THE INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY
www.intjdevbiol.com

doi: 10.1387/ijdb.150137db

SUPPLEMENTARY MATERIAL

corresponding to:

Tia1 is a novel candidate component of vegetally localizing RNPs in *Xenopus* oocytes and it counteracts somatic RNA degradation during early embryogenesis

DIANA BAUERMEISTER, MAIKE CLAUßEN and TOMAS PIELER

***Address correspondence to:** Maike Claußen. Institute of Developmental Biochemistry, Göttingen Center for Molecular Biosciences (GZMB), University of Göttingen, D-37077 Göttingen, Germany. Tel: +495-5139-5970. E-mail: mclauss1@gwdg.de or
Tomas Pieler. Institute of Developmental Biochemistry, Göttingen Center for Molecular Biosciences (GZMB), University of Göttingen, D-37077 Göttingen, Germany. Tel: +495-51391-4613. E-mail: tpieler@gwdg.de

Full text for this paper is available at: http://dx.doi.org/10.1387/ijdb.150137db

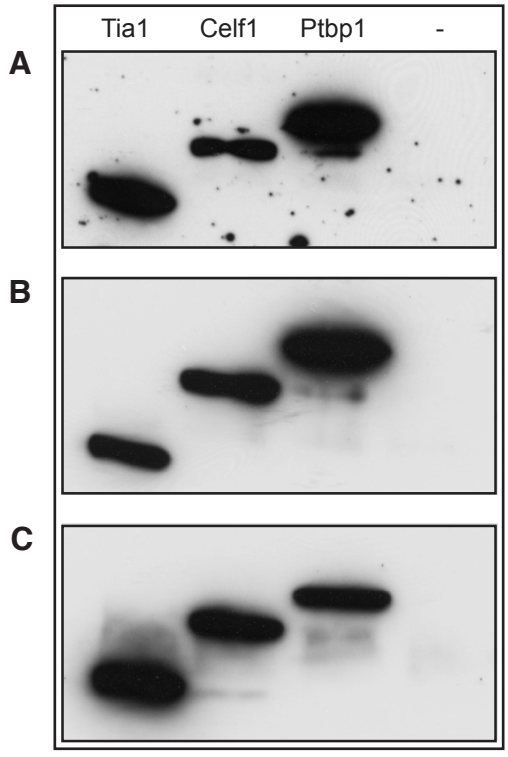

Fig S1. *In vitro* translated Flag-tagged proteins used for co-immunoprecipitations. In vitro *translated Flag-tagged Tia1, Celf1 and Ptbp1 were separated by SDS-PAGE and detected by α-Flag Western blotting. Non-programmed reticulocyte lysate served as negative control (-).* **(A)** *Protein control for RNA Co-IP of different RNA-LEs (Figure 3A).* **(B)** *Protein control for RNA-Co-IP of 5'deleted* dnd1*-LE fragments (Figure 3B).* **(C)** *Protein control for RNA-Co-IP of 3'deleted* dnd1*-LE fragments (Fig 3B).*

