



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년05월24일
(11) 등록번호 10-2536297
(24) 등록일자 2023년05월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/82 (2006.01) A01H 5/10 (2018.01)
C12N 15/10 (2017.01) C12N 15/113 (2010.01)
C12N 9/10 (2006.01) C12N 9/22 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/8247 (2013.01)
A01H 5/10 (2022.05)
(21) 출원번호 10-2021-0017565
(22) 출원일자 2021년02월08일
심사청구일자 2021년02월08일
(65) 공개번호 10-2022-0114274
(43) 공개일자 2022년08월17일
(56) 선행기술조사문헌
WO2020142598 A2
JP2016502852 A

(73) 특허권자
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(72) 발명자
김현욱
서울특별시 중랑구 용마산로129가길 41, 102동 901호(신내동, 영풍마드레빌)
김원녕
서울특별시 광진구 면목로 7, 401호(군자동)
(74) 대리인
특허법인리체

전체 청구항 수 : 총 4 항

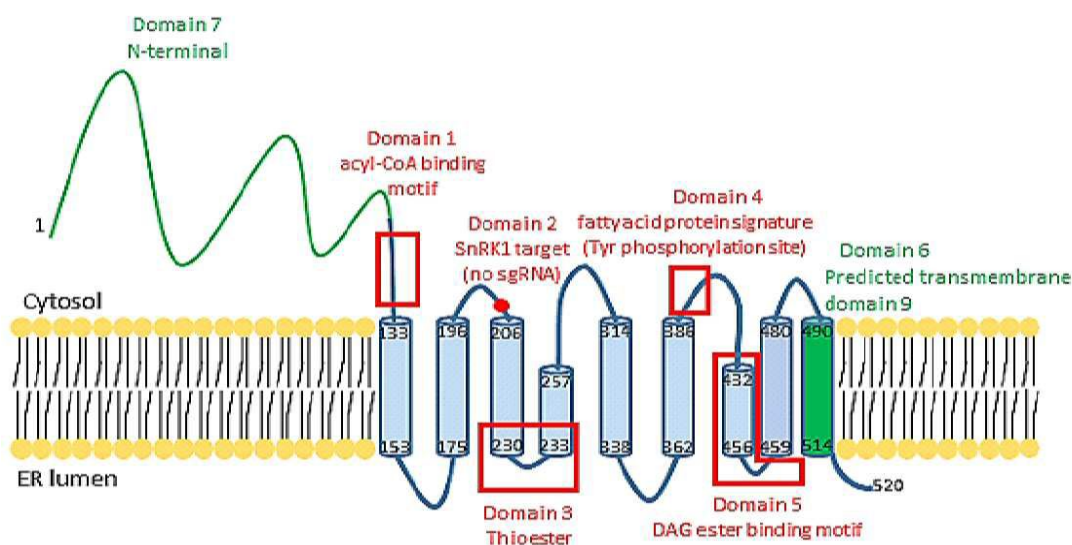
심사관 : 박정웅

(54) 발명의 명칭 식물체의 오메가 3 지방산 함량 증가 방법

(57) 요약

본 발명은 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법에 관한 것으로, 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환되거나, 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계; 또는 대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키거나; 서열번호 2의 서열에서 147번 내지 212번 위치 또는 156번 내지 212번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 그 위치에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계를 포함하여 오메가 3 지방산의 함량을 증가시킬 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- C12N 15/102 (2013.01)
- C12N 15/113 (2013.01)
- C12N 9/1029 (2013.01)
- C12N 9/22 (2013.01)
- C12N 2310/20 (2017.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395066875
과제번호	PJ015324012020
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대농작물신육종기술개발(R&D)
연구과제명	지방산대사 유전자교정에 의한 기능성오일 생산 콩 육종소재 개발
기여율	1/2
과제수행기관명	세종대학교
연구기간	2020.05.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395072190
과제번호	PJ016533012022
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	차세대농작물신육종기술개발
연구과제명	유용소재 및 농업형질 개선 유전자교정 콩 개발 및 시장경쟁력 확보(1주관)
기여율	1/2
과제수행기관명	세종대학교
연구기간	2022.01.01 ~ 2023.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환되거나, 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계; 또는

대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키거나; 서열번호 2의 서열에서 147번 내지 212번 위치 또는 156번 내지 212번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 그 위치에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계; 를 포함하는,

식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 치환은 유전자 가위를 사용하여 수행되는 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 결실은 유전자 가위를 사용하여 수행되는 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

청구항 4

청구항 1의 식물체의 형질전환된 종자.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 식물체의 오메가 3 지방산 함량 증가 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 오메가 3 지방산은 탄소 사슬 끝에서 세 번째 탄소 원자에 이중 결합을 갖는 다중 불포화지방산 (polyunsaturated fatty acid)으로, 주로 생선류의 기름에 존재하고 들깨 등의 식물에도 존재하는 것으로 알려져 있다. 인간 생리에 관여하는 주요 오메가 3 지방산은 알파-리놀레산 (α -linoleic acid), 에이코사펜타엔산 (eicosapentaenoic acid ; EPA), 도코사헥사엔산 (docosahexaenoic acid ; DHA)이며, 지단백질 대사 개선 (혈중 지질 수치 개선), 심혈관 질환 억제 및 개선, 고혈압 개선, 면역계 조절, 안구·생식기 및 신경계 발달 및 기능에 작용 등의 생리활성을 갖고 있는 것으로 알려져 있다.

[0004] Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1)은 식물 종자 내 endoplasmic reticulum membrane 에서 TAG 합성을 담당하는 마지막 효소로, diacylglycerol (DAG)에 Acyl기를 하나 추가하여 TAG를 합성한다. 기존에는 DGAT1를 식물에 과발현시켜 종자 지방함량을 증진시켜 왔다.

[0005] 지구 온난화에 대하여 대체에너지와 탄소 배출량 감소가 동시에 요구되는 현대 사회의 특성에 따라서 농경지 증가가 아닌 식물 지방생성 효율 증대가 필요하다. 이에 따라 효율이 증대된 DGAT1과 관련된 연구 개발이 요구

된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제 10-1701129호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 DGAT1은 식물 종자 지방 합성에 관여하는 마지막 단계의 효소라고 할 수 있는 것으로, 식물 간에 보존된 영역이 존재하는 DGAT1의 특성상 다른 식물, 특히 유지 작물에서도 동일하게 적용하여 종자 지방의 지방산 조성을 변화시키거나 지방 함량 증진에 활용하기 위함에 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 1. 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환되거나, 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계; 또는

[0011] 대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키거나; 서열번호 2의 서열에서 147번 내지 212번 위치 또는 156번 내지 212번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 그 위치에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계;를 포함하는,

[0012] 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

[0013] 2. 위 1에 있어서, 상기 치환은 유전자 가위를 사용하여 수행되는 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

[0014] 3. 위 1에 있어서, 상기 결실은 유전자 가위를 사용하여 수행되는 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법.

[0015] 4. 위 1의 식물체의 형질전환된 종자.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 식물체의 오메가 3 지방산 함량을 증가시키는 방법을 통해, 기존의 오메가 3 지방산 함량보다 더 높은 함량으로 오메가 3 지방산을 포함하도록 하는 식물을 개발할 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명의 방법을 통해 오메가 3 지방산 함량이 증가된 식물체의 형질전환된 종자를 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 애기장대 DGAT1의 단백질 서열을 이용하여 구조를 예측하고, 7개의 주요 Domain들을 표시한 것이다. 빨간 박스는 효소의 기능적 측면을 담당하는 것이고, 녹색으로 표시된 부분은 효소의 조절을 담당하는 것이다.

도 2A는 sgRNA insert를 만드는데 사용한 Annealing method와 CBE, ABE 벡터에 Ligation하기까지 과정을 간략하게 나타낸 것이고, 도 2B는 클로닝이 완료된 52개의 콜로니를 PCR로 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 Cas9 매개 DGAT1 N-terminal in-frame deletion의 과정을 간략하게 그림으로 나타낸 것이다. 사용된 벡터는 pHEE401E_UBQ_Bar로 단일 Cas9 벡터에서 두 개의 서로 다른 sgRNA를 클로닝하고, 두 개의 sgRNA-scaffold 복합체를 식물체 내에서 적용하였다.

도 4A는 DGAT1 염기교정(BE) 및 N-terminal in-frame deletion 개체의 선별과정을 그림으로 나타낸 것이고, 도 4B는 세대 진전에 따른 DNA 시퀀싱 결과를 나타낸 것이다. 도 4A의 마지막 단계인 가스 크로마토그래피는 homozygous line이 출현한 마지막 세대에서만 진행되었다.

도 5A는 애기장대 DGAT1과 염기가 치환된 돌연변이 DGAT1의 아미노산 서열을 비교한 것이다. 순서대로 AtDGAT1 (야생형 애기장대), D1-1 개체, D1-2 개체, D3-1 개체, D5-1 개체, D5-2 개체, CsDGAT1-A(양구슬냉이), CsDGAT1-B(양구슬냉이), CsDGAT1-C(양구슬냉이), BnDGAT1(유채), GmDGAT1C(대두), AhDGAT1(땅콩), RcDGAT1(피마자) 개체의 DGAT1 아미노산 서열을 나타낸 것이다. 이를 통해, 돌연변이에서 치환된 모든 부위의 아미노산 서열이 식물 DGAT1에서 모두 보존되어 있음을 알 수 있다. 도 5B는 정성적 분석 결과를 지방산 조성의 비교 그래프로 나타낸 것이고, 도 5C는 정량적 분석 결과를 지방(Fatty acid methyl esters (FAME)) 함량 비교 그래프로 나타낸 것이다.

도 6A는 야생형(WT) 염기서열과 D5-1 염기 치환 부위를 비교한 것이고, 도 6B는 야생형(WT) 염기서열과 D5-2 염기 치환 부위를 비교한 것이다. 도 6C는 야생형 애기장대 DGAT1의 DAG binding motif를 포함하는 일부 아미노산 서열을 비교한 것이다. D5-1 및 D5-2은 염기치환으로 아미노산 치환된 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 서열을 나타낸 것이다.

도 7은 각 개체 별 DGAT1의 유전자의 일부 서열을 비교한 것으로, 왼쪽과 오른쪽에 쓰여진 숫자는 각 개체 DGAT1 유전자 서열의 전체 길이에서 표시된 부분 서열의 양 끝을 나타내는 것이다. D5-1 및 D5-2은 염기치환 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 염기서열을 나타낸 것이다. 또한, CBE6은 해당 부위를 치환하는데 사용한 sgRNA의 이름을 의미한다 (표1 참고).

도 8A는 야생형(WT) 염기서열과 D1-1 염기 치환 부위를 비교한 것이고, 도 8B는 야생형(WT) 염기서열과 D1-2 염기 치환 부위를 비교한 것이다. 도 8C는 야생형 애기장대 DGAT1의 Acyl-CoA motif를 포함하는 일부 아미노산 서열을 비교한 것이다. D5-1 및 D5-2은 염기치환으로 아미노산 치환된 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 서열을 나타낸 것이다.

도 9는 각 개체 별 DGAT1의 유전자의 일부 서열을 비교한 것으로, 왼쪽과 오른쪽에 쓰여진 숫자는 각 개체 DGAT1 유전자 서열의 전체 길이에서 표시된 부분 서열의 양 끝 위치를 의미한다. D1-1 및 D1-2은 염기치환 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 염기서열을 나타낸 것이다. 또한, CBE2은 해당 부위를 치환하는데 사용한 sgRNA의 이름을 의미한다 (표 1 참고).

도 10A는 야생형(WT) 염기서열과 D3-1 염기 치환 부위를 비교한 것이고, 도 10B는 야생형 애기장대 DGAT1의 thioesterase 부위를 포함하는 일부 아미노산 서열을 비교한 것이다. D3-1은 염기치환으로 아미노산 치환된 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 서열을 나타낸 것이다.

도 11은 각 개체 별 DGAT1의 유전자의 일부 서열을 비교한 것으로, 왼쪽과 오른쪽에 쓰여진 숫자는 각 개체 DGAT1 유전자 서열의 전체 길이에서 표시된 부분 서열의 양 끝 위치를 의미한다. D3-1은 염기치환 라인이고, CsDGAT1-A-C은 양구슬냉이 DGAT1, BnDGAT1은 유채 DGAT1, GmDGAT1C은 대두 DGAT1, AhDGAT1은 땅콩 DGAT1, RcDGAT1은 피마자 DGAT1 염기서열을 나타낸 것이다. 또한, ABE3은 해당 부위를 치환하는데 사용한 sgRNA의 이름을 의미한다 (표 1 참고).

도 12는 야생형 애기장대, D7c-1 개체, D7c-2h 개체에서 결실되는 부분 및 sgRNA가 작용하는 부분을 표시한 것이다. D7c-1 개체의 경우 서열번호 2의 146번 내지 226번에 해당하는 위치의 염기서열이 제거되었다. 이 제거는 해당 유전자의 번역 프레임에 영향을 주지 않아서 이후의 서열이 야생형 애기장대와 같다. 반면, D7c-2h 개체의 경우 이형 접합체로, 상동유전체 한 쌍에 포함된 각각의 DGAT1 유전자가 서열번호 2의 156번에 대응되는 위치와 147번에 대응되는 위치부터 결실되어 형태가 다르게 나타난다. 추가로 임의의 염기서열이 한 개 삽입되어 프레임에 변화가 일어나 열리스탑되었다.

도 13는 D7c 개체들의 치환된 지방산 조성을 분석하여 비교 그래프로 나타낸 것이다.

도 14는 D7c 개체들의 지방 함량을 비교하여 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0023] 본 발명은 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환되거나, 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계; 또는 대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키거나; 서열번호 2의 서열에서 147번 내지 212번 위치 또는 156번 내지 212번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 그 위치에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계;를 포함하는 식물체의 오메가 3 지방산의 함량을 증가시키는 방법에 관한 것이다.
- [0024] 본 발명에서 대상 식물체는 DGAT1을 포함하는 식물체면 모두 해당되는 것이고, 예를 들어, 애기장대, 양구슬냉이, 유채, 카벨리나, 대두, 콩, 땅콩, 피마자 등의 오일 작물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명에서 서열번호 1의 서열은 애기장대의 DGAT1 효소의 아미노산 염기 서열을 나타낸 것이고, 서열번호 2의 서열은 애기장대의 DGAT1 효소의 유전자 서열을 나타낸 것이다.
- [0026] 본 발명에서 서열번호 3는 AtDGAT1의 CDS sequence를, 서열번호 4은 D5-2의 CDS sequence를, 서열번호 5는 BnDGAT1의 CDS sequence를, 서열번호 6는 GmDGAT1C의 CDS sequence를, 서열번호 7은 RcDGAT1의 CDS sequence를, 서열번호 8은 AhDGAT1의 CDS sequence를, 서열번호 9은 CsDGAT1-A의 CDS sequence를, 서열번호 10는 CsDGAT1-B의 CDS sequence를, 서열번호 11은 CsDGAT1-C의 CDS sequence를 나타낸 것이다.
- [0027] 또한, 본 발명에서 서열번호 176은 AtDGAT1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 177은 D1-1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 178은 D1-2의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 179는 D3-1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 180은 D5-1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 181은 D5-2의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 182는 CsDGAT1-A의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 183은 CsDGAT1-B의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 184는 CsDGAT1-C의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 185는 BnDGAT1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 186은 GmDGAT1C의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 187은 AhDGAT1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것, 서열번호 188은 RcDGAT1의 DGAT1를 align한 서열을 나타낸 것이다.
- [0028] 본 발명은 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명은 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열과 서열번호 1의 서열을 대응시키는 방법은 유전자를 자동으로 align하여 결과를 확인할 수 있는 컴퓨터 프로그램 등에 의할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명에서 염기를 치환하는 방법은 예를 들어, 염기 교정(Base Editing, BE) 에 의할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 염기 교정은 타겟 DNA의 염기 하나를 교정하여 결과적으로 단백질 번역 시 Frame-shift 없이 단백질의 아미노산 서열 치환을 유도하는 기술을 의미한다. 염기 교정은 예를 들면 유전자 가위를 사용하여 수행될 수 있고, 유전자 가위는 CRISPR, 구체적으로 CRISPR-Cas9을 사용할 수 있다. 유전자 가위 사용시에는 sgRNA는 대상 식물체의 DGAT1 유전자의 상기 부위를 타겟팅 할 수 있는 서열을 사용할 수 있고, 이는 대상 식물체의 DGAT1 유전자에 맞추어 설계될 수 있다.
- [0032]
- [0033] 본 발명은 대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명에서 결실은 일반적으로 유전자에서 염기를 결실시키는 방법이라면 모두 적용 가능한 것이고, 예를 들어 유전자 가위를 이용하여 수행하는 방법일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명은 서열번호 2의 서열에서 147번 내지 212번 위치 또는 156번 내지 212번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 그 위치에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계를 포함할 수 있다.

[0037] 상기 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계는 구체적으로, 대상 개체의 DGAT1 유전자 서열 중, 상기 서열번호 2의 147번 위치 내지 212번 위치에 대응되는 위치에 있는 염기 구간이 결실이 되고, 상기 결실된 구간(위치)에 임의의 염기 하나가 추가되어 146번 위치에 대응되는 위치의 염기 다음에 임의로 추가된 염기가 나열되고, 그 다음에 213번 염기가 나열되어, 프레임 시프트가 발생할 수 있고, 얼리스탑될 수 있다. 예를 들어, 도 12의 D7c-2h(Hetero) β에 나타난 그림과 같이, 147번 위치 내지 212번 위치에 대응되는 염기 구간을 결실시키고, 결실된 위치에 임의의 염기(도 12에서는 염기 C)를 추가하여 프레임 시프트가 발생하여 얼리스탑될 수 있다.

