

**Supplementary File 9. Primers and sequences.**

Primer	Sequence	Description
<b>tracr RNA Core</b>	GTTTTAGAGCTAGAAATAGCAAGTTAAAATA AGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAGTG GCACCGAGTCGGTGC	Used as template for sgRNA in vitro transcription

***ciwi* deletion**

sgRNA1	CATTTTGTGTTTCTCAACAC <b>TGG</b>	<b>PAM</b>
sgRNA2	GGTACGGTGAGAAGCTCTAC <b>CGG</b>	<b>PAM</b>
T7-sgRNA1 forward primer	CtaatacgactcactataGGCATTGTGTTTCTC AACACgttttagagct	
T7-sgRNA2 forward primer	CtaatacgactcactataGGGGTACGGTGAGAAG CTCTACgttttagagct	
<i>ciwi</i> deletion forward	GCTATTTACCTACACAAACCAATTT	
<i>ciwi</i> Deletion reverse	ACCACGACGTGATCCA	
sgRNA reverse primer	GCACCGACTCGGTGCCACT	

**mCherry-*ciwi* knockout**

sgRNA5	ATGCTGCAGCTCCGGCGCGT <b>AGG</b>	<b>PAM</b>
sgRNA6	TTTTCAATAACCCAAACAT <b>TGG</b>	<b>PAM</b>
T7-sgRNA5 forward primer	CtaatacgactcactataGGATGCTGCAGCTCCG GCGCGTgttttagagct	
T7-sgRNA6 forward primer	CtaatacgactcactataGGTTTTCAATAACCCAA ACATAgtttagagct	

***vasa* HDR**

sgRNA3	GCTCAGTAGTAATAGATTT <b>TGG</b>	<b>PAM</b>
sgRNA4	GGATGATGGTGTCCGTGATG <b>TGG</b>	<b>PAM</b>
T7-sgRNA3 forward primer	CtaatacgactcactataGGGCTCAGTAGTAATA GATTTAgtttagagct	
T7-sgRNA4 forward primer	CtaatacgactcactataGGGGATGATGGTGTGCG GTGATGgttttagagct	
sgRNA reverse primer	GCACCGACTCGGTGCCACT	

***vasa* donor amplification**

<i>vasa</i> donor forward	/Biotin/CGAATCGAAATCTAAGGCAAG	
<i>vasa</i> donor reverse	ATCTTTGGTGTGAGCTCAAGC	

**Primer****Sequence****Description****Primers to detect *vasa* HDR**

<i>vasa</i> HR forward	TGACTTGTGAATCCTTGGTTAC	
<i>vasa</i> HR reverse	CATTTTCATAATCCCTTGGTTCTC	
GFP-HA-Vasa N'-Fw	GCGATAAATTGTTGGAAAC	
GFP-HA-Vasa N'-Rv	TCATCCATCCCGCTAC	
GFP-HA-Vasa C'-Fw	GTTTAGAAACATGgtgagcaagg	
GFP-HA-Vasa C'-Rv	CATTTTCATAATCCCTTGGTTCTC	

