

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 083**

51 Int. Cl.:

A01H 1/02 (2006.01)
A01H 1/04 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
C12N 9/16 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
A01H 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2008 E 08773917 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2015 EP 2167667**

54 Título: **Planta de Brassica que comprende alelos mutantes de acil graso-ACP tioesterasa**

30 Prioridad:

09.07.2007 EP 07075568
10.07.2007 US 958945 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.09.2015

73 Titular/es:

BAYER CROPSOURCE NV (100.0%)
J.E. Mommaertsiaan 14
1831 Diegem, BE

72 Inventor/es:

LAGA, BENJAMIN;
DEN BOER, BART y
LAMBERT, BART

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 545 083 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Planta de *Brassica* que comprende alelos mutantes de acil graso-ACP tioesterasa

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de los productos agrícolas, especialmente a plantas de cultivo que comprenden composiciones de lípidos de semillas novedosas. Se describen tanto moléculas no mutantes como mutante de ácidos nucleicos que codifica proteínas acil graso-proteína transportadora de acilo (ACP) tioesterasa B de *Brassica* (FATB) y las proteínas como tales. También se proporcionan plantas, tejido y semillas de *Brassica* que comprenden al menos tres alelos de *fatB* mutantes (de al menos tres genes de *Brassica* que codifican proteínas FATB diferentes) en su genoma, por lo que la composición o perfil de ácidos grasos del aceite de semillas está significativamente alterada. Además, en el presente documento se describen métodos para generar plantas de *Brassica* que producen semillas que comprenden aceite de semillas que tienen niveles de ácidos grasos saturados reducidos, ya que es aceite de semillas obtenible de tales semillas. Tal aceite de semillas no requiere mezcla o modificación adicional y puede marcarse como “bajo en saturados” o como que contiene “no saturados” según la Agencia del Medicamento (FDA) del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (HHS). Adicionalmente se describen herramientas de detección (kits) y métodos para detectar la presencia de uno o más alelos *fatB* mutantes y/o *FATB* no mutantes en plantas, tejido(s) o semillas de *Brassica*, además de métodos para transferir uno o más alelos *fatB* mutantes y/o *FATB* no mutantes a otras plantas de *Brassica* y métodos para combinar diferentes alelos *fatB* y/o *FATB* en plantas. En particular, métodos para combinar un número adecuado de alelos *fatB* mutantes, que codifican proteínas FATB no funcionales y/o proteínas FATB que tienen actividad *in vivo* significativamente reducida tal que se reduzca significativamente la cantidad relativa de ácidos grasos saturados totales y/o de ácidos grasos saturados específicos que se acumulan en aceite de semillas de *Brassica*. Además, se describen usos de las plantas, o partes de las mismas, y/o progenie de las mismas, semillas y aceites de semillas y los métodos y/o kits de la invención.

Antecedentes de la invención

Los aceites vegetales son cada vez más importantes económicamente debido a que se usan ampliamente en dietas humanas y animales y en muchas aplicaciones industriales. Sin embargo, la composición de ácidos grasos de estos aceites frecuentemente no es óptima para muchos de estos usos. Debido a que se necesitan aceites de especialidad con composición de ácidos grasos particular para tanto fines nutricionales como industriales, hay un interés considerable en modificar la composición del aceite por cultivo de plantas y/o por nuevas herramientas moleculares de biotecnología de plantas (véase, por ejemplo, Scarth y Tang, 2006, Crop Science 46:1225-1236, para la modificación de aceite de *Brassica*).

El rendimiento específico y los atributos para la salud de los aceites comestibles se determinan en gran medida por su composición de ácidos grasos. La mayoría de los aceites vegetales derivados de variedades de plantas comerciales están compuestos principalmente de ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1), linoleico (18:2) y linolénico (18:3). Los ácidos palmítico y esteárico son, respectivamente, ácidos grasos saturados de 16 y 18 carbonos de longitud. Los ácidos oleico, linoleico y linolénico son ácidos grasos insaturados de 18 carbonos de longitud que contienen uno, dos y tres dobles enlaces, respectivamente. El ácido oleico se denomina ácido graso mono-insaturado, mientras que los ácidos linoleico y linolénico se denominan ácidos grasos poli-insaturados.

Las especies oleaginosas de *Brassica*, como *Brassica napus* (*B. napus*) y *Brassica juncea* (*B. juncea*), comúnmente conocidas como semilla de colza y mostaza, son ahora el segundo cultivo oleaginoso más grande después de la soja (FAO, 2005; Raymer (2002) en J. Janick y A. Whipkey (ed.) Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA Raymer, p. 122-126). El aceite de colza producido por cultivares oleaginosos de *Brassica* tradicionales (*B. napus*, *B. rapa* y *B. juncea*) (Shahidi (1990) en Shahidi (ed.) Canola and rapeseed: Production, chemistry, nutrition, and processing technology. Van Nostrand Reinhold, New York, p. 3-13; Sovero (1993) en J. Janick y J.E. Simon (ed.) New crops. John Wiley & Sons, New York, p. 302-307), normalmente tuvieron una composición de ácidos grasos del 5 % de ácido palmítico (C16:0), 1 % de ácido esteárico (C18:0), 15 % de ácido oleico (C18:1), 14 % de ácido linoleico (C18:2), 9 % de ácido linolénico (C18:3) y 45 % de ácido erúico (C22:1) en peso basados en el contenido de ácidos grasos totales (llamado en el presente documento después % en peso) (Ackman (1990) en Shahidi (ed.) Canola and rapeseed: Production, chemistry, nutrition, and processing technology. Van Nostrand Reinhold, New York, p. 81-98). El ácido erúico es un ácido graso nutricionalmente no deseable y se ha reducido a niveles muy bajos en aceite de *Brassica* para usos comestibles. La cantidad relativa típica de ácidos grasos saturados basados en los ácidos grasos totales en el aceite de semillas está entre aproximadamente el 6,5 % y el 7,5 %, por lo que la mayoría es ácido palmítico y ácido esteárico.

En Canadá, los científicos de las plantas centraron sus esfuerzos en crear las llamadas variedades “dobles bajas” que fueron bajas en ácido erúico en el aceite de semillas y bajas en glucosinolatos en la harina sólida que queda después de la extracción del aceite (es decir, un contenido de ácido erúico inferior al 2 % en peso y un contenido de glucosinolatos inferior a 30 micromoles por gramo de la harina libre de aceite). Estas formas de mayor calidad de colza desarrolladas en Canadá se conocen como canola. El aceite de canola se caracteriza por un nivel

relativamente bajo de ácidos grasos saturados (en promedio aproximadamente el 7 % en peso), un nivel relativamente alto de ácidos grasos mono-insaturados (aproximadamente el 61 % en peso) y un nivel intermedio de ácidos grasos poli-insaturados (aproximadamente el 32 % en peso), con un buen equilibrio entre ácido linoleico, es decir, un ácido graso omega-6 (aproximadamente el 21 % en peso) y ácido alfa-linolénico, es decir, un ácido graso omega-3 (aproximadamente el 11 % en peso).

Un motivo importante para el actual interés en la grasa dietética se refiere a la evidencia que liga los altos consumos de grasas, especialmente grasa saturada, con enfermedad cardíaca coronaria. Altos niveles de colesterol en sangre, en particular el colesterol "malo" (lipoproteína de baja densidad o LDL), constituyen un factor de riesgo importante en la enfermedad cardíaca coronaria. Varios estudios sugieren que dietas altas en grasa mono-insaturada y bajas en grasa saturada pueden reducir el colesterol "malo" (lipoproteína de baja densidad o LDL) mientras que mantienen el colesterol "bueno" (lipoproteína de alta densidad o HDL) (Nicolosi y Rogers, 1997, Med. Sci. Sports Exerc. 29:1422-1428).

Las recomendaciones de nutrición en América del Norte y Europa exigen una reducción en el consumo de grasas totales al 30 % o menos y una reducción en el consumo de grasas saturadas a menos del 10 % de la energía total (Artículo 21 del C.F.R. 101.75 (b) (3)) (en comparación con un consumo de grasas saturadas de aproximadamente el 15 % al 20 % del consumo calórico total en la mayoría de las naciones industrializadas). Para facilitar la conciencia del consumidor, las actuales directrices de etiquetado publicadas por la Agencia del Medicamento (FDA) del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (HHS) requieren ahora que los niveles de ácidos grasos saturados totales sean 1 g o menos de ácidos grasos saturados por cantidad de referencia normalmente consumida y no superior al 15 por ciento de calorías de ácidos grasos saturados para recibir la etiqueta de "bajo en grasas saturadas" o "bajo en saturadas" (Artículo 21 del C.F.R. 101.62 (c) (2)) y menos de 0,5 g de grasa saturada y menos de 0,5 g de ácido graso trans (un tipo de ácido graso insaturado producido por hidrogenación (parcial) de aceites vegetales y considerado poco saludable ya que aumenta el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria, a pesar de ser insaturado) por cantidad de referencia normalmente consumida y por etiqueta que sirve para recibir la etiqueta "sin (o cero) en grasas saturadas" o "sin (o cero) en saturadas" (Artículo 21 del C.F.R. 101.62 (c) (1)). Mediante cualquier medio el contenido de ácidos grasos saturados totales (el peso en porcentaje de ácidos grasos saturados basado en la cantidad total de ácidos grasos en el aceite), es decir, la suma del contenido de ácido láurico (C12:0; ácido dodecanoico), ácido mirístico (C14:0; ácido tetradecanoico), ácido palmítico (C16:0; ácido hexadecanoico), ácido esteárico (C18:0; ácido octadecanoico), ácido araquídico (C20:0; ácido eicosanoico), ácido behénico (C22:0; ácido docosanoico) y ácido lignocérico (C24:0; ácido tetracosanoico), de aceites de planta necesita ser inferior al 7 % en peso para recibir la etiqueta de "bajo en saturadas" e inferior al 3,5 % en peso para recibir la etiqueta de "sin saturadas" (basándose en una cantidad de referencia de 15 ml o 14 g de aceite – Artículo 21 del C.F.R. 101.12).

El aceite de canola contiene solo aproximadamente el 7 % en peso de ácidos grasos saturados, en comparación con el nivel de ácidos grasos saturados en otros aceites vegetales comestibles comúnmente usados tales como aceite de alazor (8 % en peso), aceite de semillas de lino (9 % en peso), aceite de girasol (12 % en peso), aceite de maíz (13 % en peso), aceite de oliva (15 % en peso), aceite de soja (15 % en peso), aceite de cacahuete (19 % en peso), aceite de semillas de algodón (27 % en peso), aceite de palma (51 % en peso) y aceite de coco (91 % en peso) (Fuente POS Pilot Plant Corporation). Se usaron diversos enfoques para intentar disminuir adicionalmente este nivel de ácidos grasos saturados.

La modificación de aceites vegetales puede efectuarse químicamente: la patente de EE.UU. n° 4.948.811 describe composiciones de aceite para ensaladas/de cocina de triglicéridos en las que el contenido de ácidos grasos del triglicérido del aceite comprende menos de aproximadamente el 3 % en peso de ácidos grasos saturados obtenidos por reacción química o por separación física de los saturados. Sin embargo, la modificación química de aceites vegetales para reducir el nivel de ácidos grasos saturados no es solo más cara que la extracción del aceite vegetal de plantas oleaginosas de *Brassica* (o cualquier otra planta oleaginosa) modificadas para proporcionar un aceite vegetal endógeno comestible mejorado como se ha desvelado presentemente, sino que también podría ser una forma deseada de mejorar la salubridad de aceites para consumo humano debido a la posible presencia involuntaria de residuos de los productos químicos usados y de supuestos productos secundarios.

Otra posibilidad de modificar la composición de ácidos grasos es usando ingeniería genética. Por ejemplo, la solicitud de patente de EE.UU. 2004/0132189 describe la reducción del nivel de ácidos grasos saturados en líneas de *Brassica* que co-expresan las secuencias de la proteína transportadora de beta-cetoacil-acilo sintasa I y IV de *Cuphea pulcherrima*, además de una delta-9 desaturasa de alazor a aproximadamente el 3 % en peso y por debajo del 3,4 % en peso en comparación con un nivel de ácidos grasos saturados en líneas de control no transformadas de aproximadamente el 6,0 % en peso. El documento WO06/042049 describe plantas de *Brassica* con niveles "sin saturados" o reducidos en saturados de ácidos grasos en sus semillas que expresan un gen de delta-9 desaturasa. Sin embargo, desventajas de los enfoques transgénicos para la comercialización son las necesidades de autorización reglamentaria y la aceptación variable en diferentes partes del mundo.

La composición de ácidos grasos de aceites vegetales también puede modificarse mediante técnicas de cultivo tradicionales. Estas técnicas utilizan germoplasma existente como fuente de mutaciones que se producen

naturalmente que afectan la composición de los ácidos grasos. Por ejemplo, Raney et al. (1999, In Proc. 10th Int. Rapeseed Cong.: New horizons for an old crop, Canberra, Australia) describen poblaciones de cultivo derivadas de cruces interespecíficos de *B. napus* con *B. rapa* y *B. oleracea* en las que el nivel de ácidos grasos saturados, expresado como la suma de ácido mirístico, palmítico, esteárico, araquidónico, behénico y lignocérico, disminuyó a menos del 6 % en peso y en las que el nivel de ácidos grasos saturados, expresado como la suma de ácido mirístico, palmítico y esteárico, disminuyó a menos del 5 % en peso.

Se han hecho intentos por aumentar el conjunto de mutaciones disponibles de las que seleccionar características deseadas usando mutágenos. Por ejemplo, el documento WO 91/15578 describe plantas de colza que tras la autopolinización pueden formar semillas de colza que dan aceite que tiene un contenido de ácidos grasos saturados de no superior al 4 % en peso en forma de ácido palmítico y esteárico que puede formarse por mutagénesis química seguida de selección.

En plantas, la síntesis de ácidos grasos *de novo* se localiza exclusivamente en el estroma de plástidos, en los que las cadenas de acilo se unen covalentemente con una proteína transportadora de acilo (ACP) soluble durante los ciclos de extensión. El alargamiento de la cadena de carbono puede terminarse transfiriendo el grupo acilo a glicerol-3-fosfato, reteniéndolo así en la vía de biosíntesis de lípidos de plástidos "procariotas". Alternativamente, tioesterasas específicas pueden interceptar la vía procariota (de plástidos), hidrolizando la acil-ACP recientemente formada en un ácido graso libre y ACP. Posteriormente, el ácido graso libre sale de los plástidos y se suministra a la vía de biosíntesis de lípidos "eucariotas" citoplásmica. La última se localiza en el retículo endoplásmico y es responsable de la formación de fosfolípidos, triglicéridos y otros lípidos neutros. Por tanto, hidrolizando acil-ACP y liberando el ácido graso, acil-ACP tioesterasas catalizan la primera etapa comprometida en la vía de biosíntesis de lípidos eucariotas en células vegetales y desempeñan una función crucial en la distribución de grupos acilo sintetizados *de novo* entre las dos vías (Löhden y Frentzen, 1988, Plant 176:506-512; Browse y Somerville, 1991, Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 42: 467-506; Gibson et al., 1994, Plant Cell Environ 17: 627-637).

Jones et al. (1995, Plant cell 7:359-371) y Voelker et al. (1997, Plant Physiology 114, 669-677) describen dos clases de genes de tioesterasa distintas, pero relacionadas, en plantas superiores, llamadas *FATA* y *FATB*. Estas dos clases de tioesterasa pueden distinguirse por comparación de secuencias y/o por su especificidad/preferencia por sustrato. Las tioesterasas *FATA* (también llamadas tioesterasas de clase I) muestran una clara preferencia por acil-oleoil C18:1-ACP con solo actividad menor hacia acil C18:0- y acil C16:0-ACP (es decir, la preferencia por acilo es 18:1 >> 18:0 >> 16:0). A diferencia, miembros de *FATB* (también llamados tioesterasas de la clase II) prefieren grupos acil-ACP saturados como sustrato, y longitud de cadena del sustrato que varía enormemente de acil C8 a C18-ACP (Mayer y Shanklin, 2005, J. Biol. Chem. 280(5): 3621-3627). Además, los miembros de *FATB* pueden subdividirse adicionalmente en dos grupos funcionales. Algunas enzimas *FATB* son específicas para acil-ACP saturadas en el intervalo de C8 a C14 (tioesterasas que prefieren acil-ACP de cadena media) y se encuentran en especies productoras de cadena media, con expresión limitada a tejidos productores de cadena media. Enzimas de un segundo grupo de *FATB* que prefieren acil C14 a C18-ACP (predominantemente palmitoil-ACP, por ejemplo enzimas con una preferencia de C16:0 > C18:1 > C18:0; tioesterasas que prefieren acil-ACP de cadena larga) están probablemente presentes en todas las partes de planta importantes y no están limitadas a especies productoras de cadena media (Jones et al., 1995, Plant cell 7:359-371). Por qué las plantas tienen estos tipos de tioesterasas diferentes y cuáles son sus funciones individuales sigue estando todavía poco claro.

Se aislaron genes de *FATA* de varias especies de plantas, que incluyen especies de *Brassica*. Por ejemplo, las patentes de EE.UU. nº 5.530.186, nº 5.530.186 y nº 5.945.585 describen genes de *FATA* de soja; Hellyer et al. (1992, Plant Mol. Biol. 20:763-780) describen enzimas de *FATA* de *Brassica napus*; Loader et al. (1993, Plant Mol. Biol. 23(4): 769-778) describen el aislamiento y caracterización de dos clones de acil-ACP tioesterasa de una biblioteca de ADNc de embriones de *Brassica napus* usando oligonucleótidos derivados de datos de las secuencias de proteínas de oleoil-ACP tioesterasa de *B. napus*; y Mandal et al. (2000, Bioch. Soc. Transactions 28(6): 967-968) describen la clonación de secuencias de genes de acil-ACP tioesterasa de *B. juncea* que muestran una homología con los genes de *FATA* de diferentes especies.

Se aislaron genes de *FATB* que codifican enzimas de *FATB* específicas para acil-ACP saturadas en el intervalo de C8 a C14 (tioesterasas que prefieren acil-ACP de cadena media) de varias especies de plantas productoras de cadenas medias, como se describe en las referencias a continuación:

El documento WO91/16421 describe el aislamiento de una tioesterasa que prefiere lauroil (C12:0)-ACP de bahía de California (*Umbellularia californica*), una tioesterasa que prefiere C10:0 acil-ACP de alcanfor (*Cuphea hookeriana*) y una tioesterasa que prefiere estearoil (C18:0)-ACP de cártamo (*Carthamus tinctorius*) y la expresión de la tioesterasa de bahía de California en semilla de *Brassica*, produciendo un elevado nivel de laurato en comparación con el nivel en semilla de *Brassica* no transgénica.

El documento WO92/20236 describe el aislamiento de tioesterasas que prefieren acil C8:0 a C14:0-ACP y la expresión de una tioesterasa que prefiere lauroil (C12:0)-ACP de la bahía de California en *Arabidopsis* y *Brassica campestris*, produciendo elevados niveles de laurato.

- Voelker et al. (1992, Science 257: 72-74) describen la expresión de un ADNc de FATB (Uc FATB1) que codifica una lauroil (C12:0)-ACP tioesterasa de bahía de California, una especie que acumula ácido cáprico (C10:0) y láurico (C12:0) en el aceite de semillas, en semillas de *Arabidopsis thaliana*, que normalmente no acumulan laureato, produciendo la acumulación de laurato en semillas maduras. Voelker et al. (1996, Plant J. 9:229-241) describen la transformación del mismo transgén de FATB en *Brassica napus*, produciendo la acumulación de laurato a casi el 60 % en moles de los grupos acilo de triglicérido.
- Eccleston y Ohlrogge (1998, Plant cell 10:613-621) describen la expresión de una acil C12:0-ACP tioesterasa de *Umbellularia californica* en semillas de *Brassica napus* que conduce a un aceite de semillas que contiene 1,8 % en moles al 59,6 % en moles de laurato (C12:0).
- El documento WO94/10288 describe el aislamiento de tioesterasas que prefieren acil C8:0 a C10:0-ACP.
- Martini et al. (1995, en Proc. 9th Int. Rapeseed Cong, Cambridge, UK, p. 461-463) describen que dos genes de FATB de *Cuphea lanceolata*, transformados por separado en *B. napus*, produjeron la acumulación de ácido caprílico (C8:0) y cáprico (C10:0) en aceite de semillas de *Brassica* a bajos niveles.
- Dehesh et al. (1996, Plant J. 9(2):167-172) describen la expresión de un ADNc de FATB (Ch FATB2) del arbusto mejicano *Cuphea hookeriana*, que acumula hasta el 75 % en moles de caprilato (C8:0) y caprato (C10:0) en su aceite de semillas, en semillas de canola transgénica, que normalmente no acumula estos ácidos grasos, produciendo la acumulación de caprilato (C8:0), caprato (C10:0) y laurato (C12:0) hasta el 11, 27 y 2 % en moles, respectivamente.
- Se aislaron genes de FATB que codifican enzimas de FATB específicas para/que prefieren acil-ACP saturadas en el intervalo de C14 a C 18 (tioesterasas que prefieren acil-ACP de cadena larga) de varias especies de planta:
- El documento WO95/13390 describe el aislamiento de secuencias de palmitoil (C16:0)-ACP tioesterasa de puerro, mango, olmo y alcanfor y su uso en niveles crecientes y decrecientes de ácidos grasos saturados en soja y canola por transformación genética.
- Jones et al. (1995, Plant cell 7:259-371) describen la expresión de un ADNc de palmitoil (C16:0)-ACP tioesterasa de alcanfor (Ch FATB1) en plantas transgénicas de *Brassica napus* produciendo un aumento de los niveles de palmitato (C16:0) del 6 % en moles hasta el 35 % en moles.
- Voelker et al. (1997, Plant Physiol. 114:669-677) describen la expresión de una acil C14:0 a C18:0-ACP tioesterasa de nuez moscada (*Myristica fragrans*), que acumula predominantemente aceite que contiene miristato (14:0), en semillas de *Brassica napus*, conduciendo a un aceite de semillas enriquecido en saturados C14 a C18.
- Voelker et al. (1997, Plant Physiol. 114:669-677) también describen la expresión de una acil C10:0 y C16:0-ACP tioesterasa de olmo (*Ulmus americana*), que acumula predominantemente aceite que contiene caprato (10:0), en semillas de *Brassica napus*, conduciendo a un aceite de semillas enriquecido en saturados C10 a C18, predominantemente palmitato (C16:0), miristato (C14:0) y caprato (C10:0).
- El documento WO96/23892 describe secuencias de miristoil (C14:0)-ACP tioesterasa de *Cuphea palustris*, alcanfor y nuez moscada y su uso en la producción de miristato en células vegetales.
- El documento WO96/06936 describe soja y ADNc de palmitoil (C16:0)-ACP tioesterasa de canola y su uso en niveles crecientes y decrecientes de ácidos grasos saturados en soja y canola por transformación genética.
- Dörmann et al. (2000, Plant Physiol 123:637-643) describen la expresión en exceso de un ADNc de acil de cadena larga-ACP de *Arabidopsis* (AtFATB1) bajo un promotor específico de semilla en *Arabidopsis*, produciendo la acumulación de altas cantidades de palmitato (C16:0) en semillas (del 10 % en moles en control no mutante al 38,6 % en moles). La expresión antisentido del ADNc de FATB1 de *Arabidopsis* bajo el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor produjo una fuerte reducción del contenido de palmitato de semillas (del 11 % en moles en control no mutante al 6 % en moles) y contenido de palmitato en las flores y solo cambios menores en ácidos grasos de las hojas y raíces.
- Bonaventure et al. (2003, Plant cell 15:1020-1033) describen que el contenido de palmitato (C16:0) de glicerolípidos de un mutante de *Arabidopsis* con una inserción de T-ADN en el gen de FATB (en *Arabidopsis* dos genes para FATA están presentes, pero solo un único gen para FATB; véase Mekhedov et al. 2000, Plant Physiol. 122:389-402; y Beisson et al. 2003, Plant Physiol. 132: 681-697) se redujo el 42 % en hojas, el 56 % en flores, el 48 % en raíces y el 56 % en semillas. Además, el estearato (C18:0) se redujo el 50 % en hojas y el 30 % en semillas. La tasa de crecimiento fue significativamente reducida en las semillas mutantes y producidas de plantas mutantes con baja viabilidad, germinación reducida y morfología de semillas alterada, que indica que FATB es esencial para el crecimiento de plantas y el desarrollo de semillas.

Bonaventure et al. (2004, Plant Physiol 135:1269-1279) describen que la tasa de síntesis de ácidos grasos en hojas de la planta *Arabidopsis* mutante inactivada en *FATB* transgénica aumenta el 40 %, produciendo aproximadamente la misma cantidad de palmitato exportado desde el plástido que en no mutantes, pero un aumento en la exportación de oleato de aproximadamente el 55 %.

Pandian et al. (2004, resumen de póster, 4th Int. Crop Sci. Cong.) informan del aislamiento de secuencias de genes de *FATB* de longitud completa de *B. napus* (número de acceso de GenBank DQ847275) y *B. juncea* (número de acceso de GenBank DQ856315), la construcción de una construcción de silenciamiento de genes de repeticiones invertidas (bajo el control de un promotor específico de semillas) con un fragmento conservado de 740 pb de una parte de la secuencia de *B. napus* que compartió más del 90 % de homología de secuencias con secuencias de *FATB* de *B. juncea* y *Arabidopsis thaliana*, pero menos del 40 % de homología con los genes de *FATA* de estas tres especies, y su transformación en *Arabidopsis thaliana*, *B. napus* y *B. juncea*. El objetivo es crear plantas transgénicas con contenido de ácido palmítico reducido en el aceite de semillas. La divulgación no enseña nada sobre el efecto de esta construcción de silenciamiento de genes sobre la eventual composición del aceite de semillas (no se desvelan resultados) o sobre métodos alternativos para generar plantas de *Brassica* con aceites de semillas bajos en saturados.

Mayer y Shanklin (2005, J. Biol. Chem. 280(5): 3621-3627) describen un modelo estructural de la proteína *FATB* de *Arabidopsis* en la que el dominio del extremo N contiene residuos que afectan la especificidad (véase también Mayer y Shanklin, 2007, BMC Plant Biology 7(1):1-11) y el dominio del extremo C contiene residuos catalíticos.

A pesar del hecho de que las secuencias de algunos genes *FATB* están disponibles en la materia, sigue existiendo la necesidad de entender completamente los genes y enzimas que participan en la producción y acumulación de ácidos grasos saturados en aceite de semillas y en el desarrollo de métodos (especialmente métodos no transgénicos) para reducir la cantidad relativa de ácidos grasos saturados totales y/o de ácidos grasos saturados específicos en las semillas, sin tener un efecto negativo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Hasta la fecha no están disponibles en la materia plantas de cultivo de *Brassica* (no transgénicas) que produzcan aceite de semillas que contengan significativamente menos del 7 % de ácidos grasos saturados. Sigue existiendo, por tanto, la necesidad de herramientas y métodos para desarrollar tales plantas y aceites como se describe en lo sucesivo en la descripción detallada, las figuras, los ejemplos y las reivindicaciones.

Resumen de la invención

Los inventores han encontrado que las plantas de *Brassica napus* comprenden 6 genes *FATB* diferentes y que los niveles de ácidos grasos saturados en plantas de *Brassica*, particularmente en el aceite de semillas de dichas plantas de *Brassica*, pueden controlarse controlando el número y/o tipos de genes/alelos de *FATB* que se "expresan funcionalmente" en semillas, es decir, que producen proteína *FATB* funcional (biológicamente activa). Combinando un número mínimo de alelos mutantes de los seis genes *FATB* ("alelos *fatB*"), mientras que se mantiene un número mínimo de alelos *FATB* no mutantes, produciendo un nivel mínimo de proteína *FATB* funcional, el nivel de ácidos grasos saturados en el aceite de semillas puede modificarse y especialmente las cantidades relativas de ácidos grasos saturados (especialmente la cantidad de ácido palmítico) se reducen significativamente. Se cree que se necesita un número mínimo de alelos *FATB* no mutantes para mantener la producción de una cantidad mínima de ácidos grasos saturados y/o de ácidos grasos saturados específicos en tejidos específicos para asegurar un crecimiento de planta y desarrollo de semillas normales.

Así, en un primer aspecto, la presente invención proporciona en una realización una planta de *Brassica* (y partes de la misma, tales como semillas) que comprende al menos tres alelos *FATB* mutantes en su genoma. También se describen plantas por las cuales los alelos *FATB* mutantes son alelos de al menos tres genes *FATB* diferentes seleccionados del grupo que consiste en *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3* y en las que las semillas de dicha planta producen un aceite de semillas que tiene igual o menos del 6 % en peso, 5 % en peso, 4 % en peso o 3,5 % en peso (tal como inferior o igual al 3 % en peso, 2 % en peso o 1 % en peso) de ácidos grasos saturados basados en la cantidad total de ácidos grasos en el aceite de semillas.

Se describen secuencias de ácidos nucleicos (aisladas) que codifican proteínas *FATB* no mutantes y/o mutantes, además de fragmentos de las mismas, y métodos de uso de estas secuencias de ácidos nucleicos para modificar la composición del aceite de semillas de *Brassica*. También se describen las propias proteínas y su uso.

La invención se refiere además a semillas de *Brassica*, a plantas de *Brassica* y partes de plantas que comprenden al menos tres alelos *fatB* (mutantes), y así una cantidad significativamente reducida de proteínas *FATB* funcionales en comparación con semillas, plantas y tejidos que comprenden alelos *FATB* que codifican las proteínas funcionales correspondientes. Las semillas comprenden aceite de semillas con una cantidad y/o composición relativa modificada de ácidos grasos saturados. En un aspecto, especialmente la cantidad de ácido palmítico (C16:0) se reduce significativamente en comparación con el aceite de semillas derivado de semillas que carecen de (al menos tres) alelos *fatB* mutantes (es decir, que en su lugar comprenden alelos *FATB* no mutantes).

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para producir aceite de semillas con una cantidad y/o

composición relativa modificada de ácidos grasos saturados, que puede obtenerse recogiendo semillas de una planta de *Brassica* según la presente invención y extrayendo el aceite de las semillas u obtenerse por extracción de una pluralidad de semillas de *Brassica* según la presente invención. También se describe el uso del aceite de semillas.

Adicionalmente se describen métodos para generar y seleccionar plantas, partes de plantas y semillas que contienen al menos tres de tales alelos *fatB* mutantes presentes en al menos tres loci diferentes en el genoma (es decir, en al menos tres loci diferentes de al menos tres genes *FATB* diferentes seleccionados del grupo que consiste en *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*), y para distinguir entre la presencia de alelos *fatB* mutantes y alelos *FATB* no mutantes en una planta o parte de planta. Así, se describen métodos (tales como mutagénesis y/o selección asistida por marcador) para generar y/o identificar alelos *fatB* o plantas o partes de planta que comprenden tales alelos y para combinar un número adecuado de alelos *fatB* y/o diferentes tipos de alelos *fatB* en una única planta, por lo que los niveles de ácidos grasos saturados del aceite de semillas de esta planta se reducen significativamente.

También se proporcionan métodos para usar las plantas, pluralidad de semillas, partes de las plantas, etc., de la invención, para obtener aceite de semillas "bajo en saturadas" o "sin saturadas" de semillas de *Brassica* trituradas. Como se usa en el presente documento, "producto de planta" incluye cualquiera derivado de una planta de la invención, que incluye partes de las plantas tales como semillas, harina de semillas, torta de semillas, grasas o aceites de semillas.

Leyendas de las figuras

Figura 1 - Gráfico que muestra los resultados de la RT-PCR semi-cuantitativa del Ejemplo 3. Se indica el momento exacto (11, 21 y 34 días después de la antesis) (eje x) y el nivel de expresión de cada gen *FATB* en semilla (basado en 10 ng de ARN) expresado como la cantidad de ADN genómico (en ng) que generó una intensidad de banda comparable a la intensidad de banda del producto de RT-PCR específico del gen *FATB* (eje y).

Figura 2 - Representación esquemática del gen *FATB-A1* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 13)

Figura 3 - Representación esquemática del gen *FATB-A2* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 15)

Figura 4 - Representación esquemática del gen *FATB-A3* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 17)

Figura 5 - Representación esquemática del gen *FATB-C1* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 19)

Figura 6 - Representación esquemática del gen *FATB-C2* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 21)

Figura 7 - Representación esquemática del gen *FATB-C3* (con intrones), que codifica una proteína *FATB-A1* no mutante de colza oleaginosa de verano (S) *Brassica napus*. (SEC ID N°: 23)

En la Figura 2-7 los exones se indican con recuadros grises, los intrones por las líneas horizontales entre los exones; la posición de las mutaciones descritas en los ejemplos (llamadas "EMSxx" según su nombre "FATB-Xx-EMSxx" respectivo como se describe en los ejemplos) se indica con líneas verticales; la longitud y posición de las sondas específicas de *FATB* con SEC ID N°:25 y 28 se indican por líneas verticales debajo de la representación esquemática de los genes *FATB*; la posición de los cebadores específicos de *FATB* (llamados "ID xx" según su SEC ID N°: xx respectiva) se indica por puntas de flecha; la barra de escala indica la longitud de los genes *FATB* respectivos.

Figura 8 - Gráfico que muestra la correlación entre la presencia de ninguno a cuatro alelos *FATB* mutantes en estado homocigótico en plantas de *Brassica* y el nivel de ácidos grasos saturados totales (es decir, ácidos grasos C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 y C24:0) (en porcentaje en peso basado en la cantidad total de ácidos grasos) en aceite de semillas de las plantas de *Brassica*.

Las plantas de *Brassica* analizadas fueron plantas de progenie de plantas de *Brassica* que comprenden tres o cuatro alelos *FATB* mutantes, es decir, alelos *FATB-AX-EMSY* o *FATB-CX-EMSY* como se indica en la Tabla 23, en estado heterocigótico como se indica. Los alelos *FATB* mutantes se denominan 'aX-Y' y 'cX-Y' o 'aX' y 'cX'; alelos *FATB* no mutantes se denominan 'AX' y 'CX'.

Definiciones generales

Aceite "bajo en saturados" se refiere en el presente documento a aceite derivado de semilla que contiene (en promedio) menos del 7 % en peso de ácidos grasos saturados totales basados en el % en peso total de ácidos grasos en el aceite. El % en peso de ácidos grasos saturados de aceite de semillas bajo en saturados puede ser igual o inferior al 6 % en peso, 5 % en peso, 4 % en peso, pero superior al 3,5 % en peso (por ejemplo, 3,6 % en peso).

Aceite "sin saturados" se refiere en el presente documento a aceite derivado de semilla que contiene (en promedio) menos del 3,6 % en peso de ácidos grasos saturados totales basados en el % en peso total de ácidos grasos en el aceite. El % en peso de ácidos grasos saturados de aceite de semillas sin saturados puede ser igual o inferior al 3,5

% en peso, 3,0 % en peso, 2,5 % en peso, 2,0 % en peso, 1,5 % en peso o 1 % en peso.

“Planta de cultivo” se refiere a especies de planta cultivadas como un cultivo, tales como *Brassica napus* (AACC, 2n=38), *Brassica juncea* (AABB, 2n=36), *Brassica carinata* (BBCC, 2n=34), *Brassica rapa* (sin. *B. campestris*) (AA, 2n=20), *Brassica oleracea* (CC, 2n=18) o *Brassica nigra* (BB, 2n=16). La definición no engloba malas hierbas, tales como *Arabidopsis thaliana*.

El término “secuencia de ácidos nucleicos” (o molécula de ácido nucleico) se refiere a una molécula de ADN o de ARN en forma mono o bicatenaria, particularmente un ADN que codifica una proteína o fragmento de proteína según la invención. Una “secuencia de ácidos nucleicos endógena” se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos que está dentro de una célula de planta, por ejemplo, un alelo endógeno de un gen *FATB* presente dentro del genoma nuclear de una célula de *Brassica*.

El término “gen” significa una secuencia de ADN que comprende una región (región transcrita), que se transcribe en una molécula de ARN (por ejemplo, un pre-ARNm, que comprende secuencias de intrones, que entonces se corta y empalma en un ARNm maduro) en una célula, operablemente ligada a regiones reguladoras (por ejemplo, un promotor). Un gen puede así comprender varias secuencias operativamente ligadas, tales como un promotor, una secuencia conductora de 5' que comprende, por ejemplo, secuencias que participan en el inicio de la traducción, una región codificante (de proteínas) (ADNc o ADN genómico) y una secuencia no traducida de 3' que comprende, por ejemplo, sitios de terminación de la transcripción. “Gen endógeno” se usa para diferenciar de un “gen extraño”, “transgén” o “gen quimérico” y se refiere a un gen de una planta de un cierto género de planta, especie o variedad, que no se ha introducido en esa planta por transformación (es decir, no es un “transgén”), pero que normalmente está presente en plantas de ese género, especie, variedad, o que se introduce en esa planta de plantas de otro género, especie o variedad de planta, en el que normalmente está presente, por técnicas de cultivo normales o por hibridación somática, por ejemplo, por fusión de protoplastos. Similarmente, un “alelo endógeno” de un gen que no se introduce en una planta o tejido de planta por transformación de plantas, pero, por ejemplo, se genera por mutagénesis y/o selección de plantas o se obtiene cribando poblaciones naturales de plantas.

“Expresión de un gen” o “expresión génica” se refiere al proceso en el que una región de ADN, que está operativamente ligada a regiones reguladoras apropiadas, particularmente un promotor, se transcribe en una molécula de ARN. La molécula de ARN se procesa entonces adicionalmente (por procesos post-transcripcionales) dentro de la célula, por ejemplo, por corte y empalme de ARN e iniciación de la traducción y traducción en una cadena de aminoácidos (polipéptidos), y terminación de la traducción por codones de terminación de la traducción. El término “funcionalmente expresado” se usa en el presente documento para indicar que se produce una proteína funcional; el término “no funcionalmente expresado” indica que una proteína con funcionalidad reducida o sin funcionalidad (actividad biológica) se produce o que no se produce proteína (véase también más adelante).

Los términos “proteína” o “polipéptido” se usan indistintamente y se refieren a moléculas que consisten en una cadena de aminoácidos, sin referencia a un modo específico de acción, tamaño, estructura tridimensional u origen. Un “fragmento” o “porción” de una proteína *FATB* puede así todavía denominarse una “proteína”. Una “proteína aislada” se usa para referirse a una proteína que ya no está en su entorno natural, por ejemplo, *in vitro* o en una célula huésped bacteriana o de planta recombinante. Una “enzima” es una proteína que comprende actividad enzimática, tal como proteínas *FATB* funcionales, que pueden hidrolizar el (los) sustrato(s) acil graso-ACP en ácidos grasos libres y ACP (número de EC 3.1.2.).

Los términos “péptido diana” o “péptido de tránsito” se refieren a secuencias de aminoácidos que dirigen una proteína a orgánulos intracelulares tales como plástidos. Proteínas *FATB* no mutantes comprenden un péptido diana de plástido (o péptido de tránsito de plástido) en su extremo N.

