

UN MÉTODO PARA AUMENTAR EL RENDIMIENTO DE CANNABIS A TRAVÉS DE LA EDICIÓN DE GENES

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII txt. y se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, se llama seq.listing 2272-C-01-PCT y tiene un tamaño de 457 KB.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

- 10 La presente invención en general se relaciona con el campo de mejora de rasgos en plantas. Más particularmente, la presente invención se relaciona con mejorar el rendimiento de las flores en plantas de *Cannabis* utilizando el enfoque de edición del genoma CRISPR/Cas.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- El mercado del cannabis está disfrutando de un pico de actividad sin precedentes tras la tendencia de legalización generalizada en todo el mundo. Se estima que el mercado estadounidense por sí solo alcanzaría un valor de al menos USD\$ 30 mil millones para 2025, con una tasa de crecimiento excepcional del 30 % anual. Esto ha llevado a un aumento de la demanda no solo de productos de cannabis en general, sino en particular de productos con características muy específicas, ya sea de uso medicinal o recreativo. Esa demanda a veces se encuentra con una oferta escasa, por numerosas y variadas razones. Para permitir la rentabilidad, los productores deben abandonar las instalaciones de cultivo de interior con control ambiental y salir al invernadero o al campo. Bajo condiciones de invernadero y de campo, el rendimiento de la planta, por ejemplo en términos de crecimiento, desarrollo, acumulación de biomasa y rendimiento, depende de la tolerancia y capacidad de aclimatación de la planta a numerosas condiciones, cambios y tensiones ambientales. Por lo tanto, esta transición desde el interior hasta el exterior plantea varios obstáculos para los productores, y un obstáculo fundamental es lograr un alto rendimiento constante.

- 30 Los inventores y científicos de todo el mundo han propuesto numerosas vías en un intento por mejorar el rendimiento del cannabis, incluida la energía fotoacústica (documento US20180127327A1), la luz (intensidad, longitud de onda, direccionalidad; documentos US20160184237A1, CA2958257C) o plantas transgénicas con rasgos específicos transformados (documento US8344205B2).

- 35 Sin embargo, la comunidad de cultivo de Cannabis ha comenzado recientemente a adoptar la ciencia sólida y el cambio gradual de los métodos de cultivo tradicionales a las técnicas modernas basadas en la ciencia aún está en su infancia. La deficiencia científica más aguda en ese sentido es la falta de una genética robusta y completamente desarrollada de *Cannabis sativa*, una deficiencia que dificulta la disponibilidad y el uso de semillas mejoradas genéticamente. Sin una rápida adopción de herramientas genéticas, es poco probable que los cultivadores de Cannabis puedan satisfacer la demanda y obtener ganancias, ya que la competencia comercial ha reducido significativamente los ingresos por cultivador, mientras que las medidas de cultivo tradicionales no logran aumentar el rendimiento para compensar dichas pérdidas. Adicionalmente, la naturaleza inestable del producto de Cannabis generado por métodos tradicionales impide que los usuarios disfruten de un producto estable y consistente, uno que se adapte a las necesidades particulares de diferentes consumidores. Sin embargo, las grandes empresas agrícolas aún no se han subido al carro del Cannabis debido a su todavía trémula situación legal.

- 45 Dado que el cultivo de Cannabis ha sido ilegal durante muchas décadas, y solo recientemente se ha legalizado parcialmente, todavía se basa predominantemente en técnicas, métodos y tradiciones hortícolas tradicionales. Estas prácticas de cultivo carecen gravemente de rigor científico y no son adecuadas para la transición a la producción de Cannabis a gran escala. La laguna más flagrante que caracteriza a este enfoque científico laxo es la ausencia de datos y herramientas genéticos. Adicionalmente, los científicos e inventores hasta ahora han centrado su mirada en mejorar la producción de cannabinoides (documento WO2018035450A1) en lugar de mejorar los parámetros fisiológicos de la planta *Cannabis sativa* en su conjunto. Como advertencia, hay que reconocer el hecho de que se han realizado intentos en el frente transgénico dentro del contexto de mejorar el rendimiento de los cultivos en general. Sin embargo, teniendo en cuenta el hecho de que los consumidores de Cannabis están más cansados que otros por el estado de OMG de su producto, la inserción de ADN extraño en la planta de Cannabis de esa manera puede disuadir a una porción considerable del mercado potencial de dichos productos transgénicos. Adicionalmente, si bien el énfasis que se le da a los cannabinoides es predecible y comprensible, descuidar toda la fisiología de la planta es un obstáculo importante para la capacidad de la industria de satisfacer la creciente demanda del mercado.

- 60 A la luz de lo anterior, el objetivo de la presente invención es proporcionar un método novedoso para aumentar de forma eficaz y constante el rendimiento de una planta de *Cannabis* libre de transgén. El método se basa en la edición de genes del genoma de la planta de Cannabis en una secuencia de ácidos nucleicos específica, lo que da como resultado un conjunto de rasgos deseados que mejoran el proceso de floración.

- 65 El desafío del presente documento es inducir de manera eficiente mutaciones puntuales específicas, precisas y predecibles, fundamentales para el proceso de floración en la planta de Cannabis utilizando el sistema CRISPR/Cas9.

Un valor agregado significativo de la edición de genes es que no califica como modificación genética, por lo que la planta libre de transgén resultante no se considerará una planta/producto GMO, al menos en los EE.UU. Si bien la definición exacta y operativa de genéticamente modificado se debate y se disputa acaloradamente, en general se acepta y se acepta que la modificación genética se refiere a plantas y animales que han sido alterados de una manera que no habría surgido naturalmente a través de la evolución. El ejemplo más claro y obvio es un organismo transgénico cuyo genoma ahora incorpora un gen de otra especie insertado para otorgar un rasgo novedoso a ese organismo, como la resistencia a las plagas. La situación es diferente con CRISPR, ya que no está necesariamente integrado en el genoma de la planta, y se utiliza como una herramienta de edición de genes que permite mutar directamente el código genético del organismo. Por lo tanto, subsiste la necesidad insatisfecha desde hace mucho tiempo de proporcionar variedades de Cannabis con mayores rendimientos.

RESUMEN DE LA INVENCION

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es divulgar un método para aumentar el rendimiento en plantas de Cannabis seleccionadas del grupo que consiste en *C. sativa*, *C. indica*, y *C. ruderalis*, que comprende las etapas de;

- a) seleccionar un gen implicado en la rutas de floración de dicha especie Cannabis;
- b) sintetizar o diseñar un casete de expresión de ARNg (ARN guía) que corresponde a un locus de escisión dirigido a lo largo del genoma de Cannabis;
- c) transformar dichas células de planta de Cannabis para insertar material genético en las mismas;
- d) cultivar dichas células de planta de Cannabis;
- e) seleccionar dichas células de Cannabis que expresan mutaciones deseadas en la región objetivo de edición, y
- f) regenerar una planta a partir de dicha célula vegetal transformada, núcleo de célula vegetal, o tejido vegetal.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que el gen implicado en la rutas de floración de dicha especie Cannabis se selecciona del grupo que consiste en CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2; y que se detalla en el archivo titulado "seq.listing 2272-C-01-PCT". Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que los ARNg y su correspondiente motivo adyacente al protoespaciador (PAM) se seleccionan de un grupo que consiste en CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2 y que se detalla en el archivo titulado "seq.listing 2272-C-01-PCT". Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la secuencia de dominio objetivo se selecciona del grupo que comprende: 1) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsSFT1 (2) una secuencia de ácidos nucleicos que comprende la secuencia de CsSFT2, (3) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsSFT3, (4) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsSPGB (5) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsMultiflora (6) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsJumonji (7) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsBif1 (8) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido de CsBif2, (9) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsSFT1, (10) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsSFT2, (11) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsSFT3, (12) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsSPGB, (13) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsMultiflora, (14) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsJumonji, (15) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsBif1 (16) una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con al menos 200 nucleótidos contiguos de la secuencia de ácidos nucleicos de CsBif2.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la transformación se lleva a cabo utilizando Agrobacterium para suministrar un casete de expresión compuesto por a) un marcador de selección, b) una secuencia de nucleótidos que codifica una o más moléculas de ARNg que comprenden una secuencia de ADN que es complementaria con una secuencia de dominio objetivo seleccionada del grupo de genes pf compuesto de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2, y c) una secuencia de nucleótidos que codifica una molécula Cas de, pero no limitada a *Streptococcus pyogenes* o *Staphylococcus aureus*.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que el método comprende administrar una composición de ácido nucleico que comprende: a) una primera secuencia de

nucleótidos que codifica la molécula de ARNg y b) una segunda secuencia de nucleótidos que codifica la molécula Cas.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que el sistema CRISPR/Cas se suministra a la célula por un virus de planta.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la proteína Cas se selecciona de un grupo que comprende pero no se limita a Cpf1, Cas9, Cas12, Cas13, Cas14, CasX o CasY.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que aumentar el rendimiento de *Cannabis* que comprende las etapas de:

(a) introducir en una planta de *Cannabis* o una célula de la misma (i) al menos una endonucleasa guiada por ARN que comprende al menos una señal de localización nuclear o ácido nucleico que codifica al menos una endonucleasa guiada por ARN que comprende al menos una señal de localización nuclear, (ii) al menos un ARN o ADN guía que codifica al menos un ARN guía, y, opcionalmente, (iii) al menos un polinucleótido donante; y

(b) cultivar la planta de *Cannabis* o una célula de la misma de tal manera que cada ARN guía dirija una endonucleasa guiada por ARN hacia un sitio dirigido en la secuencia cromosómica donde la endonucleasa guiada por ARN introduce una ruptura de doble hebra en el sitio dirigido, y la ruptura de doble hebra se repara por un proceso de reparación de ADN de tal manera que se modifica la secuencia cromosómica, en la que el sitio dirigido se ubica en los genes CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2 y la modificación cromosómica interrumpe o interfiere con la transcripción y/o traducción de los genes CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la endonucleasa guiada por ARN se deriva a partir de un sistema de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente intercaladas (CRISPR)/CRISPR asociado (Cas).

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la introducción de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2 no inserta material genético exógeno ni produce una planta de *Cannabis* de origen no natural o una célula de la misma.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que aumentar el rendimiento de *Cannabis* comprende;

a) identificar al menos un locus dentro de una secuencia de ADN en una planta de *Cannabis* o una célula de la misma para CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 y CsBif2;

b) identificar al menos una secuencia de reconocimiento de endonucleasas personalizada dentro de al menos un locus de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 o CsBif2;

c) introducir en la planta de *Cannabis* o una célula de la misma al menos una primera endonucleasa personalizada, en la que la planta de *Cannabis* o una célula de la misma comprende la secuencia de reconocimiento para la endonucleasa personalizada en o próximo a los loci de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 o CsBif2, y la endonucleasa personalizada se expresa de forma transitoria o estable;

d) ensayar la planta de *Cannabis* o una célula de la misma para una modificación mediada por endonucleasa personalizada en el ADN que constituye o flanquea los loci de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 o CsBif2

e) identificar la planta de *Cannabis*, una célula de la misma, o una progenie de la misma que comprende una modificación en los loci de CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3, CsSPGB, CsMultiflora, CsJumonji, CsBif1 o CsBif2.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que aumentar dicho rendimiento de *Cannabis* se selecciona de un grupo que consiste en: aumentar el número de flores, aumentar el tamaño de las flores, aumentar el peso de las flores, aumentar el número de brotes, aumentar el tamaño de los brotes, aumentar el peso de los brotes y cualquier combinación de los mismos.

Es un objeto adicional de la presente invención divulgar un método para aumentar el rendimiento en plantas de *Cannabis* seleccionadas de un grupo que consiste en *C. sativa*, *C. indica*, y *C. ruderalis*, que comprende las etapas de;

a) seleccionar un gen implicado en la rutas de floración de dicha especie *Cannabis*;

b) extraer células de dichas plantas de *Cannabis*;

c) editar dichos genes implicados en la rutas de floración de dichas células;

d) cultivar dichas células;

- e) seleccionar dichas células que expresan mutaciones deseadas en la región objetivo de edición, y
- f) regenerar una planta de *Cannabis* de dicha célula, núcleo de célula vegetal, o tejido vegetal.

5 Es un objeto adicional de la presente invención divulgar el método como se definió anteriormente, en el que la edición se ejecuta por medios seleccionados de un grupo que consiste en: CRISPR/Cas, escindir el genoma de dicha célula utilizando nucleasas de dedos de zinc, escindir el genoma de dicha célula utilizando meganucleasas (endonucleasas autodirigidas), escindir el genoma de dicha célula utilizando nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALEN), y cualquier combinación de los mismos.

10 Por tanto, otro objeto de la presente invención es divulgar una planta de Cannabis producida mediante el método descrito anteriormente;

Por tanto, otro objeto de la presente invención es divulgar una semilla de Cannabis de la planta descrita anteriormente.

15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los dibujos acompañantes, que se incluyen para proporcionar una mayor comprensión de la invención y se incorporan y constituyen una parte de esta especificación, ilustran realizaciones de la invención y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la invención.

20 La **Fig. 1** es una representación del proceso de transformación de varios tejidos de *Cannabis* utilizando el gen indicador GUS;

25 La **Fig. 2** es una representación de tejido de hoja transformado cribado por PCR para la presencia de Cas9 dos semanas después de la transformación; y

La **Fig. 3** es una representación de la escisión de ADN específica in vivo por Cas9+ ARNg (complejo de proteína ribonucleoproteína, RNP).

30 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La siguiente descripción se proporciona, junto con todos los capítulos de la presente invención, para permitir que cualquier experto en la técnica haga uso de la invención y establezca los mejores modos contemplados por el inventor de llevar a cabo esta invención. Sin embargo, se adaptan diversas modificaciones para que sigan siendo evidentes para aquellos expertos en la técnica, ya que los principios genéricos de la presente invención se han definido específicamente para proporcionar un método para aumentar el rendimiento de flores en plantas de Cannabis.

Introducción a los términos y explicaciones utilizados en la divulgación de la presente invención:

40 La presente invención divulgada en el presente documento proporciona un método para producir una planta con mayor rendimiento en comparación con una planta de tipo silvestre correspondiente que comprende aumentar o generar una o más actividades en una planta o una parte de la misma. La presente invención proporciona células vegetales con rasgos potenciados o mejorados de una planta editada genéticamente, plantas que comprenden dichas células, progenie, semillas y polen derivados de dichas plantas, y métodos de elaboración y métodos de uso de dicha(s) célula(s) vegetal(es) o planta(s), progenie, semilla(s) o polen. En particular, dichos rasgo(s) mejorado(s) se manifiestan en un mayor rendimiento, preferiblemente al mejorar uno o más rasgos relacionados con el rendimiento: número de flores por planta, número de brotes de floración por planta, peso de las flores, rendimiento total de flores por m².

Heterosis y rendimiento de los cultivos

50 La heterosis (también conocida como vigor híbrido o mejora de la exogamia) define la función mejorada (o vigor) de un rasgo biológico en una descendencia híbrida. Una descendencia es heterótica si sus rasgos se mejoran como resultado de la mezcla (mendeliana o no) de las contribuciones genéticas de sus padres. En el mejoramiento de cultivos, este tipo de exogamia ha llegado a significar en general una planta de mayor rendimiento y más robusta bajo condiciones de cultivo (pero no necesariamente en la naturaleza). Se han propuesto dos hipótesis no excluyentes pero que compiten entre sí para explicar esta tendencia de cepas no consanguíneas para superar a ambos padres consanguíneos en idoneidad. De acuerdo con la hipótesis de dominancia, el vigor mejorado proviene de la supresión de alelos recesivos indeseables de uno de los padres por los alelos dominantes del otro. La dominancia asume la complementación, es decir, que cruzar dos cepas de una planta, portadoras de diferentes mutaciones recesivas homocigotas que producen el mismo fenotipo mutante, producirá descendencia con el fenotipo de tipo silvestre. Esto ocurrirá solo si las mutaciones están en genes diferentes, de modo que el genoma de la cepa complemente el alelo mutado de una cepa con un alelo de tipo silvestre de la otra (ya que las mutaciones son recesivas).

65 De acuerdo con la hipótesis de sobredominio, ciertas combinaciones de alelos que se pueden obtener al cruzar dos cepas consanguíneas son ventajosas en el heterocigoto. Por tanto, un heterocigoto proporciona una ventaja para la supervivencia de alelos deletéreos en homocigotos y la alta idoneidad de los genotipos heterocigotos favorece la persistencia de un polimorfismo alélico en la población. El modelo de sobredominio establece que las interacciones

alélicas intralocus en uno o más genes heterocigotos conducen a un mayor vigor. Teóricamente, la sobredominancia requiere solo un gen heterocigoto para lograr la heterosis.

Bajo dominancia, pocos genes deberían estar infraexpresados en la descendencia heterocigótica en comparación con los padres. Adicionalmente, para cualquier gen dado, la expresión debería ser comparable a la observada en el más apto de los dos padres. Sin embargo, bajo sobredominio, debería haber una sobreexpresión de ciertos genes en la descendencia heterocigótica en comparación con los padres homocigotos.