**Primers for Colony PCR**

M13 (-20) Fw	GTAAAACGACGGCCAG	
M13 Rv	CAGGAAACAGCTATGAC	

## vasa genomic sequence

Exon, start codon, sgRNA, PAM

CCGATTCCATTTTCCATTATCTTCTTCCGCCATTGCTAGCGTTATTGGCGGC  
TGCTGTCTTTGTTCTATGTGACGCTGTTACATTTATAAATACTACGCAAATA  
CTTCATATAAATTTCAAAGAAGGTAAGATTTCAAATAGTTATTGTTACTGAA  
CAAATATTTACTGGAATGCGCATATTTGCTCTAAACACGTGCAAATAGTTGA  
CAAATGCCGGTGCCGGTTGTAGCAAATTTTCAAATTTTGTGACTGAAAGTT  
TTTTTCTGCGATAAATTGTTGGAAACAAATTTATTTGGTCTATATTTTCCTTT  
ATTCATTTGTACTAATATCGAATCGAAATCTAAGGCAAGTTTCAAACCACTTA  
GGTGGGTAGGTATTCTGTTTCATGTAGGTAGATAAACTTTTCAATTATTAGCC  
TGTAACAACTATTGATTGTGTTTATGTTGAAAGATTTATTATGTTTATTATTGAC  
TTAGTTGCATTTTCGTAATTCTTGTTAGTTTCTAGTTACCTGCACCATTTTGT  
GATGGCATGGCTGCTTGTAGGTACCTATTACTTTTTGTTACCAAGTGATTTTC  
GGTTAAGTTTGGTGGTTTCGATTAAATAAATTACTTTTTAGGTTTTTTAGTTG  
ACTGTAATGTTTTTGTCTATTGTGTTATTTCAATTTTGATGGATAGGAAAATGTA  
GATAACATACTCATACACAAACAAGATCAAATGCTATGAAATACAAGTTTAAT  
AAGTATTGATACTGATTAATAATTGTAGAAGTTGTATAAGTCTCTTAAAAAACT  
GTTATGAATTATTCTTAGCTCATAACGTTAAGTTACTATACATGTGAAAAGGA  
TCACCTCTGTAGAGCAAAGTGTGACTTGTGAATCCTTGGTTACTTAGATAGA  
GTATCTTTCAAATTAATTGTTCTTTAATATGCTATAAAAAAGGAAATATAGGTA  
GGAAATTAGGAATGTCAATATTCATGTTAGTCGCCCCAAATTCAGCTAAATTT  
TGTAATAGATTTTATACACAGTAGCGAACCATTTTGCTGAGCTAAGTCCA  
GTAGCATAAATCTATTACTACTGAGCATTATTATACATTTTATTTTTCTGTTT  
AGAAACATGGATGATGATTGGGATGATGGTGTCTGGTGATGTGTAAGTATT  
TAGCGTATAGTCATATTCAAATTTTAGGGTTTTAAATGGTATATGGCCAATT  
GAGCTGACTTGTTGCTATTAACACCTGAGGAATAAATGTATGTCAACAACAA  
TGAGAATTATTGTTTATACATTTATGATAATGCTTATTAGTATCCAATGGTGCT  
GCTAAACCCAAGATGAGTGACAATTCTGCTCATCATCACATGCTCTTAGTAC  
CATAATGAATCAAAAATAATAATAGCCTAGTTTACTTACAGTATCATCTAGAG  
AATTAATCTAATTGCATTTGTATAATTTGAATAATGTCTTAGTTAAATGCA  
CAAGATTTTGGGCTCTAGTGATGTACATGATACTTGTAGCTTTTGACAAAA  
GATAGAATAACTTTTATTTTTTAGGTAGTACAATCTCCTGCACTTAACAACCTA  
CGACTCAAATGTTGATCAAGGGCACAGTCTTTCGAGAGGAAGAGGATTCCA  
GTCATTTGATGAAAATGGTAATAATTAATTTGCAAGTCCTGATAATCTGACTT  
ATCACTTCTCCCATTTTTTATTGCTGTATTTAGTACTAATAAAATTGCAACATA  
ACAAAACCTGAACTTAGCTAACTCATTTTTTCAAGGTATCAGCATTCTTGACT  
ACAACACTTCATACACTTATGGCTTTACCACTTAAGTGTTACAAATGAGCCTT  
GTTGGTTATACACAGCTTGAGCTCACACCAAAGATATCATGTTACTACTTATA

ATTATAAGTTCTAAGGTCTGCATGTTTCATGTTTAGATTATGAAGTGGATAAGG  
GCAGCAACGGTTTTGGAGAGAGGCGCGGGCGCGGGCGGTAGAGGCGGGCG  
GGGAGGAGGCCGTGGGTTCCGTAATGGTGGAACAGGTAGCAGAGAACCAA  
GGGATTATGAAAATG

