

Table 3. m values with errors for S6 wild-type and the circular permutants

	$m_f S6^{wt}$	$m_u S6^{wt}$	$m_{D-N} S6^{wt}$	$m_f P^{13-14}$	$m_u P^{13-14}$	$m_{D-N} P^{13-14}$	$m_f P^{54-55}$	$m_u P^{54-55}$	$m_{D-N} P^{54-55}$	$m_f P^{68-69}$	$m_u P^{68-69}$	$m_{D-N} P^{68-69}$
WT	-1.21±0.02	0.59±0.04	1.80±0.04	-1.01±0.05	0.64±0.04	1.65±0.06	-0.93±0.01	0.68±0.02	1.61±0.02	1.28±0.02	0.62±0.02	1.90±0.03
V6A	-1.49±0.02	0.40±0.01	1.89±0.03	-1.68±0.19	0.72±0.06	2.40±0.20	-1.23±0.03	0.63±0.02	1.86±0.04	1.38±0.04	0.72±0.02	2.10±0.04
I8A	-1.43±0.02	0.51±0.01	1.93±0.02	-1.55±0.49	0.79±0.12	2.33±0.51	-1.11±0.03	0.72±0.02	1.84±0.03	1.30±0.04	0.79±0.02	2.09±0.04
L19A	-1.41±0.01	0.50±0.01	1.90±0.02	-0.67±0.05	1.29±0.10	1.96±0.11	-0.98±0.02	0.67±0.01	1.65±0.02	1.15±0.03	0.60±0.02	1.75±0.04
I26A	-1.35±0.01	0.65±0.01	2.00±0.02	-0.97±0.16	0.94±0.15	1.91±0.22	-0.88±0.02	0.85±0.03	1.73±0.04	1.22±0.04	0.60±0.03	1.82±0.05
L30A	-1.56±0.03	0.78±0.03	2.34±0.04	-1.29±0.27	0.95±0.16	2.25±0.31	-1.07±0.03	0.61±0.03	1.69±0.04	1.63±0.07	0.62±0.04	2.25±0.08
V37A	-1.42±0.03	0.51±0.02	1.93±0.03	-0.95±0.19	0.64±0.07	1.59±0.20	-0.91±0.03	0.50±0.02	1.41±0.03	1.10±0.04	0.61±0.03	1.71±0.05
V40A	-1.33±0.02	0.59±0.03	1.92±0.03	-1.08±0.10	0.80±0.08	1.87±0.13	-0.92±0.01	0.70±0.02	1.62±0.03	1.25±0.02	0.61±0.01	1.86±0.03
L48A	-1.30±0.02	0.49±0.03	1.78±0.04	-0.98±0.04	0.71±0.02	1.69±0.05	-0.98±0.02	0.59±0.01	1.57±0.03	1.15±0.02	0.56±0.02	1.71±0.03
F60A	-1.36±0.02	0.44±0.03	1.80±0.03	-1.14±0.06	0.56±0.02	1.70±0.06	-0.93±0.01	0.63±0.02	1.56±0.02	1.22±0.02	0.56±0.02	1.78±0.03

	$m_f \text{ S6}^{\text{wt}}$	$m_u \text{ S6}^{\text{wt}}$	$m_{\text{D-N}} \text{ S6}^{\text{wt}}$	$m_f \text{ P}^{13-14}$	$m_u \text{ P}^{13-14}$	$m_{\text{D-N}} \text{ P}^{13-14}$	$m_f \text{ P}^{54-55}$	$m_u \text{ P}^{54-55}$	$m_{\text{D-N}} \text{ P}^{54-55}$	$m_f \text{ P}^{68-69}$	$m_u \text{ P}^{68-69}$	$m_{\text{D-N}} \text{ P}^{68-69}$
L61A	-1.53±0.02	0.54±0.01	2.07±0.02	n.d.	n.d.	n.d.	-1.02±0.03	0.59±0.02	1.61±0.04	1.37±0.07	0.46±0.02	1.83±0.08
Y63A	-1.61±0.02	0.50±0.01	2.11±0.02	-0.89±0.04	0.83±0.04	1.71±0.05	-1.04±0.04	0.58±0.03	1.62±0.04	1.29±0.05	0.57±0.02	1.86±0.05
V65A	-1.55±0.02	0.58±0.02	2.13±0.03	-0.89±0.16	0.74±0.05	1.63±0.17	-1.04±0.04	0.54±0.02	1.58±0.05	1.17±0.08	0.60±0.05	1.76±0.10
V72A	-1.31±0.01	0.52±0.02	1.83±0.02	-1.11±0.11	0.51±0.04	1.63±0.12	-0.88±0.02	0.68±0.03	1.56±0.04	1.14±0.03	0.72±0.05	1.86±0.06
L75A	-1.38±0.02	0.50±0.03	1.89±0.03	-1.24±0.03	0.61±0.02	1.85±0.04	-1.15±0.06	0.63±0.04	1.79±0.07	1.13±0.04	0.77±0.03	1.90±0.05
L79A	-1.45±0.03	0.53±0.02	1.98±0.03	n.d.	n.d.	n.d.	-1.15±0.04	0.78±0.02	1.93±0.04	1.25±0.07	0.75±0.02	2.00±0.07
V85A	-1.30±0.01	0.48±0.01	1.79±0.01	-1.02±0.09	0.61±0.04	1.63±0.10	-1.07±0.03	0.73±0.02	1.80±0.04	1.14±0.05	0.69±0.03	1.83±0.06
V88A	-1.18±0.02	0.39±0.02	1.57±0.03	-1.14±0.08	0.64±0.02	1.78±0.09	-1.11±0.04	0.75±0.03	1.86±0.05	1.27±0.02	0.66±0.02	1.94±0.03
V90A	-1.30±0.02	0.33±0.02	1.63±0.02	-1.42±0.16	0.75±0.04	2.17±0.16	-1.22±0.04	0.65±0.03	1.87±0.05	1.20±0.04	0.64±0.03	1.84±0.05

Units are in M⁻¹ according to Eq. 2 and $m_{\text{D-N}} = m_u - m_f$. n.d., not determined.