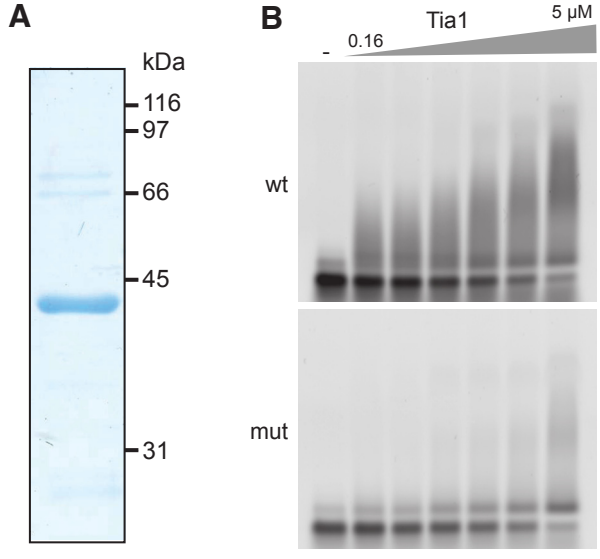

Fig S2. Binding of recombinant Tia1 to *dnd1*-LE requires uracil rich 5'region. (A) *Recombinant Tia1 used for EMSAs. The protein quantity was estimated by Bradford assay and comparison to BSA signals of known quantity.* **(B)** *Representative mobility shift analyses of bacterially expressed Tia1 and Cy3-labeled RNAs, used for quantification of Tia1 binding to wild-type (wt) and mutant (mut)* dnd1*-LE.*

