Barcodes, LacI CDS, Insulator, tetA, **YFP**, *Kan*, Ori,

ATATTTGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAGCCCGACAAAAAACCCCTCAAGACCCGTTTAGAGGCCCCAAGGGGTTATGCTAGTCTTCCC CATCGGTGAGCCCGGGCTGTCGGCGT NNTNNNANNTNNNANNTNNNANNTNNNANNTNNNANNATATGCCAGCAGGCCGGCCACGCTNNTNNNANNTNNNANNANNNANNTNNNANNTNNNANN

CGGTGGCCCGGGCGGCCGCACGATGCGTCCGGCGTAGAGG ATCTGCTCATGTTTGACAGCTTATCATCGATGCATAATGTGCCTGTCAAATGGACGAAGCAGGGATTCTGCAAACCCTATGCTACTCCCTCGAGCCGTCAATTGTCTGATTCGTTACCAATTATTTTTTCCTCCTGGATTA

TCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTTCACCAGTGAGACTGGCAACAGCTGATTGCCCTTCACCGCCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGCCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTTGATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTATCTTCGGTATCGTCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTGCGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTCAGCATTTGCATGGTTTGTTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGCAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCCAGTCGCGTACCGTCCTCATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTGCAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTCGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTCACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCAT

ATTCACCACCCTGAATTGACTCTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTCGATGGCGCGCCGCCATAAATCTCGGTACCAAATTCCAGAAAAGAGGCCTCCCGAAAGGGGGGCCTTTTTTCGTTTTGGTCCGAGCTGTTGACAATTAATCATCGGCTCGTATAATGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTAGCTGTCACCGGATGTGCTTTCCGGTCTGATGAGTCCGTGAGGACGAAACAGCCTCTACAAATAATTTTGTTTAATACTAGCCATCAAGGAGAGCTGCTAC

ATGAGTAGCAGTACGAAAATTGCGCTTGTCATCACCCTCCTGGATGCGATGGGGATCGGCTTGATCATGCCGGTACTGCCAACCCTTCTGCGCGAGTTCATTGCAAGCGAAGATATTGCCAACCATTTCGGGGTTCTGCTCGCACTGTACGCCTTAATGCAGGTCATCTTTGCTCCCTGGTTAGGCAAAATGTCAGACAGCTTTGGACGCCGTCCTGTTTTGCTGTTAAGCCTTATCGGAGCGAGCCTGGATTACCTTTTATTGGCCTTCTCCTCGGCACTGTGGATGCTTTATTTGGGTCGTTTGCTGAGTGGGATTACAGGCGCGACGGGTGCCGTGGCGGCGTCGGTGATTGCTGATACGACGTCCGCAAGTCAACGTGTGAAATTGTTCGGCTGGTTAGGAGCCTCCTTTGGCTTGGGCTTAATCGCTGGGCCAATTATTGGCGGGTTCGCCGGCGAAATCTCACCACATTCCCCTTTTTTCATCGCGGCATTACTCAACATTGTCACGTTCCTGGTGGTGATGTTCTGGTTCCGCGAAACGAAAAACACCCGCGATAACACGGATACAGAGGTGGGGGTTGAAACGCAATCGAACAGTGTGTACATCACGCTCTTCAAGACCATGCCCATCCTGCTCATCATCTACTTCTCCGCACAGTTGATTGGGCAAATCCCGGCCACAGTGTGGGTTTTGTTTACGGAAAACCGTTTCGGGTGGAACTCCATGATGGTGGGTTTCTCTCTGGCTGGATTGGGACTTCTGCATAGTGTTTTCCAGGCTTTCGTCGCTGGCCGTATTGCCACAAAGTGGGGAGAAAAAACCGCTGTATTGCTTGGTTTTATCGCAGATAGCTCTGCGTTTGCCTTCTTGGCATTTATTAGCGAAGGCTGGCTCGTGTTTCCGGTATTGATTCTGTTGGCTGGGGGCGGTATCGCATTACCCGCGCTGCAGGGAGTTATGTCTATTCAAACCAAATCACACCAACAAGGAGCGCTGCAAGGCTTACTTGTGTCCCTGACCAACGCAACCGGAGTCATCGGGCCACTTCTGTTCGCTGTAATTTATAACCACTCACTGCCAATTTGGGATGGATGGATCTGGATCATCGGTCTTGCCTTCTACTGCATCATCATTTTGCTGTCAATGACATTCATGCTGACGCCTCAAGCCCAAGGATCTAAACAAGAAACGAGTGCC