## ssDNA donor sequence

Inserted sequence, mutated nucleotide

CGAATCGAAATCTAAGGCAAGTTTCAAACCACTTAGGTGGGTAGGTATTCTG  
TTTCATGTAGGTAGATAAACTTTTCAATTATTAGCCTGTACAACTATTGATTGT  
GTTTATGTTGAAAGATTTATTATGTTTATTATTGACTTAGTTGCATTTTCGTAA  
TTCTTGTTAGTTTCTAGTTACCTGCACCATTTTGTGATGGCATGGCTGCTTG  
TAGGTACCTATTACTTTTTGTTACCAAGTGATTTTCGGTTAAGTTTGGTGGTT  
TCGATTAAAATAAATTACTTTTTAGGTTTTTTAGTTGACTGTAATGTTTTTGT  
ATTGTGTTATTTCAATTTTGATGGATAGGAAAATGTAGATAACATACTCATAC  
ACAAACAAGATCAAATGCTATGAAATACAAGTTTAATAAGTATTGATACTGAT  
TAAAATTGTAGAAGTTGTATAAGTCTCTTAAAAAACTGTTATGAATTATTCTTA  
GCTCATAACGTTAAGTTACTATACATGTGAAAAGGATCACCTCTGTAGAGCA  
AAGTGTGACTTGTGAATCCTTGGTTACTTAGATAGAGTATCTTCAAATTAAT  
TGTTCTTTAATATGCTATAAAAAAGGAAATATAGGTAGGAAATTAGGAATGTC  
AATATTCATGTTAGTCGCCCCAAATTCAGCTAAATTTTGTAATAGATTTTATA  
CAACAGTAGCGAACAAATTTTGTCTGAGCTAAGTCCAGTAGCAATAAATCTATT  
ACTACTGAGCATTATTATACATTTTATTTTCTGTTTAGAAACatggtgagcaaggg  
cgaggagctgttcaccggggtggtgccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcag  
cgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctaaggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaa  
gctgccgtgccctggccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgttcagccgctaccccgacc  
acatgaagcagcagcacttctcaagtccgccatgccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttctcaag  
gacgacggcaactacaagaccgcgcgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagc  
tgaagggcatcgactcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccac  
aacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaactcaagatccgccacaacatcgag  
gacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacacccccatcgggcgacggccccgtgctgtgcc  
cgacaaccactacctgagcaccagtcgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcc  
tgctggagttcgtgaccgcccgggatcactctcggcattggacgagctgtacaagggtagtagcggaTACC  
CATACGATGTTCCAGATTACGCTggtagtagcggaagtagcgggATGGATGATGATT  
GGGATGATGGTGTCTGGTGATGTAGTAAGTATTTAGCGTATAGTCATATTCAA  
AATTTTAGAGTTTTAAATGGTATATGGCCAATTGAGCTGACTTGTTGCTATTA  
ACACCTGAGGAATAAATGTATGTCAACAACAATGAGAATTATTGTTTATACAT  
TTATGATAATGCTTATTAGTATCCAATGGTGCTGCTAAACCCAAGATGAGTG  
ACAATTCTGCTCATCATCATGCTCTTAGTACCATAATGAATCAAAAATAAT

AATAGCCTAGTTTACTTACAGTATCATCTAGAGAATTA AAAATCTAATTGCATT  
TGTATAATTTGAATAATGTCTTAGTTAAAATGCACAAGATTTTTGGGCTCTAG  
TGATGTACATGATACTTGTTAGCTTTTGACAAAAGATAGAATAACTTTTTATTTT  
TTAGGTAGTACAATCTCCTGCACTTAACAAC TACGACTCAAATGTTGATCAA  
GGGCACAGTCTTTTCGAGAGGAAGAGGATTCCAGTCATTTGATGAAAATGGT  
AATAATTAATTTGCAAGTCCTGATAATCTGACTTATCACTTCTCCCATTTTTTA  
TTGCTGTATTTAGTACTAATAAAATTGCAACATAACAAA ACTTGAACTTAGC  
TAACTCATTTTTCAAGGTATCAGCATTCTTGACTACAACACTTCATACACTTA  
TGGCTTTACCACTTAAGTGTTACAAATGAGCCTTGTTGGTTATACACAGCTT  
GAGCTCACACCAAAGAT

### Plasmid template for generating ssDNA donor

Primer binding site, **Inserted sequence**, **Mutated PAM**, Plasmid backbone

CGAATCGAAATCTAAGGCAAGTTTCAAACCACTTAGGTGGGTAGGTATTCTG  
TTTCATGTAGGTAGATAAACTTTTCAATTATTAGCCTGTACA ACTATTGATTGT  
GTTTATGTTGAAAGATTTATTATGTTTATTATTGACTTAGTTGCATTTTCGTAA  
TTCTTGTTAGTTTCTAGTTACCTGCACCATTTTGTTGATGGCATGGCTGCTTG  
TAGGTACCTATTACTTTTTGTTACCAAGTGATTTTCGGTTAAGTTTGGTGGTT  
TCGATTAAAATAAATTACTTTTTAGGTTTTTTAGTTGACTGTAATGTTTTTGCT  
ATTGTGTTATTTCAATTTTGATGGATAGGAAAATGTAGATAACATACTCATAC  
ACAAACAAGATCAAATGCTATGAAATACAAGTTTAATAAGTATTGATACTGAT  
TAAAATTGTAGAAGTTGTATAAGTCTCTTAAAAAACTGTTATGAATTATTCTTA  
GCTCATAACGTTAAGTTACTATACATGTGAAAAGGATCACCTCTGTAGAGCA  
AAGTGTGACTTGTGAATCCTTGGTTACTTAGATAGAGTATCTTTCAAATTAAT  
TGTTCTTTAATATGCTATAAAAAAGGAAATATAGGTAGGAAATTAGGAATGTC  
AATATTCATGTTAGTCGCCCCAAATTCAGCTAAATTTTGTAATAGATTTTATA  
CAACAGTAGCGAAC**a**ATTTTGCTGAGCTAAGTCCAGTAGC**a**ATAAATCTATTA  
CTACTGAGCATTATTATACATTTTATTTTCTGTTTAGAAAC**ATGgtgagcaaggg**  
**cgaggagctgtcaccggggtggtgcccacctggtcgagctggacggcgacgtaaaccggccacaagttcag**  
**cgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgacctgaagttcatctgcaccaccggcaa**  
**gctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgttcagccgctaccccgacc**  
**acatgaagcagcagcacttctcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttctcaag**  
**gacgacggcaactacaagacccgcgcgaggtgaagttcgagggcgacacctggtgaaccgcatcgagc**  
**tgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccac**  
**aacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgag**  
**gacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacacccccatcggcgacggccccgtgctgctgcc**  
**cgacaaccactacctgagcaccacgtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcc**  
**tgctggagttcgtgaccgccgcccgggatcactctcggcgtggacgagctgtacaagggtagtagcggaTACC**

