

Profiling the Substrate Specificity of Protein Kinases by On-Bead Screening of Peptide Libraries

Thi B. Trinh, Qing Xiao, and Dehua Pei*

Supporting Information

Table S1. Preferred peptide sequences of Pim1 selected from library Ia (total 44 sequences)^a

051611C3		R	T	K	A	Q	T	G	A	I	F	
051611C12		R	T	K	H	E	T	I	S	V	I	
051611D3		R	F	K	H	L	S	Y	G	H	P	
0516110E3		R	S	K	N	M	T	D	T	Y	D	
052711D9		R	H	H	Q	I	S	G	G	S	V	
051611D4		H	V	R	H	V	T	D	H	H	F	
051611C4		K	A	R	H	A	S	E	L	N	Y	
052711C10		K	Y	R	H	P	T	N	M	Y	Y	
052711F3		K	V	R	H	P	T	I	I	Y	P	
0516110E1		N	N	R	R	P	T	G	G	I	N	
052711C8		N	Q	R	R	P	S	G	V	G	I	
051611C9	P	P	T	R	K	T	T	G	L	F		
0516110E2		R	D	R	A	V	T	N	T	R	T	
052711C9		R	N	R	A	F	S	G	N	I	P	
052711C11	T	R	N	R	F	T	T	G	Q	V		
0527110E1		R	A	R	F	E	T	V	S	S	H	
052711D4		R	Y	R	H	N	S	D	N	V	F	
052711C7		R	N	R	N	Y	S	N	D	Q	L	
052711D6		R	E	R	N	K	T	E	Y	Y	V	
0527110E5		R	H	R	N	L	S	G	Y	L	T	
051611D10		R	S	R	Q	F	S	G	G	A	Y	
0516110E4		R	T	R	Q	G	T	G	S	E	V	
052711C4		R	Q	R	R	I	S	Y	H	E	I	
052711F5		R	M	R	R	I	S	D	D	E	S	
051611C6		R	S	R	T	Q	S	G	L	L	A	
051611D5		R	S	R	T	H	T	Y	Y	D	A	
051611D9		R	S	R	T	H	T	Y	Y	D	A	
051611D11		R	A	R	T	V	S	D	Y	E	I	
052711C5		R	Q	R	T	F	T	S	A	N	A	
052711F6		R	D	R	T	V	T	D	Y	Y	S	
052711F2		S	E	R	H	T	T	G	Q	A	R	
052711C2		V	R	R	H	A	T	G	D	N	F	
051611D12		Y	E	R	A	W	T	G	S	D	V	
0527110E9			S	R	N	P	T	S	Q	G	F	V
0527110E6		R	G	D	H	D	S	N	F	K	M	
052711D8		R	T	G	H	H	T	T	I	N	G	
052711D12		R	Q	P	H	L	T	A	R	F	R	
052711D10		R	Q	Q	H	R	T	L	V	N	S	
052711C1		R	L	S	H	I	T	T	R	E	Y	
052711D11	E	R	F	S	R	T	T	G	D	I		
052711F7		R	P	F	H	V	T	G	N	S	R	
051611C8		R	N	Y	H	R	S	Q	F	I	Y	
051611D1		R	Y	Y	S	G	T	Q	M	W	I	
0527110E8		R	H	Y	T	L	T	E	G	V	W	

^aSequences were aligned with respect to the phosphorylatable residue (S/T) at position 0.

Table S2. Peptide sequences selected from library Ia against MKK6 (total 67 sequences)

060911A3	H	F	Q	D	H	T	A	G	S	Y
071211F3	K	G	A	D	K	S	L	I	Y	I
071211G2	D	N	F	D	S	S	I	W	H	I
071211F7	Y	K	S	F	F	S	I	N	F	A
080211E2	F	I	Y	F	F	T	K	H	R	Q
080211D7	H	F	K	F	F	T	T	Y	Y	P
080211D10	I	F	K	F	I	S	A	H	N	P
080211D1	F	R	Y	F	I	T	K	V	F	F
080211A7	Y	R	D	F	I	S	Y	K	Y	I
080211C7	T	F	Y	F	K	T	G	V	Q	F
071211F5	R	F	Y	F	K	S	L	I	S	Q
080211E11	F	V	M	F	K	T	L	S	Y	A
080211C11	T	F	K	F	K	S	Y	Y	L	M
080211D6	Y	R	I	F	K	T	Y	T	M	I
080211A2	R	I	F	F	K	S	Y	F	Q	Y
080211D2	P	W	Y	F	K	S	Y	Y	V	A
080211C2	M	G	G	F	N	T	F	M	V	M
071211G4	Y	L	I	F	R	S	F	N	I	N
080211E3	F	V	E	G	H	T	K	A	M	F
080211B10	T	P	G	H	M	S	M	F	K	I
080211E5	S	N	I	I	I	T	K	M	Y	Y
071211F2	M	G	I	I	K	T	Q	A	F	I
080211D8	G	H	S	I	K	T	Y	V	A	M
080211D5	F	E	V	K	A	S	I	Q	G	I
080211B5	M	A	V	K	Q	T	Q	I	I	Y
080211B3	R	I	Y	K	V	T	Q	S	I	H
080211A9	Q	I	A	L	E	T	D	G	P	F
080211D4	I	I	F	L	K	T	I	E	Q	I
071211G3	S	A	G	L	K	T	M	F	M	V
080211A6	Y	E	I	L	P	T	W	N	V	Y
080211A8	T	N	L	M	D	S	I	Q	H	V
080211D12	G	M	D	M	E	T	G	Q	G	N
060911A2	I	A	M	M	V	T	F	S	H	K
080211C5	F	A	K	M	Y	S	A	Y	Y	P
060911A11	V	N	D	N	I	T	G	F	F	V
060911A9	V	V	K	N	I	T	I	I	A	Y
080211D3	Y	S	K	N	M	S	F	D	F	I
060911A10	L	A	K	N	T	T	V	I	Y	V
080211E12	D	T	P	N	V	S	x	x	x	x
080211E10	K	E	M	P	I	T	H	Y	D	A
071211G5	S	T	E	P	L	S	H	H	N	F
080211D9	I	K	T	P	M	S	V	S	S	I
080211E1	Y	F	E	Q	I	T	Y	Y	R	R
080211A5	A	F	S	Q	Y	S	K	V	Y	Y
080211B1	Y	H	K	R	M	T	M	Y	S	F
071211H1	V	I	G	R	R	T	Y	T	K	L

