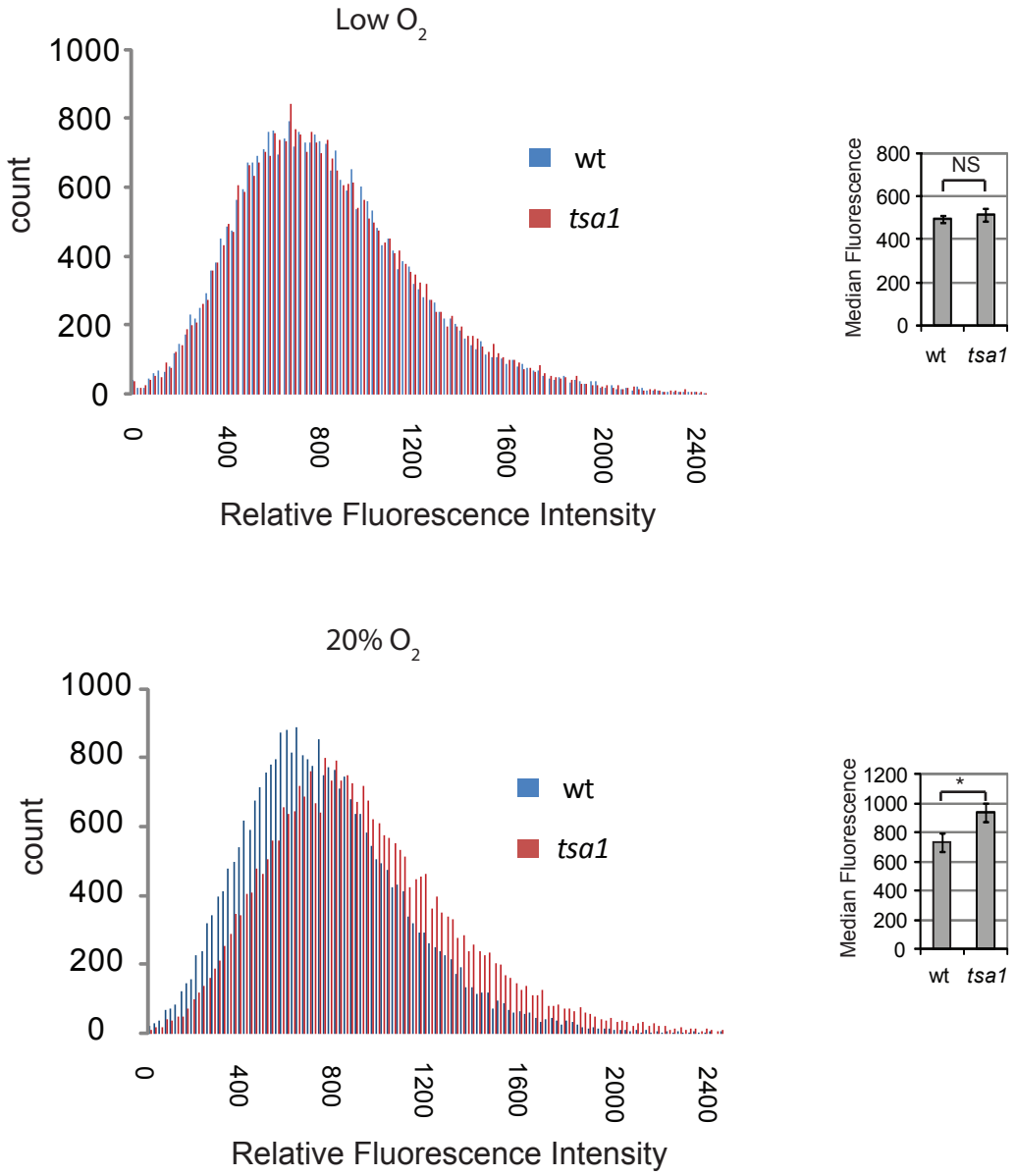
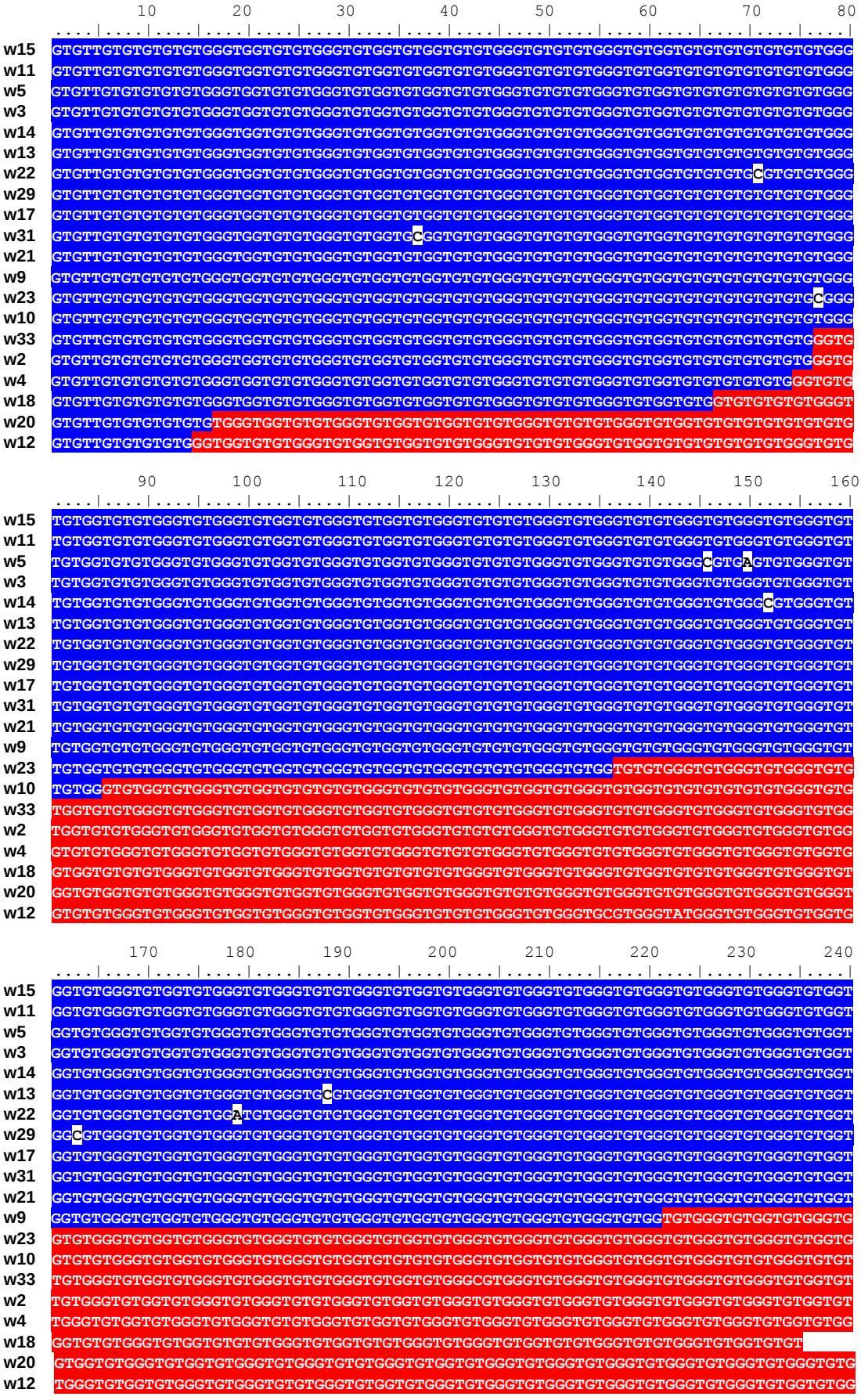