CATACGATGTTCCAGATTACGCTggtagtagcggaagtagcgggATGGATGATGATT  
GGGATGATGGTGTCTGGTATGTaGTAAGTATTTAGCGTATAGTCATATTCAA  
AATTTTAGaGTTTTAAATGGTATATGGCCAATTGAGCTGACTTGTTGCTATTA  
ACACCTGAGGAATAAATGTATGTCAACAACAATGAGAATTATTGTTTATACAT  
TTATGATAATGCTTATTAGTATCCAATGGTGTCTGCTAAACCCAAGATGAGTG  
ACAATTCTGCTCATCATCACATGCTCTTAGTACCATAATGAATCAAAAATAAT  
AATAGCCTAGTTTACTTACAGTATCATCTAGAGAATTAAAATCTAATTGCATT  
TGTATAATTTGAATAATGTCTTAGTTAAAATGCACAAGATTTTTGGGCTCTAG  
TGATGTACATGATACTTGTTAGCTTTTGACAAAAGATAGAATAACTTTTTATTTT  
TTAGGTAGTACAATCTCCTGCACTTAACAACACTACGACTCAAATGTTGATCAA  
GGGCACAGTCTTTCGAGAGGAAGAGGATTCCAGTCATTTGATGAAAATGGT  
AATAATTAATTTGCAAGTCCTGATAATCTGACTTATCACTTCTCCCATTTTTTA  
TTGCTGTATTTAGTACTAATAAAATTGCAACATAACAAAACCTTGAACTTAGC  
TAACTCATTTTTCAAGGTATCAGCATTCTTGACTACAACACTTCATACACTTA  
TGGCTTTACCACTTAAGTGTTACAAATGAGCCTTGTTGGTTATACACAGCTT  
GAGCTCACACCAAAGATATCATGTTACTACTTATAATTATAAGTTCTAATGCA  
GATATCCATCACACTGGCGGCCGCTCGAGCATGCATCTAGAGGGCCCAATT  
CGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCG  
TACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCC  
CCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTT  
CCCAACAGTTGCGCAGCCTATACGTACGGCAGTTTAAGGTTTACACCTATAA  
AAGAGAGAGCCGTTATCGTCTGTTTGTGGATGTACAGAGTGATATTATTGAC  
ACGCCGGGGCGACGGATGGTGTATCCCCCTGGCCAGTGCACGTCTGCTGTC  
AGATAAAGTCTCCCGTGAACTTTACCCGGTGGTGCATATCGGGGATGAAAG  
CTGGCGCATGATGACCACCGATATGGCCAGTGTGCCGGTCTCCGTTATCGG  
GGAAGAAGTGGCTGATCTCAGCCACCGCGAAAATGACATCAAAAACGCCAT  
TAACCTGATGTTCTGGGGAATATAAATGTCAGGCATGAGATTATCAAAAAGG  
ATCTTCACCTAGATCCTTTTACGTAGAAAGCCAGTCCGCAGAAACGGTGCT  
GACCCCGGATGAATGTCAGCTACTGGGCTATCTGGACAAGGGGAAAACGCAA  
GCGCAAAGAGAAAGCAGGTAGCTTGCAGTGGGCTTACATGGCGATAGCTA  
GACTGGGCGGTTTTATGGACAGCAAGCGAACCAGGAATTGCCAGCTGGGGC  
GCCCTCTGGTAAGGTTGGGAAGCCCTGCAAAGTAACTGGATGGCTTTCTC  
GCCGCCAAGGATCTGATGGCGCAGGGGATCAAGCTCTGATCAAGAGACAG  
GATGAGGATCGTTTCGCATGATTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTC  
CGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACA  
ATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGGCGCCC  
GGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAAGA  
CGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAG  
CTGTGCTCGACGTTGTCCTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGC  
GAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAA

GTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGGCTGCATACGCTTGATCCGGCT  
ACCTGCCCATTTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACT  
CGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCA  
GGGGCTCGCGCCAGCCGAAGTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGAGCATGCCC  
GACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATC  
ATGGTGGAATAATGGCCGCTTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGT  
GTGGCGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAA  
GAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTACGGTATCGCC  
GCTCCCGATTTCGACGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCT  
GAATTATTAACGCTTACAATTTCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTG  
TGCGGTATTTACACCGCATAACAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCG  
GAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGA  
GACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATAGCACGTGAGGAGGGCCACCA  
TGGCCAAGTTGACCAGTGCCGTTCCGGTGCTCACCGCGCGCGACGTGCGC  
GGAGCGGTTCGAGTTCTGGACCGACCGGCTCGGGTTCTCCCGGGACTTCGT  
GGAGGACGACTTCGCCGGTGTGGTCCGGGACGACGTGACCCTGTTTCATCA  
GCGCGGTCCAGGACCAGGTGGTGCCGGACAACACCCTGGCCTGGGTGTG  
GGTGCGCGGCCTGGACGAGCTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCTGTGTCCA  
CGAACTTCCGGGACGCCTCCGGGGCCGGCCATGACCGAGATCGGCGAGCA  
GCCGTGGGGGCGGGAGTTCGCCCTGCGCGACCCGGCCGGCAACTGCGTG  
CACTTCGTGGCCGAGGAGCAGGACTGACACGTGCTAAAACTTCATTTTTAAT  
TTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAATCCCT  
TAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAA  
GGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA  
AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC  
TCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTC  
CTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCG  
CCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGC  
GATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGAAGTCAAGACGATAGTTACCGGATAAG  
GCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGG  
AGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA  
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGC  
AGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCT  
GGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT  
TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACG  
CGGCCTTTTTTACGGTTCCTGGGCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT  
TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGA  
GCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG  
CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTT  
GGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGG

GCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCC  
AGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG  
ATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTATTT  
AGGTGACACTATAGAATACTCAAGCTATGCATCAAGCTTGGTACCGAGCTC  
GGATCCACTAGTAACGGCCGCCAGTGTGCTGGAATTCGCC

### Hi5 *ciwi* genomic sequence

Exon, sgRNA for *ciwi* deletion, sgRNA for mCheery-*ciwi* knockout PAM

GCTATTTACCTACACAAACCAATTTAAATATATGAACCGAACACTCATTGAT  
GTTGCCAAGTTAAAATCAAAAATCAATGGGCATTAACAACCAGAAAGTTTATT  
GCGTAAAATGATTATTTTTCATTACAATTTATTTCTGATCGAACACAAAAGAT  
CAGGGAGATTATTCAAGTAGTTAAAAAGGTAAATAGCCTAATTAGTAATAAAT  
GGCATAACGCGTTCCAGAAAAAGTGAATATTTTTCACATTTGATTTATAACATT  
GCAACATTATTCTGTTATTTTTTTTATCGATATTTACTCACAACAAAATCAACAA  
ATTATCGACATGTAAACATTCGGCTATAGCAATAGGGTAACACAGCTCTAGGA  
CTTCTCTTTTTTCTGTTTGCGCGTGCGTACAACGCACGTAGATTTGCTGTTT  
GACTTGTGATAATAATTAAGTTTTGTTTTGCTTATTCTAAGCCGGTAACCTTA  
CAATTTCTAGATTAAGTAACTAAGGTAAGTTACTTTTCGTTGTTATTATAATA  
ACTCAGATTGGTATTCTCAGGTCCTCACAGGGTCGCCATTTTTTCATTCTTAAT  
ATTTTGGCGTATAAACTGACCCACTGAAGAAAAAACAGATACCTACTTGAA  
TATGATGATAACATATTAATTATAACGGTGAGCTTGATACAGCATCTTGATT  
CTATATTTGTTTTATTTCAGAATTAAGGAAAGAAACAGGTACCTAGGTATCTCA  
ATCGTGTTCAATTTTGTATAAGTATAAATATTGTTTTATAGTATATACCTATCT  
AAAACCTCACATAATATTATCCTTAATTATCTCAAAGAGATTTGATATTGAAAT  
ACGACGTATATAAGATACATTCTTGGTTTACCTATCTTATTGTTTTGCTTCATA  
TATAATAAAATTCTACCTCCATTTTTTTTTGTTAAGTCTTGTGTTTCGAAGAATT  
CCTTCTAGCGGTTGATGTATCAAATTTTCGTATAGTGTGCAAATTTTTTAGTAC  
CTACGTAGTCTAGTTATTACAATACGCGACTAAATACTCGGTTTTTACATACA  
GCACATACTAATAATATGTGAAAGTGATCTAAATACTCAAAGCTGGATGGC  
CTTAAACAAGATTGACCTTGAAAAACCCTCGCGGTTGTCTCAGTCCCGTTTT  
CGTGGAATACACCTTTTTTTTTTAAATATTCATTTCGTATTCCATACAAAGTCTCT  
CAATTTCCGTTACGAAATTGAAAACATAATTTAGATAAGAAATGAAGCGTTTC  
TTAATGTAATACATACAAGTTGCAACATGTCTATGTTGTGAACAGCCTGTGAT  
ATTATACTGATACTCTATCAACTCAAATTTCTTTACTTGTTATTGGGACTGATA  
ATGAACAAAAATGTGGTTAGTGTTCTGGAGTTTCATGAGACACAGATACTTA  
AATAGAATAAACAAACAAACAGTTTTCCATTGTTTTGTCCAGTGTGAGAAAC  
ACAAAATGGAATGTAATGACAGTACCTCATTTAATACTGAATCAGGCTCAC  
TATAATTACTATAAAAAGGTCCAGTATAATAAGAAATTGCAGCAAGTTTTGG

