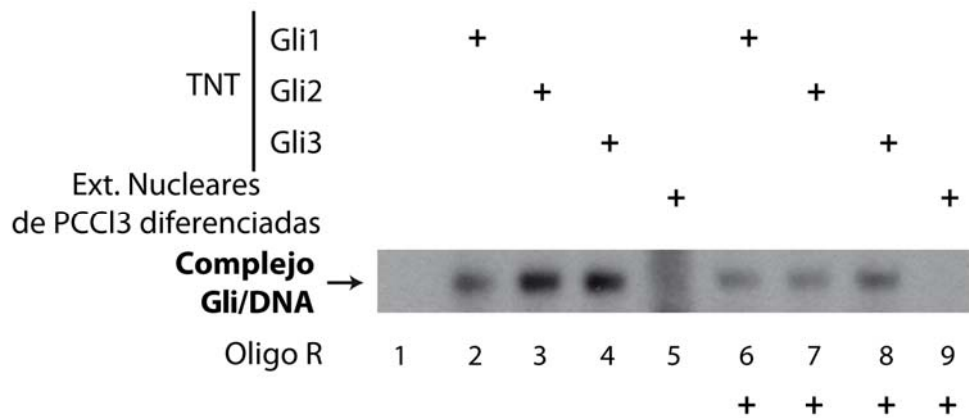
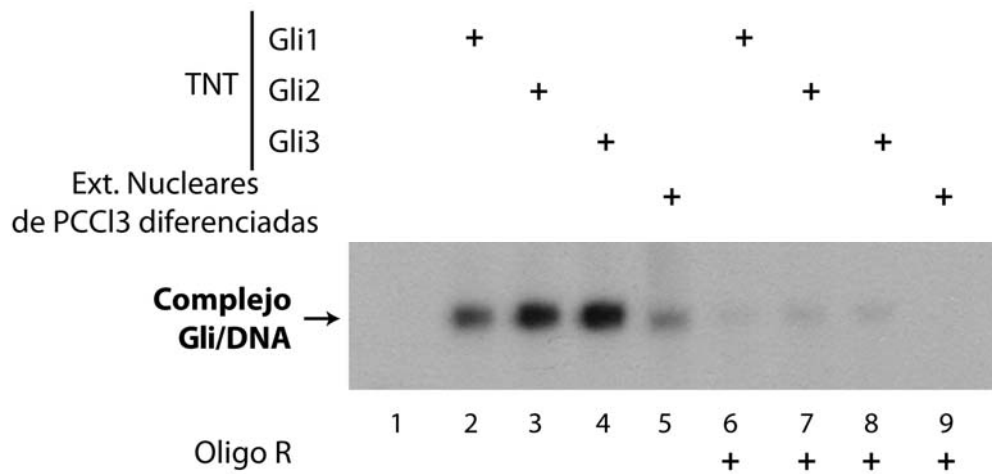


## Unión de los factores de transcripción Gli al promotor de *Tiff1* murino



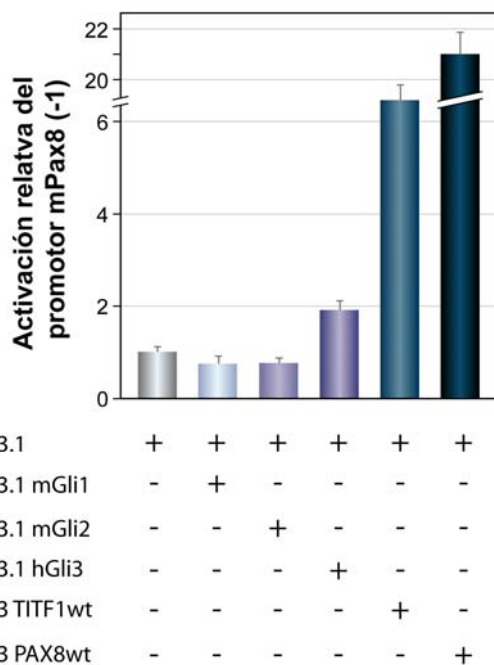
**Figura suplementaria 1: Unión de los factores de transcripción Gli sobre el promotor de *Tiff1*:** Ensayo de retardo en gel (EMSA) incubando el oligonucleótido, marcado con  $\gamma$ - $^{32}$ P-ATP, que contiene la secuencia putativa de Gli del promotor de *Tiff1* con: TNT de Gli1 (carril 2) de Gli2 (carril 3) y de Gli3 (carril 4) y con extractos nucleares de células PCCI3 (carril 5). La especificidad del complejo formado se demostró mediante competición con un exceso de oligonucleótido relacionado (R) y no marcado radiactivamente (carriles 6-9) Se muestra un ensayo representativo de 2 experimentos independientes.