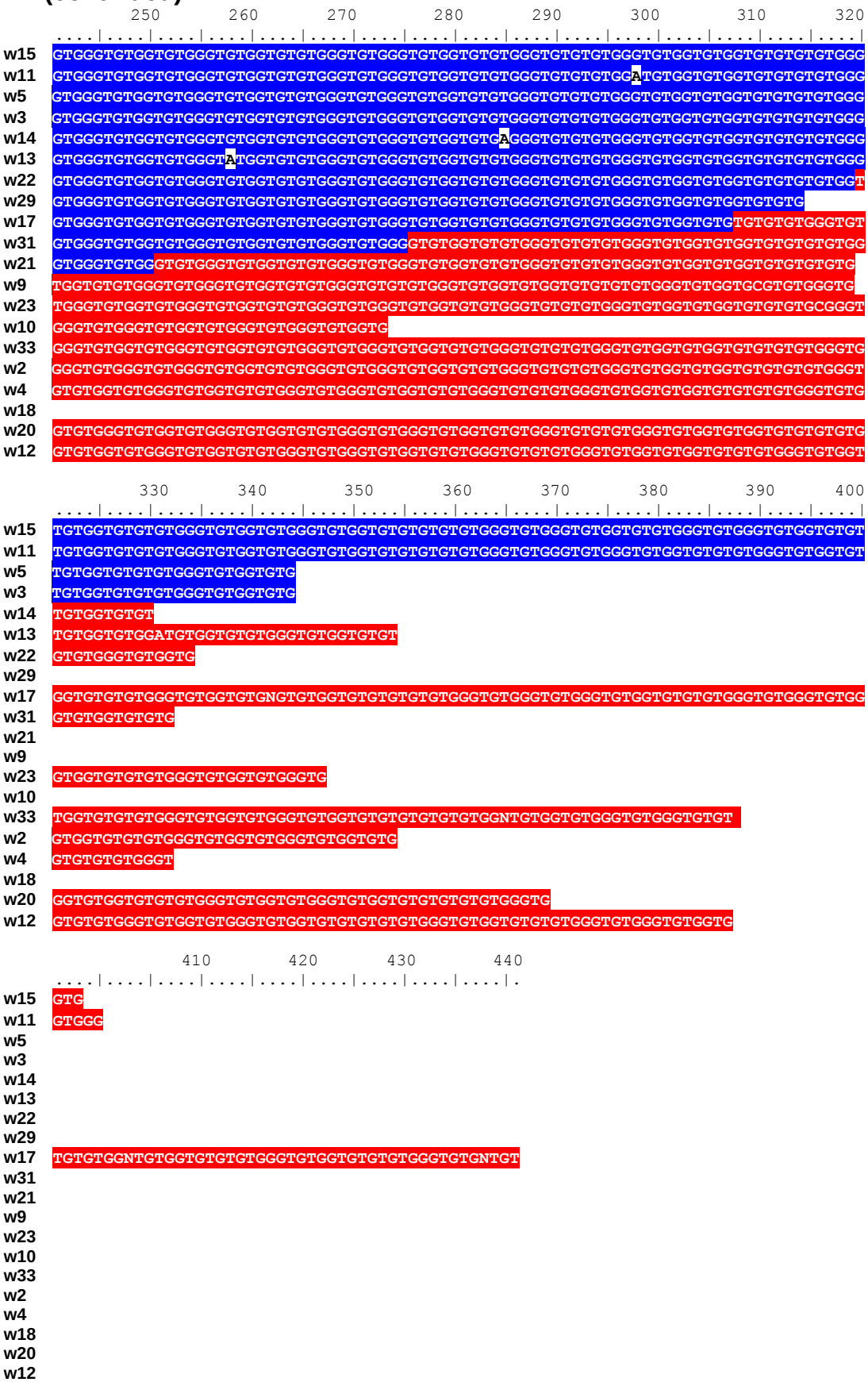