[0038] 또한, 상기 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계는 구체적으로, 대상 개체의 DGAT1 유전자 서열 중, 상기 서열번호 2의 156번 위치 내지 212번 위치에 대응되는 위치에 있는 염기 구간이 결실이 되고, 상기 결실된 구간(위치)에 임의의 염기 하나가 추가되어 156번 위치에 대응되는 위치의 염기 다음에 임의로 추가된 염기가 나열되고, 그 다음에 213번 염기가 나열되어, 프레임 시프트가 발생할 수 있고, 얼리스탑될 수 있다. 예를 들어, 도 12의 D7c-2h(Hetero) α에 나타난 그림과 같이, 156번 위치 내지 212번 위치에 대응되는 염기 구간을 결실시키고, 결실된 위치에 임의의 염기(도 12에서는 염기 T)를 추가하여 프레임 시프트가 발생하여 얼리스탑될 수 있다.

[0039] 본 발명은 대상 식물체의 DGAT1 단백질의 아미노산 서열에서 서열번호 1의 서열에서 123번 및 124번 위치에 대응되는 위치의 세린이 각각 아르기닌 및 류신으로 치환되거나, 서열번호 1의 서열에서 416번 위치에 대응되는 위치의 트립토판이 시스테인으로 치환되고 419번 위치에 대응되는 위치의 아르기닌이 글루타민으로 치환된 단백질을 형성하도록 DGAT1 유전자의 염기를 치환하는 단계; 또는 대상 식물체의 DGAT1 유전자에서 서열번호 2의 서열에서 146번 내지 226번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키거나; 서열번호 2의 서열에서 147번 또는 156번 위치에 대응되는 위치의 염기를 결실시키고, 상기 147번 또는 156번 위치에 대응되는 위치 중 결실된 위치와 서열번호 2의 서열에서 212번에 대응되는 위치 사이에 임의의 염기 한 개를 추가하는 단계;를 포함하여 오메가 3 지방산의 함량을 증가시킨 식물체의 형질전환된 종자에 관한 것이다.

[0040] 본 발명에서 형질전환은 DNA를 식물에 전이시키는 임의의 방법을 의미하는 것으로, 형질전환 방법은 반드시 재배 또는 조직 배양 기간을 가질 필요는 없다. 식물 종의 형질전환은 숙주로 선택한 식물의 특성을 고려하여 특정 식물에 적절한 공지의 형질전환 방법을 선택하여 실시할 수 있다. 예를 들어, 아그로박테리아를 이용한 형질전환 방법, 원형질체의 전기천공법, 식물 요소로의 현미주사법, 식물 요소로의 입자충격법 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0044] **실시예**

[0045] **1. 재료 및 방법**

[0046] **(1) DGAT1 단백질의 구조와 주요 도메인의 기능 및 위치 분석(도 1)**

[0047] DGAT1의 구조의 주요 도메인에 대하여 염기교정을 진행하였다. 해당 부위들은 acyl-CoA binding site, SnRK2 target site, thioesterase, fatty acid signature protein, diacylglycerol (DAG) binding site, 9번째 transmembrane domain의 6가지이다. 마지막으로 N-terminal부분은 folding되지 않은 flexible한 구간으로 regulatory motif를 포함하고 있다 (그림 1). 총 7개의 domain들을 DGAT1에서 중요하게 작용하는 domain이라고 생각했으며 이를 타겟하는 52개의 sgRNA를 디자인 하였다.

[0048] **(2) DGAT1 Base Editing 벡터 제작**

[0049] 52개의 sgRNA (표 2)는 base editing 벡터에 클로닝할 때 annealing method를 사용하였다. 이는 단일가닥의 형태로 되어있는 sgRNA 타겟 시퀀스를 이중가닥으로 만들기 위하여 원래 타겟하고자 디자인한 시퀀스와 이에 상보적인 시퀀스를 제작하여 annealing시 dimer를 형성하며 추가적으로 본래의 sgRNA 5' 말단에 ATTG, 상보적 sgRNA 5' 말단에는 AAAC를 더하여 벡터에 삽입할 때 필요한 sticky end를 유도할 수 있다. 벡터의 완성 유무는 PCR로 확인하였으며 벡터에 존재하는 U6 promoter에 결합하는 forward primer (5'-ACCCITCAAGAATTTGATTGAATA)와 각 sgRNA의 insert를 만들 때 사용한 complimentary oligo를 reverse로 사용하였다. PCR 결과 밴드 사이즈는 약 200bp로 확인된 벡터는 *E. coli*, *Agrobacterium tumefaciens*를 거쳐 애기장대 식물에 형질전환 시키는데 사용되었다(도 2). 이때 사용된 벡터는 cytosine에서 thymine으로 전환시키는 CBE 벡터와 adenine에서 guanine으로 전환시키는 ABE 벡터 두 가지가 사용되었다.

표 1

52개 sgRNA의 DNA서열, 변화 부위 및 방향

서열번호	sgRNA sequence	Predicted edition	Direction
12	TCTCTCGCCCTCCGATGAGCTGG	AGA/GAG (Arg118 / Glu119) -> AAA/AAG (Lys118 / Lys119)	Rev
13	CTCCGACGCAATCTTCAAACAGG	TCC (Ser124) -> TTT (Phe124)	For
14	ATCCAGTTTACGTACCCCTAAGG	CCA (Pro224) -> TTA (Leu224)	For
15	TGCTCCTCACTTGCATTGTGTGG	CTC (Leu243) -> TTT (Phe243)	For
16	CTGCCAATATGTTTAACTTTGG	GCA (Ala382) -> ACA (Thr382)	Rev
17	CGAACCATCCATTTATGAACAGG	GTT (Val418) -> ATT (Ile418)	Rev
18	CTTGCGCAGCAAGATACCAAAGG	CGC (Arg427) -> TGC (Cys427)	Rev
19	TGCGATGCATAGCTGTCAAAGG	GCA (Ala452) -> ACA (Thr452)	Rev
20	TTGTCGTCTCTCAAGCTATGGG	CGT (Ala456) -> TGT (Cys456)	For
21	ACCTACTCAAACAAATTTGGTTGG	GTG (Val470) -> ATG (Met470)	Rev
22	TCACAACTATCTACAGGAAAGG	ACA (Thr476) -> ATA (Ile476)	For
23	CTCCGACGCAATCTTCAAACAGG	GAC (Asp125) -> GGC (Gly125)	For
24	TGGATACAAAACCTCTGTCTATGG	TAT (Tyr223) -> CAC (His223)	Rev
25	CACCTTAGGGTGACGTAAACTGG	CTA (Leu229) -> CCA (Pro229)	Rev
26	CTGCCAATATGTTTAACTTTGG	TTG (Leu381) -> CCG (Pro381)	Rev
27	TGGCAGAGCTTCTCTGCTTCGGG	GAG (Glu383) -> GGG (Gly383)	For
28	ATCGTGAATTTACAAAGATTGG	GAA (Glu391) -> GGG (Gly391)	Rev
29	TGGTGGAAATGCAAAAAGTGTGGG	AAT (Asn398) -> GGT (Asp398)	For
30	CGAACCATCCATTTATGAACAGG	ATG (Met417) -> ACG (Thr417)	Rev
31	CATGAAAGACTGCAGAGACTAGG	TTT (Phe446) -> CCC (Pro446)	Rev
32	TGCGATGCATAGCTGTCAAAGG	ATC (Ile451) -> ACC (Thr451)	Rev
33	AGGCACCTACTCAAACAAATTTGG	GTG (Val470) -> GCG (Ala470)	Rev
34	CTTCATCACAACTATCTACAGG	ATC (Ile475) -> GTC (Val475)	For
35	TCACAACTATCTACAGGAAAGG	AAC (Asn477) -> GGC(Gly477)	For
36	AACTATCTACAGGAAAGGTTTGG	TAT (Tyr478) -> TGT (Cys478)	For
37	TGCTGGCGTTACTACGGTGACGG	GCT (Ala7) -> GTT (Val7)	For
38	GTTACTACGGTGACGGAGAACGG	ACT (Thr10) -> AGT (Ile10)	For
39	ACTACGGTGACGGAGAACGGTGG	ACT / ACG (Thr10 / Thr11) -> AGT / AGG (Ile10 / Met11)	For
40	ACGGTGACGGAGAACGGTGGCGG	ACG (Thr11) -> AGG (Met11)	For
41	ATCTTGATAGGCTTCGTCGACGG	CTT (Leu23) -> GTT (Phe23)	For
42	TCGAGATCGGATTCTTCTAACGG	TCG (Ser31) -> TGG (Leu31)	For
43	TCTAACGGACTTCTTCTCTTGG	TCT (Ser36) -> TGT (Phe36)	For
44	TTCCGATAATAATTCCTTCGG	TCC (Ser44) -> TGG (Phe44)	For
45	AATTCCTTCGGATGATGTTGG	TCT (Ser48) -> TGT (Phe48)	For
46	ATCCGAAGGAGAATTATTATCGG	GAT (Asp51) -> AAT (Asn51)	Rev
47	CTCCCGCCGACGTTAGGGATCGG	CCC (Pro56) -> TTT (Phe56)	For
48	ATCCGATCCCTAACGTCGGCGGG	CGG (Arg62) -> CAA (Gln62)	Rev
49	ATCAATCCGATCCCTAACGTCGG	GAT (Asp64) -> CAT (Asn64)	Rev
50	TTGGCCGGAGATAATAACGGTGG	GCC (Ala78) -> GTT (Val78)	For
51	GCCACCACCGTTATTATCTCCGG	GGC (Gly85) -> AAC (Asn85)	Rev
52	GTTACTACGGTGACGGAGAACGG	ACG (Thr11) -> GCG (Ala11)	For
53	ACGGTGACGGAGAACGGTGGCGG	ACG (Thr13) -> GCG (Ala13)	For
54	ATCTTGATAGGCTTCGTCGACGG	GAT (Asp24) -> GGT (Gly24)	For
55	TCTAACGGACTTCTTCTCTTGG	AAC (Asn37) -> AGC (Ser37)	For
56	TTCCGATAATAATTCCTTCGG	GAT (Asp45) -> GGT (Gly45)	For
57	ATCCGAAGGAGAATTATTATCGG	ACG (Ser50) -> CCG (Pro50)	Rev
58	ATCAATCCGATCCCTAACGTCGG	AGT (Ile63) -> ACT (Thr63)	Rev
59	GTTGTTAACGATGACGCTCAGGG	AAC (Asn68) -> GAC (Asp68)	Rev
60	CGCTCAGGGAACAGCCAATTTGG	CAG (Gln72) -> CGG (Arg72)	For
61	CAGGGAACAGCCAATTTGGCCGG	ACA(Thr74) -> GCA (Ala74)	For

62	GATAATAACGGTGGTGAAGAGG	AAT / AAC (Asn81 / Asn82) -> AGT / GAC (Ser81 / Asp82)	For
63	AATAACGGTGGTGAAGAGCGG	AAC (Asn82) -> AGC (Ser82)	For

표 2

52개 sgRNA의 insert 제작을 위한 서열과 각 타겟 도메인

[0053]

Target group	Name	서열 번호	Forward	서열 번호	Reverse
Domain 1	AID1	64	ATTGCTCTCTCGCCCTCCGATGAGC	116	AAACGCTCATCGGAGGGCGAGAGA
	AID2	65	ATTGCTCCGACGCAATCTCAAAC	117	AAACGTTTGAAGATTGCGTCGGAG
	ABE1	66	ATTGCTCCGACGCAATCTCAAAC	118	AAACGTTTGAAGATTGCGTCGGAG
Domain 3	AID3	67	ATTGATCCAGTTTACGTCAACCTA	119	AAACTAGGGTGACGTAACCTGGAT
	AID4	68	ATTGTGCTCCTCACTGCATTGTG	120	AAACCACAATGCAAGTGAGGAGCA
	ABE2	69	ATTGTGGATACAAAACCTCTGTCA	121	AAACTGACAGAGGTTTTGTATCCA
Domain 4	ABE3	70	ATTGCACCTTAGGGTGACGTA AAC	122	AAACGTTTACGTCAACCTAAGGTG
	AID5	71	ATTGCTGCCAATATGTTAAACCTT	123	AAACAAGTTAAACATATTGGCAG
	ABE4	72	ATTGCTGCCAATATGTTAAACCTT	124	AAACAAGTTAAACATATTGGCAG
Domain 5	ABE5	73	ATTGTGGCAGAGCTTCTCTGCTTC	125	AAACGAAGCAGAGAAGCTCTGCCA
	ABE6	74	ATTGATCGTGAATTCTACAAAGAT	126	AAACATCTTTGTAGAATTCAGGAT
	AID6	75	ATTGCGAACCATCCATTTATGAAC	127	AAACGTTTATAAATGGATGGTTCG
	AID7	76	ATTGCTTGCGCAGCAAGATACCAA	128	AAACTTGGTATCTTGCTGCGCAAG
	AID8	77	ATTGTGCGATGCATAGCTGTCAAA	129	AAACTTTGACAGCTATGCATCGCA
	AID9	78	ATTGTTGTGCTCTCTCAAGCTAT	130	AAACATAGCTTGAAGAGACGACAA
Domain 6	ABE7	79	ATTGTGGTGGAAATGCAAAAAGTGT	131	AAACACACTTTTGCATTCACCA
	ABE8	80	ATTGCGAACCATCCATTTATGAAC	132	AAACGTTTATAAATGGATGGTTCG
	ABE9	81	ATTGCATGAAAGACTGCAGAGACT	133	AAACAGTCTCTGCAGCTTTTCATG
	ABE10	82	ATTGTGCGATGCATAGCTGTCAAA	134	AAACTTTGACAGCTATGCATCGCA
	AID10	83	ATTGACCTACTCAAACAAATTTGGT	135	AAACACCAATTTGTTTGTAGTAGGT
	AID11	84	ATTGTCAAACTATCTACAGGAA	136	AAACTTCTGTAGATAGTTTGTGA
Domain 6	ABE11	85	ATTGAGGCACCTACTCAAACAAAT	137	AAACATTTGTTTGTAGTAGGTGCTT
	ABE12	86	ATTGCTTCATCACAACCTATCTAC	138	AAACGTAGATAGTTTGTAGTAGG
	ABE13	87	ATTGTCACAACCTATCTACAGGAA	139	AAACTTCTGTAGATAGTTTGTGA
	ABE14	88	ATTGAACTATCTACAGGAAAGGTT	140	AAACAACCTTCTGTAGATAGTT

Domain 7	nAID1	89	ATTGTGCTGGCGTTACTACGGTGA	141	AAACTCACCGTAGTAACGCCAGCA
	nAID2	90	AAACTTCTCCGTCACCGTAGTAAC	142	AAACTTCTCCGTCACCGTAGTAAC
	nAID3	91	ATTGACTACGGTGACGGAGAACGG	143	AAACCCGTTCTCCGTCACCGTAGT
	nAID4	92	ATTGACGGTGACGGAGAACGGTGG	144	AAACCCACCGTTCTCCGTCACCGT
	nAID5	93	ATTGATCTTGATAGGCTTCGTCGA	145	AAACTCGACGAAGCCTATCAAGAT
	nAID6	94	ATTGTCGAGATCGGATTCTTCTAA	146	AAACTTAGAAGAATCCGATCTCGA
	nAID7	95	ATTGTCTAACGGACTTCTTCTCTC	147	AAACGAGAGAAGAAGTCCGTTAGA
	nAID8	96	ATTGTTCCGATAATAATTCTCCTT	148	AAACAAGGAGAATTATTATCGGAA
	nAID9	97	ATTGAATTCTCCTTCGGATGATGT	149	AAACACATCATCCGAAGGAGAATT
	nAID10	98	ATTGATCCGAAGGAGAATTATTAT	150	AAACATAATAATTCTCCTTCGGAT
	nAID11	99	ATTGCTCCCGCCGACGTTAGGGAT	151	AAACATCCCTAACGTCGGCGGGAG
	nAID12	100	ATTGATCCGATCCCTAACGTCGGC	152	AAACGCCGACGTTAGGGATCGGAT
nAID13	101	ATTGATCAATCCGATCCCTAACGT	153	AAACACGTTAGGGATCGGATTGAT	
nAID14	102	ATTGTTGGCCGGAGATAATAACGG	154	AAACCCGTTATTATCTCCGCCAA	
nAID15	103	ATTGGCCACCACCGTTATTATCTC	155	AAACGAGATAATAACGGTGGTGGC	
nABE1	104	ATTGGTACTACGGTGACGGAGAA	156	AAACTTCTCCGTCACCGTAGTAAC	
nABE2	105	ATTGACGGTGACGGAGAACGGTGG	157	AAACCCACCGTTCTCCGTCACCGT	
nABE3	106	ATTGATCTTGATAGGCTTCGTCGA	158	AAACTCGACGAAGCCTATCAAGAT	
nABE4	107	ATTGTCTAACGGACTTCTTCTCTC	159	AAACGAGAGAAGAAGTCCGTTAGA	
nABE5	108	ATTGTTCCGATAATAATTCTCCTT	160	AAACAAGGAGAATTATTATCGGAA	
nABE6	109	ATTGATCCGAAGGAGAATTATTAT	161	AAACATAATAATTCTCCTTCGGAT	
nABE7	110	ATTGATCAATCCGATCCCTAACGT	162	AAACACGTTAGGGATCGGATTGAT	
nABE8	111	ATTGGTTGTTAACGATGACGCTCA	163	AAACTGAGCGTCATCGTTAAACAAC	
nABE9	112	ATTGCGCTCAGGGAACAGCCAATT	164	AAACAATTGGCTGTTCCTGAGCG	
nABE10	113	ATTGCAGGGAACAGCCAATTGGC	165	AAACGCCAAATTGGCTGTTCCTTG	
nABE11	114	ATTGGATAATAACGGTGGTGAAG	166	AAACCTTCCACCACCGTTATTATC	
nABE12	115	ATTGAATAACGGTGGTGAAGAGG	167	AAACCTTCTCCACCACCGTTATT	

[0054] (3) DGAT1 N-terminal의 In-frame deletion vector 제작

[0055] 예기장대 DGAT1의 N-terminal에 해당하는 domain7번에 In-frame deletion을 유도하기 위해 sgRNA를 디자인하고 CRISPR/Cas9 기반의 벡터를 제작하였다. In-frame deletion이란 DNA 일부를 deletion 할 때 3배수의 개수를 deletion하여 DNA 서열상에 존재하는 단백질 번역 frame을 변형시키지 않는 기술을 뜻한다. 이를 위하여 DGAT1의 DNA 서열에서 146~226번의 81bp를 deletion하는 sgRNA 2개와 156~212번의 57bp를 deletion하는 sgRNA 2개를 디자인하였다(도 3). 각각의 sgRNA는 pHEE401E 벡터에 클로닝 되었으며 *E. coli*에 형질전환 되어 kanamycin 저항성을 통해 선별되었다. 선별된 콜로니는 U-6 promoter forward primer (5'-ACCCTTCAAGAATTTGATTGAATA)와 두 번째 sgRNA의 서열을 활용하여 PCR하여 확인하였다. 콜로니 PCR까지 확인된 벡터는 plasmid extraction과 transformation을 통하여 *Agrobacterium tumefaciens*에 형질전환되어 cell stock으로 보관되었다.

