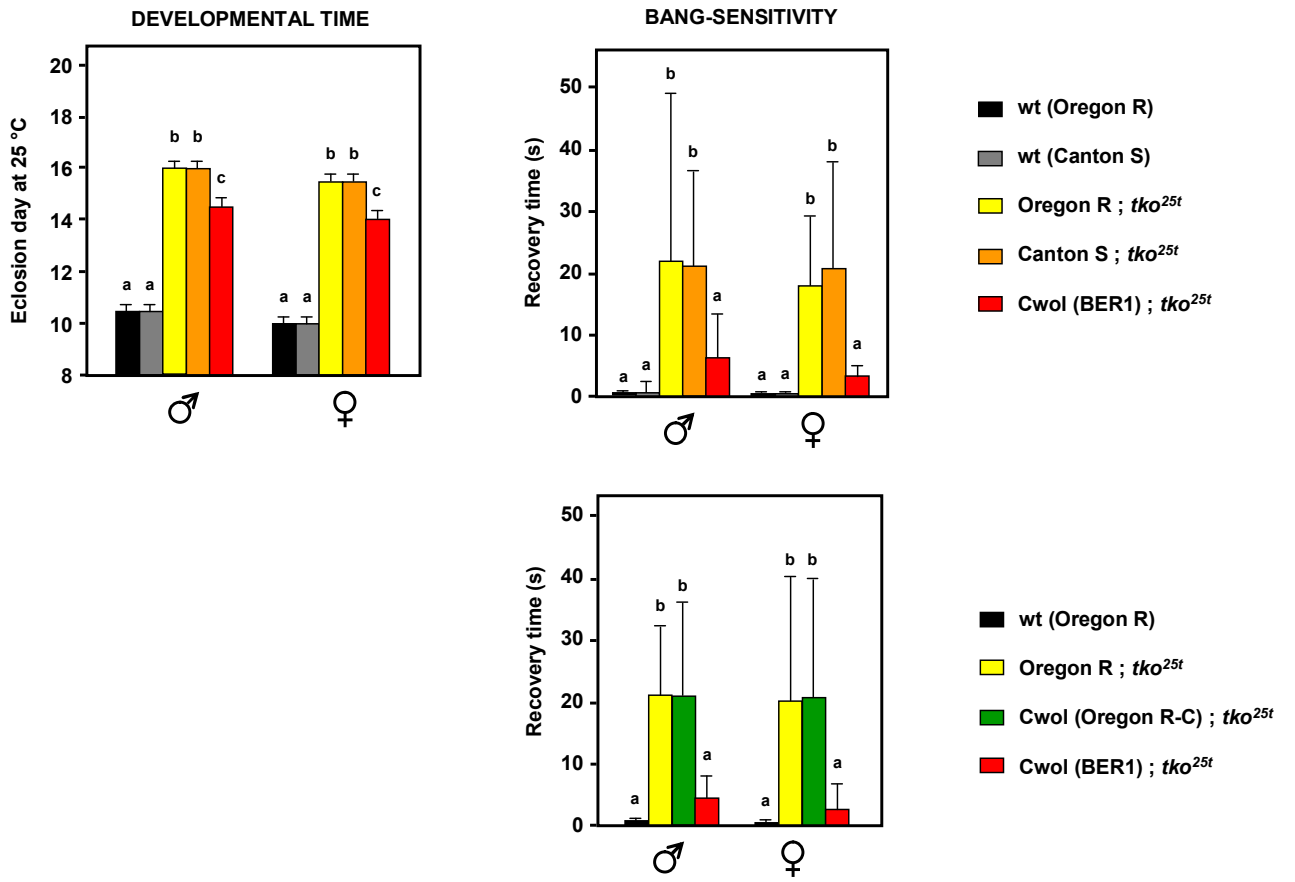
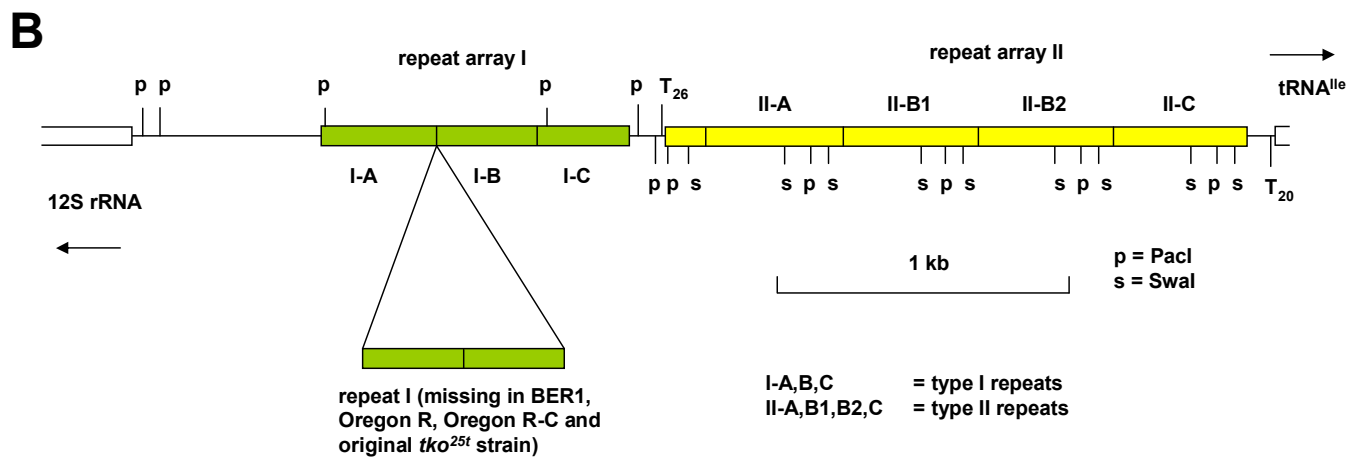
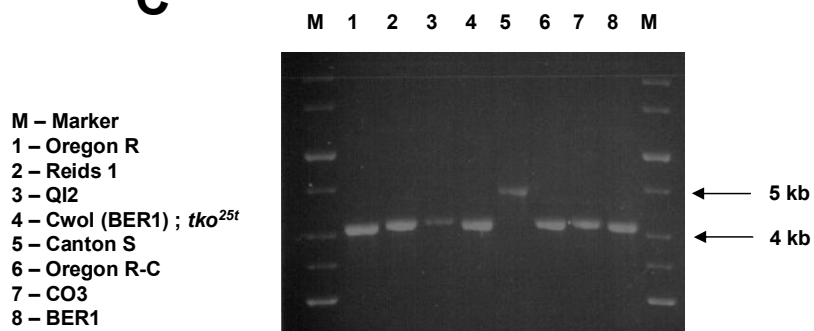