AAATATAGCTTTTTGTCAGACAGTAATGCCTTAGTAAATGGGTACCATTTTTG  
 GGCTAGGAACCCTAAGAAATCAATCATTTTAATGGTACGCTAAACAATGATC  
 ACTGGACTATTCATATTACATTTACTCTACTAAAGTGCATTTCTAGAAATGTG  
 AAATAAAGCTTCCTTATTTTCATTGCATGAAACACCAGTTTATCTTATTATTGTA  
 TAGTTGTGTTTCATTTGTGTTTTAAAAAATCATCATACTGCGCACACTAGTTGT  
 TTTTTTACTGTAAACCAGACACTAATAAACATTAGTCTGTTCAAAGCCACA  
 TTTCAATTTTAACATTTCTCTTGTGATCTTAAAATAAATAAATGAACATCTGAT  
 ATATTTGTTTTGGTTTTTTTTTAGTGAAGTGACACAATAAGATTGTTTATCTTT  
 TCTAACAGCATGTAAAATTAGTAACAAAAAAGTTATATGAGCATCCATTATGA  
 ATAGTTAACCTAGTCCATATGTTTGGGTTATTGAAAACATTTTAAAGCTTATTA  
 AATTTATCATTTAGATGTCCGAACGCGGACGTGGACGAGCCCGAGGGCTAG  
 CAGGTAGAGGGGGGCGATAATGCTGCAGCTCCGGCGCGTAGCCTGGGGA  
 ACGACCCCAAGGCCACCACAACAACAAGGTCCTGTGGGGCCCCGTC  
 CTCAGCCACCTTCGGCATGGGCACCACCCACTGTTGCCCTCCGGTCAGA  
 GCTGGGGTGCCAACGCCAAGTGTGCAAGCCGCTAGAGCTTCTCACCGTAC  
 CACGCCTACCACCCATCAAGATCATCCTGGGGATGTTGATGTTCAACAGAG  
 GATGCAGGCAATGCAAATTGGTTAGTGATCTTAATTGTAACAATGAATTCAAT  
 TATTTCCGCTTTATTCCGATTTAACTCATGAAACAACCGTTTCGATCAGGACA  
 AGCCCAAGCCGGTGCTAGTGCGCATCCAGGTTCTGTCAGTGATTGGTCGTG  
 GATCACGTCGTGGT