“Proteína madura” o “proteína *FATB* madura” se refiere a una enzima *FATB* funcional sin el péptido de tránsito de plástido. “Proteína precursora” se refiere a la proteína madura con su péptido de tránsito.

El “gen *FATB*” se refiere en el presente documento a la secuencia de ácidos nucleicos que codifica una proteína tipo II de acil graso-ACP tioesterasa (es decir, una proteína *FATB*). Una “proteína *FATB*” funcional tiene actividad de acil graso-ACP tioesterasa, es decir, puede hidrolizar sustratos de acil graso-ACP, preferentemente sustratos de acil graso saturado-ACP (por ejemplo, palmitoil-ACP; C16:0-ACP) en ácido graso libre (por ejemplo, C16:0) y ACP, que puede probarse usando un ensayo biológico. Para determinar la función y/o la funcionalidad de un gen/proteína *FATB* específico puede usarse, por ejemplo, el sistema de expresión bacteriano que se describe en Salas y Ohlrogge (2002, Archives of Biochemistry and Biophysics 403:25-34) o el cribado calorimétrico basado en placa de agar para actividad de tioesterasa descrito en Mayer y Shanklin (2007, BMC Plant Biology 7(1):1-11). Para determinar la actividad de *FATB* global en una planta o un tejido de planta, pueden realizarse ensayos para la hidrólisis de acil graso-ACP sobre extractos de plantas como se ha descrito, por ejemplo, por Bonaventure et al. (2003, Plant cell 15:1020-1033) y Eccleston y Ohlrogge (1998, Plant cell 10: 613-622).

Como se usa en el presente documento, el término “alelo(s)” significa cualquiera de una o más formas alternativas de un gen en un locus particular. En una célula diploide (o anfidiplóide) de un organismo, los alelos de un gen dado

están localizados en una localización específica o locus (plural loci) sobre un cromosoma. Un alelo está presente sobre cada cromosoma del par de cromosomas homólogos.

Como se usa en el presente documento, el término “cromosomas homólogos” significa cromosomas que contienen información para las mismas características biológicas y contienen los mismos genes en los mismos loci pero posiblemente diferentes alelos de aquellos genes. Cromosomas homólogos son cromosomas que se emparejan durante la meiosis. “Cromosomas no homólogos”, que representan todas las características biológicas de un organismo, forman un juego, y el número de juegos en una célula se llama ploidía. Los organismos diploides contienen dos juegos de cromosomas no homólogos, en los que cada cromosoma homólogo es heredado de un padre diferente. En especies anfiploides, esencialmente existen dos juegos de genomas diploides, por lo que los cromosomas de los dos genomas se denominan cromosomas homeólogos (y similarmente, los loci o genes de los dos genomas se denominan loci o genes homeólogos). Una especie de planta diploide, o anfiploide, puede comprender un gran número de alelos diferentes en un locus particular.

Como se usa en el presente documento, el término “heterocigótico” significa una condición genética que existe cuando dos alelos diferentes residen en un locus específico, pero están posicionados individualmente sobre pares correspondientes de cromosomas homólogos en la célula. En cambio, como se usa en el presente documento, el término “homocigótico” significa una condición genética que existe cuando dos alelos idénticos residen en un locus específico, pero están posicionados individualmente sobre pares correspondientes de cromosomas homólogos en la célula.

Como se usa en el presente documento, el término “locus” (plural loci) significa un lugar o lugares específicos o un sitio sobre un cromosoma en el que, por ejemplo, se encuentra un gen o marcador genético. Por ejemplo, el “locus *FATB-A1*” se refiere a la posición sobre un cromosoma del genoma A en el que se encuentra(n) el gen *FATB-A1* (y dos alelos *FATB-A1*).

Siempre que se hace referencia a una “planta” o “plantas” según la invención, se entiende que también partes de las plantas (células, tejidos u órganos, semillas, partes cortadas tales como raíces, hojas, flores, polen, etc.), progenie de las plantas que retienen las características diferenciadoras de los padres (especialmente la composición de aceite de semillas), tal como semilla obtenida por autofecundación o cruce, por ejemplo, semilla híbrida (obtenida cruzando dos líneas parentales puras), plantas híbridas y partes de las plantas derivadas de las mismas están englobadas en el presente documento, a menos que se indique lo contrario.

Un “ensayo molecular” (o prueba) se refiere a un ensayo que indica (directamente o indirectamente) la presencia o ausencia de uno o más alelos *FATB* particulares en uno o más loci *FATB* (es decir, en uno o más de los loci *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y/o *FATB-C3*). Puede permitir que uno determine si un alelo particular (no mutante o mutante) es homocigótico o heterocigótico en el locus en cualquier planta individual.

Como se usa en el presente documento, el término “*FATB* no mutante” (por ejemplo, *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* o *FATB-C3* no mutante), significa un alelo que se produce naturalmente encontrado dentro de plantas de *Brassica*, que codifica una proteína *FATB* funcional (por ejemplo, una *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* o *FATB-C3* funcional, respectivamente). A diferencia, “*FATB* mutante” (por ejemplo, *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* o *FATB-C3* mutante) se refiere a un alelo *FATB* que no codifica una proteína *FATB* funcional, es decir, un alelo *FATB* que codifica una proteína *FATB* no funcional (por ejemplo, una *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* o *FATB-C3* no funcional, respectivamente) o que no codifica proteína *FATB*. Un “alelo *FATB* mutante” es un alelo *FATB* no mutante que comprende una o más mutaciones en su secuencia de ácidos nucleicos, por lo que la(s) mutación (mutaciones) producen preferentemente una cantidad significativamente reducida (absoluta o relativa) de proteína *FATB* funcional en la célula *in vivo*. Alelos mutantes de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteína *FATB* se designan “*fatB*” (por ejemplo, *fatB-a1*, *fatB-a2*, *fatB-a3*, *fatB-c1*, *fatB-c2* o *fatB-c3*, respectivamente) en el presente documento. Los alelos mutantes pueden ser tanto alelos “mutantes naturales”, que son alelos mutantes encontrados en la naturaleza (por ejemplo, producidos espontáneamente sin la aplicación humana de mutágenos) o alelos “mutantes inducidos”, que se inducen por intervención humana, por ejemplo, por mutagénesis.

Una “cantidad significativamente reducida de proteína *FATB* funcional” (por ejemplo, proteína *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y/o *FATB-C3* funcional) se refiere a una reducción en la cantidad de una proteína *FATB* funcional producida por la célula que comprende un alelo *FATB* mutante al menos el 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o el 100 % (es decir, se produce proteína no funcional por la célula) en comparación con la cantidad de la proteína *FATB* funcional producida por la célula que no comprende el alelo *FATB* mutante. Esta definición engloba así la producción de una proteína “no funcional” (por ejemplo, proteína truncada) que no tiene actividad biológica *in vivo*, la reducción en la cantidad absoluta de la proteína funcional (por ejemplo, proteína no funcional que se produce debido a la mutación en el gen) y/o la producción de una proteína con actividad biológica reducida, es decir, una proteína de “mal funcionamiento” (tal como una proteína truncada o una proteína producida por corte y empalme de ARNm alternativo) en comparación con la actividad de la proteína funcional no mutante. Asimismo, el término “proteína *FATB* mutante” engloba tanto una proteína codificada por una secuencia de ácidos nucleicos mutante (“alelo *fatB*”) por la cual la mutación produce una actividad enzimática de *FATB* significativamente

reducida y/o sin ella *in vivo*, en comparación con la actividad de la proteína codificada por la secuencia no mutante ("alelo *FATB*").

"Mutagénesis", como se usa en el presente documento, se refiere al proceso en el que células vegetales (por ejemplo, una semilla de *Brassica* o tejidos, tales como polen, etc.) se ponen en contacto una o más veces con un agente mutagénico, tal como una sustancia química (tal como etilmetilsulfonato (EMS), etilnitrosourea (ENU), etc.) o radiación ionizante (neutrones (tales como en mutagénesis de neutrones rápidos, etc.), rayos gamma (tales como los suministrados por una fuente de cobalto 60), rayos X, etc.), o una combinación de los anteriores. Aunque las mutaciones creadas por irradiación son frecuentemente delecciones grandes u otras lesiones macroscópicas tales como translocalizaciones o transposiciones complejas, mutaciones creadas por mutágenos químicos son frecuentemente lesiones más discretas tales como mutaciones puntuales. Por ejemplo, EMS alquila bases de guanina, que producen el desapareamiento erróneo de bases: una guanina alquilada se apareará con una base de timina, dando principalmente transiciones G/C a A/T. Tras la mutagénesis, plantas de *Brassica* se regeneran a partir de las células tratadas usando técnicas conocidas. Por ejemplo, las semillas de *Brassica* resultantes pueden sembrarse según procedimientos de cultivo convencionales y tras la auto-polinización se forma semilla sobre las plantas. Alternativamente, pueden extraerse plántulas haploides dobles para formar inmediatamente plantas homocigóticas. Semilla adicional que se forma como resultado de tal auto-polinización en la presente generación o una posterior puede recogerse y cribarse para la presencia de alelos *FATB* mutantes. Se conocen varias técnicas para cribar alelos mutantes específicos, por ejemplo, Deleteagene™ (Delete-a-gene; Li et al., 2001, Plant J 27: 235-242) usa ensayos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cribar mutantes de delección generados por mutagénesis de neutrones rápidos, TILLING (lesiones locales inducidas dirigidas en genomas; McCallum et al., 2000, Nat Biotechnol 18:455-457) identifica mutaciones puntuales inducidas por EMS, etc. Técnicas adicionales para cribar la presencia de alelos *FATB* mutantes específicos se describen en los ejemplos más adelante.

El término "ortólogo" de un gen o proteína se refiere en el presente documento al gen o proteína homóloga encontrada en otras especies, que tiene la misma función que el gen o proteína, pero (normalmente) se desvía en secuencia del momento de tiempo en el que las especies que alojan los genes se desviaron (es decir, los genes se desarrollaron de un ancestro común por especiación). Ortólogos de los genes *FATB* de *Brassica napus* pueden así identificarse en otras especies de plantas (por ejemplo, *Brassica juncea*, etc.) basándose en ambas comparaciones de secuencias (por ejemplo, basándose en porcentajes de identidad de secuencias sobre la secuencia entera o sobre dominios específicos) y/o análisis funcional.

Se usa una "variedad" en el presente documento en conformidad con el Convenio de la UPOV y se refiere a una agrupación de plantas dentro de un único taxón botánico del rango más bajo conocido, agrupación que puede definirse por la expresión de las características resultantes de un genotipo dado o combinación de genotipos, puede distinguirse de cualquier otra agrupación de plantas por la expresión de al menos una de dichas características y se considera una unidad con respecto a su idoneidad para ser propagadas sin cambiar (estables).

El término "que comprende" debe interpretarse como que especifica la presencia de las partes, etapas o componentes establecidos, pero no excluye la presencia de una o más partes, etapas o componentes adicionales. Una planta que comprende un cierto rasgo puede así comprender rasgos adicionales.

Se entiende que cuando se refiere a una palabra en singular (por ejemplo, planta o raíz), el plural también se incluye en el presente documento (por ejemplo, una pluralidad de plantas, una pluralidad de raíces). Así, referencia a un elemento por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de un elemento, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. Así, el artículo indefinido "un" o "una" normalmente significa "al menos uno".

Para el propósito de la presente invención, la "identidad de secuencias" de dos secuencias de nucleótido o de aminoácidos relacionados, expresada como un porcentaje, se refiere al número de posiciones en las dos secuencias óptimamente alineadas que tienen residuos idénticos (x100) dividido entre el número de posiciones comparadas. Un hueco, es decir, una posición en un alineamiento en el que un residuo está presente en una secuencia, pero no en la otra, se considera una posición con residuos no idénticos. El "alineamiento óptimo" de dos secuencias se encuentra alineando las dos secuencias sobre la longitud entera según el algoritmo de alineamiento global de Needleman y Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J Mol Biol 48(3):443-53) en The European Biology Molecular Open Software Suite (EMBOSS, Rice et al., 2000, Trends in Genetics 16(6): 276-277; véase, por ejemplo, <http://www.ebi.ac.uk/emboss/align/index.html>) usando parámetros por defecto (penalización por apertura de hueco = 10 (para nucleótidos) / 10 (para proteínas) y penalización por extensión de hueco = 0,5 (para nucleótidos) / 0,5 (para proteínas)). Para nucleótidos la matriz de puntuación por defecto usada es EDNAFULL y para proteínas la matriz de puntuación por defecto es EBLOSUM62.

"Sustancialmente idéntico" o "esencialmente similar", como se usa en el presente documento, se refiere a secuencias, que, cuando se alinean óptimamente como se ha definido anteriormente, comparten al menos un cierto porcentaje de identidad de secuencias mínimo (como se define adicionalmente más adelante).

Pueden usarse "condiciones de hibridación rigurosas" para identificar secuencias de nucleótidos, que son

sustancialmente idénticas a una secuencia de nucleótidos dada. Condiciones rigurosas son dependientes de la secuencia y serán diferentes en diferentes circunstancias. Generalmente, las condiciones rigurosas se seleccionan para ser aproximadamente 5 °C inferiores al punto de fusión térmico (T_m) para las secuencias específicas a una fuerza iónica y pH definidos. La T_m es la temperatura (bajo fuerza iónica y pH definidos) a la que el 50 % de la secuencia diana se hibrida con una sonda perfectamente apareada. Normalmente se elegirán condiciones rigurosas a las que la concentración de sales sea aproximadamente 0,02 molar a pH 7 y la temperatura sea al menos 60 °C. Reduciendo la concentración de sales y/o aumentando la temperatura aumenta rigurosidad. Condiciones rigurosas para hibridaciones de ARN-ADN (transferencias Northern usando una sonda de, por ejemplo, 100 nt) son, por ejemplo, aquellas que incluyen al menos un lavado en 0,2X SSC a 63 °C durante 20 min, o condiciones equivalentes.

Pueden proporcionarse “condiciones de alta rigurosidad”, por ejemplo, por hibridación a 65 °C en una disolución acuosa que contiene 6x SSC (20x SSC contiene NaCl 3,0 M, citrato de Na 0,3 M, pH 7,0), 5x Denhardt's (100X Denhardt contiene 2 % de Ficoll, 2 % de polivinilpirrolidona, 2 % de albúmina de suero bovino), 0,5 % de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 20 µg/ml de ADN de portador desnaturalizado (ADN de esperma de pescado monocatenario, con una longitud promedio de 120 - 3000 nucleótidos) como competidor no específico. Tras la hibridación, puede hacerse lavado de alta rigurosidad en varias etapas, con un lavado final (aproximadamente 30 min) a la temperatura de hibridación en 0,2-0,1 x SSC, 0,1 % de SDS.

“Condiciones de rigurosidad reducida” se refieren a condiciones equivalentes a la hibridación en la disolución anteriormente descrita pero a aproximadamente 60-62 °C. Puede hacerse lavado de rigurosidad moderada a la temperatura de hibridación en 1x SSC, 0,1 % de SDS.

“Baja rigurosidad” se refiere a condiciones equivalentes a la hibridación en la disolución anteriormente descrita a aproximadamente 50-52 °C. Puede hacerse lavado de baja rigurosidad a la temperatura de hibridación en 2x SSC, 0,1 % de SDS. Véase también Sambrook et al. (1989) y Sambrook y Russell (2001).

Descripción detallada

Se encontró por los inventores que *Brassica napus* (genoma AACC, $2n=4x=38$), que es una especie alotetraploide (anfidiplóide) que contiene esencialmente dos genomas diploides (el genoma A y C) debido a su origen de ancestros diploides, comprende un total de seis loci FATB y genes FATB en su genoma, tres genes sobre el genoma A (denominado en el presente documento “FATB-A1”, “FATB-A2” y “FATB-A3”) y tres genes sobre el genoma C (denominado en el presente documento “FATB-C1”, “FATB-C2” y “FATB-C3”). El gen FATB-A1 se dice que es “homólogo” al gen FATB-C1, FATB-A2 es homólogo a FATB-C2 y FATB-A3 es homólogo a FATB-C3, es decir, los “genes A” se encuentran sobre el genoma A y se originan a partir de *B. rapa* de ancestro diploide (AA), mientras que los “genes C” se encuentran sobre el genoma C de *B. napus* y se originan a partir de *B. oleracea* de ancestro diploide (CC).

Como en cualquier genoma diploide, pueden estar presentes dos “alelos” para cada gen FATB en cada locus FATB en el genoma (siendo un alelo la secuencia génica encontrada sobre un cromosoma y el otro sobre el cromosoma homólogo). La secuencia de nucleótidos de estos dos alelos puede ser idéntica (homocigótica) o diferente (heterocigótica) en cualquier planta dada, aunque el número de diferentes alelos posibles que existen para cada gen FATB puede ser mucho mayor de dos en las especies en conjunto.

Además, se encontró que las plantas que comprenden una mutación, que producen una reducción significativa en la cantidad de proteína FATB funcional codificada por el equivalente no mutante del alelo *fatB* mutante, en solo uno o dos de estos seis genes FATB, no es suficiente para reducir significativamente el porcentaje (% en peso) de ácidos grasos saturados en el aceite de semillas de las plantas. Se creyó que al menos tres alelos *fatB* mutantes, de tres genes FATB diferentes (seleccionados de FATB-A1, FATB-A2, FATB-A3, FATB-C1, FATB-C2 y FATB-C3) necesitan estar comprendidos en la planta con el fin de obtener plantas que producen un aceite de semillas bajo en saturados o sin saturados.

Así, en una realización de la invención, en el presente documento se proporcionan plantas que comprenden al menos 3 alelos *fatB* mutantes de tres genes FATB diferentes, por lo que los alelos *fatB* mutantes producen una cantidad significativamente reducida de proteína FATB funcional del tipo codificado por el equivalente no mutante de estos alelos mutantes y así una cantidad significativamente reducida global de las proteínas FATB funcionales producidas en las células vegetales, específicamente en las semillas en desarrollo, *in vivo*.

Combinando copias suficientes de alelos *fatB* mutantes específicos con copias suficientes de alelos FATB no mutantes específicos en una planta es posible ajustar la cantidad y/o tipo de proteínas FATB funcionales preparadas, que a su vez influye en la exportación de (la cantidad y/o tipo de) ácidos grasos saturados libres del plástido y así la composición de ácidos grasos del aceite de semillas producido. La cantidad absoluta y relativa de cada una de las seis proteínas FATB puede así ajustarse de tal forma que proporcione plantas que producen suficiente(s) proteína(s) FATB para el crecimiento y desarrollo de la planta, mientras que la cantidad deseada y/o tipo de ácidos grasos se prepara y guarda en el aceite de semillas de estas plantas. Así, son adecuadas para la

invención plantas y partes de las plantas que comprenden al menos un alelo *FATB* funcionalmente expresado, seleccionado de *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*, que codifica una proteína *FATB* completamente funcional, mientras que los restantes alelos pueden ser alelos *fatB* mutantes.

- 5 Así, las plantas o partes de las plantas pueden comprender alelos *fatB* mutantes n-tuplos (de los 6 genes *FATB*), por lo que $n \leq 12$, preferentemente $n \leq 11$ (por ejemplo $n = 10, 9$ u 8), de manera que al menos un alelo produce una proteína *FATB* funcional.

- 10 Son adecuadas para la invención plantas mutantes triples para *FATB* homocigóticas ($n=6$, es decir, homocigóticas para alelos mutantes de tres genes, seleccionados de los 6 genes *FATB*), mutantes cuádruples para *FATB* homocigóticas ($n=8$) y/o mutantes quíntuples para *FATB* homocigóticas ($n=10$) o partes de las plantas, por lo que los alelos mutantes están seleccionados de los genes *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*.

- 15 También son adecuadas para la invención plantas mutantes triples para *FATB* homocigóticas, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- 20 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- 25 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
- *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
- 35 - *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*, o
- *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*.

También son adecuadas para la invención plantas mutantes cuádruples para *FATB* homocigóticas, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- 40
- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - 45 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 50 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*, o
 - 55 - *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*.

También son adecuadas para la invención plantas mutantes quíntuples para *FATB* homocigóticas, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- 60
- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*, o
 - 65 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*.

Además, las plantas mutantes triples (n=6), cuádruples (n=8) y/o quintuples (n=10) para *FATB* homocigóticas o partes de las plantas pueden comprender otro alelo mutante, en las que las plantas mutantes o partes de las plantas son heterocigóticas para el mutante adicional.

- 5 Alelo *FATB* (es decir, n=7, n=9 y n=11, respectivamente), y en el que el alelo mutante está seleccionado de los genes *FATB* no mutantes restantes (es decir, genes *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* o *FATB-C3*).

Así, también son adecuadas para la invención plantas mutantes triples para *FATB* homocigóticas que comprenden un alelo *FATB* mutante adicional, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- 10
- *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/FATB-C3*,
 - 15 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - 20 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - 25 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 30 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - 35 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 40 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/fatB-a1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 45 - *fatB-a1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 50 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 55 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *fatB-a3/FATB-A3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/fatB-a2*, *FATB-A3/FATB-A3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 60 - *fatB-a1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *FATB-C3/FATB-C3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *FATB-A1/FATB-A1*, *fatB-a2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *FATB-C2/FATB-C2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - 65 - *FATB-A1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *fatB-c1/fatB-c1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,
 - *fatB-a1/FATB-A1*, *FATB-A2/FATB-A2*, *fatB-a3/fatB-a3*, *FATB-C1/FATB-C1*, *fatB-c2/fatB-c2*, *fatB-c3/fatB-c3*,

- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *FATB-A1/FATB-A1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/FATB-A1, FATB-A2/FATB-A2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/FATB-A2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3, o*
- 5 - *FATB-A1/FATB-A1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3.*

También son adecuadas para la invención plantas mutantes cuádruples para *FATB* homocigóticas que comprenden un alelo *FATB* mutante adicional, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- 10 - *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/FATB-C2, FATB-C3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, FATB-C2/FATB-C2, fatB-c3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, FATB-C3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, FATB-C2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- 15 - *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, FATB-C3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, FATB-C2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- 20 - *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/FATB-A3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, FATB-C3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, FATB-C2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- 25 - *fatB-a1/fatB-a1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/FATB-A2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- 30 - *fatB-a1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, FATB-C3/FATB-C3,*
- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/FATB-C3,*
- *fatB-a1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, FATB-C2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, FATB-C1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- 35 - *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, FATB-A3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/FATB-A1, FATB-A2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3, o*
- *FATB-A1/FATB-A1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3.*
- 40

También son adecuadas para la invención plantas mutantes quintuples para *FATB* homocigóticas que comprenden un alelo *FATB* mutante adicional, en las que el genotipo de la planta puede describirse como:

- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, FATB-C3/fatB-c3,*
- 45 - *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/FATB-C2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/FATB-C1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/FATB-A3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3,*
- *fatB-a1/fatB-a1, fatB-a2/FATB-A2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3, o*
- *fatB-a1/FATB-A1, fatB-a2/fatB-a2, fatB-a3/fatB-a3, fatB-c1/fatB-c1, fatB-c2/fatB-c2, fatB-c3/fatB-c3.*
- 50

En el presente documento se describen adicionalmente secuencias de ácidos nucleicos de genes/alelos *FATB* no mutantes y mutantes de especies de *Brassica*, además de las proteínas *FATB* no mutantes y mutantes. También se describen métodos de generación y combinación de alelos *FATB* mutantes y no mutantes en plantas de *Brassica*, además de plantas de *Brassica* y partes de las plantas que comprenden combinaciones específicas de alelos *FATB* no mutantes y mutantes en su genoma, por lo que estas plantas producen aceite de semillas bajo en saturados o sin saturados, y por lo que las plantas crecen preferentemente normalmente y tienen un fenotipo normal. El uso de estas plantas para transferir alelos *FATB* mutantes a otras plantas también se describe en el presente documento, ya que son productos de planta de cualquiera de las plantas descritas. Además, se describen kits y métodos para la selección asistida por marcadores (MAS) para combinar o detectar genes y/o alelos *FATB*. Cada una de las realizaciones de la invención se describe en detalle en el presente documento a continuación.

Secuencias de ácidos nucleicos

- 65 Se describen tanto secuencias de ácidos nucleicos no mutantes (*FATB*), que codifican proteínas *FATB* funcionales, como secuencias de ácidos nucleicos mutantes (*fatB*) (que comprenden una o más mutaciones, preferentemente mutaciones que producen una actividad biológica significativamente reducida de la proteína *FATB* codificada o que

no producen proteína FATB) de genes *FATB* de especies de *Brassica*, especialmente de *Brassica napus*, pero también de otras especies de cultivos de *Brassica*. Por ejemplo, especies de *Brassica* que comprenden un genoma A y/o C pueden comprender diferentes alelos de genes *FATB-A* o *FATB-C* que pueden identificarse y combinarse en una única planta según la invención. Además, pueden usarse métodos de mutagénesis para generar mutaciones en alelos *FATB* no mutantes, generando así alelos mutantes para su uso según la invención. Debido a que los alelos *FATB* específicos se combinan preferentemente en una planta de *Brassica napus* por cruce y selección, en una realización las secuencias de ácidos nucleicos de *FATB* y/o *fatB* se proporcionan dentro de una planta de *Brassica* (es decir, endógenamente) que puede cruzarse con *Brassica napus* o que puede usarse para preparar una planta de *Brassica napus* "sintética". Se describe en la materia hibridación entre diferentes especies de *Brassica*, por ejemplo, como se refiere en Snowdon (2007, Chromosome research 15: 85-95). La hibridación interespecífica puede, por ejemplo, usarse para transferir genes de, por ejemplo, el genoma C en *B. napus* (AACC) al genoma C en *B. carinata* (BBCC), o incluso de, por ejemplo, el genoma C en *B. napus* (AACC) al genoma B en *B. juncea* (AABB) (por el evento esporádico de recombinación ilegítima entre sus genomas C y B). Pueden producirse líneas de *Brassica napus* "resintetizadas" o "sintéticas" cruzando los ancestros originales, *B. oleracea* (CC) y *B. rapa* (AA). Pueden vencerse satisfactoriamente barreras de incompatibilidad interespecíficas, y también intergenéricas, en cruces entre especies de cultivo de *Brassica* y sus familiares, por ejemplo, por técnicas de rescate de embriones o fusión de protoplastos (véase, por ejemplo, Snowdon, anteriormente).

Sin embargo, las secuencias de ácidos nucleicos de *FATB* y *fatB* aisladas (por ejemplo, aisladas de la planta clonando o hechas sintéticamente por síntesis de ADN), además de variantes de las mismas y fragmentos de cualquiera de éstas, también se describen en el presente documento, ya que éstas pueden usarse para determinar qué secuencia está presente endógenamente en una planta o parte de la planta, si la secuencia codifica una proteína funcional o una proteína con significativamente funcionalidad reducida o sin funcionalidad (por ejemplo, por expresión en una célula huésped recombinante y ensayos enzimáticos) y para la selección y transferencia de alelos específicos de una planta de *Brassica* a otra, con el fin de generar una planta que tiene la combinación deseada de alelos funcionales y mutantes.

Secuencias de ácidos nucleicos de *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3* han sido aisladas de colza oleaginosa de invierno (WOSR) y colza oleaginosa de verano (SOSR) de *Brassica napus*, como se representa en el listado de secuencias. Se representan las secuencias de *FATB* no mutantes, mientras que las secuencias de *fatB* mutantes de estas secuencias, y de secuencias esencialmente similares a éstas, se describen en el presente documento más adelante y en los ejemplos, con referencia a las secuencias de *FATB* no mutantes. El ADN que codifica la proteína *FATB* genómica, y pre-ARNm correspondiente, comprende 5 exones (numerados los exones 1-5 a partir del extremo 5') interrumpidos por 4 intrones (numerados los intrones 1-4, a partir del extremo 5'). En el ADNc y ARNm procesado correspondiente (es decir, el ARN cortado y empalmado), se eliminan los intrones y se unen los exones, como se representa en el listado de secuencias. Las secuencias de exones están más conservadas evolutivamente y son, por tanto, menos variables que las secuencias de intrones.

"Secuencias de ácidos nucleicos de *FATB-A1*" o "secuencias de ácidos nucleicos de variantes de *FATB-A1*" según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 2 (*FATB-A1* de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 14 (*FATB-A1* de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 1 (*FATB-A1* de WOSR) cuando se alinean con o sin los intrones 1-4 y/o con SEC ID N°: 13 (*FATB-A1* de SOSR) cuando se alinean con o sin los intrones 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son "esencialmente similares" o "esencialmente idénticas" a las secuencias de *FATB* proporcionadas en el listado de secuencias.

"Secuencias de ácidos nucleicos de *FATB-A2*" o "secuencias de ácidos nucleicos de variantes de *FATB-A2*" según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 4 (*FATB-A2* de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 16 (*FATB-A2* de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 3 (*FATB-A2* de WOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4 y/o SEC ID N°: 15 (*FATB-A2* de SOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son "esencialmente similares" o "esencialmente idénticas" a las secuencias de *FATB* proporcionadas en el listado de secuencias.

"Secuencias de ácidos nucleicos de *FATB-A3*" o "secuencias de ácidos nucleicos de variantes de *FATB-A3*" según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 6 (*FATB-A3* de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 18 (*FATB-A3* de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de

secuencias con SEC ID N°: 5 (FATB-A3 de WOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4 y/o SEC ID N°: 17 (FATB-A3 de SOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

“Secuencias de ácidos nucleicos de FATB-C1” o “secuencias de ácidos nucleicos de variantes de FATB-C1” según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 8 (FATB-C1 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 20 (FATB-C1 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 7 (FATB-C1 de WOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4 y/o con SEC ID N°: 19 (FATB-C1 de SOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

“Secuencias de ácidos nucleicos de FATB-C2” o “secuencias de ácidos nucleicos de variantes de FATB-C2” según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 10 (FATB-C2 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 22 (FATB-C2 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 9 (FATB-C2 de WOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4 y/o SEC ID N°: 21 (FATB-C2 de SOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

“Secuencias de ácidos nucleicos de FATB-C3” o “secuencias de ácidos nucleicos de variantes de FATB-C3” según la invención son secuencias de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 12 (FATB-C3 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 24 (FATB-C3 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito o secuencias de ácidos nucleicos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 11 (FATB-C3 de WOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4 y/o SEC ID N°: 23 (FATB-C3 de SOSR) cuando se alinean con o sin intrones los 1-4. También puede denominarse que estas secuencias de ácidos nucleicos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

Así, se describen tanto secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas FATB-A1, FATB-A2, FATB-A3, FATB-C1, FATB-C2 y FATB-C3 funcionales no mutantes que incluye variantes y fragmentos de las mismas (como se define adicionalmente más adelante), además de secuencias de ácidos nucleicos mutantes de cualquiera de estas, por lo que la mutación en la secuencia de ácidos nucleicos produce preferentemente uno o más aminoácidos que se insertan, delecionan o sustituyen en comparación con la proteína natural. Preferentemente, la(s) mutación (mutaciones) en la secuencia de ácidos nucleicos producen uno o más cambios de aminoácidos (es decir, en relación con la secuencia de aminoácidos no mutante, uno o más aminoácidos se insertan, delecionan y/o sustituyen), por lo que la actividad biológica de la proteína FATB se reduce significativamente. Una reducción significativa en la actividad biológica de la proteína FATB mutante se refiere a una reducción en la actividad enzimática (es decir, en la actividad de acil ACP-tioesterasa) de al menos el 30 %, al menos el 40 %, 50 % o más, al menos el 90 % o el 100 % (sin actividad biológica) en comparación con la actividad de la proteína natural.

Se describen tanto secuencias de ácidos nucleicos endógenas como aisladas en el presente documento. También se describen fragmentos de las secuencias de *FATB* y secuencias de ácidos nucleicos de variantes de *FATB* definidas anteriormente, para su uso como cebadores o sondas y como componentes de kits (véase adicionalmente más adelante). Un “fragmento” de una secuencia de ácidos nucleicos de *FATB* o *fatB* o variante de la misma (como se define) puede ser de diversas longitudes, tales como al menos 10, 12, 15, 18, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 nucleótidos contiguos de la secuencia de *FATB* o *fatB* (o de la secuencia de variante).

Secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas FATB funcionales

Las secuencias de ácidos nucleicos representadas en el listado de secuencias codifican proteínas FATB funcionales no mutantes de *Brassica napus*. Así, estas secuencias son endógenas para las plantas WOSR y SOSR de las que se aislaron. Otras especies de cultivos de *Brassica*, variedades, líneas de cultivo o accesiones silvestres pueden cribarse para otros alelos *FATB*, que codifican las mismas proteínas FATB o variantes de las mismas. Por ejemplo, pueden usarse técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (por ejemplo, transferencia Southern, usando, por ejemplo, condiciones de hibridación rigurosas) o técnicas basadas en PCR para identificar alelos *FATB* endógenos a otras plantas de *Brassica*, tales como diversas variedades, líneas o accesiones de *Brassica napus*, pero también

Brassica juncea (especialmente alelos *FATB* sobre el genoma A), *Brassica carinata* (especialmente alelos *FATB* sobre el genoma C) y pueden cribarse plantas y tejidos de *Brassica rapa* (genoma A) y *Brassica oleracea* (genoma C) para otros alelos *FATB* no mutantes. Para cribar tales plantas o tejido de plantas para la presencia de alelos *FATB* pueden usarse las secuencias de ácidos nucleicos de *FATB* proporcionadas en el listado de secuencias, o variantes o fragmentos de cualquiera de estas. Por ejemplo, pueden usarse secuencias completas o fragmentos como sondas o cebadores. Por ejemplo, pueden usarse cebadores específicos o degenerados para amplificar secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas *FATB* a partir del ADN genómico de la planta o tejido de planta. Estas secuencias de ácidos nucleicos de *FATB* pueden aislarse y secuenciarse usando técnicas de biología molecular estándar. Entonces pueden usarse análisis de bioinformática para caracterizar el (los) alelo(s), por ejemplo, con el fin de determinar con qué alelo *FATB* se corresponde la secuencia y qué proteína *FATB* o variante de proteína está codificada por la secuencia.

Si una secuencia de ácidos nucleicos codifica o no una proteína *FATB* funcional puede analizarse por técnicas de ADN recombinante como se conocen en la técnica, por ejemplo, expresando la molécula de ácido nucleico en una célula huésped (por ejemplo, una bacteria, tal como *E. coli*) y analizando la actividad de acil-ACP tioesterasa y/o especificidad por sustrato de la proteína resultante o células. Por ejemplo, la hidrólisis de acil graso-ACP después de la expresión recombinante en *E. coli* se describe por Doermann et al., 2000 (*Plant Physiology* 123: 637-643) y Doermann et al. 1995 (*Arch Biochem Biophys* 316: 612 - 618), por Yuan et al. (1995, *PNAS* Vol 92: 10639-10643), por Salas y Ohlrogge (2002, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 403:25-34) y por Mayer y Shanklin (2007, *BMC Plant Biology* 7(1):1-11). Por tanto, ensayos para la hidrólisis de acil graso-ACP usando homogeneizados de tejido de planta en bruto se han descrito por Eccleston y Ohlrogge (para la hidrólisis de C12:0- y C18:1-ACP; 1998, *Plant cell* 10: 613-622), por Salas y Ohlrogge (2002, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 403:25-34) y por Bonaventure et al. (para la hidrólisis de C16:0-ACP y C18:1-ACP; 2003, *Plant cell* 15:1020-1033).

Además, se entiende que las secuencias de ácidos nucleicos de *FATB* y variantes de las mismas (o fragmentos de cualquiera de estas) pueden identificarse por ordenador, cribando bases de datos de ácidos nucleicos para secuencias esencialmente similares. Asimismo, una secuencia de ácidos nucleicos puede sintetizarse químicamente. También se describen fragmentos de moléculas de ácidos nucleicos adicionalmente más adelante. Los fragmentos incluyen secuencias de ácidos nucleicos que codifican solo la proteína madura, o fragmentos más pequeños que comprenden toda o parte de las secuencias de exones y/o de intrones, etc.

Secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas FATB mutantes

Las secuencias de ácidos nucleicos que comprenden una o más delecciones, inserciones o sustituciones de nucleótidos con respecto a las secuencias de ácidos nucleicos no mutantes también son adecuadas para la invención, ya que son fragmentos de tales moléculas de ácidos nucleicos mutantes. Tales secuencias de ácidos nucleicos mutantes (denominadas secuencias de *fatB*) pueden generarse y/o identificarse usando diversos métodos conocidos, como se describen adicionalmente más adelante. De nuevo, tales moléculas de ácidos nucleicos se describen tanto en forma endógena como en forma aislada. La(s) mutación (mutaciones) puede(n) producir uno o más cambios (delecciones, inserciones y/o sustituciones) en la secuencia de aminoácidos de la proteína *FATB* codificada (es decir, no es una "mutación silenciosa"). La(s) mutación (mutaciones) en la secuencia de ácidos nucleicos también puede(n) producir una actividad biológica significativamente reducida o completamente suprimida de la proteína *FATB* codificada con respecto a la proteína natural.

Las moléculas de ácidos nucleicos pueden así comprender una o más mutaciones, tales como:

- (a) una "mutación de aminoácido", que es un cambio en la secuencia de ácidos nucleicos que produce la sustitución de un aminoácido con otro aminoácido;
- (b) una "mutación terminadora" o "mutación de codón de terminación", que es un cambio en la secuencia de ácidos nucleicos que produce la introducción de un codón de terminación prematuro y así la terminación de la traducción (produciendo una proteína truncada); genes de planta contienen los codones de terminación de la traducción "TGA" (UGA en ARN), "TAA" (UAA en ARN) y "TAG" (UAG en ARN); así, cualquier sustitución, inserción, delección de nucleótido que haga que uno de estos codones esté en el ARNm maduro que se traduce (en el marco de lectura) terminará la traducción.
- (c) una "mutación de inserción" de uno o más aminoácidos, debido a uno o más codones que se han añadido a la secuencia codificante del ácido nucleico;
- (d) una "mutación de delección" de uno o más aminoácidos, debido a uno o más codones que se han delecionado en la secuencia codificante del ácido nucleico;
- (e) una "mutación de desplazamiento de marco", que hace que la secuencia de ácidos nucleicos se traduzca en un marco diferente en la dirección 3' de la mutación. Una mutación de desplazamiento de marco puede tener diversas causas, tales como la inserción, delección o duplicación de uno o más nucleótidos, pero también mutaciones que afectan el corte y empalme de pre-ARNm (mutaciones del sitio de corte y empalme) pueden producir desplazamientos de marco;
- (f) una "mutación del sitio de corte y empalme", que altera o suprime el corte y empalme correcto de la secuencia de pre-ARNm, produciendo una proteína de secuencia de aminoácidos diferente de la no mutante. Por ejemplo, pueden saltarse uno o más exones durante el corte y empalme del ARN, produciendo una

proteína que carece de los aminoácidos codificados por los exones saltados. Alternativamente, el marco de lectura puede alterarse mediante el corte y empalme incorrecto, o uno o más intrones pueden retenerse, o pueden generarse donantes o aceptores de corte y empalme alternativos, o puede iniciarse el corte y empalme en una posición alternativa (por ejemplo, dentro de un intrón), o pueden generarse señales de poliadenilación alternativas. El corte y empalme de pre-ARNm correcto es un proceso complejo, que puede afectarse por diversas mutaciones en la secuencia de nucleótidos del gen que codifica FATB. En eucariotas superiores, tales como plantas, el principal espliceosoma corta y empalma intrones que contienen GU en el sitio de corte y empalme de 5' (sitio donante) y AG en el sitio de corte y empalme de 3' (sitio aceptor). Esta regla de GU-AG (o regla de GT-AG; véase Lewin, Genes VI, Oxford University Press 1998, pp885-920, ISBN 0198577788) se sigue en aproximadamente el 99 % de los sitios de corte y empalme de genes eucariotas nucleares, mientras que los intrones que contienen otros dinucleótidos en el sitio de corte y empalme de 5' y 3', tal como GC-AG y AU-AC, explican solo aproximadamente el 1 % y el 0,1 %, respectivamente.