A

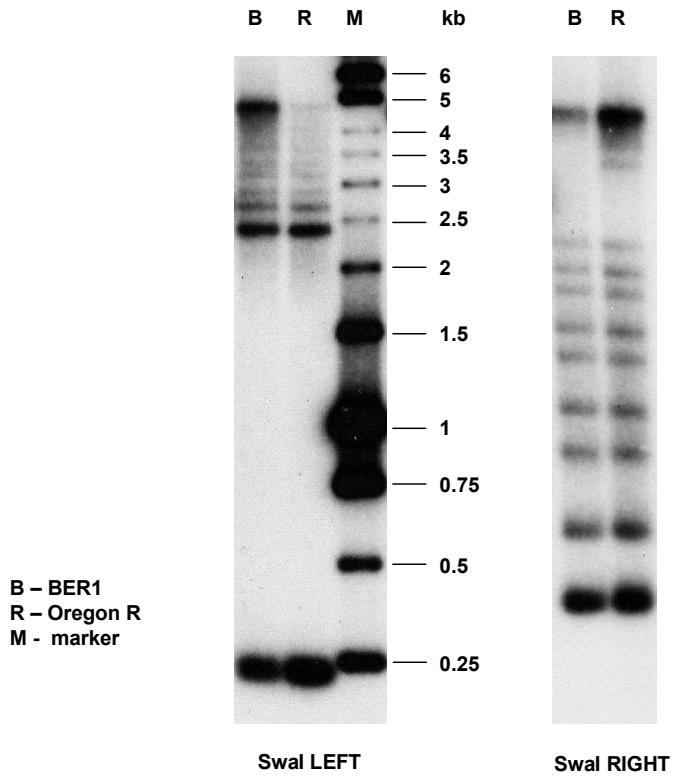




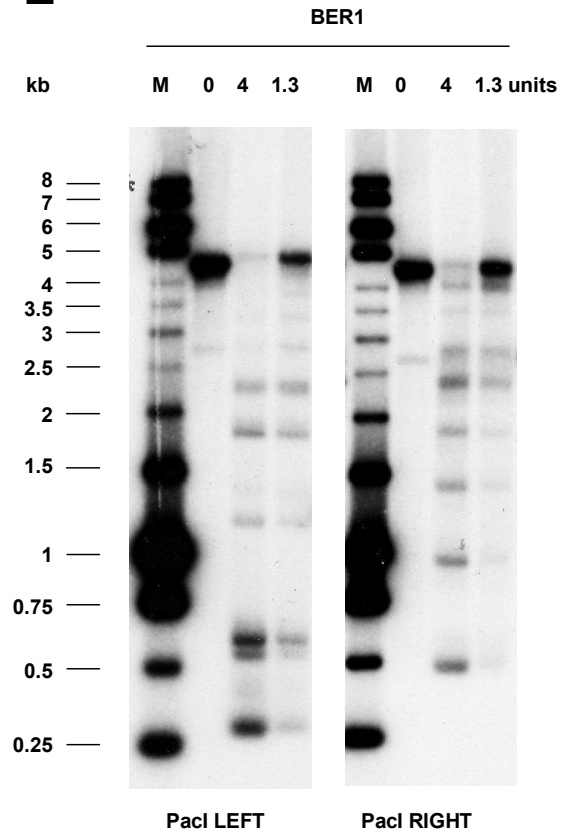
C

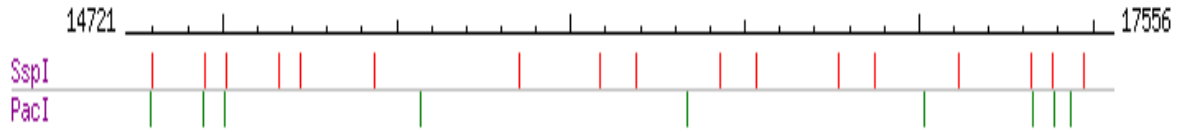
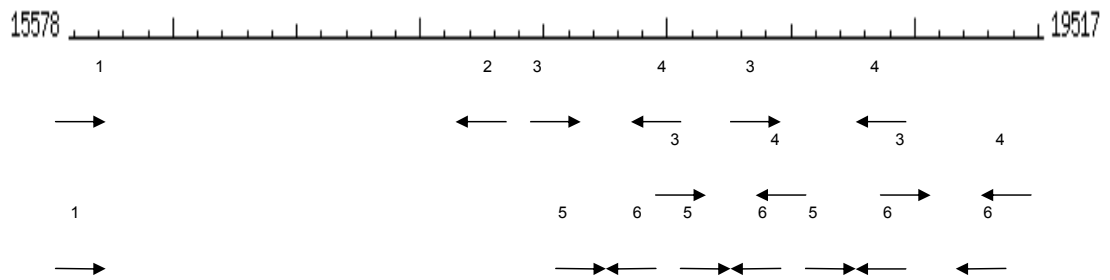