## Unión de los factores de transcripción Gli al promotor de Pax8 murino



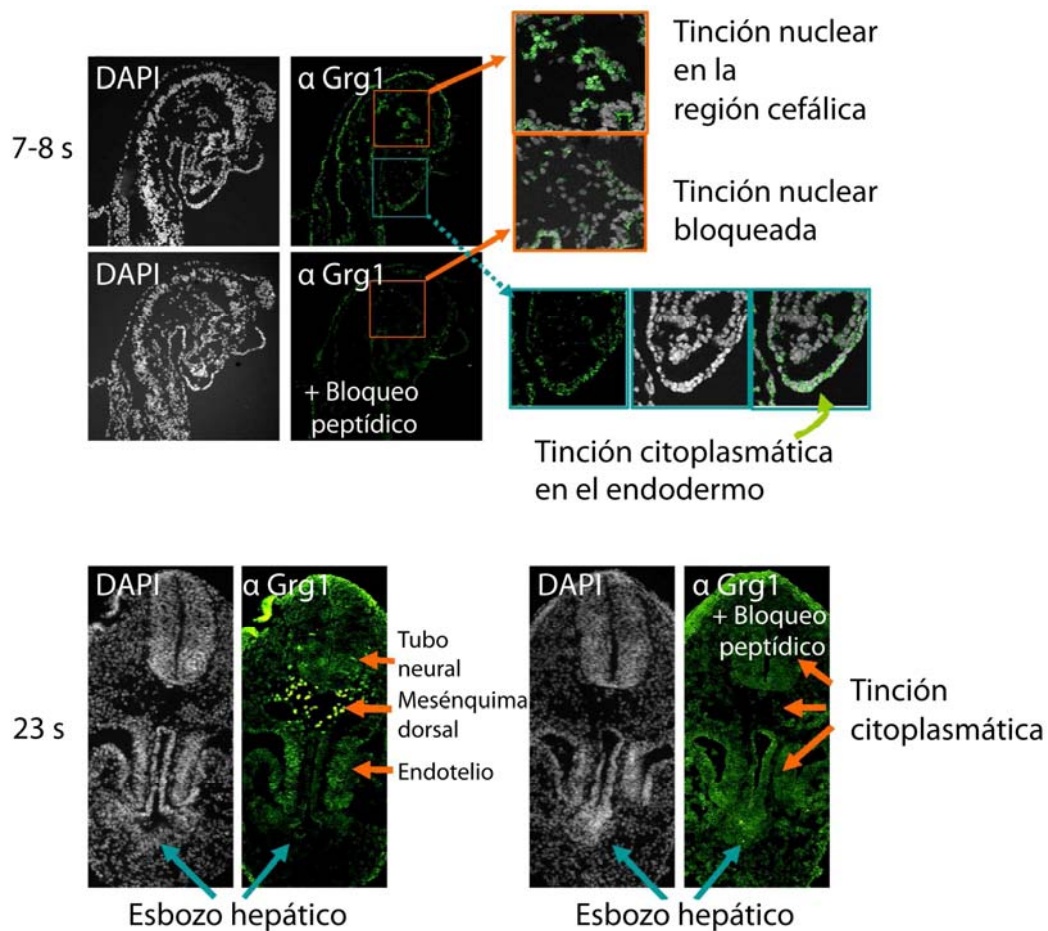
**Figura suplementaria 2: Unión de los factores de transcripción Gli sobre el promotor de Pax8:** Ensayo de retardo en gel (EMSA) incubando el oligonucleótido, marcado con  $\gamma$ - $^{32}$ P-ATP, que contiene la secuencia putativa de Gli del promotor de *Pax8* con: TNT de Gli1 (carril 2) de Gli2 (carril 3) y de Gli3 (carril 4) y con extractos nucleares de células PCCI3 (carril 5). La especificidad del complejo formado se demostró mediante competición con un exceso de oligonucleótido relacionado (R) y no marcado radiactivamente (carriles 6-9) Se muestra un ensayo representativo de 2 experimentos independientes.