Krieger et al. (2010) fueron los primeros en documentar un ejemplo de sobredominio en un locus de rendimiento y sugirieron que mutaciones heterocigotas únicas pueden mejorar la productividad de los cultivos. Los autores informan una heterocigosidad robusta, bajo diversas condiciones ambientales, para el gen SFT (celosía de una sola flor) del tomate (el creador genético de la hormona de la floración florigen), que aumentó el rendimiento en ~60%. Florigen es una señal sistémica para la transición a la floración en las plantas. Florigen se produce en las hojas y actúa en el meristemo apical del brote de las yemas y puntas de crecimiento. Es transmisible por injerto e incluso funciona entre especies. La ruta de la cascada del florigeno se inicia mediante la producción de un factor de transcripción codificante de ARNm CONSTANS (CO). El ARNm de CO se produce aproximadamente 12 horas después del amanecer y luego se traduce en proteína CO. La proteína CO es estable solo a la luz y promueve la transcripción de otro gen llamado Flowering Locus T (FT). Por lo tanto, FT solo se puede producir en días largos. A continuación, FT se transporta a través del floema al meristemo apical del brote. Allí, FT interactúa con un factor de transcripción (proteína FD) para activar genes de identidad floral e inducir la floración. Los autores concluyeron que varios rasgos se integran pleiotrópicamente para impulsar la heterosis de manera multiplicativa, y que estos efectos se derivan de una supresión de la terminación del crecimiento mediada por el gen SP (autopoda), un antagonista de SFT.

Los genes de autopoda (SP) son parálogos de Florigen y represores de la floración que controlan la regularidad del cambio vegetativo-reproductivo durante el crecimiento simpodial a lo largo del brote compuesto de tomate y, por lo tanto, condicionan los hábitos de crecimiento 'determinado' (sp/sp) e 'indeterminado' (SP) de la planta. En las plantas 'indeterminadas' de tipo silvestre, las inflorescencias están separadas por tres nodos vegetativos. En plantas 'determinadas' homocigotas para el alelo recesivo del gen autopoda (SP), por dos inflorescencias consecutivas. SP es un regulador de desarrollo homólogo al gen T (FT) del locus de floración en Arabidopsis. SP es una familia de genes del tomate compuesta por al menos seis genes. La caja G (CACGTG) es un elemento regulador de ADN ubicuo que actúa en cis que se encuentra en los genomas de las plantas. Los factores de la caja G (GBF) se unen a las cajas G de una manera específica del contexto, mediando una amplia variedad de patrones de expresión génica. Se ha demostrado que SPGB (caja G de autopoda) interactúa con la proteína SP del tomate y la proteína SFT.

Las proteínas Jmonji-C (JmjC) desempeñan una función importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas, particularmente en la regulación del reloj circadiano y la duración del período. Los primeros genes JmjC de la planta caracterizados estaban involucrados en la cascada de floración, ya sea como activadores florales o represores.

El racimo de flores bifurcadas (bif) es un gen de tomate mutante que conduce a un aumento significativo en el número de ramas por racimo y número de flores. Bif muestra una interacción significativa con la exposición a bajas temperaturas durante el desarrollo del racimo.

Edición de genes

La reproducción por mutaciones se refiere a una serie de técnicas diseñadas para inducir rápida y eficazmente los rasgos deseados o no deseados mediante mutaciones artificiales en un organismo objetivo. La edición de genes es una herramienta de reproducción de mutaciones que ofrece ventajas significativas sobre la modificación genética. La modificación genética es una tecnología molecular que implica la inserción de una secuencia de ADN de interés, que codifica un rasgo deseable, en el genoma de un organismo. La edición de genes es una herramienta de reproducción de mutaciones que permite la modificación precisa del genoma. Funciona cuando las tijeras moleculares (un complejo de proteínas de la familia Cas) se dirigen con precisión hacia un locus exacto del genoma utilizando un ARN guía y luego se hace una incisión en el genoma en ese sitio.

Una ventaja de utilizar el sistema CRISPR/Cas sobre la modificación genética es que las proteínas de la familia Cas se programan fácilmente para elaborar una ruptura de doble hebra de ADN (DSB) en cualquier locus deseable. El corte inicial va seguido de la reparación de los DSB cromosómicos. Existen dos rutas principales de reparación celular en ese sentido: unión de extremos no homólogos (NHEJ) y reparación dirigida por homología (HDR). Esta invención se refiere a NHEJ que es activo durante todo el ciclo celular y tiene una mayor capacidad de reparación, ya que no se requiere una plantilla de reparación (cromátida hermana u homóloga) o síntesis extensa de ADN. NHEJ también finaliza la reparación de la mayoría de los tipos de rupturas en decenas de minutos, un orden de magnitud más rápido que HDR. La reparación de DSB mediada por NHEJ es útil si la intención es elaborar un alelo nulo (inactivado) en un gen de interés, ya que es propenso a generar errores de indel. Los errores de Indel generados en el curso de la reparación por NHEJ son normalmente pequeños (1-10 pb) pero extremadamente heterogéneos. En consecuencia, existe una probabilidad de alrededor de dos tercios de causar una mutación de cambio de marco. De cierta importancia, la supresión puede ser menos heterogénea cuando está limitada por las identidades de secuencia en la secuencia flanqueante (microhomologías).

Adicionalmente, no existe ADN extraño en la planta después de la selección para las plantas que contienen el evento de edición deseado y no llevan la maquinaria CRISPR/Cas. Esta importante ventaja ha permitido que muchos (aunque no todos) los sistemas legales de todo el mundo consideren que la edición de genes es libre de GMO.

Recientemente se han realizado avances significativos en un intento de apuntar y escindir el ADN genómico de manera más eficiente mediante nucleasas específicas de sitio [por ejemplo, nucleasas de dedos de zinc (ZFN), meganucleasas, nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALENs)]. Más recientemente, se han introducido endonucleasas guiadas por ARN (RGEN) y son dirigidas a sus sitios objetivo por una molécula de ARN complementaria. Estos sistemas tienen un dominio de unión al ADN que localiza la nucleasa en un sitio objetivo. Luego, la nucleasa corta el sitio. Estos sistemas se utilizan para inducir mutagénesis dirigida, inducir supresiones dirigidas de secuencias de ADN celular y facilitar la recombinación dirigida de un polinucleótido de ADN de donante exógeno dentro de un locus genómico predeterminado. El más notable y exitoso de los RGEN son las Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas Regularmente Intercaladas /nucleasa asociada a CRISPR (CRISPR/Cas) con un ARNcr/ARN tracr diseñado por ingeniería. CRISPR/Cas9 son cognados que se encuentran cada uno en el ADN objetivo.

El sistema CRISPR-Cas9 se ha convertido rápidamente en una herramienta de elección en la edición de genes porque es más rápido, más barato, más preciso y más eficiente que otros RGEN disponibles. Este sistema fue adaptado de un sistema de edición del genoma de origen natural en bacterias diseñado para producir resistencia viral, de modo que las bacterias capturan fragmentos de ADN de los virus invasores y los utilizan para crear segmentos de ADN conocidos como matrices CRISPR. Las matrices CRISPR permiten que las bacterias “recuerden” los virus (o los relacionados estrechamente). Si los virus atacan de nuevo, las bacterias producen segmentos de ARN a partir de las matrices CRISPR para atacar el ADN de los virus. Luego, las bacterias utilizan Cas9 o una enzima similar para cortar el ADN, lo que desactiva el virus. En condiciones de laboratorio, los científicos crean una pequeña pieza de ARN con una secuencia “guía” corta (ARNg) que se une a una secuencia objetivo específica de ADN en un genoma. El ARN también se une a la enzima Cas9. Al igual que en las bacterias, el ARN modificado se utiliza para reconocer la secuencia de ADN y la enzima Cas9 corta el ADN en la ubicación dirigida. Aunque Cas9 es la enzima que se utiliza con más frecuencia, también se pueden utilizar otras enzimas (por ejemplo, Cpf1). Una vez que se corta el ADN, la propia maquinaria de reparación del ADN de la célula agrega o elimina fragmentos de material genético que resultan en una mutación.

Complejo de proteína ribonucleoproteína (RNP)

El complejo de proteína ribonucleoproteína se forma cuando una proteína Cas se incuba con moléculas de ARNg y luego se transforma en células para inducir eventos de edición en la célula. Los RNP se pueden suministrar utilizando biolística.

Biolística

La biolística es un método para el suministro de ácido nucleico o proteínas a las células mediante bombardeo con partículas a alta velocidad. La técnica utiliza una pistola presurizada (pistola de genes) para impulsar a la fuerza una carga útil compuesta por una partícula elemental de un metal pesado recubierto con ADN plasmídico para transformar los orgánulos celulares de las plantas. Una vez que se ha suministrado el vector portador de ADN, el ADN se utiliza como plantilla para la transcripción y, a veces, se integra en un cromosoma vegetal (transformación “estable”). Si el vector también suministró un marcador seleccionable, entonces se pueden seleccionar y cultivar células transformadas de manera estable. Las plantas transformadas se pueden volver totipotentes e incluso mostrar fenotipos nuevos y hereditarios.

El diseño del vector biolístico de estructura principal incluye no solo el gen deseado que se insertará en la célula, sino también las secuencias promotoras y terminadoras, así como un gen indicador utilizado para permitir la detección y eliminación subsiguientes de las células que no lograron incorporar el ADN exógeno. Además del ADN, el uso de una proteína Cas9 y una molécula de ARNg se podría utilizar para el suministro biolístico. La ventaja de utilizar una proteína y una molécula de ARN es que el complejo inicia la edición al alcanzar el núcleo celular: cuando se utiliza ADN para editar, el ADN primero se debe transcribir en el núcleo, pero cuando se utiliza ARN para editar, el ARN ya se traduce en el citoplasma. Esto obliga a la proteína Cas a regresar al núcleo, encontrar las guías relevantes y solo entonces se puede lograr la edición.

Como se utiliza en el presente documento, el término “**CRISPR**” se refiere a un acrónimo que significa Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas Regularmente Intercaladas de secuencias de ADN. CRISPR es una serie de secuencias de ADN repetidas con secuencias de ADN únicas entre las repeticiones. El ARN transcrito de las hebras únicas de ADN sirve como guía para dirigir la escisión. CRISPR se utiliza como herramienta de edición de genes. En una realización, CRISPR se utiliza junto con (pero sin limitarse a) Cpf1, Cas9, Cas12, Cas13, Cas14, CasX o CasY.

Como se utiliza en el presente documento, el término “**transformación**” se refiere a la inserción deliberada de material genético en células vegetales. En una realización, la transformación se ejecuta utilizando, pero sin limitarse a, bacterias y/o virus. En otra realización, la transformación se ejecuta mediante biolística utilizando, pero sin limitarse a, ADN o

RNP.

Como se utiliza en el presente documento, el término “**Cas**” se refiere a proteínas asociadas a CRISPR que actúan como enzimas que cortan el genoma en secuencias específicas. Cas9 se refiere a un grupo específico de proteínas conocidas en la técnica. Las moléculas de ARN dirigen varias clases de enzimas Cas para cortar una determinada secuencia que se encuentra en el genoma. En una realización, el sistema CRISPR/Cas9 escinde una o dos hebras cromosómicas en una secuencia de ADN conocida. En una realización, se muta una de las dos hebras cromosómicas. En una realización, se mutan dos de las dos hebras cromosómicas.

Como se utiliza en el presente documento, el término “**hebra cromosómica**” se refiere a una secuencia de ADN dentro del cromosoma. Cuando el sistema CRISPR/Cas9 escinde las hebras cromosómicas, las hebras se cortan dejando la posibilidad de que una o dos hebras muten, ya sea la hebra plantilla o la hebra codificante.

Como se utiliza en el presente documento, el término “**PAM**” (motivo adyacente al protoespaciador) se refiere a un componente dirigido del casete de expresión de transformación que es una secuencia de ADN muy corta (2-6 pares de bases) inmediatamente después de la secuencia de ADN dirigida por la nucleasa Cas9 en el Sistema CRISPR.

Dentro del contexto de esta divulgación, otros ejemplos de enzimas endonucleasas incluyen, pero no se limitan a, Cpf1, Cas9, Cas12, Cas13, Cas14, CasX o CasY.

La invención se caracteriza por una pluralidad de realizaciones en las que los ARNg dirigen el sistema CRISPR/Cas para escindir hebras cromosómicas que codifican varios genes (CsBif1, CsBif2, CsJumonji, CsMultiflora, CsSFT1, CsSFT2, CsSFT3 y CsSPGB). Las secuencias genómicas completas de estos diversos genes están todas documentadas en el archivo de listado de secuencias, enumeradas como las SEQ ID NOS: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:390, SEQ ID NO:727, SEQ ID NO:937, SEQ ID NO:1016, SEQ ID NO:1107 y SEQ ID NO:1336.

En otra realización de la presente invención, las secuencias codificantes (CDS) de los genes anteriores están todas documentadas en el archivo de listado de secuencias, enumeradas como las SEQ ID NOS: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:391, SEQ ID NO:728, SEQ ID NO:938, SEQ ID NO:1017, SEQ ID NO:1108 y SEQ ID NO:1337.

En aún otra realización de la presente invención, las secuencias de aminoácidos (AA) de las proteínas traducidas de los genes anteriores están todas documentadas en el archivo de listado de secuencias, enumeradas como las SEQ ID NOS: SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:392, SEQ ID NO:729, SEQ ID NO:939, SEQ ID NO:1018, SEQ ID NO:1109 y SEQ ID NO:1338.

La invención se caracteriza adicionalmente por una pluralidad de realizaciones en las que los ARNg de una secuencia dada se emparejan con PAM complementarios específicos. Estos ARNg están todos documentados en su totalidad en las Tablas 1-8, y en el archivo de listado de secuencias enumeradas como las SEQ ID NOS: SEQ ID NOS:4 – 170 (para CsBif1), SEQ ID NOS:174 -389 (para CsBif2), SEQ ID NOS:393 -726 (para CsJumonji), SEQ ID NOS: 730 -936 (para CsMultiflora), SEQ ID NOS: 940 -1015 (para CsSFT1), SEQ ID NOS: 1019 -1106 (para CsSFT2), SEQ ID NOS: 1110 -1335 (para CsSFT3) y SEQ ID NOS: 1339 -1501 (para Cs SPGB).

Ejemplo 1: Un esquema generalizado del proceso de generación de plantas editadas con genoma

Ahora se hace referencia a las **Fig. 1-3** que divulgan el proceso de generación de plantas de Cannabis editadas con genoma. Varios tejidos de *Cannabis sativa* ([A] Brotes auxiliares; [B] Hoja madura; [C] Callos; [D] Cotiledones, como se representa en la **Fig. 1**) se transformaron utilizando el gen indicador GUS (β -glucuronidasa). Para lograr una transformación exitosa, se utilizó el siguiente protocolo:

1. Diseño y síntesis de los ARNg correspondientes a una secuencia dirigida a la edición. El evento de edición se debe diseñar flanqueando una secuencia de sitio de restricción única para permitir un cribado más fácil de una edición exitosa.
2. Transformación utilizando Agrobacterium o biolística. Para Agrobacterium y biolística utilizando un plásmido de ADN, construya un vector que contenga un marcador de selección, gen Cas9 y ARNg relevantes. Para la biolística que utiliza complejos de ribonucleoproteína (RNP), cree complejos de RNP al mezclar la proteína Cas9 con los ARNg relevantes.
3. Regeneración en cultivo de tejidos. Al transformar el ADN, utilice antibióticos para la selección de transformantes positivos.
4. Selección de transformantes positivos. Una vez que las plantas regeneradas aparecen en el cultivo de tejidos, se toman muestras de la hoja, se extrae el ADN y se preforma la PCR utilizando cebadores que flanquean la región de edición. Se digieren los productos de PCR con enzimas que reconocen el sitio de restricción cerca de la secuencia de ARNg original. Si se produjo un evento de edición, el sitio de restricción se interrumpirá y el producto de PCR no se escindirán. Ningún evento de edición dará como resultado un producto de PCR escindido.

La **Fig. 2** representa el tejido foliar transformado cribado para detectar la presencia del gen Cas9! dos semanas después de la transformación. Los productos de PCR del gen Cas9 se amplificaron a partir de cuatro plantas transformadas dos semanas después de la transformación.

La **Fig. 3** representa la escisión de ADN específica in vivo por Cas9+ ARNg (RNP). La Fig, representa un gel que muestra una digestión satisfactoria del amplicón de PCR resultante que contiene una secuencia de ARNg específica, mediante un complejo de ribonucleoproteína (RNP) que contiene Cas9. El análisis incluyó las siguientes etapas:

- 1) Se aisló el amplicón de dos cepas de Cannabis ejemplificadas mediante cebadores que flanqueaban la secuencia del gen de interés dirigido por el ARNg prediseñado.
- 2) Se incubó el complejo RNP con el amplicón aislado.
- 3) Luego se cargó la mezcla de reacción en gel de agarosa para evaluar la actividad de escisión de Cas9 en el sitio objetivo.