TABLE S1

GENES, ACCESSION NUMBERS, TARGET REGIONS AND TARGET SEQUENCES FOR ALL GENES ANALYZED BY NANOSTRING NCOUNTER ANALYSES

Gene symbol	former gene name	Accession No	Target Region	Target Sequence
actb	b-actin	NM_001088953.1	1179-1279	ATGCTTCTAAAGGACAGACCCTTTCAACATGAACAAATGTACCTGTGCAGGAAGATCACATTGG CATGGCTTTACTCTTTTGTTGGCGCTTGGCTCAGAA
bicc1	Bic-c	NM_001088527.1	30-130	GGGACACTAGCGGCGCGCGCAGGCGGAGAGGAGTCAGTCGGTGAGTGAGTGCGCGGGGCAG GGAGTGAGTTGGACTTGCGCTTCTCTCCCGACTCTGAGC
ccna1	Cyclin A1	NM_001094201.1	1528-1628	GCTTGCTGTGGGATCAATAGTCTGCAAGCACTTTAGTTAGATGTACTACTACAAATCGGAACCCT GTGATCAGAGCTGATTTGCACTGACTAACTGACAC
ccnb2	Cyclin B2	NM_001087799.1	228-328	CAGTCTTCCAATGCTGTGGCAAAGCCTTCAAAGATGGCAGCAACTAAAGTGGCAAATGTTAAGA CTAAGCATGTACCTGTGAAACCAGTTGTAGCTGAAG
dazl	Dazl	NM_001088303.1	722-822	CCTATTGATCAGACAGTGTCTGCTTCTGGAGCCAATCCACAGAAGAGATATGTGGAAATGAGTA CCCAGACTATTGTATCCTGCTTGTTTGATCCAGCAA
ddx25	Dead South	NM_001088548.1	541-641	TATCCACAGTGCATCTGTCTTAGTCCTACATTTGAACTGGCTTTGCAGACTGGGAAAGTCGTTGA AGAGATGGGGAAGTTCTGTGCTGGAATTGAAGTCA
dnd1	Xdead end	AY971581.1	324-424	TGATGATGACATTTAGTGGCCTGAATCGAGGGTTCGCTTATGCTCGCTATATAAGCAGACGGCA GGCTATCAGCGCTATTATGTCTCTTAACGGTTTTGA
g6pd	G6PDH	NM_001086550.1	862-962	GTGGAGGATACTTTGACGAATTTGGCATCATCCGGGATGTCATGCAAAATCACTTGCTCCAAAT GATGTGTTTGATGGCTATGGAGAAGCCGGTCTCCAC
gapdh	GapDH	NM_001087098.1	773-873	ACCTGCCGCCTGCAGAAGCCGGCCAAGTACGATGACATCAAGGCCGCCATTAAGACTGCATCA GAGGGCCCAATGAAGGGAATCCTGGGATACACACAAG
gdf1	Vg1	NM_001095591.1	459-559	TCTGCGTCTCTATCGCACATTACAGATCACGCTTAAAGGGATGGGAAGAAGCAAAACAAGCAGA AAGCTGTTGGTGGCCCAAACTTTCCGTCTTCTGCAT
germes	germes	NM_001089043.1	1791-1891	GCCCATAGGTGCACAAGTTTGGATTCATCTAGTCAACCAAGTAACTACTTTCCTGTTGATTCTGT AATGAAGCTAGAAAGCTGTGAACTTGGCATGTCTG
grip2	Grip2	NM_001097913.1	4644-4744	CATTGCCCAAGAACCTTTGTAGGAGCTGTAGATATGTTACATCTGAAGAGTCACATGTTGGGGA ACCCTTATCTTTAAGTTAAGGCACATAGCCCTTCTA
hist1h4a	H4	NM_001094457.1	129-229	GGAGAGGGGGAGTCAAGCGCATCTCTGGCCTCATCTATGAGGAGACTCGTGGGGTCCTCAAG GTTTTCCTGGAGAATGTCATCCGGGACGCCGTCACCTA
hprt1	HPRT	NM_001096766.1	233-333	CTGTGTGTCCTGAAGGGTGGCTATAAGTTCTTTGCTGATCTACTTGACTACATTAAAGCACTTAA CCGCAACAGTGACAAGTCTATCCCTATGACAGTAG
kif13b	Kif13b	NM_001145074.1	2780-2880	AGTGCATGGTGGTTTTTGACCACTGCAAAGAGTTTGCTGTGAACATTACAGAAGACTTCTTAGAA TATCTTTCTGAGGGGGCCCTGGCCATTGAGGTTTA