[0057] (4) DGAT1 유전자의 염기가 편집되거나 DGAT1 N-terminal이 In-frame deletion 된 식물체 선발

[0058] DGAT1의 base editing을 위하여 52개의 벡터를 7개의 domain별로 묶어 *Agrobacterium* 형질전환을 통해 TO plant를 제작하였다. 이때 ABE, CBE 벡터는 식물에서 hygromycin 저항성을 가지므로 해당 항생제가 포함된 배지에서 T1 종자를 발아시켜 형질전환이 되었다고 판단되는 개체들을 일반 MS배지로 옮겨 회복 후, 일정 크기까지 성장시켜 흙으로 옮겨 심었다. 흙에서 다시 일정크기 이상으로 성장하면, gDNA를 추출하기 위한 sampling을 진행하였으며 추출된 gDNA는 해당 개체의 target domain에 따라 PCR primer set을 적용하였다. 1,7 번 domain은 For1 (CCGACGCTGTTTCGTCAAAC, 서열번호 168), Rev1 (TTCGATGATGAGTCTACTGTTT, 서열번호 169)를 사용했으며, 3번 Domain은 For3 (TGCTCAAGGTTGCATCTTTC, 서열번호 170), Rev3 (CAGGATTGGCCTAAAGTTCA, 서열번호 171)를 사용하였다. 이어서 4번 Domain은 For4 (CCTTTGGTATGCTGTGATCC, 서열번호 172)와 Rev4 (AAGACAGTGAATACATGAATTTGG, 서열번호 173), 5번과 6번 domain은 For5 (CTGGAGAATGTGGAATATGGT, 서열번호 174), Rev5 (CCCATTCCAAAACAGATCAC, 서열번호 175)를 사용하여 PCR하였다. DNA 시퀀싱 또한 해당 동일한 프라이머를 사용하였다.

[0059] T1세대에서 DNA 시퀀싱 결과를 확인하였을 때 크로마토그래피의 그래프가 깔끔하지 않고 다른 염기와 비교하였을 때 야생형에서 보여준 피크의 높이보다 작게 다른 피크가 동시에 섞여 나온 개체들을 선별하였다. 이는 염기 교정이 실제로 일어나긴 했지만 부분적으로만 일어나 아직 기존의 야생형에서 존재하는 염기가 남아있다는 의미

이다.

[0060] 이후 세대를 진전해 가면서 동일하게 항생제 저항성 선별과 그 이후에 이어지는 DNA 시퀀싱으로 homozygous한 개체의 출현까지 진행하였다 (도 4). T4세대까지 진전하고 나서야 5개의 개체를 확보하였으며, 각각 domain1에서 2개, domain3에서 1개, domain5에서 2개의 개체를 얻었다. domain7의 in-frame deletion 또한 hygromycin 저항성과 DNA서열분석을 통하여 확인하였고, 1개의 호모화된 개체와 1개의 헤테로 개체를 얻었다.

[0062] 2. 실험 결과

[0063] (1) DGAT1 염기치환 돌연변이체 종자의 지방산 분석

[0064] 1) DGAT1 염기치환 돌연변이체는 총 5개로 target한 domain의 이름을 붙여 각각 D1-1, D1-2, D3-1, D5-1, D5-2로 명명하였다(도 5A).

[0065] 2) D1-1 개체는 124번 serine이 phenylalanine으로 치환되었고 D1-2개체는 123, 124번 serine이 각각 arginine과 leucine으로 치환되었다. 두 치환된 부위 모두 다른 종의 DGAT1 서열분석을 통해 의도한 domain1 내의 보존된 서열에서 돌연변이가 일어난 것을 확인하였다. 이에 따른 지방산 변화는 D1-1개체에서 1% 증가한 18:1 지방산, 2.8% 감소한 18:2 지방산과 1.6% 감소한 20:1 지방산을 보였다. D1-2개체는 1.3% 증가한 18:1 지방산, 4.8% 증가한 18:3 지방산, 3.9% 감소한 20:1 지방산을 보였다. 총량은 D1-1, D1-2개체 모두 야생형 애기장대와 비교하였을 때 1% 미만의 차이를 보였다(도 5A, 5B, 5C).

[0066] 3) D3-1개체는 229번 leucine이 proline으로 치환되었고 다른 DGAT1과의 서열 비교를 통하여 의도한 domain3 내의 보존된 서열에서 돌연변이가 일어난 것을 확인하였다. 해당 부위의 단백질 치환은 애기장대 야생형과 비교하였을 때 각 지방산 별 조성의 측면에서 1.7% 감소한 20:1 지방산을 제외하고 모두 1% 미만의 증감을 보여 큰 변화가 없었다. 하지만 지방산 총량은 애기장대 야생형 대비 12.5% 감소하였다 (도 5A, 5B, 5C).

[0067] 4) D5-1개체는 416번 tryptophan이 cysteine으로 치환되었으며 419번 arginine이 glutamine으로 치환되었다. 다른 종의 DGAT1과 서열 비교를 통해 의도한 domain5 내의 보존된 서열에서 돌연변이가 일어난 것을 확인했다. D5-1개체는 4.5% 감소한 18:1 지방산, 8.4% 증가한 18:3 지방산, 3.7% 감소한 20:1 지방산을 보이며 정량적으로도 13% 감소한 총량을 나타냈다(도 5A, 5B, 5C).

[0068] 5) D5-2개체는 418번 valine이 isoleucine으로 치환되었으며 다른 종의 DGAT1 단백질 서열과 비교하였을 때 의도한 domain5 내의 보존된 서열에서 돌연변이가 발생한 것을 확인하였다. 해당 부위의 치환은 애기장대 야생형과 조성적 측면에서 20:1 지방산이 1.5% 증가한 것 외에 큰 차이를 보이지 않았지만, 정량분석에서 야생형 애기장대보다 8.1% 증가한 지방산 총량을 보였다 (도 5A, 5B, 5C).

[0069] 6) D7c 개체의 in-frame deletion은 호모화 개체인 D7c-1와 헤테로 개체인 D7c-2h가 있으며 D7c-1은 18:1 지방산 1.1% 감소, 18:3 지방산 8.4% 증가, 20:1 지방산 7% 감소를 보였으며 총량에서 8.6% 감소하였다. 헤테로 개체인 D7c-2h는 18:1 지방산 8.2% 감소, 18:3 지방산 24.8% 증가, 20:1 지방산 14.7% 감소를 보였고 총량에서 19.7% 감소하였다 (도 12, 도 13 및 도 14).

[0071] (2) DGAT1 염기교정 돌연변이체의 아미노산 치환과 종자 지방산 조성의 함량 변화 비교

표 3

DGAT1 아미노산 치환 변이	치환 개수	야생형(wild-type) 대비 아미노산 치환 부위	야생형 대비 종자 지방산 조성 변화	야생형 대비 종자 지방 함량 변화
D1-1	1	124번 Serine->Phenylalanine	18:1 지방산 2% 증가 18:3 지방산 1% 감소 20:1 지방산 1.6% 감소	차이 없음
D1-2	2	123번 Serine->Arginine 124번 Serine->Leucine	18:1 지방산 2.2% 감소 18:3 지방산 4.8% 증가 20:1 지방산 3.9% 감소	차이 없음
D3-1	1	229번 Leucine->Proline	차이 없음	총량 12% 감소

D5-1	2	416번 Tryptophan->Cysteine 419번 Arginine->Glutamine	18:1 지방산 4.5% 감소 18:3 지방산 8.4% 증가 20:1 지방산 3.7% 감소	총량 13% 감소
D5-2	1	418번 Valine->Isoleucine	차이 없음	총량 8.1% 증가

표 4

[0073]

DGAT1 in-frame deletion 라인	DNA deletion 범위	frame shift 종류	야생형 대비 종자 지방산 조성 변화	야생형 대비 종자 지방함량 변화
D7c-1	146 ~226	0	18:1 지방산 1.1% 감소 18:3 지방산 8.4% 증가 20:1 지방산 7% 감소	총량 8.6% 감소
D7c-2h	~212	-1	18:1 지방산 8.2% 감소 18:3 지방산 24.8% 증가 20:1 지방산 14.7% 감소	총량 17.9% 감소

[0074]

상기 표 3는 DGAT1 치환 변이에 따른 특성을 나타낸 것이고, 표 4는 in-frame deletion 변이 특성을 나타낸 것이다. D1-2, D5-1, D7c-1, D7c-2h 개체에서 오메가 3 지방산에 해당하는 18:3 지방산의 함량이 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0076]

(3) DGAT1 In-frame 돌연변이체 종자의 지방산 분석

[0077]

1) Domain 7에서 inframe-deletion이 일어난 D7c-1 호모 개체는 49-76번 아미노산이 제거되었고 D7c-2h 헤테로 개체는 두 allele 모두 212번 DNA 서열부터 -1 frame shift가 일어나 9개의 아미노산 이후 early stop 되었다(도 12). 해당 부위의 돌연변이는 D7c-1개체에서 애기장대 야생형과 비교하였을 때 조성적 측면에서 1% 감소한 18:1 지방산, 8.4% 증가한 18:3 지방산, 7% 감소한 20:1 지방산을 보였으며 지방산 총량에선 8.6% 감소하였다(도 13 및 도 14).

[0078]

2) 헤테로 개체이지만 결핍 돌연변이로 보이는 D7c-2h 개체의 경우 야생형 애기장대와 비교하였을 때 8% 감소한 18:1 지방산, 24.8% 증가한 18:3 지방산, 14.7% 감소한 20:1 지방산을 보이며 정량적으로 17.9% 감소한 지방산 총량을 보였다(도 13 및 도 14).

[0080]

(4) D7c-1, D7c-2h의 DNA, protein 서열 비교(도 12)

[0081]

1) D7c-1의 경우 DNA 서열에서 146번 내지 226번 위치의 DNA가 제거되었고, 제거되고 남은 3개의 염기가 모여 Histidine을 새롭게 생성했다. frame shift는 일어나지 않아 49번 Proline부터 76번 Asparagine이 제거되었고, 이후의 단백질은 DGAT1 야생형과 동일하게 나타났다.

[0082]

2) D7c-2h의 경우 DNA상으론 hetero이다. DNA 서열에서 156번 내지 212번 위치의 DNA가 제거되었고 Asparagine 이 생성되었지만, Thymine 하나가 insertion되어 frame shift가 일어났다. 그로 인해 얼리스탑된 알파 가닥과 147번 ~ 212번 위치의 DNA가 제거되고 Proline이 생성되었지만 Cytocine 하나가 insertion되어 역시 같은 부위에서 얼리스탑된 베타 가닥이 있다. 따라서 D7c-2h의 경우 DGAT1 결핍 돌연변이에 해당한다.

[0083]

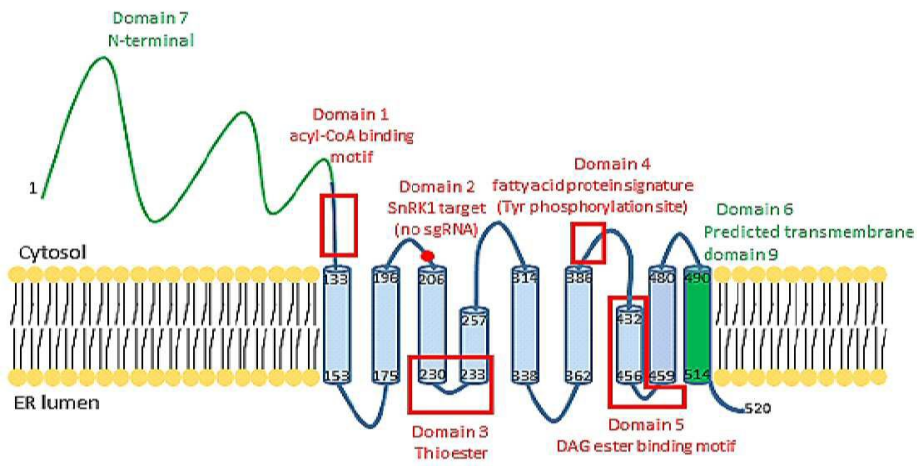
D7c-1 및 D7c-2 돌연변이는 다른 식물의 DGAT1의 전략과는 조금 다르게 작용한다. 구체적으로, 원래 DGAT1의 활성이 저해된 돌연변이는 18:3 지방산이 증가하는 특성이 있지만, D7c-1, D7c-2h 돌연변이들은 각각 의미하는 바가 다르다.

[0084]

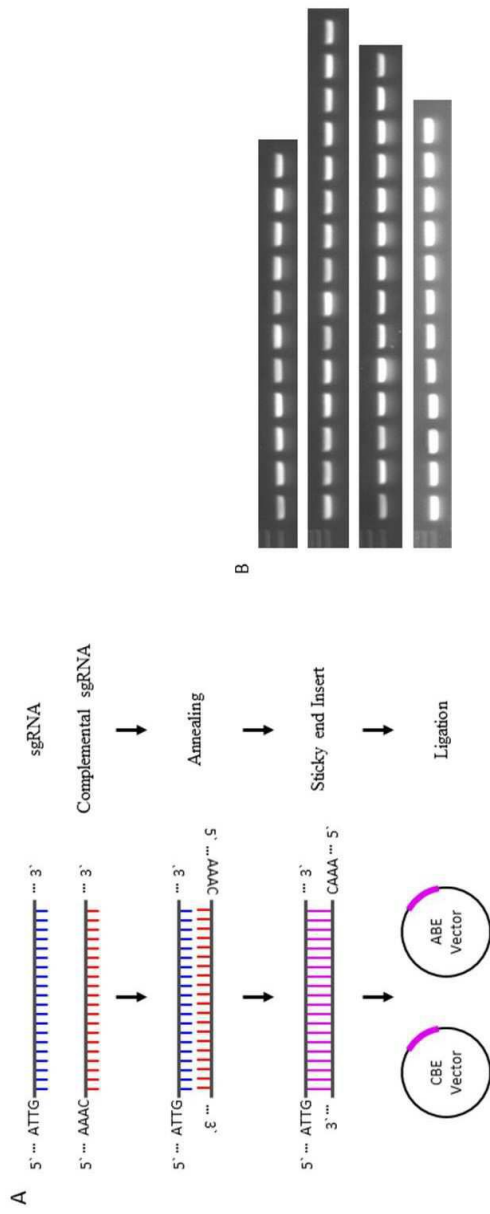
D7c-1의 경우 DGAT1의 folding된 부분이 그대로 존재 하지만 N-terminal의 일부가 제거되어 활성이 감소 했고, D7c-2h의 경우 기존에 사용되던 DGAT1 활성저해 돌연변이인 DGAT1-1보다 훨씬 강하게 DGAT1 결핍현상을 보이며 더 많은 18:3 지방산 축적으로 이어졌다.