Leyenda de la Fig. 3: (1) Producto de PCR (sin digestión de ADN) de la muestra 1; (2) Producto de PCR de la muestra 1 + RNP (ADN digerido); (3) Producto de PCR (sin digestión de ADN) de la muestra 2; (4): Producto de PCR de la muestra 2 + RNP (ADN digerido); (M) marcador.

Ejemplo 2: Secuencias de ARNg para genes de Cannabis sativa divulgadas en la solicitud actual

Ahora se hace referencia a las siguientes tablas que presentan ejemplos no vinculantes de secuencias de ARNg de los genes de Cannabis sativa divulgados en esta solicitud, y su posición, hebra y PAM (motivo adyacente al protoespaciador) respectivos.

Tabla 1: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsBif1 (mencionadas como SEQ ID NO: 4 - 170 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
14	-1	CACATTACATAATAAAATTA	AGG
89	1	ATGTCTTATATAAAGACTTC	AGG
161	-1	TTTTTGTGATAAAACTCTTC	TGG
202	-1	TATATATATTTTTCAATTGA	GGG
203	-1	TTATATATATTTTTCAATTG	AGG
269	1	TTAGAAAATAAAAAAATTTA	AGG
380	-1	ATTTTATGTATTTTATGTA	TGG
451	1	GATATTACATCTACAAATAG	TGG
477	1	GATCAGATCAACGATTAGTA	AGG
499	1	GCGTTGACTATCCTTATCAC	AGG
499	-1	TTTTTCTTTGACCTGTGATA	AGG
526	-1	GAAGAAGAAAGAAGAATTAT	AGG
577	-1	TAGTGTTTTGATTCATTAGG	TGG
580	-1	TAGTAGTGTTTTGATTCATT	AGG
599	1	ATCAAAACACTACTACAACA	AGG
684	1	TAAAAAGAGACTCGCATGAG	TGG
718	-1	TTTGCTTATTATAAGGAGGA	GGG
719	-1	CTTTGCTTATTATAAGGAGG	AGG
722	-1	TTCCTTTGCTTATTATAAGG	AGG
725	-1	CATTTCTTTGCTTATTATA	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
731	1	CTCCTCCTTATAATAAGCAA	AGG
737	1	CTTATAATAAGCAAAGGAAA	TGG

777	1	TATTATTATTAAGCATACTG	AGG
799	1	GATTGAGTGCTATAGCCTCC	TGG
803	-1	GAAAGATATGATCTACCAGG	AGG
806	-1	AATGAAAGATATGATCTACC	AGG
834	1	TTCATTTGTTCTTCTGTCAA	AGG
861	1	TGTTCGAATTCGAAAGAGAA	AGG
876	1	GAGAAAGGATTTGAGCACAC	TGG
895	1	CTGGTTCATCAGCAACATCA	TGG
911	1	ATCATGGAGTCTTGTCAAAT	AGG
912	1	TCATGGAGTCTTGTCAAATA	GGG
963	-1	TCAGTGCCTAACTAACTTGG	GGG
964	-1	ATCAGTGCCTAACTAACTTG	GGG
965	-1	TATCAGTGCCTAACTAACTT	GGG
966	-1	ATATCAGTGCCTAACTAACT	TGG
968	1	AAAGTTCCCCCAAGTTAGTT	AGG
989	1	GGCACTGATATCTGAATCAA	AGG
1005	1	TCAAAGGAGAATGCAAAGAC	AGG
1072	-1	GATCCAAATAGAAGAATTAC	TGG
1080	1	TTACCAAGTAATTCTTCTATT	TGG
1108	1	ATGTCAACATTTTCTCAATG	AGG
1115	1	CATTTTCTCAATGAGGTCTA	TGG
1122	1	TCAATGAGGTCTATGGCCAG	TGG
1127	-1	TTTCCCACATGTTTATCCAC	TGG
1134	1	ATGGCCAGTGGATGAACATG	TGG
1135	1	TGGCCAGTGGATGAACATGT	GGG
1151	-1	CCCTCGCCAACAGTTAGGCA	GGG
1152	-1	TCCCTCGCCAACAGTTAGGC	AGG
1156	1	GGAAAGCCCTGCCTAACTGT	TGG
1156	-1	TCGTTCCCTCGCCAACAGTT	AGG
1161	1	GCCCTGCCTAACTGTTGGCG	AGG
1162	1	CCCTGCCTAACTGTTGGCGA	GGG
1170	1	AACTGTTGGCGAGGGAACGA	AGG
1171	1	ACTGTTGGCGAGGGAACGAA	GGG
1188	-1	AAGATGCTAAAAGATACATA	CGG
1225	-1	ACACCAACAGAGTCAGATCT	CGG
1233	1	AAACCGAGATCTGACTCTGT	TGG
1249	-1	TTCTGTGTTTCTTAGCTGCT	AGG
1318	1	ATAACACGCAAGAACTTAGA	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1334	1	TAGATGGTAAAAATAAACAA	AGG
1352	1	AAAGGAAAGCTGTATCTAAT	TGG
1353	1	AAGGAAAGCTGTATCTAATT	GGG
1373	-1	TAAAAGAACTTTTGGAAGT	TGG
1381	-1	TTTAATGCTAAAAGAACTTT	TGG

1406	1	AGCATTAAATGAAGAAAAAT	TGG
1415	1	TGAAGAAAAATTGGCAAAGA	TGG
1421	1	AAAATTGGCAAAGATGGAAA	AGG
1441	1	AGGTCTCAATAGTTGAAATT	TGG
1510	-1	TGCGCTTATTGACAGAGGTA	AGG
1515	-1	TCAGATGCGCTTATTGACAG	AGG
1546	1	TGATGAACATGATCTTTGCC	TGG
1553	-1	AATAGGAAGCCTTTGTTTCC	AGG
1555	1	TGATCTTTGCCTGGAAACAA	AGG
1570	-1	TCTTTATGGAGCTTATGAAT	AGG
1584	-1	GTCTGTTGGTTGCATCTTTA	TGG
1598	-1	TCAATAGATGTGTGGTCTGT	TGG
1606	-1	ATACTGCTTCAATAGATGTG	TGG
1645	1	GAAGAGTTCAACAACAACCTC	AGG
1659	-1	TGTTGTCACCAGATGGTACA	GGG
1660	-1	ATGTTGTCACCAGATGGTAC	AGG
1662	1	CTCAGGAGCCCTGTACCATC	TGG
1666	-1	CTGAGTATGTTGTCACCAGA	TGG
1698	1	AGTCATATACTCATTTTCCG	CGG
1701	1	CATATACTCATTTTCCGCGG	TGG
1702	1	ATATACTCATTTTCCGCGGT	GGG
1704	-1	TGGTCTTGCTCGTCCCACCG	CGG
1724	-1	GATCTTAAAATATGTGATTT	TGG
1757	1	CACAATTCGCATTAAGCAAA	AGG
1764	1	CGCATTAAGCAAAAGGTTGC	TGG
1765	1	GCATTAAGCAAAAGGTTGCT	GGG
1785	-1	TTCTGCTAATGTTATACACA	GGG
1786	-1	ATTCTGCTAATGTTATACAC	AGG
1822	-1	TCTTGTAACAGATTCTTCGA	GGG
1823	-1	TTCTTGTAACAGATTCTTCG	AGG
1826	1	ACTTCAACCCTCGAAGAATC	TGG
1890	-1	AACTTAATTCTAGCTTTTCA	AGG
1903	1	TTGAAAAGCTAGAATTAAGT	TGG
1915	-1	GTCTTTGTTTATTGACTTCA	TGG
1949	-1	TTTATCAGAGGAGCATTGTC	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1961	-1	TTCAAATCAAGGTTTATCAG	AGG
1972	-1	CAAATTATTCGTTCAAATCA	AGG
1984	1	CTTGATTTGAACGAATAATT	TGG
2009	-1	CTACATTGCTACTGAGCTCA	TGG
2046	1	TCAGTAAATTCTCGCCGCAA	AGG
2049	1	GTAAATTCTCGCCGCAAAGG	TGG
2049	-1	ATGTGATTCCACCACCTTTG	CGG
2052	1	AATTCTCGCCGCAAAGGTGG	TGG

2072	-1	ACTACAGATTGTAGCTATAA	GGG
2073	-1	TACTACAGATTGTAGCTATA	AGG
2111	-1	TTTTGTTGATTATATATAAA	TGG
2139	-1	TATAGGGTACATAAAAAGTCA	AGG
2155	-1	TATCTATTCTATACAATATA	GGG
2156	-1	ATATCTATTCTATACAATAT	AGG
2180	-1	ATGTTTTCTTTTTCAATTAAT	TGG
2246	-1	GTACAAAATGAATTTATAAA	TGG
2275	1	TGTACAGAGTCAATGTAAAT	TGG
2293	-1	ATTGATGATTTGGGTAAATT	AGG
2302	-1	GTATTTTTAATTGATGATTT	GGG
2303	-1	AGTATTTTTAATTGATGATT	TGG
2347	-1	TGTGCCTAATTTTCTGTTTT	TGG
2354	1	ATCACCAAAAACAGAAAATT	AGG
2440	-1	GATTAAGCTTCTTCGTCATT	TGG
2464	-1	GGATGCCAAACGCACGCTTC	GGG
2465	-1	TGGATGCCAAACGCACGCTT	CGG
2470	1	AATCTCCCGAAGCGTGCGTT	TGG
2485	-1	TAACGCCTTTGATAATCATA	TGG
2491	1	GGCATCCATATGATTATCAA	AGG
2527	-1	GAATTCGGAGACGAATGAGA	TGG
2542	-1	TTACAGCTCGGTTTTGAATT	CGG
2554	-1	TTTGTTTTTGAATTACAGCT	CGG
2592	-1	GATTTTGATTGCTACTTTT	CGG
2639	-1	GAGGAGCTTATGGTATCGTT	TGG
2649	-1	CCTATTGGTAGAGGAGCTTA	TGG
2658	-1	CCGATTATGCCTATTGGTAG	AGG
2660	1	CCATAAGCTCCTCTACCAAT	AGG
2664	-1	CGACCTCCGATTATGCCTAT	TGG
2669	1	CCTCTACCAATAGGCATAAT	CGG
2672	1	CTACCAATAGGCATAATCGG	AGG
2683	1	CATAATCGGAGGTCGATACT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2715	-1	TACATTCAGTACAACATATT	TGG
2739	1	ACTGAATGTACTGACCTCCA	TGG
2740	1	CTGAATGTACTGACCTCCAT	GGG
2742	-1	CCCGCGATTCTTCCCATGG	AGG
2744	1	ATGTACTGACCTCCATGGGA	AGG
2745	-1	TTTCCCGCGATTCTTCCCA	TGG
2752	1	ACCTCCATGGGAAGGAATCG	CGG
2753	1	CCTCCATGGGAAGGAATCGC	GGG
2770	-1	CGGAGGAGGACCTCAGTACA	CGG
2771	1	GCGGGAAAATCCGTGTACTG	AGG
2782	1	CGTGTACTGAGGTCCTCTC	CGG

2784	-1	GCCGCTCCCGGAGCCGGAGG	AGG
2787	-1	GCCGCCGCTCCCGGAGCCGG	AGG
2788	1	CTGAGGTCTCTCCCGGCTC	CGG
2789	1	TGAGGTCTCTCCCGGCTCC	GGG
2790	-1	GGTGCCGCCGCTCCCGGAGC	CGG
2794	1	TCCTCCTCCGGCTCCGGGAG	CGG
2796	-1	CTTCCCGGTGCCGCCGCTCC	CGG
2797	1	TCCTCCGGCTCCGGGAGCGG	CGG
2803	1	GGCTCCGGGAGCGGCGGCAC	CGG
2804	1	GCTCCGGGAGCGGCGGCACC	GGG
2811	-1	GCCACTCATAACAATCTTCC	CGG
2821	1	ACCGGGAAGATTGTTATGAG	TGG
2839	-1	AGAGAAGAGAACTTCAATA	TGG
2967	-1	TGGTTTAAAAGTCTTGTCTT	TGG
2987	-1	ATTTTGTGTTGATTGAAATT	TGG
3056	1	TTATTATTATTATTATTATG	AGG

Tabla 2: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsBif2 (mencionadas como las SEQ ID NO:174 – 389 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
8	-1	AAATTAAATGAAAAAGTTTT	AGG
113	1	AATATTATCGAATATTTTTT	TGG
221	1	ATATTGATAAAAAGAATATA	TGG
238	1	ATATGGAAACGATCCTTGAA	AGG
239	1	TATGGAAACGATCCTTGAAA	GGG
240	-1	TTTTATATTACACCCTTCA	AGG
311	-1	TGTGTGGATTTTTCTTGAAT	TGG

5

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
327	-1	TTGTAAATTGTAATGATGTG	TGG
353	-1	GGTGCTCATATTTGACTCT	TGG
374	-1	GGGTGTAATTATTAATTTGT	GGG
375	-1	TGGGTGTAATTATTAATTTG	TGG
394	-1	GATTGGTTTAAAAGATATTT	GGG
395	-1	TGATTGGTTTAAAAGATATT	TGG
411	-1	CTAATTTAAGTAAATGTGAT	TGG
475	1	AAAATTAATTAATTAATTAA	TGG
476	1	AAATTAATTAATTAATTAAT	GGG
525	-1	TTTTATTGTTGTTGTTATTT	TGG
575	-1	CCAAAGGAGTGTAATAAATT	TGG
586	1	CCAAATTTATTACACTCCTT	TGG
591	-1	TTCTTTGAAGAAGAACCAA	AGG
600	1	CTCCTTTGGTTCTTCTTCAA	AGG
623	-1	TGTTATGTAGTTTTATTTTG	AGG
681	1	AGATATAGTCTCATAATTAT	AGG
716	-1	GCAACCATGGTTATCTTGTA	AGG

723	1	TACACCTTACAAGATAACCA	TGG
729	-1	TTTGCATTGCATAGCAACCA	TGG
764	-1	TTGGTTTTTAACAACCTACTT	TGG
783	-1	TGATTCTGCATTCAAAGATT	TGG
797	1	AATCTTTGAATGCAGAATCA	TGG
877	1	TATAGTAGATAGATAGTACT	AGG
878	1	ATAGTAGATAGATAGTACTA	GGG
887	1	AGATAGTACTAGGGTACTGC	TGG
901	-1	TGACTTAAATTGAGAGCTTT	TGG
926	1	TTTAAGTCAAGAAAAAGAAA	AGG
954	1	TTTTTTTTTTAATGAAAGAG	AGG
1001	1	CTATTGACAGAAGCAGCTTC	AGG
1005	1	TGACAGAAGCAGCTTCAGGA	TGG
1034	-1	CAATGATAAGGGAAATGATG	TGG
1045	-1	TTTGATGGAACCAATGATAA	GGG
1046	1	CACATCATTTCCCTTATCAT	TGG
1046	-1	ATTTGATGGAACCAATGATA	AGG
1060	-1	TGATATAGATGAGAATTTGA	TGG
1074	1	TCAAATTCTCATCTATATCA	AGG
1082	1	TCATCTATATCAAGGCTGAT	TGG
1089	1	TATCAAGGCTGATTGGTACC	TGG
1090	1	ATCAAGGCTGATTGGTACCT	GGG
1094	1	AGGCTGATTGGTACCTGGGC	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1096	-1	GAGACGAAACCCTCCTGCCC	AGG
1097	1	CTGATTGGTACCTGGGCAGG	AGG
1098	1	TGATTGGTACCTGGGCAGGA	GGG
1131	-1	CTTCAACACCCTTACATGTC	AGG
1133	1	TCGTATAGTCCTGACATGTA	AGG
1134	1	CGTATAGTCCTGACATGTAA	GGG
1172	1	GTAACAGTGATCCTCTTTGT	TGG
1172	-1	TTGTGTTTGATCCAACAAAG	AGG
1214	1	TCTAGCAAATCTATTGCTAA	TGG
1224	1	CTATTGCTAATGGATCAGCA	TGG
1225	1	TATTGCTAATGGATCAGCAT	GGG
1226	1	ATTGCTAATGGATCAGCATG	GGG
1237	1	ATCAGCATGGGGATATAGCC	TGG
1244	-1	CTAGGGGGACACATTTTCC	AGG
1259	-1	AATCCCTGCCTTATTCTAGG	GGG
1260	-1	AAATCCCTGCCTTATTCTAG	GGG
1261	-1	AAAATCCCTGCCTTATTCTA	GGG
1262	1	AAATGTGTCCCCCTAGAATA	AGG
1262	-1	TAAAATCCCTGCCTTATTCT	AGG
1266	1	GTGTCCCCCTAGAATAAGGC	AGG

