

The pseudokinase TRIB1 toggles an intramolecular switch to regulate COP1 nuclear export

Jennifer E. Kung and Natalia Jura

Appendix Table of Contents

Figure S1. Controls for TRIB1 localization and western blots of protein expression levels.

Figure S2. Controls for GFP-tagged construct localization and western blots of protein expression levels.

Table S1. Coevolution of COP1 pseudosubstrate latch and COP1-binding motifs in Tribbles, ETS transcription factors, and c-Jun.

Figure Legends

Appendix Figure Legends

Figure S1. Controls for TRIB1 localization and western blots of protein expression levels.

(A) Representative images of COS7, Huh7, and HEK293 cells expressing the indicated TRIB1-FLAG construct (red). Cells were stained with anti-FLAG (Sigma) and anti-mouse Alexa Fluor 568. Nuclei were counterstained with DAPI (blue).

(B), (C), (D), (E) Western blots showing expression levels of constructs transfected in Figures 1A, EV1C, EV1E, and EV1G.

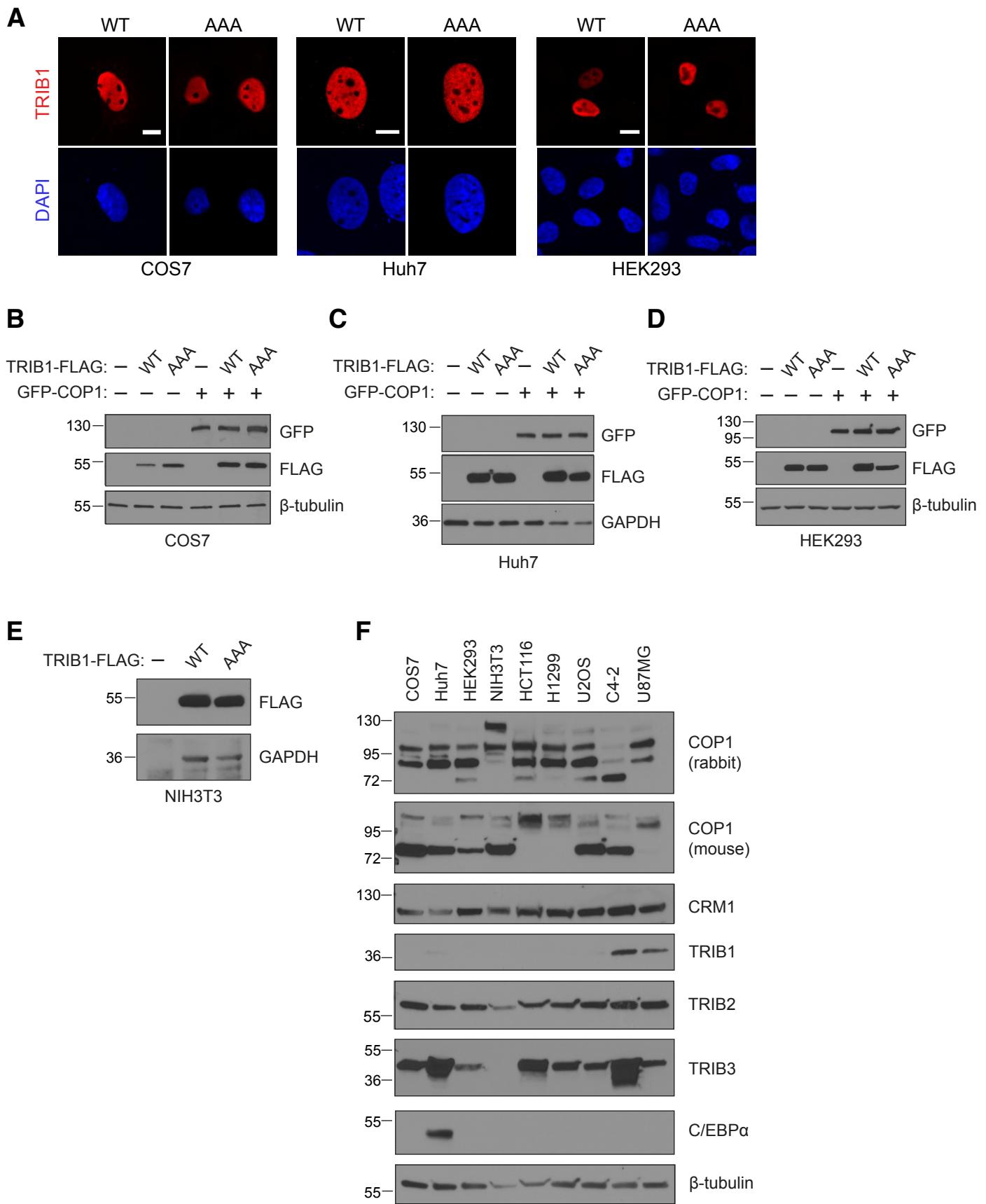
(F) Western blots showing expression levels of endogenous COP1, TRIB1, TRIB2, TRIB3, C/EBP α , and CRM1. Two different antibodies were used to detect COP1. COP1 (rabbit) refers to the anti-COP1 antibody from Bethyl, while COP1 (mouse) refers to that from Abcam.