### ***mCherry-ciwi* knockout plasmid donor sequence**

sequence inserted, mutated PAM, stop codon, plasmid backbone

CTATCAACTCAAATTCTTTACTTGTATTGGGACTGATAATGAACAAAAATG  
 TGGTTAGTGTTCTGGAGTTTCATGAGACACAGATACTTAAATAGAATAAACA  
 AACAAACAGTTTTCCATTGTTTTGTCCAGTGTTGAGAAACACAAAATGGAAAT  
 GTAATGACAGTACCTCATTTAATACTGAATCAGGCTCACTATAATTACTATAA  
 AAAGGTCCAGTATAATAAAGAAATTGCAGCAAGTTTTGGAAATATAGCTTTTT  
 GTCAGACAGTAATGCCTTAGTAAATGGGTACCATTTTTGGGCTAGGAACCCT  
 AAGAAATCAATCATTTTAATGGTACGCTAAACAATGATCACTGGACTATTCAT  
 ATTACATTTACTCTACTAAAGTGCATTTCTAGAAATGTGAAATAAAGCTTCCT  
 TATTTCAATTGCATGAAACACCAGTTTATCTTATTATTGTATAGTTGTGTTCA  
 TGTGTTTTAAAAAATCATCATACTGCGCACACTAGTTGTTTTTTTACTGTAAA  
 ACCAGACACTAATAAACATTAGTCTGTTCAAAGCCACATTTCAATTTTAACAT  
 TTCTCTTGTGATCTTAAAATAAATAAATGAACATCTGATATATTTGTTTTGGTT  
 TTTTTTTAGTGAAGTGACACAATAAGATTGTTTATCTTTCTAACAGCATGTAA  
 AATTAGTAACAAAAAAGTTATATGAGCATCCATTATGAATAGTTAACCTAGTC  
 AATATGTTTGGGTTATTGAAAACATTTTAAAGCTTATTAAATTTATCATTTAGA  
 TGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACTCCGCCATCATCAAGGAGTTCCTG

CGCTTCAAGGTGCACATGGAGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGAT  
CGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCAGCCAGACCGCCAAG  
CTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTC  
CCCTCAGTTCATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACAT  
CCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGT  
GATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCTC  
TGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTC  
CCCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTC  
CTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGGGCGAGATCAAGC  
AGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACC  
ACCTACAAGGCCAAGAAGCCCGTGACGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAA  
CATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAACA  
GTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGCTG  
TACAAGTAGTCTAGAATGAATCGTTTTTAAAATAACAAATCAATTGTTTTATAA  
TATTCGTACGATTCTTTGATTATGTAATAAAATGTGATCATTAGGAAGATTAC  
GAAAAATATAAAAAATATGAGTTCTGTGTGTATAACAAATGCTGTAAACGCCA  
CAATTGTGTTTGTTGCAAATAAACCCATGATTATTTGATTAAATTGTTGTTTT  
CTTTGTTCATAGACAATAGTGTGTTTTGCCTAAACGTGTACTGCATAAACTCC  
ATGCGAGTGTATAGCGAGCTAGTGGCTAACGCTTGCCCCACCAAAGTAGAT  
TCGTCAAAATCCTCAATTTTCATCACCTCCTCCAAGTTTAACATTTGGCCGTC  
GGAATTAACCTCTAAAGATGCCACATAATCTAATAAATGAAATAGAGATTCAA  
ACGTGGCGTCATCGTCCGTTTTCGACCATTTCCGAAAAGAACTCGGGCATAA  
ACTCTATGATTTCTCTGGACGTGGTGTTCGAAACTCTCAAAGTACGCAGT  
CAGGAACGTGCGCGACATGTCGTGCGGAAACTCGCGCGGAAACATGTTGT  
TGTAACCGAACGGGTCCCATAGCGCCAAAACCAAATCTGCCAGCGTCAATA  
GAATGAGCACGATGCCGACAATGGAGCTGGCTTGGATAGCGATTTCGAGTTA  
ACGGCCGGCCCTCCGAACGCGGACGTGGACGAGCCCGAGGGCTAGCAGGT  
AGAGGGGGCGATAATGCTGCAGCTCCGGCGCGTAAGCCTGGGGAACGACC  
CCAAGGCCACCAACAACAACAAGGTCCTGTGGGGCCCCGTCCTCAGC  
CACCTTCGGCATGGGCACCACTGTTGCCCTCCGGTCAGAGCTGGG  
GTGCCAACGCCAACTGTGCAAGCCGGTAGAGCTTCTACCGTACCACGCCT  
ACCACCCATCAAGATCATCCTGGGGATGTTGATGTTCAACAGAGGATGCAG  
GCAATGCAAATTGGTTAGTGATCTTAATTGTAACAATGAATTCAATTATTTCC  
GCTTTATTCCGATTTAACTCATGAAACAACCGTTTCGATCAGGACAAGCCCA  
AGCCGGTGCTAGTGGCGATCCAGGTTTCGTGAGTATTGGTCGTGGATCACG  
TCGTGGTGGCGGCCGAGTGCTGCCTGAACAAATAACCGTTCTTAGGACTCG  
TCCTACTACTATCCAGTCTAAGAAAGGTAAGTCTTTGTTGTTTATTATCTACA  
TTATAAACTATTTACTACACGTAAATAGAACAATCTGTATATCCATCTAATTT  
AGTGTTGGAAGTTTTTATTATAAAATCTTAATTTTCTCATAGGTTTCATCGGGT  
ACAGTAATTGATTTGAAAGCCAACTACTTCACTGTGCAGACTACACCACAGT