Como ya se ha mencionado, se desea que la(s) mutación (mutaciones) en la secuencia de ácidos nucleicos produzca(n) preferentemente una proteína mutante que comprende actividad enzimática significativamente reducida o ninguna *in vivo*. Básicamente, cualquier mutación que produzca una proteína que comprende al menos una inserción, delección y/o sustitución de aminoácido con respecto a la proteína natural puede conducir a actividad enzimática significativamente reducida o ninguna. Sin embargo, se entiende que es más probable que las mutaciones en ciertas partes de la proteína produzcan una función reducida de la proteína FATB mutante, tal como mutaciones que conducen a proteínas truncadas, por lo que carecen de porciones significativas de los dominios funcionales, tales como el dominio catalítico.

Las proteínas FATB de *Brassica* descritas en el presente documento tienen aproximadamente 412 - 424 aminoácidos de longitud y comprenden varios dominios estructurales (y funcionales). Éstos incluyen los siguientes: un péptido diana de plástido del extremo N de aproximadamente 60 aminoácidos seguido de una región hidrófoba de aproximadamente 18 aminoácidos (propuesta para formar un anclaje transmembranario helicoidal). Esta parte del extremo N de aproximadamente 90 aminoácidos en total va seguida de lo que constituye la proteína FATB madura (que empieza con los aminoácidos del extremo N LPDWSM). Contiene una repetición en tándem de un dominio en hélice/de hoja de 4 cadenas (dominio "HEEEEE" o "4HBT", también "motivo de perrito caliente") separado de una región de conector (Mayer y Shanklin, 2005, J. Biol. Chem. 280(5): 3621-3627). El primer dominio en hélice/de hoja de 4 cadenas (del extremo N) (que está codificada por una parte de exón 1, el exón 2 y 3 complejos y una parte del exón 4) comprende residuos de aminoácidos que se cree que afectan la especificidad por sustrato, en particular dos metioninas conservadas (Met o M), una lisina conservada (Lys o K), una valina conservada (Val o V) y una serina conservada (Ser o S) (Mayer y Shanklin, 2007, BMC Plant Biology 7(1):1-11) y el segundo dominio en hélice/de hoja de 4 cadenas (del extremo C) (ampliamente codificado por el exón 5) comprende residuos de aminoácidos catalíticos, en particular una tríada catalítica tipo papaína de una asparagina conservada (Asn o N), un residuo de histidina conservado (His o H) y una cisteína conservada (Cys o C). La tríada catalítica se localiza dentro del segundo dominio en hélice/de hoja de 4 cadenas, codificado por el exón 5 de la proteína. El segundo dominio de HEEEE comprende además residuos de aminoácidos que se cree que afectan la especificidad por sustrato, en particular un triptófano conservado (Trp o W) (Mayer y Shanklin, 2007, arriba).

Tabla 1a: Proteínas FATB de WOSR - aminoácidos (aa) regiones y posiciones

	FATB-A1 SEC ID: 2	FATB-A2 SEC ID: 4	FATB-A3 SEC ID: 6	FATB-C1 SEC ID: 8	FATB-C2 SEC ID: 10	FATB-C3 SEC ID: 12	AtFATB SEC ID: 80
Tamaño de proteína (aa)	414	424	415	412	415	415	412
Extremo N	1-90	1-90	1-91	1-88	1-90	1-91	1-88
Proteína madura	91-414	91-424	92-415	89-412	91-415	92-415	89-412
aa codificados por el exón 1	1-168	1-168	1-169	1-166	1-168	1-169	1-166
aa codificados por el exón 2	169-213	169-213	170-214	167-211	169-213	170-214	167-211
aa codificados por el exón 3	214-251	214-251	215-252	212-249	214-251	215-252	212-249
aa codificados por el exón 4	252-308	252-308	253-309	250-306	252-308	253-309	250-306
aa codificados por el exón 5	309-414	309-424	310-415	307-412	309-415	310-415	207-412
4HBT	140-277	140-277	141-278	138-275	140-277	141-278	138-275
conector	278-302	278-302	279-303	276-300	278-302	279-303	276-300
4HBT	303-407	303-407	304-408	301-405	303-407	304-408	301-405

	FATB-A1 SEC ID: 2	FATB-A2 SEC ID: 4	FATB-A3 SEC ID: 6	FATB-C1 SEC ID: 8	FATB-C2 SEC ID: 10	FATB-C3 SEC ID: 12	AtFATB SEC ID: 80
Conservados							
Met (M)	164	164	165	162	164	165	162
Lys (K)	176	176	177	174	176	177	174
Val (V)	200	200	201	198	200	201	198
Met (M)	231	231	232	229	231	232	229
Ser (S)	264	264	265	262	264	265	262
Trp (W)	311	311	312	309	311	312	309
Asn (N)	317	317	318	315	317	318	315
His (H)	319	319	320	317	319	320	317
Cys (C)	354	354	355	352	354	355	352

Tabla 1b: Proteínas FATB de SOSR - aminoácido (aa) regiones y posiciones

	FATB-A1 SEC ID: 14	FATB-A2 SEC ID: 16	FATB-A3 SEC ID: 18	FATB-C1 SEC ID: 20	FATB-C2 SEC ID: 22	FATB-C3 SEC ID: 24
Tamaño de proteína (aa)	413	415	415	412	415	415
Extremo N	1-89	1-90	1-91	1-88	1-90	1-91
Proteína madura	90-413	91-415	92-415	89-412	91-415	92-415
aa codificados por el exón 1	1-167	1-168	1-169	1-166	1-168	1-169
aa codificados por el exón 2	168-212	169-213	170-214	167-211	169-213	170-214
aa codificados por el exón 3	213-250	214-251	215-252	212-249	214-251	215-252
aa codificados por el exón 4	251-307	252-308	253-309	250-306	252-308	253-309
aa codificados por el exón 5	308-413	309-415	310-415	307-412	309-415	310-415
4HBT	139-276	140-277	141-278	138-275	140-277	141-278
Conector	277-301	278-302	279-303	276-300	278-302	279-303
4HBT	302-406	303-407	304-408	301-405	303-407	304-408
Conservados						
Met (M)	163	164	165	162	164	165
Lys (K)	175	176	177	174	176	177
Val (V)	199	200	201	198	200	201
Met (M)	230	231	232	229	231	232
Ser (S)	263	264	265	262	264	265
Trp (W)	310	311	312	309	311	312
Asn (N)	316	317	318	315	317	318
His (H)	318	319	320	317	319	320
Cys (C)	353	354	355	352	354	355

Así, se describen secuencias de ácidos nucleicos que comprenden uno o más de cualquiera de los tipos de mutaciones descritos anteriormente. Además, se describen secuencias de *fatB* que comprenden unas o más mutaciones de delección, una o más mutaciones del codón de terminación (terminadoras) y/o una o más mutaciones del sitio de corte y empalme. Cualquiera de las secuencias de ácidos nucleicos mutantes anteriores se describen por sí mismas (en forma aislada). Plantas y partes de las plantas que comprenden tales secuencias endógenamente se proporcionan en el presente documento.

Una mutación de delección en un alelo FATB, como se usa en el presente documento, es una mutación en un alelo FATB por la cual al menos 1, al menos 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 200, 500, 1000 o más bases se delecionan del alelo FATB no mutante correspondiente, y por la cual la delección hace que el alelo FATB mutante se transcriba y traduzca en una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene *in vivo*. Una delección puede conducir a un desplazamiento del marco y/o puede introducir un codón de terminación prematuro, o puede conducir a que se eliminen un aminoácido o más aminoácidos (por ejemplo, grandes partes) de la secuencia codificante, etc. La base molecular subyacente exacta por la que la delección produce una proteína mutante que tiene actividad biológica significativamente reducida no es importante. También son adecuadas plantas y partes de las plantas en las que alelos *FATB* específicos se delecionan completamente, es decir, plantas y partes de las plantas que carecen de uno o más alelos *FATB*.

Una mutación terminadora en un alelo FATB, como se usa en el presente documento, es una mutación en un alelo

- FATB por la cual uno o más codones de terminación de la traducción se introducen en el ADN codificante y la secuencia de ARNm correspondiente del alelo FATB no mutante correspondiente. Codones de terminación de la traducción son TGA (UGA en el ARNm), TAA (UAA) y TAG (UAG). Así, cualquier mutación (deleción, inserción o sustitución) que conduzca a la generación de un codón de terminación en marco en la secuencia codificante (secuencia de exones) producirá la terminación de la traducción y truncación de la cadena de aminoácidos. Un alelo FATB mutante que comprende una mutación terminadora puede ser un alelo FATB en el que un codón de terminación en marco se introduce en la secuencia de codones de *FATB* por una única sustitución de nucleótidos, tal como la mutación de CAG a TAG, TGG a TAG, TGG a TGA, o CGA a TGA. Un alelo FATB mutante que comprende una mutación terminadora puede ser un alelo FATB en el que un codón de terminación en marco se introduce en la secuencia de codones de *FATB* por dobles sustituciones de nucleótidos, tales como la mutación de CAG a TAA, TGG a TAA, CGG a TAG o TGA, CGA a TAA. Un alelo FATB mutante que comprende una mutación terminadora también puede ser un alelo FATB en el que un codón de terminación en marco se introduce en la secuencia de codones de *FATB* por triples sustituciones de nucleótidos, tales como la mutación de CGG a TAA. La proteína truncada carece de los aminoácidos codificados por el ADN codificante en la dirección 3' de la mutación (es decir, la parte del extremo C de la proteína FATB) y mantiene los aminoácidos codificados por el ADN codificante en la dirección 5' de la mutación (es decir, la parte del extremo N de la proteína FATB). La mutación terminadora puede estar presente en cualquier parte delante del residuo de Cys conservado de la tríada catalítica, de manera que al menos el residuo de Cys conservado esté ausente, produciendo actividad significativamente reducida de la proteína truncada. Cuanto más truncada esté la proteína mutante en comparación con la proteína natural, más probable es que carezca de cualquier actividad enzimática. Así, se describe un alelo FATB mutante que comprende una mutación terminadora que produce una proteína truncada inferior a 350 aminoácidos (que carece de la Cys conservada), inferior a 315 aminoácidos (que carece de los tres aminoácidos conservados de la tríada catalítica tipo papaína), inferior a 300 aminoácidos (que carece del segundo dominio de 4HBT), inferior a 262 aminoácidos (que carece de la Ser conservada), inferior a 229 aminoácidos (que carece de la segunda Met conservada), inferior a 198 aminoácidos (que carece de la Val conservada), inferior a 174 aminoácidos (que carece de la Lys conservada), inferior a 162 aminoácidos (que carece de la primera Met conservada), o incluso menos aminoácidos de longitud. La mutación terminadora puede producir uno o más exones que no se traducen en proteína, tales como el exón 5, exones 4 y 5, los exones 3-5, o incluso más.
- Las tablas en el presente documento a continuación describen un intervalo de posibles mutaciones terminadoras en las secuencias de *Brassica napus* descritas en el presente documento:

Tabla 2a: Posibles mutaciones del codón de terminación en *FATB-A1* (WOSR, SEC ID N°: 1 y 2)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	53	157	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		157+159	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	79	235	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		235+237	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	90	268	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		268+270	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	94	281	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		282	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		281+282	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	111	331	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		331+333	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	112	335	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		336	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		335+336	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	117	350	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		351	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		350+351	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	136	406	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		406+408	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	143	427	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		427+429	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	148	442+443	<u>cgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		442+444	<u>cgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		442+443+444	<u>cgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	168	502	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		502+504	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	198	678	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 2		679	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2		678+679	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 2	204	695	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 2		695+697	<u>cag</u> → <u>taa</u>

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 2	213	723	tgg → tag
exón 3		798	tgg → tga
exón 2-3		723+798	tgg → taa
exón 3	222	824	tgg → tag
exón 3		825	tgg → tga
exón 3		824+825	tgg → taa
exón 3	225	832	cag → tag
exón 3		832+834	cag → taa
exón 3	235	863	tgg → tag
exón 3		864	tgg → tga
exón 3		863+864	tgg → taa
exón 3	238	871	cga → tga
exón 3		871+872	cga → taa
exón 4	253	986	tgg → tag
exón 4		987	tgg → tga
exón 4		986+987	tgg → taa
exón 4	271	1039	cga → tga
exón 4		1039+1040	cga → taa
exón 5	311	1250	tgg → tag
exón 5		1251	tgg → tga
exón 5		1250+1251	tgg → taa
exón 5	318	1270	cag → tag
exón 5		1270+1272	cag → taa
exón 5	328	1301	tgg → tag
exón 5		1302	tgg → tga
exón 5		1301+1302	tgg → taa
exón 5	341	1339	cag → tag
exón 5		1339+1341	cag → taa
exón 5	361	1399	cag → tag
exón 5		1399+1401	cag → taa
exón 5	383	1465	cag → tag
exón 5		1465+1467	cag → taa
exón 5	389	1483	cag → tag
exón 5		1483+1485	cag → taa
exón 5	401	1520	tgg → tag
exón 5		1521	tgg → tga
exón 5		1520+1521	tgg → taa
exón 5	410	1547	tgg → tag
exón 5		1548	tgg → tga
exón 5		1547+1548	tgg → taa

Tabla 2b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-A1 (SOSR, SEC ID N°: 13 y 14)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	53	157	cag → tag
exón 1		157+159	cag → taa
exón 1	78	232	cag → tag
exón 1		232+234	cag → taa
exón 1	89	265	cag → tag
exón 1		265+267	cag → taa
exón 1	93	278	tgg → tag
exón 1		279	tgg → tga
exón 1		278+279	tgg → taa
exón 1	110	328	cag → tag
exón 1		328+330	cag → taa
exón 1	111	332	tgg → tag
exón 1		333	tgg → tga
exón 1		332+333	tgg → taa
exón 1	116	347	tgg → tag
exón 1		348	tgg → tga
exón 1		347+348	tgg → taa
exón 1	135	403	cag → tag
exón 1		403+405	cag → taa
exón 1	142	424	cag → tag
exón 1		424+426	cag → taa

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	147	439+440	<u>c</u> gg → <u>t</u> ag
exón 1		439+441	<u>c</u> gg → <u>t</u> ga
exón 1		439+440+441	<u>c</u> gg → <u>t</u> aa
exón 1	167	499	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 1		499+501	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 2	197	675	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 2		676	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 2		675+676	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 2	203	692	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 2		692+694	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 2	212	720	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 3		795	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 2-3		720+795	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 3	221	821	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 3		822	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 3		821+822	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 3	224	829	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 3		829+831	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 3	234	860	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 3		861	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 3		860+861	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 3	237	868	<u>c</u> ga → <u>t</u> ga
exón 3		868+869	<u>c</u> ga → <u>t</u> aa
exón 4	252	983	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 4		984	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 4		983+984	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 4	270	1036	<u>c</u> ga → <u>t</u> ga
exón 4		1036+1037	<u>c</u> ga → <u>t</u> aa
exón 5	310	1247	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 5		1248	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 5		1247+1248	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 5	317	1267	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 5		1267+1269	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 5	327	1298	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 5		1299	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 5		1298+1299	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 5	340	1336	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 5		1336+1338	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 5	360	1396	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 5		1396+1398	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 5	382	1462	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 5		1462+1464	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 5	388	1480	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 5		1480+1482	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 5	400	1517	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 5		1518	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 5		1517+1518	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 5	409	1544	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 5		1545	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 5		1544+1545	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa

Tabla 3a: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-A2 (WOSR, SEC ID N°: 3 y 4)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 1		154+156	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 1	79	235	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 1		235+237	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 1	90	268	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 1		268+270	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa
exón 1	94	281	<u>t</u> gg → <u>t</u> ag
exón 1		282	<u>t</u> gg → <u>t</u> ga
exón 1		281+282	<u>t</u> gg → <u>t</u> aa
exón 1	111	331	<u>c</u> ag → <u>t</u> ag
exón 1		331+333	<u>c</u> ag → <u>t</u> aa

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	112	335	tgg → <u>tag</u>
exón 1		336	tgg → <u>tga</u>
exón 1		335+336	tgg → <u>taa</u>
exón 1	117	350	tgg → <u>tag</u>
exón 1		351	tgg → <u>tga</u>
exón 1		350+351	tgg → <u>taa</u>
exón 1	136	406	cag → <u>tag</u>
exón 1		406+408	cag → <u>taa</u>
exón 1	143	427	cag → <u>tag</u>
exón 1		427+429	cag → <u>taa</u>
exón 1	168	502	cag → <u>tag</u>
exón 1		502+504	cag → <u>taa</u>
exón 2	198	672	tgg → <u>tag</u>
exón 2		673	tgg → <u>tga</u>
exón 2		672+673	tgg → <u>taa</u>
exón 2	204	689	cag → <u>tag</u>
exón 2		689+691	cag → <u>taa</u>
exón 2	213	717	tgg → <u>tag</u>
exón 3		812	tgg → <u>tga</u>
exón 2-3		717+812	tgg → <u>taa</u>
exón 3	222	838	tgg → <u>tag</u>
exón 3		839	tgg → <u>tga</u>
exón 3		838+839	tgg → <u>taa</u>
exón 3	225	846	cag → <u>tag</u>
exón 3		846+848	cag → <u>taa</u>
exón 3	235	877	tgg → <u>tag</u>
exón 3		878	tgg → <u>tga</u>
exón 3		877+878	tgg → <u>taa</u>
exón 3	238	885+886	cgg → <u>tag</u>
exón 3		885+887	cgg → <u>tga</u>
exón 3		885+886+887	cgg → <u>taa</u>
exón 3	248	915	cga → <u>tga</u>
exón 3		915+916	cga → <u>taa</u>
exón 4	253	1064	tgg → <u>tag</u>
exón 4		1065	tgg → <u>tga</u>
exón 4		1064+1065	tgg → <u>taa</u>
exón 4	271	1117	cga → <u>tga</u>
exón 4		1117+1118	cga → <u>taa</u>
exón 5	311	1316	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1317	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1316+1317	tgg → <u>taa</u>
exón 5	318	1336	cag → <u>tag</u>
exón 5		1336+1338	cag → <u>taa</u>
exón 5	328	1367	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1368	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1367+1368	tgg → <u>taa</u>
exón 5	341	1405	cag → <u>tag</u>
exón 5		1405+1407	cag → <u>taa</u>
exón 5	361	1465	cag → <u>tag</u>
exón 5		1465+1467	cag → <u>taa</u>
exón 5	383	1531	cag → <u>tag</u>
exón 5		1531+1533	cag → <u>taa</u>
exón 5	387	1543	cga → <u>tga</u>
exón 5		1543+1544	cga → <u>taa</u>
exón 5	389	1549	cag → <u>tag</u>
exón 5		1549+1551	cag → <u>taa</u>
exón 5	401	1586	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1587	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1586+1587	tgg → <u>taa</u>
exón 5	404	1594	cag → <u>tag</u>
exón 5		1594+1596	cag → <u>taa</u>
exón 5	410	1613	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1614	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1613+1614	tgg → <u>taa</u>

Tabla 3b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-A2 (SOSR, SEC ID N°: 15 y 16)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	cag → tag
exón 1		154+156	cag → taa
exón 1	79	235	cag → tag
exón 1		235+237	cag → taa
exón 1	90	268	cag → tag
exón 1		268+270	cag → taa
exón 1	94	281	tgg → tag
exón 1		282	tgg → tga
exón 1		281+282	tgg → taa
exón 1	111	331	cag → tag
exón 1		331+333	cag → taa
exón 1	112	335	tgg → tag
exón 1		336	tgg → tga
exón 1		335+336	tgg → taa
exón 1	117	350	tgg → tag
exón 1		351	tgg → tga
exón 1		350+351	tgg → taa
exón 1	136	406	cag → tag
exón 1		406+408	cag → taa
exón 1	143	427	cag → tag
exón 1		427+429	cag → taa
exón 1	168	502	cag → tag
exón 1		502+504	cag → taa
exón 2	198	672	tgg → tag
exón 2		673	tgg → tga
exón 2		672+673	tgg → taa
exón 2	204	689	cag → tag
exón 2		689+691	cag → taa
exón 2	213	717	tgg → tag
exón 3		812	tgg → tga
exón 2-3		717+812	tgg → taa
exón 3	222	838	tgg → tag
exón 3		839	tgg → tga
exón 3		838+839	tgg → taa
exón 3	225	846	cag → tag
exón 3		846+848	cag → taa
exón 3	235	877	tgg → tag
exón 3		878	tgg → tga
exón 3		877+878	tgg → taa
exón 3	238	885+886	cgg → tag
exón 3		885+887	taa
exón 3		885+886+887	cgg → taa
exón 3	248	915	cga → tga
exón 3		915+916	cga → taa
exón 4	253	1064	tgg → tag
exón 4		1065	tgg → tga
exón 4		1064+1065	tgg → taa
exón 4	271	1117	cga → tga
exón 4		1117+1118	cga → taa
exón 5	311	1316	tgg → tag
exón 5		1317	tgg → tga
exón 5		1316+1317	tgg → taa
exón 5	318	1336	cag → tag
exón 5		1336+1338	cag → taa
exón 5	328	1367	tgg → tag
exón 5		1368	tgg → tga
exón 5		1367+1368	tgg → taa
exón 5	341	1405	cag → tag
exón 5		1405+1407	cag → taa
exón 5	361	1465	cag → tag
exón 5		1465+1467	cag → taa
exón 5	383	1531	cag → tag
exón 5		1531+1533	cag → taa

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 5	387	1543	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 5		1543+1544	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	389	1549	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1549+1551	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	401	1586	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1587	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1586+1587	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	410	1613	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1614	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1613+1614	<u>tgg</u> → <u>taa</u>

Tabla 4a: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-A3 (WOSR, SEC ID N°: 5 y 6)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	81	241	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	82	244	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	91	271	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		271+273	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	95	284	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		285	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		284+285	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	112	334	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		334+336	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	113	338	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		339	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		338+339	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	137	409	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		409+411	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	144	430	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		430+432	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	169	505	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		505+507	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	199	828	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 2		829	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2		828+829	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 2	205	845	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 2		845+847	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	214	873	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		947	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2-3		873+947	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	223	973	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		974	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		973+974	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	236	1012	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1013	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1012+1013	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	239	1020+1021	<u>cgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1020+1022	<u>cgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1020+1021+1022	<u>cgg</u> → <u>taa</u>
exón 4	254	1146	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 4		1147	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 4		1146+1147	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 4	272	1199	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 4		1199+1200	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	312	1420	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1421	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1420+1421	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	319	1440	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1440+1442	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	329	1471	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1472	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1471+1472	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	362	1569	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1569+1571	<u>cag</u> → <u>taa</u>

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 5	384	1635	cag → tag
exón 5		1635+1637	cag → taa
exón 5	388	1647	cga → tga
exón 5		1647+1648	cga → taa
exón 5	390	1653	cag → tag
exón 5		1653+1655	cag → taa
exón 5	399	1680	cga → tga
exón 5		1680+1681	cga → taa
exón 5	402	1690	tgg → tag
exón 5		1691	tgg → tga
exón 5		1690+1691	tgg → taa
exón 5	411	1717	tgg → tag
exón 5		1718	tgg → tga
exón 5		1717+1718	tgg → taa

Tabla 4b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-A3 (SOSR, SEC ID N°: 17 y 18)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	cag → tag
exón 1		154+156	cag → taa
exón 1	81	241	caa → taa
exón 1	82	244	caa → taa
exón 1	91	271	cag → tag
exón 1		271+273	cag → taa
exón 1	95	284	tgg → tag
exón 1		285	tgg → tga
exón 1		284+285	tgg → taa
exón 1	112	334	cag → tag
exón 1		334+336	cag → taa
exón 1	113	338	tgg → tag
exón 1		339	tgg → tga
exón 1		338+339	tgg → taa
exón 1	137	409	cag → tag
exón 1		409+411	cag → taa
exón 1	144	430	cag → tag
exón 1		430+432	cag → taa
exón 1	169	505	cag → tag
exón 1		505+507	cag → taa
exón 2	199	828	tgg → tag
exón 2		829	tgg → tga
exón 2		828+829	tgg → taa
exón 2	205	845	cag → tag
exón 2		845+847	cag → taa
exón 2	214	873	tgg → tag
exón 3		947	tgg → tga
exón 2-3		873+947	tgg → taa
exón 3	223	973	tgg → tag
exón 3		974	tgg → tga
exón 3		973+974	tgg → taa
exón 3	236	1012	tgg → tag
exón 3		1013	tgg → tga
exón 3		1012+1013	tgg → taa
exón 4	254	1144	tgg → tag
exón 4		1145	tgg → tga
exón 4		1144+1145	tgg → taa
exón 4	272	1197	cga → tga
exón 4		1197+1198	cga → taa
exón 5	312	1402	tgg → tag
exón 5		1403	tgg → tga
exón 5		1402+1402	tgg → taa
exón 5	319	1422	cag → tag
exón 5		1422+1424	cag → taa
exón 5	329	1453	tgg → tag
exón 5		1454	tgg → tga
exón 5		1453+1454	tgg → taa

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 5	362	1551	cag → tag
exón 5		1551+1553	cag → taa
exón 5	384	1617	cag → tag
exón 5		1617+1619	cag → taa
exón 5	388	1629	cga → tga
exón 5		1629+1630	cga → taa
exón 5	390	1635	cag → tag
exón 5		1635+1637	cag → taa
exón 5	399	1662	cga → tga
exón 5		1662+1663	cga → taa
exón 5	402	1672	tgg → tag
exón 5		1673	tgg → tga
exón 5		1672+1673	tgg → taa
exón 5	411	1699	tgg → tag
exón 5		1700	tgg → tga
exón 5		1699+1700	tgg → taa

Tabla 5a: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C1 (WOSR, SEC ID N°: 7 y 8)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	cag → tag
exón 1		154+156	cag → taa
exón 1	79	235	caa → taa
exón 1	88	262	cag → tag
exón 1		262+264	cag → taa
exón 1	92	275	tgg → tag
exón 1		276	tgg → tga
exón 1		275+276	tgg → taa
exón 1	109	325	cag → tag
exón 1		325+327	cag → taa
exón 1	110	329	tgg → tag
exón 1		330	tgg → tga
exón 1		329+330	tgg → taa
exón 1	115	344	tgg → tag
exón 1		345	tgg → tga
exón 1		344+345	tgg → taa
exón 1	134	400	cag → tag
exón 1		400+402	cag → taa
exón 1	141	421	cag → tag
exón 1		421+423	cag → taa
exón 1	146	436+437	cgg → tag
exón 1		436+438	cgg → tga
exón 1		436+437+438	cgg → taa
exón 1	166	496	cag → tag
exón 1		496+498	cag → taa
exón 2	196	667	tgg → tag
exón 2		668	tgg → tga
exón 2		667+668	tgg → taa
exón 2	202	684	cag → tag
exón 2		684+686	cag → taa
exón 2	211	712	tgg → tag
exón 3		791	tgg → tga
exón 2-3		712+791	tgg → taa
exón 3	220	817	tgg → tag
exón 3		818	tgg → tga
exón 3		817+818	tgg → taa
exón 3	223	825	cag → tag
exón 3		825+827	cag → taa
exón 3	233	856	tgg → tag
exón 3		857	tgg → tga
exón 3		856+857	tgg → taa
exón 3	236	864	cga → tga
exón 3		864+865	cga → taa
exón 4	251	1000	tgg → tag
exón 4		1001	tgg → tga

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 4		1000+1001	tgg → <u>taa</u>
exón 4	269	1053	cga → <u>tga</u>
exón 4		1053+1054	cga → <u>taa</u>
exón 5	309	1259	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1260	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1259+1260	tgg → <u>taa</u>
exón 5	316	1279	cag → <u>tag</u>
exón 5		1279+1281	cag → <u>taa</u>
exón 5	326	1310	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1311	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1310+1311	tgg → <u>taa</u>
exón 5	339	1348	cag → <u>tag</u>
exón 5		1348+1350	cag → <u>taa</u>
exón 5	359	1408	cag → <u>tag</u>
exón 5		1408+1410	cag → <u>taa</u>
exón 5	381	1474	cag → <u>tag</u>
exón 5		1474+1476	cag → <u>taa</u>
exón 5	387	1492	cag → <u>tag</u>
exón 5		1492+1494	cag → <u>taa</u>
exón 5	399	1529	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1530	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1529+1530	tgg → <u>taa</u>
exón 5	408	1556	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1567	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1556+1557	tgg → <u>taa</u>

Tabla 5b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C1 (SOSR, SEC ID N°: 19 y 20)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	cag → <u>tag</u>
exón 1		154+156	cag → <u>taa</u>
exón 1	79	235	caa → <u>taa</u>
exón 1	88	262	cag → <u>tag</u>
exón 1		262+264	cag → <u>taa</u>
exón 1	92	275	tgg → <u>tag</u>
exón 1		276	tgg → <u>tga</u>
exón 1		275+276	tgg → <u>taa</u>
exón 1	109	325	cag → <u>tag</u>
exón 1		325+327	cag → <u>taa</u>
exón 1	110	329	tgg → <u>tag</u>
exón 1		330	tgg → <u>tga</u>
exón 1		329+330	tgg → <u>taa</u>
exón 1	115	344	tgg → <u>tag</u>
exón 1		345	tgg → <u>tga</u>
exón 1		344+345	tgg → <u>taa</u>
exón 1	134	400	cag → <u>tag</u>
exón 1		400+402	cag → <u>taa</u>
exón 1	141	421	cag → <u>tag</u>
exón 1		421+423	cag → <u>taa</u>
exón 1	146	436+437	cgg → <u>tag</u>
exón 1		436+438	cgg → <u>tga</u>
exón 1		436+437+438	cgg → <u>taa</u>
exón 1	166	496	cag → <u>tag</u>
exón 1		496+498	cag → <u>taa</u>
exón 2	196	667	tgg → <u>tag</u>
exón 2		668	tgg → <u>tga</u>
exón 2		667+668	tgg → <u>taa</u>
exón 2	202	684	cag → <u>tag</u>
exón 2		684+686	cag → <u>taa</u>
exón 2	211	712	tgg → <u>tag</u>
exón 3		791	tgg → <u>tga</u>
exón 2-3		712+791	tgg → <u>taa</u>
exón 3	220	817	tgg → <u>tag</u>
exón 3		818	tgg → <u>tga</u>
exón 3		817+818	tgg → <u>taa</u>

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 3	223	825	cag → tag
exón 3		825+827	cag → taa
exón 3	233	856	tgg → tag
exón 3		857	tgg → tga
exón 3		856+857	tgg → taa
exón 3	236	864	cga → tga
exón 3		864+865	cga → taa
exón 4	251	1000	tgg → tag
exón 4		1001	tgg → tga
exón 4		1000+1001	tgg → taa
exón 4	269	1053	cga → tga
exón 4		1053+1054	cga → taa
exón 5	309	1259	tgg → tag
exón 5		1260	tgg → tga
exón 5		1259+1260	tgg → taa
exón 5	316	1279	cag → tag
exón 5		1279+1281	cag → taa
exón 5	326	1309	tgg → tag
exón 5		1310	tgg → tga
exón 5		1309+1310	tgg → taa
exón 5	339	1348	cag → tag
exón 5		1348+1350	cag → taa
exón 5	359	1408	cag → tag
exón 5		1408+1410	cag → taa
exón 5	381	1474	cag → tag
exón 5		1474+1476	cag → taa
exón 5	387	1492	cag → tag
exón 5		1492+1494	cag → taa
exón 5	399	1529	tgg → tag
exón 5		1530	tgg → tga
exón 5		1529+1530	tgg → taa
exón 5	408	1556	tgg → tag
exón 5		1557	tgg → tga
exón 5		1556+1557	tgg → taa

Tabla 6a: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C2 (WOSR, SEC ID N°: 9 y 10)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	cag → tag
exón 1		154+156	cag → taa
exón 1	79	235	cag → tag
exón 1		235+237	cag → taa
exón 1	90	268	cag → tag
exón 1		268+270	cag → taa
exón 1	94	281	tgg → tag
exón 1		282	tgg → tga
exón 1		281+282	tgg → taa
exón 1	111	331	cag → tag
exón 1		331+333	cag → taa
exón 1	112	335	tgg → tag
exón 1		336	tgg → tga
exón 1		335+336	tgg → taa
exón 1	117	350	tgg → tag
exón 1		351	tgg → tga
exón 1		350+351	tgg → taa
exón 1	136	406	cag → tag
exón 1		406+408	cag → taa
exón 1	143	427	cag → tag
exón 1		427+429	cag → taa
exón 1	168	502	cag → tag
exón 1		502+504	cag → taa
exón 2	198	669	tgg → tag
exón 2		670	tgg → tga
exón 2		669+670	tgg → taa
exón 2	204	686	cag → tag

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 2		686+688	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	213	714	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		945	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2-3		714+945	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	222	971	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		972	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		971+972	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	225	979	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 3		979+981	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 3	235	1010	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1011	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1010+1011	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	238	1018+1019	<u>cgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1018+1020	<u>cgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1018+1019+1020	<u>cgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	248	1048	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 3		1048+1049	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 4	253	1195	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 4		1196	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 4		1195+1196	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 4	271	1248	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 4		1248+1249	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	311	1454	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1455	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1454+1455	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	318	1474	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1474+1476	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	328	1505	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1506	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1505+1506	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	341	1543	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1543+1545	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	361	1603	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1603+1605	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	383	1669	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1669+1671	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	389	1687	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1687+1689	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	401	1724	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1725	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1724+1725	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	410	1751	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1752	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1751+1752	<u>tgg</u> → <u>taa</u>

Tabla 6b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C2 (SOSR, SEC ID N°: 21 y 22)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		154+156	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	79	235	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		235+237	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	90	268	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		268+270	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	94	281	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		282	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		281+282	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	111	331	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		331+333	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	112	335	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		336	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		335+336	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	117	350	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		351	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		350+351	<u>tgg</u> → <u>taa</u>

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	136	406	cag → tag
exón 1		406+408	cag → taa
exón 1	143	427	cag → tag
exón 1		427+429	cag → taa
exón 1	168	502	cag → tag
exón 1		502+504	cag → taa
exón 2	198	669	tgg → tag
exón 2		670	tgg → tga
exón 2		669+670	tgg → taa
exón 2	204	686	cag → tag
exón 2		686+688	cag → taa
exón 2	213	714	tgg → tag
exón 3		945	tgg → tga
exón 2-3		714+945	tgg → taa
exón 3	222	971	tgg → tag
exón 3		972	tgg → tga
exón 3		971+972	tgg → taa
exón 3	225	979	cag → tag
exón 3		979+981	cag → taa
exón 3	235	1010	tgg → tag
exón 3		1011	tgg → tga
exón 3		1010+1011	tgg → taa
exón 3	238	1018+1019	cgg → tag
exón 3		1018+1020	cgg → tga
exón 3		1018+1019+1020	cgg → taa
exón 3	248	1048	cga → tga
exón 3		1048+1049	cga → taa
exón 4	253	1195	tgg → tag
exón 4		1196	tgg → tga
exón 4		1195+1196	tgg → taa
exón 4	271	1248	cga → tga
exón 4		1248+1249	cga → taa
exón 5	311	1454	tgg → tag
exón 5		1455	tgg → tga
exón 5		1454+1455	tgg → taa
exón 5	318	1474	cag → tag
exón 5		1474+1476	cag → taa
exón 5	328	1505	tgg → tag
exón 5		1506	tgg → tga
exón 5		1505+1506	tgg → taa
exón 5	341	1543	cag → tag
exón 5		1543+1545	cag → taa
exón 5	361	1603	cag → tag
exón 5		1603+1605	cag → taa
exón 5	383	1669	cag → tag
exón 5		1669+1671	cag → taa
exón 5	389	1687	cag → tag
exón 5		1687+1689	cag → taa
exón 5	401	1724	tgg → tag
exón 5		1725	tgg → tga
exón 5		1724+1725	tgg → taa
exón 5	410	1751	tgg → tag
exón 5		1752	tgg → tga
exón 5		1751+1752	tgg → taa

Tabla 7a: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C3 (WOSR, SEC ID N°: 11 y 12)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	caa → taa
exón 1	81	241	caa → taa
exón 1	82	244	caa → taa
exón 1	91	271	cag → tag
exón 1		271+273	cag → taa
exón 1	95	284	tgg → tag
exón 1		285	tgg → tga

ES 2 545 083 T3

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1		284+285	tgg → <u>taa</u>
exón 1	112	334	cag → <u>tag</u>
exón 1		334+336	cag → <u>taa</u>
exón 1	113	338	tgg → <u>tag</u>
exón 1		339	tgg → <u>tga</u>
exón 1		338+339	tgg → <u>taa</u>
exón 1	137	409	cag → <u>tag</u>
exón 1		409+411	cag → <u>taa</u>
exón 1	144	430	cag → <u>tag</u>
exón 1		430+432	cag → <u>taa</u>
exón 1	169	505	cag → <u>tag</u>
exón 1		505+507	cag → <u>taa</u>
exón 2	199	1018	tgg → <u>tag</u>
exón 2		1019	tgg → <u>tga</u>
exón 2		1018+1019	tgg → <u>taa</u>
exón 2	205	1035	cag → <u>tag</u>
exón 2		1035+1037	cag → <u>taa</u>
exón 2	214	1063	tgg → <u>tag</u>
exón 3		1138	tgg → <u>tga</u>
exón 2-3		1063+1138	tgg → <u>taa</u>
exón 3	223	1164	tgg → <u>tag</u>
exón 3		1165	tgg → <u>tga</u>
exón 3		1164+1165	tgg → <u>taa</u>
exón 3	236	1203	tgg → <u>tag</u>
exón 3		1204	tgg → <u>tga</u>
exón 3		1203+1204	tgg → <u>taa</u>
exón 3	239	1211+1212	cgg → <u>tag</u>
exón 3		1211+1213	cgg → <u>tga</u>
exón 3		1211+1212+1213	cgg → <u>taa</u>
exón 4	254	1329	tgg → <u>tag</u>
exón 4		1330	tgg → <u>tga</u>
exón 4		1329+1330	tgg → <u>taa</u>
exón 4	272	1382	cga → <u>tga</u>
exón 4		1382+1383	cga → <u>taa</u>
exón 5	312	1578	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1579	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1578+1579	tgg → <u>taa</u>
exón 5	319	1598	cag → <u>tag</u>
exón 5		1598+1600	cag → <u>taa</u>
exón 5	329	1629	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1630	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1629+1630	tgg → <u>taa</u>
exón 5	362	1727	cag → <u>tag</u>
exón 5		1727+1729	cag → <u>taa</u>
exón 5	384	1793	cag → <u>tag</u>
exón 5		1793+1795	cag → <u>taa</u>
exón 5	388	1805	cga → <u>tga</u>
exón 5		1805+1806	cga → <u>taa</u>
exón 5	390	1811	cag → <u>tag</u>
exón 5		1811+1813	cag → <u>taa</u>
exón 5	399	1838	cga → <u>tga</u>
exón 5		1838+1839	cga → <u>taa</u>
exón 5	402	1848	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1849	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1848+1849	tgg → <u>taa</u>
exón 5	411	1875	tgg → <u>tag</u>
exón 5		1876	tgg → <u>tga</u>
exón 5		1875+1876	tgg → <u>taa</u>

Tabla 7b: Posibles mutaciones del codón de terminación en FATB-C3 (SOSR, SEC ID N°: 23 y 24)

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 1	52	154	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	81	241	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	82	244	<u>caa</u> → <u>taa</u>
exón 1	91	271	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		271+273	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	95	284	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 1		285	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		284+285	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	112	334	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		334+336	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	113	338	<u>tgg</u> <u>tag</u>
exón 1		339	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 1		338+339	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 1	137	409	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		409+411	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	144	430	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		430+432	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 1	169	505	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 1		505+507	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	199	1019	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 2		1020	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2		1019+1020	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 2	205	1036	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 2		1036+1038	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 2	214	1064	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1139	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 2-3		1064+1139	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	223	1165	<u>tgg</u> <u>tag</u>
exón 3		1166	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1165+1166	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	236	1204	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1205	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1204+1205	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 3	239	1212+1213	<u>cgg</u> → <u>tag</u>
exón 3		1212+1214	<u>cgg</u> → <u>tga</u>
exón 3		1212+1213+1214	<u>cgg</u> → <u>taa</u>
exón 4	254	1330	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 4		1331	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 4		1330+1331	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 4	272	1383	<u>cga</u> <u>tga</u>
exón 4		1383+1384	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	312	1579	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1580	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1579+1580	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	319	1599	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1599+1601	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	329	1630	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1631	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1630+1631	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	362	1728	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1728+1730	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	384	1794	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1794+1796	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	388	1806	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 5		1806+1807	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	390	1812	<u>cag</u> → <u>tag</u>
exón 5		1812+1814	<u>cag</u> → <u>taa</u>
exón 5	399	1839	<u>cga</u> → <u>tga</u>
exón 5		1839+1840	<u>cga</u> → <u>taa</u>
exón 5	402	1849	<u>tgg</u> → <u>tag</u>
exón 5		1850	<u>tgg</u> → <u>tga</u>
exón 5		1849+1850	<u>tgg</u> → <u>taa</u>
exón 5	411	1876	<u>tgg</u> → <u>tag</u>

Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante
exón 5		1877	tgg → tga
exón 5		1876+1877	tgg → <u>taa</u>

Obviamente, las mutaciones no se limitan a las mostradas en las tablas anteriores y se entiende que mutaciones de terminación análogas pueden estar presentes en alelos *fatB* distintos de aquellos representados en el listado de secuencias y citados en las tablas anteriores.