Table S2 (cont'd)

060911A7	T	V	Y	R	V	T	V	V	N	A
080211F1	D	H	M	S	I	T	G	H	Q	Y
071211G11	E	H	T	S	I	T	K	A	A	Q
080211C3	Y	I	Q	S	K	T	F	S	F	Y
071211G7	S	D	V	S	S	T	K	Y	Y	I
060911A12	I	R	N	S	T	S	V	N	F	Y
080211A3	Y	Y	F	T	F	T	H	K	N	Q
080211E7	P	F	K	T	F	S	Y	K	Y	I
080211C6	V	F	N	T	V	S	F	K	H	Y
080211C9	F	N	N	T	Y	S	K	L	M	V
060911A1	K	I	S	V	A	T	I	I	M	N
071211F10	H	F	K	V	A	S	L	I	Y	Y
080211E4	L	F	Q	V	E	T	F	V	Y	N
071211F6	E	Y	Y	V	F	S	G	Y	S	V
080211E6	G	S	N	V	R	S	V	W	F	I
060911B1	R	V	Q	V	T	T	I	Y	V	F
071211G6	Y	F	F	W	K	T	L	M	L	I
080211F3	x	S	F	W	P	T	T	M	Q	A
080211B6	Q	S	A	Y	A	T	Q	M	T	A
080211A1	S	K	Y	Y	I	T	P	I	Y	Y
080211C4	T	W	Y	Y	Y	S	K	Y	E	F

X, amino acid whose identity could not be unambiguously determined.

Table S3. Peptide sequences selected from library Ib against MKK6 (total 61 sequences)

060911D2	T	M	G	A	A	Y	N	F	V	Q
080211B9	E	M	K	A	A	Y	S	S	A	I
080211D8	A	A	M	A	F	Y	N	M	T	M
080211F11	M	I	K	A	I	Y	Q	x	x	H
080211F6	I	K	F	A	N	Y	M	F	Q	F
071211E8	x	A	E	A	Q	Y	M	K	M	I
071211E9	V	D	R	D	A	Y	R	A	I	A
060911D8	T	K	I	D	V	Y	I	R	I	F
080211B10	x	R	T	F	F	Y	V	K	N	F
060911D6	x	x	x	F	I	Y	F	S	K	N
071211D6	x	E	S	F	I	Y	K	F	M	I
080211D12	F	F	F	F	I	Y	K	N	V	H
071211D1	F	Q	I	F	K	Y	F	K	F	S
071211E6	M	L	M	F	K	Y	F	T	I	N
080211E10	x	x	Q	F	Q	Y	F	E	Q	I
071211E7	M	F	K	F	Q	Y	G	S	F	F
080211E8	E	K	Q	F	V	Y	F	N	I	I
071211D12	I	A	E	I	F	Y	F	F	I	Q
071211D4	S	P	H	I	I	Y	I	D	x	x
080211C1	x	x	A	I	M	Y	I	I	A	R

Table S3 (cont'd)

060911D10	H	K	Q	I	M	Y	S	P	T	I
080211C7	x	x	N	I	M	Y	S	I	W	I
071211E5	A	K	I	I	N	Y	I	K	M	A
060911D9	S	V	S	I	T	Y	I	K	T	I
080211C2	T	F	F	I	T	Y	I	K	F	A
060911D7	x	N	W	I	W	Y	K	I	V	V
060911D11	V	L	S	K	F	Y	A	I	M	F
080211D3	R	I	I	K	F	Y	P	I	I	F
080211E1	D	M	V	K	F	Y	Q	V	D	T
071211D7	I	F	I	K	I	Y	G	A	M	R
080211C6	D	G	I	K	I	Y	N	L	L	F
080211F5	A	D	I	K	L	Y	I	S	L	F
071211D8	A	T	F	K	M	Y	H	F	Q	Q
080211F4	F	S	F	K	T	Y	I	D	V	G
080211E7	N	F	M	K	V	Y	N	M	I	T
080211F10	L	M	A	K	V	Y	x	x	x	x
080211F1	F	K	T	L	F	Y	L	Q	x	x
071211D1	R	D	K	L	F	Y	M	F	F	R
071211E2	x	A	F	L	F	Y	x	x	H	Q
071211E3	T	G	A	L	I	Y	I	R	I	A
060911D4	T	V	M	M	A	Y	T	I	R	Q
080211D5	F	K	N	M	S	Y	F	I	I	G
080211D9	x	H	G	N	I	Y	F	Q	I	I
080211C3	H	F	M	N	I	Y	K	F	P	P
080211F3	K	F	F	N	M	Y	T	G	F	V
071211D10	x	A	I	Q	F	Y	I	K	F	R
080211B11	N	F	M	Q	F	Y	K	I	V	G
080211E6	H	V	A	Q	F	Y	V	T	N	I
080211F8	F	F	I	Q	I	Y	A	E	H	V
080211E9	V	F	I	Q	I	Y	F	N	R	I
071211D2	I	F	K	Q	M	Y	T	I	T	N
071211D11	R	G	V	Q	N	Y	F	I	F	Q
060911D3	H	I	A	R	I	Y	V	N	T	I
071211E4	M	T	V	R	K	Y	T	I	I	I
071211D9	x	x	W	R	M	Y	T	I	I	K
060911D1	A	M	M	S	M	Y	I	Q	Q	I
080211D4	T	M	S	T	D	Y	I	K	W	F
071211D3	A	G	I	T	I	Y	F	F	H	Q
080211C4	V	K	T	T	V	Y	V	L	F	P
080211E11	L	N	Q	V	M	Y	S	M	L	I
080211E2	N	M	K	V	N	Y	A	N	x	x

X, amino acid whose identity could not be unambiguously determined.