도면

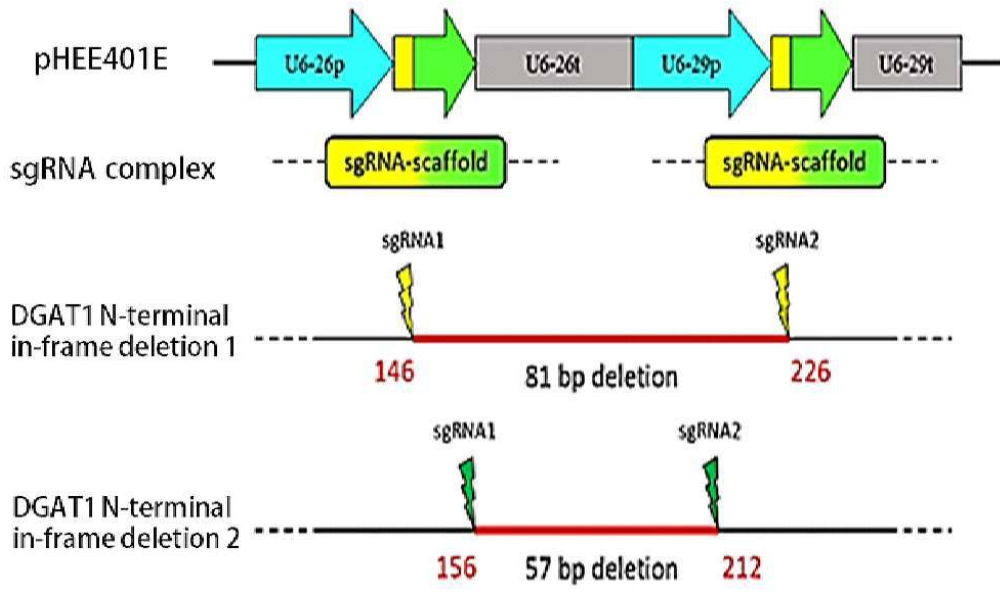
도면1



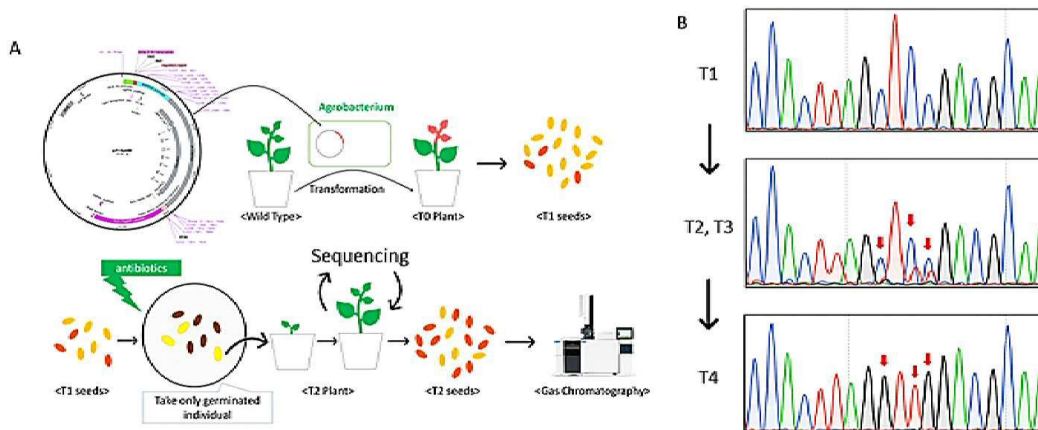
도면2



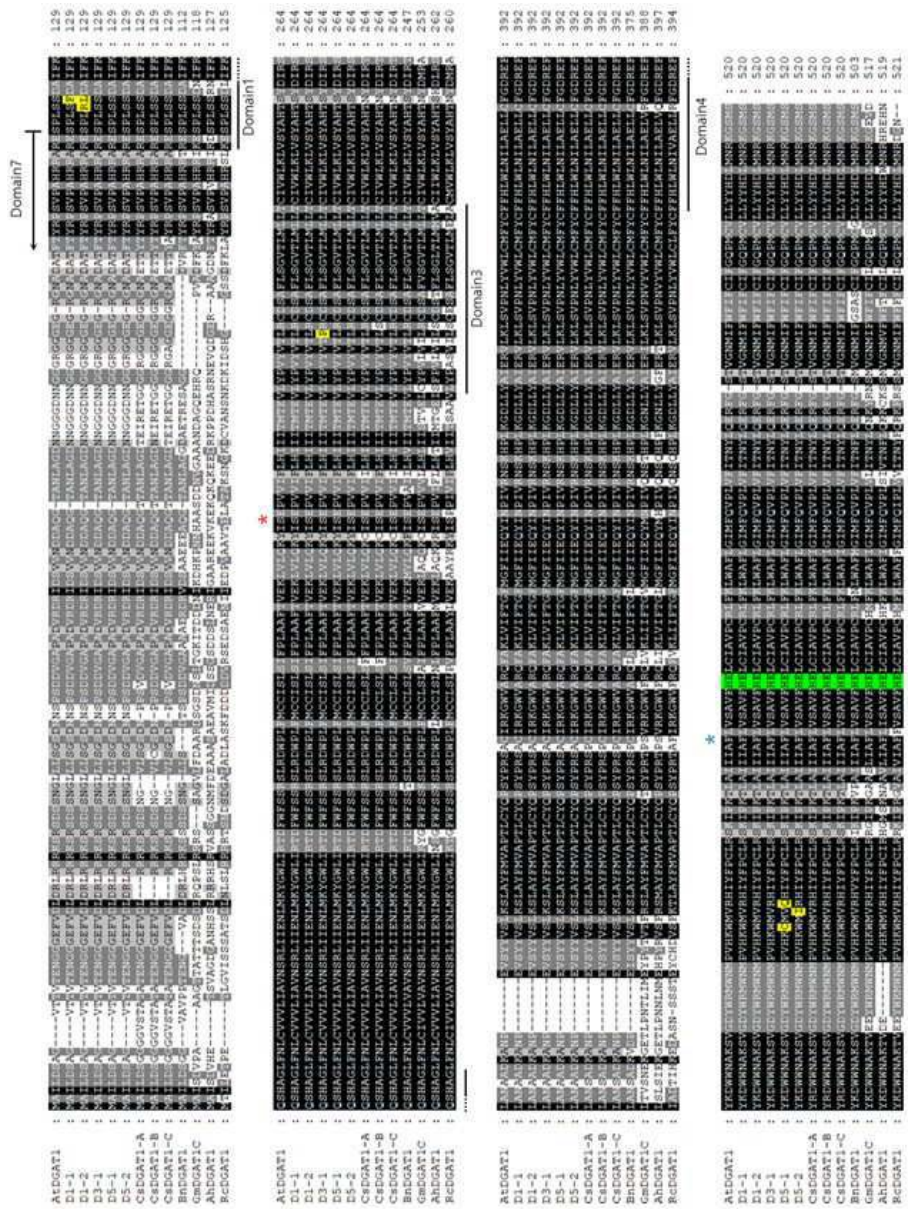
도면3



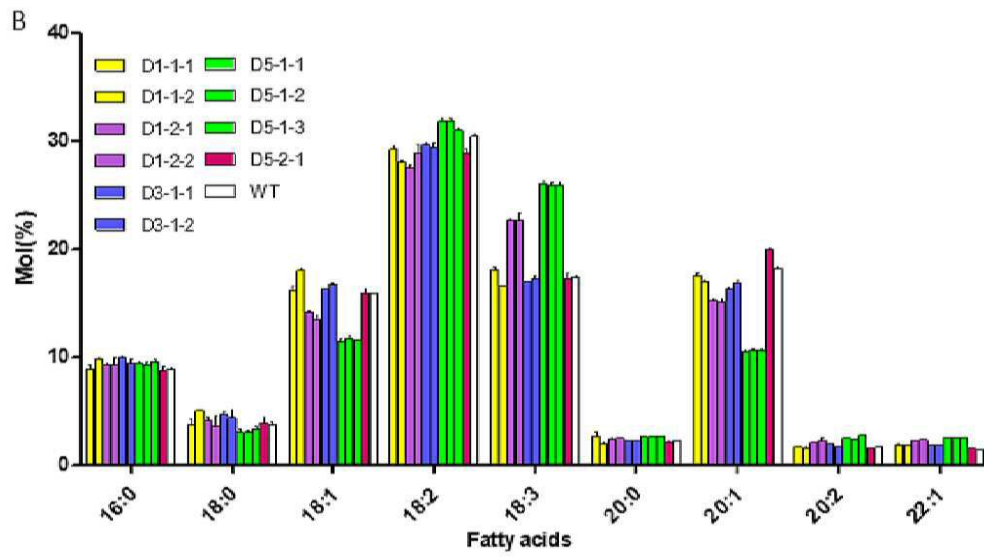
도면4



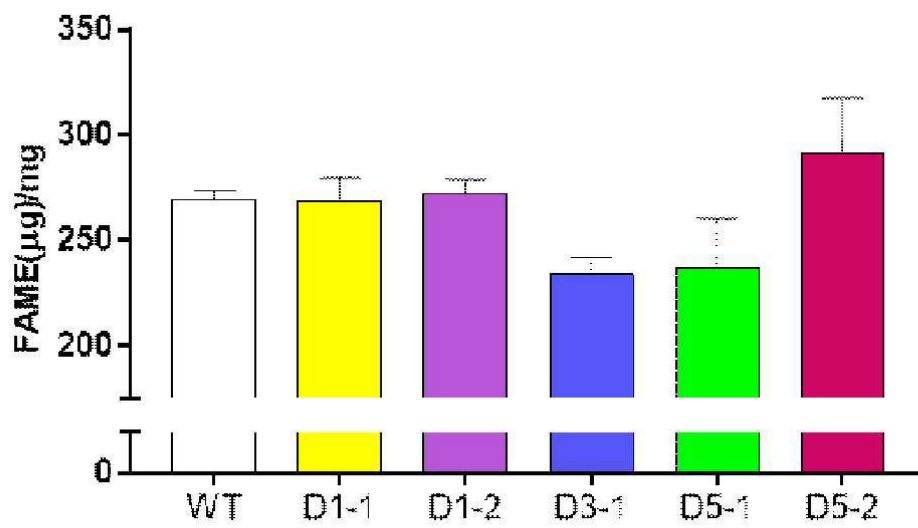
도면5a



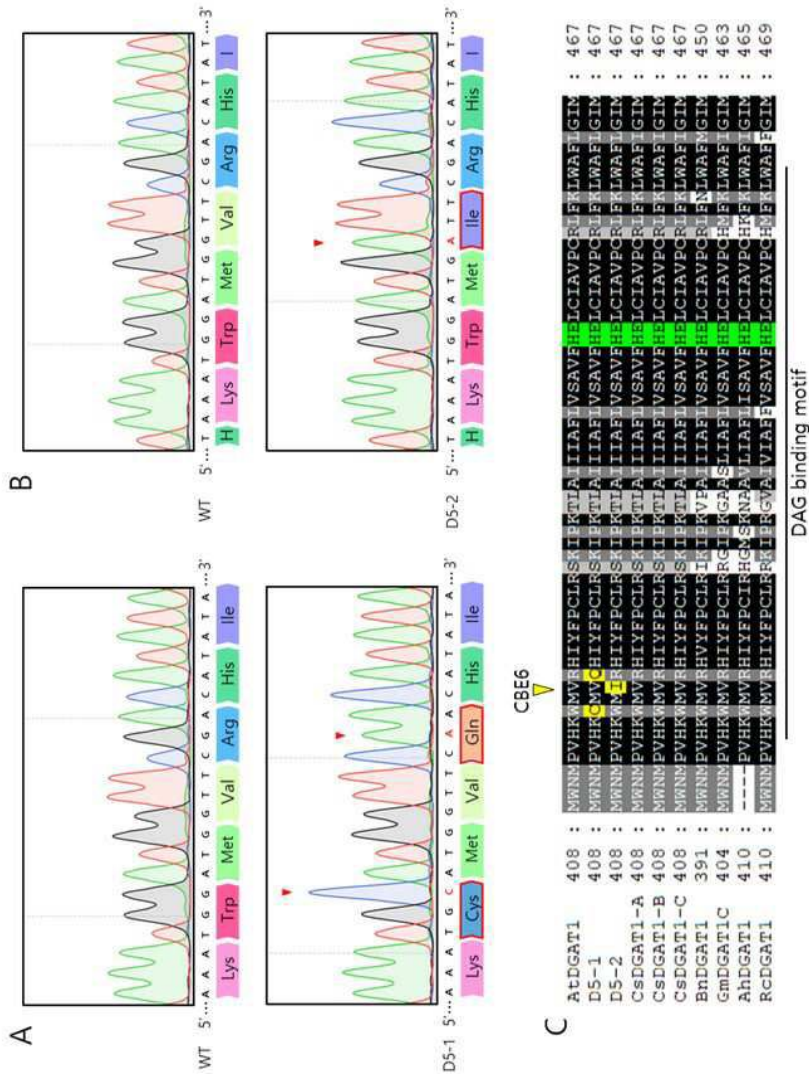
도면5b



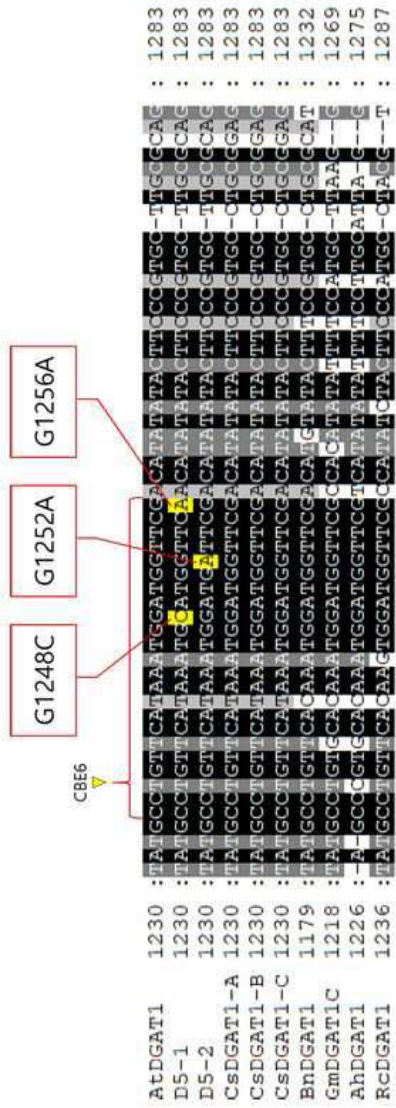
도면5c



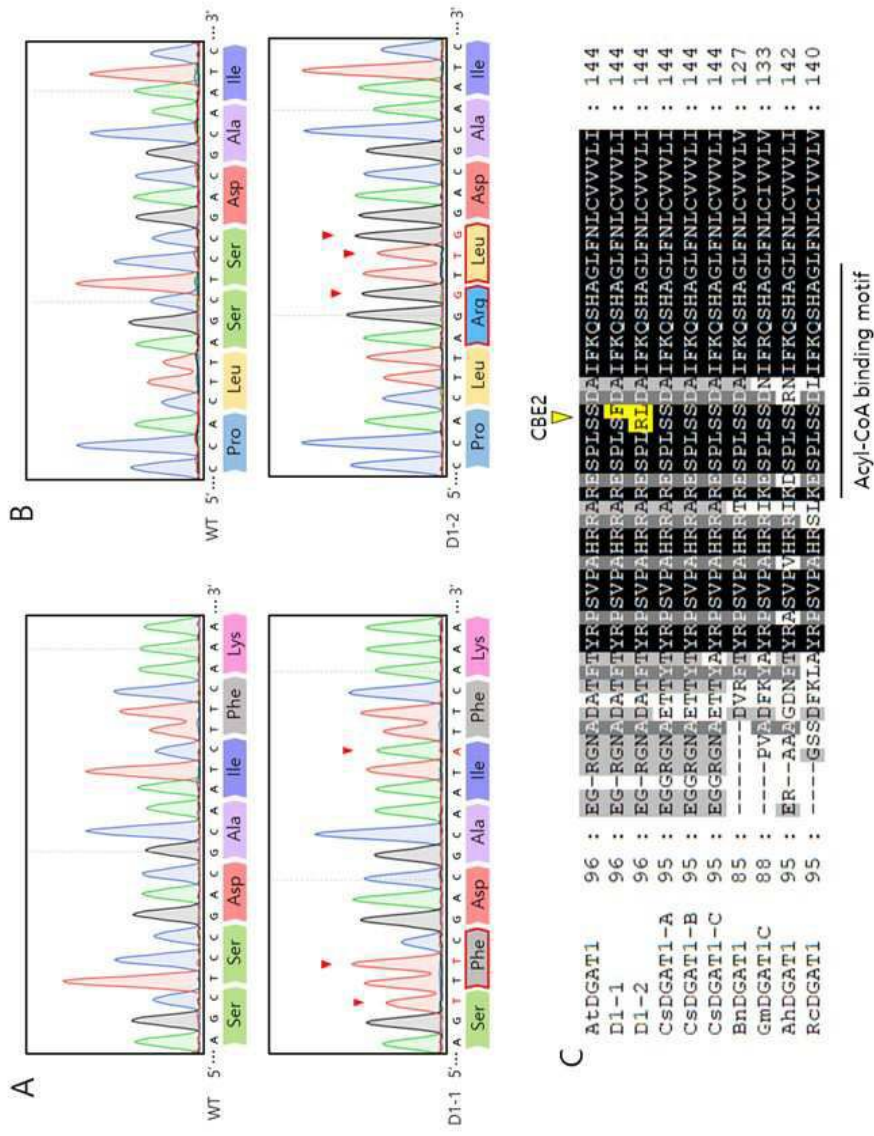
도면6



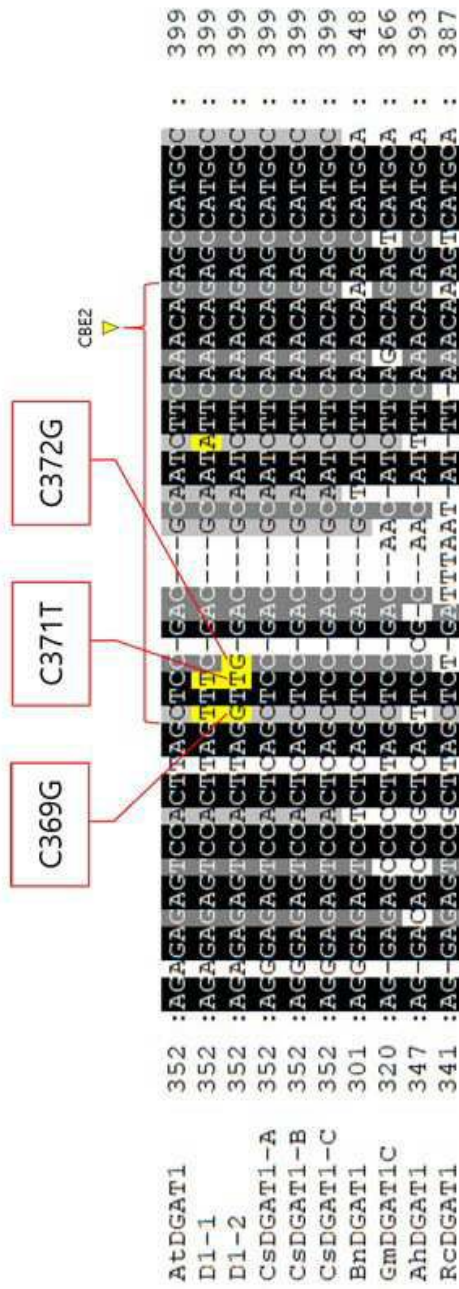
도면7



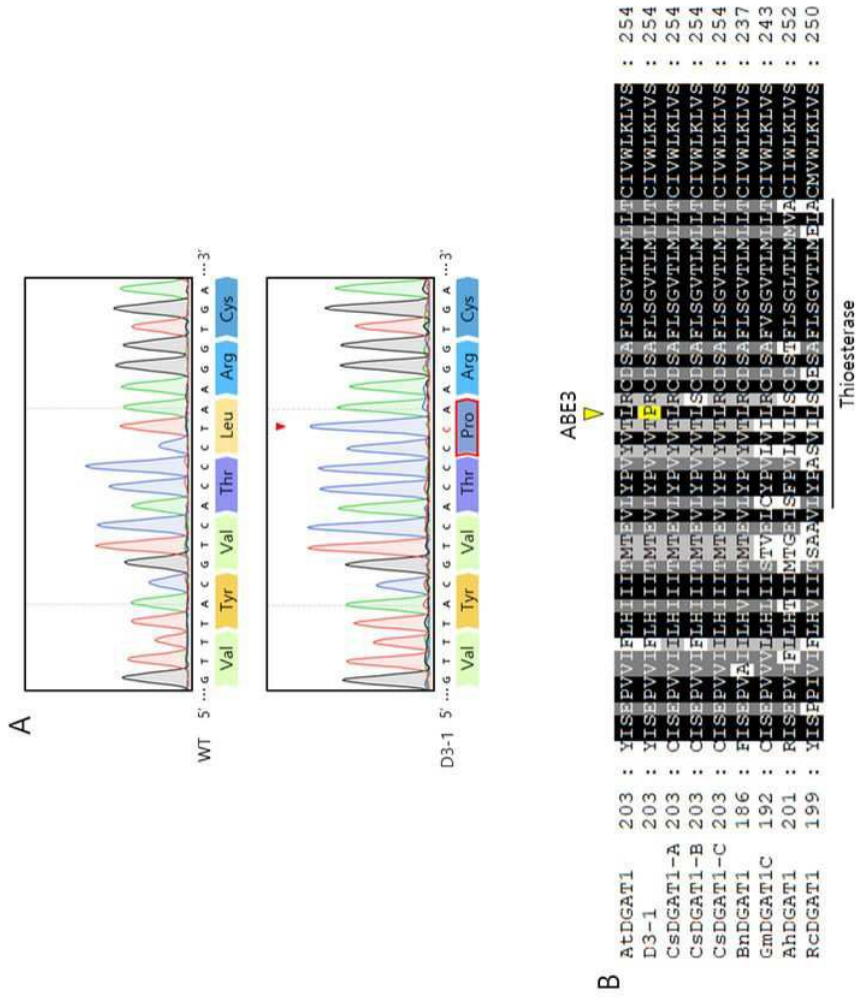
도면8



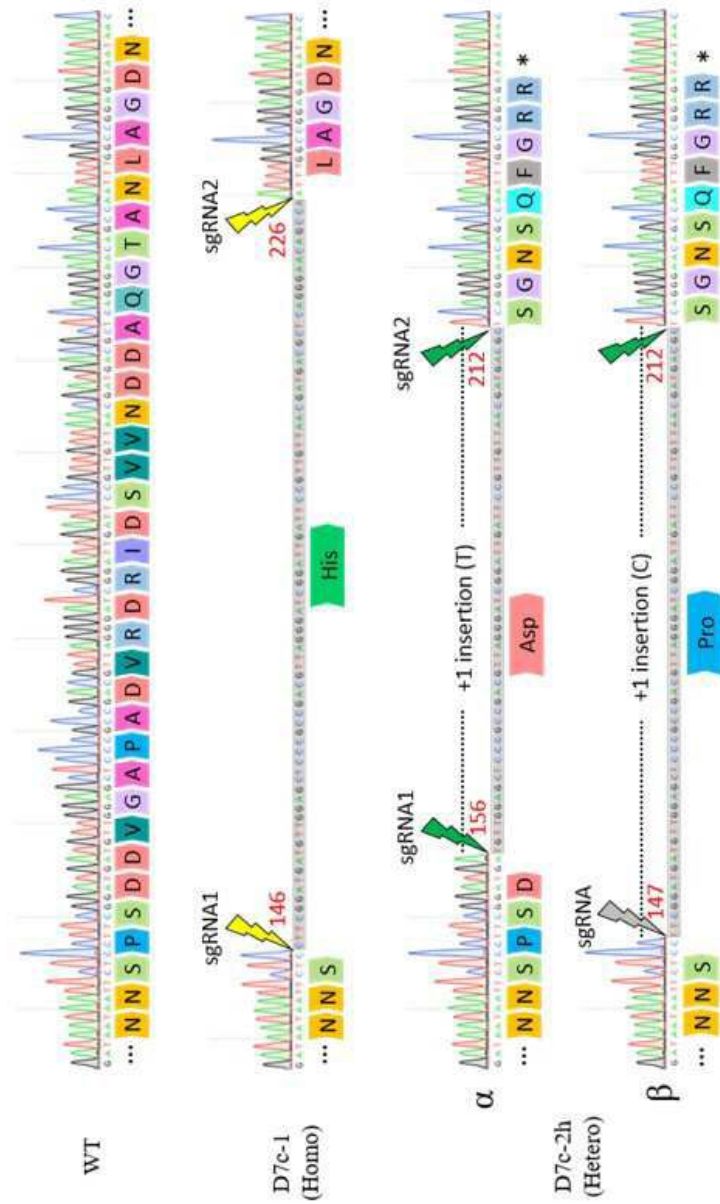
도면9



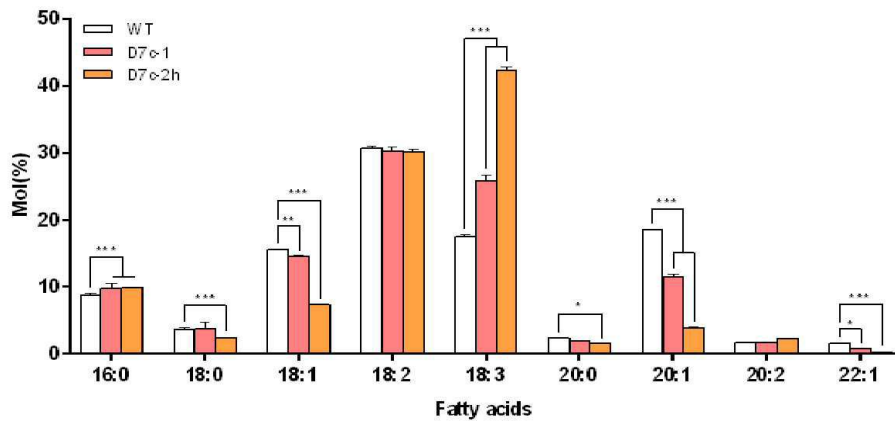
도면10



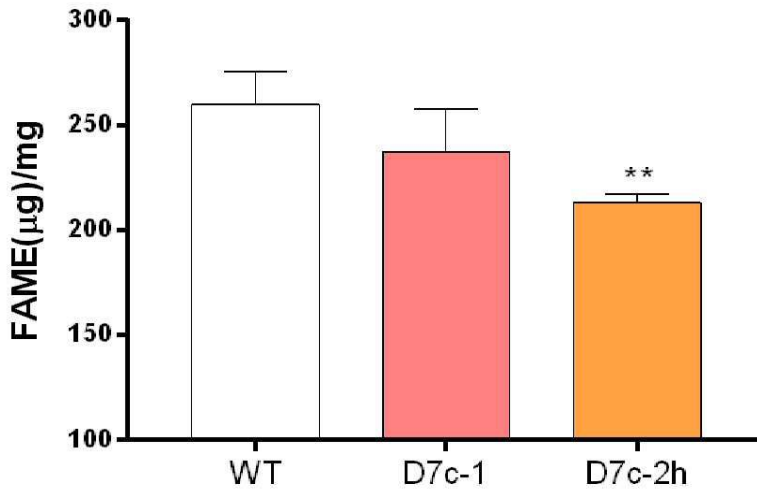
도면12



도면13



도면14



서열목록

- <110> SEJONG UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMY COOPERATION FOUNDATION
- <120> METHOD FOR INCREASING THE CONTENT OF OMEGA 3 FATTY ACIDS IN PLANTS
- <130> 21P01016
- <160> 188
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 528
- <212> PRT
- <213> Arabidopsis thaliana
- <400> 1

Met Ala Ile Leu Asp Ser Ala Gly Val Thr Thr Val Thr Glu Asn Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Asp Arg Leu Arg Arg Arg Lys Ser Arg
 20 25 30

 Ser Asp Ser Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Gly Ser Asp Asn Asn Ser
 35 40 45
 Pro Ser Asp Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp
 50 55 60
 Ser Val Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp
 65 70 75 80

Asn Asn Gly Gly Gly Asp Asn Asn Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Glu
 85 90 95
 Gly Arg Gly Asn Ala Asp Ala Thr Phe Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro
 100 105 110
 Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe
 115 120 125
 Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile
 130 135 140
 Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp
 145 150 155 160
 Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp
 165 170 175

 Pro Leu Phe Met Cys Cys Ile Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190
 Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205
 Val Ile Phe Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220
 Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr
 225 230 235 240
 Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Leu Ala Asn Ala Ala Asp Lys Ala
 260 265 270
 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Ala
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320

 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile

325 330 335
 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile
 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380
 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys

385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415
 Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430
 Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445
 Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460

Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480
 Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
 485 490 495
 Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
 500 505 510
 Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser Asp Leu Met Asn Arg Asp Gly Asn
 515 520 525

<210> 2

<211> 3737

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 2

tttaaataa aataaaaaca gaaaaatatac ccaacaccgc ttttcaatta aaaatcttcc 60

gtcaccattg ttgtcatctt cctctctcgt gaatcctttt tcctttcttc ttctttctt 120

cttcagagaa aactttgctt ctctttctat aaggaaccag acacgaatcc cattcccacc 180
 gatttcttag ctcttcctt caatccgctc tttccctctc cattagattc tgtttcctct 240
 ttcaatttct tctgcatgct tctcgattct ctctgacgcc tcttttctcc cgacgctgtt 300
 tctgcaaacg cttttcgaaa tggcgatttt ggattctgct ggcgttacta cggtgacgga 360

 gaacggtggc ggagagtctg tctgatctga taggcttctg cgacggaaat cgagatcgga 420
 ttcttctaac ggacttcttc tctctgggtc cgataataat tctccttcgg atgatgttgg 480
 agctcccgcc gacgttaggg atcggattga ttcggttgtt aacgatgacg ctgagggaac 540
 agccaatttg gccggagata ataacggtgg tggcgataat aacggtggtg gaagaggcgg 600
 cggagaagga agaggaaacg cccgatgctac gtttacgtat cgaccgtcgg ttccagctca 660
 tccgagggcg agagagagtc cacttagctc cgacgcaatc ttcaaacagg tttaaaatct 720
 cagaaatctt cgaatttggg gtttgcctgt tgttttataat ggaattgagt ttggtgattg 780

 ttttgattg cagagccatg cccgattatt caacctctgt gtagtagttc ttattgctgt 840
 aaacagtaga ctcatcatcg aaaatcttat gaaggtttgc tgttacttgt ttctcctttt 900
 aggaattgaa ttgcttgaaa atttatcaga gacgaataac tttgttgttg ctatcattea 960
 ttagtagtgg ttggttgatc agaaccgatt tctggtttag ttcaagatcg ctgagagatt 1020
 ggccgctttt catgtgttgg taaaagaaga tgttttttat ttccagcaat gttacattgt 1080
 tatactata atgatgatt tagtgataca gttcctcttt gattcttctt tcttgttgea 1140
 gtatatccct ttcgatcttt cctttggctg cctttacggt tgagaaattg gtacttcaga 1200

 aatacatatc agaacctgtg agtaactact attctccagc cactactgta atttttattg 1260
 aagacaagtt tgiatcatga agaacttaca agttctgttt tgaaaatgct caaggttgtc 1320
 atctttcttc atattattat caccaatgaca gaggttttgt atccagttta cgtcaccta 1380
 aggtgatact gtttttctgg tctcagtttg tgatactggt ttttaagttta gttgtctgac 1440
 ccggtgatct tgaaaatgga cagggtgat tctgcttttt tatcaggtgt cactttgatg 1500
 ctctcactt gcattgtgtg gctaaagttg gtttcttatg ctcatactag ctatgacata 1560
 agatccctag ccaatgcagc tgataaggta aaatacgaaa aagaagcgtg tgtattagtc 1620

 acttgactg tgttactgtt ttaaccaaac actggtatga actttaggcc aatcctgaag 1680
 tctctacta cgttagcttg aagagcttgg catatttcat ggtcgtctcc acattgtgtt 1740
 atcaggtaac tgcaaagtc atcaaccatt cttatacttg caagagtffc ttgtctaac 1800
 ctccgatctt tgcctttccc cagccaagtt atccacgttc tgcatgtata cgggaagggtt 1860
 ggggtggctg tcaatttgcg aaactggctc tattcaccgg attcatggga tttataatag 1920
 aacaagtacg ttttcacatc ttgctttatt agttttcctt ggtgaaaatc atcatccctg 1980

cgttgtcacc acctgacttc atgttctttt gttacatfff ggcagtatat aaatcctatt 2040

gtcaggaact caaagcatcc ttgaaaggc gatcttctat atgctattga aagagtgttg 2100

aagctttcag ttccaaatff atatgtgtgg ctctgcatgt tctactgctt cttccacctt 2160

