Table S1. Constructs used in RNC preparation (top) and in vivo translocation assays (bottom). Amb, amber codon.

| Nascent chain | Amino acid sequence |
|---------------|---------------------|
| PhoA          | MKQSTIALALLPLFTAmbVTKARTPEMVPVLNRAAQDGITAPGGARRLTGDQTAALRDLSLDPKAKNIILLIGDMGDSEITAARNYAEAGGFFKGDIALDI |
| FtsQ          | MGQAALNTRNSEEEOVSRRRNGTRLAGILFLLTTLVTTLVSGVGVGLGAmbedaqlpLksLvlGtgerHytrn |
| RodZ          | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbWLMFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZANTE      | MRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ-FtsQ     | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ-FtsQ     | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ 120      | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ 140      | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ 160      | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZ 180      | same as RodZ |
| RodZ 200      | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDAmbedaqlFLMTFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |

| NTS           | Amino acid sequence |
|---------------|---------------------|
| PhoA          | MKQSTIALALLPLLFTPVTKA |
| DsbA          | MKKIWLALAGLVLASFASAA |
| FtsQ          | MSQAALNTRNSEEEOVSRRRNGTRLAGILFLLTTLVTTLVSGVGVGLGAMediaqrlpLksLvlGtgerHytrn |
| RodZ          | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAVERLCLTVSTRDEEDKAPDALASTFLRNYSRYARLHIPEELLPQGLEKAPLAARKVAPMQFSLGKRRKRDGWLMFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQSSEALSELSSSEQQSVPNTSTTTDPATTSTP |
| RodZANTE      | MRDGWLMFTFWLFLVFVIGLSGAWWWWQRDKAQ♀EITTMADQS |

Amb, amber codon.
| RodZNTE-FtsQ | MNTEATHDQNEALTTGARLRNAREQLGLSQQAERLCLKVSTVRDIEEDKAPADLA SFLRGYIRSYARLVHIPEEEELLPGLEKQAPLRAAKVAPMQSFLGKRRKRDGILFLL TVLLTVLVSGWVVLGWMEDAQR |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|