Table S4. Peptide sequences selected from library Ib against Csk (total 23 sequences)

052711A4	D	S	S	A	E	Y	F	E	I	E
052711B12	E	N	E	D	L	Y	M	D	V	G
052711A8	E	E	E	E	M	Y	F	E	D	Q
052711B3	E	E	E	G	A	Y	S	I	F	E
052711B1	F	E	D	G	D	Y	M	S	L	Q
052711B7	F	E	E	I	D	Y	V	S	P	W
052711A5	G	D	D	P	D	Y	H	D	F	I
052711A2	I	Q	T	P	E	Y	V	D	I	H
052711B9	E	D	A	P	F	Y	M	F	E	I
052711B4	R	Q	Q	P	F	Y	M	R	P	P
052711A1	E	K	E	P	I	Y	F	E	T	I
052711A3	F	H	S	P	M	Y	I	D	A	I
052711A9	D	D	I	P	V	Y	A	W	P	A
052711B5	F	D	E	Q	V	Y	M	E	V	F
052711A10	F	E	E	R	F	Y	I	Q	I	D
052711A7	A	D	E	S	D	Y	W	S	F	I
052711B11	Q	I	E	S	D	Y	H	E	M	E
052711B10	D	Q	H	S	D	Y	V	E	F	F
052711B8	F	E	V	S	D	Y	V	V	M	E
052711B6	D	R	T	S	E	Y	M	E	M	I
052711A11	P	E	D	T	F	Y	I	D	S	V
052711A6	A	N	E	V	H	Y	V	E	V	G
052711B2	D	R	E	V	R	Y	V	D	I	S

Table S5. Peptide sequences selected from library II against Csk (total 114 sequences)**Intensely Colored Beads (18 sequences)**

P1-092211B6	D	N	E	G	D	Y	L	D	I	K	E	F	I
P1-092211B5	D	N	D	P	I	Y	I	D	I	D	L	P	P
P1-092211A7	E	D	E	P	D	Y	Q	H	P	D	I	F	A
P1-092211B7	F	E	E	P	E	Y	I	E	H	G	D	P	A
P1-092211A10	D	E	E	P	F	Y	L	E	V	I	D	I	P
P1-092211A12	D	E	E	P	F	Y	V	E	F	N	D	S	E
P1-092211B4	D	E	E	P	F	Y	I	E	L	F	S	P	P
P1-092211A4	D	E	E	P	I	Y	F	I	D	L	D	H	E
P1-092211B1	F	N	E	P	I	Y	A	D	I	I	S	D	F
P1-092211B3	D	D	E	P	I	Y	A	E	L	A	D	I	T
P1-092211B10	E	E	E	P	I	Y	A	L	D	E	N	F	L
P1-092211A9	F	D	S	P	E	Y	I	N	I	R	D	I	E
P1-092211A8	F	E	S	P	I	Y	I	D	P	I	V	D	I
P1-092211A2	E	E	V	P	E	Y	A	F	P	G	E	Q	D
P1-092211A11	F	E	V	P	F	Y	I	E	A	I	G	E	P
P1-092211A1	D	N	E	S	D	Y	A	F	P	D	S	L	G
P1-092211B8	D	D	E	S	F	Y	I	T	P	E	S	F	M
P1-092211A5	E	D	V	S	D	Y	L	E	T	T	F	F	E

Lightly Colored Beads (96 sequences)

P1-092211D3	D	E	E	D	F	Y	I	D	S	A	G	P	E
P1-092211G2	F	D	D	G	E	Y	I	D	E	P	F	F	I
091211B11	E	D	E	G	E	Y	A	E	V	N	E	I	L
P1-092211D9	D	D	E	G	F	Y	F	H	P	N	E	D	M
091211B2	D	D	D	P	D	Y	I	Q	D	P	N	D	T
P1-092211F12	F	E	D	P	D	Y	V	D	T	A	F	V	D
P1-092211C5	E	D	E	P	D	Y	L	P	I	G	E	F	V
091211D8	E	E	E	P	D	Y	I	D	Q	D	F	F	T
P1-092211F4	F	N	E	P	D	Y	L	D	P	I	S	F	D
091211C8	F	D	D	P	E	Y	I	N	T	I	D	E	L
091211D6	F	D	D	P	E	Y	I	E	L	A	I	P	M
091211A6	E	E	D	P	E	Y	I	L	I	F	P	D	T
091211A7	F	E	D	P	E	Y	A	V	I	G	I	D	H
091211D5	E	E	D	P	E	Y	I	I	V	D	D	V	X
P1-092211F3	D	E	D	P	E	Y	I	N	F	Q	H	D	A
091211D9	F	D	E	P	E	Y	I	I	P	G	T	P	E
P1-092211E5	F	D	E	P	E	Y	I	S	L	T	E	P	A
P1-092211F8	D	D	E	P	E	Y	I	E	F	D	A	H	N
P1-092211G9	F	D	E	P	E	Y	R	S	I	P	L	I	D
091211C4	F	E	E	P	E	Y	A	E	N	N	Q	F	S
P1-092211C2	F	E	E	P	E	Y	I	D	A	W	N	D	L
P1-092211G12	E	E	E	P	E	Y	A	E	I	I	V	L	P
091211A5	F	N	E	P	E	Y	V	F	T	D	D	G	F
P1-092211E3	F	N	E	P	E	Y	I	E	N	V	H	E	F
P1-092211G8	E	N	E	P	E	Y	V	E	P	G	N	S	E
P1-092211G3	F	D	D	P	F	Y	I	F	P	D	W	G	E
P1-092211F2	E	E	D	P	F	Y	A	N	I	H	V	E	F
091211B3	F	D	E	P	F	Y	I	P	L	Q	I	D	Q
P1-092211C12	F	D	E	P	F	Y	V	E	I	D	Q	A	T
P1-092211G1	E	D	E	P	F	Y	L	L	I	D	D	P	S
091211A3	F	E	E	P	F	Y	E	G	E	N	E	V	P
091211A8	D	E	E	P	F	Y	T	N	E	H	L	A	I
091211A11	F	E	E	P	F	Y	T	D	V	D	H	I	Q
P1-092211E12	F	E	E	P	F	Y	S	E	N	N	P	D	Q
P1-092211F9	D	E	E	P	F	Y	I	E	D	D	V	L	P
P1-092211F10	E	E	E	P	F	Y	I	S	A	S	D	D	R
P1-092211E1	E	N	E	P	F	Y	I	A	L	D	K	L	D