## Activación del promotor de *Pax8* murino por los factores de transcripción Gli



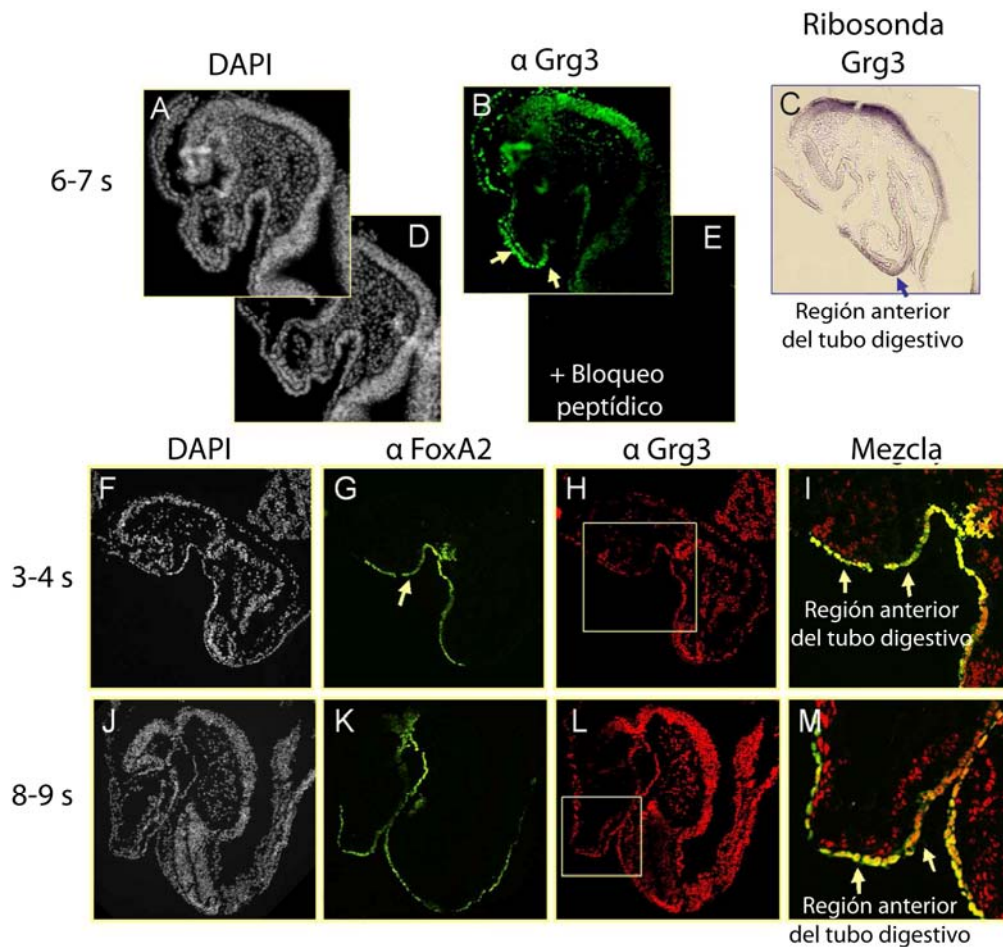
**Figura suplementaria 3: Efecto de los factores de transcripción Gli sobre el promotor de *Pax8*:** Se transfectaron células Hela con 3 $\mu$ g del promotor de *Pax8* (pGL3b-*Pax8* (-1) y 0,2 $\mu$ g del vector pRL-CMV. Se transfectaron también 1 $\mu$ g de los vectores de expresión de los factores de transcripción Gli. Además, se ha usado como control la transfección 1 $\mu$ g de los vectores de expresión de *Titf1* y *Pax8* humanos. Tras la transfección, las células fueron cultivadas durante 72 horas en medio DMEM, suplementado con 200 mM de Glutamina y 5% de suero fetal bovino. Posteriormente, las células se recolectaron para la determinación de la actividad luciferasa y renilla. La actividad del promotor de *Pax8* se expresa de manera relativa como las veces de inducción con respecto a los niveles control (=1) de células transfectadas con el vector control pcDNA3.1. Los valores representan la media $\pm$ S.D. de 4 experimentos independientes (n=4).

## Expresión de la proteína de Grg1 en la región del endodermo ventral



**Figura suplementaria 4: Expresión de la forma proteica de Grg1 en la región del endodermo ventral:** Inmunofluorescencia indirecta realizada sobre secciones sagitales de embriones de ratón a distintas edades somíticas, usando anticuerpos específicos para este correpresor transcripcional. Se observa que a la edad de 7-8 somitas, la expresión de Grg1 es citoplasmática en la región donde se sitúa el esbozo hepático, en cambio, en regiones cefálicas, la expresión de Grg1 es nuclear. El uso posterior de péptidos bloqueantes para Grg1, altera la localización nuclear de Grg1 en las regiones cefálicas, pero no en la región hepática, debido a que en estas zonas, la localización subcelular de este correpresor es citoplasmática.

## Expresión de la proteína de Grg3 en la región del endodermo ventral



**Figura suplementaria 5: Expresión de la forma proteica de Grg3 en la región del endodermo ventral:** Inmunofluorescencia indirecta realizada sobre secciones longitudinales de embriones de ratón a distintas edades somíticas. Estos ensayos con anticuerpos específicos contra Grg3, indican que este correpressor transcripcional se expresa en la región de endodermo donde se sitúan las células progenitoras de tejido hepático (B, indicado con flechas). F-I) En embriones de 3-4 y 8-9 somitas muestran una colocalización entre la expresión de Grg3 y el factor de transcripción FoxA2. En el caso de este correpressor transcripcional, su expresión no desaparece de la región del endodermo ventral, tras la especificación hepática. El bloqueo peptídico de Grg3 en secciones longitudinales de embriones de 6-7 somitas, provoca que la expresión de Grg3 tanto en la región del endodermo ventral como en la región de cerebro posterior quede anulada.