Q36E} - D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTLTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GSGPQQQPSGTYLPIPKP AAALTLTTPSAVEKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNI GGGS GGGS GGGS AAAL TLTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGL SYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGV RVFIEKKAQLT LLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESF NI GSGPQQQPSGTYLPIPKP AAALTLTTPSAVEKIKELL KDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGD SDEEVVQDGV RVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKL SSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI*

21	SDT2.2	(MagR^{Q36E}-FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{Q36E}-D25)- (GGGS)₁- (MagR^{Q36E}-FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{Q36E}-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQTLTGTEMD YVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNIGSGPQQ QPSGTYLPIPKPAALTTPSAVEKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQTLTGTEMDYVEDKLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFNIGGGSMASSASSVVRATV RAVSKRKIQATRAALTTPSAVEKIKELLKDKPEH VGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVV QDGVRVFIEKKAQTLTGTEMDYVEDKLSSEFVF NNPNIKGTCGCGESFNIGSGPQQQPSGTYLPIPKPA ALTTPSAVEKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGC NGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQ LTLLGTEMDYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGE SFNI*
22	2309A	(GGGS)₂- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)- (GGGS)₃- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)	GGGSGGGGSAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQPTLLGTEMDYVEDFLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFSIGSGPQQQPSGTYLPIPKPAA LTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQ TLLGTEMDYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESF SIGGGSGGGSGGGGSAALTTPSAVQKIKELLK DKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDS DEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEMDYVEDFLS SEFVFNNPNIKGTCGCGESFSIGSGPQQQPSGTYLP IPKPAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVR TRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIE KKAQPTLLGTEMDYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTC GCGESFSI*
23	2309B	(MagR^{L95P/K108 F/N131S}-FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)- (GGGS)₁- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-FL)- (GSGPQQQPS GTYLPIPKP)- (MagR^{L95P/K108 F/N131S}-D25)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV QKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEMD YVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFSIGSGPQQ QPSGTYLPIPKPAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQPTLLGTEMDYVEDFLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFSIGGGSMASSASSVVRATV AVSKRKIQATRAALTTPSAVQKIKELLKDKPEHV GVKVGVRTRGCNGLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQ DGVRVFIEKKAQPTLLGTEMDYVEDFLSSEFVFN NPNIKGTCGCGESFSIGSGPQQQPSGTYLPIPKPAA LTTPSAVQKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCN

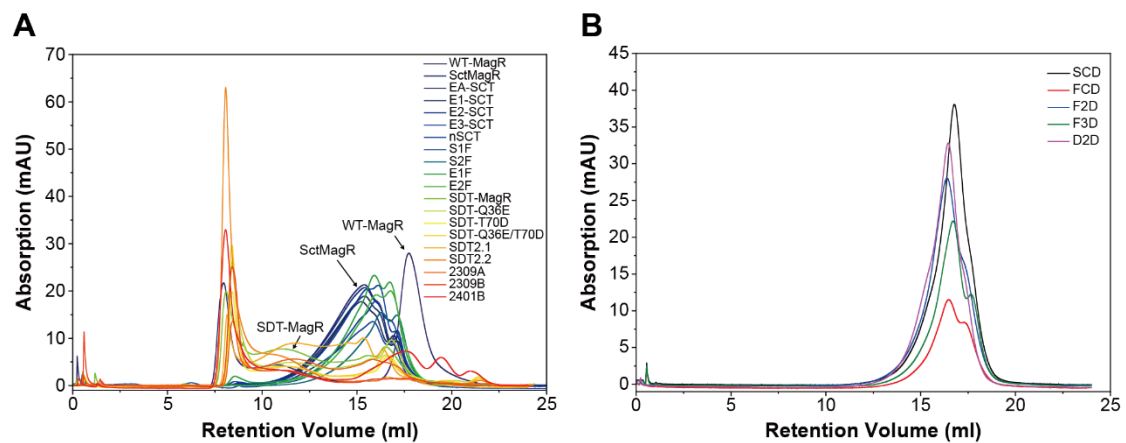
			GLSYTLEYTKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQP TLLGTEM DYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESF SI*
24	2401A	(MagR ^{Q36E} - FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E} - FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E} - FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E} - FL)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGS MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGS MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI GGGS MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQLTLLGTEM DYVEDKLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFNI*
25	2401B	(MagR ^{Q36E/L95P} /K108F/N131S- FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E/L95P} /K108F/N131S- FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E/L95P} /K108F/N131S- FL)- (GGGS) ₁ - (MagR ^{Q36E/L95P} /K108F/N131S-FL)	MASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAV EKIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEY TKSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEM DYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFSI GGGSM ASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAVE KIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYT KSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEM DYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFSI GGGSM ASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAVE KIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYT KSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEM DYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFSI GGGSM ASSASSVVRATVRAVSKRKIQATRAALTTPSAVE KIKELLKDKPEHVGKVGVRTRGCNGLSYTLEYT KSKGDSDEEVVQDGVRVFIEKKAQPTLLGTEM DYVEDFLSSEFVFNNPNIKGTCGCGESFSI*
Note: 1. MagR-D25 refers to a truncated variant of MagR lacking the N-terminal 25 amino acid residues; 2. MagR-FL refers to full-length MagR; 3. The amino acid sequence shown in red denotes the engineered intermolecular linker.			



Supplementary Figure 1. Representative SDS-PAGE analysis of affinity-purified 25 single-chain MagR variants (corresponding to Table 1), showing the purity of each construct. The same prestained protein molecular weight marker was used throughout (Thermo Fisher Scientific, #26616).



Supplementary Figure 2. Representative UV-vis absorption spectra of wild type MagR (WT-MagR) and 25 single-chain MagR variants (corresponding to Table 1). (a) Spectra of WT-MagR and 20 single-chain tetramers. The arrows indicate the UV-vis spectra of WT-MagR, SctMagR, and SDT-MagR, respectively. (b) Spectra of 5 single-chain dimers. All spectra were normalized to absorbance at 280 nm (A_{280}).



Supplementary Figure 3. Representative size-exclusion chromatography (SEC) profiles of wild type MagR (WT-MagR) and 25 single-chain MagR variants (corresponding to Table 1). (a) SEC profiles of WT-MagR and 19 single-chain tetramers (Construct 2401A was not analyzed by SEC due to insufficient expression yield). The arrows indicate the SEC profiles of WT-MagR, SctMagR, and SDT-MagR, respectively. (b) SEC profiles of 5 single-chain dimers. All runs were performed on a Superose 6 Increase 10/300 column (Cytiva, USA).