D



E



F**type I repeats****G****type II repeats**

H

Black = Refseq (NCBI accession NC_001709)
Blue = tk025t (original mtDNA background, NCBI accession JQ686693)
Red = BER1 (NCBI accession JQ686694)
turquoise background = differences from Refseq; numbering as Refseq

```
14917  A.T.T.T.T.T.A.T.T.T.T.G.A.T.T.T.T.T.T.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.A.A.T.T.T.T.T.A.T.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.G.A.A.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.A
A.T.T.T.T.A.T.T.T.T.G.A.T.T.T.T.T.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.A.A.T.T.T.T.T.A.T.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.T.A.A.G.A.A.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.A
C.T.T.T.T.A.T.T.T.T.T.A.T.T.T.T.T.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.T.T.T.A.T.T.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.T.A.A.A.G.A.A.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.A.A

15017  A.T.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.T.A.A.A.A.A.T.T.T.T.A.T.C.A.T.A.T.T.A.T.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.A.T.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.T.T
A.T.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.T.A.A.A.A.T.T.T.T.A.T.C.A.T.A.T.T.A.T.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.A.T.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.T.T
A.T.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.T.A.A.A.A.T.T.T.T.A.T.C.A.T.A.T.T.A.T.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.A.T.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.T.T

15117  T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.A.T.C.A.A.A.T.A.T.T.A.A.T.A.A.A.T.A.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.C.T.T.T
T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.A.T.C.A.A.A.T.A.T.T.A.A.T.A.A.A.T.A.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.C.T.T.T
T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.A.T.C.A.A.A.T.T.A.A.T.A.A.T.A.A.A.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.T.T.T.T.A.C.A.C.T.T.T

15217  T.T.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.--A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.A.A.A.A.T.T.A.G.A.T.T.A.A.T.T.C.T.T.T.T.A.A.T.G
T.T.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.--A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.A.A.A.A.T.T.A.G.A.T.T.A.A.T.T.C.T.T.T.T.A.A.T.G
T.T.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.A.G.A.T.T.A.A.T.T.C.T.T.T.T.A.A.T.G

15315  A.C.T.A.A.A.A.A.A.A.--T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.G.T.A.T.T.T.T.A.A.A.C.T.T.T.T.T.T.T.A.C.A.A.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.T.A.T.A.A.A.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.--T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A
A.C.T.A.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.G.T.A.T.T.T.T.A.A.A.C.T.T.T.T.T.T.T.A.C.A.A.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.T.A.T.A.A.A.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A
A.C.T.A.A.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A.G.T.A.T.T.T.T.A.A.A.C.T.T.T.T.T.T.T.A.C.A.A.T.T.T.T.T.A.A.A.A.A.T.A.T.A.A.A.T.A.A.A.T.T.T.T.A.A.A.A.A.A.T.T.T.T.T.T.T.T.T.A.A

15412  A.A.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.A.T.A.T.T.A.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.--A.C.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.T.A.A.T.C.T.A.T.T.A.A.A.A.A.A.--A.T.T.A.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.G.A.A.T.A.A.A.T.A.A.A
A.A.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.A.T.A.T.T.A.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.--A.C.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.T.A.A.T.C.T.A.T.T.A.A.A.A.A.A.--A.T.T.A.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.G.A.A.T.A.A.A.T.A.A.A
A.A.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.A.T.A.T.T.A.T.A.A.A.A.T.A.T.T.T.T.T.T.T.--A.C.A.A.A.A.T.G.A.A.A.T.T.T.A.A.T.C.T.A.T.T.A.A.A.A.A.A.--A.T.T.A.T.T.A.A.A.T.T.T.T.A.T.G.A.A.T.A.A.A.T.A.A.A

15510  A.A.A.G.T.A.A.A.A.T.T.T.A.T.T.A.A.A.A.T.C.A.A.T.A.T.A.T.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.G.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.T.A.C.G.A.A.T.A.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.A.T.T.T.T.A
A.A.A.G.T.A.A.A.A.T.T.T.A.T.T.A.A.A.A.T.C.A.A.T.A.T.A.T.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.G.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.T.A.C.G.A.A.T.A.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.A.T.T.T.T.A
A.A.A.G.T.A.A.A.A.T.T.T.A.T.T.A.A.A.A.T.C.A.A.T.A.T.A.T.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.G.A.T.T.A.T.T.A.A.T.T.A.A.A.T.T.A.T.A.C.G.A.A.T.A.A.A.T.A.T.A.A.A.A.T.A.A.T.T.T.A.T.T.T.T.A
```