1267	1	TGTCCCCCTAGAATAAGGCA	GGG
1285	1	CAGGGATTTTATGAACTTTC	TGG
1292	1	TTTATGAACTTTCTGGCCTT	TGG
1297	-1	CGAGTTTATTGATAATCCAA	AGG
1326	1	ACTCGATATCTGTTTCACGC	TGG
1341	-1	AAACTAATCATCAATGTTCT	TGG
1359	1	CATTGATGATTAGTTTAAGC	TGG
1365	1	TGATTAGTTTAAGCTGGTTG	AGG
1378	1	CTGGTTGAGGCATTCAAGTTC	CGG
1379	1	TGGTTGAGGCATTCAAGTTC	GGG
1386	-1	GGTAGAAAACCAATCTTTCC	CGG
1388	1	CATTCAAGTTCGGGAAAGAT	TGG
1401	1	GAAAGATTGGTTTTCTACCA	AGG
1407	-1	TGCATATTTGCTGAAATCCT	TGG
1431	-1	TCCATTGATGTCTGGTCTGT	AGG
1439	-1	ATGGAACATCCATTGATGTC	TGG
1441	1	TCCTACAGACCAGACATCAA	TGG
1458	-1	CTTCTCTGTTGTGACAACTA	TGG
1477	1	GTCACAACAGAGAAGTAGCT	CGG
1478	1	TCACAACAGAGAAGTAGCTC	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1499	-1	CAGAATATGTTGTGACTCGC	TGG
1532	-1	CGAGAACCAGTAGAGGAAAT	GGG
1533	-1	GCGAGAACCAGTAGAGGAAA	TGG
1537	1	GAATTGCCCATTCTCTAC	TGG
1539	-1	GGTCTAGCGAGAACCAGTAG	AGG
1560	-1	GACCTAAAGATATGCGATTT	TGG
1569	1	GACCAAAATCGCATATCTTT	AGG
1590	1	GGTCACAATTAGCATTGACA	AGG
1593	1	CACAATTAGCATTGACAAGG	AGG
1600	1	AGCATTGACAAGGAGGTTCC	CGG
1601	1	GCATTGACAAGGAGGTTCCC	GGG
1607	-1	TTCACCGAGACTTGAAGCCC	GGG
1608	-1	CTTCACCGAGACTTGAAGCC	CGG
1614	1	GGTTCCCGGGCTTCAAGTCT	CGG
1658	-1	CTGTTGTGCAGTTGCTTCGC	GGG
1659	-1	ACTGTTGTGCAGTTGCTTCG	CGG
1690	1	AGTGAAACATTCATAAGTAA	TGG
1704	-1	CAGTGGATTGATGCAATTTT	CGG
1721	-1	CTTTTAAGTACTGTTTTTCA	TGG
1750	1	AAAAGAACTGTAAACACAC	AGG
1796	-1	CTGCAAATACTTTTTATTTT	AGG
1824	1	TTGCAGTGATCACTAGAAAG	CGG
1832	1	ATCACTAGAAAGCGGTTGTG	AGG

1849	1	GTGAGGACTTAATAATTTGA	TGG
1852	1	AGGACTTAATAATTTGATGG	AGG
1871	-1	TTATCTGGTTTATGAGCTCA	TGG
1886	-1	AACTTTCAAAGATGTTTATC	TGG
1911	1	TTGAAAGTTGCTCTATGAAT	AGG
1934	-1	TGAGAATGTGATTGCTTTAA	AGG
1968	-1	TGAGGGAGTTGAAGCTTCTT	AGG
1985	-1	AGATGCCCTGAGGACTCTGA	GGG
1986	-1	TAGATGCCCTGAGGACTCTG	AGG
1990	1	TCAACTCCCTCAGAGTCCTC	AGG
1991	1	CAACTCCCTCAGAGTCCTCA	GGG
1995	-1	AGAACCGCGTAGATGCCCTG	AGG
2002	1	GAGTCCTCAGGGCATCTACG	CGG
2063	-1	GGTGTGCTCGTCGATCAATA	GGG
2064	-1	TGGTGTGCTCGTCGATCAAT	AGG
2084	1	CGACGAGCACACCACGCCAT	AGG
2084	-1	AGGGAGAGGTGCCTATGGCG	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2089	-1	CCAATAGGGAGAGGTGCCTA	TGG
2098	-1	CCTATCAAACCAATAGGGAG	AGG
2100	1	CCATAGGCACCTCTCCCTAT	TGG
2103	-1	ATGTTCCCTATCAAACCAATA	GGG
2104	-1	TATGTTCCCTATCAAACCAAT	AGG
2109	1	CCTCTCCCTATTGGTTTGAT	AGG
2120	1	TGGTTTGATAGGAACATACT	TGG
2154	-1	GAAAGCATTACTACTCAATG	TGG
2176	-1	CCTAATGGAGTTAGGCAACA	AGG
2184	-1	TTGATCCCCCTAATGGAGTT	AGG
2187	1	CCTTGTTGCCTAACTCCATT	AGG
2188	1	CTTGTTGCCTAACTCCATTA	GGG
2189	1	TTGTTGCCTAACTCCATTAG	GGG
2190	1	TGTTGCCTAACTCCATTAGG	GGG
2191	-1	ACTTTGGTTGATCCCCCTAA	TGG
2207	-1	TGTAGGGAAAATGGCAACTT	TGG
2216	-1	TCGGTGATTTGTAGGGAAAA	TGG
2223	-1	ATTGATTTTCGGTGATTTGTA	GGG
2224	-1	GATTGATTTTCGGTGATTTGT	AGG
2235	-1	AAATGGGTGTTGATTGATTT	CGG
2251	-1	CTTGTGATTTAATCTTAAAT	GGG
2252	-1	TCTTGTGATTTAATCTTAAA	TGG
2346	-1	TTTTAACTCATTGTATAACT	GGG
2347	-1	GTTTTAACTCATTGTATAAC	TGG
2376	1	AAAATAAGAAAAAGTTAAG	AGG
2436	-1	AGAAGTAGAATTGGCAAGTA	AGG

2445	-1	TCATAACCCAGAAGTAGAAT	TGG
2449	1	TTACTTGCCAATTCTACTTC	TGG
2450	1	TACTTGCCAATTCTACTTCT	GGG
2472	1	GTTATGATCTTCTCCCTATA	AGG
2474	-1	GTGTAGAGAATAACCTTATA	GGG
2475	-1	AGTGTAGAGAATAACCTTAT	AGG
2505	-1	TTTACTATTTAAAAAAGAG	GGG
2506	-1	TTTTACTATTTAAAAAAGA	GGG
2507	-1	ATTTTACTATTTAAAAAAG	AGG
2531	-1	AGGGAAAAAGGCATAAAAGT	GGG
2532	-1	AAGGGAAAAAGGCATAAAAG	TGG
2543	-1	GAGAGAAGTCTAAGGGAAAA	AGG
2550	-1	AAGGAGAGAGAGAAGTCTAA	GGG
2551	-1	AAAGGAGAGAGAGAAGTCTA	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2569	-1	AAGTGAACAAAGTGAGGAAA	AGG
2575	-1	GGTCATAAGTGAACAAAGTG	AGG
2596	-1	GGATTAAGTATATGAGAGGA	TGG
2600	-1	AAGAGGATTAAGTATATGAG	AGG
2617	-1	TGAGAGGTTTTTTTAGGAAG	AGG
2623	-1	TGAATTTGAGAGGTTTTTTT	AGG
2633	-1	GTGTGTGAAGTGAATTTGAG	AGG
2673	-1	AAAAGATTGTTGTTTTGTTG	AGG
2696	-1	AAGGAGTTGTAAGAATCTAG	AGG
2715	-1	GAGAATAAGGAGAAGAATTA	AGG
2728	-1	TTGGCTTAATTTTGAGAATA	AGG
2747	-1	CAGAGTAAAAGTTTGATTCT	TGG
2772	-1	TTTTGAAGGAATCTTTTACT	TGG
2786	-1	TTGCTTGTTTTGTTTTTGA	AGG
2801	-1	TTGGAAGATGGGTTTTGCT	TGG
2811	-1	AGCTTTATTTTGGAAAGAT	GGG
2812	-1	GAGCTTTATTTTGGAAAGA	TGG
2820	-1	AAAGTACTGAGCTTTATTTT	TGG
2845	-1	TTTCTTTTCTTTTAATTGGA	GGG
2846	-1	TTTTCTTTCTTTTAATTGG	AGG
2849	-1	ATTTTTCTTTTCTTTTAAT	TGG
2886	1	TTTTTGAGAAACCCCAAAA	AGG
2887	1	TTTTGCAGAAACCCCAAAA	GGG
2887	-1	TCTTTCTTTTCCCTTTTTG	GGG
2888	-1	CTCTTTCTTTTCCCTTTTT	GGG
2889	-1	TCTCTTTCTTTTCCCTTTTT	TGG
2922	-1	ATGTTGGTTGTCAATTATTG	AGG
2938	-1	ATTTTTCTGATTATTCATGT	TGG
2965	1	GAAAAATCTGAGATAATTGA	AGG

2993	-1	CACAGACCTGTTTCAGATAA	AGG
2998	1	CAATATCCTTTATCTGAAAC	AGG
3050	-1	TTCTGTTCAAGACGATTTGA	AGG
3072	1	TCTTGAACAGAAAAAACTT	AGG
3089	-1	AAGTTTGTATCTTTAATGGT	GGG
3090	-1	AAAGTTTGTATCTTTAATGG	TGG
3093	-1	CTTAAAGTTTGTATCTTTAA	TGG
3120	-1	TTTTTCTCATTTTAAGTATT	GGG
3121	-1	ATTTTTCTCATTTTAAGTAT	TGG
3134	1	AATACTTAAAATGAGAAAAA	TGG
3140	1	TAAAATGAGAAAAATGGAAA	CGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
3141	1	AAAATGAGAAAAATGGAAAC	GGG
3146	1	GAGAAAAATGGAAACGGGTT	TGG
3147	1	AGAAAAATGGAAACGGGTTT	GGG
3148	1	GAAAAATGGAAACGGGTTTG	GGG
3155	1	GGAAACGGGTTTGGGGAGAA	TGG
3156	1	GAAACGGGTTTGGGGAGAAT	GGG
3157	1	AAACGGGTTTGGGGAGAATG	GGG
3161	1	GGGTTTGGGGAGAATGGGGC	AGG
3183	-1	GGTAGTGTTCATGGGTGGGTT	TGG

Tabla 3: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsJumonji (mencionadas como las SEQ ID NO:393 – 726 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1321	1	GAAAATGAAGTTAGCAAGTC	AGG
1340	1	CAGGCTCTAGTTTGATATTG	TGG
1354	1	ATATTGTGGCTCCAGAGAGC	AGG
1354	-1	TTTTTTATTGACCTGCTCTC	TGG
1369	1	AGAGCAGGTCAATAAAAAAA	TGG
1392	1	TGTGTAATCTAATAATGAAA	TGG
1400	1	CTAATAATGAAATGGTGAAA	TGG
1426	-1	GGTTAGATTGAAAGAAGAAC	AGG
1447	-1	TAGGGTCAGAGACAGGTCAC	AGG
1454	-1	TCATTTCTAGGGTCAGAGAC	AGG
1465	-1	TCAGAGGCCCTTCATTTCTA	GGG
1466	-1	GTCAGAGGCCCTTCATTTCT	AGG
1468	1	GTCTCTGACCCTAGAAATGA	AGG
1469	1	TCTCTGACCCTAGAAATGAA	GGG
1481	-1	GCAAAACGCCTTAAAGTCAG	AGG
1484	1	ATGAAGGGCCTCTGACTTTA	AGG
1505	-1	GAACCACACCCAGTAGATAT	TGG
1507	1	CGTTTTGCTCCAATATCTAC	TGG
1508	1	GTTTTGCTCCAATATCTACT	GGG
1513	1	GCTCCAATATCTACTGGGTG	TGG

1527	-1	AGAGTTGGGTAAGAGCACGA	GGG
1528	-1	TAGAGTTGGGTAAGAGCACG	AGG
1541	-1	GATAGGTTTCAGTTAGAGTT	GGG
1542	-1	GGATAGGTTTCAGTTAGAGT	TGG
1558	-1	GAGAACAACCCAAAAAGGAT	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1560	1	TAAGTGAACCTATCCTTTT	TGG
1561	1	AAGTGAACCTATCCTTTT	GGG
1563	-1	ACTGAGAGAACCAACCCAAA	AGG
1598	-1	TTCAAGAATGTGGTTAATGA	GGG
1599	-1	ATTCAAGAATGTGGTTAATG	AGG
1608	-1	CTCTATAAAATTCAAGAATG	TGG
1624	1	TTCTTGAATTTTATAGAGAT	CGG
1629	1	GAATTTTATAGAGATCGGAA	TGG
1643	-1	AGAAAGATTTGTCAAGGAAG	GGG
1644	-1	CAGAAAGATTTGTCAAGGA	GGG
1645	-1	ACAGAAAGATTTGTCAAGGA	AGG
1649	-1	AACGACAGAAAGATTTGTCA	AGG
1701	1	CTATGATTAGTGAGCGTAGT	TGG
1730	-1	TCAGGTTGCACCAGAATTGT	GGG
1731	1	AGAATTTGATCCCACAATTC	TGG
1731	-1	GTCAGGTTGCACCAGAATTG	TGG
1748	-1	GACAGAAGATCTGGGTCGTC	AGG
1756	-1	TTACGCCTGACAGAAGATCT	GGG
1757	-1	TTTCAGCCTGACAGAAGATC	TGG
1762	1	GACGACCCAGATCTTCTGTC	AGG
1798	-1	CTGAAATTTTAAATGGACAG	GGG
1799	-1	GCTGAAATTTTAAATGGACA	GGG
1800	-1	TGCTGAAATTTTAAATGGAC	AGG
1805	-1	CTGGTTGCTGAAATTTTAA	TGG
1824	-1	CAATTGATGATTAACCTTTC	TGG
1840	1	AAAGTTAATCATCAATTGTT	AGG
1852	1	CAATTGTTAGGACACAATAC	TGG
1866	1	CAATACTGGTTTATGAACT	AGG
1898	1	TTACGTGTAACTAAGTACC	TGG
1901	1	CGTGTAACCTAAGTACCTGG	TGG
1905	-1	ATCGAAGCATTCTGACCACC	AGG
1956	-1	ACGTCGTTCAACACAGAAGA	TGG
1983	-1	TTCTGATTCAGAGATATTCA	GGG
1984	-1	GTTCTGATTCAGAGATATTCA	AGG
2020	1	TCACTTTCTTCATCTAGAGT	AGG
2032	-1	ATTCTCATGAAAAGCTGGTT	AGG
2037	-1	AGATTATTCTCATGAAAAGC	TGG
2080	1	GTCAAGTGTTTCATCACATGA	CGG

2081	1	TCAAGTGTTTCATCACATGAC	GGG
2082	1	CAAGTGTTTCATCACATGACG	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2119	-1	AGTTTTTCAGAAGACTTGTCA	CGG
2158	-1	GGAACACTAGCTTTGATGTG	AGG
2179	-1	TTTATTTTCTCCAGGTACAT	GGG
2180	1	AGCTAGTGTTCCCATGTACC	TGG
2180	-1	ATTTATTTTCTCCAGGTACA	TGG
2187	-1	TGCATCTATTTATTTTCTCC	AGG
2244	1	GCACTCTAAATAATTCTGAA	AGG
2279	1	ATACAGAAGTAGCCAACTAA	AGG
2280	-1	AGATACAGATCTCCTTTAGT	TGG
2302	1	AGATCTGTATCTTACATTGC	TGG
2303	1	GATCTGTATCTTACATTGCT	GGG
2314	1	TACATTGCTGGGAGTGATTG	CGG
2324	1	GGAGTGATTGCGGCTTCCGT	AGG
2325	1	GAGTGATTGCGGCTTCCGTA	GGG
2329	-1	TTCTCTTCCTGTAGACCCTA	CGG
2333	1	GCGGCTTCCGTAGGGTCTAC	AGG
2350	1	TACAGGAAGAGAATGTAGAG	TGG
2356	1	AAGAGAATGTAGAGTGGATG	TGG
2362	1	ATGTAGAGTGGATGTGGTAC	AGG
2385	-1	AGTTTAAATTCTGAAATGTT	AGG
2414	-1	AGTGCACAGGTGTCAAGTAG	TGG
2427	-1	TCATGTTTCGTGTAGTGCAC	AGG
2482	1	TGAGTAGTATCACTAAGTTT	TGG
2483	1	GAGTAGTATCACTAAGTTTT	GGG
2503	1	GGGATCGAGTCAAATTTGAT	CGG
2512	1	TCAAATTTGATCGGACAGTA	AGG
2532	-1	GTCACATAAAGTTAAGCAGG	AGG
2535	-1	CATGTCACATAAAGTTAAGC	AGG
2557	1	TTATGTGACATGTTTGCTAA	TGG
2589	-1	GATTAATCAGCAATCTAATA	GGG
2590	-1	AGATTAATCAGCAATCTAAT	AGG
2611	1	TGCTGATTAATCTTCTTTTC	TGG
2631	-1	AGCTAGAAAGTTTGAAATGG	AGG
2634	-1	TGCAGCTAGAAAGTTTGAAA	TGG
2661	-1	AAGGGAGGATATATCAGAAA	TGG
2676	-1	CTGTACGCTCTGTTTAAGGG	AGG
2679	-1	ACACTGTACGCTCTGTTTAA	GGG
2680	-1	GACACTGTACGCTCTGTTTA	AGG
2700	1	GAGCGTACAGTGTCTTCCAC	AGG
2705	-1	ACGTCTTTAAATTTTTCCTG	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
----------	-------	-----------	-----