Una mutación del sitio de corte y empalme en un alelo FATB, como se usa en el presente documento, es una mutación en un alelo FATB por la cual una mutación en el alelo FATB no mutante correspondiente produce corte y empalme aberrante del pre-ARNm, produciendo así una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene. La mutación puede estar en la secuencia del sitio de corte y empalme consenso. Por ejemplo, la siguiente tabla describe secuencias consenso, que - si están mutadas - es probable que afecten el corte y empalme correcto. Los sitios de corte y empalme de GT-AG tienen comúnmente otros nucleótidos conservados, tales como 2 nucleótidos altamente conservados en el extremo 5' del intrón (en el exón), que es frecuentemente 5'-AG-3'. En el lado de 3' del dinucleótido GT (así en el intrón) puede encontrarse alta conservación para un tetranucleótido 5'-AAGT-3'. Esto significa que pueden identificarse 8 nucleótidos como altamente conservados en el sitio donante.

Tipo de intrón	Sitio de unión de 5' (exón^intrón)	Sitio de corte y empalme cerca de 3'	Sitio de unión de 3' (intrón^exón)	Encontrado en
GU-AG (intrones canónicos; aproximadamente el 99 %)	CRN^ GU (A/G)AGU	A	Yn AG ^N	pre-ARNm nuclear
(aproximadamente el 1 %)	^GC		AG ^	pre-ARNm nuclear
Intrones no canónicos (< aproximadamente el 0,1 %)	^AU		AC ^	pre-ARNm nuclear
Sitios de ramificación canónicos		CUPuAPy		20-50 nucleótidos 5' con respecto al aceptor del sitio de corte y empalme de pre-ARNm nuclear

^ representa el sitio de corte y empalme; R = A o G; Y = C o T; N = A, C, G o T (pero frecuentemente G); n = múltiples nucleótidos; en negrita = dinucleótidos consenso en la secuencia del intrón. Pu = base de purina; Py = base de pirimidina.

Se describen secuencias de la estructura del sitio de corte y empalme y consenso en la materia y están disponibles programas informáticos para identificar exones y secuencias de sitios de corte y empalme, tales como NetPLAntgene, BDGP o Genio, est2genome, FgeneSH y similares. La comparación de la secuencia genómica o pre-secuencia de ARNm con la proteína traducida puede usarse para determinar o verificar sitios de corte y empalme y corte y empalme anómalo.

Cualquier mutación (inserción, delección y/o sustitución de uno o más nucleótidos) que altere el corte y empalme del pre-ARNm y así conduzca a una proteína con actividad biológica significativamente reducida está englobada en el presente documento. Un alelo FATB mutante que comprende una mutación del sitio de corte y empalme puede ser un alelo FATB en el que el corte y empalme alterado se produce por la introducción en la región de ADN transcrito de *FATB* de una o más sustituciones de nucleótidos de los dinucleótidos consenso representados en negrita anteriormente. Por ejemplo, **^GU** puede, por ejemplo, mutarse a **^AU** en el sitio de corte y empalme donante y/o **AG**^ puede mutarse a **AA**^ en la secuencia del sitio de corte y empalme aceptor. Un alelo FATB mutante que comprende una mutación del sitio de corte y empalme puede ser un alelo FATB en el que el corte y empalme alterado se produce por la introducción en la región de ADN transcrita de *FATB* de una o más sustituciones de nucleótidos en los nucleótidos conservados en las secuencias de exón.

Las siguientes tablas indican posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en genes *FATB*, especialmente en los dinucleótidos conservados de intrones canónicos y el nucleótido que flanquea inmediatamente estos dinucleótidos en el exón (los símbolos '[' y ']' indican los límites de exón-intrón e intrón-exón y el sitio de corte y empalme; los nucleótidos subrayados están mutados).

Tabla 8a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en *FATB-A1* (WOSR, SEC ID N°: 1)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	504	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	505	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	589	...ag]g → ...aag]g
intrón 1 - aceptor	590	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	723	g[gt... → a[gt...

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 2 - donante	724	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	797	... ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	798	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	911	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	912	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	980	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1153	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1242	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1243	...ag]c → ...ag]t

Tabla 8b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-A1 (SOSR, SEC ID N°: 13)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	501	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	502	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	586	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	587	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	720	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	721	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	794	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	795	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	908	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	909	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	977	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1150	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1239	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1240	...ag]c → ...ag]t

5 Tabla 9a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-A2 (WOSR, SEC ID N°: 3)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	504	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	505	g[gt... → 7 g[at...
intrón 1 - aceptor	583	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	584	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	717	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	718	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	811	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	812	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	925	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	926	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1058	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1231	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1308	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1309	...ag]c → ...ag]t

Tabla 9b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-A2 (SOSR, SEC ID N°: 15)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	504	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	505	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	583	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	584	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	717	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	718	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	811	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	812	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	925	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	926	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1058	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1231	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1308	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1309	...ag]c → ...ag]t

Tabla 10a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-A3 (WOSR, SEC ID N°: 5)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	507	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	508	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	739	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	740	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	873	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	874	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	946	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	947	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1060	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1061	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1140	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1312	c[gt... → t[gt...
intrón 4 - donante	1313	c[gt... → c[at...
intrón 4 - aceptor	1412	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1413	...ag]c → ...ag]t

Tabla 10b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-A3 (SOSR, SEC ID N°: 17)

5

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	507	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	508	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	739	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	740	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	873	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	874	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	946	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	947	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1060	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1061	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1138	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1310	c[gt... → t[gt...
intrón 4 - donante	1311	c[gt... → c[at...
intrón 4 - aceptor	1394	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1395	...ag]c → ...ag]t

Tabla 11a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C1 (WOSR, SEC ID N°: 7)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	498	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	499	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	578	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	579	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	712	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	713	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	790	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	791	... ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	904	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	905	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	994	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1167	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1251	... ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1252	...ag]c → ...ag]t

10 Tabla 11b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C1 (SOSR, SEC ID N°: 19)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	498	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	499	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	578	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	579	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	712	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	713	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	790	...ag]g → ...aa]g

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 2 - aceptor	791	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	904	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	905	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	994	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1167	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1251	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1252	...ag]c → ...ag]t

Tabla 12a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C2 (WOSR, SEC ID N°: 9)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	504	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	505	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	580	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	581	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	714	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	715	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	944	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	945	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1058	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1059	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1189	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1362	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1446	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1447	...ag]c → ...ag]t

5 Tabla 12b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C2 (SOSR, SEC ID N°: 21)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	504	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	505	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	580	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	581	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	714	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	715	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	944	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	945	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1058	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1059	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1189	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1362	t[gt... → t[at...
intrón 4 - aceptor	1446	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1447	...ag]c → ... ag]t

Tabla 13a: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C3 (WOSR, SEC ID N°: 11)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	507	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	508	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	929	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	930	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	1063	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	1064	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	1137	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	1138	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1251	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1252	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1323	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1495	c[gt... → t[gt...
intrón 4 - donante	1496	c[gt... → c[at...
intrón 4 - aceptor	1570	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1571	...ag]c → ...ag]t

Tabla 13b: Posibles mutaciones del sitio de corte y empalme en FATB-C3 (SOSR, SEC ID N°: 23)

Número de intrón	Posición de nucleótido	Sitio de corte y empalme no mutante → mutante
intrón 1 - donante	507	g[gt... → a[gt...
intrón 1 - donante	508	g[gt... → g[at...
intrón 1 - aceptor	930	...ag]g → ...aa]g
intrón 1 - aceptor	931	...ag]g → ...ag]a
intrón 2 - donante	1064	g[gt... → a[gt...
intrón 2 - donante	1065	g[gt... → g[at...
intrón 2 - aceptor	1138	...ag]g → ...aa]g
intrón 2 - aceptor	1139	...ag]g → ...ag]a
intrón 3 - donante	1252	g[gt... → a[gt...
intrón 3 - donante	1253	g[gt... → g[at...
intrón 3 - aceptor	1324	...ag]t → ...aa]t
intrón 4 - donante	1496	c[gt... → t[gt...
intrón 4 - donante	1497	c[gt... → c[at...
intrón 4 - aceptor	1571	...ag]c → ...aa]c
intrón 4 - aceptor	1572	...ag]c → ...ag]t

Secuencias de aminoácidos

5 Se describen tanto secuencias de aminoácidos de FATB no mutantes (funcionales) como secuencias de aminoácidos de FATB mutantes (que comprenden una o más mutaciones, preferentemente mutaciones que producen una actividad biológica significativamente reducida o ninguna de la proteína FATB) de especies de *Brassica*, especialmente de *Brassica napus*, pero también de otras especies de cultivo de *Brassica*. Por ejemplo, especies de *Brassica* que comprenden un genoma A y/o C pueden codificar aminoácidos de FATB-A o FATB-C diferentes. Además, pueden usarse métodos de mutagénesis para generar mutaciones en alelos FATB no mutantes, generando así alelos mutantes que pueden codificar adicionalmente proteínas FATB mutantes. En una realización, las secuencias de aminoácidos de FATB no mutantes y/o mutantes se proporcionan dentro de una planta de *Brassica* (es decir, endógenamente). Sin embargo, secuencias de aminoácidos de FATB aisladas (por ejemplo, aisladas de la planta o preparadas sintéticamente), además de variantes de las mismas y fragmentos de cualquiera de estas, también se describen en el presente documento.

20 Se han aislado secuencias de aminoácidos de las proteínas FATB-A1, FATB-A2, FATB-A3, FATB-C1, FATB-C2 y FATB-C3 de colza oleaginosa de invierno (WOSR) y colza oleaginosa de verano (SOSR) de *Brassica napus*, como se representa en el listado de secuencias. Se representan las secuencias de FATB no mutantes, mientras que las secuencias de FATB mutantes de estas secuencias, y de secuencias esencialmente similares a éstas, se describen en el presente documento más adelante, con referencia a las secuencias de FATB no mutante.

25 Como se ha descrito anteriormente, las proteínas FATB de *Brassica* descritas en el presente documento tienen aproximadamente 412 - 424 aminoácidos de longitud y comprenden varios dominios estructurales y funcionales. Las secuencias de la parte del extremo N de las proteínas FATB están menos conservadas evolutivamente que las secuencias de las proteínas FATB maduras. Las secuencias de las proteínas FATB maduras son, por tanto, menos variables que las secuencias de las proteínas precursoras.

30 “Secuencias de aminoácidos de FATB-A1” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-A1” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 2 (FATB-A1 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 14 (FATB-A1 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

40 “Secuencias de aminoácidos de FATB-A2” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-A2” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 4 (FATB-A2 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o SEC ID N°: 16 (FATB-A2 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

45 “Secuencias de aminoácidos de FATB-A3” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-A3” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 6 (FATB-A3 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o SEC ID N°: 18 (FATB-A3 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de

secuencias.

“Secuencias de aminoácidos de FATB-C1” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-C1” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 8 (FATB-C1 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o con SEC ID N°: 20 (FATB-C1 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

“Secuencias de aminoácidos de FATB-C2” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-C2” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 10 (FATB-C2 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o SEC ID N°: 22 (FATB-C2 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

“Secuencias de aminoácidos de FATB-C3” o “secuencias de aminoácidos de variantes de FATB-C3” según la invención son secuencias de aminoácidos que tienen al menos al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 12 (FATB-C3 de WOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito y/o SEC ID N°: 24 (FATB-C3 de SOSR) cuando se alinean con o sin péptido de tránsito. También puede denominarse que estas secuencias de aminoácidos son “esencialmente similares” o “esencialmente idénticas” a las secuencias de FATB proporcionadas en el listado de secuencias.

Así, se describen tanto secuencias de aminoácidos de proteínas FATB-A1, FATB-A2, FATB-A3, FATB-C1, FATB-C2 y FATB-C3 funcionales no mutantes, que incluye variantes y fragmentos de las mismas (como se define adicionalmente más adelante), además de secuencias de aminoácidos mutantes de cualquiera de éstas, por lo que la mutación en la secuencia de aminoácidos produce preferentemente una reducción significativa en la actividad biológica de la proteína FATB. Una reducción significativa en la actividad biológica de la proteína FATB mutante se refiere a una reducción en la actividad enzimática (es decir, en la actividad de acil ACP-tioesterasa) de al menos el 30 %, al menos el 40 %, 50 % o más, al menos el 90 % o el 100 % (sin actividad biológica) en comparación con la actividad de la proteína natural.

En el presente documento se describen tanto secuencias de aminoácidos endógenas como aisladas. Un “fragmento” de una secuencia de aminoácidos de FATB o variante de la misma (como se define) puede ser de diversas longitudes, tales como al menos 10, 12, 15, 18, 20, 50, 100, 200, 400 aminoácidos contiguos de la secuencia de FATB (o de la secuencia de variante).

Secuencias de aminoácidos de proteínas FATB funcionales

Las secuencias de aminoácidos representadas en el listado de secuencias son proteínas FATB funcionales no mutantes de *Brassica napus*. Así, estas secuencias son endógenas para las plantas WOSR y SOSR de las que se aislaron. Otras especies, variedades, líneas de cultivo o accesiones silvestres de cultivos de *Brassica* pueden cribarse para otras proteínas FATB funcionales con las mismas secuencias de aminoácidos o variantes de las mismas, como se ha descrito anteriormente.

Además, se entiende que secuencias de aminoácidos de FATB y variantes de las mismas (o fragmentos de cualquiera de éstas) pueden identificarse por ordenador, cribando bases de datos de aminoácidos para secuencias esencialmente similares. También se describen fragmentos de moléculas de aminoácidos. Los fragmentos incluyen secuencias de aminoácidos de la proteína madura, o fragmentos más pequeños que comprenden toda o parte de las secuencias de aminoácidos, etc.

Secuencias de aminoácidos de proteínas FATB mutantes

Secuencias de aminoácidos que comprenden una o más delecciones, inserciones o sustituciones de aminoácidos con respecto a las secuencias de aminoácidos no mutantes son adecuadas para la invención, ya que son fragmentos de tales moléculas de aminoácido mutantes. Tales secuencias de aminoácidos mutantes pueden generarse y/o identificarse usando diversos métodos conocidos, como se ha descrito anteriormente. De nuevo, tales moléculas de aminoácido pueden estar presentes tanto en forma endógena como en forma aislada.

La(s) mutación (mutaciones) en la secuencia de aminoácidos puede(n) producir una actividad biológica significativamente reducida o completamente suprimida de la proteína FATB con respecto a la proteína natural. Como se ha descrito anteriormente, básicamente, cualquier mutación que produzca una proteína que comprende al menos una inserción, delección y/o sustitución de aminoácido con respecto a la proteína natural puede conducir a

actividad enzimática significativamente reducida (o no). Sin embargo, se entiende que es más probable que las mutaciones en ciertas partes de la proteína produzcan una función reducida de la proteína FATB mutante, tal como mutaciones que conducen a proteínas truncadas, por lo que carecen de porciones significativas de los dominios funcionales, tales como el dominio catalítico o aminoácidos que participan en la especificidad del sustrato (véase anteriormente), o mutaciones por las cuales se sustituyen residuos de aminoácidos conservados que tienen una función catalítica o que participan en la especificidad del sustrato.

Así, se describen proteínas FATB mutantes que comprenden una o más mutaciones de delección o de inserción, por lo que la(s) delección (delecciones) o inserción (inserciones) produce(n) una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene *in vivo*. Tales proteínas FATB mutantes son proteínas FATB en las que al menos 1, al menos 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400 o más aminoácidos se delecionan o insertan en comparación con la proteína FATB no mutante por lo que la(s) delección (delecciones) o inserción (inserciones) produce(n) una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene *in vivo*.

Por tanto, se describen proteínas FATB mutantes que están truncadas, por lo que la truncación produce una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene *in vivo*. Tales proteínas FATB truncadas son proteínas FATB que carecen de dominios funcionales en la parte del extremo C de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente y que mantiene la parte del extremo N de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente. Así, una proteína FATB truncada puede comprender la parte del extremo N de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente hasta, pero que no incluye, el residuo de Cys conservado de la tríada catalítica tipo papaína (como se ha descrito anteriormente). Cuanto más truncada esté la proteína mutante en comparación con la proteína natural, más probable es que carezca de cualquier actividad enzimática. Así, una proteína FATB truncada puede comprender la parte del extremo N de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente hasta, pero que no incluye, el residuo de His o Asn conservado de la tríada catalítica tipo papaína (como se ha descrito anteriormente). Además, una proteína FATB truncada puede comprender la parte del extremo N de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente hasta, pero que no incluye, los residuos de Met, Lys, Val, Ser o Trp conservados que participan en la especificidad del sustrato (como se ha descrito anteriormente). Además, una proteína FATB truncada puede comprender la parte del extremo N de la proteína FATB no mutante (madura) correspondiente que carece de parte o todo el segundo dominio de 4HBT o que carece de parte o todo el primer dominio de 4HBT (como se ha descrito anteriormente), o incluso más aminoácidos.

Se describen proteínas FATB mutantes que comprenden una o más mutaciones de sustitución, por lo que la(s) sustitución (sustituciones) produce(n) una proteína mutante que tiene actividad significativamente reducida o no tiene *in vivo*. Tales proteínas FATB mutantes son proteínas FATB, por lo que los residuos de aminoácidos conservados que tienen una función catalítica o que participan en la especificidad del sustrato (por ejemplo, aquellos descritos anteriormente) están sustituidos. Así, una proteína FATB mutante puede comprender una sustitución de un residuo de aminoácido conservado que tiene una función catalítica, tal como los residuos de Asn, His y Cys conservados de la tríada catalítica tipo papaína. Además, una proteína FATB mutante puede comprender una sustitución de un residuo de aminoácido conservado que participa en la especificidad del sustrato, tal como los residuos de Met, Lys, Val, Ser o Trp conservados.

Métodos

Pueden generarse alelos *fatB* mutantes (por ejemplo, inducidos por mutagénesis) y/o identificarse usando una variedad de métodos, que son convencionales en la materia, por ejemplo, usando métodos basados en PCR para amplificar parte o todo el ADN genómico o ADNc de *fatB*.

El término "mutagénesis", como se usa en el presente documento, se refiere al proceso en el que células vegetales (por ejemplo, una pluralidad de semillas de *Brassica* u otras partes, tales como polen) se someten a una técnica que induce mutaciones en el ADN de las células, tales como contacto con un agente mutagénico, tal como una sustancia química (tal como etilmetilsulfonato (EMS), etilnitrosourea (ENU), etc.) o radiación ionizante (neutrones (tales como en mutagénesis de neutrones rápidos, etc.), rayos alfa, rayos gamma (tales como aquellos suministrados por una fuente de cobalto 60), rayos X, radiación UV, etc.), o una combinación de dos o más de estos. Así, la mutagénesis deseada de uno o más alelos *FATB* puede llevarse a cabo por uso de medios químicos tales como por contacto de uno o más tejidos de planta con etilmetilsulfonato (EMS), etilnitrosourea, etc., por el uso de medios físicos tales como rayos X, etc., o por radiación gamma, tal como aquella suministrada por una fuente de cobalto 60.

Tras la mutagénesis, plantas de *Brassica* se cultivan a partir de las semillas tratadas, o se regeneran a partir de las células tratadas usando técnicas conocidas. Por ejemplo, las semillas de *Brassica* resultantes pueden sembrarse según procedimientos de cultivo convencionales y tras la auto-polinización se forma semilla sobre las plantas. Alternativamente, pueden extraerse plántulas haploides dobles de células de microesporas o de polen tratadas para formar inmediatamente plantas homocigóticas. Semilla adicional que se forma como resultado de tal auto-polinización en la presente generación o una posterior puede recogerse y cribarse para la presencia de alelos FATB mutantes, usando técnicas que son convencionales en la materia, por ejemplo, técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (amplificación de los alelos *fatB*) o técnicas basadas en hibridación, por ejemplo, análisis de transferencia Southern, y/o secuenciación directa de alelos *fatB*. Para cribar para la presencia de

mutaciones puntuales (los llamados polimorfismos de un único nucleótido o SNP) en alelos FATB mutantes, pueden usarse métodos de detección de SNP convencionales en la materia, por ejemplo, técnicas basadas en oligoligación, técnicas basadas en extensión de una única base o técnicas basadas en diferencias en sitios de restricción, tales como TILLING.

Como se ha descrito anteriormente, la mutagenización (espontánea además de inducida) de un alelo FATB no mutante específico se produce en presencia de uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos (llamada en lo sucesivo "región de mutación") en el alelo FATB mutante resultante. El alelo FATB mutante puede así caracterizarse por la localización y la configuración del uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en el alelo FATB no mutante. El sitio en el alelo FATB no mutante en el que uno o más nucleótidos se han insertado, delecionado o sustituido, respectivamente, también se denomina la "región de mutación". Una "región o secuencia flanqueante de 5' o 3'", como se usa en el presente documento, se refiere a una región o secuencia de ADN en el alelo FATB mutante (o el no mutante correspondiente) de al menos 20 pb, preferentemente al menos 50 pb, al menos 750 pb, al menos 1500 pb y hasta 5000 pb de ADN diferentes del ADN que contiene el uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos, preferentemente ADN del alelo FATB mutante (o el no mutante correspondiente) que se localiza tanto inmediatamente en la dirección 5' de y contiguo a (región o secuencia flanqueante de 5') o inmediatamente en la dirección 3' de y contiguo a (región o secuencia flanqueante de 3') la región de mutación en el alelo FATB mutante (o en el alelo FATB no mutante correspondiente).

Las herramientas desarrolladas para identificar un alelo FATB mutante específico o la planta o material de planta que comprende un alelo FATB mutante específico, o productos que comprenden material de planta que comprende un alelo FATB mutante específico, se basan en las características genómicas específicas del alelo FATB mutante específico en comparación con las características genómicas del alelo FATB no mutante correspondiente, tales como un mapa de restricción específico de la región genómica que comprende la región de mutación, marcadores moleculares o la secuencia de las regiones flanqueantes y/o de mutación.

Una vez se ha secuenciado un alelo FATB mutante específico, pueden desarrollarse cebadores y sondas que reconocen específicamente una secuencia dentro de las regiones flanqueantes de 5', flanqueantes de 3' y/o de mutación del alelo FATB mutante en el ácido nucleico (ADN o ARN) de una muestra a modo de una técnica de biología molecular. Por ejemplo, puede desarrollarse un método de PCR para identificar el alelo FATB mutante en muestras biológicas (tales como muestras de plantas, material de planta o productos que comprenden material de planta). Una PCR tal se basa en al menos dos "cebadores" específicos: uno que reconoce una secuencia dentro de la región flanqueante de 5' o 3' del alelo FATB mutante y el otro que reconoce una secuencia dentro de la región flanqueante de 3' o 5' del alelo FATB mutante, respectivamente; o uno que reconoce una secuencia dentro de la región flanqueante de 5' o 3' del alelo FATB mutante y el otro que reconoce una secuencia dentro de la región de mutación del alelo FATB mutante; o uno que reconoce una secuencia dentro de la región flanqueante de 5' o 3' del alelo FATB mutante y el otro que reconoce una secuencia que abarca la región de unión entre la región flanqueante de 3' o 5' y la región de mutación del alelo FATB mutante específico (como se describe adicionalmente más adelante), respectivamente.

Los cebadores tienen preferentemente una secuencia de entre 15 y 35 nucleótidos que bajo condiciones de PCR optimizadas "reconocen específicamente" una secuencia dentro de la región flanqueante de 5' o 3', una secuencia dentro de la región de mutación, o una secuencia que abarca la región de unión entre las regiones flanqueantes y de mutación de 3' o 5' del alelo FATB mutante específico, de manera que un fragmento específico ("fragmento específico de FATB mutante" o amplicón discriminante) se amplifica a partir de una muestra de ácido nucleico que comprende el alelo FATB mutante específico. Mediante cualquier medio solo el alelo FATB mutante dirigido, y no otra secuencia en el genoma de la planta, se amplifica bajo condiciones de PCR optimizadas.

Cebadores de PCR adecuados para la invención pueden ser los siguientes:

- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 17 nt a aproximadamente 200 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 17 nucleótidos consecutivos, preferentemente 20 nucleótidos consecutivos seleccionados de la secuencia flanqueante de 5' de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, la secuencia 5' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención, tal como la secuencia 5' que flanquea las mutaciones de deleción, terminadoras o del sitio de corte y empalme descritas anteriormente o la secuencia 5' que flanquea las posibles mutaciones del codón de terminación o del sitio de corte y empalme indicadas en las tablas anteriores) en su extremo 3' (cebadores que reconocen secuencias flanqueantes de 5'); o
- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 17 nt a aproximadamente 200 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 17 nucleótidos consecutivos, preferentemente 20 nucleótidos consecutivos, seleccionados de la secuencia flanqueante de 3' de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, el complemento de la secuencia 3' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención, tal como el complemento de la secuencia 3' que flanquea las mutaciones de deleción, terminadoras o del sitio de corte y empalme descritas anteriormente o el complemento de la secuencia 3' que flanquea las posibles mutaciones del codón de terminación o del sitio de corte y empalme indicadas en las tablas anteriores) en su extremo 3' (cebadores que reconocen secuencias flanqueantes de 3');

- o
- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 17 nt a aproximadamente 200 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 17 nucleótidos consecutivos, preferentemente 20 nucleótidos seleccionados de la secuencia de la región de mutación de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos insertada o sustituida en los genes FATB de la invención, o el complemento de los mismos) en su extremo 3' (cebadores que reconocen secuencias de mutación).

Los cebadores pueden, por supuesto, ser más largos que los 17 nucleótidos consecutivos mencionados, y pueden, por ejemplo, tener 20, 21, 30, 35, 50, 75, 100, 150, 200 nt de longitud o incluso más largos. Los cebadores pueden consistir enteramente en la secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos seleccionadas de secuencias flanqueantes y de mutación. Sin embargo, la secuencia de nucleótidos de los cebadores en su extremo 5' (es decir, fuera de los 17 nucleótidos consecutivos localizados en 3') es menos crítica. Así, la secuencia de 5' de los cebadores puede consistir en una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias flanqueantes o de mutación, según convenga, pero puede contener varios desapareamientos (por ejemplo, 1, 2, 5, 10). La secuencia de 5' de los cebadores puede incluso consistir enteramente en una secuencia de nucleótidos sin relacionar con las secuencias flanqueantes o de mutación, tales como, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que representa sitios de reconocimiento de enzimas de restricción. Tales secuencias sin relacionar o secuencias de ADN flanqueantes con desapareamientos deben ser preferentemente no más largas de 100, más preferentemente no más largas de 50 o incluso 25 nucleótidos.

Además, cebadores adecuados pueden comprender o consistir en una secuencia de nucleótidos en su extremo 3' que abarca la región de unión entre secuencias flanqueantes y de mutación (es decir, por ejemplo, la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención y la secuencia del uno o más nucleótidos insertados o sustituidos o la secuencia 3' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, tales como la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea mutaciones de delección, terminadoras o del sitio de corte y empalme en los genes FATB de la invención descrita anteriormente y la secuencia de las mutaciones terminadoras o del sitio de corte y empalme o la secuencia 3' que flanquea la mutación de delección, o la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea una posible mutación del codón de terminación o del sitio de corte y empalme como se indica en las tablas anteriores y la secuencia de la posible mutación del codón de terminación o del sitio de corte y empalme), siempre que los nucleótidos localizados en 3' mencionados no se deriven exclusivamente de tanto la región de mutación como regiones flanqueantes.

También será inmediatamente claro para el experto que pares de cebadores de PCR apropiadamente seleccionados tampoco deben comprender secuencias complementarias entre sí.

Con el fin de la invención, el "complemento de una secuencia de nucleótidos representada en SEC ID N°: X" es la secuencia de nucleótidos que puede derivarse de la secuencia de nucleótidos representada reemplazando los nucleótidos por su nucleótido complementario según las reglas de Chargaff ($A \rightleftharpoons T$; $G \rightleftharpoons C$) y leyendo la secuencia en la dirección de 5' a 3', es decir, en dirección opuesta de la secuencia de nucleótidos representada.

Ejemplos de cebadores adecuados para identificar alelos FATB mutantes específicos se describen en los ejemplos.

Como se usa en el presente documento, "la secuencia de nucleótidos de SEC ID N°. Z de posición X a posición Y" indica la secuencia de nucleótidos que incluye ambos puntos extremos de nucleótidos.

Preferentemente, el fragmento amplificado tiene una longitud de entre 50 y 1000 nucleótidos, tal como una longitud entre 50 y 500 nucleótidos, o una longitud entre 100 y 350 nucleótidos. Los cebadores específicos pueden tener una secuencia que es entre el 80 y el 100 % idéntica a una secuencia dentro de la región flanqueante de 5' o 3', una secuencia dentro de la región de mutación, o una secuencia que abarca la región de unión entre las regiones flanqueantes de 3' o 5' y de mutación del alelo FATB mutante específico, siempre que los desapareamientos todavía permitan la identificación específica del alelo FATB mutante específico con estos cebadores bajo condiciones de PCR optimizadas. El intervalo de desapareamientos permisible, sin embargo, puede determinarse fácilmente experimentalmente y son conocidos para un experto en la materia.

La detección y/o identificación de un "fragmento específico de FATB mutante" puede producirse de diversas formas, por ejemplo, mediante la estimación del tamaño después de electroforesis en gel o capilar o mediante métodos de detección basados en fluorescencia. Los fragmentos específicos de FATB mutantes también pueden secuenciarse directamente. También se conocen en la técnica otros métodos específicos de secuencia para la detección de fragmentos de ADN amplificados.

En la materia se describen protocolos de PCR estándar, tales como en "PCR Applications Manual" (Roche Molecular Biochemicals, 2ª edición, 1999) y otras referencias. Las condiciones óptimas para la PCR, que incluyen la secuencia de los cebadores específicos, se especifica en un "protocolo de identificación de PCR" para cada alelo FATB mutante específico. Se entiende, sin embargo, que puede necesitarse ajustar varios parámetros en el protocolo de identificación de PCR a condiciones de laboratorio específicas, y pueden modificarse ligeramente para obtener

resultados similares. Por ejemplo, el uso de un método diferente para la preparación de ADN puede requerir el ajuste de, por ejemplo, la cantidad de cebadores, polimerasa, concentración de $MgCl_2$ o condiciones de hibridación usadas. Similarmente, la selección de otros cebadores puede dictar otras condiciones óptimas para el protocolo de identificación de PCR. Sin embargo, estos ajustes serán evidentes para un experto en la materia, y además se detallan en los actuales manuales de aplicación de PCR tales como el citado anteriormente.

Ejemplos de protocolos de identificación de PCR para identificar alelos FATB mutantes específicos se describen en los ejemplos.

Alternativamente, pueden usarse cebadores específicos para amplificar un fragmento específico de FATB mutante que puede usarse como "sonda específica" para identificar un alelo FATB mutante específico en muestras biológicas. La puesta en contacto de ácido nucleico de una muestra biológica, con la sonda, en condiciones que permiten la hibridación de la sonda con su fragmento correspondiente en el ácido nucleico produce la formación de un híbrido de ácido nucleico/sonda. La formación de este híbrido puede detectarse (por ejemplo, marcando el ácido nucleico o sonda), por lo que la formación de este híbrido indica la presencia del alelo FATB mutante específico. En la materia se han descrito tales métodos de identificación basados en hibridación con una sonda específica (tanto sobre un vehículo en fase sólida como en disolución). La sonda específica es preferentemente una secuencia que, bajo condiciones optimizadas, se hibrida específicamente con una región dentro de la región flanqueante de 5' o 3' y/o dentro de la región de mutación del alelo FATB mutante específico (denominada en lo sucesivo "región específica de mutación de FATB"). Preferentemente, la sonda específica comprende una secuencia de entre 20 y 1000 pb, 50 y 600 pb, entre 100 y 500 pb, entre 150 y 350 pb, que es al menos el 80 %, preferentemente entre el 80 y 85 %, más preferentemente entre el 85 y el 90 %, especialmente preferentemente entre el 90 y el 95 %, lo más preferentemente entre el 95 % y el 100 % idéntica (o complementaria) a la secuencia de nucleótidos de una región específica. Preferentemente, la sonda específica comprenderá una secuencia de aproximadamente 15 a aproximadamente 100 nucleótidos contiguos idéntica (o complementaria) a una región específica del alelo FATB mutante específico.

Sondas específicas adecuadas para la invención pueden ser las siguientes:

- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 20 nt a aproximadamente 1000 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 20 nucleótidos consecutivos seleccionados de la secuencia flanqueante de 5' de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, la secuencia 5' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención, tal como la secuencia 5' que flanquea las mutaciones de deleción, terminadoras o del sitio de corte y empalme descritas anteriormente o la secuencia 5' que flanquea las posibles mutaciones del codón de terminación o del sitio de corte y empalme indicadas en las tablas anteriores), o una secuencia que tiene al menos el 80 % de identidad de secuencias con la misma (sondas que reconocen secuencias flanqueantes de 5'); o
- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 20 nt a aproximadamente 1000 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 20 nucleótidos consecutivos seleccionados de la secuencia flanqueante de 3' de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, la secuencia 3' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención, tal como la secuencia 3' que flanquea las mutaciones de deleción, terminadoras o del sitio de corte y empalme descritas anteriormente o la secuencia 3' que flanquea las posibles mutaciones del codón de terminación o del sitio de corte y empalme indicadas en las tablas anteriores), o una secuencia que tiene al menos el 80 % de identidad de secuencias con la misma (sondas que reconocen secuencias flanqueantes de 3'); o
- oligonucleótidos que oscilan en longitud de 20 nt a aproximadamente 1000 nt, que comprenden una secuencia de nucleótidos de al menos 20 nucleótidos consecutivos seleccionados de la secuencia de mutación de un alelo FATB mutante específico (es decir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos insertada o sustituida en los genes FATB de la invención, o el complemento de la misma), o una secuencia que tiene al menos el 80 % de identidad de secuencias con la misma (sondas que reconocen secuencias de mutación).

Las sondas pueden consistir enteramente en la secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos mencionadas de secuencias flanqueantes y de mutación. Sin embargo, la secuencia de nucleótidos de las sondas en sus extremos 5' o 3' es menos crítica. Así, las secuencias de 5' o 3' de las sondas pueden consistir en una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias flanqueantes o de mutación, según convenga, pero pueden consistir en una secuencia de nucleótidos sin relacionar con las secuencias flanqueantes o de mutación. Tales secuencias sin relacionar deben ser preferentemente no más largas de 50, más preferentemente no más largas de 25 o incluso no más largas de 20 ó 15 nucleótidos.

Además, sondas adecuadas pueden comprender o consistir en una secuencia de nucleótidos que abarca la región de unión entre secuencias flanqueantes y de mutación (es decir, por ejemplo, la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, insertados o sustituidos en los alelos FATB mutantes de la invención y la secuencia del uno o más nucleótidos insertados o sustituidos o la secuencia 3' que flanquea uno o más nucleótidos delecionados, tal como la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea mutaciones de deleción, terminadoras o del sitio de corte y empalme en los genes FATB de la invención descrita anteriormente y la secuencia de las mutaciones terminadoras o del sitio de corte y empalme o la secuencia 3' que flanquea la mutación

de delección, o la región de unión entre una secuencia 5' que flanquea una posible mutación del codón de terminación o del sitio de corte y empalme como se indica en las tablas anteriores y la secuencia de la posible mutación del codón de terminación o del sitio de corte y empalme), siempre que la secuencia de nucleótidos mencionada no se derive exclusivamente de tanto la región de mutación como regiones flanqueantes.