tggatgctg tgatcccatc tctttcaaaa taatffgcaa attcgaaaaa cggaaaaagg 2220

ctaaatctca tacgaatffg atatfftttag tttcttagag tcggtgatgt aatffcagtt 2280

actgaacgca aatctcttgt ccaaaggffa aacatattgg cagagcttct ctgcttcggg 2340

gatcgtgaat tctacaaaga ttgggtggaat gcaaaaagtg tgggagatgt gagctatfff 2400

actcaaaaga aaacttatga tffttaatgt tgtcgttgtt tttgggtcat ctaactaacc 2460

aaattcatgt attcactgtc ttcctttatc agtactggag aatgtggaat atggtatggf 2520

tctcttcta aacatcacct tctffttgtac acaaaataga agaagagagc taattaagat 2580

cttgtffttc ttgacagcct gttcataaat ggatggfftcg acatatatac ttcccgfct 2640

tgcgcagcaa gataccaag gtgagtgaga tatataccga tatgcaatg tcgagatffg 2700

tttctgtgat ataaatffaa cctccacac acttgtfftt cagacactcg ccattatcat 2760

tgctttcta gtctctgagc tctttcatga ggtatacata ctttctacat tgcctgtct 2820

ctagacgcat gaacacacgc tagtgaaaga aatgctaata ttcaaagcat tgtffttact 2880

taacgatctt gtgttcaaaa tttcctffttg acagctatgc atcgcagffc ctigtctct 2940

cttcaagcta tgggctffttc ttgggattat gtttcaggff aaaaaattac taaactgctg 3000

cagtcgattt ttactaaact ctaatctcat attctgacca accaatffgt ttgagtaggt 3060

gcctffggfc ttcatacaaa actatctaca ggaaagfftt ggctcaacgg tatgctctca 3120

aaaccgaga aaatagaacg aataactctt tctttcatag cctagccatt taaatcgcaa 3180

tgctgaaact taataataaa ggtgatctgt tffggaatgg gatcatatta ttaggtgggg 3240

aacatgatct tctggttcat cttctgcatt ttcggacaac cgatgtgtgt gettctffat 3300

taccacgacc tgatgaaccg aaaaggatcg atgtcatgaa acaactgttc aaaaaatgac 3360

tttcttcaaa catctatggc ctcgffggat ctccgffgat gttgtggfgg tctgatgct 3420

aaaacgacaa atagffttat aaccattgaa gaagaaaaga aaattagagt tgttgitatct 3480

gcaaaaatff tggtagagac acgcgaacc gttfggattt tgttatggf taaagaaatt 3540

tcaatcaaaa aactgttfta ataatfftta ccaaaaagaa atgctffttct ggaaacgagg 3600

ggaaaaatag tagffttgtt aggffttact gttfggacca aatctagtaa aaaactfftt 3660

gtaataagga aaaaaaaga acaaatgtga taaatgcatg gggatfftat gaaacfftc 3720

aataaagttg attggtg 3737

<210> 3

<211> 1563

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 3

atggcgattt tggattctgc tggcgttact acggtgacgg agaacggtgg cggagagttc 60

gtcgcatttg ataggcttcg tgcacggaaa tcgagatcgg attcttctaa cggacttctt 120

ctctctgggt ccgataataa ttctccttcg gatgatgttg gagctcccgc cgacgttagg 180

gatcggattg attccgttgt taacgatgac gctcagggaa cagccaattt ggccggagat 240

aataacggtg gtggcgataa taacggtggt ggaagaggcg gcggagaagg aagaggaaac 300

gccgatgcta cgtttacgta tgcaccgtcg gttccagctc atcggagggc gagagagagt 360

ccacttagct ccgacgcaat cttcaaacag agccatgccg gattattcaa cctctgtgta 420

gtagtcttta ttgctgtaaa cagtagactc atcatcgaaa atcttatgaa gtatggttgg 480

ttgatcagaa cggatttctg gtttagttca agatcgtctc gagattggcc gcttttcatg 540

tgttgatata ccctttcgat ctttcctttg gctgccttta cggttgagaa attggtactt 600

cagaaataca taticagaacc tgtttgcatc tttcttcata ttattatcac catgacagag 660

gttttgtatc cagtttacgt caccctaagg tgtgattctg cttttttatc aggtgtcact 720

ttgatgctcc tcaacttgcac tgtgtggcta aagtgggttt cttatgctca tactagctat 780

gacataagat ccctagccaa tgcagctgat aaggccaatc ctgaagtctc ctactacgtt 840

agcttgaaga gcttggcata tttcatggtc gctcccacat tgtgttatca gccaaattat 900

ccacgttctg catgtatacg gaagggttgg gtggctcgtc aatttgcaaa actggtcata 960

ttcaccggat tcatgggatt tataatagaa caatatataa atcctattgt caggaactca 1020

aagcatcctt tgaaggcga tcttctatat gctattgaaa gagtgttgaa gctttcagtt 1080

ccaaatttat atgtgtggct ctgcatgttc tactgcttct tccacctttg gttaaacata 1140

ttggcagagc ttctctgctt cggggatcgt gaattctaca aagattggtg gaatgcaaaa 1200

agtgtgggag attactggag aatgtggaat atgcctgttc ataaatggat ggttcgacat 1260

atatacttcc cgtgcttgcg cagcaagata ccaaagacac tcgccattat cattgctttc 1320

ctagtctctg cagtctttca tgagctatgc atcgcagttc cttgtcgtct cttcaagcta 1380

tgggcttttc ttgggattat gtttcaggtg cttttggtct tcatcaciaa ctatctacag 1440

gaaaggtttg gcicaacggt ggggaacatg atcttctggt tcatcttctg cattttcgga 1500

caaccgatgt gtgtgcttct ttattaccac gacctgatga accgaaaagg atcgatgtca 1560

tga 1563

<210> 4

<211> 1563

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 4

atggcgattt tggattctgc tggcgttact acggtgacgg agaacggtgg cggagagttc 60

gtcgaicttg ataggcttcg tgcacgaaa tcgagatcgg attcttctaa cggacttctt 120

ctctctggtt ccgataataa ttctccttcg gatgatgttg gagctcccgc cgacgttagg 180

gatcggattg attccgttgt taacgatgac gctcagggaa cagccaattt ggccggagat 240

aataacggtg gtggcgataa taacggtggt ggaagaggcg gcggagaagg aagaggaaac 300

gccgatgcta cgtttacgta tgcaccgtcg gttccagctc atcggagggc gagagagagt 360

ccacttagct ccgacgcaat cttcaaacag agccatgccg gattattcaa cctctgtgta 420

gtagttctta ttgctgtaaa cagtagactc atcatcgaaa atcttatgaa gtatggttgg 480

ttgatcagaa cggatttctg gtttagttca agatcgtctc gagattggcc gcttttcatg 540

tgttgtatat ccttttcgat ctttcttttg gctgccttta cggttgagaa attggtactt 600

cagaaatata taccagaacc tgttgccttc tttcttcata ttattatcac catgacagag 660

gttttgtatc cagtttacgt caccctaagg tgtgattctg cttttttatc aggtgtcact 720

ttgatgctcc tcaactgcat tgtgtggctc aagttggttt cttatgctca tactagctat 780

gacataagat ccctagccaa tgcagctgat aaggccaatc ctgaagtctc ctactacgtt 840

agcttgaaga gcttggcata tttcatggtc gctcccacat tgtgttatca gccaaattat 900

ccacgttctg catgtatcgc gaagggttgg gtggctcgtc aatttgcaaa actggtcata 960

ttcaccggat tcatgggatt tataatagaa caatatataa atcctattgt caggaactca 1020

aagcatcctt tgaaggcgca tcttctatat gctattgaaa gagtgttgaa getttcagtt 1080

ccaaatttat atgtgtggct ctgcatgttc tactgcttct tccacctttg gttaaacata 1140

ttggcagagc ttctctgctt cggggatcgt gaattctaca aagattgggtg gaatgcaaaa 1200

agtgtgggag attactggag aatgtggaat atgcctgttc ataatggat gattcgacat 1260

atatacttcc cgtgcttgcg cagcaagata ccaaagacac tcgccattat cattgcttcc 1320

ctagtctctg cagtctttca tgaactatgc atcgagttc cttgtcgtct cttcaagcta 1380

tgggcttttc ttgggattat gtttcagggtg cctttgttct tcatcaciaa ctatctacag 1440

gaaaggtttg gcicaacggg ggggaacatg atcttctggg tcatcttctg cattttcgga 1500
 caaccgatgt gtgtgcttct ttattaccac gacctgatga accgaaaagg atcgatgtca 1560