**TAACGGCGTAAGGAGGTATTTTTATGGTGTCAAAGGGTGAGGAACTGTTTACGGGGATCGTCCCGATTCTTGTTGAACTTGACGGCGACGTAAATGGTCACAAGTTTTCCGTATCGGGCGAAGGTGAGGGCGATGCGACTTATGGGAAATTAACACTGAAATTCATTTGCACCACCGGAAAACTGCCCGTTCCTTGGCCTACTCTGGTAACCACGTTCGGATATGGTTTACAGTGTTTTGCTCGCTACCCGGACCATATGAAACTGCACGATTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGGAGGGCTACGTGCAGGAACGTACAATCTTCTTCAAAGACGATGGTAATTACAAGACCCGTGCTGAAGTTAAATTTGAGGGGGATACTTTAGTCAATCGTATTGAATTGAAGGGGATTGACTTTAAGGAAGACGGTAATATCCTTGGCCACAAGCTTGAATACAACTACAATAGTCACAATGTGTATATTATGGCTGATAAACAGAAGAATGGCATTAAGGTTAACTTTAAGATCCGTCACAATATCGAAGACGGATCTGTCCAGCTTGCTGACCATTATCAGCAAAATACGCCGATCGGTGACGGTCCGGTTTTGTTGCCGGACAACCATTACCTGTCCTATCAGTCGGCGTTAAGTAAAGATCCGAATGAGAAACGCGACCATATGGTTTTGTTGGAGTTTGTGACGGCTGCTGGCATTACGCTTGGGATGGACGAGCTGTATAAATAA**

*AAGCGGGAGACCAGAAACAAAAAAAGGCCCCCCGTTAGGGAGGCCTTCAATAATTGGTTGTGTCTCAAAATCTCTGATGTACATTGCACAAGATAAAAATATATCATCATGAACAATAAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCTTGCTCCAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCACTGCGATCCCCGGGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATTTCGTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAGCTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAACTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAAGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCC*

TTAATAAGATGATCTTCTTGAGATCGTTTTGGTCTGCGCGTAATCTCTTGCTCTGAAAACGAAAAAACCGCCTTGCAGGGCGGTTTTTCGAAGGTTCTCTGAGCTACCAACTCTTTGAACCGAGGTAACTGGCTTGGAGGAGCGCAGTCACCAAAACTTGTCCTTTCAGTTTAGCCTTAACCGGCGCATGACTTCAAGACTAACTCCTCTAAATCAATTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGTGCTTTTGCATGTCTTTCCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGACTGAACGGGGGGTTCGTGCATACAGTCCAGCTTGGAGCGAACTGCCTACCCGGAACTGAGTGTCAGGCGTGGAATGAGACAAACGCGGCCATAACAGCGGAATGACACCGGTAAACCGAAAGGCAGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCCGCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCACTGATTTGAGCGTCAGATTTCGTGATGCTTGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGGCTTTGCCGCGGCCCTCTCACTTCCCTGTTAAGTATCTTCCTGGCATCTTCCAGGAAATCTCCGCCCCGTTCGTAAGCCATTTCCGCTCGCCGCAGTCGAACGACCGAGCGTAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAATATATCCTGTATCACATATTCTGCTGACGCACCGGTGCAGCCTTTTTTCTCCTGCCACATGAAGCACTTCACTGACACCCTCATCAGTGCCAACATAGT

AAGCCAGTATACACTCCG CTAGCGCTGAGGTC TGCCTCGTGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCACCTCAGATAAA

Targeted regions and adaptors used:

empty\_1 (spans across plasmid end-start):

CTAGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGCA...ATCGGTGAGCCCGGGCTGTCGGCGT

CTAGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCACCTCAGATAAA ATATTTGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAGCCCGACAAAAAACCCCTCAAGACCCGTTTAGAGGCCCCAAGGGGTTATGCTAGTCTTCCCCATCGGTGAGCCCGGGCTGTCGGCGT

empty\_2:

CGGTGGCCCGGGCGGCCGCACGATG...CCAATTATTTTTTCCTCCTGGATTA

empty\_3:

AAGCCAGTATACACTCCGCTAGCGC...TGAGCGAGGAAGCACCTCAGATAAA

empty\_4 (constant bases between the barcodes):

TCGGTGAGCCCGGGCTGTCGGCGT...ATATGCCAGCAGGCCGGCCACGCT

insulator:

ATTCACCACCCTGAATTGACTCTCT...ACTAGCCATCAAGGAGAGCTGCTAC

ATTCACCACCCTGAATTGACTCTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTCGATGGCGCGCCGCCATAAATCTCGGTACCAAATTCCAGAAAAGAGGCCTCCCGAAAGGGGGGCCTTTTTTCGTTTTGGTCCGAGCTGTTGACAATTAATCATCGGCTCGTATAATGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTAGCTGTCACCGGATGTGCTTTCCGGTCTGATGAGTCCGTGAGGACGAAACAGCCTCTACAAATAATTTTGTTTAATACTAGCCATCAAGGAGAGCTGCTAC

Kan:

TGGGATGGACGAGCTGTATAAATAA...TTAATAAGATGATCTTCTTGAGATC – full outside

lacI:

CCAATTATTTTTTCCTCCTGGATTA...ATTCACCACCCTGAATTGACTCTCT

Ori:

TTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCC...AAGCCAGTATACACTCCGCTAGCGC

...TGCCTCGTGCAGCGAGTCAGTGAGC

tetA:

ACTAGCCATCAAGGAGAGCTGCTAC...TAACGGCGTAAGGAGGTATTTTTAT

YFP:

AGGATCTAAACAAGAAACGAGTGCC...AAGCGGGAGACCAGAAACAAAAAAA

Index primers:

forward primer site: CATCGGTGAGCCCGGGCTGT, 20 bp

Reverse complement of reverse primer site: ACGATGCGTCCGGCGTAGAGG, 21 bp