5 Ejemplos de sondas específicas adecuadas para identificar alelos FATB mutantes específicos se describen en los ejemplos.

10 La detección y/o identificación de una "región específica de FATB mutante" que se hibrida con una sonda específica puede producirse de diversas formas, por ejemplo, mediante la estimación del tamaño después de la electroforesis en gel o mediante métodos de detección basados en fluorescencia. También se conocen en la técnica otros métodos específicos de secuencia para la detección de una "región específica de FATB mutante" que se hibrida con una sonda específica.

15 Alternativamente, pueden generarse e identificarse plantas o partes de las plantas que comprenden uno o más alelos *fatB* mutantes usando otros métodos, tales como el método "Delete-a-gene™" que usa PCR para cribar mutantes de delección generados por mutagénesis de neutrones rápidos (revisado por Li y Zhang, 2002, Funct Integr Genomics 2:254-258), por método de TILLING (lesiones locales inducidas dirigidas en genomas) que identifica mutaciones puntuales inducidas por EMS usando cromatografía de líquidos de alto rendimiento desnaturizante (DHPLC) para detectar cambios de pares de bases por análisis de heterodúplex (McCallum et al., 2000, Nat Biotech 18:455, y McCallum et al. 2000, Plant Physiol. 123, 439-442), etc. Como se ha mencionado, TILLING usa cribado de alto rendimiento para mutaciones (por ejemplo, usando la escisión con Cel 1 de heterodúplex de ADN mutante-no mutante y detección usando un sistema de gel de secuenciación). Así, el uso de TILLING para identificar plantas, semillas y tejidos que comprenden uno o más alelos *fatB* mutantes en uno o más tejidos y métodos para generar e identificar tales plantas está englobado en el presente documento. Así, un método puede comprender las etapas de mutagenizar semillas de planta (por ejemplo, mutagénesis EMS), mezcla de individuos de plantas o ADN, amplificación por PCR de una región de interés, formación de heterodúplex y detección de alto rendimiento, identificación de planta mutante, secuenciación del producto de PCR mutante. Se entiende que igualmente pueden usarse otras mutagénesis y métodos de selección para generar tales plantas mutantes.

30 En lugar de inducir mutaciones en alelos *fatB*, pueden identificarse alelos mutantes naturales (espontáneos) por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede usarse ECOTILLING (Henikoff et al. 2004, Plant Physiology 135(2):630-6) para cribar una pluralidad de plantas o partes de las plantas para la presencia de alelos *fatB* mutantes naturales. En cuanto a las técnicas de mutagénesis anteriores, preferentemente se criban especies de *Brassica* que comprenden un genoma A y/o C, de manera que el alelo *fatB* identificado pueda introducirse posteriormente en otras especies de *Brassica*, tales como *Brassica napus*, por cruce (cruces inter- o intraespecíficos) y selección. En ECOTILLING, los polimorfismos naturales en líneas de cultivo o especies relacionadas se criban para la metodología de TILLING descrita anteriormente, en la que plantas individuales o mezclas de plantas se usan para la amplificación por PCR de la diana *fatB*, formación de heterodúplex y análisis de alto rendimiento. Esto puede seguirse hasta seleccionar plantas individuales que tienen una mutación requerida que puede usarse posteriormente en un programa de cultivo para incorporar el alelo mutante deseado.

45 Los alelos mutantes identificados pueden entonces secuenciarse y la secuencia puede compararse con el alelo no mutante para identificar la(s) mutación (mutaciones). Opcionalmente, puede probarse la funcionalidad por expresión en un huésped homólogo o heterólogo y probar la proteína FATB mutante para funcionalidad en un ensayo enzimático. Usando este enfoque puede identificarse una pluralidad de alelos *fatB* mutantes (y plantas de *Brassica* que comprenden uno o más de estos). Los alelos mutantes deseados pueden entonces combinarse con los alelos no mutantes deseados por métodos de cruces y de selección como se describe adicionalmente más adelante. Finalmente, se genera una única planta que comprende el número deseado de *fatB* mutante y el número deseado de alelos *FATB* no mutantes.

50 También pueden usarse oligonucleótidos adecuados como cebadores de PCR o sondas específicas para la detección de un alelo FATB mutante específico para desarrollar métodos para determinar el estado de cigosidad del alelo FATB mutante específico.

55 Para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, puede desarrollarse un ensayo basado en PCR para determinar la presencia de un mutante y/o alelo específico FATB no mutante correspondiente:

60 Para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, pueden diseñarse dos cebadores que reconocen específicamente el alelo FATB no mutante de tal forma que se dirijan el uno hacia el otro y tengan la región de mutación localizada entre los cebadores. Estos cebadores pueden ser cebadores que reconocen específicamente las secuencias flanqueantes de 5' y 3', respectivamente. Este conjunto de cebadores permite la amplificación por PCR diagnóstica simultánea del mutante, además del alelo FATB no mutante correspondiente.

65 Alternativamente, para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, pueden diseñarse dos cebadores que reconocen específicamente el alelo FATB no mutante de tal forma que se dirijan el uno hacia el

otro y que uno de ellos reconozca específicamente la región de mutación. Estos cebadores pueden ser cebadores que reconocen específicamente la secuencia de la región flanqueante de 5' o 3' y la región de mutación del alelo FATB no mutante, respectivamente. Este conjunto de cebadores, junto con un tercer cebador que reconoce específicamente la secuencia de la región de mutación en el alelo FATB mutante, permite la amplificación por PCR diagnóstica simultánea del gen FATB mutante, además del gen FATB no mutante.

Alternativamente, para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, pueden diseñarse dos cebadores que reconocen específicamente el alelo FATB no mutante de tal forma que se dirijan el uno hacia el otro y que uno de ellos reconozca específicamente la región de unión entre la región flanqueante de 5' o 3' y la región de mutación. Estos cebadores pueden ser cebadores que reconocen específicamente la secuencia flanqueante de 5' o 3' y la región de unión entre la región de mutación y la región flanqueante de 3' o 5' del alelo FATB no mutante, respectivamente. Este conjunto de cebadores, junto con un tercer cebador que reconoce específicamente la región de unión entre la región de mutación y la región flanqueante de 3' o 5' del alelo FATB mutante, respectivamente, permite la amplificación por PCR diagnóstica simultánea del gen FATB mutante, además del gen FATB no mutante.

Alternativamente, el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico puede determinarse usando conjuntos de cebadores alternativos que reconocen específicamente alelos FATB mutantes y no mutantes.

Si la planta es homocigótica para el gen FATB mutante o el gen FATB no mutante correspondiente, los ensayos de PCR de diagnóstico descritos anteriormente darán lugar a un único producto de PCR típico, preferentemente de longitud típica, para tanto el alelo FATB mutante como no mutante. Si la planta es hemicigótica para el alelo FATB mutante, aparecerán dos productos de PCR específicos, reflejando tanto la amplificación del alelo FATB mutante como no mutante.

La identificación de los productos de PCR específicos de FATB no mutante y mutante puede producirse, por ejemplo, por estimación del tamaño después de electroforesis en gel o capilar (por ejemplo, para alelos FATB mutantes que comprenden varios nucleótidos insertados o delecionados que producen una diferencia de tamaño entre los fragmentos amplificados del alelo FATB no mutante y mutante, de forma que dichos fragmentos puedan separarse visiblemente sobre un gel); evaluando la presencia o ausencia de los dos fragmentos diferentes después de electroforesis en gel o capilar, por lo que la amplificación por PCR de diagnóstico del alelo FATB mutante puede, opcionalmente, realizarse por separado de la amplificación por PCR de diagnóstico del alelo FATB no mutante; por secuenciación directa de los fragmentos amplificados; o por métodos de detección basados en fluorescencia.

Ejemplos de cebadores adecuados para determinar la cigosidad de alelos FATB mutantes específicos se describen en los ejemplos.

Alternativamente, para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, puede desarrollarse un ensayo basado en hibridación para determinar la presencia de un alelo específico FATB mutante y/o no mutante correspondiente:

Para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, pueden diseñarse dos sondas específicas que reconocen el alelo FATB no mutante de tal forma que cada sonda reconozca específicamente una secuencia dentro del alelo no mutante FATB y que la región de mutación se localice entre las secuencias reconocidas por las sondas. Estas sondas pueden ser sondas que reconocen específicamente las secuencias flanqueantes de 5' y 3', respectivamente. El uso de una o, preferentemente, ambas de estas sondas permite hibridación diagnóstica simultánea del mutante, además del alelo FATB no mutante correspondiente.

Alternativamente, para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, pueden diseñarse dos sondas específicas que reconocen el alelo FATB no mutante de tal forma que una de ellas reconozca específicamente una secuencia dentro del alelo no mutante FATB en la dirección 5' o en la dirección 3' de la región de mutación, preferentemente en la dirección 5' de la región de mutación, y que una de ellas reconozca específicamente la región de mutación. Estas sondas pueden ser sondas que reconocen específicamente la secuencia de la región flanqueante de 5' o 3', preferentemente la región flanqueante de 5', y la región de mutación del alelo FATB no mutante, respectivamente. El uso de una o, preferentemente, ambas de estas sondas, opcionalmente, junto con una tercera sonda que reconoce específicamente la secuencia de la región de mutación en el alelo FATB mutante, permite hibridación diagnóstica del gen FATB mutante y del no mutante.

Alternativamente, para determinar el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico, puede diseñarse una sonda específica que reconoce el alelo FATB no mutante de tal forma que la sonda reconozca específicamente la región de unión entre la región flanqueante de 5' o 3', preferentemente la región flanqueante de 5', y la región de mutación del alelo FATB no mutante. Esta sonda, opcionalmente, junto con una segunda sonda que reconoce específicamente la región de unión entre la región flanqueante de 5' o 3', preferentemente la región flanqueante de 5', y la región de mutación del alelo FATB mutante, permite la hibridación diagnóstica del gen FATB mutante y del no mutante.

Alternativamente, el estado de cigosidad de un alelo FATB mutante específico puede determinarse usando conjuntos alternativos de sondas que reconocen específicamente alelos FATB mutantes y no mutantes.

Si la planta es homocigótica para el gen FATB mutante o el gen FATB no mutante correspondiente, los ensayos de hibridación diagnósticos descritos anteriormente darán lugar a un único producto de hibridación específico, tal como uno o más fragmentos de ADN de hibridación (restricción), típicos, preferentemente de longitud típica, para tanto el alelo FATB mutante como no mutante. Si la planta es hemicigótica para el alelo FATB mutante, aparecerán dos productos de hibridación específicos, que reflejan tanto la hibridación del alelo FATB mutante como no mutante.

La identificación de los productos de hibridación específicos de FATB no mutante y mutante puede producirse, por ejemplo, por estimación del tamaño después de la electroforesis en gel o capilar (por ejemplo, para los alelos FATB mutantes que comprenden varios nucleótidos insertados o delecionados que producen una diferencia de tamaño entre los fragmentos de ADN de hibridación (restricción) del alelo FATB no mutante y mutante, de forma que dichos fragmentos puedan separarse visiblemente sobre un gel); evaluando la presencia o ausencia de los dos productos de hibridación específicos diferentes después de la electroforesis en gel o capilar, por lo que la hibridación diagnóstica del alelo FATB mutante puede, opcionalmente, realizarse por separado de la hibridación diagnóstica del alelo FATB no mutante; por secuenciación directa de fragmentos de ADN de hibridación (restricción); o por métodos de detección basados en fluorescencia.

Ejemplos de sondas adecuadas para determinar la cigosidad de alelos FATB mutantes específicos se describen en los ejemplos.

Además, también pueden desarrollarse métodos de detección específicos para un alelo FATB mutante específico que se diferencian de métodos de amplificación de PCR o basados en hibridación usando la información de secuencias específica de alelo FATB mutante específico proporcionada en el presente documento. Tales métodos de detección alternativos incluyen métodos de detección por amplificación de señales lineales basados en la escisión invasiva de estructuras de ácido nucleico particulares, también conocidos como tecnología InvaderTM, (como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 5.985.557 "Invasive Cleavage of Nucleic Acids", 6.001.567 "Detection of Nucleic Acid sequences by Invader Directed Cleavage), métodos de detección basados en RT-PCR, tales como Taqman, u otros métodos de detección, tales como SNPLex.

Kits

Un "kit", como se usa en el presente documento, se refiere a un conjunto de reactivos con el fin de realizar el método como se describe en el presente documento, más particularmente, la identificación de un alelo FATB mutante específico en muestras biológicas o la determinación del estado de cigosidad de material de planta que comprende un alelo FATB mutante específico. Más particularmente, un kit puede comprender al menos dos cebadores específicos, como se ha descrito anteriormente, para la identificación de un alelo FATB mutante específico, o al menos dos o tres cebadores específicos para la determinación del estado de cigosidad. Opcionalmente, el kit puede comprender además cualquier otro reactivo descrito en el presente documento en el protocolo de identificación de PCR. Alternativamente, el kit puede comprender al menos una sonda específica, que se hibrida específicamente con ácido nucleico de muestras biológicas para identificar la presencia de un alelo FATB mutante específico en su interior, como se ha descrito anteriormente, para la identificación de un alelo FATB mutante específico, o al menos dos o tres sondas específicas para la determinación del estado de cigosidad. Opcionalmente, el kit puede comprender además cualquier otro reactivo (tal como, pero no se limita a, tampón de hibridación, marca) para la identificación de un alelo FATB mutante específico en muestras biológicas, usando la sonda específica.

El kit puede usarse, y sus componentes pueden ajustarse específicamente, para fines de control de calidad (por ejemplo, pureza de lotes de semillas), detección de la presencia o ausencia de un alelo FATB mutante específico en material de planta o material que comprende o derivado de material de planta, tal como, pero no se limita a, productos alimenticios o de pienso.

El término "cebador", como se usa en el presente documento, engloba cualquier ácido nucleico que pueda cebar la síntesis de un ácido nucleico naciente en un proceso dependiente de molde, tal como PCR. Normalmente, los cebadores son oligonucleótidos de 10 a 30 nucleótidos, pero pueden emplearse secuencias más largas. Pueden proporcionarse cebadores en forma bicatenaria, aunque se prefiere la forma monocatenaria. Las sondas pueden usarse como cebadores, pero se diseñan para unirse al ADN o ARN diana y no necesitan usarse en un proceso de amplificación.

El término "reconocer", como se usa en el presente documento cuando se refiere a cebadores específicos, se refiere al hecho de que los cebadores específicos se hibridan específicamente con una secuencia de ácidos nucleicos en un alelo FATB mutante específico en las condiciones expuestas en el método (tal como las condiciones del protocolo de identificación de PCR), por lo que la especificidad se determina por la presencia de controles positivos y negativos.

El término "hibridar", como se usa en el presente documento cuando se refiere a sondas específicas, se refiere al

hecho de que la sonda se une a una región específica en la secuencia de ácidos nucleicos de un alelo *FATB* mutante específico bajo condiciones de rigurosidad estándar. Condiciones de rigurosidad estándar, como se usan en el presente documento, se refiere a las condiciones para la hibridación descrita en el presente documento o para las condiciones de hibridación convencionales como se describen por Sambrook et al., 1989 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición, Cold Spring Harbour Laboratory Press, NY) que, por ejemplo, pueden comprender las siguientes etapas: 1) inmovilizar fragmentos de ADN genómico de planta o ADN de biblioteca de BAC sobre un filtro, 2) prehibridar el filtro durante 1 a 2 horas a 65 °C en 6 X SSC, 5 X reactivo de Denhardt, 0,5 % de SDS y 20 µg/ml de ADN de portador desnaturalizado, 3) añadir la sonda de hibridación que se ha marcado, 4) incubar durante 16 a 24 horas, 5) lavar el filtro una vez durante 30 min a 68 °C en 6X SSC, 0,1 % de SDS, 6) lavar el filtro tres veces (dos veces durante 30 min en 30 ml y una vez durante 10 min en 500 ml) a 68 °C en 2 X SSC, 0,1 % de SDS, y 7) exponer el filtro durante 4 a 48 horas a película de rayos X a -70 °C.

Como se usa en el presente documento, una “muestra biológica” es una muestra de una planta, material de planta o producto que comprende material de planta. El término “planta” pretende englobar tejido de plantas de *Brassica*, en cualquier estado de madurez, además de cualquier célula, tejido u órgano tomado de o derivado de cualquier planta tal, que incluye sin limitación, cualquier semilla, hoja, tallo, flor, raíz, célula individual, gameto, cultivo celular, cultivo de tejido o protoplasto. “Material de planta”, como se usa en el presente documento, se refiere a material que se obtiene o deriva de una planta. Los productos que comprenden material de planta se refieren a alimento, pienso u otros productos que se producen usando material de planta o pueden estar contaminados por material de planta. Se entiende que, en el contexto de la presente invención, tales muestras biológicas se prueban para la presencia de ácidos nucleicos específicos para un alelo *FATB* mutante específico, que implican la presencia de ácidos nucleicos en las muestras. Así, los métodos citados en el presente documento para identificar un alelo *FATB* mutante específico en muestras biológicas se refieren a la identificación en muestras biológicas de ácidos nucleicos que comprenden el alelo *FATB* mutante específico.

También se describe la transferencia de uno o más alelo(s) *FATB* mutante(s) específico(s) en una planta de *Brassica* a otra planta de *Brassica*, a la combinación de alelos *FATB* específicos en una planta, a las plantas que comprenden uno o más alelo(s) *FATB* mutante(s) específico(s), la progenie obtenida de estas plantas y a las células vegetales, o material de planta derivado de estas plantas.

Así, es adecuado para la invención un método para transferir un alelo *FATB* mutante de una planta de *Brassica* a otra planta de *Brassica* que comprende las etapas de:

- (a) cruzar una planta de *Brassica* que comprende un alelo *FATB* mutante, como se ha descrito anteriormente, con una segunda planta de *Brassica*,
- (b) recoger semillas híbridas F1 del cruce,
- (c) opcionalmente, retrocruzar las plantas F1, derivadas de las semillas F1, durante una o más generaciones (x), recoger semillas BCx de los cruces e identificar en cada generación plantas BCx, derivadas de las semillas BCx, que comprenden el alelo *FATB* mutante como se ha descrito anteriormente,
- (d) opcionalmente, extraer plantas haploides dobles de las células de microespora o de polen tratadas de plantas F1 o BC1 para obtener plantas homocigóticas,
- (e) autofecundar las plantas F1 o BCx, derivadas de las semillas F1 o BCx,
- (f) recoger semillas F1 S1 o BCx S1 de la autofecundación,
- (g) identificar plantas F1 S1 o BCx S1, derivadas de las semillas F1 S1 o BCx S1, que comprenden el alelo *FATB* mutante como se ha descrito anteriormente.

También se describe un método para combinar al menos dos alelos *FATB* mutantes en una planta de *Brassica* que comprende las etapas de:

- (a) transferir alelo(s) *FATB* mutante(s) de una planta de *Brassica* a otra planta de *Brassica* como se ha descrito anteriormente,
- (b) repetir la etapa (a) hasta que se combinen el número deseado y/o tipos de alelos *FATB* mutantes en la segunda planta.

Por tanto, se describe un método para preparar una planta de *Brassica* que comprende al menos 3 alelos *fatB* mutantes de tres genes *FATB* diferentes en el presente documento, que comprende las etapas de:

- (a) combinar al menos tres alelos *FATB* mutantes de al menos tres genes *FATB* diferentes en una planta de *Brassica*, como se ha descrito anteriormente,
- (b) opcionalmente, identificar una planta, o parte de la misma, que es homocigótica o heterocigótica para uno o más alelos *FATB* mutantes determinando el estado de cigosidad del uno o más alelos *FATB* mutantes, como se ha descrito anteriormente,
- (c) opcionalmente, identificar una planta, o parte de la misma, con una cantidad significativamente reducida de proteína *FATB* funcional,
- (d) opcionalmente, identificar una planta, que produce un aceite de semillas, cuya composición de ácidos grasos es significativamente alterada en comparación con la composición de ácidos grasos del aceite de

semillas de una planta de *Brassica* no mutante correspondiente,
(e) opcionalmente, cultivar tales plantas y aislar el aceite de semillas de tales plantas para consumo humano.

5 Aceites de semillas de plantas

Se describen tanto aceite “bajo en saturados” como “sin saturados” derivado de semillas de plantas de *Brassica* según la invención, especialmente de plantas de *Brassica napus* como se ha proporcionado en el presente documento, pero también de otras especies oleaginosas de *Brassica*. Por ejemplo, especies oleaginosas de *Brassica* que comprenden los genes *FATB-A* y/o *FATB-C* mutantes, tales como *Brassica juncea* y *Brassica rapa*.

Se encontró que las plantas de *Brassica napus* que comprenden una mutación, que produce una reducción significativa en la cantidad de proteína FATB funcional codificada por el equivalente no mutante del alelo *fatB* mutante, en solo uno o dos de los seis genes *FATB* no es suficiente para reducir significativamente el porcentaje (% en peso) de ácidos grasos saturados en el aceite de semillas de las plantas. Se cree que al menos tres alelos *fatB* mutantes, de tres genes *FATB* diferentes (seleccionados de *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*) necesitan estar comprendidos en la planta con el fin de obtener plantas que produzcan un aceite de semillas bajo o sin saturados.

Así, en un aspecto de la invención, se proporciona un método para producir aceite de semillas “bajo en saturados” o “sin saturados” que comprende recoger semillas de plantas de *Brassica* que comprenden al menos 3 alelos *fatB* mutantes de tres genes *FATB* diferentes (seleccionados de *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*), por lo que los alelos *fatB* mutantes producen una cantidad significativamente reducida de proteína FATB funcional del tipo codificado por el equivalente no mutante de estos alelos mutantes y así una cantidad significativamente reducida global de las proteínas FATB funcionales producidas en las células vegetales, específicamente en las semillas en desarrollo, *in vivo*.

El aceite de semillas “bajo en saturados” o “sin saturados” puede derivarse de semillas de plantas de *Brassica* mutantes triples para *FATB* homocigóticas, mutantes cuádruples para *FATB* homocigóticas y/o mutantes quíntuples para *FATB* homocigóticas, por lo que los alelos mutantes están seleccionados de los genes *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*.

Además, el aceite de semillas “bajo en saturados” o “sin saturados” puede derivarse de semillas de plantas de *Brassica* mutantes triples para *FATB* homocigóticas, mutantes cuádruples para *FATB* homocigóticas y/o mutantes quíntuples para *FATB* homocigóticas, en el que las plantas mutantes o partes de las plantas son heterocigóticas para el alelo *FATB* mutante adicional, y en el que los alelos mutantes están seleccionados de los genes *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*.

Combinando copias suficientes de alelos *fatB* mutantes específicos con copias suficientes de alelos *FATB* no mutantes específicos en una planta es posible ajustar la cantidad y/o tipo de proteínas FATB funcionales preparadas, que a su vez influye en la exportación de (la cantidad y/o tipo de) ácidos grasos saturados libres del plástido y así la composición de ácidos grasos del aceite de semillas producido.

Así, es adecuado para la invención aceite de semillas que comprende una cantidad específica y/o tipo de ácidos grasos saturados derivados de semillas de plantas de *Brassica* que comprende al menos un alelo *FATB* mutante específico según la invención y al menos un alelo *FATB* no mutante específico según la invención, por lo que la combinación específica del mutante y el (los) alelo(s) *FATB* no mutante(s) produce una cantidad específica y/o tipo de proteínas FATB funcionales producidas en las células vegetales, específicamente en las semillas en desarrollo, *in vivo*.

También se describe el uso del aceite de semillas de la presente invención en aplicaciones alimentarias, en particular aplicaciones alimentarias en las que se prevé un beneficio para la salud humana. Aunque los aceites como se describe en el presente documento son principalmente útiles como aceites para la dieta humana (aplicaciones alimentarias), también podrían tener utilidad en la dieta de animales (aplicaciones alimentarias). Otras aplicaciones, tales como mezclar aceite de semillas con una cantidad y/o composición específica relativa modificada de ácidos grasos saturados como se describe en el presente documento, en particular aceite de semillas que contiene significativamente menos del 7 % de ácidos grasos saturados como se describe en el presente documento, con otros aceites vegetales, en particular aceites vegetales que contienen significativamente más del 7 % de ácidos grasos saturados, tales como los mencionados en la sección de antecedentes, para reducir el nivel de ácidos grasos saturados en el último haciéndolo así más adecuado para ciertas aplicaciones tales como, pero no se limitan a, para la producción de biodiesel, también son adecuados para la invención.

SECUENCIAS

El listado de secuencias representa el ADN que codifica la proteína FATB genómica de las secuencias de *FATB* no mutantes. Estas secuencias comprenden 5 exones interrumpidos por 4 intrones. En el ADNc y ARNm procesado

correspondiente (es decir, el ARN cortado y empalmado) se eliminan intrones y se unen exones. Así, por ejemplo, el ADNc del gen *FATB-A1* que codifica una proteína FATB-A1 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus* tiene la secuencia de SEC ID N°: 1 de posición 1-504, 590-723, 798-911, 981-1152 y 1243-1560.

5 Genes *FATB*

SEC ID N° 1: ADN del gen *FATB-A1* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A1 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 2: proteína FATB-A1 no mutante codificada por SEC ID N°: 1.

10 SEC ID N° 3: ADN del gen *FATB-A2* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A2 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 4: proteína FATB-A2 no mutante codificada por SEC ID N°: 3.

15 SEC ID N° 5: ADN del gen *FATB-A3* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A3 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 6: proteína FATB-A3 no mutante codificada por SEC ID N°: 5.

20 SEC ID N° 7: ADN del gen *FATB-C1* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C1 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 8: proteína FATB-C1 no mutante codificada por SEC ID N°: 7.

SEC ID N° 9: ADN del gen *FATB-C2* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C2 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

25 SEC ID N° 10: proteína FATB-C2 no mutante codificada por SEC ID N°: 9.

SEC ID N° 11: ADN del gen *FATB-C3* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C3 no mutante de colza oleaginosa de invierno (WOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 12: proteína FATB-C3 no mutante codificada por SEC ID N°: 11.

30 SEC ID N° 13: ADN del gen *FATB-A1* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A1 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 14: proteína FATB-A1 no mutante codificada por SEC ID N°: 13.

35 SEC ID N° 15: ADN del gen *FATB-A2* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A2 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 16: proteína FATB-A2 no mutante codificada por SEC ID N°: 15.

40 SEC ID N° 17: ADN del gen *FATB-A3* (con intrones), que codifica una proteína FATB-A3 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 18: proteína FATB-A3 no mutante codificada por SEC ID N°: 17.

SEC ID N° 19: ADN del gen *FATB-C1* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C1 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

45 SEC ID N° 20: proteína FATB-C1 no mutante codificada por SEC ID N°: 19.

SEC ID N° 21: ADN del gen *FATB-C2* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C2 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 22: proteína FATB-C2 no mutante codificada por SEC ID N°: 21.

50 SEC ID N° 23: ADN del gen *FATB-C3* (con intrones), que codifica una proteína FATB-C3 no mutante de colza oleaginosa de verano (SOSR) *Brassica napus*.

SEC ID N° 24: proteína FATB-C3 no mutante codificada por SEC ID N°: 23.

55 SEC ID N° 79: ADN del gen *FATB1* que codifica una proteína FATB1 no mutante de *Arabidopsis thaliana*

SEC ID N° 80: proteína FATB1 no mutante codificada por SEC ID N°: 79

Cebadores y sondas

60 SEC ID N° 25: sonda 5' *At* FATB1

SEC ID N° 26: cebador de oligonucleótidos KVA05-14

SEC ID N° 27: cebador de oligonucleótidos KVA05-15

SEC ID N° 28: sonda 3' *At* FATB1

SEC ID N° 29: cebador de oligonucleótidos KVA05-16

65 SEC ID N° 30: cebador de oligonucleótidos KVA05-17

SEC ID N° 31: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1 (SEC ID N°: 13)

	SEC ID Nº 32: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1 (SEC ID Nº: 13)
	SEC ID Nº 33: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2 (SEC ID Nº: 15)
	SEC ID Nº 34: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2 (SEC ID Nº: 15)
	SEC ID Nº 35: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A3 (SEC ID Nº: 17)
5	SEC ID Nº 36: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3 (SEC ID Nº: 17)
	SEC ID Nº 37: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1 (SEC ID Nº: 19)
	SEC ID Nº 38: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C1 (SEC ID Nº: 19)
	SEC ID Nº 39: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2 (SEC ID Nº: 21)
	SEC ID Nº 40: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2 (SEC ID Nº: 21)
10	SEC ID Nº 41: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C3 (SEC ID Nº: 23)
	SEC ID Nº 42: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C3 (SEC ID Nº: 23)
	SEC ID Nº 43: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1
	SEC ID Nº 44: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2
	SEC ID Nº 45: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2
15	SEC ID Nº 46: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3
	SEC ID Nº 47: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C1
	SEC ID Nº 48: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2
	SEC ID Nº 49: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C3
	SEC ID Nº 50: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1-EMS05
20	SEC ID Nº 51: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1
	SEC ID Nº 52: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1-EMS05 y -A1
	SEC ID Nº 53: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1-EMS06
	SEC ID Nº 54: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1
	SEC ID Nº 55: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1-EMS06 y -A1
25	SEC ID Nº 56: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2-EMS05
	SEC ID Nº 57: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2
	SEC ID Nº 58: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2-EMS05 y -A2
	SEC ID Nº 59: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2-EMS01
	SEC ID Nº 60: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2
30	SEC ID Nº 61: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2-EMS01 y -A2
	SEC ID Nº 62: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3-EMS01
	SEC ID Nº 63: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3
	SEC ID Nº 64: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A3-EMS01 y -A3
	SEC ID Nº 65: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1-EMS05
35	SEC ID Nº 66: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1
	SEC ID Nº 67: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C1-EMS05, -C1-EMS04 y -C1
	SEC ID Nº 68: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1-EMS04
	SEC ID Nº 69: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1
	SEC ID Nº 70: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2-EMS02
40	SEC ID Nº 71: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2
	SEC ID Nº 72: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2-EMS02 y -C2
	SEC ID Nº 73: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2-EMS03
	SEC ID Nº 74: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2
	SEC ID Nº 75: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2-EMS03 y -C2
45	SEC ID Nº 76: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C3-EMS02
	SEC ID Nº 77: Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C3
	SEC ID Nº 78: Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C3-EMS02 y -C3
	SEC ID Nº 81: Oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS05
	SEC ID Nº 82: Oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS05
50	SEC ID Nº 83: Oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS06
	SEC ID Nº 84: Oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS06
	SEC ID Nº 85: Oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS01
	SEC ID Nº 86: Oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS01
	SEC ID Nº 87: Oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS05
55	SEC ID Nº 88: Oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS05
	SEC ID Nº 89: Oligonucleótido para la detección de FATB-A3-EMS01
	SEC ID Nº 90: Oligonucleótido para la detección de FATB-A3-EMS01
	SEC ID Nº 91: Oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS04
	SEC ID Nº 92: Oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS04
60	SEC ID Nº 93: Oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS05
	SEC ID Nº 94: Oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS05
	SEC ID Nº 95: Oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS02
	SEC ID Nº 96: Oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS02
	SEC ID Nº 97: Oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS03
65	SEC ID Nº 98: Oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS03
	SEC ID Nº 99: Oligonucleótido para la detección de FATB-C3-EMS02

SEC ID N° 100: Oligonucleótido para la detección de FATB-C3-EMS02

SEC ID N° 101: Oligonucleótido para la detección de ENDO1

SEC ID N° 102: Oligonucleótido para la detección de ENDO1

- 5 A menos que se establezca de otro modo en los ejemplos, todas las técnicas de ADN recombinante se llevan a cabo según protocolos convencionales como se describen en Sambrook y Russell (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, tercera edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, en los volúmenes 1 y 2 de Ausubel et al. (1994) *Current Protocols in Molecular Biology*, Current Protocols, EE.UU., y en los volúmenes I y II de Brown (1998) *Molecular Biology LabFax*, segunda edición, Academic Press (UK). Materiales y métodos convencionales para el
- 10 trabajo molecular de plantas se describe en *Plant Molecular Biology Labfax* (1993) por R.D.D. Croy, publicado conjuntamente por BIOS Scientific Publications Ltd (RU) y Blackwell Scientific Publications, RU. Materiales y métodos estándar para las reacciones en cadena de la polimerasa pueden encontrarse en Dieffenbach y Dveksler (1995) *PCR Primer: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, y en McPherson et al. (2000) *PCR - Basics: From Background to Bench*, primera edición, Springer Verlag, Alemania. Procedimientos convencionales
- 15 para el análisis de AFLP se describen en Vos et al. (1995, NAR 23:4407-4414) y en la solicitud de patente EP publicada EP 534858.

EJEMPLOS

20 **Ejemplo 1 - Determinación del número de genes *FATB* en *Brassica napus* y aislamiento de las secuencias de ADN de los genes *FATB***

Para determinar el número de genes *FATB* en *Brassica napus* y las secuencias de los diferentes genes *FATB*, se

25 cribaron bibliotecas de cromosomas artificiales bacterianos (BAC) de diferentes variedades de *Brassica napus* del siguiente modo:

1.1. Aislamiento de clones de BAC que comprenden una secuencia de *FATB*

30 Para identificar colonias de *Escherichia coli* que contienen un clon de BAC que comprende una secuencia de *FATB* de diferentes variedades de *Brassica napus*, bibliotecas de BAC de una línea de colza oleaginosa de verano élite de *Brassica napus* (en lo sucesivo llamada "SOSR") y de la variedad Express de colza oleaginosa de invierno de *Brassica napus* (en lo sucesivo llamada "WOSR Express") (tamaño promedio de clones superior a 120 kb) presentadas como clones duplicados individuales sobre filtros de nailon de alta densidad se cribaron por

35 procedimientos de hibridación Southern estándar:

- Se prepararon moldes de ADN para la preparación de sondas para detectar los genes *FATB* de *Brassica* por una reacción en cadena de la polimerasa (PCR):
 - Moldes:
 - (a) un vector pGEM5Zf(+) que comprende un fragmento de 487 pb de la parte 5' del gen *FATB1* de *Arabidopsis thaliana* cv. Colombia (Atlg08510) (SEC ID N°: 25) (pKVA48)
 - (b) un vector pGEM5Zf(+) que comprende un fragmento de 352 pb de la parte 3' del gen *FATB1* de *Arabidopsis thaliana* cv. Colombia (SEC ID N°: 28) (pKVA49)
 - Cebadores:
 - (a) Cebador directo: 5'-GAACCTTCATCAACCAGTTACC-3' (KVA05-14 - SEC ID N°: 26)
 - 45 Cebador inverso: 5'-TTATGC-AAGAGGATAGCTTACC-3' (KVA05-15 - SEC ID N°: 27)
 - (b) Cebador directo: 5'-CAGTGTGTGGGTGATGATGA-3' (KVA05-16 - SEC ID N°: 29)
 - Cebador inverso: 5'-TATTCCTGCTGGAGCACTCT-3' (KVA05-17 - SEC ID N°: 30)
 - Mezcla de PCR:
 - 20 µl de 10 x tampón de PCR, 2 µl de dNTP (25 mM), 1 µl de Taq polimerasa (5 U/µl), 168 µl de H₂O, y
 - 50 - 4 µl de KVA05-14 (10 µM), 4 µl de KVA05-15 (10 µM), 1 µl de pKVA48 (20 pg/µl),
 - 4 µl de KVA05-16 (10 µM), 4 µl de KVA05-17 (10 µM), 1 µl de pKVA49 (20 pg/µl), dividido en 4x 50 µl
 - Perfil de termociclado: 4 min a 94 °C; 5x [1 min a 94 °C (desnaturalización) y 1 min a 50 °C (hibridación) y 2 min a 72 °C (extensión)]; 25 x [40 s a 94 °C (desnaturalización) y 40 s a 50 °C (hibridación) y 1 min a 72 °C (extensión)]; 5 min a 72 °C; enfriamiento 10 °C
 - Esto generó:
 - (a) el fragmento de ADN de 487 pb del gen *FATB1* de *Arabidopsis* (SEC ID N°: 25; "sonda 5' *AtFATB1*") comprendido en el vector pKVA48.
 - 60 (b) el fragmento de ADN de 352 pb del gen *FATB1* de *Arabidopsis* (SEC ID N°: 28; "sonda 3' *AtFATB1*") comprendido en el vector pKVA49.
 - Se purificaron los fragmentos de ADN y los fragmentos de ADN de 478 pb ("sonda 5' *AtFATB1*") se marcaron según procedimientos convencionales (por ejemplo, usando α -³²P-dCTP y perlas de marcado de ADN Ready-To-Go - Amersham Bioscience®) y se usaron para hibridarse con el ADN sobre la membrana de nailon. Alternativamente, pueden marcarse los fragmentos de ADN de 352 pb ("sonda 3' *AtFATB1*") y usarse para hibridarse con el ADN sobre la membrana de nailon.
- 65

- Se realizó pre-hibridación durante 2 horas a 65 °C en 30 ml del siguiente tampón de hibridación: 6X SSC (20X SSC contiene NaCl 3,0 M, citrato de Na 0,3 M, pH 7,0), 5X Denhardt's (100X Denhardt contiene 2 % de Ficoll, 2 % de polivinilpirrolidona, 2 % de albúmina de suero bovino), 0,5 % de SDS y 20 µg/ml de ADN de portador desnaturalizado (ADN de esperma de pescado monocatenario, con una longitud promedio de 120 - 3000 nucleótidos)
- La hibridación se realizó bajo las siguientes condiciones:
 - La sonda marcada se desnaturalizó calentando durante 5 minutos a 95 °C y enfriando sobre hielo durante 5 minutos y se añadió a 15 ml de tampón de hibridación (mismo tampón que para la pre-hibridación)
 - La hibridación se realizó durante la noche a 65 °C.
- Las transferencias se lavaron tres veces durante 30 minutos a 65 °C en los tubos de hibridación (una vez con 30 ml de 6x SSC con 0,1 % de SDS y dos veces con 30 ml de 2x SSC con 0,1 % de SDS) y una vez durante 10 minutos a 65 °C con 500 ml de 2x SSC con 0,1 % de SDS en una caja.
- Se expusieron películas Kodak X-OMAT AR a las transferencias radiactivas durante 4 horas a -70 °C.
- Basándose en las señales positivas, 72 colonias de *E. coli* que contienen un clon de BAC que comprende una secuencia de *FATB* se recogieron cribando la biblioteca de BAC de WOSR Express (nº total de positivos: 114) y 40 cribando la biblioteca de BAC de SOSR (nº total de positivos: 135) en un segundo cribado de bibliotecas de BAC (en lo sucesivo llamadas "colonias positivas").