15610 ATCACTAAATCTGAAATAATTA--TATATATATATATATATATATATATATATATACATATATATATATATATATATACATAAAATAAAATAAAATAAAATTTATTC
ATCACTAAATCTGAAATAAT AAT TATATAATTATATAT ----- ATATATATATATACACACACATAAAATAAAATAAAATAAAATTTATTC
ATCACTAAATCTGAAATAATTAAT TAATAAAATAAAATAAAATAAAATTTATTC

15708 CCCTATTCATAAATTTATTATATAAATTAACCTTAAAAAGTATTTTTTTTTTAAAAAAA--TTATTTATTAATTTACTTAATAAACCTATTTTTATAAT
CCCTATTCATAAATTTATTATATAAATTAACCTTAAAAAGTATTTTTTTTTTAAAAAAA TTATTTATTAATTTACTTAATAAACCTATTTTTATAAT
CCCTATTTATAAATTTATTATATAAATTAACCTTAAAAAGTATTTTTTTTTTAAAAAAA TTATTTATTAATTTACTTAATAAACCTATTTTTATAAT

15807 AAATTATTTTATAAATAAAATTTATTTAAAAAATTAATAAGAAATATTTTTATTATAAATAAAATAAAATAAATTTTAAAAAATTC AATTTATA--TT
AAATTATTTTATAAATAAAATTTATTTAAAAAATTAATAAGAAATATTTTTATTATAAATAAAATAAAATAAATTTTAAAAAATTTAATTTATA--TT
AAATTATTTTATAAATAAAATTTATTTAAAAAATTAATAAGAAATATTTTTATTATAAATAAAATAAAATAAATTTTAAAAAATTTAATTTATAATT

15905 TATATATATATATATATATATA-----ATTTAATTTT-CAATTAAA-TTATATAAATATAATAAATAAATTTATTTAATCACTAAATCTGAAA
TATATATATATATATATA-----ATTTAATTTT-CAATTAAA-TTATATAAATATAATAAATAAATTTATTTAATCACTAAATCTGAAA
TATATATATATATATATATATA TATATATA--ATTTTAAATTTTCGATGAAA-TTATGTAAATATAATAAATAAATTTTATTTAATCACTAAATCTGAAA

15993 TAATTAATTATATATATATATATATATA--TAAAAAATGAAAATAAATTTATCCCCCTATTCATAAATTTATTGTATAATTAACCTTAAAAATATT
TAATTAATTATATATATATATATATATA AAT AAAAAATGAAAATAAATTTATCCCCCTATTCATAAATTTATTGTATAATTAACCTTAAAAATATT
TAATTAATTATATATATATATATATATA--TA--TAAATGAAAATAAATTTATCCCCCTATTCATAAATTTATTGTATAATTAACCTTAAAAATATT

16091 TTTTTTTAAAAAAAATGATTTATTAATTTACTTAATAAACTATTTTTATAATAAATTTATTTTATAAATAAATAAATTTTAAATAATTAATAAAAA-
TTTTTTTTAAAAAAAATGATTTATTAATTTACTTAATAAACTATTTTTATAATAAATTTATTTTATAAATAAATAAATTTTAAATAATTAATAAAAA-
TTTTTTTTAAAAAAAATTAATTTATTAATTTACTTAATAAACTATTTTTATAATAAATTTATTTTATG AATAAATAATTTTAAATAATTTATAAAAA-

16190 TATTTTAAATATAATAAATAAATTTAAATGATTTTTTA-TAAAAATCAATTCATATATTTATATATATATATAC-----ATATAATTTAATTTCAATTAA
TATTTTAAATATAATAAATAAATTTAAATGATTTTTTA-TAAAAATCAATTCATATATTTATATATATATATA TATATATATATAAATTTAATTTTC -----
TATTTTAAATATAATAAATAAATTTAAATGATTTTTTATTAATTAATTAATTCATATATTTATATATATATATA TATATATATATAAATTTAATTTTC -----