2776	1	TAAGAGTGTGTAAGAATCCA	AGG
2782	-1	AATGCTATATGTTTCTGCCT	TGG
2795	1	AAGGCAGAAACATATAGCAT	TGG
2811	1	GCATTGGTAAAATCCCCCTG	TGG
2812	1	CATTGGTAAAATCCCCCTGT	GGG
2813	-1	ACTTAACAGCAGCCCACAGG	GGG
2814	-1	TACTTAACAGCAGCCCACAG	GGG
2815	-1	CTACTTAACAGCAGCCCACA	GGG
2816	-1	CCTACTTAACAGCAGCCCAC	AGG
2827	1	CCTGTGGGCTGCTGTTAAGT	AGG
2832	1	GGGCTGCTGTTAAGTAGGAA	TGG
2847	-1	CCAATGGGACTTTTGATACT	GGG
2848	-1	CCCAATGGGACTTTTGATAC	TGG
2858	1	CCCAGTATCAAAAGTCCCAT	TGG
2859	1	CCAGTATCAAAAGTCCCATT	GGG
2862	-1	AATTATGACCTCTACCCAAT	GGG
2863	-1	GAATTATGACCTCTACCCAA	TGG
2865	1	TCAAAAGTCCCATTGGGTAG	AGG
2899	-1	GTATTCATCACCATTTTAAT	GGG
2900	1	AAGTTTATATCCCATTAATA	TGG
2900	-1	TGTATTCATCACCATTTTAA	TGG
2988	-1	CAGCCTAGTGTTTGCGTGTT	TGG
2996	1	AATCCAAACACGCAAACACT	AGG
3000	1	CAAACACGCAAACACTAGGC	TGG
3023	1	ATAGAAGCATACCATGACGA	AGG
3023	-1	CATCCTGTCTGCCTTCGTCA	TGG
3031	1	ATACCATGACGAAGGCAGAC	AGG
3095	1	CACGTTTACATAAGCTGCAC	AGG
3113	-1	AGTGTGTCTGCAAATCGGCA	TGG
3118	-1	GTA TAGTGTGTCTGCAAAT	CGG
3145	-1	GCTGGTTGCTAATGAAATCA	GGG
3146	-1	CGCTGGTTGCTAATGAAATC	AGG
3163	-1	GTTTCTTGCATCGAGCTCGC	TGG
3176	1	AGCGAGCTCGATGCAAGAAA	CGG
3204	1	CTTCACAAAAGAAGTTTTAA	TGG
3216	1	AGTTTTAATGGAACAATGAG	AGG
3228	-1	GGATCATTCTTCTGCTGACT	TGG
3249	-1	GAGTTTAGAGCTTGAAGATT	TGG
3304	1	TTGCAAAGTAGTTCTTCATG	AGG
3313	1	AGTTCTTCATGAGGAAGCAA	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
3328	-1	AACGCTATGCACTTCTTAGT	AGG
3341	1	TACTAAGAAGTGATAGCGT	TGG
3360	1	TTGGCTAGCAACAGCACCCA	AGG

3361	1	TGGCTAGCAACAGCACCCAA	GGG
3365	-1	ATTGGTGACTGGTTTCCCTT	GGG
3366	-1	AATTGGTGACTGGTTTCCCT	TGG
3376	-1	TGAACTTTGCAATTGGTGAC	TGG
3383	-1	GAAGCAGTGAACCTTTGCAAT	TGG
3407	-1	GGAAGTGTAGGCTTCAATTG	TGG
3419	-1	ACTTTTCCTTTTGGAAGTGT	AGG
3424	1	TTGAAGCCTACAGTTCCAAA	AGG
3428	-1	AGAAATTGTACTTTTCCTTT	TGG
3529	-1	TATCATGCTGGATTTAATCA	TGG
3541	-1	TTCCCTAGAGCATATCATGC	TGG
3549	1	AATCCAGCATGATATGCTCT	AGG
3550	1	ATCCAGCATGATATGCTCTA	GGG
3573	1	AACGTAACTATGAACTCTCC	AGG
3580	-1	TACAAGGCAGTGCAAAACC	TGG
3596	-1	TCATGACGTCCCTGTGTACA	AGG
3597	1	TTTTGCACTGCCTTGACAC	AGG
3598	1	TTTGCACTGCCTTGACACA	GGG
3620	-1	ATTTCCCTCCTAATATTCTAT	TGG
3624	1	TCATGATCCAATAGAATATT	AGG
3627	1	TGATCCAATAGAATATTAGG	AGG
3654	-1	GGGCTTTTGATGTTTTATTG	GGG
3655	-1	GGGGCTTTTGATGTTTTATT	GGG
3656	-1	TGGGGCTTTTGATGTTTTAT	TGG
3674	-1	TTCTGCTGATGGGGAGGATG	GGG
3675	-1	TTTCTGCTGATGGGGAGGAT	GGG
3676	-1	CTTTCTGCTGATGGGGAGGA	TGG
3680	-1	CATCCTTTCTGCTGATGGGG	AGG
3683	-1	TGACATCCTTTCTGCTGATG	GGG
3684	-1	ATGACATCCTTTCTGCTGAT	GGG
3685	-1	CATGACATCCTTTCTGCTGA	TGG
3688	1	CATCCTCCCCATCAGCAGAA	AGG
3722	-1	GCAGTTTGAAAAGGTTGTTA	GGG
3723	-1	TGCAGTTTGAAAAGGTTGTT	AGG
3731	-1	TGCTGCTTTGCAGTTTGAAA	AGG
3750	1	AACTGCAAAGCAGCATGACC	TGG
3757	-1	AAAACCTGGTATGGCATTCC	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
3766	-1	GGTGCTTCAAAAAGTTGGTA	TGG
3771	-1	ACTGCGGTGCTTCAAAAAGT	TGG
3787	-1	AGTATTAATTATCATCACTG	CGG
3828	1	GAGTGAGAAAATTAATAGAG	TGG
3829	1	AGTGAGAAAATTAATAGAGT	GGG
3830	1	GTGAGAAAATTAATAGAGTG	GGG

3870	1	AAATTAGCATGAAAGTTTTA	TGG
3890	-1	AGGTATATGTTATTCTTGAG	AGG
3910	-1	TCGAGGATCATTATCTATAC	AGG
3927	-1	CATGTTTGCTTGGCATGTCG	AGG
3937	-1	TGCTATTTAGCATGTTTGCT	TGG
3962	-1	ACTGATCCTATGCTCTATAT	TGG
3967	1	AGCATTCCAATATAGAGCAT	AGG
3989	-1	AATGTTTATTTTTTTTCACA	GGG
3990	-1	TAATGTTTATTTTTTTTCAC	AGG
4068	1	AGATAAGTTAGTATTGTTAC	AGG
4119	-1	TTTTGTTTCAGAGACTGTCA	AGG
4227	-1	CTAGATCTAAGGGTGTTTTT	TGG
4237	-1	ACAAAATTGTCTAGATCTAA	GGG
4238	-1	CACAAAATTGTCTAGATCTA	AGG
4279	1	ATTATAATTTACCAAAACT	AGG
4279	-1	GCACTATTTTCTAGTTTT	TGG
4301	-1	AGTTCAGGCTCTTATGTTAT	AGG
4316	-1	GGTCTTCCCCTATTTAGTTC	AGG
4319	1	CATAAGAGCCTGAACTAAAT	AGG
4320	1	ATAAGAGCCTGAACTAAATA	GGG
4321	1	TAAGAGCCTGAACTAAATAG	GGG
4337	-1	TGTAGCTATGTTTTTGTTTT	TGG
4386	-1	AAGGACAGAAAGAAGCTGTA	TGG
4405	-1	TACGTTTTCTGTTCAATGCA	AGG
4596	1	TCATTATAATGATTACATTA	CGG
4652	-1	GAAGGATAATAATTTTTTTG	AGG
4670	-1	TATTTATATTGGTTAGTTGA	AGG
4681	-1	ATGTATGTACGTATTTATAT	TGG
4706	-1	TTCTGTCCGTAATCTTTACT	TGG
4711	1	ACATATCCAAGTAAAGATTA	CGG
4751	1	GATCACAAACAAGAATAAAA	AGG
4783	-1	GAATAGCAAATGGAAGTTGA	AGG
4793	-1	ATCAGCTTGGAATAGCAAA	TGG
4805	-1	CTTCTCCCAGTGATCAGCTT	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
4806	-1	GCTTCTCCCAGTGATCAGCT	TGG
4810	1	GCTATTCCCAAGCTGATCAC	TGG
4811	1	CTATTCCCAAGCTGATCACT	GGG
4842	-1	GAGTATGCTTGTGATGTTGA	TGG
4864	1	ACAAGCATACTCCACCGTTT	CGG
4864	-1	TTGTGGAAAGACCGAAACGG	TGG
4867	-1	TGCTTGTGGAAAGACCGAAA	CGG
4881	-1	TTTTGGCATGAGATTGCTTG	TGG
4898	-1	CATATCTGGAAAAGGAATTT	TGG

4906	-1	TCCTGCCTCATATCTGGAAA	AGG
4912	1	AAATTCCTTTTCCAGATATG	AGG
4912	-1	TAGTCTTCCTGCCTCATATC	TGG
4916	1	TCCTTTTCCAGATATGAGGC	AGG
4935	-1	TCTAGACGATATTATAGCTC	TGG
4963	-1	TTTTGAGAAAATGGCAAACA	AGG
4972	-1	ATTCCGTGATTTTGAGAAAA	TGG
4980	1	TTGCCATTTTCTCAAATCA	CGG
5014	-1	TCTCATTTTTTTGAATATGGA	TGG
5018	-1	TTTTTCTCATTTTTTTGAATA	TGG
5068	-1	AAGTGTGTATACTAAATAGA	AGG
5092	-1	TTACATTTTTTCATGAGCGGA	AGG
5096	-1	AAAGTTACATTTTTTCATGAG	CGG
5130	-1	ACCTCTCCGTCTAGCTGAGT	GGG
5131	-1	AACCTCTCCGTCTAGCTGAG	TGG
5135	1	CAGTGTCCCACTCAGCTAGA	CGG
5140	1	TCCCACTCAGCTAGACGGAG	AGG
5150	1	CTAGACGGAGAGGTTGCACT	CGG
5151	1	TAGACGGAGAGGTTGCACTC	GGG
5170	1	CGGGTTGTGAACTTAAATCC	CGG
5177	-1	GTATTGATGAAGGAGCAACC	GGG
5178	-1	TGTATTGATGAAGGAGCAAC	CGG
5187	-1	AGCTGGGGTTGTATTGATGA	AGG
5200	1	TTCATCAATACAACCCCAGC	TGG
5202	-1	GACTGCTTCTGTTCCAGCTG	GGG
5203	-1	TGACTGCTTCTGTTCCAGCT	GGG
5204	-1	GTGACTGCTTCTGTTCCAGC	TGG
5218	1	GCTGGAACAGAAGCAGTCAC	AGG
5249	-1	TTTTTTTGCTTGATAATTC	AGG
5314	1	GAATAGACAGCTGCAACTTA	AGG
5326	1	GCAACTTAAGGTTTATGTAT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
5340	-1	TCCCACTTTGTTATTATTAT	TGG
5349	1	AACCAATAATAAACAAG	TGG
5350	1	ACCAATAATAAACAAGT	GGG
5395	1	TGTGTGTGCGAAAAATAAAA	CGG
5396	1	GTGTGTGCGAAAAATAAAC	GGG
5436	1	AAATAAAAAATTAAGAAAA	AGG
5471	1	ACTATTTTCTTTTAAATC	AGG
5482	1	TTTTAAATCAGGATAGAGAA	AGG
5500	-1	TTGTAGCTTGTTACGAAGCT	TGG
5550	-1	AGTGTTCAATCTGTACTTC	AGG
5574	-1	ATTTCTAAAGTTAGGCTAAG	AGG
5582	-1	AGAGCTACATTTCTAAAGTT	AGG

5618	1	TTATAAAGATAAAGAAATTA	TGG
5667	-1	AGAAATTAGGCTTCATCATA	TGG
5680	-1	AACCTTTATTACAAGAAATT	AGG
5689	1	AGCCTAATTTCTTGTATAA	AGG
5708	1	AAGGTTAAATTAATAATATA	AGG
5713	1	TAAATTAATAATATAAGGTG	TGG
5725	-1	TGAGTATTTTATGATGAATG	TGG
5753	-1	TATTTATAATATAGCAGTAG	TGG
5817	-1	AGGCACCATCACATATCAGT	TGG
5823	1	AATGACCAACTGATATGTGA	TGG
5832	1	CTGATATGTGATGGTGCCTC	AGG
5837	-1	TAGTTTTCCACATTGTCCTG	AGG
5841	1	GATGGTGCCTCAGGACAATG	TGG
5850	1	TCAGGACAATGTGGAAAAC	AGG
5902	1	TAGATAGCATTTGCTTTTTTC	TGG
6041	-1	GCTCCAGAAGCTTCTGGATA	TGG
6047	-1	AAGATCGCTCCAGAAGCTTC	TGG
6049	1	ATACCATATCCAGAAGCTTC	TGG
6076	1	ATCTTCTGCAAATAAATCAG	AGG
6077	1	TCTTCTGCAAATAAATCAGA	GGG
6090	-1	TCCAACAAAAGAGGAGTTTG	AGG
6099	-1	TATATATTATCCAACAAAAG	AGG
6100	1	TCCTCAAACCTCCTTTTTGT	TGG
6112	1	TCTTTTGTGGATAATATAT	AGG
6121	1	GGATAATATATAGGACACTC	AGG
6145	-1	TTGACACAAGTGATCTGGAA	TGG
6150	-1	TAAGTTTGACACAAGTGATC	TGG
6174	-1	TGTTATTTTGAAGCGGAAGG	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
6177	-1	GGATGTTATTTTGAAGCGGA	AGG
6181	-1	GGAAGGATGTTATTTTGAAG	CGG
6198	-1	AAATGGTCCTTTAAGTGGA	AGG
6202	1	ATAACATCCTTCCCCTTAA	AGG
6202	-1	GATCAAATGGTCCTTTAAGT	GGG
6203	-1	GGATCAAATGGTCCTTTAAG	TGG
6215	-1	GATGTTTTTTCTGGATCAA	TGG
6224	-1	GGCAATGCAGATGTTTTTTC	TGG
6245	-1	TCTTGCGGTGTTAGATTACA	TGG
6260	-1	TTAAGATCTTCAGCATCTTG	CGG
6290	-1	AGTACAATGGCTCGAAGTGG	AGG
6293	-1	AGCAGTACAATGGCTCGAAG	TGG
6303	-1	AGAACTATCAGCAGTACAA	TGG
6327	-1	CAAAAGGCTTCAGCGTATGA	AGG
6343	-1	TGGAGTTTCTGAAGCGCAA	AGG

6363	-1	AAAGGAGGTCAGAAATGGGT	TGG
6367	-1	TATCAAAGGAGGTCAGAAAT	GGG
6368	-1	TTATCAAAGGAGGTCAGAAA	TGG
6378	-1	AAGGGTTTGTATCAAAGG	AGG
6381	-1	GGGAAGGGTTTGTATCAA	AGG
6396	-1	TGTTTGACAGGTGGAGGGAA	GGG
6397	-1	TTGTTTGACAGGTGGAGGGA	AGG
6401	-1	AAACTTGTGTTGACAGGTGGA	GGG
6402	-1	TAAACTTGTGTTGACAGGTGG	AGG
6405	-1	ATGTAAACTTGTGTTGACAGG	TGG
6408	-1	CCCATGTAAACTTGTGTTGAC	AGG
6418	1	ACCTGTCAAACAAGTTTACA	TGG
6419	1	CCTGTCAAACAAGTTTACAT	GGG

Tabla 4: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsMultiflora (mencionadas como las SEQ ID NO:730 – 936 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
370	1	ATAAGAAGTGATGTTGTGTC	TGG
377	1	GTGATGTTGTGTCTGGCTAG	AGG
391	-1	GCTCTTGTGTTTTGGTAGTAT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
400	-1	CGTTTTGTTGCTCTTGTGTTT	TGG
412	1	CAAAAACAAGAGCAACAAAA	CGG
437	1	TTGCATCATTGTTTCTCACT	TGG
441	1	ATCATTGTTTCTCACTTGGC	TGG
502	1	AGAACTCAGTTCTCCAAAGC	TGG
504	-1	TTGCTTATATGAACCAGCTT	TGG
524	1	GTTTCATATAAGCAATCATTA	TGG
544	1	TGGCTTCATCAAACCGACAC	TGG
546	-1	TGAACATACTAGGCCAGTGT	CGG
556	-1	GGCTTGGACTTGAACATACT	AGG
572	-1	GTGGTGGCTATTGCAAGGCT	TGG
577	-1	CATTGGTGGTGGCTATTGCA	AGG
588	-1	TGTCATGCTGCCATTGGTGG	TGG
589	1	CTTGCAATAGCCACCACCAA	TGG
591	-1	TGATGTCATGCTGCCATTGG	TGG
594	-1	GGTTGATGTCATGCTGCCAT	TGG
615	-1	ATCCACTAGTCATGAGCGAT	GGG
616	-1	TATCCACTAGTCATGAGCGA	TGG
624	1	AACCCATCGCTCATGACTAG	TGG
639	-1	CTGAAGCGTACGGAGGTCTG	TGG
646	-1	TATATACCTGAAGCGTACGG	AGG
649	-1	ATATATATACCTGAAGCGTA	CGG
651	1	CACAGACCTCCGTACGCTTC	AGG
716	-1	TTGACAACTTTTCAAAAAAT	AGG