Table S5. Light colored beads (cont'd)

091211D1	F	D	D	P	I	Y	I	D	D	F	D	H	W
091211B4	D	E	D	P	I	Y	I	D	E	S	F	X	X
P1-092211D6	X	E	D	P	I	Y	T	F	F	D	N	I	D
091211B1	D	D	E	P	I	Y	V	H	P	I	Q	L	L
091211C11	D	D	E	P	I	Y	E	E	I	D	E	N	V
091211C12	D	D	E	P	I	Y	V	D	A	F	D	R	P
091211D2	D	D	E	P	I	Y	E	E	I	D	E	R	G
P1-092211C4	E	D	E	P	I	Y	I	S	H	I	P	P	E
P1-092211D1	D	D	E	P	I	Y	F	D	G	M	P	D	W
P1-092211D10	E	D	E	P	I	Y	H	E	L	S	S	L	G
P1-092211E6	E	D	E	P	I	Y	Q	F	P	D	S	L	A
P1-092211E7	F	D	E	P	I	Y	S	D	A	N	P	F	E
P1-092211F6	D	D	E	P	I	Y	L	D	V	Q	H	E	R
P1-092211G6	F	D	E	P	I	Y	A	I	D	N	E	V	F
091211B8	F	E	E	P	I	Y	A	G	I	N	D	L	T
091211C10	E	E	E	P	I	Y	I	Q	D	P	H	P	D
091211D11	D	E	E	P	I	Y	K	F	P	S	T	L	L
P1-092211C7	X	E	E	P	I	Y	I	E	P	S	G	Q	F
P1-092211D7	E	E	E	P	I	Y	V	D	G	D	L	T	E
P1-092211F1	D	E	E	P	I	Y	E	N	A	A	D	F	V
P1-092211F7	F	E	E	P	I	Y	I	E	N	N	D	I	S
091211A9	E	E	S	P	E	Y	A	E	Q	N	S	F	A
P1-092211C1	F	E	S	P	E	Y	I	H	I	E	H	Q	N
P1-092211D11	F	E	S	P	E	Y	V	E	L	I	E	H	P
091211C3	E	D	S	P	F	Y	A	D	D	D	E	F	T
P1-092211E8	D	E	S	P	F	Y	A	F	G	E	T	D	P
P1-092211F11	D	E	S	P	F	Y	A	F	G	E	T	D	P
091211B10	E	D	V	P	D	Y	I	S	D	V	Q	D	I
091211C5	E	E	V	P	D	Y	V	L	I	N	P	E	P
P1-092211E4	F	E	V	P	D	Y	V	E	P	D	M	N	W
P1-092211D4	E	E	V	P	E	Y	A	L	P	T	P	E	M
091211D3	E	D	V	P	F	Y	A	S	I	P	E	T	A
P1-092211C3	E	E	V	P	F	Y	A	D	Q	H	D	E	A
P1-092211C11	X	D	V	P	F	Y	V	E	P	E	T	F	G
P1-092211D12	E	E	V	P	F	Y	A	H	P	L	L	E	G
091211B9	E	E	V	P	I	Y	I	S	T	D	D	I	Q
P1-092211C6	E	E	V	P	I	Y	I	L	V	D	S	E	D
P1-092211C8	E	E	V	P	I	Y	I	E	P	S	G	Q	F
091211D10	F	D	D	S	D	Y	Q	A	F	T	E	P	Q
091211A1	D	E	D	S	D	Y	I	R	S	D	E	I	F
P1-092211G7	E	E	D	S	D	Y	A	D	I	F	I	E	E
P1-092211F5	F	D	E	S	D	Y	W	A	P	Q	D	L	M
091211C6	D	N	E	S	D	Y	V	D	L	S	I	N	P
091211D12	D	N	E	S	D	Y	I	F	I	H	D	E	L
091211B5	F	E	S	S	D	Y	I	N	D	A	E	F	F
P1-092211E11	F	E	S	S	D	Y	A	F	P	E	E	Q	L
091211A10	F	D	D	S	E	Y	I	A	I	D	V	I	P
P1-092211D2	E	E	D	S	E	Y	I	S	P	P	F	T	D
P1-092211D8	F	E	D	S	E	Y	I	D	P	T	D	P	V
P1-092211C9	D	D	E	S	E	Y	I	N	I	P	D	G	E
P1-092211C10	F	D	E	S	E	Y	I	T	I	E	N	D	N
P1-092211G10	E	E	E	S	E	Y	P	I	L	E	I	E	W
091211B12	D	N	E	S	E	Y	S	S	D	L	F	D	S
P1-092211G11	E	N	E	S	E	Y	V	D	I	W	P	D	Q
091211A4	E	N	S	S	E	Y	V	E	I	E	E	F	T
091211A2	E	E	D	S	F	Y	I	F	P	D	N	X	X
091211C2	X	D	E	S	F	Y	A	I	I	D	D	P	F
P1-092211D5	E	D	S	S	F	Y	I	E	L	S	D	F	D
091211A12	D	E	D	S	I	Y	L	D	L	D	G	L	D