Supplementary Figure 1. Deletion of the *TSA1* gene causes increase ROS in 20% oxygen conditon. The wild-type and *tsa1* spores were dissected from a *TSA1*/*tsa1* heterozygous strain. Immediately after dissection, one plate was allowed to germinate in a closed jar in which oxygen was depleted by GasPak EZ Gas Generating Sachets (low O_2). Another plate was incubated at ambient oxygen conditions (20% O_2). After 5 days, an aliquot of cells was stained with DHE and the fluorescence of 30,000 cells were counted using FACS.

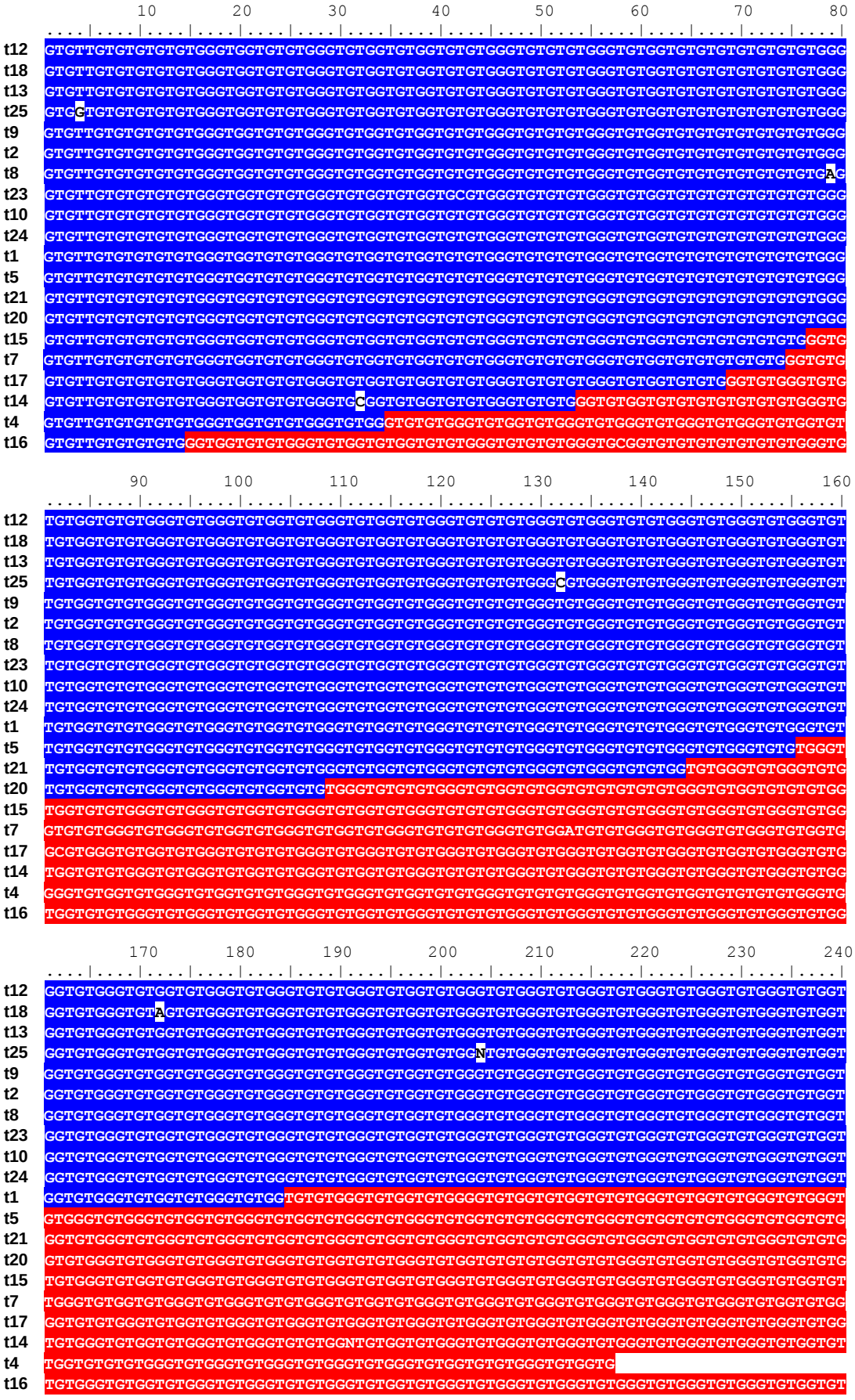
A.


10 20 30 40 50 60 70 80
w15 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w11 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w5 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w3 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w14 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w13 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w22 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGCGTGTGTGGG
w29 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w17 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w31 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGCGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w21 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w9 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w23 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGCGGG
w10 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
w33 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGTG
w2 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGTG
w4 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTG
w18 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGT
w20 GTGTTGTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGTG
w12 GTGTTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGTGTG
90 100 110 120 130 140 150 160
w15 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w11 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w5 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGCGTGAGTGTGGGTGT
w3 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w14 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGCGTGGGTGT
w13 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w22 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w29 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w17 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w31 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w21 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w9 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
w23 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTG
w10 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGTGTG
w33 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGG
w2 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGG
w4 GTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTG
w18 GTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGT
w20 GGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGT
w12 GTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGCGTGGGTATGGGTGTGGGTGTGGTG
170 180 190 200 210 220 230 240
w15 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w11 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w5 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w3 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w14 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w13 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGCGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w22 GGTGTGGGTGTGGTGTGGATGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w29 GGCGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w17 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w31 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w21 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
w9 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTG
w23 GTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTG
w10 GTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGT
w33 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGCGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT
w2 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT
w4 TGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGG
w18 GGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGT
w20 GTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTG
w12 TGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGG

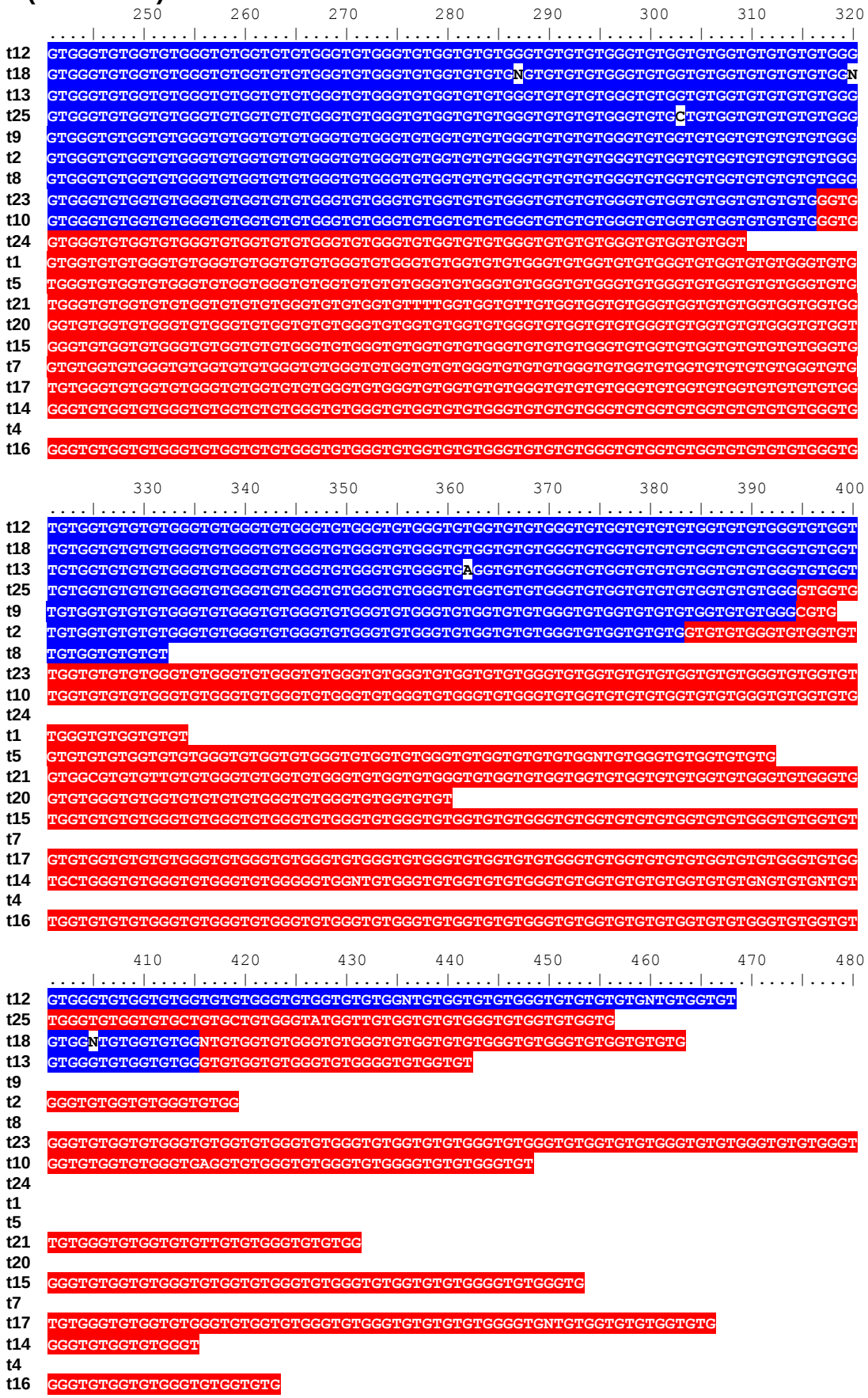
A. (continued)


250 260 270 280 290 300 310 320
w15 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
w11 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGATGTGGTGTGGTGTGTGTGGG
w5 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGG
w3 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGG
w14 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGAGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGG
w13 GTGGGTGTGGTGTGGGTATGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGG
w22 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGT
w29 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTG
w17 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGT
w31 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGG
w21 GTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTG
w9 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGTGCGTGTGGGTG
w23 TGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGCGGGT
w10 GGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTG
w33 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTG
w2 GGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGGT
w4 GTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTG
w18
w20 GTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTG
w12 GTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGT
330 340 350 360 370 380 390 400
w15 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGT
w11 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGT
w5 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTG
w3 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTG
w14 TGTGGTGTGT
w13 TGTGGTGTGGATGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGT
w22 GTGTGGGTGTGGTG
w29
w17 GGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGNGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGG
w31 GTGTGGTGTGTG
w21
w9
w23 GTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTG
w10
w33 TGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGNTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGT
w2 GTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTG
w4 GTGTGTGTGGGT
w18
w20 GGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTG
w12 GTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTG
410 420 430 440
w15 GTG
w11 GTGGG
w5
w3
w14
w13
w22
w29
w17 TGTGTGGNTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGNTGT
w31
w21
w9
w23
w10
w33
w2
w4
w18
w20
w12