16283 ATTATATAAGTATAATAAATAAATTTATTTTAACTCACTAAATCTGAATTAATTAATTGTATATATATATATATATATATATATATATATGTAATAAATAAAT

17946 TAATATATATATATATATAGAAAAATTAATTTATTTAAATAATTTAATAAATAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTTATAAAAAATTTTAT
TAATATATATATATATATAGAAAAATTAATTTATTTAAATAATTTAATAAATAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTTATAAAAAATTTTAT
TAATATATATATATATATAGAAAAATTAATTTATTTAAATAATTTAATAAATAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTTATAAAAAATTTTAT

18046 ATAATAAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAAT
ATAATAAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAAT
ATAATAAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAAT

18146 TTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAACTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTTATATATA
TTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAACTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTTATATATA
TTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAACTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTTATATATA

18246 T-CTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAAAAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCTCATATTTATTTATTTAATTTAATTTATAT
T-CTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAAAAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCTCATATTTATTTATTTAATTTAATTTATAT
TTCTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAAAAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCTCATATTTATTTATTTAATTTAATTTATAT

18345 AAATAATATAATGATTTAATTAATTATATATATTTATAAATTTATATATTTGAAATATTTATATAAATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAT
AAATAATATAATGATTTAATTAATTATTTATATATTTATAAATTTATATATTTGAAATATTTATATAAATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAT
AAATAATATAATGATTTAATTAATTATTTATATATTTATAAATTTATATATTTGAAATATTTATATAAATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAT

18445 TAAATAATTTAATATAAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTATAAAAAATTTTATATAAATAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAA
TAAATAATTTAATATAAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTATAAAAAATTTTATATAAATAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAA
TAAATAATTTAATATAAATTTTTTAAAAATTTCTTAAATGTATTATTTTATAAAAAATTTTATATAAATAAATCATGTTTTTTAAAAATAAACAAAA

18545 AATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAATTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAAA
AATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAATTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAAA
AATTTTTAATAAATAAATTTTATAATGAAATATAAATTTATTTATTTTCAATTTTTTAAAAATTTTAAAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAAA

18645 CTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTATTATATAT-CTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAA
CTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTATTATATAT-CTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAA
CTATATACTAATTATAAATTAATAGATATTTATATATATATAAATATTTAATATATTATTATATAT-CTAATAATTTAAATAAAAAATTTTAAAAATTTAA

18744 AAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCATATTTATTATTATTAATTTAATTTATATAAATAATATAATGATTTAATTAATTATTATATATT
AAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCATATTTATTATTATTAATTTAATTTATATAAATAATATAATGATTTAATTAATTATTATATATT
AAATGTAGATATAATTTATAAAAAATTTATATTCATATTTATTATTATTAATTTAATTTATATAAATAATATAATGATTTAATTAATTATTATATATT

18844 TATAAATTTATATATTATTGAATATTTATATAATATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAATTTAATAAATTTTAAAAATTTCTT
TATAAATTTATATATTATTGAATATTTATATAATATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAATTTAATAAATTTTAAAAATTTCTT
TATAAATTTATATATTATTGAATATTTATATAATATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAATTTAATAAATTTTAAAAATTTCTT

18944 AAATGTATTATTTTATAAAAAATTTATATAAATAATCATTTTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTAATAAATAAATTTATAATGAAATATAA
AAATGTATTATTTTATAAAAAATTTATATAAATAATCATTTTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTAATAAATAAATTTATAATGAAATATAA
AAATGTATTATTTTATAAAAAATTTATATAAATAATCATTTTTTTTTAAAAATAAACAAAAATTTTAATAAATAAATTTATAATGAAATATAA

19044 TTTATTTATTTTTCATTTTTTTA-AAAAAATTTTTTAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAATACTATATACTAATTAATAATTAATAGATATTTATA
TTTATTTATTTTTCATTTTTTTTAAAAAATTTTTAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAATACTATATACTAATTAATAATTAATAGATATTTATA
TTTATTTATTTTTCATTTTTTTTAAAAAATTTTTAAAAAATAATTTTTTTTTAAAAAATACTATATACTAATTAATAATTAATAGATATTTATA