GGTGCTTATACCAGTATCATGTAGATATTACTCCCGAAGAAGATAGCACCGC  
GGTTCGCAAAGGCTTGTTGCGTATTCACGCCAATACACTGGGAGGTGCAGA  
TATCCATCACACTGGCGGCCGCTCGAGCATGCATCTAGAGGGGCCCAATTG  
CCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTG  
ACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCCCC  
CTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCC  
CAACAGTTGCGCAGCCTATACGTACGGCAGTTTAAGGTTTACACCTATAAAA  
GAGAGAGCCGTTATCGTCTGTTTGTGGATGTACAGAGTGATATTATTGACAC  
GCCGGGGCGACGGATGGTGATCCCCCTGGCCAGTGACAGTCTGCTGTGAC  
ATAAAGTCTCCCGTGAACCTTACCCGGTGGTGATATCGGGGATGAAAGCT  
GGCGCATGATGACCACCGATATGGCCAGTGTGCCGGTCTCCGTTATCGGG  
GAAGAAGTGCTGATCTCAGCCACCGCGAAAATGACATCAAAAACGCCATT  
AACCTGATGTTCTGGGGAATATAAATGTCAGGCATGAGATTATCAAAAAGGA  
TCTTCACCTAGATCCTTTTACGTAGAAAGCCAGTCCGCAGAAACGGTGCT  
GACCCCGGATGAATGTCAGCTACTGGGCTATCTGGACAAGGGAAAACGCAA  
GCGCAAAGAGAAAGCAGGTAGCTTGCAGTGGGCTTACATGGCGATAGCTA  
GACTGGGCGGTTTTATGGACAGCAAGCGAACCGGAATTGCCAGCTGGGGC  
GCCCTCTGGTAAGGTTGGGAAGCCCTGCAAAGTAACTGGATGGCTTTCTC  
GCCGCCAAGGATCTGATGGCGCAGGGGATCAAGCTCTGATCAAGAGACAG  
GATGAGGATCGTTTCGCATGATTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTC  
CGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACA  
ATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGGCGCCC  
GGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAAGA  
CGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTTCTTGCGCAG  
CTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGC  
GAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAA  
GTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCT  
ACCTGCCCATTGACACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTACT  
CGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCA  
GGGGCTCGCGCCAGCCGAACCTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGAGCATGCCC  
GACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATC  
ATGGTGGAATAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGT  
GTGGCGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAA  
GAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGCTTTACGGTATCGCC  
GCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCT  
GAATTATTAACGCTTACAATTTCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTG  
TGCGGTATTTACACCGCATACAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCG  
GAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGA  
GACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATAGCACGTGAGGAGGGGCCACCA  
TGGCCAAGTTGACCAGTGCCGTTCCGGTGCTCACCGCGCGCGACGTCGCC

GGAGCGGTTCGAGTTCTGGACCGACCGGCTCGGGTTCTCCCGGGACTTCGT  
GGAGGACGACTTCGCCGGTGTGGTCCGGGACGACGTGACCCTGTTTCATCA  
GCGCGGTCCAGGACCAGGTGGTGCCGGACAACACCCTGGCCTGGGTGTG  
GGTGCGCGGCCTGGACGAGCTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCA  
CGAACTTCCGGGACGCCTCCGGGGCCGGCCATGACCGAGATCGGCGAGCA  
GCCGTGGGGGCGGGAGTTCGCCCTGCGCGACCCGGCCGGCAACTGCGTG  
CACTTCGTGGCCGAGGAGCAGGACTGACACGTGCTAAACTTCATTTTTAAT  
TTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAATCCCT  
TAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAA  
GGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA  
AAAACCAACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC  
TCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTC  
CTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCG  
CCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGC  
GATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGAAGACGATAGTTACCGGATAAG  
GCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGG  
AGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA  
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGC  
AGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCT  
GGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT  
TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACG  
CGGCCTTTTTACGGTTCCTGGGCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT  
TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGA  
GCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG  
CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTT  
GGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGG  
GCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCC  
AGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG  
ATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTATTT  
AGGTGACACTATAGAATACTCAAGCTATGCATCAAGCTTGGTACCGAGCTC  
GGATCCACTAGTAACGGCCGCCAGTGTGCTGGAATTCGCC