

## Spatial profiling of nuclear receptor transcription patterns over the course of *Drosophila* development

Ronit Wilk, Jack Hu and Henry M. Krause

DOI: 10.1534/g3.113.006023



**Figure S1** Expression pattern relationships. Cluster comparisons between all 18 nuclear receptors and NOS tissue expression patterns was performed using 'Gene Cluster' and 'Java TreeView' software. Gene identities are listed to the left of each row, and terms for the tissues and stages analyzed above each column. Bright red = strong expression; dark red = lower expression; black = no expression; grey = no data. The tree on the right shows grouping by overall similarity.



**Figure S2** Subcellular localization relationships **Cluster comparisons between all 18 nuclear receptors and** *NOS* subcellular localization patterns was obtained using 'Gene Cluster' and 'Java TreeView' software. NR gene identities are listed to the right of each row, and terms for subcellular distributions and stages analyzed are listed above each column. red = expression; black = no expression;. The trees on the right and the top show groupings by overall similarity.

 Table S1 Drosophila nuclear receptor and NOS isoforms and probes. CG numbers, number of splice forms, and oligos used for probe template production are provided for each of the fly NR genes and NOS.

Gene name (Abbreviation)	CG number	Number of isoforms	Probe name	Oligos used (if home made)	It hybridizes to (size in base pairs)
Ecdysone receptor (EcR)	CG1765	6	LD26915	NA	Multiple exons- including some 3 <sup>·</sup> UTR. Covers all isoforms (1896)
<i>ultraspiracle</i> (usp)	CG4380	1	LD09973	NA	The entire transcript (2481)
Hormone	CG3318	6	GH09429	NA	Multiple exons and UTRs. Covers all isoforms (3827)
(Hr46 or HR3)	3	0	GH21112	NA	Multiple exons including 3'UTR. Covers all isoforms (4248)
<i>Hr4</i> (HR4)	CG4393 4 CG1690 2	9	HM-DHR4	up: 5'GACATG AAGCCCAT GTTCCT down*: 5'ATTAGC GTGGTCAA GCAGGT	Part of last exon. Covers all isoforms and CG42527 (830)
Ecdysone-induced protein 75B (E75)	CG8127	6	GM04985	NA	Multiple exons including part of 3'UTR. Covers of all isoforms (3107)
Ftz transcription factor 1	CG4059	3	LD34889	NA	Multiple exons and part of 3'UTR. Covers all isoforms (2270)
(Ftz-F1)			LD11885	NA	First exon. Covers RB isoform (842)
Hormone receptor-like in 39 (HR39)	CG8676	4	LD45021	NA	Almost the entire transcript, Covers all isoforms (2999)
Hormone- receptor-like in 78 (HR78)	CG7199	6	GH08073	NA	The entire transcript. Covers all isoforms (2283)
Hormone receptor-like in 96 (HR96)	CG1178 3	1	GH14435	NA	The entire transcript (2834)
estrogen-related receptor (dERR)	CG7404	2	GH28308	NA	The entire transcript. Covers both isoforms (2125)
Hepatocyte nuclear factor 4 (dHNF4)	CG9310	4	RE09535	NA	The entire transcript. Covers all isoforms (3333)
seven up	CG1150	2	AT29920	NA	The entire transcript. Covers RA and RB isoforms (2085)
(svp)	2	5	GH08189	NA	3' UTR. Covers RC and RB isoforms (2023)
Ecdysone-induced protein 78C (E78)	CG1802 3	4	HM-E78- Ex10	up: 5'CTTGCT GAACTTTG CCAACA down*: 5'GCTCGC TCTTCAGT CGAGTT	Last exon, including part of 3'UTR. Covers all isoforms (764)

dissatisfaction (dsf)	CG9019	1	HM-dsf- Ex4	up: 5'ACTCCA TCCAGTCC ATCTCG down*: 5'AGCAAA TGCTGGTC GTTCTT	Part of exon 4 (637)
<i>talilles</i> (tll)	CG1378	1	HM-tll-Ex3	up: 5'AGGGAC TCTGTGTG GTGGAC down*: 5'TTGAGA CCTTGTGC ATCAGC	Most of exon 3 (1041)
Hormone receptor 51 (HR51)	CG1680 1	1	HM- DHR51- Ex6	up: 5'ACCACC TCACCTCC TCAATG down*: 5'AAGAGC TGACGGAG GAGACA	Most of exon 6 (249)
Hormone receptor-like in 38 (HR38)	CG1864	3	HM- DHR38	up: 5'CGACCA CGTCACCT ACAATG down*: 5'TAGTGC CGAATGTT GAGCAG	Last exon and part of 3'UTR. Covers of all isoforms (644)
Hormone receptor 83 (HR83)	CG1029 6	1	HM- DHR83- Ex1	up: 5'GGTGCT CCTGCTTT TTCAAG down*: 5'GCACAG GATTAGGG ACTCCA	Most of exon 1 (542)
Nitric oxide synthase (Nos)	CG6713	10	HM-NOS- Ex16#	up: 5'GAACGA TTCGCTGA CTGTGA down*: 5'CTTCGG AATGGCCT GCTCC	Part of exon 16. Covers 8/10 isoforms (not Nos-RJ nor Nos-RG) (1078)