1.2. Aislamiento de clones de BAC que comprenden una secuencia de *FATB* de longitud completa

Para identificar colonias positivas que comprenden un clon de BAC con una secuencia genómica de longitud completa de uno de los genes *FATB*, se realizó un análisis de transferencia Southern sobre ADN del clon BAC aislado de las colonias positivas y sobre ADN genómico aislado de *Brassica napus*:

- Se aisló ADN de clon de BAC mediante lisis alcalina como se ha descrito en la materia de las colonias positivas cultivadas en 100 ml (para WOSR Express) o en 25 ml (para SOSR) de medio de caldo de Luria que contenía 25 µg/ml de cloranfenicol.
- Se aisló ADN genómico de tejido de hoja de la colza oleaginosa de invierno de *B. napus* variedad Darmor (en lo sucesivo llamada "WOSR Darmor") según el método de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) (Doyle y Doyle, 1987, *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15).
- La concentración de ADN de cada preparación se estimó comparando la intensidad de banda de 1 µl de cada muestra con la intensidad de banda de 1, 2, 4, 8 y 20 µl de una disolución que contenía 25 ng/µl de ADN lambda (Life Technologies®) sobre un gel de agarosa al 1 % de TBE (Invitrogen®) (Roche®) que contenía bromuro de etidio (ICN Biochemicals®).
- Se digirieron 100-200 ng (para WOSR Express) o 10 ng (para SOSR) de ADN de clon de BAC y 1,7 µg de ADN genómico aislado de WOSR Darmor con las enzimas de restricción AseI y EcoRV en un volumen de reacción final de 20 µl, aplicando condiciones propuestas por el fabricante (New England Biolabs). El tiempo de digestión y/o cantidad de enzima de restricción se ajustaron para garantizar la digestión completa de las muestras de ADN genómico sin degradación no específica.
- Después de la digestión, se añadieron 2 µl de colorante de carga que contenía RNasa (12,5 ml de 1 % de xilenocianol FF; 12,5 ml de 1 % de azul de bromofenol soluble en indicador de agua; 25 ml de glicerol; 100 µl de EDTA 0,5 M a pH 8; 1 µl de RNasa (10 mg/ml)) a las muestras de ADN digeridas y las muestras se incubaron durante 30 min a 37 °C.
- Las muestras se cargaron sobre un 1 % de gel de agarosa TAE.
- Se incluyó ADN de fago lambda (Fermentas®) digerido con PstI (que genera 29 fragmentos (en pb): 11501, 5077, 4749, 4507, 2838, 2556, 2459, 2443, 2140, 1986, 1700, 1159, 1093, 805, 514, 468, 448, 339, 264, 247, 216, 211, 200, 164, 150, 94, 87, 72, 15 – los fragmentos en cursiva no son visibles en electroforesis estándar) (para WOSR Express) o escalera de ADN de 1 kbp (Life Technologies) (para SOSR) como patrón de tamaño.
- Después de la electroforesis, las muestras de ADN (clon de BAC digerido y ADN genómico) se transfirieron a una membrana de nailon (Hybond-N+ Amersham Pharmacia Biotech®) por transferencia capilar en álcali seco.
- Las membranas de nailon con clon de BAC digerido y ADN genómico se cribaron por procedimientos de hibridación Southern estándar como se ha descrito anteriormente para los cribados de bibliotecas de BAC, excepto que para el ADN genómico las películas Kodak XOMAT AR se expusieron a las transferencias radiactivas durante 2 días a -70 °C.
- Basándose en una comparación entre los patrones de hibridación obtenidos después de la digestión de ADN de clon de BAC de las colonias positivas identificadas y de ADN genómico aislado de *Brassica napus* WOSR Darmor con las enzimas de restricción AseI y EcoRV e hibridación con la sonda 5' *At FATB1* (SEC ID N°: 25) (véase la Tabla 14) y el número de clones de BAC que muestran un patrón de restricción particular, los clones de BAC se agruparon en 6 grupos y para cada uno de los 6 grupos se seleccionó un clon de BAC que contenía una secuencia de *FATB* de longitud completa (llamada *FATB1 a 6*).
- Las secuencias de *FATB* comprendidas en los clones de BAC de las colonias positivas seleccionadas se determinaron por técnicas de secuenciación estándar (Agowa).

Tabla 14: Patrón de hibridación del clon de BAC digerido y ADN genómico hibridado con la sonda 5' *AtFATB1* (SEC ID N°: 25)

Muestra de ADN:	ADN genómico de WOSR Darmor	ADN de clon de BAC de WOSR Express	ADN de clon de BAC de SOSR	Se corresponde con
limitado con:	Longitud estimada de los fragmentos de ADN de hibridación:			
AseI	2,2	2,2	2,2	<i>FATB1</i>
	8,8	8,8	4,5	<i>FATB2</i>
	2,4	5,5	2,4	<i>FATB3</i>
	2,2	2,2	2,2	<i>FATB4</i>
	3,0	3,0	3,0	<i>FATB5</i>
	1,7	1,7	1,7	<i>FATB6 (a)</i>
	0,8	0,8	0,8	<i>FATB6 (b)</i>
EcoRV	12		11	<i>FATB1</i>
	2,7		2,7	<i>FATB2</i>
	3,5		3,5	<i>FATB3 (a)</i>
	0,65		0,65	<i>FATB3 (b)</i>
	4,5		4,5	<i>FATB4</i>
	2,9		2,9	<i>FATB5</i>
	4,2		4,2	<i>FATB6</i>

- 5 La presencia de 6 grupos distintos de clones de BAC se confirmó por análisis de AFLP sobre el ADN de clon de BAC de las colonias positivas identificadas y de ADN genómico aislado de WOSR Darmor de *Brassica napus* (Vos et al., 1995, Nucleic Acids Research 23 (21):4407-4414).

Ejemplo 2 - Caracterización de secuencias de genes *FATB* de *Brassica napus*

- 10 Después de la secuenciación, las regiones codificantes de las secuencias de *FATB* se determinaron con FgeneSH (Softberry, Inc. Mount Kisco, NY, USA) y genoma de est2 (Rice et al., 2000, Trends in Genetics 16 (6): 276-277; Mott, 1997, Comput. Applic. 13:477-478) como se representa en el listado de secuencias.

- 15 El alineamiento de las diferentes secuencias de *FATB* con secuencias de *FATB* parciales aisladas de *B. rapa* (AA) y *B. oleracea* (CC) indicó que las secuencias de *FATB1*, *FATB2* y *FATB3* se originaron a partir del genoma de A y las secuencias de *FATB4*, *FATB5* y *FATB6* a partir del genoma C.

- 20 El alineamiento multidireccional (programa Align Plus - Scientific & Educational Software, EE.UU.; usando los siguientes parámetros por defecto: penalización por desapareamiento = 2, penalización por hueco abierto = 4, penalización por extensión de hueco = 1; para nucleótidos la matriz de puntuación por defecto usada es Standard linear y para proteínas la matriz de puntuación por defecto es BLOSUM62) de las diferentes regiones codificantes de *FATB* con o sin secuencias de intrones y secuencias de aminoácidos de *FATB* mostró que *FATB1* y *FATB4*, *FATB2* y *FATB5*, y *FATB3* y *FATB6* están más relacionados entre sí que con los otros genes *FATB*, que indica que son genes homeólogos.

- 25 Basándose en estos análisis, las secuencias *FATB1-FATB6* se renombraron *FATB-A1*, *FATB-A2*, *FATB-A3*, *FATB-C1*, *FATB-C2* y *FATB-C3*, respectivamente, y esta designación se usa en toda la memoria descriptiva. Tanto las secuencias de proteínas como de ácidos nucleicos de genes de WOSR y SOSR de *Brassica napus* se proporcionan en el presente documento.

Secuencias de WOSR

- 35 Las secuencias genómicas, es decir, las regiones que codifican proteína de *FATB-A1* a *FATB-A3* y *FATB-C1* a *FATB-C3* que incluyen las secuencias de intrones, de WOSR Express se representan en SEC ID N°: 1, SEC ID N°: 3, SEC ID N°: 5, SEC ID N°: 7, SEC ID N°: 9 y SEC ID N°: 11, respectivamente. Las secuencias de proteínas *FATB-A1* a *FATB-A3* y *FATB-C1* a *FATB-C3*, codificadas por estas secuencias de ácidos nucleicos, se representan en SEC ID N°: 2, SEC ID N°: 4, SEC ID N°: 6, SEC ID N°: 8, SEC ID N°: 10 y SEC ID N°: 12, respectivamente.

Secuencias de SOSR

- 45 Las secuencias genómicas, es decir, las regiones que codifican proteína de *FATB-A1* a *FATB-A3* y *FATB-C1* a *FATB-C3* que incluyen las secuencias de intrones, de SOSR se representan en SEC ID N°: 13, SEC ID N°: 15, SEC ID N°: 17, SEC ID N°: 19, SEC ID N°: 21 y SEC ID N°: 23. Las secuencias de proteínas *FATB-A1* a *FATB-A3* y *FATB-C1* a *FATB-C3*, codificadas por estas secuencias de ácidos nucleicos, están en SEC ID N°: 14, SEC ID N°: 16, SEC ID N°: 18, SEC ID N°: 20, SEC ID N°: 22 y SEC ID N°: 24, respectivamente.

La Tabla 15 muestra el porcentaje de identidad de secuencias (de nucleótidos) entre las diferentes regiones

codificantes de *FATB* de WOSR Express (Tabla 15a) y SOSR (Tabla 15b), con y sin secuencias de intrones, y muestra el mayor grado de vinculación entre *FATB-A1* y *FATB-C1*, *FATB-A2* y *FATB-C2*, y *FATB-A3* y *FATB-C3* homólogas (véanse los valores subrayados) e indica que los diferentes genes *FATB* están más conservados en el exón que en las secuencias de intrones.

- 5
10 Tabla 15a: Porcentaje de identidad de secuencias (de nucleótidos) entre las diferentes regiones codificantes de *FATB* obtenidas de WOSR Express, con / sin secuencias de intrones

% de identidad de secuencias	<i>FATB-A1</i>	<i>FATB-A2</i>	<i>FATB-A3</i>	<i>FATB-C1</i>	<i>FATB-C2</i>	<i>FATB-C3</i>
<i>FATB-A1</i>	100/100	75,0/82,5	75,4/87,6	<u>91,3/94,8</u>	71,4/85,7	68,5/87,3
<i>FATB-A2</i>		100/100	70,6/83,0	77,5/83,4	<u>85,2/94,3</u>	64,4/83,3
<i>FATB-A3</i>			100/100	75,3/88,0	67,4/85,4	<u>83,5/96,7</u>
<i>FATB-C1</i>				100/100	73,0/86,6	68,5/88,0
<i>FATB-C2</i>					100/100	61,2/86,0
<i>FATB-C3</i>						100/100

- 10 Tabla 15b: Porcentaje de identidad de secuencias (de nucleótidos) entre las diferentes regiones codificantes de *FATB* obtenidas de SOSR con / sin secuencias de intrones

% de identidad	<i>FATB-A1</i>	<i>FATB-A2</i>	<i>FATB-A3</i>	<i>FATB-C1</i>	<i>FATB-C2</i>	<i>FATB-C3</i>
<i>FATB-A1</i>	100/100	76,1/84,1	75,6/87,6	<u>91,4/94,8</u>	71,4/85,7	68,6/87,5
<i>FATB-A2</i>		100/100	72,3/84,8	78,8/85,3	<u>86,6/96,4</u>	65,3/85,1
<i>FATB-A3</i>			100/100	76,1/87,9	68,0/85,3	<u>84,2/96,4</u>
<i>FATB-C1</i>				100/100	73,0/86,7	68,7/88,0
<i>FATB-C2</i>					100/100	61,1/86,0
<i>FATB-C3</i>						100/100

- 15 La Tabla 16, a continuación, muestra el porcentaje de identidad de secuencias de (nucleótidos) entre las diferentes regiones codificantes de *FATB* (con / sin secuencias de intrones) obtenidas de WOSR Express (W) y SOSR (S) y muestra que el mayor grado de vinculación entre las *FATB-A1* y *FATB-C1*, *FATB-A2* y *FATB-C2* y *FATB-A3* y *FATB-C3* homeólogas se conserva entre diferentes variedades o líneas de cultivo de *Brassica napus* (véanse los valores subrayados), es decir, el porcentaje de identidad de secuencias entre las *FATB-A1* y *FATB-C1* homeólogas, por ejemplo, entre secuencias de diferentes variedades es superior al porcentaje de identidad de secuencias entre estos
20 genes *FATB* y los otros genes *FATB* de la misma variedad.

- Además, puede observarse que hay un alto porcentaje de identidad de secuencias entre los alelos WOSR y SOSR del mismo gen (por ejemplo, *FATB-A1* de WOSR y *FATB-A1* de SOSR; véanse los valores en negrita), que indica que las variedades y líneas de cultivo de *Brassica napus* tienen alelos *FATB* estrechamente relacionados en sus
25 genomas.

Tabla 16: Identidad de secuencias entre las diferentes regiones codificantes de *FATB* con / sin secuencias de intrones de WOSR Express (W) y de SOSR (S)

% de identidad	<i>FATB-A1</i> (W)	<i>FATB-A2</i> (W)	<i>FATB-A3</i> (W)	<i>FATB-C1</i> (W)	<i>FATB-C2</i> (W)	<i>FATB-C3</i> (W)
<i>FATB-A1</i> (S)	99,7/99,6	76,3/84,3	75,4/87,4	91,2/94,6	71,4/85,7	68,4/87,2
<i>FATB-A2</i> (S)	74,8/82,3	983/97,8	71,2/82,9	77,5/83,4	<u>85,2/94,3</u>	64,3/83,2
<i>FATB-A3</i> (S)	75,6/87,9	71,7/84,9	97,8/98,6	75,4/88,0	67,4/85,4	<u>83,4/96,6</u>
<i>FATB-C1</i> (S)	<u>91,5/95,0</u>	78,8/85,3	76,0/88,0	99,8/99,7	73,0/86,6	68,5/87,9
<i>FATB-C2</i> (S)	71,4/85,7	<u>86,6/96,4</u>	68,0/85,3	73,0/86,7	100/100	61,1/86,0
<i>FATB-C3</i> (S)	68,7/87,5	65,3/85,2	<u>84,3/96,5</u>	68,6/87,9	61,2/86,0	99,9/99,9

- 30 La Tabla 17a y b muestran el porcentaje de identidad de secuencias (de aminoácidos) entre las diferentes secuencias de aminoácidos de *FATB* de WOSR Express (Tabla 17a) y SOSR (Tabla 17b).

- 35 Tabla 17a: Porcentaje de identidad de secuencias entre las diferentes secuencias de aminoácidos de *FATB* de WOSR Express

% de identidad	<i>FATB-A1</i>	<i>FATB-A2</i>	<i>FATB-A3</i>	<i>FATB-C1</i>	<i>FATB-C2</i>	<i>FATB-C3</i>
<i>FATB-A1</i>	100,0	86,5	90,2	<u>96,2</u>	88,5	89,3
<i>FATB-A2</i>		100,0	85,0	86,8	<u>95,3</u>	83,8
<i>FATB-A3</i>			100,0	89,7	<u>87,6</u>	<u>98,6</u>
<i>FATB-C1</i>				100,0	88,9	88,7
<i>FATB-C2</i>					100,0	86,4
<i>FATB-C3</i>						100,0

Tabla 17b: Porcentaje de identidad de secuencias entre las diferentes secuencias de aminoácidos de *FATB* de

SOSR

% de identidad	<i>FATB-A1</i>	<i>FATB-A2</i>	<i>FATB-A3</i>	<i>FATB-C1</i>	<i>FATB-C2</i>	<i>FATB-C3</i>
<i>FATB-A1</i>	100,0	89,0	90,1	<u>96,6</u>	89,0	89,7
<i>FATB-A2</i>		100,0	87,3	88,9	<u>98,6</u>	86,6
<i>FATB-A3</i>			100,0	89,4	<u>87,3</u>	<u>97,8</u>
<i>FATB-C1</i>				100,0	88,9	88,7
<i>FATB-C2</i>					100,0	86,4
<i>FATB-C3</i>						100,0

La Tabla 18 muestra el porcentaje de identidad de secuencias (de aminoácidos) entre las diferentes secuencias de aminoácidos de *FATB* de WOSR Express (W) y de SOSR (S). Los porcentajes de identidad de secuencias indican que *FATB-A1* y *FATB-C1*, *FATB-A2* y *FATB-C2* y *FATB-A3* y *FATB-C3* son genes homeólogos (véanse los valores subrayados) y que el mayor grado de vinculación entre estos homeólogos se conserva entre diferentes variedades.

Además, puede observarse que hay un alto porcentaje de identidad de secuencias entre proteínas WOSR y SOSR del mismo gen *FATB* (por ejemplo, *FATB-A1* de WOSR y *FATB-A1* de SOSR; véanse los valores en negrita), que indica que las variedades de *Brassica napus* y líneas de cultivo tienen alelos *FATB* estrechamente relacionados en sus genomas, que codifican las mismas proteínas o altamente similares.

Tabla 18: Porcentaje de identidad de secuencias entre las diferentes secuencias de aminoácidos de *FATB* de WOSR Express (W) y de SOSR (S)

% de identidad	<i>FATB-A1</i> (W)	<i>FATB-A2</i> (W)	<i>FATB-A3</i> (W)	<i>FATB-C1</i> (W)	<i>FATB-C2</i> (W)	<i>FATB-C3</i> (W)
<i>FATB-A1</i> (S)	99,5	88,6	89,7	<u>96,2</u>	88,5	89,3
<i>FATB-A2</i> (S)	86,9	96,5	84,5	86,8	<u>95,3</u>	83,8
<i>FATB-A3</i> (S)	90,7	87,8	99,3	89,7	87,6	<u>98,6</u>
<i>FATB-C1</i> (S)	<u>96,6</u>	88,9	89,4	100,0	88,9	88,7
<i>FATB-C2</i> (S)	89,0	<u>98,6</u>	87,3	88,9	100,0	86,4
<i>FATB-C3</i> (S)	89,7	86,6	<u>97,8</u>	88,7	86,4	100,0

Ejemplo 3 - Expresión de genes *FATB* de *Brassica*

Para analizar la expresión de los diferentes genes *FATB* en diferentes tejidos se realizaron ensayos de RT-PCR semicuantitativa específicos para cada gen *FATB* sobre ARN total aislado de diversos tejidos de planta de *Brassica*:

Moldes:

- Se aisló una serie de cantidades crecientes de ARN total, es decir, 0,1 ng, 1 ng, 10 ng y 100 ng, de hojas, raíces, capullos de flores sin abrir y ápices, cotiledones, vainas 11 días después de la antesis con y sin semillas y semillas de aquellas vainas, semillas de vainas 21 y 34 días después de la antesis y callo de SOSR de *Brassica napus*, con el minikit de plantas RNeasy (Qiagen) según las instrucciones del fabricante.
- Se aisló una serie de cantidades crecientes de ADN genómico, es decir, 0,1 ng, 1 ng y 10 ng, de tejido de hojas de SOSR de *Brassica napus* según el método de CTAB (Doyle y Doyle, 1987, Phytochemistry Bulletin 19:11-15).

Cebadores y longitud del fragmento amplificado del gen *FATB* diana:

- para determinar la expresión del gen *FATB-A1* (SEC ID N°: 13):
Directo: 5'- CTGATAACGAGACGTCCTCAC -3' (SEC ID N°: 31)
Inverso: 5'- CATCCTGGAGACGGAGCAGG -3' (SEC ID N°: 32)
→ 957 pb para molde de ARN de *FATB-A1* y
→ 1275 pb para molde de ADN genómico de *FATB-A1*
- para determinar la expresión del gen *FATB-A2* (SEC ID N°: 15):
Directo: 5'- CTGCCTGACTGGAGTATGCTG -3' (SEC ID N°: 33)
Inverso: 5'- GTTGTTGCTCCTGTCTTGGAG -3' (SEC ID N°: 34)
→ 956 pb para molde de ARN de *FATB-A2* y
→ 1340 pb para molde de ADN genómico de *FATB-A2*
- para determinar la expresión del gen *FATB-A3* (SEC ID N°: 17):
Directo: 5'- GCAGTGGATGATGCTTGATAC -3' (SEC ID N°: 35)
Inverso: 5'- CAAGTCGTTGATGGTGTTC -3' (SEC ID N°: 36)
→ 900 pb para molde de ARN de *FATB-A3* y
→ 1367 pb para molde de ADN genómico de *FATB-A3*
- para determinar la expresión del gen *FATB-C1* (SEC ID N°: 19):
Directo: 5'- CTGCCTGACTGGAGCATGCTC -3' (SEC ID N°: 37)
Inverso: 5'- GTTCTTCCTCTACCACTTCG -3' (SEC ID N°: 38/67)

- 926 pb para molde de ARN de *FATB-C1* y
- 1259 pb para molde de ADN genómico de *FATB-C1*
- para determinar la expresión del gen *FATB-C2* (SEC ID N°:21):
 Directo: 5'- ATCGTTCAGGATGGTCTTGTC -3' (SEC ID N°: 39)
 Inverso: 5'- GCAGTCTTGTCATCAAGTTTG -3' (SEC ID N°: 40)
 → 500 pb para molde de ARN de *FATB-C2* y
 → 937 pb para molde de ADN genómico de *FATB-C2*
- para determinar la expresión del gen *FATB-C3* (SEC ID N°:23):
 Directo: 5'- ACAGTGGATGATGCTTGACTC -3' (SEC ID N°: 41)
 Inverso: 5'- CGAACATAGTCAGCAGTCTTC -3' (SEC ID N°: 42)
 → 582 pb para molde de ARN de *FATB-C3* y
 → 1151 pb para molde de ADN genómico de *FATB-C3*.

Mezcla de PCR:

- para RT-PCR sobre ARN (preparado con el sistema de RT-PCR Superscript™ III One-Step con Taq ADN polimerasa Platinum® (Invitrogen)): 12,5 µl de 2x mezcla de reacción, 1 µl de Superscript™ III/ Taq ADN polimerasa Platinum®, 9,5 µl de H₂O Milli-Q, 1 µl de ARN (0,1 ng/µl, 1 ng/µl, 10 ng/µl y 100 ng/µl), 0,5 µl de cebador directo (20 µM), 0,5 µl de cebador inverso (20 µM)) = Volumen total de 25 µl;
- para PCR sobre ADN genómico: 12,5 µl de 2x mezcla de reacción, 0,2 µl de Taq ADN polimerasa Platinum® (5 U/µl; Invitrogen), 0,5 µl de cebador directo (20 µM), 0,5 µl de cebador inverso (20 µM), 1 µl de ADN (0,1 ng/µl, 1 ng/µl y 10 ng/µl), 10,3 µl de H₂O Milli-Q = Volumen total de 25 µl;

Perfil de termociclado: 30 min a 55 °C (síntesis de ADNc), 2 min a 94 °C; 30x [15 s a 94 °C (desnaturalización) y 30 s a 57 °C (hibridación) y 2 min a 68 °C (extensión)]; 5 min a 68 °C; enfriamiento a 10 °C.

Después de la amplificación, se añadieron 5 µl de colorante de carga (2,5 ml 0,1 % de azul de bromofenol, 2,5 ml de 0,1 % de xilenocianol, 5 ml de glicerol, 50 µl de EDTA 0,5 M a pH 8) a las muestras de PCR y 15 µl de las muestras se cargaron sobre un gel de agarosa al 1 % de TAE (10 x (Tris-acetato 400 mM + EDTA 100 mM); Invitrogen®) (Roche®) que contenía bromuro de etidio junto con un marcador de peso molecular apropiado (escalera de ADN de 1 Kb, GibcoBRL® Life Technologies).

Los patrones de bandas obtenidos después de la amplificación del ARN total de diferentes tejidos y el ADN genómico de *SOSR* de *Brassica napus* con los cebadores específicos del gen *FATB* se evaluaron del siguiente modo:

- Datos de las muestras de ARN dentro de una única ejecución de RT-PCR y una única mezcla de RT-PCR no fueron aceptados, a menos que los productos de PCR y los productos de RT-PCR (si los hay, en el caso de los productos de RT-PCR; véase más adelante) amplificados de las series de cantidades crecientes de ADN genómico y ARN total, respectivamente, mostraran las longitudes de fragmento esperadas para el gen *FATB* diana (como se indica anteriormente) y aumentarían en cantidad proporcionalmente a la cantidad creciente de molde de ADN y ARN, respectivamente.
- Carriles que no comprenden productos de RT-PCR amplificados de las series de cantidades crecientes de ARN total para el gen *FATB* diana específico del tamaño esperado indican que el gen *FATB* diana específico no se expresa o se expresa a niveles muy bajos en el tejido correspondiente a partir del cual se preparó el ARN de molde.
- Carriles que comprenden productos de RT-PCR amplificados de las series de cantidades crecientes de ARN total para el gen *FATB* diana específico del tamaño esperado indican que el gen *FATB* diana específico se expresa en el tejido correspondiente a partir del cual se preparó el ARN de molde.

Para determinar el nivel de expresión de cada gen *FATB* en un tejido específico con respecto al nivel de expresión de los otros genes *FATB* en ese tejido específico, la intensidad de las bandas observadas sobre el gel de electroforesis (resultante de la tinción con bromuro de etidio del ADN y observada bajo luz UV) de los productos de RT-PCR de *FATB* se comparó con la intensidad de las bandas observadas sobre el gel de electroforesis de los productos de PCR de *FATB* amplificados a partir de las series de cantidades crecientes de ADN genómico.

Resultados

Todos los genes *FATB* se expresaron en todos los tejidos analizados (+ en la Tabla 19). El nivel de expresión de cada gen *FATB* en hojas y semillas de vainas de 11, 21 y 34 días (basado en 10 ng de ARN) expresado como la cantidad de ADN genómico (en ng) que generó una intensidad de banda comparable a la intensidad de banda del producto de RT-PCR específico del gen *FATB* (como se ha explicado anteriormente) se indica entre paréntesis en la Tabla 20.

Tabla 20

Tejido	<i>FATB-A1</i>	<i>FATB-A2</i>	<i>FATB-A3</i>	<i>FATB-C1</i>	<i>FATB-C2</i>	<i>FATB-C3</i>
Hoja	+ (0,1)	+ (5)	+ (> 10)	+ (< 0,1)	+ (5)	+ (10)
Raíz	+	+	+	+	+	+
Capullo de flor sin abrir + ápice	+	+	+	+	+	+
Cotiledones	+	+	+	+	+	+
Callo	+	+	+	+	+	+
Vainas 11 d sin semilla	+	+	+	+	+	+
Vainas 11 d con semilla	+	+	+	+	+	+
Semilla de vainas 11 d	+ (< 0,1)	+ (1)	+ (10)	+ (< 0,1)	+ (5)	+ (1)
Vainas 21 d sin semilla	+	+	+	+	+	+
Vainas 21 d con semilla	+	+	+	+	+	+
Semilla de vainas 21 d	+ (0,1)	+ (1)	+ (1)	+ (0,1)	+ (5)	+ (1)
Vainas 34 d sin semilla	+	+	+	+	+	+
Semilla de vainas 34 d	+ (< 0,01)	+ (0,05)	+ (0,05)	+ (0,05)	+ (0,5)	+ (0,05)

El momento exacto (11, 21 y 34 días después de la antesis) y el nivel de expresión de cada gen *FATB* en semilla (basado en 10 ng de ARN) expresado como la cantidad de ADN genómico (en ng) que generó una intensidad de banda comparable a la intensidad de banda del producto de RT-PCR específico del gen *FATB* (como se ha explicado anteriormente) se indica en la Figura 1.

Ejemplo 4 - Generación y aislamiento de alelos *FATB* de *Brassica* mutantes (*fatB*)

Las mutaciones en los genes *FATB* identificados en el Ejemplo 1 se generaron e identificaron usando los siguientes enfoques, descritos a continuación. En la sección 4.1 se describe la generación de alelos *fatB* que comprenden delecciones de uno o más nucleótidos, por ejemplo, que carecen de partes o del alelo *fatB* completo ("mutantes de delección"). En la Sección 4.2 se describe la generación y aislamiento de alelos *fatB* que comprenden mutaciones del codón de STOP ("mutantes terminadores") y/o una o más mutaciones del sitio de corte y empalme.

4.1 Generación de y cribado de mutantes de delección *fatB*

- Semillas de SOSR de *Brassica napus* (no mutantes, denominadas semillas "M0") se mutagenizaron usando el enfoque de mutagénesis de neutrones rápidos como se describe en la materia para generar una población de semillas mutantes (denominadas semillas "M1").
- Se cultivaron 60.000 plantas M1 y se autofecundaron. Las semillas M2 resultantes se recogieron para cada planta M1 individual.
- Se cultivaron 1000 plantas M2, derivadas de diferentes plantas M1, y se prepararon muestras de ADN a partir de muestras de hoja de cada planta M2 individual según el método de CTAB (Doyle y Doyle, 1987, *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15). Las plantas M2 se autofecundaron para obtener semillas M3.
- La concentración de las muestras de ADN se estimó como se describe en el Ejemplo 1. Se digirieron 1,7 µg de ADN genómico con las enzimas de restricción *Asel* y *EcoRV* en un volumen de reacción final de 20 µl, bajo las siguientes condiciones (enzimas y tampones de New England Biolabs®):
 - Digestión con *Asel*: 17 µl de ADN (100 ng/µl), 1 µl de *Asel* (10 U/µl), 2 µl de tampón NEB3
 - Digestión con *EcoRV*: 17 µl de ADN (100 ng/µl), 1 µl de *EcoRV* (10 U/µl), 2 µl de tampón NEB3, 0,2 µl de 100x albúmina de suero bovino incubada durante la noche a 37 °C o durante 4 horas a 37 °C
- Después de la digestión, 2 µl de colorante de carga que contenía RNasa (12,5 ml de 1 % de xilenocianol FF; 12,5 ml de 1 % de azul de bromofenol soluble en indicador de agua; 25 ml de glicerol; 100 µl de EDTA 0,5 M a pH 8; se añadió 1 µl de RNasa (10 mg/ml)) a las muestras de ADN digeridas y las muestras se incubaron durante 30 min a 37 °C. Las muestras se cargaron sobre un gel de agarosa al 1 % de TAE (Invitrogen®). Se incluyó ADN de fago lambda (Fermentas®) digerido con enzima de restricción *PstI* (que genera 29 fragmentos (en pb): 11501, 5077, 4749, 4507, 2838, 2556, 2459, 2443, 2140, 1986, 1700, 1159, 1093, 805, 514, 468, 448, 339, 264, 247, 216, 211, 200, 164, 150, 94, 87, 72, 15 (los fragmentos en cursiva no son visibles en electroforesis estándar) como patrón de tamaño.
- Después de la electroforesis, las muestras de ADN (ADN genómico digerido) se transfirieron a una membrana de nailon (Hybond-N+ Amersham Pharmacia Biotech®) por transferencia capilar en álcali seco. Las membranas de nailon con ADN genómico digerido se cribaron por procedimientos de hibridación Southern estándar como se ha descrito en el Ejemplo 1 para el ADN genómico con la sonda 5' *At FATB1* (SEC ID N°: 25). Se expusieron películas Kodak XOMAT AR a las transferencias radiactivas durante 2 días a -70 °C.

Resultados

Los patrones de hibridación obtenidos después de la digestión de ADN genómico de plantas M2 de *Brassica* con *Asel* y *EcoRV* e hibridación con la sonda 5' *At FATB1* (SEC ID N°: 25) se compararon con los patrones de hibridación obtenidos después de la digestión de ADN genómico de plantas SOSR de *Brassica* no mutantes con *Asel* y *EcoRV* e hibridación con la sonda 5' *At FATB1* (SEC ID N°: 25) (Tabla 21). Para determinar la

correspondencia entre los fragmentos de ADN de hibridación y los diferentes genes *FATB*, el último patrón de hibridación se comparó con el patrón de hibridación del ADN de clon de BAC con una secuencia de longitud completa de uno de los genes *FATB* identificados en el Ejemplo 1 digeridos con *Asel* y *EcoRV* y se hibridó con la sonda 5' *At FATB1* (SEC ID N°: 25) (véase la Tabla 14 anterior).

5

Tabla 21: Patrón de hibridación de ADN genómico digerido de *Brassica napus* hibridado con la sonda 5' *AtFATB1*

ADN genómico limitado con	Migración de fragmentos de ADN de hibridación entre bandas de marcador de tamaño		Longitud estimada de los fragmentos de ADN de hibridación.	Se corresponde con
	Superiores a (kbp)	Inferiores a (kbp)		
Asel	2,1	2,4	2,2	<i>FATB-A1</i>
	2,8	4,7	4,5	<i>FATB-A2</i>
	2,1	2,5	2,4	<i>FATB-A3</i>
	2,1	2,4	2,2	<i>FATB-C1</i>
	2,8	4,5	3,0	<i>FATB-C2</i>
	1,1	2,0	1,7	<i>FATB-C3 (a)</i>
	0,5	1,1	0,8	<i>FATB-C3 (b)</i>
EcoRV	5,1	11,5	11	<i>FATB-A1</i>
	2,6	2,8	2,7	<i>FATB-A2</i>
	2,8	4,5	3,5	<i>FATB-A3 (a)</i>
	0,5	0,8	0,65	<i>FATB-A3 (b)</i>
	2,8	4,7	4,5	<i>FATB-C1</i>
	2,8	4,5	2,9	<i>FATB-C2</i>
	2,8	4,5	4,2	<i>FATB-C3</i>

La ausencia de uno de los fragmentos de ADN de hibridación indicados en la Tabla 21 indicó que los alelos *FATB* completos se delecionaron en las plantas mutagenizadas con el enfoque de mutagénesis de neutrones rápidos.

10

Plantas M2 homocigóticas de *Brassica* que comprenden una delección de *fatB* así identificada y el fragmento de ADN de hibridación ausente se indican en la Tabla 22.

Tabla 22

15

Alelo <i>FATB</i> mutado	Fragmento de ADN de hibridación ausente:				Planta M2 n°	Alelo n°
	ADN genómico limitado con	Migración de fragmentos de ADN de hibridación ausentes entre bandas de marcadores de tamaño		Longitud estimada de los fragmentos de ADN de hibridación ausentes.		
		Superiores a (kbp)	Inferiores a (kbp)			
<i>FATB-A1</i> (SEC ID N°: 13)	Asel EcoRV	2,1 5,1	2,4 11,5	2,2 11	LOSA018	FATB-A1-FN1
<i>FATB-A2</i> (SEC ID N°: 15)	Asel EcoRV	2,8 2,6	4,7 2,8	4,5 2,7	LOSA002, LOSA003, LOSA005	FATB-A2-FN1, FATB-A2-FN2, FATB-A2-FN3
<i>FATB-C2</i> (SEC ID N°: 21)	Asel EcoRV	2,4 2,8	4,5 4,5	3 2,9	LOSA004	FATB-C2-FN1

La ausencia de un alelo *FATB* específico en las plantas M2 homocigóticas de *Brassica* se confirmó por los siguientes ensayos de PCR:

- 20 - Molde de ADN:
- ADN genómico aislado de material de hoja de las plantas M2 de *Brassica* identificadas por comprender una delección en o de un gen *FATB* específico ("*FATBx*").
 - Control positivo: ADN de clon de BAC del gen *FATBx* (la amplificación satisfactoria de este control positivo demuestra que la PCR se ejecutó en condiciones que permiten la amplificación de la secuencia de *FATBx* diana específica).
 - Controles negativos: ADN de clon de BAC de genes *FATB* diferentes del gen *FATBx* (cuando el resultado esperado, es decir, la no amplificación del producto de PCR de *FATBx* específico, se observa, esto indica que no hay amplificación de fondo detectable de otros genes *FATB*).
 - Un control de ADN no mutante: Ésta es una PCR en la que el molde de ADN proporcionado es ADN genómico preparado a partir de una planta de *Brassica* M2 sin una delección del gen *FATBx*. Cuando se observa el resultado esperado, es decir, solo la amplificación del producto de PCR de *FATBx* específico, esto indica que no hay amplificación de fondo detectable, por ejemplo, de otros genes *FATB*, en una muestra de ADN genómico.
- 25
- 30

- Cebadores y longitud del fragmento amplificado del gen *FATBx* diana no mutante ("fragmento de PCR específico de *FATBx*"):
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-A1* (SEC ID N°: 13):
 - 5 Directo: 5'-CTGATAACGAGACGTCCTCAC-3' (SEC ID N°: 31)
 - Inverso: 5'-CAGTCTTAACATGGTTGAGTG-3' (SEC ID N°: 43)
 - 403 pb
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-A2* (SEC ID N°: 15):
 - 10 Directo: 5'-CATGTTCCATCTTCTTCCTCG -3' (SEC ID N°: 44)
 - Inverso: 5'-TATTGGGACAACATGTGAGTG -3' (SEC ID N°: 45)
 - 513 pb
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-A3* (SEC ID N°: 17):
 - 15 Directo: 5'- GCAGTGGATGATGCTTGATAC -3' (SEC ID N°: 35)
 - Inverso: 5'- TTCTTCTTAACCATCTCAGGT -3' (SEC ID N°: 46)
 - 487 pb
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-C1* (SEC ID N°: 19):
 - 20 Directo: 5'- CTGCCTGACTGGAGCATGCTC -3' (SEC ID N°: 37)
 - Inverso: 5'- CCAAACCCATCTCCAAGCAGC -3' (SEC ID N°: 47)
 - 367 pb
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-C2* (SEC ID N°: 21):
 - 25 Directo: 5'- ATCGTTCAGGATGGTCTTGTC -3' (SEC ID N°: 39)
 - Inverso: 5'- TAACTCACAACGAGAACCAGG -3' (SEC ID N°: 48)
 - 397 pb
 - para confirmar la presencia de una delección en o del gen *FATB-C3* (SEC ID N°: 23):
 - 30 Directo: 5'- ACAGTGGATGATGCTTGACTC -3' (SEC ID N°: 41)
 - Inverso: 5'- CTTTGATAATCTCCTTGTCAC -3' (SEC ID N°: 49)
 - 1035 pb
 - Mezcla de PCR: 2,5 µl de 10x tampón de PCR, 0,25 µl de dNTP (20 µM), 0,5 µl de cebador directo (10 µM), 0,5 µl de cebador inverso (10 µM), 0,25 µl de Taq-polimerasa (5 U/µl), 20 µl de H₂O Milli-Q, 1 µl de ADN (50 ng/µl) = Volumen total de 25 µl;
 - Perfil de termociclado: 4 min a 94 °C; 25x [1 min a 94 °C (desnaturalización) y 1 min a 57 °C (hibridación) y 2 min a 72 °C (extensión)]; 5 min a 72 °C; enfriamiento a 4 °C.
 - Después de la amplificación, 5 µl de colorante de carga (2,5 ml de 0,1 % de azul de bromofenol, 2,5 ml de 0,1 % de xilenocianol, 5 ml de glicerol, 50 µl de EDTA 0,5 M a pH 8) se añadió a las muestras de PCR y las muestras se cargaron sobre un gel de agarosa de 1 % de TAE (10 x (Tris-acetato 400 mM + EDTA 100 mM); Invitrogen®) (Roche®) junto con un marcador de peso molecular apropiado (marcador de ADN de 100 pb; Invitrogen®).
 - Los patrones de bandas obtenidos después de la amplificación de ADN genómico de plantas M2 de *Brassica* con los cebadores específicos de *FATBx* se evaluaron del siguiente modo:
 - 40 - Datos de muestras de ADN aisladas de material de hoja de las plantas M2 de *Brassica* identificadas por comprender una mutación de delección en o de un gen *FATBx* dentro de una única ejecución de PCR y una única mezcla de PCR no deben ser aceptables a menos que:
 - los controles negativos sean negativos para la amplificación por PCR (no fragmentos),
 - el control positivo muestre el producto de PCR esperado (fragmento de *FATBx* específico),
 - 45 - el control de ADN no mutante muestre el resultado esperado (solo fragmento de *FATBx* específico).
 - Carriles que no muestran producto de PCR para el gen *FATBx* específico del tamaño esperado indican que la planta correspondiente a partir de la cual se preparó el molde de ADN genómico comprende una delección en o del gen *FATBx* específico.
 - 50 - Carriles que muestran el producto de PCR para el gen *FATBx* específico del tamaño esperado indican que la planta correspondiente a partir de la cual se preparó el molde de ADN genómico no comprende una delección en o de un gen *FATBx*.