Figure S2. Controls for GFP-tagged construct localization and western blots of protein expression levels.

(A) Representative images of COS7 expressing indicated GFP-tagged constructs (green). Nuclei were counterstained with DAPI (blue).

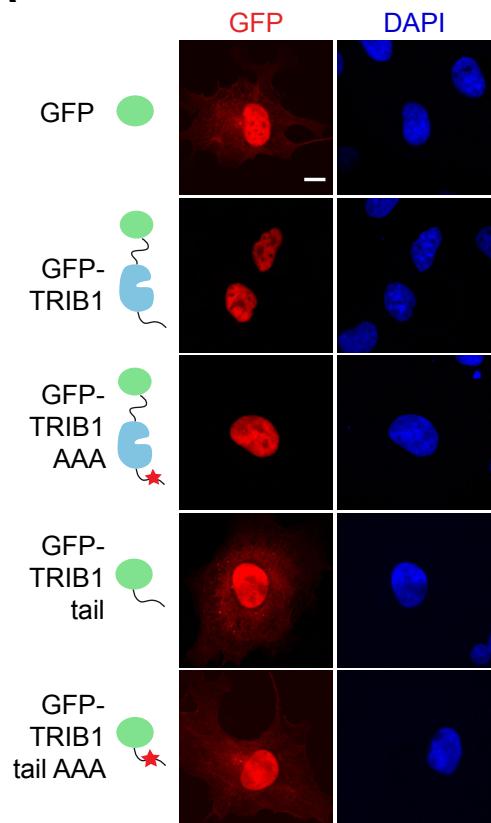
(B) Western blots showing expression levels of constructs transfected in Figures 2A.

Appendix Figure S1.

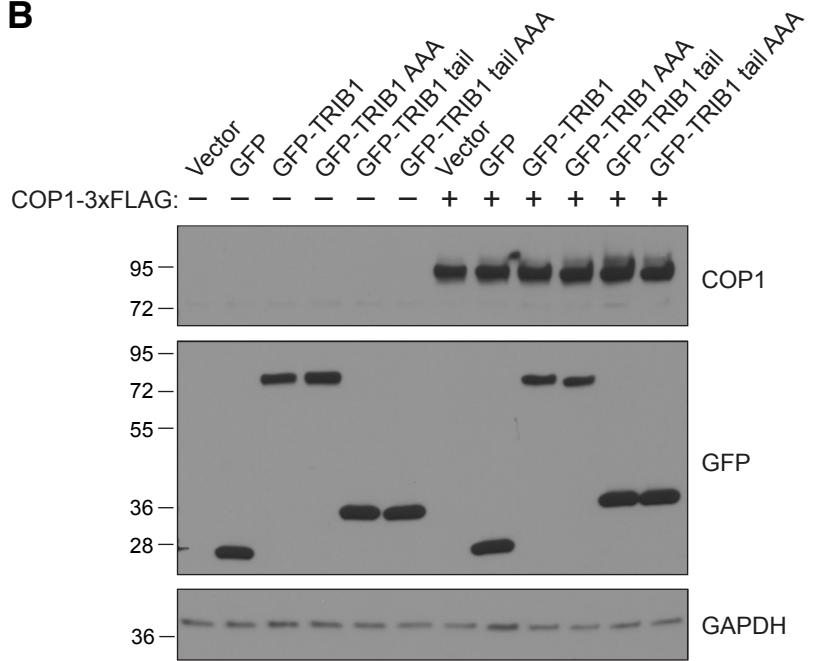


Appendix Figure S2.

