

Table S1. Activities of attP mutants.

#	Mutant	In vitro integration	Std dev	In vivo integration	attP binding	Std dev
1	1A	0.491	0.025	+++	0.685	0.027
2	1G	0.582	0.027	+++	0.737	0.056
3	1C	0.273	0.031	+++	0.729	0.035
4	2A	0.075	0.070	++	0.666	0.098
5	2T	0.643	0.063	+++	0.725	0.040
6	2G	0.098	0.028	+++	0.755	0.028
7	2C	0.252	0.092	++	0.531	0.062
8	3A	0.485	0.068	+++	0.664	0.085
9	3T	0.563	0.014	+++	0.686	0.127
10	3G	0.338	0.032	+++	0.765	0.028
11	3C	0.717	0.014	+++	0.733	0.067
12	4A	0.434	0.018	+++	0.620	0.088
13	4T	0.484	0.009	+++	0.739	0.016
14	4G	0.365	0.020	+++	0.675	0.029
15	5A	0.562	0.029	+++	0.750	0.041
16	5G	0.191	0.029	++	0.657	0.067
17	5C	0.435	0.021	+++	0.633	0.090
18	6A	0.510	0.016	++	0.644	0.102
19	6T	0.523	0.004	+++	0.684	0.071
20	6G	0.484	0.006	+++	0.731	0.028
21	7A	0.515	0.018	+++	0.706	0.051
22	7G	0.519	0.002	+++	0.708	0.094
23	7C	0.644	0.022	+++	0.721	0.084
24	8A	0.507	0.021	+++	0.645	0.065
25	8T	0.506	0.009	+++	0.674	0.075
26	8G	0.546	0.018	+++	0.724	0.043
27	8C	0.499	0.046	+++	0.713	0.062
28	9A	0.497	0.033	+++	0.721	0.077
29	9T	0.507	0.018	+++	0.367	0.023
30	9G	0.468	0.005	+++	0.659	0.079
31	9C	0.583	0.013	+++	0.744	0.063
32	10A	0.446	0.017	+++	0.688	0.045
33	10T	0.510	0.017	+++	0.711	0.063
34	10G	0.474	0.026	+++	0.697	0.065
35	10C	0.481	0.029	+++	0.696	0.053
36	11A	0.474	0.033	+++	0.681	0.046

37	11G	0.355	0.026	++	0.583	0.038
38	11C	0.430	0.017	+++	0.656	0.035
39	12A	0.480	0.028	+++	0.719	0.024
40	12G	0.451	0.042	+++	0.683	0.072
41	12C	0.421	0.014	+++	0.684	0.047
42	13A	0.486	0.015	+++	0.768	0.022
43	13T	0.397	0.021	+++	0.689	0.043
44	13C	0.436	0.012	+++	0.690	0.059
45	14A	0.128	0.028	+	0.515	0.073
46	14T	0.183	0.038	++	0.631	0.037
47	14G	0.279	0.040	++	0.651	0.052
48	15A	0.143	0.018	++	0.558	0.063
49	15T	0.479	0.011	+++	0.810	0.016
50	15G	0.012	0.063	+	0.327	0.093
51	15C	0.508	0.009	+++	0.675	0.101
52	16A	0.429	0.028	++	0.668	0.035
53	16T	0.333	0.012	++	0.706	0.031
54	16G	0.414	0.005	+++	0.674	0.031
55	17A	0.513	0.019	+++	0.737	0.025
56	17G	0.470	0.020	+++	0.705	0.023
57	17C	0.488	0.019	+++	0.687	0.124
58	18T	0.434	0.016	+++	0.668	0.071
59	18G	0.460	0.026	+++	0.696	0.101
60	18C	0.472	0.001	+++	0.702	0.099
61	19A	0.108	0.036	++	0.482	0.056
62	19G	0.461	0.004	+++	0.698	0.073
63	19C	0.035	0.029	+	0.680	0.081
64	20A	0.426	0.013	+++	0.370	0.056
65	20T	0.060	0.022	++	0.407	0.149
66	20C	0.087	0.019	++	0.425	0.136
67	21A	0.493	0.007	+++	0.662	0.036
68	21T	0.457	0.036	+++	0.621	0.069
69	21G	0.474	0.026	+++	0.672	0.075
70	21C	0.456	0.031	+++	0.688	0.028
71	22A	0.401	0.033	+++	0.582	0.079
72	22G	0.369	0.022	++	0.602	0.075
73	22C	0.386	0.013	+++	0.710	0.011
74	23A	0.194	0.029	++	0.555	0.047
75	23G	0.097	0.012	++	0.444	0.023

76	23C	0.204	0.003	++	0.536	0.039
77	24A	0.458	0.027	+++	0.712	0.006
78	24G	0.450	0.043	+++	0.734	0.004
79	24C	0.416	0.045	+++	0.730	0.015
80	wt	0.412	0.056	+++	0.624	0.043

In vitro integration is the fraction of linearized attP substrate converted to product.

In vivo integration is the transformation efficiency of an attP suicide plasmid;
 +: < 10%; ++: 10-60%; +++: > 60% of wild-type attP

attP binding is $1-f_s$, where f_s is the fraction of labeled wild-type attP shifted in competition with mutant attP