Table S6. Potential Pim1 protein substrates from database search

Protein	Site																Known Substrate
1-Sep	S248	P	V	R	G	R	R	Y	S	W	G	T	V	E	V	E	
A6 iso2	S9	T	R	R	G	R	R	R	S	S	H	F	L	G	P	P	
ablIM3	S372	D	L	R	Q	R	R	A	S	S	P	G	Y	I	D	S	
AHNAK2	S1072	P	E	R	E	R	R	L	S	T	P	Q	R	G	K	R	
AKAP12	S627	K	K	R	V	R	R	P	S	E	S	D	K	E	D	E	
AR	S791	C	V	R	M	R	H	L	S	Q	E	F	G	W	L	Q	
ArgBP2	S259	D	F	R	K	R	R	K	S	E	P	A	V	G	P	P	
ARHGAP11A	S285	Y	K	R	K	R	R	Q	S	V	G	D	F	V	S	G	
ARHGAP39	S246	G	V	R	S	R	R	P	S	G	S	Q	H	S	P	S	
ARL6IP2	S24	L	W	R	R	R	R	T	S	D	P	S	A	A	V	N	
AS160	S341	Q	P	R	R	R	H	A	S	A	P	S	H	V	Q	P	
ataxin-1	S775	A	T	R	K	R	R	W	S	A	P	E	S	R	K	L	
BAD	S75	E	I	R	S	R	H	S	S	Y	P	A	G	T	E	D	Yes
BAZ1A	S1205	K	Q	R	S	R	R	L	S	S	R	Q	R	P	S	L	
BEGAIN	S246	R	R	R	D	R	R	P	S	V	D	A	P	V	T	D	
BRCA1	T509	L	K	R	K	R	R	P	T	S	G	L	H	P	E	D	
BUD13	S184	P	R	R	I	R	H	D	S	S	D	T	S	P	P	R	
C14orf43	S461	T	R	R	R	R	R	A	S	Q	E	A	N	L	L	T	
CAMSAP1L1	S1019	L	P	R	L	R	R	F	S	P	S	Q	V	P	I	Q	
CBX8	S311	G	T	R	V	R	H	G	S	G	P	P	S	S	G	G	
CCAR1	S329	R	E	R	E	R	R	R	S	R	E	R	S	P	Q	R	
CDC47L	S139	R	S	R	S	R	R	S	S	I	G	L	R	V	A	F	
CDR2L	T154	E	K	R	E	R	R	R	T	I	H	T	F	P	C	L	
CENPE	T422	A	K	R	K	R	R	V	T	W	C	L	G	K	I	N	
CGNL1	S297	G	A	R	S	R	R	S	S	S	S	S	T	T	P	T	
CHD-1	S1096	R	S	R	S	R	R	Y	S	G	S	D	S	D	S	I	
CHED	S437	R	S	R	S	R	H	S	S	I	S	P	S	T	L	T	
CLASP1	S646	R	I	R	T	R	R	Q	S	S	G	S	A	T	N	V	
CLIC6	S293	A	G	R	A	R	R	V	S	G	E	P	Q	Q	S	G	
CLK3	S215	R	Y	R	E	R	R	D	S	D	T	Y	R	C	E	E	
CNKSR3	T398	E	S	R	R	R	R	F	T	I	A	D	S	D	Q	L	
CPSF7	S423	S	S	R	K	R	H	R	S	R	E	R	S	P	S	R	
CRK7	S383	S	S	R	S	R	H	S	S	I	S	P	V	R	L	P	
CTDSPL2	S104	I	S	R	V	R	R	K	S	Q	V	N	G	E	A	G	
DARPP-32	T34	M	I	R	R	R	R	P	T	P	A	M	L	F	R	L	
DENND4A	S1015	C	F	R	K	R	H	K	S	D	N	E	T	N	L	Q	
desmoplakin	S165	V	P	R	V	R	R	A	S	S	K	G	G	G	G	Y	
DNMT3B	S52	E	I	R	G	R	R	S	S	S	R	L	S	K	R	E	
EDC3	S161	S	F	R	R	R	H	N	S	W	S	S	S	S	R	H	

EDG-1	T236	R	T	R	S	R	R	L	T	F	R	K	N	I	S	K	
EHBP1L1	S1257	G	V	R	L	R	R	P	S	V	N	G	E	P	G	S	
eIF4B	S406	R	P	R	E	R	H	P	S	W	R	S	E	E	T	Q	
EMSY	T207	K	P	R	K	R	R	R	T	N	S	S	S	S	S	P	
FAM122B	S50	T	L	R	T	R	R	N	S	T	T	I	M	S	R	H	
FBXO41	S478	Q	R	R	P	R	R	H	S	T	E	G	E	E	G	D	
FIP1L1	S554	N	S	R	R	R	H	E	S	E	E	G	D	S	H	R	
FKBP15	S956	E	E	R	P	R	R	P	S	Q	E	Q	S	A	S	A	
FLG	S295	R	T	R	K	R	R	G	S	R	V	S	Q	D	R	D	
FLJ13657	T90	E	R	R	K	R	R	S	T	D	S	S	S	V	S	G	
G6b	S226	L	S	R	P	R	R	L	S	T	A	D	P	A	D	A	
GAS2L1	S352	H	P	R	S	R	R	Y	S	G	D	S	D	S	S	A	
GOLGA3	S389	E	V	R	S	R	R	D	S	I	C	S	S	V	S	L	
GPBP1	S56	V	N	R	R	R	H	N	S	S	D	G	F	D	S	A	
GPBP1L1	S49	V	S	R	R	R	H	N	S	S	D	G	F	F	N	N	
GRHL1	S77	V	P	R	E	R	R	S	S	T	A	K	P	E	V	E	
HBP1	S380	M	A	R	Q	R	R	A	S	L	S	C	G	G	P	G	
HISPPD1	S1006	T	G	R	R	R	R	R	S	G	E	Q	I	T	S	S	
HUWE1	S649	A	M	R	R	R	R	S	S	D	P	L	G	D	T	A	
IMPDH1 iso4	S85	M	D	R	L	R	R	A	S	M	A	D	Y	L	I	S	
INHA	T234	G	E	R	A	R	R	S	T	P	L	M	S	W	P	W	
IRS1	S1101	G	C	R	R	R	H	S	S	E	T	F	S	S	T	P	
IRS2	S1149	G	G	R	R	R	H	S	S	E	T	F	S	S	T	T	
KCNN2	S568	S	S	R	R	R	R	S	S	S	T	A	P	P	T	S	
KIAA1522	T162	R	R	R	E	R	R	S	T	V	L	G	L	P	Q	H	
KIAA1949	S125	E	A	R	E	R	R	P	S	P	G	E	M	R	D	Q	
KIF23	S912	G	S	R	K	R	R	S	S	T	V	A	P	A	Q	P	
KIF26B	T828	E	G	R	M	R	R	P	T	Q	L	R	P	F	H	T	
LUZP1	S820	A	L	R	E	R	H	T	S	T	S	N	I	Q	V	G	
LYAR	S276	G	K	R	K	R	R	H	S	E	V	E	T	D	S	K	
MDM2	S186	R	Q	R	K	R	H	K	S	D	S	I	S	L	S	F	Yes
MEKK3	S166	E	P	R	S	R	H	L	S	V	S	S	Q	N	P	G	
Mena	S265	W	E	R	E	R	R	I	S	S	A	A	A	P	A	S	
MgcRacGAP	T249	W	T	R	S	R	R	K	T	G	T	L	Q	P	W	N	
MTUS1	S760	P	Q	R	I	R	R	V	S	S	S	G	K	P	T	S	
MVD	S96	L	A	R	K	R	R	N	S	R	D	G	D	P	L	P	
MYPT1	S668	E	V	R	E	R	R	R	S	Y	L	T	P	V	R	D	
NDUFA1	S55	M	E	R	D	R	R	I	S	G	V	D	R	Y	Y	V	
Net1	S21	R	R	R	S	R	R	A	S	G	L	S	T	E	G	A	
NF1	S2817	S	G	R	T	R	H	G	S	A	S	Q	V	Q	K	Q	
OPA1L	T247	P	G	R	H	R	R	F	T	G	D	S	G	I	E	V	