A



B



Appendix Table S1. Coevolution of COP1 pseudosubstrate latch and COP1-binding motifs in Tribbles, ETS transcription factors, and c-Jun.

Species	Clade	PSL	Tribbles	ETS	c-Jun
<i>Aedes aegypti</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	N
<i>Agrilus planipennis</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	Y
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Arthropoda	N	Y	N/A	Y
<i>Anopheles darlingi</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	Y
<i>Atta colombica</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Cerapachys biroi</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Corethrella appendiculata</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Culex quinquefasciatus</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	Y
<i>Daphnia magna</i>	Arthropoda	N	Y	Y	N
<i>Dufourea novaeangliae</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Habropoda laboriosa</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Harpegnathos saltator</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Hyalomma excavatum</i>	Arthropoda	N	Y	N/A	Y
<i>Lasius niger</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Lygus hesperus</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	Y
<i>Nyssomyia neivai</i>	Arthropoda	Y	Y	N/A	N/A
<i>Orchesella cincta</i>	Arthropoda	N	Y	Y	N/A
<i>Papilio xuthus</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Trachymyrmex cornetzi</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Triatoma dimidiata</i>	Arthropoda	N	Y	N/A	Y
<i>Tribolium castaneum</i>	Arthropoda	N	Y	Y	Y
<i>Zootermopsis nevadensis</i>	Arthropoda	Y	Y	Y	Y
<i>Lingula unguis</i>	Brachiopoda	N	Y	Y	Y
<i>Micromonas commoda</i>	Chlorophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Alligator mississippiensis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Anolis carolinensis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Aphyosemion striatum</i>	Chordata	Y	Y	Y	N/A
<i>Bos taurus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Callithrix jacchus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Canis lupus familiaris</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Cavia porcellus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Danio rerio</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Ficedula albicollis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y

<i>Gallus gallus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Homo sapiens</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Latimeria chalumnae</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Loxodonta africana</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Macaca mulatta</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Monodelphis domestica</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Mus musculus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Myotis davidii</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Nomascus leucogenys</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Nothobranchius furzeri</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Oreochromis niloticus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Oryzias latipes</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Otolemur garnettii</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Ovis aries</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Pan troglodytes</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Papio anubis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Patagioenas fasciata monilis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Pongo abelii</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Rattus norvegicus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Salmo salar</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Scleropages formosus</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Taeniopygia guttata</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Takifugu rubripes</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Xenopus tropicalis</i>	Chordata	Y	Y	Y	Y
<i>Hydra vulgaris</i>	Cnidaria	Y	Y	Y	Y
<i>Choanephora cucurbitarum</i>	Mucoromycota	N	N/A	N/A	N/A
<i>Ascaris suum</i>	Nematoda	Y	Y	Y	Y
<i>Toxocara canis</i>	Nematoda	Y	N	Y	Y
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	Rhodophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Galdieria sulphuraria</i>	Rhodophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Hypsibius dujardini</i>	Tardigrada	Y	Y	Y	Y
<i>Ananas comosus</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Anthurium amnicola</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Arabis alpina</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Brassica napus</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Cajanus cajan</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Capsicum annuum</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Cicer arietinum</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Cucumis melo</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A

<i>Dichanthelium oligosanthes</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Fragaria ananassa</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Glycine soja</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Gossypium hirsutum</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Ipomoea nil</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Lilium formosanum x Lilium longiflorum</i>	Tracheophyta	Y	N/A	N/A	N/A
<i>Medicago truncatula</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Morus notabilis</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Nelumbo nucifera</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Nicotiana sylvestris</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Noccaea caerulescens</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Oryza sativa subsp. japonica</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Pisum sativum</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Populus trichocarpa</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Ricinus communis</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Rosa hybrid cultivar</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Selaginella moellendorffii</i>	Tracheophyta	Y	N/A	N/A	N/A
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Vigna radiata var. radiata</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Vitis vinifera</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Zea mays</i>	Tracheophyta	N	N/A	N/A	N/A
<i>Zancudomyces culisetae</i>	Zoopagomycota	N	N/A	N/A	N/A