ldlrap1	PTB	NM_001089091.1	2818-2918	TACCAATGGCTTCATAAATAAATATGGTTTAAAAGCCACAGGTAAACAGATGGAGGCTACAGATT GACTATCCTTCATGTATTAGTTCAGTTTGGGAAAC
lmnb1	laminB1	NM_001086584.1	2140-2240	CAGGTCCTGGAGTGAAATATCTCTGCGATTGCTTCTCCACTTGTCTCACTTCAGACACCTTACCC CGAGGTGCTTCACCTTCTCCATTTCCCTCGCTTCC
nanos1	Xcat2	NM_001088034.1	627-727	CCCGGGGCCAAGCGGTGCCCATCCCCATGTACCGGACATTCCAGCTCTCCAGAGACGCTCCA GCCTGGGCCCGCCCGCCCTCTAATTATTTTATTTACTG
nif	XNIF	NM_001090817.1	701-801	AGTCCAGACAGCACTACGTACCCTTCCTGCCCATAACATTGGATGCTTTCACCGTACAGCGTTC TTTACTGGCGGCACCAATTCCGCAAAGTATAGAGCA
odc1	ODC	NM_001086698.1	855-955	GGATATAATTGGTGTGAGTTTCCATGTTGGCAGTGGCTGCACTGATCCACAGACTTATGTACAA GCTGTCTCAGATGCACGATGTGTCTTTGACATGGGG
pgam1	Pgam1	NM_001093340.1	1263-1363	AATTTGACACTCTGGGTTAGTACTGTATGATATATCTGGGATTTCAAGGGTAAGTTAGGTCAGTT GCCAGTGTGTGGAGATGTAATGGTTTGAGGATCAA
pgat	Xpat	NM_001087463.1	1209-1309	ACTGATCTGTAGCATGCACTAATGTGTTGAGGAGTGATAAGACTTTCACGCACTGGGTGTTGTA TCACATAACAAAGCAGATTGCGAGGAATGGTTTCAT
plin2	fatvg	NM_001088491.1	1272-1372	TGCAAGACTTTTCCCGTTTGAATGGCAGAGTAGTAAACAGGGACATAAGTTAGTAACAGACTGA ACATTTCTTCTCCCTCCCTTGGGTGTTAACTATACC
rtn3	Rtn3	NM_001094076.1	1306-1406	TTTTAGGGACACAAAGTTGCACTCTCTCTCCGTGTGCCTCACGTTCTGTCTCCTCTACTTGCACC ATGAAGAGTCTACACAAGAGTCCCCAAAATTCTGT
spire1	Eg6/Spire2	NM_001093074.1	406-506	ACATGGAACGCGTCTTAAGTGAGCCCCTAGATAAACTTCTGTACGGAATGCTGGGCCTCCATGA CATCACTATGGACTACAACCTACATTTTCAGTGTCC
sybu	Syntabulin	NM_001093953.1	2645-2745	AGCTTGTGTATTCTCGGCTTGAAGTTGTGTGAGCGCTATCTGTGATTCCCTGTGTGAACTGTCTT GTTTCCTTGGCAACCCGCGTACGTTACAGCATGTC
trim36	Trim36/Haprin	NM_001091117.1	2663-2763	ATGGCTGCTGTGTTGGTTCTAAAGCAACGTTTGCAGCTGGACTATGTGATGCTCTGGGCAATAG TCTGAGGCCTATGAGCTGCTCTTATCAAATATTCTA
vegt	VegT	NM_001088196.1	1789-1889	AGAAGAGAACCCGGGAAAGCAGTTATGGATTTATAGAACAAAGTAATGGGGCCATGAACAGAAG CAGTTTTCTCTTGACTTTAAGTGGTGGTACAGCCAT
velo1	Velo1	NM_001089216.1	406-506	GAATGTGCTTCTAAAAAGCAACATAGTTCAGACGGTAAAGGCTGTGATGGAGGAAATGTAGTCT ATCTTTCTTCTGGCATTAGCAGCACCGGAAACGAAA
velo1 isoform	Velo1 isoform	AY280865.1	601-701	GCCCAATACAGAAACATGCCTCCAGGAAGCTATGCATATGAGAAAGAGGAGGAAAAGCTCAAAA GAAAACCCCTGGGACAGCTGTTGAAGAATACTGGGT
wnt11b	Xwnt11	NM_001090858.1	768-868	TACGGCCTTAACATGGGCTCTGCTTTTGTTGACGCTCCAATGAAGTCAAGCAAGTCTGCTGGGA CCCAGGCCACTAAAATTATGAATCTACACAACAATG