763	-1	GGAATATTGCATGTACTTCT	TGG
784	-1	AATTATAAAATGCAACACAT	GGG
785	-1	TAATTATAAAATGCAACACA	TGG
811	-1	CCACCAACTGTAGTATAGAA	AGG
819	1	AAACCTTTCTATACTACAGT	TGG
822	1	CCTTTCTATACTACAGTTGG	TGG
823	1	CTTTCTATACTACAGTTGGT	GGG
835	1	CAGTTGGTGGGTGTGATGAG	AGG
842	1	TGGGTGTGATGAGAGGAGTC	CGG
850	-1	TTCCATCTGGGCTTCGGCTC	CGG
856	-1	TTCGGGTTCCATCTGGGCTT	CGG
859	1	GTCCGGAGCCGAAGCCCAGA	TGG
862	-1	TCCGGTTTCGGGTTCCATCT	GGG
863	-1	CTCCGGTTTCGGGTTCCATC	TGG
872	1	GCCCAGATGGAACCCGAAAC	CGG
873	-1	TTCGAATCTGCTCCGGTTTC	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
874	-1	ATTCGAATCTGCTCCGGTTT	CGG
880	-1	TCAAGGATTCTGAATCTGCTC	CGG
897	-1	CAGAGTTAAAGATCGCTTCA	AGG
909	1	CTTGAAGCGATCTTTAACTC	TGG
914	1	AGCGATCTTTAACTCTGGCA	TGG
931	-1	CTTCTAATCTCGTCTCTCGG	GGG
932	-1	CCTTCTAATCTCGTCTCTCG	GGG
933	-1	TCCTTCTAATCTCGTCTCTC	GGG
934	-1	ATCCTTCTAATCTCGTCTCT	CGG
943	1	CCCCGAGAGACGAGATTAGA	AGG
962	-1	TTGTCCATACTCTTGCAATT	GGG
963	-1	CTTGTCCATACTCTTGCAAT	TGG
969	1	AGAGCCCAATTGCAAGAGTA	TGG
978	1	TTGCAAGAGTATGGACAAGT	TGG
995	-1	TTGAAACCAATAAAACACAT	TGG
1000	1	GTGATGCCAATGTGTTTTAT	TGG
1021	1	GGTTTCAAACAGAAAATCT	AGG
1047	-1	GTTTGGAGTTTTGGAGGTGG	CGG
1050	-1	GTTGTTTGGAGTTTTGGAGG	TGG
1053	-1	TTTGTTGTTTGGAGTTTTGG	AGG
1056	-1	GGGTTTGTTGTTTGGAGTTT	TGG
1064	-1	ATTTTGAAGGTTTGTGTT	TGG
1076	-1	AGTTGGAGTTGGATTTTGAA	GGG
1077	-1	GAGTTGGAGTTGGATTTTGA	AGG
1087	-1	GAGGAAGGAGGAGTTGGAGT	TGG
1093	-1	GTGGCTGAGGAAGGAGGAGT	TGG
1099	-1	GGAGCGGTGGCTGAGGAAGG	AGG

1102	-1	GAAGGAGCGGTGGCTGAGGA	AGG
1106	-1	AGAGGAAGGAGCGGTGGCTG	AGG
1112	-1	AGACGAAGAGGAAGGAGCGG	TGG
1115	-1	AGAAGACGAAGAGGAAGGAG	CGG
1120	-1	GACGAAGAAGACGAAGAGGA	AGG
1124	-1	AGACGACGAAGAAGACGAAG	AGG
1159	-1	AAGCCTCTCGATCGGGATTT	GGG
1160	-1	GAAGCCTCTCGATCGGGATT	TGG
1166	-1	TGATGAGAAGCCTCTCGATC	GGG
1167	1	TCTCCCAAATCCCGATCGAG	AGG
1167	-1	ATGATGAGAAGCCTCTCGAT	CGG
1184	1	GAGAGGCTTCTCATCATCAT	TGG
1185	1	AGAGGCTTCTCATCATCATT	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1206	-1	GATGATTAGTAGTACTGGCT	AGG
1211	-1	ATGATGATGATTAGTAGTAC	TGG
1242	-1	AAGAAGTTGGACTAGTTTGA	TGG
1255	-1	TTATTATTGACCGAAGAAGT	TGG
1256	1	TCAAAC TAGTCCAAC TTCTT	CGG
1283	-1	AATGTTGTTGGTTTGAAAGA	TGG
1295	-1	AGTATTATTATTAATGTTGT	TGG
1333	-1	AAGAAATAGTGTTGATCGGT	TGG
1337	-1	CGGGAAGAAATAGTGTTGAT	CGG
1349	1	CGATCAACACTATTTCTTCC	CGG
1356	-1	GGTGATGATTAGGCACGGCC	GGG
1357	-1	GGGTGATGATTAGGCACGGC	CGG
1361	-1	ACTGGGGTGATGATTAGGCA	CGG
1366	-1	GTAGAACTGGGGTGATGATT	AGG
1377	-1	CAGGAACAGGAGTAGAACTG	GGG
1378	-1	GCAGGAACAGGAGTAGAACT	GGG
1379	-1	AGCAGGAACAGGAGTAGAAC	TGG
1390	-1	TGACTGGTATTAGCAGGAAC	AGG
1396	-1	AACCCTTGACTGGTATTAGC	AGG
1404	1	GTTCTGCTAATACCAGTCA	AGG
1405	1	TTCTGCTAATACCAGTCAA	GGG
1406	-1	AGGGAAGCAAAACCCTTGAC	TGG
1425	-1	AGAGCTCATGATTTTGAGGA	GGG
1426	-1	GAGAGCTCATGATTTTGAGG	AGG
1429	-1	TGAGAGAGCTCATGATTTTG	AGG
1443	1	CAAAATCATGAGCTCTCTCA	TGG
1444	1	AAAATCATGAGCTCTCTCAT	GGG
1445	1	AAATCATGAGCTCTCTCATG	GGG
1465	-1	TTCTGTATCTCCATGTGATG	AGG
1466	1	GGTAGTACTACCTCATCACA	TGG

1482	1	CACATGGAGATACAGAATAT	AGG
1483	1	ACATGGAGATACAGAATATA	GGG
1495	-1	CTAAGTAAAAGGCTTGTACA	AGG
1506	-1	TCATGATCTCACTAAGTAAA	AGG
1527	1	AGTGAGATCATGAACCAAAA	CGG
1530	-1	CTTTCTTTAAGTCACCGTTT	TGG
1553	1	CTTAAAGAAAGACCATCACG	AGG
1554	-1	GATAATTATTCACCTCGTGA	TGG
1598	1	GATGATGAAGATGAGCTCTA	CGG
1651	1	CTTGTCTGATGACGCCGACT	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1654	-1	GTAGTGGCCGGAGTCCTAGT	CGG
1658	1	GATGACGCCGACTAGGACTC	CGG
1666	-1	ACGTTAGACGGAGTAGTGGC	CGG
1670	-1	GACGACGTTAGACGGAGTAG	TGG
1678	-1	GATGAAACGACGACGTTAGA	CGG
1702	-1	GCAGTAGTAGCGTGGTGGTG	AGG
1707	-1	TCGTTGCAGTAGTAGCGTGG	TGG
1710	-1	TAGTCGTTGCAGTAGTAGCG	TGG
1744	-1	ATTTGATTGAGGGGGACAGA	TGG
1752	-1	TACCTTGGATTTGATTGAGG	GGG
1753	-1	TTACCTTGGATTTGATTGAG	GGG
1754	-1	TTTACCTTGGATTTGATTGA	GGG
1755	-1	TTTTACCTTGGATTTGATTG	AGG
1761	1	GTCCCCCTCAATCAAATCCA	AGG
1767	-1	CATTTTATTTTATTTTACCT	TGG
1789	1	TAAAATAAAATGTTACCACA	TGG
1793	-1	TTTTCAGTTACAGTTCCATG	TGG
1820	1	CTGAAAATCGAAATTTTGTT	TGG
1881	1	GTTATATAAAAATTTTAACA	CGG
1882	1	TTATATAAAAATTTTAACAC	GGG
1887	1	TAAAAATTTTAACACGGGAG	AGG
1934	1	ATTTACAAATTATTATACAT	TGG
1946	1	TTATACATTGGTAAAAGATC	AGG
1963	1	ATCAGGACAATATTGTCTAA	TGG
1964	1	TCAGGACAATATTGTCTAAT	GGG
1977	-1	TCCATCTACACTCAGATCGC	TGG
1987	1	TCCAGCGATCTGAGTGTAGA	TGG
1999	1	AGTGTAGATGGACGTGTGCA	TGG
2005	1	GATGGACGTGTGCATGGATT	TGG
2008	1	GGACGTGTGCATGGATTTGG	TGG
2014	1	GTGCATGGATTTGGTGGTGT	TGG
2022	1	ATTTGGTGGTGTGGTCCTT	AGG
2027	-1	AATATGAAACAGTCGACCTA	AGG

2052	1	TTTCATATTGATCTTTGTAT	TGG
2053	1	TTCATATTGATCTTTGTATT	GGG
2118	1	TTATTTATGACGAAAGTAAT	AGG
2119	1	TATTTATGACGAAAGTAATA	GGG
2128	1	CGAAAGTAATAGGGTACTAC	TGG
2129	1	GAAAGTAATAGGGTACTACT	GGG
2154	1	TATTTAATTAATAAATTATT	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2189	-1	AAAAAGCAAAGTTATAAAGG	AGG
2192	-1	CAGAAAAAGCAAAGTTATAA	AGG
2231	-1	TCTCCACGATCGATCGAATA	AGG
2239	1	ATACCTTATTCGATCGATCG	TGG
2277	1	TTACATATATTTATGAGAAC	AGG
2286	1	TTTATGAGAACAGGTGTTGT	AGG
2300	1	TGTTGTAGGAGAAGATGAAC	AGG
2301	1	GTTGTAGGAGAAGATGAACA	GGG
2306	1	AGGAGAAGATGAACAGGGAG	TGG
2309	1	AGAAGATGAACAGGGAGTGG	TGG
2310	1	GAAGATGAACAGGGAGTGGT	GGG
2316	1	GAACAGGGAGTGGTGGGTCC	AGG
2319	1	CAGGGAGTGGTGGGTCCAGG	TGG
2323	-1	TTTGCCACACCATCTCCACC	TGG
2325	1	GTGGTGGGTCCAGGTGGAGA	TGG
2330	1	GGGTCCAGGTGGAGATGGTG	TGG
2345	1	TGGTGTGGCAAATAAACGA	TGG
2363	1	GATGGTGTTCATAAACGACG	TGG
2372	1	CATAAACGACGTGGCCTTCG	AGG
2375	1	AAACGACGTGGCCTTCGAGG	TGG
2375	-1	TGGCCCAGCGGCCACCTCGA	AGG
2382	1	GTGGCCTTCGAGGTGGCCGC	TGG
2383	1	TGGCCTTCGAGGTGGCCGCT	GGG
2387	-1	GCGCACGTTGAATGGCCCAG	CGG
2395	-1	AAAGCCTCGCGCACGTTGAA	TGG
2402	1	TGGGCCATTCAACGTGCGCG	AGG
2409	1	TTCAACGTGCGCGAGGCTTT	TGG
2439	1	GCTGTACTTATTCACTCCAA	TGG
2444	-1	GGTGGGAACAAGTTGACCAT	TGG
2461	-1	GTGACGCCCCAGTCGTCGGT	GGG
2462	-1	AGTGACGCCCCAGTCGTCGG	TGG
2464	1	AACTTGTTCCCACCGACGAC	TGG
2465	1	ACTTGTTCCCACCGACGACT	GGG
2465	-1	AGGAGTGACGCCCCAGTCGT	CGG
2466	1	CTTGTTCCCACCGACGACTG	GGG
2485	-1	GCGCCGTGCTGGAGGGAGTG	AGG

2492	-1	GTAAAAAGCGCCGTGCTGGA	GGG
2493	1	ACTCCTCACTCCCTCCAGCA	CGG
2493	-1	AGTAAAAAGCGCCGTGCTGG	AGG
2496	-1	GATAGTAAAAAGCGCCGTGC	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2515	1	GCGCTTTTTACTATCTTATC	TGG
2537	-1	ACGTAAATAATGGTGTGAAA	AGG
2547	-1	AAAAAGATTTACGTAAATAA	TGG
2579	1	TTATTTGATTATAATATTTG	TGG

Tabla 5: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsSFT1 (mencionadas como las SEQ ID NO:940 – 1015 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1697	-1	TGTAGAGAGAGATCAGAAGA	GGG
1698	-1	ATGTAGAGAGAGATCAGAAG	AGG
1742	1	ATAGTTGTTATATATATAAA	TGG
1750	1	TATATATATAAATGGCTAAT	AGG
1751	1	ATATATATAAATGGCTAATA	GGG
1763	1	GGCTAATAGGGATCCTCTTG	TGG
1765	-1	ATCACTCTCCCAACCACAAG	AGG
1767	1	AATAGGGATCCTCTTGTGGT	TGG
1768	1	ATAGGGATCCTCTTGTGGTT	GGG
1790	1	GAGAGTGATAAGTGATGTGT	TGG
1803	-1	GAGACACAGTTTTTGTGAAA	GGG
1804	-1	AGAGACACAGTTTTTGTGAA	AGG
1833	1	TCTCTTAAAGTATCATATAG	TGG
1834	1	CTCTTAAAGTATCATATAGT	GGG
1840	1	AAGTATCATATAGTGGGAAT	AGG
1841	1	AGTATCATATAGTGGGAATA	GGG
1854	1	GGGAATAGGGCTATTAACAA	TGG
1872	-1	TAGCAACTTGAGAAGGTCTA	AGG
1879	-1	GGTGAGTTAGCAACTTGAGA	AGG
1894	1	CTCAAGTTGCTAACTCACCT	AGG
1895	1	TCAAGTTGCTAACTCACCTA	GGG
1900	-1	TCTCCACCAATCTCAACCCT	AGG
1905	1	AACTCACCTAGGGTTGAGAT	TGG
1908	1	TCACCTAGGGTTGAGATTGG	TGG
1921	1	AGATTGGTGGAGATGATCTC	AGG
1937	1	TCTCAGGACTTTCTACACTT	TGG
2020	1	ATTAATACTGTTAATGTTGC	AGG
2026	1	ACTGTTAATGTTGCAGGTTA	TGG
2043	-1	TCGCTAGGGTTAGGAGCATC	AGG
2052	-1	AGATTAGGTTGCTAGGGTT	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2057	-1	CTTTAAGATTAGGTTGCTA	GGG

2058	-1	TCTTTAAGATTAGGTTGCT	AGG
2067	-1	TGCAAATATTCTTTAAGATT	AGG
2082	1	ATCTTAAAGAATATTTGCAT	TGG
2154	1	AACTTTTAGATATATTACTT	AGG
2164	1	TATATTACTTAGGAATCACA	AGG
2178	-1	TAGTGGCACACACTTATTGA	TGG
2195	-1	TAAAAATTAATAATTATTAG	TGG
2255	1	TTAAAGTGTATAATTTTGTC	AGG
2259	1	AGTGTATAATTTTGTCAGGT	TGG
2282	-1	AAGCCTGTTCCCGTAGTTGC	GGG
2283	1	GACTGATATTCCCGCAACTA	CGG
2283	-1	AAAGCCTGTTCCCGTAGTTG	CGG
2284	1	ACTGATATTCCCGCAACTAC	GGG
2290	1	ATTCCCGCAACTACGGGAAC	AGG
2296	1	GCAACTACGGGAACAGGCTT	TGG
2386	-1	TTAACTTACCATTAACCTAT	TGG
2389	1	AAATAACACCAATAAGTTAA	TGG
2492	1	TGTGTGTGATGATTTAATGA	TGG
2493	1	GTGTGTGATGATTTAATGAT	GGG
2511	1	ATGGGCGTACGCATATATGT	AGG
2547	-1	GAATTCCCACCGTCGGTCTT	GGG
2548	-1	TGAATTCCCACCGTCGGTCT	TGG
2549	1	CTACGAGAGCCCAAGACCGA	CGG
2552	1	CGAGAGCCCAAGACCGACGG	TGG
2553	1	GAGAGCCCAAGACCGACGGT	GGG
2554	-1	AAGCGATGAATTCCCACCGT	CGG
2592	1	TTTGTTCTGTTTCGACAGTT	AGG
2596	1	TTCTGTTTCGACAGTTAGGA	AGG
2616	1	AGGCAGACAGTGTATGCACC	CGG
2617	1	GGCAGACAGTGTATGCACCC	GGG
2620	1	AGACAGTGTATGCACCCGGG	TGG
2623	-1	TTGAAGTTATGTCGCCACCC	GGG
2624	-1	GTTGAAGTTATGTCGCCACC	CGG
2667	1	TTTGCTGAAATCTACAACCT	TGG
2673	-1	CGGCAGCAACAGGCAATCCA	AGG
2683	-1	TTGAAGTAAACGGCAGCAAC	AGG
2693	-1	CTTTTGGCAGTTGAAGTAAA	CGG
2705	1	CGTTTACTTCAACTGCCAAA	AGG
2709	-1	CACCACAGCCAAGTTCCTTT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2712	1	TTCAACTGCCAAAAGGAACT	TGG
2718	1	TGCCAAAAGGAACTTGGCTG	TGG
2721	1	CAAAAGGAACTTGGCTGTGG	TGG
2725	1	AGGAACTTGGCTGTGGTGGA	AGG