p21Cip1	T145	Q	G	R	K	R	R	Q	T	S	M	T	D	F	Y	H	Yes
PARD3	S715	D	D	R	E	R	R	I	S	H	S	L	Y	S	G	I	
PCTAIRE1	S153	S	R	R	L	R	R	V	S	L	S	E	I	G	F	G	
PCTAIRE2	S180	S	R	R	S	R	R	A	S	L	S	E	I	G	F	G	
PDE3B	S295	V	I	R	P	R	R	R	S	S	C	V	S	L	G	E	
PFKFB2	S466	P	V	R	M	R	R	N	S	F	T	P	L	S	S	S	
PHF3	S678	Q	P	R	Q	R	R	S	S	K	S	F	S	L	D	E	
PHRF1	S936	A	A	R	L	R	R	P	S	P	P	E	P	W	D	E	
PKD1	S205	G	V	R	R	R	R	L	S	N	V	S	L	T	G	V	
PKD2	S197	G	A	R	K	R	R	L	S	S	T	S	L	A	S	G	
PKD3	S213	G	V	R	K	R	R	L	S	N	V	S	L	P	G	P	
PLCB3	S1105	L	D	R	K	R	H	N	S	I	S	E	A	K	M	R	
plectin 1	T2886	P	V	R	N	R	R	L	T	V	N	E	A	V	K	E	
PLEKHG2	S482	I	R	R	G	R	R	Q	S	E	P	V	K	D	P	Y	
PLXNB1	S1902	P	P	R	P	R	R	G	S	L	R	G	G	E	R	E	
PNN	S96	E	R	R	T	R	R	E	S	R	Q	E	S	D	P	E	
POM121	S345	N	K	R	R	R	H	D	S	S	G	S	G	H	S	A	
POM121C	S322	N	K	R	R	R	H	D	S	S	G	S	G	H	S	A	
PPP1R1A	T35	Q	I	R	R	R	R	P	T	P	A	T	L	V	L	T	
PPP1R1C	T34	Q	I	R	K	R	R	P	T	P	A	S	L	V	I	L	
PRM2	S59	H	Y	R	R	R	H	C	S	R	R	R	L	H	R	I	
PRPF38A	S260	P	R	R	E	R	H	R	S	K	S	P	R	R	H	R	
PRRT3	S854	A	L	R	P	R	R	G	S	H	P	K	A	E	L	D	
PSRC2	S1046	S	S	R	E	R	R	R	S	F	L	E	S	N	Y	F	
PTPN12	S39	F	M	R	L	R	R	L	S	T	K	Y	R	T	E	K	
RalGAPA1	S773	S	T	R	V	R	H	F	S	Q	S	E	E	T	G	N	
Rap1GAP iso5	S17	P	G	R	P	R	R	G	S	L	P	A	G	A	S	W	
RAPGEF2	S960	K	K	R	V	R	R	S	S	F	L	N	A	K	K	L	
RapGEF6	S1094	K	K	R	A	R	R	S	S	L	L	N	A	K	K	L	
RARA	S369	Y	V	R	K	R	R	P	S	R	P	H	M	F	P	K	
RASAL1	S397	L	G	R	T	R	R	I	S	F	K	G	A	L	S	E	
RBM15	S708	P	I	R	D	R	R	G	S	L	E	K	S	Q	G	D	
RBM5	S69	R	E	R	E	R	R	N	S	D	R	S	E	D	G	Y	
RRAD	S257	Q	I	R	L	R	R	D	S	K	E	A	N	A	R	R	
RSBN1	S92	V	K	R	Q	R	R	S	S	S	G	G	S	Q	E	K	
RYR2	S2808	Y	N	R	T	R	R	I	S	Q	T	S	Q	V	S	V	
SASH1	S90	E	L	R	K	R	R	V	S	Q	D	L	E	V	E	K	
SCAND1	T173	A	R	R	I	R	R	R	T	D	V	R	I	T	G		
SCAP	S822	P	G	R	Q	R	R	D	S	G	V	G	S	G	L	E	
SECISBP2L	S251	K	G	R	R	R	R	A	S	H	P	T	A	E	S	S	
SETD2	S2080	E	K	R	K	R	R	S	S	L	S	P	P	S	S	A	