 tga 1563
 <210> 5
 <211> 1512
 <212> DNA
 <213> Brassica napus
 <400> 5

 atggcgattt tggattctgg aggctcgcct gtaccgccga cggagaacgg cgtcgcggat 60
 ctcgacaggc tccaccgtcg taaatcgagt tcggattctt ccaacggact cctctccgat 120
 acttccccgt cggacgatgt tggagctgcg gcggccgaaa gggatcgggt tgattccgct 180
 gccgaggagg aggctcaggg aacagcgaat ttagctggcg gagatgccga aactagggaa 240
 tccgccggag gcgatgtaag gtttacgtat cgaccgtcgg ttccagctca tcggaggacg 300

 aggagagtc ctctcagctc cgacgctatc ttcaaacaaa gccatgcagg attgttcaac 360
 ctctgtgtag ttgttcttgt tgctgttaac agtagactca tcatcgaaaa cctcatgaag 420
 tatggttggg tgatcagaac tgatttttgg tttagttcta catccttacg agactggccg 480
 cttttcatgt gttgtcttcc actttcggtc tttcctttgg ctgccttcac ggtcgagaaa 540
 atggtacttc agaaattcat atctgagcct gttgccatca ttcttcatgt cattataacc 600
 atgacagagg tcttgtatcc agtctacgtc aactgaggt gtgattctgc cttcttgtca 660
 ggtgtcacgt tgatgctgct cacttgcatt gtgtggctga agttggtttc ttacgctcat 720

 actagctacg acataagaac cctggccaat tcagctgata aggtcgatcc tgaaatctcc 780
 tactatgtta gcttgaagag cttggcgtat ttcattggtg ctcccacact gtgttatcag 840
 ccaagctatc cagtttctcc atgtatccgg aagggttggg tggctcgtca acttgcaaaa 900
 ctggtcatat tcaactggact catgggattt ataatagagc aatatataaa tcctattggt 960
 aggaactcaa agcctcctct gaaaggggac cttctatatg ctattgaaag agtgttgaag 1020
 ctttcagttc caaatctata tgtgtggctc tgcatgttct actgcttctt ccacctttgg 1080
 ttaaacatat tggcagagct cctctgcttc ggggaccgtg aattctaca agattggtgg 1140

 aatgcaaaaa gcgttggaga ttattggaga atgtggaata tgcctgttca caaatggatg 1200
 gttcgacatg tatactttcc gtgcctgcgc atcaagatac caaaagtacc cgccattatc 1260
 attgctttct tagtctctgc agtctttcat gagttatgca tcgcagttcc ttgccgtctc 1320
 ttcaatctat gggctttcat gggaattatg tttcaggtcc ctttggctct tatcacaac 1380

ttttacaag aaaggtttgg ctccatgggtg ggaacatga tctttggttc agcttcttgc 1440
atcttcggac aaccgatgtg tgggcttctt tattaccatg acctgatgaa ccgcaaagga 1500
tccatgtcct ga 1512

<210> 6
<211> 1554
<212> DNA
<213> Glycine max
<400> 6

atggcgatct ccgatgtgcc tgcagccgct ggcaacaccc ccaactaccac cagcgactca 60
gatctccgac agccttctct gcggcgcagg tcctccgcc gagtcctctt cgacgctgcc 120
agagattccg gctccgacaa ttccctgacc ggcaaaatca ccgacgaaga caacatcaaa 180
gatcacaagc cgaataatca cgcagcctcc gacgacaatg tgggcgccgc cgccaatgac 240
gctgggcagg agcaccgaca accggtcgcc gatttcaaat acgcttaccg tcctccggtt 300
cccgcgcacc gcagaatcaa ggagagcccc cttagctccg acaacatctt cagacagagt 360

catgcaggac tgttcaatct ctgcatagta gtgcttgttg ccgtgaacag cagacttacc 420
attgagaatt taatgaagta tggttgggtg atcaagatg gcttttgggt tagttcaaaa 480
tcattgagag attggcctct ctccatgtgc cgtcttagtc ttgcatatt tccacttget 540
gcctttgttg tggaaagggt ggcacaacaa aagtgtatct ctgaaccagt tgttgttcta 600
cttcatctaa taatatcaac tgttgaactg tgctatccgg ttttagtaat actcagggtg 660
gattctgctt ttgtatctgg tgtcacgttg atgctattaa cttgcattgt gtggttaaaa 720
ttggtgtcat atgcacatac aaactatgat atgagagcac ttactgtttc gaatgaaaag 780

ggagaaacat tacccaatac ttgattatg gattatccgt acaactgtgac cttcaggagt 840
ttggcatact tcatggttgc tctacatta tgctatcaga caagctatcc tcgcacacct 900
tcagttcgaa agggttgggt gtttcgtcaa cttgtcaagc tgataatatt tacaggagt 960
atgggatitaa taatagaaca atatatgaat cctattgtac aaaactcaac tcatectttg 1020
aagggaacc ttctatatgc cattgagaga attctgaagc tttctgtccc aatgtatat 1080
gtgtggctct gcatgttcta ctgcttttcc cacctttggt taaatatact tgcagagctt 1140
gttcgatttg gtgatcgtga gttctataaa gattgggtga atgccaaaac tgttgaagag 1200

tattggggga tgtggaatat gcctgtgcac aaatggatgg ttcgccacat atattttcca 1260
tgcttaagge gtggtatacc caagggtgct gcttcattaa ttgcattcct ggtttctgct 1320
gtgtttcatg agttatgcat tgccgttctt tgccacatgt tcaagttgtg ggcttttata 1380

ggaattatgt ttcaggttcc tttggtcttg atcactaatt acctccaaaa taaatacaga 1440
 aactcaatgg ttggaaatat gattttttgg ttcataatgt gtattcttgg tcaaccaatg 1500
 agcgtactat tgtactacca tgacttgatg aatagaaaag gagaagttga ctaa 1554
 <210> 7
 <211> 1566
 <212> DNA

 <213> Ricinus communis
 <400> 7
 atgacgattc tcgaaacgcc agaaactctt ggcgtcatct cctcctccgc cacttccgat 60
 ctcaacctct ctctccgacg tagacggacc tcaaatgact ccgatggtgc acttgctgat 120
 ttggcttcga agtttgatga tgatgacgac gtaagatcgg aagattctgc tgaanaatatt 180
 atcgaagatc ctgtagcagc ggttactgaa ttggcgacag caaagagtaa cggaaaagac 240
 tgtgttgcca atagtaataa ggataaaatt gatagccatg gaggatcatc ggattttaa 300
 ctgcatata ggccttcggt tccagctcac cggtcactta aggagagtcc gcttagctct 360

 gatttaatat ttaacaaaag tcatgcaggc ctgtttaacc tttgtatagt agtgctcgta 420
 gctgttaaca gcaggctcat cattgagaat ttaatgaagt atggctggtt aattaagacg 480
 ggcttttggc ttagttcaag atcattgaga gattggccgc tttttatgtg ctgtctttct 540
 ctcccagtat tccccctgc tgcctatcta gttgagaagg ccgcatatcg aaaatatata 600
 tctccgcta ttgttatatt ctttcattgt atcatcacct cagcagctgt tttgtacca 660
 gcttctgtaa ttctcagttg tgaatctgct tttttatctg gtgtcacatt gatggaactt 720
 gcttgtatgg tatggttgaa attggtatcc tatgcacata caaactatga tatgagagcg 780

 atcgtcgaca ccattcataa ggaagatgca tccaattctt ctagtacaga gtattgtcat 840
 gatgtgagct ttaagacttt ggcgtacttc atggtcgac ccacattatg ttaccagcca 900
 agttatcctc gcacagcatt tattagaaag ggctgggtgt tccgtcaatt tgtcaaaacta 960
 ataattttta caggattcat gggatttacc atagaacaat acatcaatcc tatcgtccag 1020
 aattctcaac accctttaa aggggatctc ttatatgcca ttgagagggt tctgaagctc 1080
 tcagtccga atttatatgt gtggctctgc ttgttctact gctttttca cctgtggttg 1140
 aatatagttg ctgagctcct tcgcttcggt gaccgggagt tctacaaaga ttggtggaat 1200

 gcaaaaactg ttgaggagta ctggaggatg tggaaatgac ctgttcacaa gtggatggtt 1260
 cgccatattc acttcccatg cctacgtcgt aaaataccaa ggggggtagc aatagttatt 1320
 gctttcttcg ttcagctgt atttcatgag ttgtgcatg ctgttccttg ccacatgttc 1380

aaactttggg cttttttgg aataatgttt cagattcctt tagttgtgat cactaattat 1440
 tttcaaagga agttcagaag ctcaatggtg ggaatatga tcttctggtt ctttttctgc 1500
 atttctcgcc aacctatgtg tgtactgttg tattaccatg acctaataaa tcgcatggg 1560
 aactga 1566

<210> 8

<211> 1560

<212> DNA

<213> *Arachis hypogaea*

<400> 8

atggcgattt ccgatgtgca tgagacttct gtcgccggcg acggagccaa cactcttcg 60
 ctgcccggga ggcacagccg cgtagcttcc agcggcggca acatgttcga cgaagctgcg 120
 gcttccgctg aggctgtgat gatagattcg tcggggtccg acgattcact gaacgagagg 180
 ataggtgccg ccagggagga gaaggtgaag gagaagcaga agcagaagga ggaggaccgg 240
 aagcccggg atcatgcttc ccgaaatgag gtccaagacg gcgaacgagc tgcccggga 300
 gataacttca cttaccgggc ttcagttccg gttcacggga gaatcaagga cagcccgctc 360

agttcccga acattttcaa acagagccat gcaggactgt tcaatctctg ttagtagtg 420
 cttatcggg tgaacagcag acttatcatt gagaatataa tgaagtatgg ttggttgata 480
 aattctggct ttggtttag ttcaaatcg ttgagagatt ggcccctctt aatgtgtgt 540
 attagtctta atttattcc acttgctgct tttatggtgg aaaagtggc acagaaaag 600
 cgcattagtg aaccggtat ttttctactt catacaatca ttatgacagg agaaatttcg 660
 ttcccagttc tagtaattct cagctgtgat tctacgtttt taccagcct cacattgatg 720
 atggttgcat gcattatag gttaaaattg gtgtcatatg cacatacaag tcatgatctg 780

agatcactta gcttgtcaat tgaaaaggga gaaacattgc ccaataattt gaacatggag 840
 cacccttaca gagtgagctt caggagtatg gcatacttca tggttgctcc tacattatgt 900
 taccagccaa gctatectcg cacaccttcc gtcgtaagg gctgggtgtt tegtcaactt 960
 atcaagttgg taatatttac tggacttatg ggatttataa tagaacaata tatgcatcct 1020
 attgtccaaa attcacaaca tcttttaag ggaaccttc tatatggctt cgagagaact 1080
 ctaaagcttt ctgttccaa tgtatatgtg tggctttgca tgttctattg cttctttcac 1140
 ctttggttaa atatactgc agaacttgtt cagtttggg atcgtgagtt ctacaaggat 1200

tggtggaatg ctaaaactgt tgatgagccc gtgcacaaat ggatggttcg tcatatatat 1260
 tttccttga ttaggcattg tatgtctaag aatgctgctg tattaattgc tttcctgatt 1320

tctgccgtgt tccatgagct ttgcattgct gttccctgcc acaagttaa gttgtgggct 1380
 tttattggaa ttatgtttca ggttctctca tccattgtca ctaacttctt acaaaagaaa 1440
 tgcaaaagct caatggttgg aaacatggtg ttttggttca cttttgtat tctgggtcag 1500
 cctatgtgcg tactactata ctacatgac tggatgaaca ggcacaggga acataactaa 1560
 1560

<210> 9

<211> 1563

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Camelina sativa

<400> 9

atggcgattt tggattctgg aggcggcggc gttagcaccg cgacggcgac agagaacggt 60
 ggcgagagat ttgtggatct tcgtcgacgg aaatcgagat cggattcaa cggagtctt 120
 tctggttccg ataateccacc gtctgttgat gttggagctc ccgccgacgt tagggatcgg 180
 attgattccg ttgttaacga tgacgctcag gggacgactg ccaatttggc cggagatacc 240
 gaaattaggg aaaccggtgg tgggtggaaga ggcgccggcg gagaaggagg aagagtaac 300
 gccgagacta cgtatgcgta tcgaccgtcg gttcctgctc atcggagagc tagggagagt 360

 ccactcagct ccgacgcaat cttcaaacag agccatgccg gattattcaa cttgtgcgta 420
 gtagtcttta ttgctgtaaa cagtagactc atcatcgaat atctgatgaa gtatggttgg 480
 ttgatcagaa cggatttctg gtttagttca agatcgttgc gggattggcc gcttttcattg 540
 tgtttgtctt ccttttcaat ctttctttg gctgccttta ccgtcgagaa attggttctt 600
 cagaaatgca tttctgaacc tgttgcctc atcttccata ttattatcac catgacagag 660
 gttttgtatc cagtttacgt caccctaagg tgtgattctg ctttcttacc aggtgtcaca 720
 ttgatgctcc tcaacttgcg tgtgtggcta aagttggtt cttatgctca tactaactac 780

 gacataagaa ctctagccaa ttcagctgat aaggccaatc ctgaagtctc ctactacgtt 840
 agcttgaaga gcttggcata ttttatggtt gctccacat tgtgttatca gccaaactat 900
 ccacgttctc catgtatagc gaagggttgg gtggctcgtc aatttgcaa actggtcata 960
 ttcaactggat tcatgggatt tataatagaa caatatataa atcctattgt cagaaactca 1020
 aagcatcctc tgaaggggga tcttctatat gctattgaaa gagtgttgaa gctttcagtt 1080
 ccaaatttat atgtgtggct ctgcatgttc tactgcttct tccaccttgg gttaaacata 1140
 ttggcagagc ttctctgctt cggggatcgt gaattctaca gagattggtg gaatgcaaaa 1200

agtgtgggag aciattggag aatgtggaat atgcctgttc ataatggat ggttcgacat 1260
 atatacttcc cgtgcctcgc gagcaagata ccaaagacac tcgccattat cattgctttc 1320
 ttagtctctg ccgtctttca tgagctatgc atcgcagtcc cttgccgtct cttcaagtta 1380
 tgggctttta tagggattat gtttcaggig cctttggtct ttatcacaaa ctatctacaa 1440
 gaaaggttcg gctcaacggt ggggaacatg atcttctggt tcatcttctg catattcga 1500
 caaccgatgt gtgtgcttct ttattaccac gatctgatga accgcaaagg atcaatgtca 1560
 tga 1563