2728	1	AACTTGGCTGTGGTGAAGG	AGG
2798	-1	GACATATATAGATAGATAGA	TGG

Tabla 6: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsSFT2 (mencionadas como las SEQ ID NO:1019 – 1106 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
910	1	CAATATAATAATATGACATA	TGG
926	1	CATATGGATAGATAGATAGA	TGG
986	-1	AACTTGGCTGTGGTGAAGG	AGG
989	-1	AGGAACTTGGCTGTGGTGA	AGG
993	-1	CAAAAGGAACTTGGCTGTGG	TGG
996	-1	TGCCAAAAGGAACTTGGCTG	TGG
1002	-1	TTCAACTGCCAAAAGGAACT	TGG
1005	1	CACCACAGCCAAGTTCCTTT	TGG
1009	-1	CGTTTACTTCAACTGCCAAA	AGG
1031	1	TTGAAGTAAACGACAGCAAC	AGG
1041	1	CGACAGCAACAGGCAATCCA	AGG
1047	-1	TTTGCTGAGATCTACAACCT	TGG
1091	1	TTGAAGTTATGTCGCCACCC	AGG
1094	-1	AGACAGTGTATGCACCTGGG	TGG
1097	-1	GGCAGACAGTGTATGCACCT	GGG
1098	-1	AGGCAGACAGTGTATGCACC	TGG
1118	-1	TTCTGTTTCGACAGTTAGGA	AGG
1122	-1	TTTGTTCTGTTTCGACAGTT	AGG
1160	1	TAGCGATGTATTCCCACCGT	CGG
1161	-1	GAGAGCCCTAGACCGACGGT	GGG
1162	-1	CGAGAGCCCTAGACCGACGG	TGG
1165	-1	CTACGAGAGCCCTAGACCGA	CGG
1166	1	TGTATTCCCACCGTCGGTCT	AGG
1167	1	GTATTCCCACCGTCGGTCTA	GGG
1203	-1	GTGTATATACGCATATATGT	AGG
1346	1	TTAACTTATCGTTAACTTAT	TGG
1431	1	AGTGTATTAATATGTACCAA	AGG
1436	-1	GCAACTACGGGAACAGCCTT	TGG
1448	-1	ACTGATATTCCCGCAACTAC	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1449	1	AAAGGCTGTTCCCGTAGTTG	CGG
1449	-1	GACTGATATTCCCGCAACTA	CGG
1450	1	AAGGCTGTTCCCGTAGTTGC	GGG
1473	-1	AGTGTATAACTTTTTCAGGT	TGG
1477	-1	TTTAAGTGTATAACTTTTTC	AGG
1532	1	ATAAAATTAATAATTATTAG	TGG
1548	1	TTAGTGGCACACACTATTGA	TGG
1562	-1	AATATTACTAACGAATGACA	AGG
1612	-1	TGTACTTAGTAATATCATTT	CGG

1637	-1	ATCTTAAAGAATATTTGCAT	TGG
1652	1	TGCAAATATTCTTTAAGATT	AGG
1661	1	TCTTTAAGATTAGGTTTCGCT	AGG
1662	1	CTTTAAGATTAGGTTTCGCTA	GGG
1667	1	AGATTAGGTTTCGCTAGGGTT	AGG
1692	-1	ACTGTTAATGTTGCAGGTTA	TGG
1698	-1	ATTAATACTGTTAATGTTGC	AGG
1818	1	CGTATACTTAATTTTATGCT	AGG
1959	1	TATTTGTGCAATTATAAGTT	AGG
1971	-1	GTCAAAGACCCACAACAATA	AGG
1973	1	TAAGTTAGGCCTTATTGTTG	TGG
1974	1	AAGTTAGGCCTTATTGTTGT	GGG
2030	1	TTAACAGTGTTAATTTTAAA	CGG
2175	-1	TTGGTTTATGAAAAATTAGT	GGG
2176	-1	CTTGTTTATGAAAAATTAG	TGG
2194	-1	TGCCTATATACTAAATTCT	TGG
2203	1	AACCAAGAATTTAGTTATAT	AGG
2253	-1	TCTCAGGACTTTCTACACTT	TGG
2269	-1	AGATTGGTGGAGATGATCTC	AGG
2282	-1	TCACCTAGGGTTGAGATTGG	TGG
2285	-1	AACTCACCTAGGGTTGAGAT	TGG
2290	1	TCTCCACCAATCTCAACCCT	AGG
2295	-1	TCAAGTTGCTAACTCACCTA	GGG
2296	-1	CTCAAGTTGCTAACTCACCT	AGG
2311	1	GGTGAGTTAGCAACTTGAGA	AGG
2318	1	TAGCAACTTGAGAAGGTCTA	AGG
2336	-1	GGGATTAGGGCTATTAACAA	TGG
2349	-1	AGTATCATATAGTGGGATTA	GGG
2350	-1	AAGTATCATATAGTGGGATT	AGG
2356	-1	CTCTTAAAGTATCATATAGT	GGG
2357	-1	TCTCTTAAAGTATCATATAG	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2386	1	AGAGAGACAGTTTTTGTGAA	AGG
2387	1	GAGAGACAGTTTTTGTGAAA	GGG
2400	-1	GAGAGTGATAAGTGATGTGT	TGG
2422	-1	ATAGGGATCCTCTTGTGGTT	GGG
2423	-1	AATAGGGATCCTCTTGTGGT	TGG
2425	1	ATCACTCTCCCAACCACAAG	AGG
2427	-1	GGCTAATAGGGATCCTCTTG	TGG
2439	-1	ATATATATAAATGGCTAATA	GGG
2440	-1	TATATATATAAATGGCTAAT	AGG
2448	-1	ATAGTTGTTATATATATAAA	TGG
2499	1	AGAGAGATAGAGAGAAGAAG	AGG
2500	1	GAGAGATAGAGAGAAGAAGA	GGG

2516	1	AAGAGGGTTTGATGAGTTTT	TGG
2529	1	GAGTTTTTGGTTGTATAATT	TGG
2532	1	TTTTTGGTTGTATAATTTGG	TGG
2553	1	GGCTGACATTCAACAATTTA	TGG
2609	1	TTAGCTTTTGTAACATCAAA	AGG
2627	1	AAAGGTTCTAATATATATTG	TGG
2684	1	TTTATATATTCTTGTAACAA	TGG

Tabla 7: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsSFT3 (mencionadas como las SEQ ID NO:1110 – 1335 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
364	-1	TTACTCTACCAACCACAAGA	GGG
365	-1	ATTACTCTACCAACCACAAG	AGG
367	1	GATAGGGACCCTCTTGTGGT	TGG
379	1	CTTGTGGTTGGTAGAGTAAT	AGG
390	1	TAGAGTAATAGGAGATGTTT	TGG
404	1	ATGTTTTGGATCCTTTTACA	AGG
404	-1	AGAGAGACTGACCTTGTAAG	AGG
430	1	GTCTCTCTTAGAGTGAGTTA	TGG
441	1	AGTGAGTTATGGTAATAGAG	AGG
451	1	GGTAATAGAGAGGTCAACAA	TGG
476	-1	GGTTGGTTAACAATTTGGGA	AGG
480	-1	ACGAGGTTGGTTAACAATTT	GGG
481	-1	CACGAGGTTGGTTAACAATT	TGG
493	-1	CACCAATATCAACACGAGGT	TGG
497	-1	TCACCACCAATATCAACACG	AGG
502	1	AACCAACCTCGTGTTGATAT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
505	1	CAACCTCGTGTTGATATTGG	TGG
518	1	ATATTGGTGGTGATGACCTA	AGG
523	-1	CCAAAGTGTAGAAGGTCCTT	AGG
531	-1	TTAATTTACCAAAGTGTAGA	AGG
534	1	CCTAAGGACCTTCTACACTT	TGG
569	-1	TGAAATCATTATGAATATTG	AGG
648	1	CATATATTGAAAATTATTAC	AGG
654	1	TTGAAAATTATTACAGGTCA	TGG
657	1	AAAATTATTACAGGTCATGG	TGG
663	1	ATTACAGGTCATGGTGGATC	CGG
671	-1	TTGCTAGGGCTAGGAGCATC	CGG
680	-1	AGATTGGGGTTGCTAGGGCT	AGG
685	-1	CCCTTAGATTGGGGTTGCTA	GGG
686	-1	TCCCTTAGATTGGGGTTGCT	AGG
694	-1	GCAAATACTCCCTTAGATTG	GGG
695	1	GCCCTAGCAACCCCAATCTA	AGG
695	-1	TGCAAATACTCCCTTAGATT	GGG

696	1	CCCTAGCAACCCCAATCTAA	GGG
696	-1	ATGCAAATACTCCCTTAGAT	TGG
710	1	ATCTAAGGGAGTATTTGCAT	TGG
768	1	ATATTATTATTAAATAGATG	AGG
769	1	TATTATTATTAAATAGATGA	GGG
901	1	TTTAATTTTGTATAAACTT	TGG
1020	-1	TTCATGCACACAACACATGT	TGG
1081	-1	CAAAAAGTAAAGACATATTT	TGG
1093	1	CAAAATATGTCTTTACTTTT	TGG
1128	1	CATTTTATAAAGATGTTAGT	TGG
1129	1	ATTTTATAAAGATGTTAGTT	GGG
1317	1	TTTTAGTGTCAGTTTTGAAT	TGG
1335	-1	ACAAAATTCTGTAATTATTA	GGG
1336	-1	TACAAAATTCTGTAATTATT	AGG
1368	-1	ACAAATTTAAACAAGCTTTA	GGG
1369	-1	AACAAATTTAAACAAGCTTT	AGG
1392	1	TTTAATTTGTTAAAGTGAAT	AGG
1440	-1	AACATGTAAAAAGAATTTAA	GGG
1441	-1	AAACATGTAAAAAGAATTTA	AGG
1470	-1	GCTAGCATATATGGAATTTG	TGG
1479	-1	ATTTATATAGCTAGCATATA	TGG
1500	1	TAGCTATATAAATATAAATA	TGG
1505	1	ATATAAATATAAATATGGAA	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1513	1	ATAAATATGGAAAGGATATA	TGG
1514	1	TAAATATGGAAAGGATATAT	GGG
1563	1	AAAGCTGATGAGAAAGAATG	TGG
1568	1	TGATGAGAAAGAATGTGGTT	TGG
1569	1	GATGAGAAAGAATGTGGTTT	GGG
1570	1	ATGAGAAAGAATGTGGTTTG	GGG
1591	1	GGATGAATTTTGAATGATGA	AGG
1592	1	GATGAATTTTGAATGATGAA	GGG
1598	1	TTTTGAATGATGAAGGGATG	AGG
1610	1	AAGGGATGAGGCTGTGTGTG	TGG
1633	-1	GGGACATGCTATAGCTAGCA	GGG
1634	-1	GGGGACATGCTATAGCTAGC	AGG
1653	-1	TTTTAATGGTGGGACAAAAG	GGG
1654	-1	ATTTTAATGGTGGGACAAAA	GGG
1655	-1	CATTTTAATGGTGGGACAAA	AGG
1663	-1	GAGGTGGCCATTTTAATGGT	GGG
1664	-1	TGAGGTGGCCATTTTAATGG	TGG
1667	1	CTTTTGTCCCACCATTAAAA	TGG
1667	-1	GTGTGAGGTGGCCATTTTAA	TGG
1679	-1	AAACCTTCTTAGTGTGAGG	TGG

1682	-1	GTGAAAACCTTCTTAGTGTG	AGG
1686	1	ATGGCCACCTCACACTAAGA	AGG
1755	1	ATATATACATACACATGTAT	AGG
1756	1	TATATACATACACATGTATA	GGG
1824	-1	CTATGTTCTGAATTCAAATTC	GGG
1825	-1	TCTATGTTCTGAATTCAAATT	CGG
1847	1	TTCGAACATAGACTCAGATT	TGG
1860	-1	AGGGTTTCAGGGTCTGAATTTA	GGG
1861	-1	CAGGGTTTCAGGGTCTGAATTT	AGG
1872	-1	AGTTCGTGTTTCAGGGTTCA	GGG
1873	-1	AAGTTCGTGTTTCAGGGTTC	AGG
1879	-1	GAGTCTAAGTTCGTGTTTCA	GGG
1880	-1	TGAGTCTAAGTTCGTGTTTC	AGG
1898	1	CACGAACTTAGACTCAGACC	TGG
1904	1	CTTAGACTCAGACCTGGACC	TGG
1905	-1	TTGGGTCAAGGTCCAGGTCC	AGG
1911	-1	CGGGGTTTGGGTCAAGGTCC	AGG
1917	-1	TCGGGTTCGGGGTTTGGGTCA	AGG
1923	-1	CGGGGTTTCGGGTTCGGGGTTT	GGG
1924	-1	TCGGGGTTTCGGGTTCGGGGTT	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1929	-1	TCGAGTCGGGGTTTCGGGTCTG	GGG
1930	-1	TTCGAGTCGGGGTTTCGGGTCT	GGG
1931	-1	GTTTCGAGTCGGGGTTTCGGGT	CGG
1935	-1	CGGGGTTTCGAGTCGGGGTTTC	GGG
1936	-1	TCGGGGTTTCGAGTCGGGGTTT	CGG
1941	-1	TAGTTTCGGGGTTTCGAGTCG	GGG
1942	-1	CTAGTTTCGGGGTTTCGAGTC	GGG
1943	-1	TCTAGTTTCGGGGTTTCGAGT	CGG
1953	-1	CCAGGTCCAGTCTAGTTTCG	GGG
1954	-1	TCCAGGTCCAGTCTAGTTTC	GGG
1955	-1	GTCCAGGTCCAGTCTAGTTT	CGG
1958	1	CTCGAACCCCGAACTAGAC	TGG
1964	1	CCCCGAACTAGACTGGACC	TGG
1971	1	ACTAGACTGGACCTGGACTC	TGG
1971	-1	TAGGTCCTAGGCCAGAGTCC	AGG
1977	1	CTGGACCTGGACTCTGGCCT	AGG
1983	-1	CTAGACCCGAGCTAGGTCCT	AGG
1988	1	CTCTGGCCTAGGACCTAGCT	CGG
1989	1	TCTGGCCTAGGACCTAGCTC	GGG
1990	-1	CTGAACTCTAGACCCGAGCT	AGG
2002	1	CTAGCTCGGGTCTAGAGTTC	AGG
2012	1	TCTAGAGTTCAGGTCCAGTC	CGG
2013	1	CTAGAGTTCAGGTCCAGTCC	GGG

2014	1	TAGAGTTCAGGTCCAGTCCG	GGG
2015	-1	CCTGACCTCGGACCCCGGAC	TGG
2020	-1	CAGATCCTGACCTCGGACCC	CGG
2021	1	CAGGTCCAGTCCGGGGTCCG	AGG
2026	1	CCAGTCCGGGGTCCGAGGTC	AGG
2027	-1	ACGAACCCAGATCCTGACCT	CGG
2032	1	CGGGGTCCGAGGTCAGGATC	TGG
2033	1	GGGGTCCGAGGTCAGGATCT	GGG
2045	1	CAGGATCTGGGTTCGTGTTT	TGG
2046	1	AGGATCTGGGTTCGTGTTCT	GGG
2047	1	GGATCTGGGTTCGTGTTCTG	GGG
2053	1	GGGTTCGTGTTCTGGGGTTC	AGG
2057	1	TCGTGTTCTGGGGTTCAGGT	TGG
2058	1	CGTGTTCTGGGGTTCAGGTT	GGG
2062	1	TTCTGGGGTTCAGGTTGGGT	TGG
2063	1	TCTGGGGTTCAGGTTGGGTT	GGG
2068	1	GGTTCAGGTTGGGTTGGGTC	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2075	1	GTTGGGTTCGGGTCTGGAGTC	TGG
2076	1	TTGGGTTCGGGTCTGGAGTCT	GGG
2082	1	TGGGTCTGGAGTCTGGGTCT	AGG
2083	1	GGGTCTGGAGTCTGGGTCTA	GGG
2095	1	TGGGTCTAGGGTCCAGATTC	AGG
2096	-1	CCTGAACCCGATCCTGAATC	TGG
2100	1	CTAGGGTCCAGATTCAGGAT	CGG
2101	1	TAGGGTCCAGATTCAGGATC	GGG
2107	1	CCAGATTCAGGATCGGGTTC	AGG
2113	1	TCAGGATCGGGTTCAGGTTA	AGG
2131	1	TAAGGTTTGAGTCTGAGTCC	AGG
2137	1	TTGAGTCTGAGTCCAGGTAT	AGG
2138	-1	TCCCGACCAGAACCTATACC	TGG
2143	1	CTGAGTCCAGGTATAGGTTC	TGG
2147	1	GTCCAGGTATAGGTTCTGGT	CGG
2148	1	TCCAGGTATAGGTTCTGGTC	GGG
2176	1	AGTTCGAGAGTTTGAATTCA	AGG
2186	1	TTTGAATTCAAGGTCCAATT	TGG
2189	-1	GAACCTCATCCAACCTCAAAT	TGG
2192	1	TTCAAGGTCCAATTTGGAGT	TGG
2209	1	AGTTGGATGAGTTCATGTCA	TGG
2275	-1	TTTAAAATTTTAATAGTGTT	TGG
2391	1	ATTCATAATTTTAAATTAG	AGG
2392	1	TTCATAATTTTAAATTAGA	GGG
2408	-1	TTATTTTATCTTACTTATA	GGG
2409	-1	ATTATTTTATCTTACTTAT	AGG