\*-The sequence: 'GTAATACGACTCACTATAGGGAGACCAC' was added before each reverse oligo sequence to add a T7 polymerase binding site.

#- For the HM-NOS-E16 probe, PCR was first performed on genomic DNA with the following oligos: up-

TCGGCCTATCCAAATTTCTG and down- ACTCCTCGGTCCAAACACAC (1871 bp). The product was then amplified using the oligos indicated in the table to generate the 1078 bp template.

## Table S2 Summary of FISH expression data.

Gene	Stage	Yolk	Gut	Hindgut	Foregut	Trachea	Post. spiracles	Fat Body	Ectoderm	PNS	CNS	Muscles	Oenocytes	Amnioserosa	Salivary glands	Malpighian tubules	Lymph gland	Ring gland	Brain lobes
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA		+		NA	NA	NA	NA
cR *	E11-14		+	+	NA		+			+/-	+/-			+	+	NA	NA	NA	NA
Ē	E15-17		+	+	+	+	+		+		+/-			NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+/-		+/-	NA		+		NA	NA	NA	NA
*~ ds	E11-14	+	+		NA				+		+			+/-	+	NA	NA	NA	NA
ñ	E15-17	+	+		+				+		+	+		NA	+	+/-	NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+			NA		+		NA	NA	NA	NA
IR3	E11-14	+	+	+	NA	+	+	+	+			+		+	+	NA	NA	NA	NA
1	E15-17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10			NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
-IR4	E11-14	+	+	+	NA							+			+	NA	NA	NA	NA
1	E15-17	+	+	+	+	+	+	+				+		NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA				+	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
E75	E11-14	+	+		NA	+			+	+				+	+	NA	NA	NA	NA
	E15-17	+	+		+	+	+/-			+	+		+	NA	+	+	NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
*	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
:-F1 °	E11-14		+	+	NA	+			+	+/-	+				+	NA	NA	NA	NA
Ft2	E15-17	+	+		+	+	+		+	+/-	+			NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+		+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA		+		NA	NA	NA	NA
\$ 682	E11-14	+	+		NA			+	+							NA	NA	NA	NA
Ŧ	E15-17		+		+	+	+	+	+		+			NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+		+	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	
R7 8	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA		+		NA	NA	NA	NA
	E11-14		+	+	NA	+			+		+				+	NA	NA	NA	NA
	E15-17		+	+	+	+		+/-	+		+			NA	+		NA		NA
	L3	NA	+	+		+	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA	+			NA				NA	NA	NA	NA
* 96	E11-14		+	+	NA				+		+	+				NA	NA	NA	NA
HR	E15-17		+	+	+	+	+				+			NA			NA	NA	NA
	L3	NA	+	+		+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA				NA		+		NA	NA	NA	NA
RR *	E11-14		+/-		NA						+			+	+	NA	NA	NA	NA
dE	E15-17			+	+	+	+	+/-	+		+	+		NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
*	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA	+			NA		+		NA	NA	NA	NA
NF4	E11-14		+/-		NA				+				+		+	NA	NA	NA	NA
Ŧ	E15-17		+/-		+				+		+		+	NA	+	+	NA	NA	NA
	L3	NA	+	+		+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+/-	+
	E1-5	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+		NA	NA	NA	NA	NA		+ @	+ @	NA			+	NA	NA	NA	NA
* dv	E11-14		+/-		NA	+	+			+ @	+ @		+ @		+	NA	NA	NA	NA
S	E15-17				+	+	+	+	+	+ @	+ @		+ @	NA	+\$		NA	NA	NA
	L3	NA	+		+	+	NA	+	NA	NA	+ @	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+ S5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+			NA		+		NA	NA	NA	NA
E78	E11-14	+	+		NA		+		+	+	+			+	+	NA	NA	NA	NA
	E15-17				+	+	+		+					NA	+	+/-	NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10			NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
dsf	E11-14				NA										+	NA	NA	NA	NA
	E15-17					+/-	+							NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+			+/-	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5	+/- %	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+/- %		NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
til	E11-14	+	+/-		NA						+				+	NA	NA	NA	NA
	E15-17	+	+/-		+	+			+		+			NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	+	+	+	+	+