<210> 10

<211> 1563

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Camelina sativa

<400> 10

atggcgattt tggattctgg aggcggcggc gtcagcaccg cgacggcgcgac ggagaacggt 60
 ggcggagagt ttgtggatct tcgtcgacgg aaatcgagat cggattccaa cggagtcttt 120
 tgtggttctg ataatccacc ctctgatgat gtggagctc ccgccgacgt tagggatcgg 180
 attgattccg ttgttaacga tgacgctcag gggacgactg ctaatttggc cggggataac 240
 gaaattaggg aaactggtgg tgggtggaaga ggcggcggcg gagaaggagg gagaggaaac 300
 gccgagacta cgtatacgtg tcgaccgtcg gttcctgctc atcggagagc tagggagagt 360

ccaactcagct ccgacgcaat cttcaaacag agccatgccg gattattcaa cttgtgtgta 420
 gtagttctta ttgctgttaa cagtagactc atcatcgaac acctgatgaa gtatggttgg 480
 ttgatcagaa cggatttctg gtttagttca agatcgttgc gggattggcc gcttttcatg 540
 tgtttgctat ccctttcggt ctttctttg gctgccttta ccgtcgagaa attggtactt 600
 cagaaatgca tatctgaacc tgttgcac cttcttcata ttattatcac catgacagag 660
 gttttatatac cagtttacgt cacctaagc tgtgattctg ctttcttatac aggtgtcacg 720
 ttgatgctcc tcaactgcat tgtgtggcta aagttggttt cttatgctca tactaactac 780

gacataagaa ctctagccaa ttcagctgat aaggccaatc ctgaagtctc ctactacgtt 840
 agcttgaaga gcttggcata ttttatggtt gctcccat tgtgttatca gccaagctat 900
 ccacgttctc cgtgtatcgc gaagggttgg gtggctcgtc aatttgcaa actggtcata 960
 ttcaactggat tcatgggatt tataatagaa caatatataa atcctattgt cagaaactca 1020
 aagcatcctc tgaaggggga tcttctatat gctattgaaa gagtgttgaa gctttcagtt 1080
 ccaaatttat atgtgtggct ctgcatgttc tactgcttct tccacctttg gttaacata 1140

ttggcagagc ttctctgctt cggggatcgt gaattctaca gagattgggtg gaatgcaaaa 1200
 agtgtgggag attattggag aatgtggaat atgcctgttc ataaatggat ggttcgacat 1260
 atatacttcc cgtgcctcgc gagcaagata ccaaagacac tcgccattat cattgctttc 1320
 ttagtctctg ccgtctttca tgagctatgc atcgcagtcc cttgccgtct cttcaagttg 1380
 tgggctttta tagggattat gtttcaggtg cctttggtct ttatcacaaa ctatctacaa 1440
 gaaaggttcg gctcaacggt ggggaacatg atcttctggt tcactctctg catattcgga 1500
 caaccgatgt gtgtgcttct ttattaccac gatctgatga accgcaaagg atcaatgtca 1560
 tga 1563

<210> 11
 <211> 1563
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> Camelina sativa
 <400> 11

atggcgattt tggattctgg aggcggcggc gttagcaccg cgacggcgac agagaacggt 60
 ggccggagagt ttgtggatct tcgtcgacgg aaatcgagat cggattccaa cggagtctt 120
 tctggttccg ataateccacc gtctgttgat gttggagctc ccgccgacgt tagggatcgg 180
 attgattccg ttgttaacga tgacgctcag gggacgactg ccaatttggc cggagatacc 240
 gaaattaggg aaaccggtgg tgggtggaaga ggcgccggcg gagaaggagg aagaggtaac 300
 gccgagacta cgtatgcgta tcgaccgtcg gttcctgctc atcggagagc tagggagagt 360

 ccaactcagct ccgacgcaat cttcaaacag agccatgccg gattattcaa cttgtgcgta 420
 gtagtcttta ttgctgtaaa cagtagactc atcatcgaaa atctgatgaa gtatggttgg 480
 ttgatcagaa cggatttctg gtttagttca agatcgttgc gggattggcc gcttttcatg 540
 tgtttgctct ccccttcaat ctttctttg gctgccttta ccgtcgagaa attggttctt 600
 cagaaatgca tttctgaacc tgttgcctc attcttcata ttattatcac catgacagag 660
 gttttgtatc cagtttacgt caccctaagg tgtgattctg ctttcttacc aggtgtcaca 720
 ttgatgctcc tcaacttgcg tgtgtggcta aagttggttt cttatgctca tactaactac 780

 gacataagaa ctctagccaa ttcagctgat aaggccaatc ctgaagtctc ctactacgtt 840
 agcttgaaga gcttggcata ttttatggtt gctcccacat tgtgttatca gccaaactat 900
 ccacgttctc catgtatagc gaagggttgg gtggctcgtc aatttgcaaa actggtcata 960
 ttcactggat tcatgggatt tataatagaa caatatataa atcctattgt cagaaactca 1020

aagcatcctc tgaaggga tcttctatat gctattgaaa gagtggtgaa gctttcagtt 1080
 ccaaatttat atgtgtggct ctgcatgttc tactgcttct tccacctttg gttaacata 1140
 ttggcagagc ttctctgctt cggggatcgt gaattctaca gagattggtg gaatgcaaaa 1200

agtgtgggag actattggag aatgtggaat atgcctgttc ataaatggat ggttcgacat 1260
 atatacttcc cgtgctcgag gagcaagata ccaaagacac tcgccattat cattgctttc 1320
 ttagtctctg ccgtctttca tgaagetatgc atcgcagtcc cttgccgtct cttcaagtta 1380
 tgggctttta tagggattat gtttcaggtg cctttggtct ttatcacaaa ctatctacaa 1440
 gaaagtttcg gctcaacggt ggggaacatg atcttctggt tcattctctg catattcgga 1500
 caaccgatgt gtgtgcttct ttattaccac gatctgatga accgcaaagg atcaatgtca 1560
 tga 1563

<210> 12
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence

<400> 12
 tctctcgccc tccgatgagc tgg 23

<210> 13
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence

<400> 13
 ctccgacgca atcttcaaac agg 23

<210> 14
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence

<400> 14
 atccagttta cgtcacceta agg 23

<210> 15

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 15
 tgctcctcac ttgcattgtg tgg 23
 <210> 16
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 16
 ctgccaatat gtttaacctt tgg 23
 <210> 17
 <211> 23
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 17
 cgaaccatcc atttatgaac agg 23
 <210> 18
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 18
 cttg'gcagc aagataccaa agg 23
 <210> 19
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 19

tgcatgcat agctgtcaaa agg	23
<210> 20	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 20	
ttgtcgtctc ttcaagctat ggg	23
<210> 21	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 21	
acctactcaa acaaattggt tgg	23
<210> 22	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 22	
tcacaaacta tctacaggaa agg	23
<210> 23	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 23	
ctccgacgca atcttcaaac agg	23
<210> 24	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> sgRNA sequence
 <400> 24
 tggatacaaa acctctgtca tgg 23
 <210> 25
 <211> 23
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 25
 caccttaggg tgacgtaaac tgg 23
 <210> 26
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 26
 ctgccaatat gtttaacctt tgg 23
 <210> 27
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 27
 tggcagagct tctctgcttc ggg 23

 <210> 28
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 28
 atcgtgaatt ctacaaagat tgg 23
 <210> 29
 <211> 23

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 29
 tggatggaatg caaaaagtgt ggg 23
 <210> 30
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 30

 cgaaccatcc atttatgaac agg 23
 <210> 31
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 31
 catgaaagac tgcagagact agg 23
 <210> 32
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 32
 tgcatgatcat agctgtcaaa agg 23
 <210> 33
 <211> 23
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 33
 aggcacctac tcaacaacaat tgg 23

<210>	34	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	34	
	cttcatcaca aactatctac agg	23
<210>	35	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	35	
	tcacaaacta tctacaggaa agg	23
<210>	36	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	36	
	aactatctac aggaaaggtt tgg	23
<210>	37	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	37	
	tgctggcggtt actacggtga cgg	23
<210>	38	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	

<400>	38	
	gttactacgg tgacggagaa cgg	23
<210>	39	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	39	
	actacggtga cggagaacgg tgg	23
<210>	40	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	40	
	acggtgacgg agaacggtgg cgg	23
<210>	41	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	41	
	atcttgatag gcttcgtcga cgg	23
<210>	42	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA sequence	
<400>	42	
	tcgagatcgg attcttctaa cgg	23
<210>	43	
<211>	23	
<212>	RNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 43
 tctaacggac ttcttctctc tgg 23

<210> 44
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 44
 ttccgataat aattctcctt cgg 23

<210> 45
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 45
 aattctcctt cggatgatgt tgg 23

<210> 46
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 46
 atccgaagga gaattattat cgg 23

<210> 47
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 47
 ctcccgccga cgtagggat cgg 23

<210> 48

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 48
 atccgatccc taacgtcggc ggg 23
 <210> 49
 <211> 23
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 49
 atcaatccga tcctaactg cgg 23
 <210> 50
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 50
 ttggccggag ataataacgg tgg 23
 <210> 51
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 51
 gccaccaccg ttattatctc cgg 23

 <210> 52
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 52

gttactacgg tgacggagaa cgg	23
<210> 53	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 53	
acggtgacgg agaacggtgg cgg	23
<210> 54	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 54	
atcttgatag gcttcgtcga cgg	23
<210> 55	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 55	
tctaacggac ttcttctctc tgg	23
<210> 56	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA sequence	
<400> 56	
ttccgataat aattctcctt cgg	23
<210> 57	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> sgRNA sequence
 <400> 57
 atccgaagga gaattattat cgg 23
 <210> 58
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 58
 atcaatccga tcctaactg cgg 23
 <210> 59
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 59
 gttgttaacg atgacgctca ggg 23

 <210> 60
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 60
 cgctcagga acagccaatt tgg 23
 <210> 61
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 61
 caggaacag ccaatttggc cgg 23
 <210> 62
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 62

 gataataacg gtggtggaag agg 23
 <210> 63
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA sequence
 <400> 63
 aataacggtg gtggaagagg cgg 23
 <210> 64
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 64
 attgtctctc gcctccgat gagc 24
 <210> 65
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 65
 attgctccga cgcaatcttc aaac 24
 <210> 66
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 66
 attgctccga cgcaatcttc aaac 24
 <210> 67

<211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 67
 attgatccag tttacgtcac ccta 24

<210> 68
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 68
 attgtgctcc tcacttgcac tggc 24

<210> 69
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 69
 attgtggata caaacctct gtca 24

<210> 70
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 70
 attgcacctt aggtgacgt aaac 24

<210> 71
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 71

attgctgcca atatgtttaa cctt	24
<210> 72	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 72	
attgctgcca atatgtttaa cctt	24
<210> 73	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 73	
attgtggcag agcttctctg cttc	24
<210> 74	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 74	
attgatcgtg aattctacaa agat	24
<210> 75	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 75	
attgccaacc atccatttat gaac	24
<210> 76	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	

<400>	76	
	attgcttgcg cagcaagata ccaa	24
<210>	77	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	77	
	attgtgcat gcatagctgt caaa	24
<210>	78	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	78	
	attgttgctg tctcttcaag ctat	24
<210>	79	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	79	
	attgtggtgg aatgcaaaaa gtgt	24
<210>	80	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	80	
	attgcgaacc atccatttat gaac	24
<210>	81	
<211>	24	
<212>	RNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 81
 attgcatgaa agactgcaga gact 24
 <210> 82
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 82
 attgtgcgat gcatagctgt caaa 24

 <210> 83
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 83
 attgacctac tcaacaaat tgg 24
 <210> 84
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 84
 attgtcacia actatctaca ggaa 24
 <210> 85
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 85
 attgaggcac ctactcaaac aaat 24

 <210> 86

<211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 86
 attgcttcat cacaaactat ctac 24
 <210> 87
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 87
 attgtcacia actatctaca ggaa 24
 <210> 88
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 88
 attgaactat ctacaggaaa ggtt 24

 <210> 89
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 89
 attgtgctgg cgttactacg gtga 24
 <210> 90
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 90
 aaacttctcc gtcaccgtag taac 24

<210> 91
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 91
 attgactacg gtgacggaga acgg 24

<210> 92
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 92
 attgacggtg acggagaacg gtgg 24

<210> 93
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 93
 attgatcttg ataggcttcg tcga 24

<210> 94
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 94
 attgtcgaga tcggattctt ctaa 24

<210> 95
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer

<400> 95
 attgtctaac ggacttcttc tctc 24
 <210> 96
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 96
 attgttccga taataattct cctt 24
 <210> 97
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 97
 attgaattct ccttcggatg atgt 24

 <210> 98
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 98
 attgatccga aggagaatta ttat 24
 <210> 99
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 99
 attgctcccg cgcacgttag ggat 24
 <210> 100
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer
 <400> 100
 attgatccga tcctaactg cggc 24

<210> 101
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 101
 attgatcaat ccgataccta acgt 24

<210> 102
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 102
 attgttgccc ggagataata acgg 24

<210> 103
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 103
 attggccacc accgttatta tctc 24

<210> 104
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 104
 attggttact acggtgacgg agaa 24

<210> 105
 <211> 24

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 105
 attgacggtg acggagaacg gtgg 24
 <210> 106
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 106
 attgatcttg ataggcttcg tcga 24
 <210> 107
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 107
 attgtctaac ggacttcttc tctc 24
 <210> 108
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 108
 attgttccga taataattct cttt 24

 <210> 109
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 109
 attgatccga aggagaatta ttat 24

<210> 110
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 110
 attgatcaat ccgatcccta acgt 24
 <210> 111
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 111

 attggttggt aacgatgacg ctca 24
 <210> 112
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 112
 attgcgctca gggaacagcc aatt 24
 <210> 113
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 113
 attgcagga acagccaatt tggc 24
 <210> 114
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer

<400> 114
attggataat aacggtggtg gaag 24
<210> 115
<211> 24
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> sgRNA primer
<400> 115
attgaataac ggtggtgga gagg 24
<210> 116
<211> 24
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> sgRNA primer
<400> 116
aaacgctcat cggagggcga gaga 24
<210> 117
<211> 24
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> sgRNA primer
<400> 117
aaacgtttga agattgcgtc ggag 24
<210> 118
<211> 24
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> sgRNA primer
<400> 118
aaacgtttga agattgcgtc ggag 24
<210> 119
<211> 24
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer	
<400> 119	
aaactagggt gacgtaaact ggat	24
<210> 120	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 120	
aaaccacaat gcaagtgagg agca	24
<210> 121	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 121	
aaactgacag aggttttgta tcca	24
<210> 122	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 122	
aaacgtttac gtcaccctaa ggtg	24
<210> 123	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sgRNA primer	
<400> 123	
aaacaaggtt aaacatattg gcag	24
<210> 124	
<211> 24	

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 124
 aaacaaggtt aaacatattg gcag 24

<210> 125
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 125
 aaacgaagca gagaagctct gccca 24

<210> 126
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 126
 aaacatcttt gtagaattca cgat 24

<210> 127
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 127
 aaacgttcat aaatggatgg ttcg 24

<210> 128
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 128
 aaacttgta tcttgctgca caag 24

<210> 129
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 129
 aaactttgac agctatgcat cgca 24
 <210> 130
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 130
 aaacatagct tgaagagacg acaa 24
 <210> 131
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 131
 aaacacactt ttgcatcc acca 24
 <210> 132
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 132
 aaacgttcat aaatggatgg ttcg 24

 <210> 133
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer

<400> 133
 aaacagtctc tgcagtcttt catg 24
 <210> 134
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 134
 aaactttgac agctatgcat cgca 24
 <210> 135
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 135

 aaacaccaat ttgtttgagt aggt 24
 <210> 136
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 136
 aaacttctg tagatagttt gtga 24
 <210> 137
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 137
 aaacatttgt ttgagtaggt gcct 24
 <210> 138
 <211> 24
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 138
 aaacgtagat agtttgat gaag 24
 <210> 139
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 139
 aaacttctg tagatagtt gtga 24
 <210> 140
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 140
 aaacaacctt tcctgtagat agtt 24
 <210> 141
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 141
 aaactcaccg tagtaacgcc agca 24
 <210> 142
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 142
 aaacttctcc gtcaccgtag taac 24
 <210> 143
 <211> 24

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 143

 aaaccggttc tccgtcaccg tagt 24
 <210> 144
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 144

 aaaccaccg ttctccgtca ccgt 24
 <210> 145
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 145

 aaactcgacg aagcctatca agat 24
 <210> 146
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 146

 aaacttagaa gaatccgatc tcga 24
 <210> 147
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 147

 aaacgagaga agaagtccgt taga 24

<210> 148
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 148
 aaacaaggag aattattatc ggaa 24

<210> 149
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 149
 aaacacatca tccgaaggag aatt 24

<210> 150
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 150
 aaacataata attctccttc ggat 24

<210> 151
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 151

aaacatccct aacgtcggcg ggag 24
 <210> 152
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer

<400> 152
 aaacgccgac gttaggatc ggat 24
 <210> 153
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 153
 aaacacgtta gggatcggat tgat 24
 <210> 154
 <211> 24
 <212> RNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 154
 aaaccctta ttatctccgg ccaa 24
 <210> 155
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 155
 aaacgagata ataacggtgg tggc 24
 <210> 156
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 156
 aaacttctcc gtcaccgtag taac 24

 <210> 157
 <211> 24
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 157
 aaaccaccg ttctccgtca ccgt 24
 <210> 158
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 158
 aaactcgacg aagcctatca agat 24
 <210> 159
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 159

 aaacgagaga agaagtcctg taga 24
 <210> 160
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 160
 aaacaaggag aattattatc ggaa 24
 <210> 161
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 161
 aaacataata attctccttc ggat 24
 <210> 162
 <211> 24

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer

<400> 162

aaacacgtta gggatcggat tgat 24

<210> 163

<211> 24

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer

<400> 163

aaactgagcg tcatcgtaa caac 24

<210> 164

<211> 24

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer

<400> 164

aaacaattgg ctgttcctg agcg 24

<210> 165

<211> 24

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer

<400> 165

aaacgcaaaa ttggctgttc cctg 24

<210> 166

<211> 24

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sgRNA primer

<400> 166

aaaccttcca ccaccgttat tatc 24

<210>	167	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	167	
aaaccctctt ccaccaccgt tatt		24
<210>	168	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	168	
ccgacgctgt ttcgtcaaac		20
<210>	169	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	169	
ttcgatgatg agtctactgt tt		22
<210>	170	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	
<400>	170	
tgctcaaggt tgcacatctt c		21
<210>	171	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sgRNA primer	

<400> 171
 caggattggc ctaaagttca 20
 <210> 172
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 172
 ccttttggtat gctgtgatcc 20

 <210> 173
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 173
 aagacagtga atacatgaat ttgg 24
 <210> 174
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 174
 ctggagaatg tggaatatgg t 21
 <210> 175
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sgRNA primer
 <400> 175

 cccattccaa aacagatcac 20
 <210> 176
 <211> 520
 <212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 176

Met Ala Ile Leu Asp Ser Ala Gly Val Thr Thr Val Thr Glu Asn Gly

1 5 10 15

Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Asp Arg Leu Arg Arg Arg Lys Ser Arg