Se confirmó que la planta M2 homocigótica n° LOSA018 comprende una delección de *FATB-A1*, las plantas M2 homocigóticas n° LOSA002, 3, 5 comprenden una delección de *FATB-A2* y la planta M2 homocigótica n° LOSA004 comprende una delección de *FATB-C2*.

4.2 Generación y aislamiento de alelos *FATB* que comprenden una o más mutaciones puntuales

- 30.000 semillas de SOSR de *Brassica napus* (semillas M0) se empaparon previamente durante dos horas sobre papel de filtro húmedo en agua desionizada o destilada. La mitad de las semillas se expusieron a 0,8 % de EMS y la mitad a 1 % de EMS (Sigma: M0880) y se incubaron durante 4 horas.
- Las semillas mutagenizadas (semillas M1) se aclararon 3 veces y se secaron en una campana extractora durante la noche. Se cultivaron 30.000 plantas M1 en tierra y se autofecundaron para generar semillas M2. Las semillas M2 se recogieron para cada planta M1 individual.
- Se cultivaron dos veces 4800 plantas M2, derivadas de diferentes plantas M1, y se prepararon muestras de

ADN a partir de muestras de hojas de cada planta M2 individual según el método de CTAB (Doyle y Doyle, 1987, *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15). Las plantas M2 se autofecundaron para obtener semillas M3.

- Las muestras de ADN se cribaron para la presencia de mutaciones puntuales en los genes *FATB* causando la introducción de codones de STOP o mutaciones del sitio de corte y empalme por secuenciación directa por técnicas de secuenciación estándar (Agowa) y analizando las secuencias para la presencia de las mutaciones puntuales usando el software NovoSNP (VIB Antwerp).
- Así se identificaron los siguientes alelos *FATB* mutantes (*fatB*):

Tabla 23a Mutaciones del codón de STOP en genes *FATB* de SOSR

Gen <i>FATB</i> mutado	Número de exón	Posición de aminoácido	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante	Planta M2 n°	Alelo n°
<i>FATB-A1</i> (SEC ID N°: 13)	exón 1	93	279	tgg → tga	LOSA101, LOSA103, LOSA102	FATB-A1-EMS01, FATB-A1-EMS02, FATB-A1-EMS03
	exón 1	111	333	tgg → tga	LOSA104	FATB-A1-EMS05 ⁽¹⁾
	exón 1	116	348	tgg → tga	LOSA105	FATB-A1-EMS06 ⁽²⁾
<i>FATB-A2</i> (SEC ID N°: 15)	exón 1	94	282	tgg → tga	LOSA111, LOSA112	FATB-A2-EMS04, FATB-A2-EMS05 ⁽³⁾
	exón 1	136	406	cag → tag	LOSA108	FATB-A2-EMS01 ⁽²⁾
<i>FATB-A3</i> (SEC ID N°: 17)	exón 2	205	845	gag → tag	LOSA114	FATB-A3-EMS01 ⁽¹⁾
<i>FATB-C1</i> (SEC ID N°: 19)	exón 2	196	668	tgg → tga	LOSA129	FATB-C1-EMS05 ^(2,3)
<i>FATB-C2</i> (SEC ID N°: 21)	exón 1	79	235	cag → tag	LOSA119	FATB-C2-EMS02 ⁽³⁾
	exón 1	111	331	cag → tag	LOSA122	FATB-C2-EMS05
	exón 1	112	336	tgg → tga	LOSA120, LOSA123	FATB-C2-EMS03 ⁽²⁾ , FATB-C2-EMS06

⁽¹⁾ Las semillas que comprenden FATB-A1-EMS05, FATB-A3-EMS01, FATB-C1-EMS04 y FATB-C3-EMS02 (designadas 08MBBN000584) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, RU) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41568.

⁽²⁾ Las semillas que comprenden FATB-A1-EMS06, FATB-A2-EMS01, FATB-C1-EMS05 y FATB-C2-EMS03 (designadas 08MBBN000572) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, RU) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41567.

⁽³⁾ Las semillas que comprenden FATB-A2-EMS05, FATB-C1-EMS05 y FATB-C2-EMS02 (designadas 08MBBN000553) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, RU) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41566.

Tabla 23b Mutaciones del sitio de corte y empalme en genes *FATB* de SOSR

Gen <i>FATB</i> mutado	Número de intrón	Posición de nucleótido	Codón no mutante → mutante	Planta M2 n°	Alelo n°
<i>FATB-A1</i> (SEC ID N°: 13)	intrón 1 - donante	502	g[gt... → g[at...	LOSA106	FATB-A1-EMS07
	intrón 1 - aceptor	587	...ag]g → ...ag]a	LOSA107	FATB-A1-EMS09
<i>FATB-A2</i> (SEC ID N°: 15)	intrón 1 - donante	505	g[gt... → g[at...	LOSA109	FATB-A2-EMS02
		504	g[gt... → a[gt...	LOSA110	FATB-A2-EMS03
<i>FATB-C1</i> (SEC ID N°: 19)	intrón 1 - donante	498	g[gt... → a[gt...	LOSA128	FATB-C1-EMS04 ⁽¹⁾
<i>FATB-C2</i> (SEC ID N°: 21)	intrón 1 - aceptor	581	...ag]g → ...ag]a	LOSA121	FATB-C2-EMS04
<i>FATB-C3</i> (SEC ID N°: 23)	intrón 1 - donante	508	g[gt... → g[at...	LOSA125	FATB-C3-EMS02 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Las semillas que comprenden FATB-A1-EMS05, FATB-A3-EMS01, FATB-C1-EMS04 y FATB-C3-EMS02 (designadas 08MBBN000584) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, RU) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41568

En conclusión, los ejemplos anteriores muestran cómo los alelos *FATB* mutantes pueden generarse y aislarse. Por tanto, el material de planta que comprende tales alelos mutantes puede usarse para combinar los alelos mutantes y/o no mutantes deseados en una planta, como se describe en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 5 - Identificación de una planta de *Brassica* que comprende un alelo *FATB* de *Brassica* mutante

Plantas de *Brassica* que comprenden las mutaciones en los genes *FATB* identificadas en el Ejemplo 5 se identificaron del siguiente modo:

5.1. Identificación de plantas de *Brassica* que comprenden una delección de un alelo *FATB*

- Para cada planta M2 homocigótica identificada por comprender una delección de un gen *FATB*, se cultivaron plantas M3 y muestras de ADN se prepararon a partir de muestras de hoja de cada planta M3 individual
- Sobre cada muestra de ADN de cada planta M3 individual se realizó un ensayo específico de PCR para el gen *FATB* identificado por comprender una mutación de delección (como se describe en el Ejemplo 4.1).
- Plantas M3 homocigóticas que comprenden la mutación identificada se autofecundaron y se recogieron semillas M4.

5.2. Identificación de plantas de *Brassica* que comprenden una mutación puntual en un gen *FATB*

- Para cada gen *FATB* mutante identificado en la muestra de ADN de una planta M2 se cultivaron 50 plantas M2 derivadas de la misma planta M1 que la planta M2 que comprendía la mutación *FATB* y se prepararon muestras de ADN a partir de muestras de hoja de cada planta M2 individual.
- Las muestras de ADN se cribaron para la presencia de la mutación *FATB* puntual identificada como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 4.2.
- Se autofecundaron plantas M2 heterocigóticas y homocigóticas (como se ha determinado basándose en los electroferogramas) que comprendían la misma mutación y se recogieron semillas M3.

Ejemplo 6 - Análisis de la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de plantas de *Brassica* que comprenden un gen *FATB* de *Brassica* mutante

Para determinar la correlación entre la presencia de genes *FATB* mutantes en plantas de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de las plantas de *Brassica*, la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de plantas de *Brassica* que comprenden gen(es) *FATB* mutante(s) se analizó extrayendo los ácidos grasos de las semillas y analizando sus niveles relativos en el aceite de semillas por cromatografía de gases-líquidos capilar del siguiente modo:

- Se secaron y pesaron muestras de semilla. Se pusieron 0,8 g de semillas en viales de plástico. Se añadió una varilla de machacado de acero a cada vial. Entonces, este vial se llenó con 2 ml de disolución de metilación (10 g de metóxido de sodio en 500 ml de metanol) y 0,8 ml de éter de petróleo. Los viales tapados se agitaron durante 30 min en un agitador Eberbach. Se añadió un ml de agua desionizada a cada vial antes de volver a tapar y agitar. Los viales se centrifugaron durante 5 min a 3500 rpm.
- Se transfirieron 25-50 µl de la capa de éter de petróleo de cada muestra a viales de inyector automático de cromatografía de gases (CG). Se añadieron 100 µl de tampón fosfato 0,4 M y 800 µl de éter de petróleo a cada vial antes de agitarlos. Se inyectaron 0,4 a 0,6 µl de la capa de éter de petróleo de las muestras para el análisis en el cromatógrafo de gases. Se analizaron impresiones del cromatógrafo de gases y se calculó el contenido de cada ácido graso.

6.1. Correlación entre la presencia de un alelo *FATB* de *Brassica* mutante en plantas de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de aquellas plantas de *Brassica*

Para determinar la correlación entre la presencia de un alelo *FATB* mutante en estado homocigótico y/o heterocigótico en una planta de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de la planta de *Brassica* se analizó la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de las plantas de *Brassica* identificadas en el Ejemplo 5.1, como se ha descrito anteriormente.

No se observó diferencia significativa en la composición de ácidos grasos del aceite de semillas, en particular el nivel de ácidos grasos saturados totales (es decir, nivel de ácidos grasos C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 y C24:0), ácido palmítico (C16:0) y ácido esteárico (C18:0), para plantas mutantes individuales homocigóticas en comparación con la composición de ácidos grasos de aceite de semillas de plantas no mutantes (véase la Tabla 24).

Tabla 24: Nivel de ácidos grasos saturados totales (es decir, ácidos grasos C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0; 'saturados'), ácido palmítico (C16:0) y ácido esteárico (C18:0) (en porcentaje en peso basado en la cantidad total de ácidos grasos) en aceite de semillas de plantas de *Brassica* que comprenden un alelo *FATB* mutante (es decir, un alelo *FATB*-AX-FNY o *FATB*-CX-FNY como se indica en la Tabla 22, denominado 'aX-fnY' y 'cX-fnY' en la columna 2; los alelos *FATB* no mutantes se denominan 'AX' y 'CX') en estado homocigótico

Progenie de planta	Genotipo	Saturados totales	DE	C16:0	DE	C18:0	DE
No mutante	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,06	0,05	4,39	0,05	1,42	0,02
LOSA002	A1/A1, a2-fn1/a2-fn1, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	6,93	1,93	4,21	1,04	1,50	0,44
LOSA003	A1/A1, a2-fn2/a2-fn2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,04	0,22	4,23	0,18	1,61	0,16
LOSA005	A1/A1, a2-fn3/a2-fn3, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,17	0,08	4,36	0,08	1,73	0,10
LOSA004	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2-fn1/c2-fn1, C3/C3	6,97	0,27	4,04	0,38	1,82	0,20

6.2. Correlación entre la presencia de uno a cuatro alelos *FATB* de *Brassica* mutantes en plantas de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de aquellas plantas de *Brassica*

Para determinar la correlación entre la presencia de uno a cuatro alelos *FATB* mutantes en estado homocigótico y/o heterocigótico en una planta de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de la planta de *Brassica*, las plantas de *Brassica* identificadas en el Ejemplo 5.2, o progenie de las mismas que comprende los alelos *FATB* mutantes, se cruzaron entre sí y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de plantas de progenie individuales de *Brassica* se analizó como se ha descrito anteriormente.

La Tabla 25 y Figura 8 muestran que los niveles de ácidos grasos saturados totales promedio oscilan del 8,24 al 10,52 % en plantas no mutantes, del 6,53 al 12,12 % en plantas *FATB* mutantes individuales homocigóticas, del 6,47 al 10,01 % en plantas *FATB* mutantes dobles homocigóticas, del 5,68 al 8,43 % en plantas *FATB* mutantes triples homocigóticas y del 5,72 al 7,7 % en plantas *FATB* mutantes cuádruples homocigóticas. La Tabla 25 y la Figura 8 indican adicionalmente que las mutaciones en genes *FATB* específicos, tales como *FATB-A2* y *FATB-C2*, podrían tener un efecto más fuerte sobre el nivel de ácidos grasos saturados que las mutaciones en otros genes *FATB*.

Las plantas analizadas se cultivaron en el invernadero. Como los niveles de ácidos grasos saturados totales promedio en aceite de semillas de plantas no mutantes cultivadas en el campo normalmente están entre aproximadamente el 6,5 % y el 7,5 % en lugar del 8,24 al 10,52 % observado para las plantas cultivadas en invernadero, se espera que los niveles de ácidos grasos saturados totales en aceite de semillas de las plantas mutantes cultivadas en el campo sean menores. Las plantas mutantes se cultivan en el campo y se determina la composición de ácidos grasos del aceite de semillas.

Tabla 25: Nivel de ácidos grasos saturados totales (es decir, ácidos grasos C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0; 'saturados'), ácido palmítico (C16:0) y ácido esteárico (C18:0) (en porcentaje en peso basado en la cantidad total de ácidos grasos) en aceite de semillas de plantas de *Brassica* que comprende al menos un alelo *FATB* mutante (es decir, un alelo *FATB-AX-EMSY* o *FATB-CX-EMSY* como se indica en la Tabla 23, denominado 'aX-emsY' y 'cX-emsY' en la columna 1 y como 'aX' y 'cX' en la columna 2; los alelos *FATB* no mutantes se denominan 'AX' y 'CX') en estado homocigótico

Progenie de planta que comprende:	Genotipo:	Saturados totales	DE	C16:0	DE	C18:0	DE
A1/a1-ems05, A2/a2-ems05, A3/a3-ems01, C1/C1, C2/C2, C3/C3	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	8,39	0,69	5,43	0,19	1,52	0,35
	A1/A1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,98	0,37	4,83	0,19	1,64	0,13
	A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,58	0,51	4,38	0,22	1,64	0,16
	A1/A1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,00	0,32	4,17	0,14	1,43	0,16
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,71	0,25	4,88	0,44	1,40	0,13
	a1/a1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,88	0,28	4,85	0,22	1,52	0,20
	a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,47	0,39	4,21	0,30	1,66	0,30
	a1/a1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,34	0,30	3,88	0,12	1,73	0,12
A1/a1-ems05, A2/a2-ems05, A3/A3, C1/c1-ems04, C2/c2-ems03, C3/C3	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	8,97	ND	5,84	ND	1,52	ND
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3	7,85	0,35	4,77	0,53	1,76	0,41
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	7,59	0,21	4,87	0,18	1,27	0,25
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3	6,92	0,07	4,12	0,20	1,47	0,18
	A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	6,53	ND	4,05	ND	1,25	ND
	A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, a2/a2, C3/C3	6,68	0,48	4,02	0,25	1,35	0,11
	A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	7,76	ND	3,88	ND	1,92	ND
	A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3	5,68	0,30	3,40	0,10	1,09	0,06
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,67	0,44	4,79	0,33	1,52	0,11
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3	7,25	0,13	4,36	0,39	1,52	0,25
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	7,57	0,54	4,90	0,33	1,45	0,18
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3	6,24	ND	3,88	ND	1,31	ND
	a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	8,00	ND	4,51	ND	1,92	ND
	a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3	6,38	0,24	3,94	0,03	1,25	0,10
	a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	6,32	0,19	3,74	0,09	1,40	0,04
	a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3	6,09	0,67	3,62	0,20	1,21	0,30
A1/a1-ems05, A2/A2, A3/a3-ems01, C1/c1-ems04, C2/C2, C3/c3-ems02	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	8,28	0,54	4,84	0,26	1,66	0,17
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, c3/c3	8,12	0,52	4,93	0,38	1,69	0,23
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	8,03	0,75	4,62	0,12	1,77	0,30
	A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, c3/c3	7,05	ND	4,42	ND	1,38	ND
	A1/A1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,23	ND	4,41	ND	1,44	ND
	A1/A1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, c3/c3	7,74	ND	4,38	ND	1,71	ND
	A1/A1, A2/A2, a3/a3, c1/c1, C2/C2, c3/c3	8,08	ND	4,86	ND	1,72	ND
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	7,90	0,59	4,71	0,43	1,61	0,11
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, C7/C7, C2/C2, c3/c3	7,86	0,41	4,79	0,24	1,67	0,23
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3	7,20	0,36	4,35	0,04	1,35	0,06
	a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, c3/c3	7,57	0,24	4,58	0,23	1,60	0,06
	a1/a1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3	8,93	ND	5,46	ND	1,68	ND
	a1/a1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, c3/c3	7,45	0,17	4,44	0,12	1,57	0,07

Progenie de planta que comprende:	Genotipo:	Saturados totales	DE	C16:0	DE	C18:0	DE
	<i>a1/a1, A2/A2, a3/a3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	7,82	ND	4,65	ND	1,56	ND
	<i>a1/a1, A2/A2, a3/a3, c1/c1, C2/C2, c3/c3⁽¹⁾</i>	7,70	0,53	4,39	0,12	1,81	0,28
<i>A1/a1-ems06, A2/a2-ems01, A3/a3-ems01, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,46	0,67	4,74	0,11	1,85	0,29
	<i>A1/A1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	7,79	0,48	4,62	0,18	1,57	0,17
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,14	0,55	4,45	0,40	1,80	0,12
	<i>A1/A1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	7,01	0,13	4,24	0,10	1,43	0,16
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,77	0,93	4,99	0,49	2,02	0,31
	<i>a1/a1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,73	0,32	5,44	0,40	1,65	0,54
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	7,64	0,58	4,44	0,54	1,51	0,18
	<i>a1/a1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	6,82	0,40	3,93	0,16	1,41	0,11
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,51	0,91	5,49	0,73	1,46	0,16
<i>A1/a1-ems06, A2/a2-ems01, A3/A3, C1/c1-ems05, C2/c2-ems03, C3/C3</i>	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	7,74	1,72	5,05	1,22	1,28	0,06
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	7,85	0,23	4,70	0,35	1,54	0,35
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	6,47	0,77	4,13	0,59	1,14	0,07
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	6,98	0,54	4,21	0,21	1,36	0,23
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	6,83	ND	3,65	ND	1,59	ND
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	6,94	0,81	4,39	0,34	1,24	0,17
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	6,70	0,15	4,32	0,18	1,21	0,05
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	7,47	0,93	4,64	0,59	1,33	0,11
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	6,44	0,73	3,97	0,74	1,15	0,16
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	6,37	0,47	3,68	0,09	1,25	0,18
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3⁽²⁾</i>	5,72	0,34	3,24	0,04	1,22	0,20
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	9,88	1,03	6,03	1,29	1,96	0,39
	<i>A1/A1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,89	0,63	5,06	0,57	2,03	0,33
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,79	0,72	5,17	0,95	1,81	0,36
	<i>A1/A1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,70	0,72	5,04	1,17	1,81	0,43
<i>A1/a1-ems06, A2/a2-ems05, A3/A3, C1/c1-ems02, C2/c2-ems02, C3/C3</i>	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	9,34	0,41	4,93	0,67	2,31	0,30
	<i>a1/a1, A2/A2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,78	1,00	5,14	0,98	1,89	0,02
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,52	0,60	4,35	0,38	2,24	0,37
	<i>a1/a1, a2/a2, a3/a3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,24	1,06	4,59	0,61	1,87	0,46
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	10,52	ND	6,91	ND	1,83	ND
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	10,45	3,52	6,45	2,01	1,84	0,61
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	8,42	0,54	5,45	0,60	1,38	0,10
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	7,20	0,40	4,20	0,22	1,42	0,19
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,89	ND	5,50	ND	1,67	ND
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	7,32	0,47	4,26	0,21	1,47	0,11
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	7,31	1,23	4,63	1,00	1,25	0,16
	<i>A1/A1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3⁽³⁾</i>	7,57	0,96	4,42	0,53	1,47	0,22
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	12,12	ND	7,04	ND	2,23	ND
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	8,91	0,95	5,50	0,70	1,65	0,28
	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	8,59	0,81	5,41	0,77	1,50	0,20
<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/c1-ems05, C2/c2-ems02, C3/c3-ems02</i>	<i>a1/a1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	8,43	1,72	4,71	0,96	1,92	0,23
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	10,01	ND	6,32	ND	1,79	ND
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	5,72	ND	3,53	ND	1,03	ND
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	7,01	1,14	4,32	0,59	1,27	0,27
	<i>a1/a1, a2/a2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	6,47	0,54	3,55	0,42	1,39	0,15
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, C3/C3</i>	8,24	0,62	4,66	0,21	1,66	0,29
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, C2/C2, c3/c3</i>	7,59	0,95	4,47	0,27	1,64	0,43
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c2, C3/C3</i>	7,46	0,42	4,06	0,01	1,48	0,20
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, C1/C1, c2/c1, c3/c3</i>	7,91	0,30	4,12	0,11	2,06	0,12
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, C3/C3</i>	7,31	0,49	4,14	0,05	1,48	0,15
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, C2/C2, c3/c3</i>	7,76	0,33	4,55	0,15	1,67	0,16
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, C3/C3</i>	6,81	0,23	3,73	0,01	1,39	0,13
	<i>A1/A1, A2/A2, A3/A3, c1/c1, c2/c2, c3/c3</i>	6,66	0,48	3,84	0,16	1,44	0,21

⁽¹⁾ Las semillas que comprenden FATB-A1-EMS05, FATB-A3-EMS01, FATB-C1-EMS04 y FATB-C3-EMS02 (designadas 08MBBN000584) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, UK) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41568.

5 ⁽²⁾ Las semillas que comprenden FATB-A1-EMS06, FATB-A2-EMS01, FATB-C1-EMS05 y FATB-C2-EMS03 (designadas 08MBBN000572) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, UK) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41567.

10 ⁽³⁾ Las semillas que comprenden FATB-A2-EMS05, FATB-C1-EMS05 y FATB-C2-EMS02 (designadas 08MBBN000553) se han depositado en NCIMB Limited (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, AB21 9YA, UK) el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41566.

6.3. Correlación entre la presencia de cinco a seis alelos *FATB* de *Brassica* mutantes en estado homocigótico y/o heterocigótico en plantas de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de aquellas plantas de *Brassica*

15

Para determinar la correlación entre la presencia de cinco a seis genes *FATB* mutantes en estado homocigótico y/o heterocigótico en una planta de *Brassica* y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de la planta de *Brassica*, las plantas de *Brassica* identificadas en el Ejemplo 5.2, o progenie de las mismas que comprende los alelos *FATB* mutantes, se cruzan entre sí y la composición de ácidos grasos del aceite de semillas de la progenie plantas de *Brassica* se analiza como se ha descrito anteriormente.

Ejemplo 7 - Transferencia de genes *FATB* mutantes en líneas de *Brassica* (élite)

Los genes *FATB* mutantes se transfieren en líneas de cultivo de *Brassica* (élite) por el siguiente método:

Una planta que contiene un gen *FATB* mutante (planta donante) se cruza con una línea de *Brassica* (élite) (parental élite / parental recurrente) o variedad que carece del gen *FATB* mutante. Se usa el siguiente esquema de introgresión (el gen *FATB* mutante se abrevia *fatB*, mientras que el no mutante se representa *FATB*):

Cruce inicial: *fatB* / *fatB* (planta donante) X *FATB* / *FATB* (parental élite)

Planta F1: *FATB/fatB*

Cruce de BC1: *FATB/fatB* X *FATB* / *FATB* (parental recurrente)

Plantas BC1: 50 % de *FATB/fatB* y 50 % de *FATB* / *FATB*

El 50 % de *FATB/fatB* se selecciona usando, por ejemplo, marcadores de AFLP o PCR para el alelo *FATB* mutante (*fatB*).

Cruce de BC2: *FATB/fatB* (BC1 planta) X *FATB* / *FATB* (parental recurrente)

Plantas BC2: 50 % de *FATB/fatB* y 50 % de *FATB* / *FATB*

El 50 % de *FATB/fatB* se selecciona usando, por ejemplo, marcadores de AFLP o PCR para el alelo *FATB* mutante (*fatB*).

El retrocruce se repite hasta que BC3 a BC6

Plantas BC6: 50 % de *FATB/fatB* y 50 % de *FATB* / *FATB*

El 50 % de *FATB/fatB* se selecciona usando, por ejemplo, marcadores de AFLP o PCR para el alelo *FATB* mutante (*fatB*).

Cruce de BC6 S1: *FATB/fatB* X *FATB/fatB*

Plantas BC6 S1: 25 % de *FATB* / *FATB* y 50 % de *FATB/fatB* y 25 % de *fatB/fatB*

Se seleccionan plantas que contienen *fatB* usando, por ejemplo, marcadores de AFLP o PCR para el alelo *FATB* mutante (*fatB*).

Se seleccionan plantas BC6 S1 individuales que son homocigóticas para el alelo *FATB* mutante (*fatB/fatB*) usando, por ejemplo, marcadores de AFLP o PCR para el alelo mutante y no mutante.

Estas plantas se usan entonces para la producción de semillas.

Para seleccionar plantas que comprenden una delección de un alelo *FATB*, pueden usarse ensayos de hibridación o ensayos de PCR tales como aquellos descritos en el Ejemplo 4.1.

Para seleccionar plantas que comprenden una mutación puntual en un alelo *FATB*, puede usarse secuenciación directa por técnicas de secuenciación estándar conocidas en la técnica, tales como aquellas descritos en el Ejemplo 4.2. Alternativamente, pueden desarrollarse ensayos de PCR para discriminar plantas que comprenden una mutación puntual específica en un alelo *FATB* de plantas que no comprende esa mutación puntual específica. Así se desarrollaron los siguientes ensayos de PCR de discriminación para detectar la presencia o ausencia y el estado de cigosidad de alelos mutantes identificados en el Ejemplo 4.2. (véase la Tabla 23):

- Molde de ADN:

- ADN genómico aislado de material de hoja de plantas de *Brassica* mutantes homocigóticas o heterocigóticas (que comprende un alelo *FATB* mutante, llamado en lo sucesivo "FATB-Xx-EMSXX").
- Control de ADN no mutante: ADN genómico aislado de material de hoja de plantas de *Brassica* no mutantes (que comprende el equivalente no mutante del alelo *FATB* mutante, llamado en lo sucesivo "FATB-Xx-WT").
- Control de ADN positivo: ADN genómico aislado de material de hoja de plantas de *Brassica* mutantes homocigóticas conocido por comprender FATB-Xx-EMSXX.

- Cebadores y longitud del fragmento amplificado del mutante y gen *FATB* diana no mutante correspondiente se indican en la Tabla 26. Cada conjunto de cebadores consiste en un cebador específico para el mutante y el gen diana no mutante (por ejemplo, el cebador LOSA104R5 es específico para FATB-A1-EMS06 y FATB-A1-WT) y un cebador específico para la diferencia de nucleótidos (por ejemplo, el cebador LOSA105MF1 es específico para FATB-A1-EMS06 y el cebador LOSA105WF1 es específico para FATB-A1-WT). Normalmente, el último nucleótido del último cebador coincide con la diferencia de nucleótidos (nucleótido

subrayado en la Tabla 26), pero pueden añadirse uno (o más) nucleótidos específicos de diana adicionales para mejorar la hibridación entre el cebador y su secuencia diana (véase, por ejemplo, nucleótido en negrita en el cebador LOSA112MR2, que es específico para el alelo FATB-A2-EMS05, en comparación con el cebador LOSA112WR2, que es específico para el alelo FATB-A2-WT).

- 5 - Mezcla de PCR: 2,5 µl de 10x tampón de PCR (MgCl₂ 15 mM), 0,25 µl de dNTP (20 mM), 1 µl de cebador directo (10 µM), 1 µl de cebador inverso (10 µM), 0,25 µl de Taq-polimerasa (5 U/µl), 19,5 µl de H₂O Milli-Q, 0,5 µl de ADN (20-50 ng/µl) = Volumen total de 25 µl;
- 10 - Perfil de termociclado: 4 min a 95 °C; 30x [1 min a 95 °C (desnaturalización) y 1 min a temperatura de hibridación especificada en la Tabla 26 y 2 min a 72 °C (extensión)]; 5 min a 72 °C; enfriamiento a 4 °C. La temperatura de hibridación óptima se determinó por PCR de gradiente de temperatura en la que la temperatura de hibridación se varió entre 57 °C y 70 °C en un ciclador térmico MJ Research PTC-200 (Biozym). La temperatura de hibridación óptima para los cebadores específicos de *FATB* no mutantes es aquella temperatura a la que un fragmento de PCR claro del tamaño detectado puede detectarse (como se describe más adelante) para la muestra de ADN de la planta de *Brassica* no mutante y no para la muestra de ADN de la planta de *Brassica* mutante. La temperatura de hibridación óptima para los cebadores específicos de *FATB* mutantes es aquella temperatura a la que puede detectarse un fragmento de PCR claro del tamaño esperado (como se describe más adelante) para la muestra de ADN de la planta de *Brassica* mutante y no para la muestra de ADN de la planta de *Brassica* no mutante.
- 15 - Después de la amplificación, se añadieron 5 µl de colorante de carga (colorante naranja) a 15 µl de las muestras de PCR y las muestras se cargaron sobre un 1,5 % de gel de agarosa.
- 20 - Los patrones de bandas obtenidos después de la amplificación de ADN genómico de plantas de *Brassica* mutantes se evalúan del siguiente modo:
- 25 - No debe aceptarse datos de muestras de ADN aislado de material de hoja de plantas de *Brassica* mutantes dentro de una única ejecución de PCR y una mezcla de PCR individual a menos que:
- 30 - el control de ADN no mutante muestre el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-WT* y no el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-EMSXX*
- 35 - el control de ADN positivo muestra el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-EMSXX* y no el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-WT*
- 40 - Carriles que no muestran producto de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-WT* y el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-EMSXX* indican que la planta correspondiente a partir de la que se preparó el molde de ADN genómico es un mutante homocigótico para *FATB-Xx-EMSXX*.
- 45 - Carriles que muestran el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-WT* y el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-EMSXX* indican que la planta correspondiente a partir de la cual se preparó el molde de ADN genómico es un mutante heterocigótico para *FATB-Xx-EMSXX*.
- Carriles que muestran el fragmento de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-WT* y no producto de PCR del tamaño esperado para el ensayo de PCR específico de *FATB-Xx-EMSXX* indican que la planta correspondiente a partir de la cual se preparó el molde de ADN genómico es un planta no mutante.

Tabla 26:

Alelo nº	Cebadores	Tª de hibridación (°C)	Tamaño del fragmento de PCR (pb)
FATB-A1-EMS05	5' GGCGGCTGAGAAGCAGTGAATA3' (LOSA104MF1 - SEC ID Nº: 50) 5' GGAAGTGAAGCACACTGTCC 3' (LOSA104R3 - SEC ID Nº: 52)	57	1087
FATB-A1-WT	5' GGCGGCTGAGAAGCAGTGGATG3' (LOSA104WF1 - SEC ID Nº: 51) 5' GGAAGTGAAGCACACTGTCC 3' (LOSA104R3 - SEC ID Nº: 52)	71,8	1087
FATB-A1-EMS06	5' CAGTGGATGATGCTTGACTGA3' (LOSA105MF1 - SEC ID Nº: 53) 5' GCATACGAGTAACAACCCAA 3' (LOSA104R5 - SEC ID Nº: 55)	67	365
FATB-A1-WT	5' CAGTGGATGATGCTTGACTGG3' (LOSA105WF1 - SEC ID Nº: 54) 5' GCATACGAGTAACAACCCAA 3'	68,9	365

ES 2 545 083 T3

Alelo nº	Cebadores	Tª de hibridación (°C)	Tamaño del fragmento de PCR (pb)
	(LOSA104R5 - SEC ID Nº: 55)		
FATB-A2-EMS01	5' GAGTTGGGTCCACTAATTTTG 3' (LOSA108F1 - SEC ID Nº: 58/59) 5' CGGAACACAAGACCATCCTA3' (LOSA108MR1' - SEC ID Nº: 60)	67	346
FATB-A2-WT	5' GAGTTGGGTCCACTAATTTTG 3' (LOSA108F1 - SEC ID Nº: 58/59) 5' CGGAACACAAGACCATCCTG3' (LOSA108WR1' - SEC ID Nº: 61)	67	346
FATB-A2-EMS05	5' GAGTTGGGTCCACTAATTTTG 3' (LOSA108F1 - SEC ID Nº: 58/59) 5' AGCAGCAAGCAGCATACTTC 3' (LOSA112MR2 - SEC ID Nº: 56)	67	222
FATB-A2-WT	5' GAGTTGGGTCCACTAATTTTG 3' (LOSA108F1 - SEC ID Nº: 58/59) 5'TAGCAGCAAGCAGCATACTC 3' (LOSA112WR1 - SEC ID Nº: 57)	67	222
FATB-A3-EMS01	5' CAATGGCAAACCAACAAAGC 3' (LOSA114F1 - SEC ID Nº: 64) 5' TATTTATCAACTACAACCTA 3' (LOSA114MR1 - SEC ID Nº: 62)	60	805
FATB-A3-WT	5' CAATGGCAAACCAACAAAGC 3' (LOSA114F1 - SEC ID Nº: 64) 5' TATTTATCAACTACAACCTG 3' (LOSA114WR1 - SEC ID Nº: 63)	63	805
FATB-C1-EMS04	5' CGGTTATGAATCATTTACAA 3' (LOSA128MF1 - SEC ID Nº: 68) 5' GTTCTTCCTCTCACCACCTTCG 3' (LOSA116R1 - SEC ID Nº: 38/67)	62,1	1045
FATB-C1-WT	5' CGGTTATGAATCATTTACAG 3' (LOSA128WF1 - SEC ID Nº: 69) 5' GTTCTTCCTCTCACCACCTTCG 3' (LOSA116R1 - SEC ID Nº: 38/67)	57-70	1045
FATB-C1-EMS05	5' GTTAAGAAGAACTTGATATGA3' (LOSA129MF1 - SEC ID Nº: 65) 5' GTTCTTCCTCTCACCACCTTCG 3' (LOSA116R1 - SEC ID Nº: 67)	60	876
FATB-C1-WT	5' GTTAAGAAGAACTTGATATGG3' (LOSA129WF1 - SEC ID Nº: 66) 5' GTTCTTCCTCTCACCACCTTCG 3' (LOSA116R1 - SEC ID Nº: 67)	64,7	876
FATB-C2-EMS02	5' GTCTGACAACGAGACTTCGT3' (LOSA119MF1 - SEC ID Nº: 70) 5' CAGTATTGCAATCCCGAACC 3' (LOSAC2R3 - SEC ID Nº: 72)	69,7	818
FATB-C2-WT	5' GTCTGACAACGAGACTTCGC3' (LOSA119WF1 - SEC ID Nº: 71) 5' CAGTATTGCAATCCCGAACC 3' (LOSAC2R3 - SEC ID Nº: 72)	57-70	818
FATB-C2-EMS03	5' TGGCGGCTGAGAAACAGTGA3' (LOSA120MF1 - SEC ID Nº: 73) 5' AGGGTACTTACAGTGAGACCC 3' (LOSAC2R1 - SEC ID Nº: 75)	70	1056
FATB-C2-WT	5' TGGCGGCTGAGAAACAGTGG3' (LOSA120WF1 - SEC ID Nº: 74) 5' AGGGTACTTACAGTGAGACCC 3' (LOSAC2R1 - SEC ID Nº: 75)	71,1	1056
FATB-C3-EMS02	5' CAGTCATGAACCACTTACAGA3' (LOSA125MF2 - SEC ID Nº: 76) 5' CAACCTGCATACGAGTAACG 3' (LOSA124R2 - SEC ID Nº: 78)	67	555
FATB-C3-WT	5' CAGTCATGAACCACTTACAGG3' (LOSA125WF2 - SEC ID Nº: 77)	69,7	555

Alelo nº	Cebadores	Tª de hibridación (°C)	Tamaño del fragmento de PCR (pb)
	5' CAACCTGCATACGAGTAACG 3' (LOSA124R2 - SEC ID N°: 78)		

* ho=homocigótico, he=heterocigótico

Alternativamente, puede usarse tecnología Invader™ (Third Wave Agbio) para discriminar plantas que comprenden una mutación puntual específica en un alelo *FATB* de plantas que no comprende esa mutación puntual específica.

5 Las siguientes sondas Invader™ discriminadoras pueden así desarrollarse para detectar la presencia o ausencia y el estado de cigosidad de los alelos mutantes identificados en el Ejemplo 4 (véase la Tabla 23a y b):

- Se desarrollan sondas específicas para el mutante (que puede discriminarse uniéndose a una secuencia 'flap1') o gen *FATB* diana no mutante correspondiente (que puede discriminarse uniéndose a una secuencia 'flap2') e "invadiendo" sondas que pueden usarse en combinación con ellas. Generalmente, cada conjunto de sonda consiste en una sonda específica para el gen diana mutante o no mutante del cual el primer nucleótido después de la secuencia flap de 5' coincide con la diferencia de nucleótidos (nucleótido subrayado en la Tabla 27) (la llamada "sonda primaria"; por ejemplo, la sonda con SEC ID N°: 82 es específica para FATB-A1-EMS05) y una sonda específica para los nucleótidos en la dirección 5' de la diferencia de nucleótidos (la llamada "invader® oligo"; por ejemplo, la sonda con SEC ID N°: 81 es específica para los nucleótidos en la dirección 5' de la diferencia de nucleótidos entre FATB-A1-EMS05 y FATB-A1-WT). El último nucleótido del último cebador puede coincidir con la diferencia de nucleótidos en el mutante, pero también pueden usarse otros nucleótidos para este último nucleótido (como se indica por los nucleótidos en negrita en la Tabla 27) en tanto que la sonda primaria e invader® oligo sean todavía capaces de formar un solapamiento de una única base cuando se hibrida con el ADN diana para generar la estructura invasiva específica reconocida por las enzimas Cleavase® (Third Wave Agbio). El procedimiento de ensayo Invader™ y la interpretación de los datos se realizan como se ha prescrito por el fabricante (Third Wave Agbio). Brevemente, las secuencias de nucleótidos indicadas como "flap1" y "flap2" representan las secuencias de las "flaps" de 5' que se escinden de las sondas primarias en la fase primaria del ensayo Invader™ y que son complementarias a las secuencias en el casete FRET™ 1 y 2, respectivamente, y no complementarias a las secuencias mutantes o no mutantes diana. Si las sondas primarias se escinden en la fase primaria y la sonda de flap1 y/o la sonda de flap2 se hibridan con el casete FRET™ 1 y 2, respectivamente, en la fase secundaria, se genera una señal indicativa de la presencia en la muestra del gen *FATB* mutante o diana no mutante correspondiente, respectivamente.
- Alternativamente, sondas específicas para el gen *FATB* diana mutante (indicadas como "5' flap1-x" en la Tabla 27) se usan en combinación con sondas específicas para un gen de control interno (indicado como "5' flap2-x" en la Tabla 27: el gen de control se indica como ENDO1). Si las sondas primarias se escinden en la fase primaria y la sonda flap1 y/o sonda flap2 se hibridan con el casete FRET™ 1 y 2, respectivamente, en la fase secundaria, se genera una señal indicativa de la presencia en la muestra del gen *FATB* diana mutante y el gen de control endógeno, respectivamente. Basándose en la cantidad de señal generada a partir del casete FRET™ 1 con respecto a la cantidad de señal generada a partir del casete FRET™ 2, puede determinarse el estado de cigosidad del alelo *FATB* mutante (los alelos *FATB* homocigóticos generan aproximadamente dos veces más señal que los alelos *FATB* heterocigóticos).