SFRS11	S287	K	S	R	S	R	R	R	S	K	S	P	R	R	R	R	
SGSM2	S231	G	I	R	K	R	H	S	S	G	S	A	S	E	D	R	
snRNP 70	S357	R	D	R	E	R	R	R	S	H	R	S	E	R	E	R	
SP100	S451	P	S	R	K	R	R	F	S	S	S	D	F	S	D	L	
SR140	S930	K	E	R	K	R	R	H	S	T	S	P	S	P	S	R	
SR-A1	S612	K	R	R	R	R	R	R	S	A	S	P	P	P	A	T	
SRm160	S304	R	P	R	R	R	H	R	S	R	S	R	S	Y	S	P	
SRRP130	S597	K	I	R	D	R	R	R	S	N	R	N	S	I	E	R	
STARD8	S481	M	P	R	E	R	R	D	S	G	V	G	A	S	L	T	
STK11IP	S398	R	V	R	V	R	R	A	S	I	S	E	P	S	D	T	
SUN2	T107	R	V	R	R	R	R	G	T	G	G	S	E	S	S	R	
SUV420H1	S726	T	L	R	R	R	H	D	S	S	S	K	T	N	D	Q	
TAT-SF1	S403	P	S	R	A	R	H	F	S	E	H	P	S	T	S	K	
TRA2A	S260	D	Y	R	Y	R	R	R	S	P	S	P	Y	Y	S	R	
Trap150	S46	R	S	R	K	R	R	L	S	S	R	S	R	S	R	S	
TRPS1	S892	L	L	R	R	R	R	G	S	G	V	F	C	A	N	C	
TRXR1 iso3	S31	K	P	R	P	R	R	S	S	R	L	L	A	G	E	K	
TWIST1	S42	G	G	R	K	R	R	S	S	R	R	S	A	G	G	G	
UBR5	S2483	E	N	R	K	R	H	G	S	S	R	S	V	V	D	M	
USP34	S1307	N	R	R	I	R	R	E	S	T	G	S	Y	S	D	L	
VPS35	S783	H	L	R	L	R	R	E	S	P	E	S	E	G	P	I	
WNK1	T60	E	Y	R	R	R	R	H	T	M	D	K	D	S	R	G	
WNK4	S1190	S	S	R	Q	R	R	L	S	K	G	S	F	P	T	S	
ZC3H13	T1318	R	E	R	E	R	R	D	T	R	Q	R	E	W	D	R	
ZFP91	S83	Y	P	R	R	R	R	S	S	P	S	A	R	P	P	D	
ZNF318	S69	G	H	R	G	R	R	A	S	P	S	P	P	R	G	R	
ZNF512B	S686	S	G	R	V	R	R	T	S	A	Q	V	A	V	F	H	
ZNF687	S1082	P	G	R	K	R	R	Q	S	S	D	S	C	S	E	E	

Table S7. Potential Csk protein substrates from database search**Class I [similar to consensus (E/D)PIY]**

Protein	Site															
ABCA4	Y360	S	T	R	K	D	P	I	Y	S	Y	D	R	R	T	T
AIP1	Y362	E	K	I	D	D	P	I	Y	G	T	Y	Y	V	D	H
ARHGAP42	Y376	M	D	G	K	E	P	I	Y	T	L	P	A	I	I	S
ARHGAP42 iso2	Y309	M	D	G	K	E	P	I	Y	T	L	P	T	I	I	S
Blk	Y309	V	V	T	K	E	P	I	Y	I	V	T	E	Y	M	A
C1GALT1	Y193	Y	D	P	E	E	P	I	Y	F	G	R	R	F	K	P
CTNND2	Y424	E	H	H	I	D	P	I	Y	E	D	R	V	Y	Q	K
Dok1	Y362	D	P	K	E	D	P	I	Y	D	E	P	E	G	L	A
Fyn	Y339	V	V	S	E	E	P	I	Y	I	V	T	E	Y	M	N
GTF2E1	Y188	N	E	Q	I	E	P	I	Y	A	L	L	R	E	T	E
Hck	Y330	V	V	T	K	E	P	I	Y	I	I	T	E	F	M	A
KIAA0368	Y1627	M	E	K	E	E	P	I	Y	K	T	S	C	A	L	T
Kprp	Y305	P	R	R	S	E	P	I	Y	N	S	R	C	P	R	R
Lck	Y313	V	V	T	Q	E	P	I	Y	I	I	T	E	Y	M	E
Lyn	Y316	V	T	R	E	E	P	I	Y	I	I	T	E	Y	M	A
Lyn iso2	Y295	V	T	R	E	E	P	I	Y	I	I	T	E	Y	M	A
MAGI1	Y866	N	E	P	G	E	P	I	Y	I	G	H	I	V	P	L
NLRP2	Y353	I	L	A	E	E	P	I	Y	I	R	V	E	G	F	L
NOS1AP	Y114	L	V	M	Q	D	P	I	Y	R	I	F	Y	V	S	H
OPHN1	Y370	M	D	G	K	E	P	I	Y	H	S	P	I	T	K	Q
PDXDC1	Y677	L	E	S	T	E	P	I	Y	V	Y	K	A	Q	G	A
PRUNE2	Y2147	E	I	D	E	E	P	I	Y	E	P	G	R	E	F	V
PTPN13	Y363	P	Q	K	M	D	P	I	Y	H	T	R	E	L	P	T
RIF1	Y2211	V	S	F	A	D	P	I	Y	Q	A	G	L	A	D	D
SF1	Y87	S	P	S	P	E	P	I	Y	N	S	E	G	K	R	L
SG2NA	Y527	S	L	D	V	E	P	I	Y	T	F	R	A	H	I	G
SgK223	Y411	A	T	Q	P	E	P	I	Y	A	E	S	T	K	R	K
Src	Y338	V	V	S	E	E	P	I	Y	I	V	T	E	Y	M	S
STRN	Y510	S	L	D	V	E	P	I	Y	T	F	R	A	H	K	G
SZT2	Y2127	S	R	S	Q	E	P	I	Y	S	E	E	A	S	G	P
TRHDE	Y284	P	C	F	D	E	P	I	Y	K	A	T	F	K	I	S
Yes	Y345	V	V	S	E	E	P	I	Y	I	V	T	E	F	M	S

Class II [similar to consensus (E/D)S(E/D)Y]

Protein	Site															
AAK1 iso9	Y28	Q	N	N	L	E	S	D	Y	L	A	R	D	G	P	
abLIM3	Y487	Y	Y	A	S	E	S	E	Y	W	T	Y	H	G	S	
ALMS1	Y453	K	P	T	R	E	S	E	Y	H	S	S	D	L	R	