20 25 30

Ser Asp Ser Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Gly Ser Asp Asn Asn Ser

35 40 45

Pro Ser Asp Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp

50 55 60

Ser Val Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp

65 70 75 80

Asn Asn Gly Gly Gly Asp Asn Asn Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Glu

85 90 95

Gly Arg Gly Asn Ala Asp Ala Thr Phe Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro

100 105 110

Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe

115 120 125

Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile

130 135 140

Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp

145 150 155 160

Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp

165 170 175

Pro Leu Phe Met Cys Cys Ile Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala

180 185 190

Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Ile Ser Glu Pro Val

195 200 205

Val Ile Phe Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro

210 215 220

Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr

225 230 235 240

Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Leu Ala Asn Ala Ala Asp Lys Ala
 260 265 270
 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Ala
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320
 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335

 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile
 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380
 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415
 Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430
 Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445
 Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460
 Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480

 Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe

Pro Leu Phe Met Cys Cys Ile Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190
 Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205
 Val Ile Phe Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220
 Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr
 225 230 235 240
 Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Leu Ala Asn Ala Ala Asp Lys Ala
 260 265 270
 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Ala
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320
 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335
 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile
 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380
 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415
 Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430

Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445

Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460

Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480

Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
 485 490 495

Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
 500 505 510

Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser

515 520

<210> 178

<211> 520

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 178

Met Ala Ile Leu Asp Ser Ala Gly Val Thr Thr Val Thr Glu Asn Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Asp Arg Leu Arg Arg Arg Lys Ser Arg
 20 25 30

Ser Asp Ser Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Gly Ser Asp Asn Asn Ser
 35 40 45

Pro Ser Asp Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp
 50 55 60

Ser Val Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp
 65 70 75 80

Asn Asn Gly Gly Gly Asp Asn Asn Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Glu
 85 90 95

Gly Arg Gly Asn Ala Asp Ala Thr Phe Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro
 100 105 110

Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Phe

Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380

Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400

Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415

Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430

Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445

Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460

Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480

Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
 485 490 495

Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
 500 505 510

Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser
 515 520

<210> 179
 <211> 520
 <212> PRT
 <213> Arabidopsis thaliana
 <400> 179

Met Ala Ile Leu Asp Ser Ala Gly Val Thr Thr Val Thr Glu Asn Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Asp Arg Leu Arg Arg Arg Lys Ser Arg
 20 25 30

Ser Asp Ser Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Gly Ser Asp Asn Asn Ser
 35 40 45

Pro Ser Asp Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp

Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile

305 310 315 320

Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile

325 330 335

Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile

340 345 350

Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys

355 360 365

Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu

370 375 380

Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys

385 390 395 400

Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp

405 410 415

Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys

420 425 430

Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu

435 440 445

Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu

450 455 460

Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln

465 470 475 480

Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe

485 490 495

Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu

500 505 510

Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser

515 520

<210> 180

<211> 520

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 180

Met Ala Ile Leu Asp Ser Ala Gly Val Thr Thr Val Thr Glu Asn Gly

1 5 10 15

Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Asp Arg Leu Arg Arg Arg Lys Ser Arg

20 25 30

Ser Asp Ser Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Gly Ser Asp Asn Asn Ser

35 40 45

Pro Ser Asp Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp

50 55 60

Ser Val Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp

65 70 75 80

Asn Asn Gly Gly Gly Asp Asn Asn Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Glu

85 90 95

Gly Arg Gly Asn Ala Asp Ala Thr Phe Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro

100 105 110

Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe

115 120 125

Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile

130 135 140

Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp

145 150 155 160

Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp

165 170 175

Pro Leu Phe Met Cys Cys Ile Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala

180 185 190

Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Ile Ser Glu Pro Val

195 200 205

Val Ile Phe Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro

210 215 220

Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr

225 230 235 240

Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Leu Ala Asn Ala Ala Asp Lys Ala
 260 265 270

 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Ala
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320
 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335
 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile

 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380
 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Cys
 405 410 415

 Met Val Gln His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430
 Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445
 Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460
 Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480
 Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe

Pro Leu Phe Met Cys Cys Ile Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190
 Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205
 Val Ile Phe Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220
 Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr
 225 230 235 240

 Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Leu Ala Asn Ala Ala Asp Lys Ala
 260 265 270
 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Ala
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile

 305 310 315 320
 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335
 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile
 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380

 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415
 Met Ile Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430

Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445
 Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Leu
 450 455 460
 Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480
 Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
 485 490 495
 Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
 500 505 510
 Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser
 515 520
 <210> 182

 <211> 520
 <212> PRT
 <213> Unknown
 <220><223> Camelina sativa
 <400> 182
 Met Ala Ile Leu Asp Ser Gly Gly Gly Gly Val Ser Thr Ala Thr Ala
 1 5 10 15
 Thr Glu Asn Gly Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Arg Arg Arg Lys Ser
 20 25 30
 Arg Ser Asp Ser Asn Gly Val Leu Ser Gly Ser Asp Asn Pro Pro Ser
 35 40 45
 Val Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp Ser Val
 50 55 60
 Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp Thr
 65 70 75 80
 Glu Ile Arg Glu Thr Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Glu Gly
 85 90 95
 Gly Arg Gly Asn Ala Glu Thr Thr Tyr Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro
 100 105 110

Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe
 115 120 125

Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile
 130 135 140

Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp
 145 150 155 160

Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp
 165 170 175

Pro Leu Phe Met Cys Cys Leu Ser Leu Ser Phe Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190

Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Cys Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205

Val Ile Ile Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220

Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr
 225 230 235 240

Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255

His Thr Asn Tyr Asp Ile Arg Thr Leu Ala Asn Ser Ala Asp Lys Ala
 260 265 270

Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285

Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Pro
 290 295 300

Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320

Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335

Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile
 340 345 350

Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Camelina sativa

<400> 184

Met Ala Ile Leu Asp Ser Gly Gly Gly Gly Val Ser Thr Ala Thr Ala
 1 5 10 15
 Thr Glu Asn Gly Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Arg Arg Arg Lys Ser
 20 25 30
 Arg Ser Asp Ser Asn Gly Val Leu Ser Gly Ser Asp Asn Pro Pro Ser
 35 40 45
 Val Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp Ser Val
 50 55 60
 Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp Thr
 65 70 75 80
 Glu Ile Arg Glu Thr Gly Gly Gly Gly Arg Gly Ala Gly Gly Glu Gly
 85 90 95
 Gly Arg Gly Asn Ala Glu Thr Thr Tyr Ala Tyr Arg Pro Ser Val Pro
 100 105 110
 Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe
 115 120 125
 Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile
 130 135 140
 Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp
 145 150 155 160
 Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp
 165 170 175
 Pro Leu Phe Met Cys Cys Leu Ser Leu Ser Ile Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190
 Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Cys Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205
 Val Ile Ile Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220

Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr
 225 230 235 240
 Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala
 245 250 255
 His Thr Asn Tyr Asp Ile Arg Thr Leu Ala Asn Ser Ala Asp Lys Ala
 260 265 270

 Asn Pro Glu Val Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe
 275 280 285
 Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Pro
 290 295 300
 Cys Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Phe Ala Lys Leu Val Ile
 305 310 315 320
 Phe Thr Gly Phe Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile
 325 330 335
 Val Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile

 340 345 350
 Glu Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys
 355 360 365
 Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu
 370 375 380
 Leu Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Arg Asp Trp Trp Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Ser Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp
 405 410 415

 Met Val Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ser Lys Ile Pro Lys
 420 425 430
 Thr Leu Ala Ile Ile Ile Ala Phe Leu Val Ser Ala Val Phe His Glu
 435 440 445
 Leu Cys Ile Ala Val Pro Cys Arg Leu Phe Lys Leu Trp Ala Phe Ile
 450 455 460
 Gly Ile Met Phe Gln Val Pro Leu Val Phe Ile Thr Asn Tyr Leu Gln
 465 470 475 480

Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
 485 490 495
 Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
 500 505 510
 Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser
 515 520
 <210> 185
 <211> 503
 <212> PRT
 <213> Brassica napus
 <400> 185
 Met Ala Ile Leu Asp Ser Gly Gly Val Ala Val Pro Pro Thr Glu Asn
 1 5 10 15
 Gly Val Ala Asp Leu Asp Arg Leu His Arg Arg Lys Ser Ser Ser Asp
 20 25 30
 Ser Ser Asn Gly Leu Leu Ser Asp Thr Ser Pro Ser Asp Asp Val Gly
 35 40 45
 Ala Ala Ala Ala Glu Arg Asp Arg Val Asp Ser Ala Ala Glu Glu Glu
 50 55 60
 Ala Gln Gly Thr Ala Asn Leu Ala Gly Gly Asp Ala Glu Thr Arg Glu
 65 70 75 80
 Ser Ala Gly Gly Asp Val Arg Phe Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro Ala
 85 90 95
 His Arg Arg Thr Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe Lys
 100 105 110
 Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Val Ala
 115 120 125
 Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp Leu
 130 135 140
 Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Arg Asp Trp Pro
 145 150 155 160

Leu Phe Met Cys Cys Leu Ser Leu Ser Val Phe Pro Leu Ala Ala Phe
 165 170 175
 Thr Val Glu Lys Met Val Leu Gln Lys Phe Ile Ser Glu Pro Val Ala
 180 185 190
 Ile Ile Leu His Val Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro Val
 195 200 205
 Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr Leu
 210 215 220
 Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala His
 225 230 235 240

 Thr Ser Tyr Asp Ile Arg Thr Leu Ala Asn Ser Ala Asp Lys Val Asp
 245 250 255
 Pro Glu Ile Ser Tyr Tyr Val Ser Leu Lys Ser Leu Ala Tyr Phe Met
 260 265 270
 Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser Tyr Pro Arg Ser Pro Cys
 275 280 285
 Ile Arg Lys Gly Trp Val Ala Arg Gln Leu Ala Lys Leu Val Ile Phe
 290 295 300
 Thr Gly Leu Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Ile Asn Pro Ile Val

 305 310 315 320
 Arg Asn Ser Lys His Pro Leu Lys Gly Asp Leu Leu Tyr Ala Ile Glu
 325 330 335
 Arg Val Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Leu Tyr Val Trp Leu Cys Met
 340 345 350
 Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn Ile Leu Ala Glu Leu Leu
 355 360 365
 Cys Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp Trp Trp Asn Ala Lys Ser
 370 375 380

 Val Gly Asp Tyr Trp Arg Met Trp Asn Met Pro Val His Lys Trp Met
 385 390 395 400
 Val Arg His Val Tyr Phe Pro Cys Leu Arg Ile Lys Ile Pro Lys Val

Ser Asp Asn Ile Phe Arg Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys
 115 120 125
 Ile Val Val Leu Val Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu
 130 135 140
 Met Lys Tyr Gly Trp Leu Ile Lys Tyr Gly Phe Trp Phe Ser Ser Lys
 145 150 155 160
 Ser Leu Arg Asp Trp Pro Leu Phe Met Cys Cys Leu Ser Leu Ala Ile
 165 170 175
 Phe Pro Leu Ala Ala Phe Val Val Glu Arg Leu Ala Gln Gln Lys Cys
 180 185 190
 Ile Ser Glu Pro Val Val Val Leu Leu His Leu Ile Ile Ser Thr Val
 195 200 205
 Glu Leu Cys Tyr Pro Val Leu Val Ile Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe
 210 215 220
 Val Ser Gly Val Thr Leu Met Leu Leu Thr Cys Ile Val Trp Leu Lys
 225 230 235 240
 Leu Val Ser Tyr Ala His Thr Asn Tyr Asp Met Arg Ala Leu Thr Val
 245 250 255
 Ser Asn Glu Lys Gly Glu Thr Leu Pro Asn Thr Leu Ile Met Glu Tyr
 260 265 270
 Pro Tyr Thr Val Thr Phe Arg Ser Leu Ala Tyr Phe Met Val Ala Pro
 275 280 285
 Thr Leu Cys Tyr Gln Thr Ser Tyr Pro Arg Thr Pro Ser Val Arg Lys
 290 295 300
 Gly Trp Val Phe Arg Gln Leu Val Lys Leu Ile Ile Phe Thr Gly Val
 305 310 315 320
 Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln Tyr Met Asn Pro Ile Val Gln Asn Ser
 325 330 335
 Thr His Pro Leu Lys Gly Asn Leu Leu Tyr Ala Ile Glu Arg Ile Leu
 340 345 350
 Lys Leu Ser Val Pro Asn Val Tyr Val Trp Leu Cys Met Phe Tyr Cys

Asp Ser Ser Gly Ser Asp Asp Ser Leu Asn Glu Arg Ile Gly Ala Ala
 50 55 60
 Arg Glu Glu Lys Val Lys Glu Lys Gln Lys Gln Lys Glu Glu Asp Arg
 65 70 75 80
 Lys Pro Pro Asp His Ala Ser Arg Asn Glu Val Gln Asp Gly Glu Arg
 85 90 95
 Ala Ala Ala Gly Asp Asn Phe Thr Tyr Arg Ala Ser Val Pro Val His
 100 105 110
 Arg Arg Ile Lys Asp Ser Pro Leu Ser Ser Arg Asn Ile Phe Lys Gln
 115 120 125

 Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile Ala Val
 130 135 140
 Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Ile Met Lys Tyr Gly Trp Leu Ile
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Phe Trp Phe Ser Ser Lys Ser Leu Arg Asp Trp Pro Leu
 165 170 175
 Leu Met Cys Cys Ile Ser Leu Asn Leu Phe Pro Leu Ala Ala Phe Met
 180 185 190
 Val Glu Lys Leu Ala Gln Lys Lys Arg Ile Ser Glu Pro Val Ile Phe
 195 200 205
 Leu Leu His Thr Ile Ile Met Thr Gly Glu Ile Ser Phe Pro Val Leu
 210 215 220
 Val Ile Leu Ser Cys Asp Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Thr Leu Met
 225 230 235 240
 Met Val Ala Cys Ile Ile Trp Leu Lys Leu Val Ser Tyr Ala His Thr
 245 250 255
 Ser His Asp Leu Arg Ser Leu Ser Leu Ser Ile Glu Lys Gly Glu Thr
 260 265 270

 Leu Pro Asn Asn Leu Asn Met Glu His Pro Tyr Arg Val Ser Phe Arg
 275 280 285
 Ser Met Ala Tyr Phe Met Val Ala Pro Thr Leu Cys Tyr Gln Pro Ser

290	295	300			
Tyr Pro Arg Thr	Pro Ser Val Arg Lys Gly Trp Val Phe Arg Gln Leu				
305	310	315	320		
Ile Lys Leu Val	Ile Phe Thr Gly Leu Met Gly Phe Ile Ile Glu Gln				
	325	330	335		
Tyr Met His Pro	Ile Val Gln Asn Ser Gln His Pro Phe Lys Gly Asn				
	340	345	350		
Leu Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Thr	Leu Lys Leu Ser Val Pro Asn Val				
	355	360	365		
Tyr Val Trp Leu Cys Met Phe Tyr Cys Phe Phe His Leu Trp Leu Asn					
	370	375	380		
Ile Leu Ala Glu Leu Val Gln Phe Gly Asp Arg Glu Phe Tyr Lys Asp					
385	390	395	400		
Trp Trp Asn Ala Lys Thr Val Asp Glu Pro Val His Lys Trp Met Val					
	405	410	415		
Arg His Ile Tyr Phe Pro Cys Ile Arg His Gly Met Ser Lys Asn Ala					
	420	425	430		
Ala Val Leu Ile Ala Phe Leu Ile Ser Ala Val Phe His Glu Leu Cys					
	435	440	445		
Ile Ala Val Pro Cys His Lys Phe Lys Leu Trp Ala Phe Ile Gly Ile					
	450	455	460		
Met Phe Gln Val Pro Leu Ser Ile Val Thr Asn Phe Leu Gln Lys Lys					
465	470	475	480		
Cys Lys Ser Ser Met Val Gly Asn Met Val Phe Trp Phe Thr Phe Cys					
	485	490	495		
Ile Leu Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Trp Met					
	500	505	510		
Asn Arg His Arg Glu His Asn					
	515				
<210>	188				
<211>	520				
<212>	PRT				

<213> Ricinus communis
 <400> 188
 Met Ala Ile Leu Asp Ser Gly Gly Gly Gly Val Ser Thr Ala Thr Ala
 1 5 10 15
 Thr Glu Asn Gly Gly Gly Glu Phe Val Asp Leu Arg Arg Arg Lys Ser
 20 25 30
 Arg Ser Asp Ser Asn Gly Val Leu Ser Gly Ser Asp Asn Pro Pro Ser
 35 40 45
 Val Asp Val Gly Ala Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Asp Ser Val
 50 55 60
 Val Asn Asp Asp Ala Gln Gly Thr Thr Ala Asn Leu Ala Gly Asp Thr
 65 70 75 80
 Glu Ile Arg Glu Thr Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Glu Gly
 85 90 95
 Gly Arg Gly Asn Ala Glu Thr Thr Tyr Thr Tyr Arg Pro Ser Val Pro
 100 105 110
 Ala His Arg Arg Ala Arg Glu Ser Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ile Phe
 115 120 125
 Lys Gln Ser His Ala Gly Leu Phe Asn Leu Cys Val Val Val Leu Ile
 130 135 140
 Ala Val Asn Ser Arg Leu Ile Ile Glu Asn Leu Met Lys Tyr Gly Trp
 145 150 155 160
 Leu Ile Arg Thr Asp Phe Trp Phe Ser Ser Arg Ser Leu Arg Asp Trp
 165 170 175
 Pro Leu Phe Met Cys Cys Leu Ser Leu Ser Phe Phe Pro Leu Ala Ala
 180 185 190
 Phe Thr Val Glu Lys Leu Val Leu Gln Lys Cys Ile Ser Glu Pro Val
 195 200 205
 Val Ile Ile Leu His Ile Ile Ile Thr Met Thr Glu Val Leu Tyr Pro
 210 215 220
 Val Tyr Val Thr Leu Arg Cys Asp Ser Ala Phe Leu Ser Gly Val Thr

Glu Arg Phe Gly Ser Thr Val Gly Asn Met Ile Phe Trp Phe Ile Phe
485 490 495
Cys Ile Phe Gly Gln Pro Met Cys Val Leu Leu Tyr Tyr His Asp Leu
500 505 510
Met Asn Arg Lys Gly Ser Met Ser
515 520