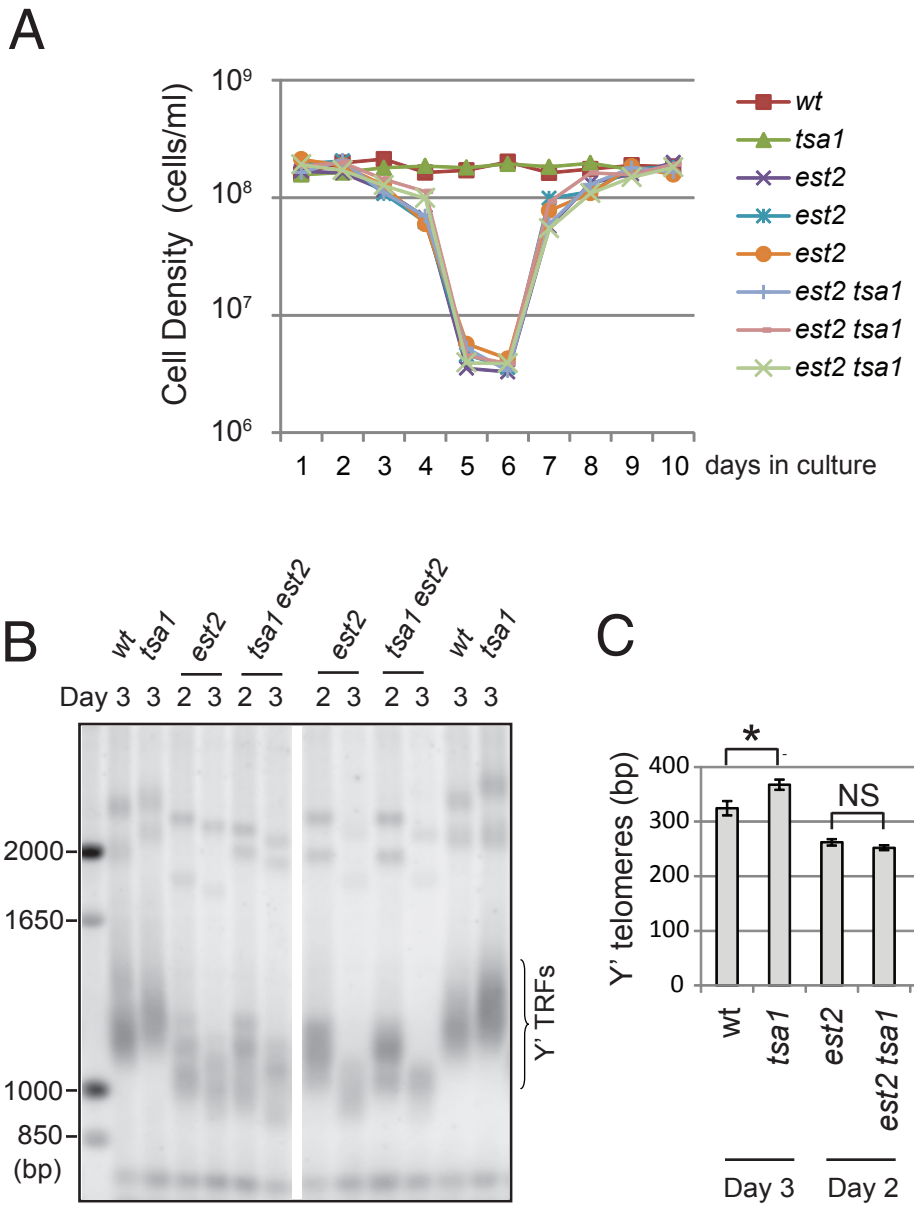
B.


10 20 30 40 50 60 70 80
t12 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t18 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t13 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t25 GTGGTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t9 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t2 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t8 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGAG
t23 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGCGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t10 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t24 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t1 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t5 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t21 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t20 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGG
t15 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGGGGG
t7 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGGTG
t17 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGGTGGGTG
t14 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGCGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGGGTG
t4 GTGTTGTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT
t16 GTGTTGTGTGTGTGGGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGCGGTGTGTGTGTGTGTGGGTG
90 100 110 120 130 140 150 160
t12 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t18 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t13 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t25 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGCGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t9 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t2 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t8 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t23 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t10 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t24 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t1 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGT
t5 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGT
t21 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTG
t20 TGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGCGTGGGTGTGG
t15 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGG
t7 GTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGATGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTG
t17 GCGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTG
t14 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGCGTGG
t4 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTG
t16 TGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGG
170 180 190 200 210 220 230 240
t12 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t18 GGTGTGGGTGTAGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t13 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t25 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGNTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t9 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t2 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t8 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t23 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t10 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t24 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGT
t1 GGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGT
t5 GTGGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTG
t21 GGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTG
t20 GTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTG
t15 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT
t7 TGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGG
t17 GGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGG
t14 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGNTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT
t4 TGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTG
t16 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGT

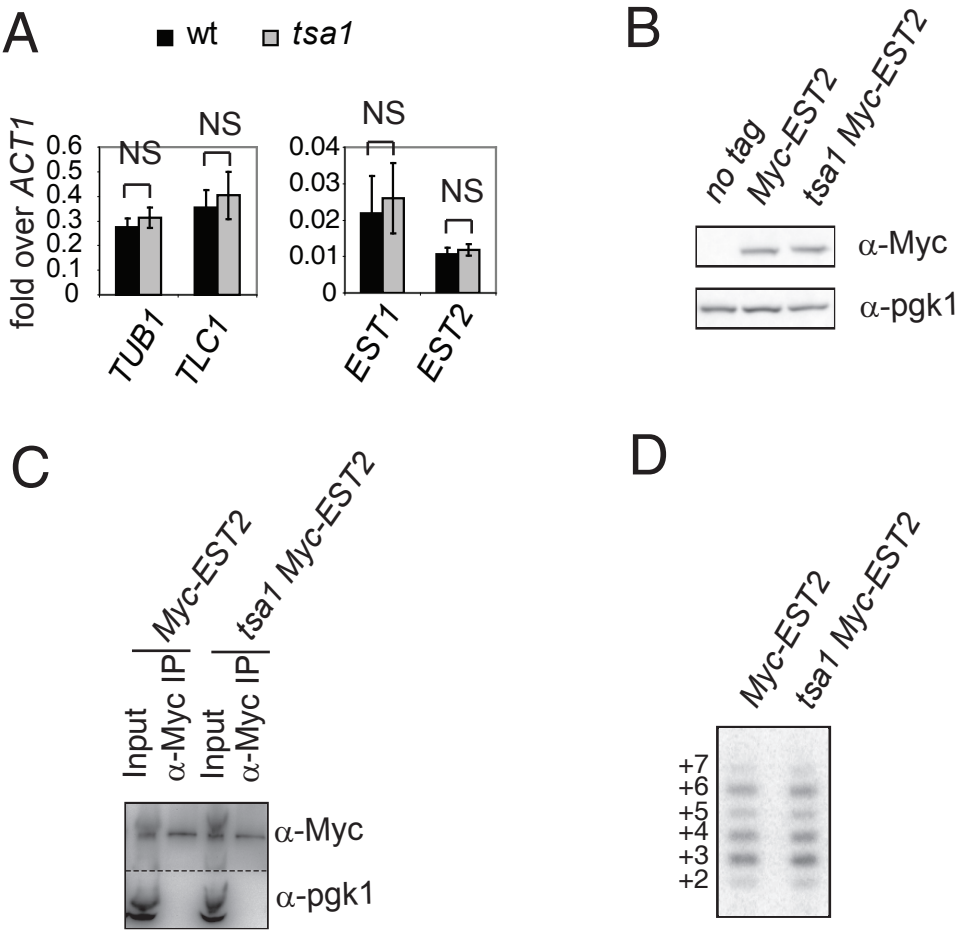
B.(continued)


250 260 270 280 290 300 310 320
t12 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
t18 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGNGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGN
t13 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
t25 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGCTGTGGTGTGTGTGTGGG
t9 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
t2 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
t8 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGG
t23 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGGTG
t10 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGGGTG
t24 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGT
t1 GTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTG
t5 TGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGGGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTG
t21 TGGGTGTGGTGTGTGGTGTGTGTGGGTGTGTGGTGTTTTGGTGGTGTTGTGGTGGTGTGGGTGGTGTGTGGTGGTGGTGG
t20 GGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGT
t15 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTG
t7 GTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTG
t17 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGG
t14 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTG
t4
t16 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTG
330 340 350 360 370 380 390 400
t12 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGT
t18 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGT
t13 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGAGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGT
t25 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGGTGGTG
t9 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGCGTG
t2 TGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGT
t8 TGTGGTGTGTGT
t23 TGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGT
t10 TGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTG
t24
t1 TGGGTGTGGTGTGT
t5 GTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGNTGTGGGTGTGGTGTGTG
t21 GTGGCGTGTGTTGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGTGGTGTGGTGTGTGGTGTGGGTGTGGGTG
t20 GTGTGGGTGTGGTGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGT
t15 TGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGT
t7
t17 GTGTGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGG
t14 TGCTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGGGTGGNTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGNGTGTGNTGT
t4
t16 TGGTGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGT
410 420 430 440 450 460 470 480
t12 GTGGGTGTGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGTGGNTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGNTGTGGTGT
t25 TGGGTGTGGTGTGCTGTGCTGTGGGTATGGTTGTGGTGTGTGGGTGTGGTGTGGTG
t18 GTGGNTGTGGTGTGGNTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTG
t13 GTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGGTGTGGTGT
t9
t2 GGGTGTGGTGTGGGTGTGG
t8
t23 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGGGTGTGTGGGT
t10 GGTGTGGTGTGGGTGAGGTGTGGGTGTGGGTGTGGGGTGTGTGGGTGT
t24
t1
t5
t21 TGTGGGTGTGGTGTGTTGTGTGGGTGTGTGG
t20
t15 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGGTGTGTGGGGTGTGGGTG
t7
t17 TGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTGGGTGTGGGTGTGTGTGTGGGGTGNTGTGGTGTGTGGTGTG
t14 GGGTGTGGTGTGGGT
t4
t16 GGGTGTGGTGTGGGTGTGGTGTG

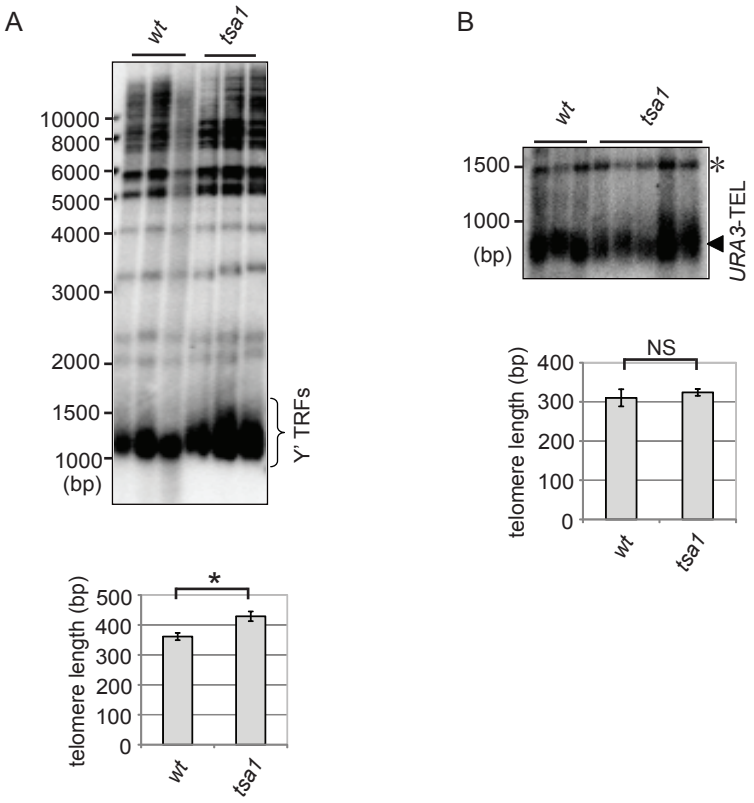
Supplementary Figure 2. Sequence alignment of telomere XV-L from the wild type (A) and *tsa1* mutant (B). Telomere XV-L (TEL15L) was PCR amplified, cloned, and sequenced from an early passage (~50 generations after spore gemination) of the wild type and *tsa1* mutant. Chromosomal DNA was isolated from corresponding strains and multiple Cs were added to chromosome ends. Tel XV-L was amplified by telomere PCR using polyG oligonucleotide and a primer specific for Tel XV-L. PCR product was cloned into pCR2.1 vector and sequenced. Sequences of telomere repeats (TG_{1-3}) were aligned. The internal identical sequences were shaded with blue. The terminal divergent sequences were shaded with red.