AP2B1	Y276	L	L	P	K	D	S	D	Y	Y	N	M	L	L	K
ASB7	Y105	R	L	M	L	E	S	E	Y	R	S	D	I	I	N
ATP9B	Y69	F	E	N	E	E	S	D	Y	H	T	L	P	R	A
Blk	Y389	A	R	I	I	D	S	E	Y	T	A	Q	E	G	A
BLNK	Y72	S	D	D	F	D	S	D	Y	E	N	P	D	E	H
C9orf150	Y227	R	P	K	L	D	S	E	Y	Y	C	F	G	—	—
calponin 3	Y300	S	E	I	S	D	S	D	Y	Q	A	E	Y	P	D
calsequestrin 2	Y178	F	K	S	E	D	S	E	Y	Y	K	A	F	E	E
CD5	Y487	D	N	S	S	D	S	D	Y	D	L	H	G	A	Q
CENPC1	Y252	N	R	I	R	D	S	E	Y	E	I	Q	R	Q	A
CENTD2	Y231	P	E	F	D	D	S	D	Y	D	E	V	P	E	E
COX16	Y67	K	I	S	L	E	S	E	Y	E	K	I	K	D	S
DHX36	Y169	Y	I	D	R	D	S	E	Y	L	L	Q	E	N	E
eIF5B	Y593	E	M	S	S	D	S	E	Y	D	S	D	D	D	R
EPB41L5	Y83	L	D	L	I	E	S	D	Y	F	G	L	R	F	M
EphB2	Y577	F	E	R	A	D	S	E	Y	T	D	K	L	Q	H
EphB2 iso2	Y577	F	E	R	A	D	S	E	Y	T	D	K	L	Q	H
EphB3	Y593	R	H	G	S	D	S	E	Y	T	E	K	L	Q	Q
ERO1L	Y73	Q	K	L	L	E	S	D	Y	F	R	Y	Y	K	V
FAM175B	Y377	E	D	S	D	D	S	D	Y	E	N	L	I	D	P
FARP1	Y1015	Y	F	R	A	E	S	E	Y	T	F	E	R	W	M
FNDC3B	Y1099	L	V	G	R	E	S	E	Y	K	Q	V	Y	K	G
GIT1	Y598	G	S	G	A	D	S	D	Y	E	N	T	Q	S	G
GIT1 iso3	Y611	G	S	G	A	D	S	D	Y	E	N	T	Q	S	G
GIT2	Y592	N	S	T	P	E	S	D	Y	D	N	T	P	N	D
IARS	Y273	L	Y	K	L	E	S	D	Y	E	I	L	E	R	F
IFT74	Y572	T	K	S	Q	E	S	D	Y	Q	P	I	K	K	N
IL18	Y37	D	E	N	L	E	S	D	Y	F	G	K	L	E	S
IQSEC1	Y451	Q	S	K	S	E	S	D	Y	S	D	G	D	N	D
IRS4	Y779	D	N	D	S	E	S	D	Y	M	F	M	A	P	G
LARP	Y633	W	S	D	E	E	S	D	Y	E	I	D	D	R	D
LNK	Y555	N	R	A	R	D	S	D	Y	E	M	D	S	S	S
LRP5	Y1552	T	D	V	C	D	S	D	Y	S	A	S	R	W	K
LRP6	Y1541	T	D	V	C	D	S	D	Y	A	P	S	R	R	M
MAIR-I	Y293	E	E	E	P	D	S	D	Y	S	V	I	R	K	T
matrin 3	Y250	Y	H	K	F	D	S	E	Y	E	R	M	G	R	G
matrin 3 iso3	Y250	Y	H	K	F	D	S	E	Y	E	R	M	G	R	G
MLX iso2	Y33	P	D	D	E	D	S	D	Y	H	Q	E	A	Y	K
MTMR13	Y1518	T	F	L	L	D	S	D	Y	E	R	L	E	H	G
MTMR5	Y1529	T	F	L	L	D	S	D	Y	E	R	I	E	L	G
MUC3A	Y2320	S	P	Q	L	E	S	E	Y	E	Q	V	K	T	T

NAALADL2	Y106	R	L	Q	E	E	S	D	Y	I	T	H	Y	T	R
NOT2	Y37	V	E	G	V	D	S	D	Y	H	D	E	N	M	Y
NRD1	Y314	V	E	A	V	D	S	E	Y	Q	L	A	R	P	S
NUDCD2	Y108	T	S	L	L	E	S	E	Y	A	A	D	P	W	V
PAPSS2	Y182	F	T	G	I	D	S	D	Y	E	K	P	E	T	P
PDE4B	Y142	L	Y	R	S	D	S	D	Y	D	L	S	P	K	A
PDE4D	Y199	L	Y	R	S	D	S	D	Y	D	L	S	P	K	S
PDE4DIP	Y180	L	R	V	A	D	S	D	Y	E	A	I	C	K	V
PTP-PEST	Y88	T	P	S	Q	D	S	D	Y	I	N	A	N	F	I
PTPRO	Y936	D	M	A	K	D	S	D	Y	K	F	S	L	Q	F
RBM6	Y914	E	Y	G	G	D	S	D	Y	E	E	E	E	E	E
RPAP2	Y319	S	E	N	S	E	S	E	Y	S	R	S	E	I	T
Sam68	Y396	Q	S	Q	G	D	S	E	Y	Y	D	Y	G	H	G
SgK223	Y363	V	P	H	L	E	S	D	Y	C	S	L	M	K	E
SHP-1	Y536	Q	K	G	Q	E	S	E	Y	G	N	I	T	Y	P
SRPK2	Y425	E	P	N	A	E	S	D	Y	T	Y	S	S	S	Y
supervillin	Y132	D	P	E	A	D	S	E	Y	L	S	R	Y	T	K
TCTE1	Y464	D	V	A	Q	E	S	E	Y	L	I	G	Q	A	L
TMEM19	Y125	K	K	R	L	D	S	E	Y	K	E	G	G	Q	R
TRIP4	Y289	V	I	D	D	E	S	D	Y	F	A	S	D	S	N
TYMS	Y153	Y	R	D	M	E	S	D	Y	S	G	Q	G	V	D
USP9Y	Y869	I	N	E	C	D	S	D	Y	H	K	E	R	M	I