2520	-1	TTTACTGTACCGAATATTCA	CGG
2522	1	TTGTAGTTACCGTGAATATT	CGG
2537	1	ATATTCGGTACAGTAAATTA	AGG
2541	1	TCGGTACAGTAAATTAAGGA	TGG
2622	-1	ATATATAAAAAATATAAATTG	TGG
2653	1	TATATTATTAATCTAGATAA	TGG
2705	-1	ATAATTATACTATATATTAT	AGG
2735	1	TTATAATAATTATACATGTT	TGG
2750	1	ATGTTTGGCAATTTCAATTT	AGG
2754	1	TTGGCAATTTCAATTTAGGT	TGG
2770	1	AGGTTGGTGA CTGATATTCC	TGG
2777	-1	AAGCTTGGCCCGGTAGTTCC	AGG
2779	1	ACTGATATTCCTGGA ACTAC	CGG
2780	1	CTGATATTCCTGGA ACTACC	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2787	-1	CGGCTCACCGAAGCTTGGCC	CGG
2791	1	GGA ACTACCGGGCCAAGCTT	CGG
2792	-1	ATGAACGGCTCACCGAAGCT	TGG
2807	-1	GTATTATTATGAAGTATGAA	CGG
2878	1	ACGCTGTAAACAAAATAGTG	CGG
2980	1	ATTAATTGTTTATTATGTGT	AGG
2988	1	TTTATTATGTGTAGGACAAG	AGG
2991	1	ATTATGTGTAGGACAAGAGG	TGG
3011	1	TGGTGTGCTACGAGAACCCG	CGG
3016	-1	GAATCCCCACCGTCGGCCGC	GGG
3017	-1	TGAATCCCCACCGTCGGCCG	CGG
3018	1	CTACGAGAACCCGCGGCCGA	CGG
3021	1	CGAGAACCCGCGGCCGACGG	TGG
3022	1	GAGAACCCGCGGCCGACGGT	GGG
3023	1	AGAACCCGCGGCCGACGGTG	GGG
3023	-1	TACCGATGAATCCCCACCGT	CGG
3032	1	GGCCGACGGTGGGGATT CAT	CGG
3053	1	GGTATGTATTTGTGTTG TTC	CGG
3060	1	ATTTGTGTTGTTCCGGCAAT	TGG
3061	1	TTTGTGTTGTTCCGGCAATT	GGG
3061	-1	CCGTTTGCCTTCCCAATTGC	CGG
3065	1	TGTTGTTCCGGCAATTGGGA	AGG
3072	1	CCGGCAATTGGGAAGGCAAA	CGG
3084	1	AAGGCAAACGGTGTTTCGCGC	CGG
3085	1	AGGCAAACGGTGTTTCGCGCC	GGG
3086	1	GGCAAACGGTGTTTCGCGCCG	GGG
3089	1	AAACGGTGTTTCGCGCCGGGG	TGG
3092	-1	TTGAAGTTCTGACGCCACCC	CGG
3117	-1	ATAAAGCTCAGCAAAGTCTT	TGG

3136	1	TTTGCTGAGCTTTATAACCT	TGG
3142	-1	GGGCAGCAACAGGCAAACCA	AGG
3152	-1	TTGTAATAAAGGGCAGCAAC	AGG
3162	-1	CCTTTGGCAGTTGTAATAAA	GGG
3163	-1	CCCTTTGGCAGTTGTAATAA	AGG
3173	1	CCCTTTATTACAACCTGCCAA	AGG
3174	1	CCTTTATTACAACCTGCCAAA	GGG
3178	-1	CCCCAGATCCTGTCTCCCTT	TGG
3181	1	TACAACCTGCCAAAGGGAGAC	AGG
3187	1	TGCCAAAGGGAGACAGGATC	TGG
3188	1	GCCAAAGGGAGACAGGATCT	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
3189	1	CCAAAGGGAGACAGGATCTG	GGG
3190	1	CAAAGGGAGACAGGATCTGG	GGG
3194	1	GGGAGACAGGATCTGGGGGA	AGG
3197	1	AGACAGGATCTGGGGGAAGG	AGG
3210	-1	ATATATATATGTCTATGTGG	AGG
3213	-1	TATATATATATGTCTATG	TGG
3296	1	GATTCTTAATGATGATATCA	TGG
3322	-1	AAAGCTTATTATATTAATAA	TGG
3379	1	AAGATGAAGAAGAAGAAAAC	AGG
3465	1	ATTATTGTACTTAATTCAGC	TGG

Tabla 8: Secuencias de ARNg (ARN guía) y PAM complementarios (motivo adyacente al protoespaciador) de CsSPGB (mencionadas como las SEQ ID NO:1339 – 1501 en el archivo de listado de secuencias).

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
93	-1	TTATATGTATAAATATCATA	TGG
108	1	ATGATATTTATACATATAAT	TGG
120	1	CATATAATTGGCCACACCCA	CGG
120	-1	CTACTGTAAATCCGTGGGTG	TGG
125	-1	TGTGGCTACTGTAAATCCGT	GGG
126	-1	CTGTGGCTACTGTAAATCCG	TGG
143	-1	GTATGCAAAAATAATTCTG	TGG
239	1	AAACACATACAAACAAACAA	AGG
242	1	CACATACAAACAAACAAAGG	AGG
254	-1	AGGCTGGAACCTTAACCTGGT	GGG
255	-1	GAGGCTGGAACCTTAACCTGG	TGG
258	-1	TAAGAGGCTGGAACCTTAAC	TGG
270	-1	CTTGTTATTTCTAAGAGGC	TGG
271	1	AAGTTAAGTTCCAGCCTCTT	AGG
274	-1	TTTCCTTGTTATTTCTAAG	AGG
282	1	CAGCCTCTTAGGAAATAACA	AGG
345	-1	AACATGTAAGTGGTATTTTA	AGG
355	-1	TTTATATCGAAACATGTAAG	TGG
379	-1	TGCTTTTGTTGGGGAAAGGA	AGG

383	-1	TGTATGCTTTTGTGGGGAA	AGG
388	-1	ATATATGTATGCTTTTGTG	GGG
389	-1	TATATATGTATGCTTTTGT	GGG
390	-1	ATATATATGTATGCTTTTGT	TGG
443	-1	TTGTTATGACTAATGAAGAG	GGG
444	-1	GTTGTTATGACTAATGAAGA	GGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
445	-1	AGTTGTTATGACTAATGAAG	AGG
477	-1	CACTACCTTAGCTTGAGAGA	GGG
478	-1	TCACTACCTTAGCTTGAGAG	AGG
483	1	AGAGACCCTCTCTCAAGCTA	AGG
505	1	GTAGTGAGATATATAGTGTT	AGG
515	1	ATATAGTGTTAGGAAAGTAA	AGG
550	1	TATATATACTCATATTA AAA	TGG
585	1	TCGTTGAAGACTACGCTTTT	TGG
586	1	CGTTGAAGACTACGCTTTT	GGG
621	-1	TGTTTTTAAGATTAATGAAG	AGG
664	-1	TTTTGCTTTCTTCTATTTT	GGG
665	-1	ATTTTGCTTTCTTCTATTTT	GGG
666	-1	TATTTTGCTTTCTTCTATTT	TGG
727	1	TAGTTAATAACAACTTTACC	TGG
734	-1	ACTTAGAAGAAGGCAAAACC	AGG
744	-1	AAAATGAAAGACTTAGAAGA	AGG
794	-1	ACAGGCATATACAAATGAGC	TGG
812	1	ATTTGTATATGCCTGTAAAT	AGG
812	-1	TTTTTTTGTACCTATTTAC	AGG
841	-1	TTCTTAGAGGGTATCTATCT	GGG
842	-1	ATTCTTAGAGGGTATCTATC	TGG
853	-1	TTTGATTAATATTCTTAGA	GGG
854	-1	CTTTGTATTAATATTCTTAG	AGG
897	-1	GTTTAATTTGCAAAAGTACA	TGG
980	1	ATAAGTTAATAACCCATTTG	AGG
981	-1	TTTACGTGCTTTCCTCAAA	GGG
982	-1	ATTTACGTGCTTTCCTCAA	TGG
1015	-1	TCGATCAAGAGCTAGAAAAC	AGG
1064	-1	CGGGGGACAGACGAAACAAG	AGG
1081	-1	TGAAAATGGGTCAGCTTCGG	GGG
1082	-1	CTGAAAATGGGTCAGCTTCG	GGG
1083	-1	ACTGAAAATGGGTCAGCTTC	GGG
1084	-1	AACTGAAAATGGGTCAGCTT	CGG
1094	-1	AAAGGTTCCAACTGAAAAT	GGG
1095	-1	AAAAGGTTCCAACTGAAAA	TGG
1098	1	AAGCTGACCCATTTTCAGTT	TGG
1112	-1	TAAACACTTTTGGGAAGAAA	AGG

1121	-1	CTTGTTTGTTAAACACTTTT	GGG
1122	-1	TCTTGTTTGTTAAACACTTTT	TGG
1138	1	AGTGTTTAACAAACAAGAAG	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1157	1	GAGGAATCTAAAGTCTCAAA	TGG
1158	1	AGGAATCTAAAGTCTCAAAT	GGG
1180	1	GCTTG TGAAAGATGAAACAT	TGG
1188	1	AAGATGAAACATTGGAGATG	TGG
1196	1	ACATTGGAGATGTGGTTGTT	TGG
1204	1	GATGTGGTTGTTTGATGCA	AGG
1208	1	TGGTTGTTTGGATGCAAGGA	TGG
1213	1	GTTTGGATGCAAGGATGGAT	CGG
1218	1	GATGCAAGGATGGATCGGTG	AGG
1233	-1	CCTGAGTTTCCATTTCTCGA	TGG
1235	1	GTGAGGCTTCCATCGAGAAA	TGG
1244	1	CCATCGAGAAATGGAACTC	AGG
1245	1	CATCGAGAAATGGAACTCA	GGG
1257	-1	ACAGCATTGAGCTTGAATTC	TGG
1274	1	TTCAAGCTCAATGCTGTAAG	AGG
1280	1	CTCAATGCTGTAAGAGGCTG	AGG
1286	1	GCTGTAAGAGGCTGAGGCAG	AGG
1301	-1	CTCCGGACAGTACTCTGTTT	GGG
1302	-1	TCTCCGGACAGTACTCTGTT	TGG
1310	1	GACCCAAACAGAGTACTGTC	CGG
1316	1	AACAGAGTACTGTCCGGAGA	CGG
1318	-1	CCCTCCTCCAGCTCCGTCTC	CGG
1322	1	GTA CTGTCCGGAGACGGAGC	TGG
1325	1	CTGTCCGGAGACGGAGCTGG	AGG
1328	1	TCCGGAGACGGAGCTGGAGG	AGG
1329	1	CCGGAGACGGAGCTGGAGGA	GGG
1336	1	CGGAGCTGGAGGAGGGACCA	TGG
1339	1	AGCTGGAGGAGGGACCATGG	TGG
1342	-1	TGATCGACCTCCGACCACCA	TGG
1343	1	GGAGGAGGGACCATGGTGGT	CGG
1346	1	GGAGGGACCATGGTGGTCGG	AGG
1363	1	CGGAGGTCGATCAGTGCAAA	AGG
1364	1	GGAGGTCGATCAGTGCAAAA	GGG
1383	1	AGGGTCTTGCTAAAAAGTCT	TGG
1398	1	AGTCTTGGTAGATCATGTTT	CGG
1405	1	G TAGATCATGTTTCGGTAGT	TGG
1410	1	TCATGTTTCGGTAGTTGGTG	TGG
1436	1	TTATTGATGTTGTTGAGTTG	TGG
1439	1	TTGATGTTGTTGAGTTGTGG	TGG
1442	1	ATGTTGTTGAGTTGTGGTGG	TGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
1445	1	TTGTTGAGTTGTGGTGGTGG	TGG
1448	1	TTGAGTTGTGGTGGTGGTGG	TGG
1514	-1	CAAAAGCCATGGAAGAAGTT	TGG
1519	1	ATCTTTCCAACTTCTTCCA	TGG
1525	-1	TCCTTCTACAACAAAAGCCA	TGG
1535	1	TCCATGGCTTTTGTGTAGA	AGG
1597	1	AAAAGACTTCTTTGAAGAAG	AGG
1620	-1	AGCTTAAGCTTACACAACAC	AGG
1657	1	ATTTCTTCTTCTTCTTCTC	TGG
1713	-1	ATACTAATGTCGTCGTCATC	AGG
1735	1	CGACATTAGTATAAGACTGA	TGG
1736	1	GACATTAGTATAAGACTGAT	GGG
1822	1	AGAGATGAGAAGAGTAGAGC	TGG
1850	1	GTAGCTACAGCTATGTATGA	AGG
1888	1	AGAGAGAGAAGAAGAAGAAC	TGG
1914	1	ATATTGTATTGAGCCACGCG	CGG
1916	-1	AAACAGTACTCTTCCGCGCG	TGG
1934	1	CGGAAGAGTACTGTTTTTAT	TGG
1935	1	GGAAGAGTACTGTTTTTATT	GGG
1938	1	AGAGTACTGTTTTTATTGGG	AGG
1959	-1	CCTATAAGTCTCTTTAATTT	GGG
1960	-1	CCCTATAAGTCTCTTTAATT	TGG
1970	1	CCCAAATTAAGAGACTTAT	AGG
1971	1	CCAAATTAAGAGACTTATA	GGG
1976	1	TTAAAGAGACTTATAGGGCC	TGG
1983	-1	AAGTATACAGTTTACAGGCC	AGG
1988	-1	GACTGAAGTATACAGTTTAC	AGG
2010	-1	TGTGGAACAGCAGATGAGAT	TGG
2028	-1	TTTAGATTCTCATAATGTTG	TGG
2042	1	CAACATTATGAGAATCTAAA	AGG
2062	-1	CACTGTAAAAAAGGAGTGGT	GGG
2063	-1	GCACTGTAAAAAAGGAGTGG	TGG
2066	-1	GTGGCACTGTAAAAAAGGAG	TGG
2071	-1	GGTTAGTGGCACTGTAAAAA	AGG
2085	-1	ATATATAGGGGGATGGTTAG	TGG
2092	-1	CATGTACATATATAGGGGGA	TGG
2096	-1	CAAGCATGTACATATATAGG	GGG
2097	-1	ACAAGCATGTACATATATAG	GGG
2098	-1	TACAAGCATGTACATATATA	GGG
2099	-1	CTACAAGCATGTACATATAT	AGG

Posición	Hebra	Secuencia	PAM
2163	-1	AAGACATAATGCTAAGTAAA	TGG
2192	-1	TAGTCAATTAATCTTATTCA	TGG

2225	1	AATTTGCAACTACTCTCTCA	AGG
2228	1	TTGCAACTACTCTCTCAAGG	TGG
2229	1	TGCAACTACTCTCTCAAGGT	GGG
2245	1	AGGTGGGTTGTGTATTAATT	AGG
2250	1	GGTTGTGTATTAATTAGGCC	TGG
2257	-1	CAATATTCCACATTACACC	AGG
2261	1	AATTAGGCCTGGTGTGAATG	TGG
2269	1	CTGGTGTGAATGTGGAATAT	TGG
2283	1	GAATATTGGCATATATAGTA	TGG
2376	1	CTTTGTTTTGAGATTTTAAA	AGG
2377	1	TTTGTTTTGAGATTTTAAAA	GGG
2392	-1	AACTTTGCCTGTTTCATTCA	TGG
2396	1	AGGGTGTCCATGAATGAAAC	AGG
2416	1	AGGCAAAGTTTGTCTTTGAC	AGG
2421	1	AAGTTTGTCTTTGACAGGAT	TGG
2433	1	GACAGGATTGGTCTGAATTT	TGG