	E1-5		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10			NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
IR51	E11-14				NA	+	+ (^)		+ (#)	+						NA	NA	NA	NA
ч	E15-17				+	+	+ (^)		+ (#)					NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA				+/-	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	+
	E1-5		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10			NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
R38	E11-14				NA											NA	NA	NA	NA
н	E15-17					+	+		+/-					NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA				+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA			+	+	
	E1-5		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10			NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
R83	E11-14				NA										+	NA	NA	NA	NA
н	E15-17					+								NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA				+/-	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	
	E1-5	+/-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	E6-10	+	+	NA	NA	NA	NA	NA				NA				NA	NA	NA	NA
Vos	E11-14	+	+	+	NA											NA	NA	NA	NA
	E15-17	+	+	+	+	+	+	+			+	+		NA	+		NA	NA	NA
	L3	NA	+		+	+	NA	+	NA	NA		NA	NA	NA	+	+	+	+	+

+: expressed, NA: not applicable, \*: "fluffy" basal localization, ^: posterior spiracle outer layer, #: stripes, s5: stage 5 only, %: *tll* is zygotically expressed at this stage, some transcript ends up at the yolk. ~: low ubiquitous expression, @: specific to *svp*-AT29920 probe, \$: specific to *svp*-GH0819 probe. Shaded grey: matches spatial activities noted in Palanker *et al* 2006.

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		-	1	1						., .				1	1	1			
Stage	Term	EcR	dsn	HR3	HR4	E75	Ftz-F1	HR39	HR78	НВ96	dERR	dHNF4	dns	E78	dsf	tll	HR51	HR38	HR83	Nos
	Pole plasm excluded	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
1-3	Cortex excluded	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
γ	Small foci	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Embi	Enriched around yolk nuclei	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pole cell excluded	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
	Apical excluded	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	Basal excluded	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	1	+	+	-	-	-	1	1	-
	Cortex excluded	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
4-5	Apical enriched	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ryo	Basal enriched	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Emb	Enriched around yolk nuclei	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
	Perinuclear- yolk		_	_	_	_		_	+		+	_	_	_	_	_	_	_	-	
	nuclei	_		_	_	_	_	_	'	_	'	_	_	_		_	_	_	_	_
	Small foci	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	Pole cell excluded	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	Apical excluded	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Basal excluded	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Apical enriched	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
5-7	Basal enriched	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
bryo (	Enriched around yolk nuclei	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Em	Perinuclear- yolk nuclei	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Perinuclear- pole cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Small foci	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	Apical enriched	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Basal enriched	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
	Fluffy basal	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Enriched around yolk nuclei	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
yo 8-9	Perinuclear- yolk nuclei	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-
Embr	Perinuclear - blastoderm nuclei	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
	Perinuclear- pole cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Small foci	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	Amnioserosa - foci	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tracheal lumen*	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
.17	Tracheal system - specific area	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
yo 10-	Salivary gland - basal	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Embr	Salivary gland - apical (lumen)*	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
1	Hindgut - apical	-	-	- 1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

 Table S3
 Summary of FISH subcellular patterns. A summary of all the subcellular RNA patterns found in this study.

 The developmental stages are shown at the left of the Table. +: pattern present, -: pattern absent.

	Hindgut - basal	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Enriched around	-		-	-	+	_	-	-	_	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	yolk nuclei																			
	Fluffy basal	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Small foci	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	Ring gland - foci	+	+	+	1	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ring gland - perinuclear	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	Ring gland - perinuclear diffuse	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Brain lobe - foci	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
	Midgut - foci	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+
	Midgut - perinuclear half moon	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hindgut - foci	+	-	-	I	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Gastric caeca - foci	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
	Fat body - foci	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
rd instar	Fat body - perinuclear half moon	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
/a 3	Salivary gland - foci	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Lan	Salivary gland - perinuclear half moon tight	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
	Salivary gland - perinuclear half moon loose	+	-	-	1	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	Salivary gland - perinuclear full	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	Malpighian tubule - foci	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	Malpighian tubule - perinuclear half moon	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-