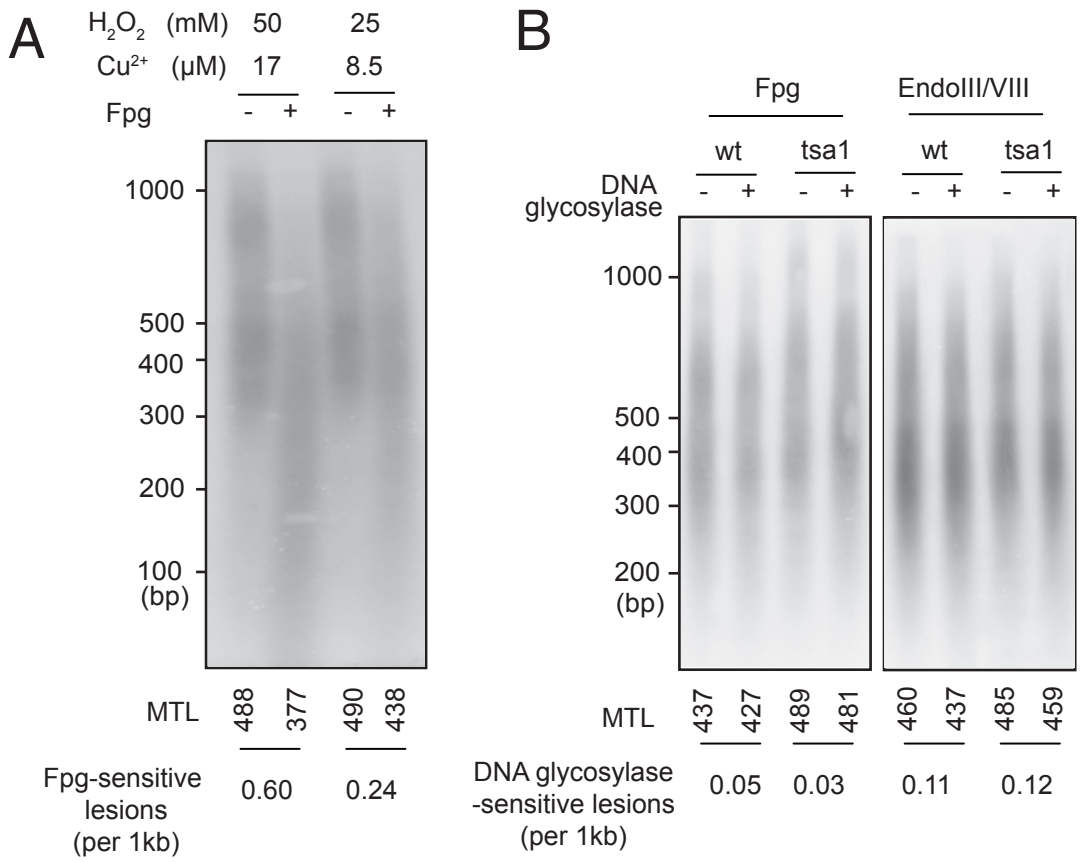
Supplementary Figure 3. Senescence and telomere length are similar between the *tsa1* and *tsa1 est2* mutants. (A) Cells with indicated genotype were picked from a fresh dissection plate and inoculated into YEPD media. Every 24 hr, cell density was measured using a hemacytometer. For wild type and *tsa1* cells, the culture was diluted to 10^5 cells/ml and grown to saturation (estimated ~11 generations daily for non-senescent cells). Strains carring *est2* mutation were grown similarly as wild type before day 4 and after day 7. Between day 4 and day 7, the cultures were started with 10^5 cells/ml, but went through varied numbers of generations. (B) Telomere length of cultures at indicated time was analyzed by Southern blot using probe specific for telomere repeats ($TG_{1\text{-}3}$). Typical clones were shown. (C) Telomere length was calculated by subtract subtelomere length from Y' TRFs and shown as mean±SD. Error bars indicate SD from the results of least three independent clones. * , $p<0.05$; NS, not significant; Student's t-test.