TABLE S2

RAW EXPRESSION DATA (COUNTS) FOR ALL RNAs ANALYZED BY NANOSTRING NCOUNTER IN EXPERIMENT 1

	Experiment 1								
Stage	8	8	8	11	11	11	14	14	14
***tia1* RNA (pg)**	-	200	400	-	200	400	-	200	400
actb	18.613	22.123	21.346	20.471	20.371	17.296	45.774	50.681	63.634
bicc1	540	601	646	439	448	498	115	119	134
ccna1	6.939	7.022	7.079	2.398	2.512	2.709	41	75	63
ccnb2	10.027	10.196	9.638	4.962	5.212	5.358	1.247	1.328	1.606
dazl	1.395	1.235	1.339	565	581	727	110	171	271
ddx25	3.767	2.828	3.093	2.018	1.846	2.099	433	473	724
dnd1	3.801	2.944	3.109	868	1.038	1.678	57	244	895
g6pd	1.027	1.132	1.186	859	851	829	332	369	455
gapdh	550	627	583	312	283	329	179	202	158
gdf1	12.904	10.497	11.394	5.345	5.055	6.397	264	668	1.547
germes	1.668	1.104	1.339	328	474	689	52	117	293
grip2	1.379	1.211	1.311	862	746	883	74	102	200
hist1h4a	102.120	82.587	87.865	161.607	168.810	172.856	112.154	96.823	106.821
hprt1	2.374	2.101	2.032	896	891	1.140	668	661	706
kif13b	509	486	516	387	331	361	94	111	155
ldlrap1	7.219	6.021	5.965	3.550	3.382	3.440	933	870	936
lmnb1	1.064	1.157	1.159	1.049	1.110	1.049	1.355	1.421	1.458
nanos1	175	172	196	122	116	168	39	25	67
nif	2.194	2.799	2.829	2.264	2.237	1.838	540	638	881
odc1	12.012	11.983	12.082	13.562	13.554	12.049	26.404	25.825	29.150
pgam1	3.713	3.460	3.458	1.880	1.611	1.896	127	153	249
pgat	3.001	2.583	3.089	2.536	1.863	2.265	987	958	1.315
plin2	2.094	1.977	2.010	898	1.001	938	608	337	577
rtn3	779	956	1.070	839	727	764	402	380	514
spire1	1.739	2.093	2.174	734	688	749	31	56	85
sybu	900	811	828	278	234	311	40	54	58
trim36	565	502	592	205	181	235	84	90	86
vegt	5.231	5.799	6.155	11.165	11.784	10.519	931	1.370	2.228
velo1	4.392	5.049	4.826	1.868	1.572	1.847	79	118	125
velo1 isoform	2.053	2.189	2.137	751	664	694	27	32	54
wnt11b	1.793	1.703	1.985	2.261	2.706	2.291	1.315	2.299	3.720
NEG_A	4	5	5	11	8	4	4	2	5
NEG_B	5	5	2	3	3	1	5	4	3
NEG_C	7	7	1	2	1	3	5	6	5
NEG_D	2	2	4	4	9	3	7	3	8
NEG_E	3	4	4	3	3	5	7	6	7
NEG_F	10	10	6	3	4	7	5	8	7
NEG_G	2	3	2	1	2	2	1	1	1
NEG_H	3	1	1	1	3	3	1	2	1
POS_A	11.146	13.686	13.245	12.890	13.175	13.037	12.934	16.216	13.215
POS_B	4.862	5.972	5.905	5.650	5.609	5.311	5.500	6.475	5.590
POS_C	1.474	1.772	1.743	1.656	1.645	1.568	1.587	1.861	1.682
POS_D	319	391	356	358	366	344	387	426	390
POS_E	45	53	51	39	48	44	52	60	48
POS_F	21	29	40	39	42	30	34	33	34

TABLE S3

RAW EXPRESSION DATA (COUNTS) FOR ALL RNAs ANALYZED BY NANOSTRING NCOUNTER IN EXPERIMENT 2

	Experiment 2								
Stage	8	8	8	11	11	11	14	14	14
***tia1* RNA (pg)**	-	200	400	-	200	400	-	200	400
actb	20.290	20.278	20.591	17.201	16.969	17.219	37.386	47.625	57.648
bicc1	517	558	454	415	499	499	82	97	89
ccna1	6.757	6.975	7.036	1.660	1.882	1.421	31	29	32
ccnb2	8.997	9.250	9.290	3.512	3.745	3.554	1.160	970	1.118
dazl	903	793	654	425	439	385	134	135	154
ddx25	3.203	2.648	2.320	1.985	1.551	1.588	651	565	578
dnd1	3.358	3.137	2.811	981	1.331	1.497	105	479	670
g6pd	1.038	1.062	1.048	840	756	825	316	344	424
gapdh	595	522	522	307	292	303	180	209	172
gdf1	4.919	4.517	4.179	1.458	1.966	1.584	139	192	259
germes	2.273	1.869	1.648	679	628	713	97	209	302
grip2	1.471	1.064	801	852	747	708	142	166	214
hist1h4a	95.988	112.163	108.857	170.659	175.508	176.211	107.944	77.763	86.788
hprt1	2.646	2.643	2.750	1.005	1.013	1.069	492	588	571
kif13b	441	452	340	390	390	338	120	105	118
ldlrap1	5.924	5.987	5.695	2.933	3.005	2.432	787	587	582
lmnb1	1.143	1.107	1.124	1.110	1.163	1.087	1.403	1.530	1.593
nanos1	238	205	160	193	160	163	69	87	89
nif	1.895	2.057	2.022	1.722	1.826	1.803	560	616	715
odc1	10.996	11.068	11.235	12.335	12.039	12.359	26.343	28.919	30.210
pgam1	3.893	3.818	3.612	1.268	1.319	1.041	82	110	124
pgat	4.172	3.295	2.561	2.840	2.160	2.280	1.589	1.199	1.132
plin2	2.586	2.659	2.760	1.111	1.233	937	404	372	465
rtn3	794	739	605	665	608	624	325	400	335
spire1	1.868	1.845	1.636	668	592	448	45	25	53
sybu	825	736	621	256	239	186	29	36	50
trim36	517	522	439	201	194	146	88	81	101
vegt	6.023	6.393	5.321	10.123	11.232	10.072	1.001	916	1.505
velo1	5.627	5.255	5.051	1.863	1.739	1.501	90	88	97
velo1 isoform	2.189	2.131	2.007	633	632	505	26	33	31
wnt11b	1.430	1.616	1.241	2.066	2.182	2.355	1.393	2.217	3.075