19143 TATATATAAATATTTAATAATTTATATATCTAATAATTTAATAAAAAATTTAAAAATTTAAAAATATAGATATAAATTTATAAAAAATTTATATTCCTC
TATATATAAATATTTAATAATTTATATATCTAATAATTTAATAAAAAATTTAAAAATTTAAAAATGATAGATATAAATTTATAAAAAATTTATATTCCTC
TATATATAAATATTTAATAATTTATATATCTAATAATTTAATAAAAAATTTAAAAATTTAAAAATGATAGATATAAATTTATAAAAAATTTATATTCCTC

19243 ATATTTATTTATTTAATTTAATTTATATAAATAATATAATGATTTAATTAATTTATATATTTATAAATTTATATATTTGAATATTTATATATAA
ATATTTATTTATTTAATTTAATTTATATAAATAATATAATATTTAATTAATTTATATATTTATAAATTTATATATTTGAATATTTATATATAA
ATATTTATTTATTTAATTTAATTTATATAAATAATATAATATTTAATTAATTTATATATTTATAAATTTATATATTTGAATATTTATATATAA

19343 TATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAAATTTTTCATAAAATTTAAAAAATTTCTTAAATGATTTAATAAAAAATTTACTTTTTAAAA
TATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAAATTTTTCATAAAATTTAAAAAATTTCTTAAATGATTTAATAAAAAATTTACTTTTTAAAA
TATATATATATATAGAAAAATTAATTTAATAAATTTTTCATAAAATTTAAAAAATTTCTTAAATGATTTAATAAAAAATTTACTTTTTAAAA

19443 AAAATAATTTAATTTTAAAAAATAAGTAAATAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAA-ATGAAATTTATATTATT
AAAATAATTTAATTTTAAAAAATAAGTAAATAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAATGAAATGAAATTTATATTATT
AAAATAATTTAATTTTAAAAAATAAGTAAATAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAA-ATGAAATTTATATTATT

Figure S4 NCR structure and phenotypes conferred by mtDNAs of different *D. melanogaster* strains. (A) Phenotypic characterization of *tko*^{25t} flies in the Canton S and Oregon R mtDNA backgrounds, as indicated showing both to be fully of the non-suppressor type. a, b and c denote significantly different data classes (Newman-Keuls test, *p* < 0.05, based on ANOVA, *p* < 0.001, each sex considered separately). (B) Summary map of the NCR of different strains, based on crude length determination of the NCR-containing long PCR product (DsmtD4s/ DsmtD4as) by agarose gel electrophoresis (C), restriction mapping (D,E) and DNA sequencing (F), and showing the restrictions sites used in mapping. All strains studied, apart from Canton S, were found to have the 'short' NCR morph (Panel C). Partial restriction digestion (D, E) and complete sequencing (F-H) revealed that this morph contains only three copies of repeat I, rather than the 5 seen in the 'long' morph of the reference sequence (Lewis *et al.* 1994). (D), (E) Neutral PAGE of the NCR-containing PCR product of strains BER1 and Oregon R, labeled as described in Supplementary Materials and Methods to create sub-fragments labeled at the right (tRNA-ile) or left (SSU rRNA) ends as indicated, then digested with the restriction enzymes shown (4 u, except where indicated), alongside labeled size markers. The separate sub-panels of (D) and (E) each represent sets of non-adjacent lanes from a single gel. (F, G) Sequencing strategy for the NCR, showing restriction sites in repeat array I used for cloning, and repeated priming sites for PCR in repeat array II. Primers are denoted as follows: 1 - Dm15578F, 2 - Dm17295R, 3 - Dm17556F, 4 - Dm18026, 5 - Dm17717F, 6 - Dm17833R (H) Aligned sequences of the NCR of suppressor strain BER1 and the original *tko*^{25t} non-suppressor strain, numbered according to the reference sequence (Refseq) and color-coded as indicated. Gaps indicated by dashes.