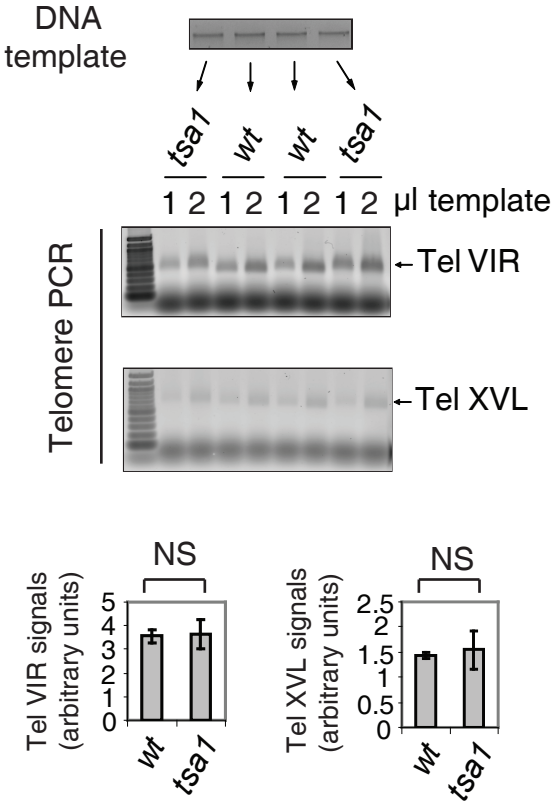
Supplementary Figure 4. Expression of telomerase subunits and telomerase activity are not changed in the *tsa1* mutant. (A) Total RNA was isolated from the wild-type (black bars) and *tsa1* (grey bars) strains. mRNA level of *EST1*, *EST2*, *TUB1*, *ACT1*, and *TLC1* RNA were monitored by real-time RT-PCR. The expression level of telomerase components and *TUB1* were normalized to the value for *ACT1*. (B) Whole cell extracts of *EST2* (no tag), *Myc-EST2*, and *tsa1 Myc-EST2* strains were analyzed by Western blot using α-Myc and α-pgk1 antibodies. Lack of any signal in the strain expressing *EST2* (no tag) in α-Myc blot validates the specificity of Myc-tagged Est2. (C) Est2 protein was immunoprecipitated using α-Myc antibody (α-Myc IP) from whole cell lysate (Input) in a strain carrying Myc-tagged *EST2* allele or its *tsa1* derivative. The blot was probed with α-Myc and α-pgk1 antibodies. The wild-type and *tsa1* strains did not show any difference in Est2 level and IP efficiency. (D) Myc-Est2 and its associated telomerase components were mixed with a telomeric template oligonucleotide and radio-labeled dGTP. The wild-type and *tsa1* strains did not show any difference in primer-extension.



Supplementary Figure 5. Telomere length analysis of a strain carrying URA3-Telomere. Individual clones of UMY2585 (wt) and its *tsa1* derivatives (*tsa1*) were analyzed for Y' telomeres (A, telomere repeat probe) and URA3-TEL (B, *URA3* probe). * indicated an unspecific band detected by URA3 probe as a control for DNA fragment migration. The length of TRFs was subtracted by that of *URA3* fragment (~424 bp) or Y' element fragment (~875 bp) to yield *URA3*-TEL or Y'-containing telomere length (shown under each lane). Representative clones are shown. The length of telomeres was compared between two groups using Student's t test. Error bars indicate SD from independent clones. NS, not significant; *, $p<0.05$.



Supplementary Figure 6. Measurement for oxidative DNA lesions in the *tsa1* mutant. (A) For the positive control, genomic DNA from the wild-type cells was treated with H_2O_2 plus Cu^{2+} *in vitro*. Telomere DNA fragments were separated by alkaline gel electrophoresis and detected by Southern blot analysis using a telomere repeat-specific probe. A telomere DNA fragment with oxidative base lesions is converted into smaller fragments by a DNA glycosylase Fpg. The level of DNA glycosylase-sensitive sites were calculated by comparing medium telomere length (MTL) in the same sample treated with (+) or without (−) Fpg using the formula described in the Methods. Each experiment was repeated twice and representative data were shown. High oxidative exposure causes significant increase in Fpg-sensitive lesions that can be easily detected as shorter telomeric DNA fragments and MTL in Fpg (+) samples. (B) Genomic DNA from the wild type or *tsa1* mutant was restricted by 4-base cutters (AluI, HaeI, HinfI, and MspI), treated with (+) or without (−) DNA glycosylase (Fpg, left panel, and EndoIII/VIII, right panel) separated on alkaline gel. DNA lesions were analyzed as in (A).



Supplementary Figure 7. Measurement for DNA blocking lesions in telomere DNA. Genomic DNA was prepared from the wild-type and *tsa1* mutant cells and adjusted to the same concentration (top panel). Tel VIR and Tel XVL were amplified by PCR. Different amount of templates were used to ensure PCR cycles fall in linear detection range. PCR product was run on agrose gel and stained with Sybr Green. After subtraction of background, intensity of telomere PCR signals were calculated and average intensity (mean±SD) of each telomere are shown at the bottom. NS, not significant; Student's t-test.

Table S1. Primers used in Quantitative PCR.

Name	**Sequence**
TLC1 forward	5’-CCATGGGAAGCCTACCAT-3’
TLC1 reverse	5’-GAACTCGTGCAAACTTTGCTAA-3’
U2 forward	5’-TCGATGGGAAGAAATGGTGCTATAG-3’
U2 Reverse	5’-GATAAATAATGTGCCGGATCCCGAAAAACTTCCTCTTGCAGC-3’
EST1 forward	5’-CTGCATTAAAGTATCATTCAGGTAA-3’
EST1 reverse	5’-CGAGTTGTAAACATAAGATCGAAA-3’
EST2 Forward	5’-AACAGACCAACAGCAAGTGA-3’
EST2 Reverse	5’-GATAAATAATGTGCCGGATCCTCTCTATTGGCTTTCGCATTA-3’
ACT1 Forward	5’-TCCGGTGATGGTGTTACTCA-3’
ACT1 Reverse	5’-ATTCTCAAAATGGCGTGAGG-3’