

Motif 1.1 (yarP)

Dmel CA TTC TGT GCG AA C CACT TTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dyak CCTTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dere CCTTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dana CCTTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dpse CAGTCTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dwil CACTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dvir GCTTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dmoj CACTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG

Motif 1.2

Dmel CGAGTGGCCAAGGCC ---ACTCAAAA-CCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG
Dyak CGAGTGGCCAAGGCC ---ACTCAAAAACCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG
Dere GGAGTGGCCAAGGCC ---ACTCAAAAACCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG
Dana GGAGTGGCCAAGGCC ---ACTCAAAAACCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG
Dpse CACTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dwil CACTCTGTGCGAA CCACTTAACGCCAAAAGTGA CAAAACAACACTTGCTCTATTAACAGGCCA CACTGTC GAAGGCAG
Dvir ---GCAATCAAGGCCGTTACTTCAAAAACCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG
Dmoj ---GCAATCAAGGCCGTTACTTCAAAAACCGCTTCAATTAATTTGGAGCACACTTTTGGCTTGTGGTGG

Motif 1.3

Dmel -TTTTCACATGCGCCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dyak -TTTTCACATGCGCCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dere -TTTTCACATGCGCCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dana CAGCCACAGGTG-CCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dpse CTCCACAGGTG-CCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dwil TTCCACAGGTG-CCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dvir TTTCACATGCGCCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA
Dmoj CT CACATGCGCCAGTGAGAATTGACAAATTTCCATTTCGTC AATTCGAAACAATAAAA-GCTAAAAC TCAACGAAA

Motif 1.4

Dmel --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dyak --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dere --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dana --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dpse --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dwil --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dvir --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG
Dmoj --TTACGTTAGACGCCCTTAAATTTACGCTGCCATTTGTGGCTTCCGTTTCGTTATAAG

Motif 2.1

Dmel GCCACAGTGCAGAGC-AATTGCTACTGTAGTTGTCATTAGTTCCTCCGCACTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dyak GCCACAGTGCAGAGC-AATTGCTACTGTAGTTGTCATTAGTTCCTCCGCACTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dere GCCACAGTGCAGAGC-AATTGCTACTGTAGTTGTCATTAGTTCCTCCGCACTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dana --CCACTGTTCCGGCCCACTGCCACCTGGTTGTCATTAGTCCGCTGCCTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dpse GCCCGGTTGCTGTCG--TTGGCCAGTGGTTGTCATTAGTCCGCTGCCTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dwil GCCACAGTGCAGAGC-AATTGCTACTGTAGTTGTCATTAGTTCCTCCGCACTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dvir --CCACTGTTCCGGCCCACTGCCACCTGGTTGTCATTAGTTCCTCCGCTGCCTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dgri --CCACTGTTCCGGCCCACTGCCACCTGGTTGTCATTAGTTCCTCCGCTGCCTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG
Dmoj GCCCGGTTGCTGTCG--TTGGCCAGTGGTTGTCATTAGTCCGCTGCCTTGCCTGTTGTAATTTGTGACAGGAGCAACGAGCAGGGATTGCTAAAGGGTCGA--TCTCCAGTTG

Motif 2.3

Dmel CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGGAATCAGTTAAGAC
Dyak CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dere CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dana CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dpse CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dwil CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dvir CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dgri CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC
Dmoj CCTATGCTAATGATGGCAATTAATCAATGAGAATCAGTTAAGAC

Motif 2.4

Dmel GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dyak GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dere GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dana GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dpse GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dwil GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dvir GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dgri GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT
Dmoj GATCGTGAGTGCCAGAAGCTGATTTACGCG-CGGCTACCGAT

Motif 2.5

Dmel ACTACAATTAATCAAAAATCGCCATCTTCTTCGTTGAATTTCAAAAAGGCTTGGCTTTGCTCCGGCCATAAATAT
Dyak ACTACAATTAATCAAAAATCGCCATCTTCTTCGTTGAATTTCAAAAAGGCTTGGCTTTGCTCCGGCCATAAATAT
Dere ACTACAATTAATCAAAAATCGCCATCTTCTTCGTTGAATTTCAAAAAGGCTTGGCTTTGCTCCGGCCATAAATAT
Dana AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCT-TCTGCTCCGGCCATAAATAT
Dpse AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCTCCGGCCATAAATAT
Dwil AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCTCCGGCCATAAATAT
Dvir AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCTCCGGCCATAAATAT
Dgri AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCTCCGGCCATAAATAT
Dmoj AAGCCAAACATGCAACATAATTTATATTAATTTTGTGTCAGATAATGATAGCGCCTCTGCTCCGGCCATAAATAT

Figure S1 Multiple conserved MEME-identified motifs identified in the y-ac intergenic region. Comparative sequence analyses were completed using the y-ac intergenic regions from nine *Drosophila* species. These include species in the subgenus *Sophophora* estimated to represent 10 million years (myrs) of evolution [*D. yakuba* (yak), *D. erecta* (ere)], and 20-30 myrs [*D. ananassae* (ana), *D. pseudoobscura* (pse), *D. willistoni* (wil)], and species in the subgenus *Drosophila* estimated to represent 40-60 myrs of evolution [*D. virilis* (vir), *D. mojavensis* (moj), and *D. grimshawi* (gri)]. ClustalW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>) and BoxShade (http://www.ch.embnet.org/software/BOX_form.html) were used to show identity (black) or similarity in base (purine or pyrimidine, grey). Gaps in the alignments are shown by (-).