TABLE S4

AVERAGE FOLD CHANGES OVER UNINJECTED CONTROLS OF TWO EXPERIMENTS

	Average fold changes over uninjected controls									Standard deviation								
Stage	8	8	8	11	11	11	14	14	14	8	8	8	11	11	11	14	14	14
***tia1* RNA (pg)**	-	200	400	-	200	400	-	200	400	-	200	400	-	200	400	-	200	400
actb	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	0,9	1,0	1,2	1,5	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1
bicc1	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,2	1,0	1,1	1,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
ccna1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,4	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	1,0	0,4
ccnb2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	0,9	1,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
dazl	1,0	0,9	0,8	1,0	1,0	1,1	1,0	1,3	1,9	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	0,4	1,0
ddx25	1,0	0,8	0,8	1,0	0,8	0,9	1,0	1,0	1,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,0	0,2	0,6
dnd1	1,0	0,9	0,8	1,0	1,3	1,7	1,0	5,0	13,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	8,4
g6pd	1,0	1,1	1,1	1,0	0,9	1,0	1,0	1,1	1,4	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
gapdh	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,1	0,9	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
gdf1	1,0	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1	1,0	2,0	4,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	0,1	0,0	0,8	2,9
germes	1,0	0,7	0,8	1,0	1,2	1,6	1,0	2,4	5,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,4	0,8	0,0	0,2	2,4
grip2	1,0	0,8	0,7	1,0	0,9	0,9	1,0	1,3	2,3	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	1,0
hist1h4a	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	0,8	0,9	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1
hprt1	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,2	1,0	1,1	1,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1
kif13b	1,0	1,0	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,4	0,0	0,1	0,2	0,0	0,1	0,1	0,0	0,3	0,5
ldlrap1	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0	0,8	0,9	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2
lmnb1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
nanos1	1,0	0,9	0,9	1,0	0,9	1,1	1,0	0,9	1,7	0,0	0,1	0,3	0,0	0,1	0,4	0,0	0,5	0,4
nif	1,0	1,2	1,2	1,0	1,0	0,9	1,0	1,1	1,5	0,0	0,1	0,2	0,0	0,1	0,2	0,0	0,1	0,3
odc1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
pgam1	1,0	1,0	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,3	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3
pgat	1,0	0,8	0,8	1,0	0,7	0,8	1,0	0,9	1,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,4
plin2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	0,9	1,0	0,7	1,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,2
rtn3	1,0	1,1	1,1	1,0	0,9	0,9	1,0	1,1	1,2	0,0	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
spire1	1,0	1,1	1,1	1,0	0,9	0,8	1,0	1,3	2,5	0,0	0,2	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	1,4	1,6
sybu	1,0	0,9	0,8	1,0	0,9	0,9	1,0	1,4	2,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,3	0,0	0,1	0,7
trim36	1,0	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3	0,0	0,1	0,1
vegt	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,2	2,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,6
velo1	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	1,3	1,4	0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,4	0,4
velo1 isoform	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	1,4	2,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,7
wnt11b	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,7	2,5	0,0	0,1	0,2	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4