Tabla 27

Alelo nº	Sondas	
FATB-A1-EMS05	5' GCGCCTCGGTTTCCAGTCAAGCATCATC 3' 5' flap1-TCAGTCTCTCAGCC 3'	(SEC ID N°: 81) (SEC ID N°: 82)
FATB-A1-EMS06	5'GATCCATAATCACGTGAGCGCCTCGGTTTC3' 5' flap1-TCAGTCAAGCATCATCC 3'	(SEC ID N°: 83) (SEC ID N°: 84)
FATB-A2-EMS01	5'CCTAATGGAAAAATTCTGACGGAACACAAGAC CATCCTT 3' 5' flap1-AAACAATTCTCCCTAAACCA 3'	(SEC ID N°: 85) (SEC ID N°: 86)
FATB-A2-EMS05	5'TGCCAAGAAAATGGTAGTTATAGCAGCAAGCA GCATACTC 3' 5' flap1-TCAGTCAGGCAGCT 3'	(SEC ID N°: 87) (SEC ID N°: 88)
FATB-A3-EMS01	5'AAGAGAGCTTACCAAGTAGGATATTTATCAACT ACAACCTT 3' 5' flap1-ACATACGAGTAACAACCC 3'	(SEC ID N°: 89) (SEC ID N°: 90)
FATB-C1-EMS04	5'CCAGTAACAACAAGCGACTACAATCATAATCA TAATCAGTACC 3' 5' flap1-TTGTAATGATTTCATAACCGTTT 3'	(SEC ID N°: 91) (SEC ID N°: 92)
FATB-C1-EMS05	5'TAGGATATTTATCAACGACAACCTGCATACGAG TAACAACC 3'	(SEC ID N°: 93)

	5' flap1-TCATATCAAGTTCTTCTTAACCA 3'	(SEC ID N°: 94)
FATB-C2-EMS02	5'CCTGGTTCTGTAGAGATATCAAAGTCTGACAAC	(SEC ID N°: 95)
	GAGACTTCGC 3'	
	5' flap1-TAGCCCGCACCC 3'	(SEC ID N°: 96)
FATB-C2-EMS03	5' AGAACGCCTGGGTTTCCAGTCAAGCATCATC 3'	(SEC ID N°: 97)
	5' flap1-TCACTGTTTCTCAGCC 3'	(SEC ID N°: 98)
FATB-C3-EMS02	5'CGCTCTGCGTCTATAGAAACAGTCATGAACCAC	(SEC ID N°: 99)
	TTACAGT 3'	
	5' flap1-ATATATTACAATCACACTCGATTG 3'	(SEC ID N°: 100)
ENDO1	5' TGAGGAGCGTGGTGGTCCACACCTT 3'	(SEC ID N°: 101)
	5' flap2- CGATGCGACCAGC 3'	(SEC ID N°: 102)

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Bayer BioScience N.V. Laga, Benjamin den Boer, Bart Lambert, Bart
- <120> Planta de *Brassica* que comprende alelos mutantes de acil graso-ACP tioesterasa
- <130> BCS 07-2011
- 10 <160> 102
- <170> PatentIn versión 3.3
- 15 <210> 1
<211> 1563
<212> ADN
<213> FATB-AI de Brassica naupus WOSR
- 20 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(504)
- 25 <220>
<221> mat_peptide
<222> (1)..(1560)
<223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 91
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (490)..(492)
<223> Met conservada
- 35 <220>
<221> CDS
<222> (590)..(723)
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (611)..(613)
<223> Lys conservada
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (683)..(685)
<223> val conservada
- 50 <220>
<221> CDS
<222> (798)..(911)
- <220>
<221> misc_feature
<222> (850)..(852)
<223> Met conservada

	<220>
	<221> CDS
5	<222> (981)..(1152)
	<220>
	<221> misc_feature
10	<222> (1018)..(1020)
	<223> ser conservada
	<220>
	<221> CDS
15	<222> (1243)..(1560)
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1249)..(1251)
	<223> Trp conservado
20	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1267)..(1269)
	<223> Asn conservada
25	<220>
	<221> nrisc_feature
	<222> (1273)..(1275)
	<223> His conservada
30	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1378)..(1380)
	<223> cys conservada
35	<400> 1

atg gtg gcc acc tca gct aca tcc tca ttc ttc cct ctc cca tct ttc Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Phe 1 5 10 15	48
ccc ctc gac ccc acc gca aaa acc aac aaa gtc acc acc tcc acc aac Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn 20 25 30	96
ttc tcc ggc ctc tcc ccc act cca aac tcc tcc ggc agg atg aag gtt Phe Ser Gly Leu Ser Pro Thr Pro Asn Ser Ser Gly Arg Met Lys Val 35 40 45	144
aaa cca aac gct cag gcc cca ccc aag atc aac ggc aag aga gtc ggt Lys Pro Asn Ala Gln Ala Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly 50 55 60	192
ctc cct tct ggc tcg gtg aag cct gat aac gag acg tcc tca cag cat Leu Pro Ser Gly Ser Val Lys Pro Asp Asn Glu Thr Ser Ser Gln His 65 70 75 80	240
ccc gca gca ccg agg acg ttc atc aac cag ctg cct gac tgg agc atg Pro Ala Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met 85 90 95	288
ctt ctt gct gca ata aca acc gtc ttc ttg gcg gct gag aag cag tgg Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp 100 105 110	336
atg atg ctt gac tgg aaa ccg agg cgc tct gac gtg att atg gat ccg Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro 115 120 125	384
ttt ggg tta ggg agg atc gtt cag gat ggg ctt gtg ttc cgt cag aat Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn 130 135 140	432
ttc tct att cgg tct tat gag ata ggt gct gat cgc tct gcg tct ata Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile 145 150 155 160	480
gaa acg gtt atg aat cat tta cag gtactgatta tgattatgat tatgattgta Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 165	534
gttgcttggtt gttactggac aaagttaata tgtattgctg ttatggttat gatag gaa	592

acg gca ctc aac cat gtt aag act gct gga ctg ctt gga gat ggg ttt	640
Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe	
170 175 180 185	
ggt tct act cct gag atg gtt aag aag aac ttg att tgg gtt gtt act	688
Gly Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr	
190 195 200	
cgt atg cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagctatt	733
Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp	
205 210	
ctcaagcaac cctgagaatc actgcttcct ttgtcatttg cttattcaaa tatctgtctc	793
acag g gga gat gtt gtg gaa gta gat aca tgg gtg agc cag tct gga	840
Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly	
215 220 225	
aag aac ggt atg cgt cgt gat tgg cta gtt cga gat ggc aat act gga	888
Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr Gly	
230 235 240	
gaa att tta aca aga gca tca ag gtttagatttt tatttatcgg ttaggtatct	941
Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser	
245 250	
gaaaatttga gttactaatg caaaatatatta tttttgcag t gtg tgg gtg atg atg	996
Val Trp Val Met Met	
255	
aat aaa ctg aca aga aga tta tca aag att cct gaa gag gtt cga ggg	1044
Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly	
260 265 270	
gag ata gag cct tac ttt gtt aat tca gac cca gtc ctt gct gag gac	1092
Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Leu Ala Glu Asp	
275 280 285	
agc aga aag tta act aaa ctt gat gac aag act gct gac tat gtt cgt	1140
Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg	
290 295 300	
tct ggt ctc act gtaagtatgc atactttctc tatgtttcat caaagcctgt	1192
Ser Gly Leu Thr	
305	
aaacttctga gattcttaca gtttttattt ggtaatttaa acttttgcag ccg cgt	1248
Pro Arg	
310	
tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cac gtt aac aat gtg aag tac atc	1296
Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile	
315 320 325	
ggg tgg ata ctg gag agt gca cct gtg ggg atg atg gag agt cag aag	1344
Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met Met Glu Ser Gln Lys	
330 335 340	
ctg aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg gag tgc ggg agg gac agt	1392
Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser	
345 350 355	
gtg ctt cag tcc ctc acc gcg gtt tcc ggc tgc gat gtt ggt agt ctt	1440
Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Val Gly Ser Leu	
360 365 370	

ggg aca gct ggt gaa gtg gaa tgt cag cac ctg ctc cgt ctc cag gat 1488
 Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg Leu Gln Asp 390
 375 380 385
 gga gct gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg agt tcc aaa aca tca 1536
 Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser Lys Thr Ser 405
 395 400
 aca aca act tgg gac att aca ccg tga 1563
 Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro 410

<210> 2
 <211> 414
 <212> PRT
 <213> FATB-AI de Brassica naupus WOSR

<400> 2

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

195	200	205
Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser	210	215
Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly	225	230
Asn Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met Met	245	250
Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly	260	265
Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Leu Ala Glu Asp	275	280
Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg	290	295
Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val	305	310
Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly	325	330
Met Met Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg	340	345
Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly	355	360
Cys Asp Val Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His	370	375
Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu	385	390
Trp Ser Ser Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro	405	410

<210> 3
 <211> 1659
 <212> ADN
 <213> FATB-A2 de Brassica naupus WOSR

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. C504)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1656)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 91

<220>

	<221> misc_feature
	<222> (490)..(492)
	<223> Met conservada
5	<220>
	<221> CDS
	<222> (584)..(717)
10	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (605)..(607)
	<223> Lys conservada
15	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (677)..(679)
	<223> val conservada
20	<220>
	<221> CDS
	<222> (812)..(925)
25	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (864)..(866)
	<223> Met conservada
30	<220>
	<221> CDS
	<222> (1059)..(1230)
35	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1096)..(1098)
	<223> ser conservada
40	<220>
	<221> CDS
	<222> (1309)..(1656)
45	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1315)..(1317)
	<223> Trp conservado
50	<220>
	<221> niisc_feature
	<222> (1333)..(1335)
	<223> Asn conservada
55	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1339)..(1341)
	<223> His conservada
60	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1444)..(1446)
	<223> cys conservada
	<400> 3

atg	gtg	gct	act	tgc	gct	acg	tcg	tcg	ttt	ttt	cat	ggt	cca	tct	tct	48
Met	Val	Ala	Thr	Cys	Ala	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	His	Val	Pro	Ser	Ser	
1				5					10					15		
tcc	tcg	ctt	gat	acg	aat	ggg	aag	ggg	aac	aga	ggt	ggg	tcc	act	aat	96
Ser	Ser	Leu	Asp	Thr	Asn	Gly	Lys	Gly	Asn	Arg	Val	Gly	Ser	Thr	Asn	

20	25	30	
ttt gct gga ctt aac tca acg cca agc tct ggg agg atg aag gtt aag Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys 35 40 45			144
cca aac gct cag gct cca ccc aag atc aac ggg aag aaa gct aac ttg Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Ala Asn Leu 50 55 60			192
cct ggc tct gta gag ata tca aag gct gac aac gag act tcg cag ccc Pro Gly Ser Val Glu Ile Ser Lys Ala Asp Asn Glu Thr Ser Gln Pro 65 70 75 80			240
gca cac gca ccg agg acg ttt atc aac cag ctg cct gac tgg agt atg Ala His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met 85 90 95			288
ctg ctt gct gct ata act acc att ttc ttg gca gcg gag aaa cag tgg Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp 100 105 110			336
atg atg ctt gac tgg aaa ccg agg cgt tct gat atg att atg gat cct Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp Pro 115 120 125			384
ttt ggt tta ggg aga att gtt cag gat ggt ctt gtg ttc cgt cag aat Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn 130 135 140			432
ttt tcc att agg tct tat gaa ata ggt gct gat cgc tct gcg tct ata Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile 145 150 155 160			480
gaa act gtc atg aat cat tta cag gtactgcttt gattgtgggt acactcacat Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 165			534
gttggtcccaa tagatatatg ctcatgacaa gctcttatgc taatgacag gaa acg gcg Glu Thr Ala 170			592
ctt aat cat gtg aag tct gcc gga ctg ctg gaa aat ggg ttt ggg tcc Leu Asn His Val Lys Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser 175 180 185			640
act cct gag atg ttt aag aag aat ttg ata tgg gtc gtt gct cgt atg Thr Pro Glu Met Phe Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met 190 195 200			688
cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagccatt gttagtctta Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 205 210			737
gcacttgact taaaatcatt ttgcatatta cagtgtgcgt agatcatttg cttattcaaa 215 220 225			797
tatctgactc acag g gga gat gtt gtg gaa gtg gat act tgg gtt agt cag Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln 215 220 225			848
tct gga aag aat ggt atg cgt cgt gat tgg cta gtt cgg gat tgc aat Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys Asn 230 235 240			896
act gga gaa att gta acg cga gca tca ag gtcagagttc ttatatatttg Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser 245 250			945
gtttactcca gctattatcg ttttgctctc tgtttgatt gtttcctctg ccattagttt 250			1005

gataattgag tctttatagt tgtatatgta tggcaatttt cttctttttg cag t ttg 1062
Leu

tgg gtg atg atg aat aaa ctc aca agg aga ttg tca aag att cct gaa 1110
Trp Val Met Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu
255 260 265

gag gtt cga ggg gaa ata gag cct tat ttt gtg aac tct gat cct gtc 1158
Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val
270 275 280

att gcc gaa gac agc aga aag tta aca aaa ctt gat gac aag act gct 1206
Ile Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala
285 290 295 300

gac tat gtt cgt tct ggt ctc act gtaagtacct tacctttcga caagcctgtc 1260
Asp Tyr Val Arg Gly Leu Thr
305

aaaactcttg aggttctaatt gggtttggttaa tgaacttttt tttggcag ccg agg tgg 1317
Pro Arg Trp
310

agt gac ttg gat gtt aac cag cat gtt aac aat gta aag tac att ggg 1365
Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly
315 320 325

tgg ata ctg gag agt gct cca gca ggg atg ctg gag agt cag aag ctg 1413
Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu
330 335 340

aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg gag tgc ggg aga gac agt gtc 1461
Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val
345 350 355

ctt cag tct ctc acc gca gtc tct gga tgt gat gtc ggt aac ctc ggg 1509
Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly
360 365 370 375

aca gcc ggg gaa gtg gag tgt cag cat ttg ctt cga ctc cag gat gga 1557
Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly
380 385 390

gct gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg agc tcc cag aca gga gca 1605
Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser Gln Thr Gly Ala
395 400 405

aca act tgg gga cac tac tac atc gta aac att ggt cct ttg gtt cct 1653
Thr Thr Trp Gly His Tyr Tyr Ile Val Asn Ile Gly Pro Leu Val Pro
410 415 420

ttg taa 1659
Leu

<210> 4

<211> 424

<212> PRT

<213> FATB-A2 de Brassica naupus WOSR

<400> 4

Met Val Ala Thr Cys Ala Thr Ser Ser Phe Phe His Val Pro Ser Ser
1 5 10 15

Ser Ser Leu Asp Thr Asn Gly Lys Gly Asn Arg Val Gly Ser Thr Asn
20 25 30

Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys
35 40 45

Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Ala Asn Leu
50 55 60

Pro Gly Ser Val Glu Ile Ser Lys Ala Asp Asn Glu Thr Ser Gln Pro
65 70 75 80

Ala His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met
85 90 95

Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp
100 105 110

Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp Pro
115 120 125

Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn
130 135 140

Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile
145 150 155 160

Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys
165 170 175

Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe
180 185 190

Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met Gln Val Val Val Asp
195 200 205

Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser
210 215 220

Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys
225 230 235 240

Asn Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser Leu Trp Val Met Met
245 250 255

Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly
260 265 270

Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp
275 280 285

Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg

290 295 300
 Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val
 305 310 315 320
 Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly
 325 330 335
 Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg
 340 345 350
 Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly
 355 360 365
 Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His
 370 375 380
 Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu
 385 390 395 400
 Trp Ser Ser Gln Thr Gly Ala Thr Thr Trp Gly His Tyr Tyr Ile Val
 405 410 415
 Asn Ile Gly Pro Leu Val Pro Leu
 420

5 <210> 5
 <211> 1733
 <212> ADN
 <213> FATB-A3 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR
 10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(507)
 15 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1730)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 92
 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (493)..(495)
 <223> Met conservada
 25 <220>
 <221> CDS
 <222> (740)..(873)
 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (761)..(763)
 <223> Lys conservada
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (833)..(835)
 <223> val conservada

	<220>
	<221> CDS
	<222> (947)..(1060)
5	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (999)..(1001)
	<223> Met conservada
10	<220>
	<221> CDS
	<222> (1141)..(1312)
15	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1178)..(1180)
	<223> ser conservada
20	<220>
	<221> CDS
	<222> (1413)..(1730)
25	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1419)..(1421)
	<223> Trp conservado
30	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1437)..(1439)
	<223> Asn conservada
35	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1443)..(1445)
	<223> His conservada
40	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1548)..(1550)
	<223> cys conservada
	<400> 5

atg gtg gcc acc tct gct aca tcc tca ttc ttc cct ctc cca tct tcc Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser 1 5 10 15	48
tct ctc gac ccc aat ggc aaa acc aac aaa ctc acc tcc acc aac ttc Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Asn Lys Leu Thr Ser Thr Asn Phe 20 25 30	96
tcc gga ctc aac ccc aca cca aac tct tcc ggc agg tta aag gtc aaa Ser Gly Leu Asn Pro Thr Pro Asn Ser Ser Gly Arg Leu Lys Val Lys 35 40 45	144
cca aac gcc caa gct cca tcc aag atc aac ggc aag aaa gtc tct ctg Pro Asn Ala Gln Ala Pro Ser Lys Ile Asn Gly Lys Lys Val Ser Leu 50 55 60	192
cca ggc tca gta cac atc gta aag act gat aat aac cac gat ctc tcg Pro Gly Ser Val His Ile Val Lys Thr Asp Asn Asn His Asp Leu Ser 65 70 75 80	240
caa caa cac gca ccc aga acg ttc atc aac cag ctg cct gac tgg agc Gln Gln His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser 85 90 95	288
atg ctt ctc gcc gcc atc aca acg gtc ttc tta gca gct gag aag cag Met Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln	336

100	105	110	
tgg atg atg ctt gat act aaa ccg aga cgc tcc gac atg att atg gat Trp Met Met Leu Asp Thr Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp 115 120 125			384
ccg ttt ggg tta ggg aga atc gtt cag gat ggg ctt gtg tac cgt cag Pro Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Tyr Arg Gln 130 135 140			432
aat ttc gat atc agg tct tat gaa ata ggt gct gat cgc tct gca tct Asn Phe Asp Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser 145 150 155 160			480
ata gaa act gtc atg aat cac tta cag gtatatattaca atcacactcg Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 165			527
tttgatacta tagcttgacc cgcactgatg ttggtttttta tattttttata aattatttag			587
tgacatatag atataggtta ttttagatatt tctagggttcc tacgaacctta cccggactca			647
aaccctgtcc gtaaaattga gtttaatttt aaaccataaa aatccgatac ccgaaaaaac			707
cgatctgtat ctaactcttg tcctcatgac ag gaa acg gca ctc aac cat gtg Glu Thr Ala Leu Asn His Val 170 175			760
aag tct gca gga ctg ctg gga gat ggg ttt ggt tct acg cct gag atg Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met 180 185 190			808
gtt aag aag aac ttg ata tgg gtc gtt act cgt atg cag gtt gtc gtt Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val 195 200 205			856
gat aaa tat cct act tg gtaagctctc ttgccactta accttaaac Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 210			903
atatgcatga atcatttgct tattcaaattg tctgtttcac cag g gga gat gtt gtt Gly Asp Val Val 215			959
gaa gta gat aca tgg gtc agt aag tct ggg aag aac ggt atg cgt cgt Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Lys Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg 220 225 230			1007
gat tgg cta gtt cgg gat tgc aat acc gga gaa atc tta aca cgt gca Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys Asn Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala 235 240 245 250			1055
tca ag gtttagcttct ttttgttttt ttgtttactc cagctattat ctgatgattg Ser Ser			1110
agttataacc atctctatgt tacaaaacag t gtg tgg gtg atg atg aat aaa Val Trp Val Met Met Asn Lys 255			1162
ctg aca agg aga tta tca aag ctt cct gaa gag gtt cga ggg gaa ata Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Leu Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile 260 265 270 275			1210
gag cct tac ttt gtg aac tct gac cca atc ctt gcc gag gac agc aga Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Ile Leu Ala Glu Asp Ser Arg 280 285 290			1258
aag tta aca aag cta gat gac aag act gct gac tat gtt cgc tct ggt			1306

Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly
 295 300 305
 ctc acc gtaagtataa atattcaact ctttatcttt tagcgtgtaa aactcttgag 1362
 Leu Thr
 agattcttat gagtttagat tcttatgagt ttggtgatga acttttgcag ccg aga 1418
 Pro Arg
 310
 tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cat gtt aac aac gtg aag tac att 1466
 Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile
 315 320 325
 ggt tgg ata ctc gag agt gct cca gta gag atg atg gag aag cat aag 1514
 Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Glu Met Met Glu Lys His Lys
 330 335 340
 ctg aaa agc atg act ctg gag tat agg agg gaa tgc ggg aga gac agt 1562
 Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser
 345 350 355
 gtg ctt cag tct ctc acc gcg gtt tcg gga tgc gat gtt ggt agc ctc 1610
 Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Val Gly Ser Leu
 360 365 370
 ggg aca gct ggt gaa gtg gaa tgt cag cat ttg ctt cga ctc cag gat 1658
 Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg Leu Gln Asp
 380 385 390
 gga gct gaa gtg gtg aag gga cga aca gtg tgg agt tcg aaa aca cca 1706
 Gly Ala Glu Val Val Lys Gly Arg Thr Val Trp Ser Ser Lys Thr Pro
 395 400 405
 tca acg act tgg gac act aca tcg taa 1733
 Ser Thr Thr Trp Asp Thr Thr Ser
 410 415

<210> 6
 <211> 415
 <212> PRT
 <213> FATB-A3 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR
 <400> 6

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser
 1 5 10 15
 Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Asn Lys Leu Thr Ser Thr Asn Phe
 20 25 30
 Ser Gly Leu Asn Pro Thr Pro Asn Ser Ser Gly Arg Leu Lys Val Lys
 35 40 45
 Pro Asn Ala Gln Ala Pro Ser Lys Ile Asn Gly Lys Lys Val Ser Leu
 50 55 60
 Pro Gly Ser Val His Ile Val Lys Thr Asp Asn Asn His Asp Leu Ser
 65 70 75 80
 Gln Gln His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser
 85 90 95

Met Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln
 100 105 110
 Trp Met Met Leu Asp Thr Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp
 115 120 125
 Pro Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Tyr Arg Gln
 130 135 140
 Asn Phe Asp Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser
 145 150 155 160
 Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val
 165 170 175
 Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met
 180 185 190
 Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val
 195 200 205
 Asp Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val
 210 215 220
 Ser Lys Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp
 225 230 235 240
 Cys Asn Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met
 245 250 255
 Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Leu Pro Glu Glu Val Arg
 260 265 270
 Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Ile Leu Ala Glu
 275 280 285
 Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val
 290 295 300
 Arg Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His
 305 310 315 320
 Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val
 325 330 335
 Glu Met Met Glu Lys His Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg
 340 345 350
 Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser
 355 360 365

Gly Cys Asp Val Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln
370 375 380

His Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Lys Gly Arg Thr
385 390 395 400

Val Trp Ser Ser Lys Thr Pro Ser Thr Thr Trp Asp Thr Thr Ser
405 410 415

5 <210> 7
<211> 1572
<212> ADN
<213> FATB-C1 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR

10 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(498)

15 <220>
<221> mat_peptide
<222> (1)..(1569)
<223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 89

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (484)..(486)
<223> Met conservada

25 <220>
<221> CDS
<222> (579)..(712)

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (610)..(612)
<223> Lys conservada

35 <220>
<221> misc_feature
<222> (672)..(674)
<223> val conservada

40 <220>
<221> CDS
<222> (791)..(904)

45 <220>
<221> misc_feature
<222> (843)..(845)
<223> Met conservada

50 <220>
<221> CDS
<222> (995)..(1166)

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1032)..(1034)
<223> ser conservada

55 <220>
<221> CDS
<222> (1252)..(1569)

<220>
<221> misc_feature
<222> (1258)..(1260)
<223> Trp conservado

```
<220>  
<221> misc_feature  
<222> (1276)..(1278)  
<223> Asn conservada
```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1282)..(1284)
<223> His conservada

```
<220>  
<221> misc_feature  
<222> (1387)..(1389)  
<223> cys conservada
```

<400> 7

[illegible]

gca ctc aac cat gtt aag act gct ggg ctg ctt gga gat ggg ttt ggt Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly 170 175 180	632
tct act cct gag atg gtt aag aag aac ttg ata tgg gtt gtt act cgt Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg 185 190 195 200	680
atg cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagctatt ctcaaacaac Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 205 210	732
tctgagaatc actgcttcct ttgtgagtca ttgtcttatt caaatatctg cctcatag g	791
gga gat gtt gtg gaa gta gat aca tgg gtg agc cag tct gga aag aac Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly Lys Asn 215 220 225	839
ggg atg cgt cgt gat tgg cta gtt cga gat ggc aat act gga gag att Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr Gly Glu Ile 230 235 240	887
tta aca aga gca tca ag gtttagatttt attttttgggt ttacttgggt Leu Thr Arg Ala Ser Ser 245	934
tagatatctg ataattgagt tataatcatc tccgtgttgt gtaaaactatt ctttttgcag	994
t gtg tgg gtg atg atg aat aaa ctg aca aga aga tta tca aag att cct Val Trp Val Met Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro 250 255 260 265	1043
gaa gag gtt cga ggg gag ata gag cct tac ttt gtt aac tca gac cca Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro 270 275 280	1091
gtc ctt gcc gag gac agc aga aag tta aca aaa ctt gat gac aaa act Val Leu Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr 285 290 295	1139
gct gtc tat gtt cgt tct ggt ctc act gtaagtacaa atacttcact Ala Val Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr 300 305	1186
ctatgtttca acaaagcctg taaatttttg agtctcttac aggttttgta atgaactttt	1246
tgcag ccg cgt tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cac gtt aac aat gtg Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val 310 315 320	1296
aag tac atc ggg tgg ata ctg gag agt gct cca gtg ggg atg atg gag Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met Met Glu 325 330 335	1344
agt cag aag ctg aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg gag tgt ggg Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly 340 345 350	1392
aga gac agt gtg ctc cag tcc ctc acc gcg gtt tcg ggc tgc gat atc Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Ile 355 360 365	1440
ggt agc ctc ggg aca gcc ggt gaa gtg gaa tgt cag cat ctg ctc aga Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg 370 375 380 385	1488
ctc cag gat gga gcc gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg agt tcc Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser 390 395 400	1536
aaa aca tca aca aca act tgg gac atc aca ccg tga Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro 405 410	1572

5

<210> 8

<211> 412

<212> PRT

<213> FATB-C1 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR

<400> 8

```

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser
1      5      10      15

Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn
20     25     30

Phe Ser Gly Leu Thr Pro Thr Pro Asn Ser Ala Arg Met Lys Val Lys
35     40     45

Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly Leu
50     55     60

Pro Gly Ser Val Glu Ile Leu Lys Pro Asp Ser Glu Thr Ser Gln Pro
65     70     75     80

Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu Leu
85     90     95

Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met Met
100    105    110

Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro Phe Gly
115    120    125

Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe Ser
130    135    140

Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu Thr
145    150    155    160

Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala
165    170    175

Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys
180    185    190

Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr
195    200    205

Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser
210    215    220

```

Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr
 225 230 235 240

Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met Met Asn Lys
 245 250 255

Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile
 260 265 270

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

Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Val Tyr Val Arg Ser Gly
 290 295 300

Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn
 305 310 315 320

Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met Met
 325 330 335

Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys
 340 345 350

Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp
 355 360 365

Ile Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu
 370 375 380

Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser
 385 390 395 400

Ser Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro
 405 410

<210> 9
 <211> 1770
 <212> ADN
 <213> FATB-C2 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(504)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1767)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 91

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (490)..(492)
 <223> Met conservada

<220>
 <221> CDS

	<222> (581)..(714)
	<220>
	<221> misc_feature
5	<222> (602)..(604)
	<223> Lys conservada
	<220>
	<221> misc_feature
10	<222> (674)..(676)
	<223> val conservada
	<220>
	<221> CDS
15	<222> (945)..(1058)
	<220>
	<221> misc_feature
20	<222> (997)..(999)
	<223> Met conservada
	<220>
	<221> CDS
25	<222> (1190)..(1361)
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1227)..(1229)
30	<223> ser conservada
	<220>
	<221> CDS
	<222> (1447)..(1767)
35	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1453)..(1455)
	<223> Trp conservado
40	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1471).. (1473)
	<223> Asn conservada
45	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1477)..(1479)
	<223> His conservada
50	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1582)..(1584)
	<223> cys conservada
55	<400> 9

atg gtc gct act tcc gct acg tcc tcg ttt ttt cat gtt cca tct tcc	48
Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe His Val Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
tcc tct ctt gat act aat ggg aag ggg aac aga gtt gcg tcc acg aac	96
Ser Ser Leu Asp Thr Asn Gly Lys Gly Asn Arg Val Ala Ser Thr Asn	
20 25 30	
ttc gct gga ctt aac tca acg cca agc tct ggg agg atg aag gtt aaa	144
Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys	
35 40 45	
cca aac gct cag gct cca ccc aag atc aac ggg aag aaa gct aac ttg	192

Pro	Asn	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Lys	Ile	Asn	Gly	Lys	Lys	Ala	Asn	Leu	
50						55					60					
cct	ggt	tct	gta	gag	ata	tca	aag	tct	gac	aac	gag	act	tcg	cag	ccc	240
Pro	Gly	Ser	Val	Glu	Ile	Ser	Lys	Ser	Asp	Asn	Glu	Thr	Ser	Gln	Pro	
65					70					75					80	
gca	ccc	gca	ccg	agg	acg	ttt	atc	aac	cag	ctg	cct	gac	tgg	agc	atg	288
Ala	Pro	Ala	Pro	Arg	Thr	Phe	Ile	Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Trp	Ser	Met	
				85					90					95		
ctt	ctc	gct	gcc	ata	aca	acc	att	ttc	ttg	gcg	gct	gag	aaa	cag	tgg	336
Leu	Leu	Ala	Ala	Ile	Thr	Thr	Ile	Phe	Leu	Ala	Ala	Glu	Lys	Gln	Trp	
			100					105					110			
atg	atg	ctt	gac	tgg	aaa	ccc	agg	cgt	tct	gat	atg	att	atg	gat	cct	384
Met	Met	Leu	Asp	Trp	Lys	Pro	Arg	Arg	Ser	Asp	Met	Ile	Met	Asp	Pro	
		115					120					125				
ttc	ggt	tta	ggg	aga	atc	gtt	cag	gat	ggt	ctt	gtc	ttt	cgt	cag	aat	432
Phe	Gly	Leu	Gly	Arg	Ile	Val	Gln	Asp	Gly	Leu	Val	Phe	Arg	Gln	Asn	
	130					135					140					
ttc	tcc	att	agg	tct	tat	gag	ata	ggt	gct	gat	cgc	tct	gcg	tct	ata	480
Phe	Ser	Ile	Arg	Ser	Tyr	Glu	Ile	Gly	Ala	Asp	Arg	Ser	Ala	Ser	Ile	
					150					155					160	
gaa	act	gtt	atg	aat	cat	tta	cag	gtaggtacta	ctttgattgt	tatcacactt						534
Glu	Thr	Val	Met	Asn	His	Leu	Gln									
				165												
gtcaatagat	atatatgctc	atgacaagct	cttatgctaa	tgacag	gaa	acg	gcc									589
					Glu	Thr	Ala									
						170										
cta	aac	cat	gtg	aag	tct	gcc	gga	ctg	ctg	gaa	aat	ggg	ttt	ggt	tct	637
Leu	Asn	His	Val	Lys	Ser	Ala	Gly	Leu	Leu	Glu	Asn	Gly	Phe	Gly	Ser	
			175					180					185			
act	ccc	gag	atg	ttt	aag	aag	aac	ttg	ata	tgg	gtc	gtt	gct	cgt	atg	685
Thr	Pro	Glu	Met	Phe	Lys	Lys	Asn	Leu	Ile	Trp	Val	Val	Ala	Arg	Met	
		190					195					200				
cag	gtt	gtc	gtt	gat	aaa	tat	cct	act	tg	gtaagccatt	gtcagtcctta					734
Gln	Val	Val	Val	Asp	Lys	Tyr	Pro	Thr	Trp							
	205					210										
ccacttaact	taaaatcatt	atgctactgt	ctctgagaat	ccctggttct	cgttgtgagt											794
tatccaaatt	atcttgcata	aacttgagta	tgcaagttca	tgctctcact	tgctcatgtg											854
actaggacat	tttgaccct	tagattacat	gatgtgcttg	catattacag	tgtgcataga											914
tcattactta	ttcaaatatc	tgactaacag	g	gga	gat	gtt	gtg	gaa	gtg	gat						966
				Gly	Asp	Val	Val	Glu	Val	Asp						
					215					220						
aca	tgg	gtt	agt	cag	tct	gga	aag	aat	ggt	atg	cgt	cgt	gat	tgg	ctg	1014
Thr	Trp	Val	Ser	Gln	Ser	Gly	Lys	Asn	Gly	Met	Arg	Arg	Asp	Trp	Leu	
				225					230					235		
gtt	cgg	gat	tgc	aat	act	gga	gaa	att	gta	acg	cga	gca	tca	ag		1058
Val	Arg	Asp	Cys	Asn	Thr	Gly	Glu	Ile	Val	Thr	Arg	Ala	Ser	Ser		
			240					245					250			
gtcagagttc	ttatgttttg	gtttactgac	tccagctatt	atcattttgc	tctctgtttg											1118
tattgtttgc	tctgccatta	gtttgataat	agagacttta	tatatgtatg	gcaattttct											1178

tctttttgca g t ttg tgg gtg atg atg aat aaa ctc aca agg aga ttg 1226
 Leu Trp Val Met Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu
 255 260

tca aag att cct gaa gag gtt cga ggg gaa ata gag cct tat ttt gtg 1274
 Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val
 265 270 275

aac tct gat cct gtc att gcc gaa gac agc aga aag tta acc aaa ctt 1322
 Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu
 280 285 290 295

gat gac aag act gct gac tat gtt cgt tgc ggt ctc act gtaagtaccc 1371
 Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr
 300 305

tacctttcaa caacaagctt gtcaaaactc tcgaggttgg ttcttatgga ttggtaatga 1431

aactttttta ttcag ccg agg tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cat gtt 1482
 Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val
 310 315 320

aac aat gta aag tac atc ggg tgg ata ctg gag agt gct cca gca ggg 1530
 Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly
 325 330 335

atg ctg gag agt cag aag ctg aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg 1578
 Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg
 340 345 350

gag tgc ggg aga gac agt gtg ctt cag tct ctc acc gcg gtc tct gga 1626
 Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly
 355 360 365

tgt gat gtc ggt aac ctc ggg aca gcc ggg gaa gtg gag tgt cag cat 1674
 Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His
 370 375 380

ttg ctt cgt ctc cag gat gga gct gaa gtg gtg aga gga aga aca gag 1722
 Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu
 385 390 395 400

tgg agt tcc aag aca gaa gca aca act tgg gac act gct aca tgc taa 1770
 Trp Ser Ser Lys Thr Glu Ala Thr Thr Trp Asp Thr Ala Thr Ser
 405 410 415

<210> 10

<211> 415

<212> PRT

<213> FATB-C2 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR

<400> 10

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe His Val Pro Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Ser Leu Asp Thr Asn Gly Lys Gly Asn Arg Val Ala Ser Thr Asn
 20 25 30

Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys
 35 40 45

Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Ala Asn Leu
 50 55 60

5

10

Pro Gly Ser Val Glu Ile Ser Lys Ser Asp Asn Glu Thr Ser Gln Pro
 65 70 75 80
 Ala Pro Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met
 85 90 95
 Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp
 100 105 110
 Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp Pro
 115 120 125
 Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn
 130 135 140
 Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile
 145 150 155 160
 Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys
 165 170 175
 Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe
 180 185 190
 Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met Gln Val Val Val Asp
 195 200 205
 Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser
 210 215 220
 Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys
 225 230 235 240
 Asn Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser Leu Trp Val Met Met
 245 250 255
 Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly
 260 265 270
 Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp
 275 280 285
 Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg
 290 295 300
 Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val
 305 310 315 320
 Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly
 325 330 335

Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg
340 345 350

Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly
355 360 365

Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His
370 375 380

Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu
385 390 395 400

Trp Ser Ser Lys Thr Glu Ala Thr Thr Trp Asp Thr Ala Thr Ser
405 410 415

- 5
<210> 11
<211> 1891
<212> ADN
<213> FATB-C3 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR
- 10
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(507)
- 15
<220>
<221> mat_peptide
<222> (1)..(1888)
<223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 92
- 20
<220>
<221> misc_feature
<222> (493)..(495)
<223> Met conservada
- 25
<220>
<221> CDS
<222> (930)..(1063)
- 30
<220>
<221> misc_feature
<222> (951)..(953)
<223> Lys conservada
- 35
<220>
<221> misc_feature
<222> (1023)..(1025) -
<223> val conservada
- 40
<220>
<221> CDS
<222> (1138)..(1251)
- 45
<220>
<221> misc_feature
<222> (1190)..(1192)
<223> Met conservada
- 45
<220>
<221> CDS
<222> (1324)..(1495)

	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1361)..(1363)
5	<223> ser conservada
	<220>
	<221> CDS
	<222> (1571)..(1888)
10	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1577)..(1579)
	<223> Trp conservado
15	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1595)..(1597)
	<223> Asn conservada
20	<220>
	<221> tnisc_feature
	<222> (1601)..(1603)
	<223> His conservada
25	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1706)..(1708)
	<223> cys conservada
30	<400> 11

atg Met 1	gtg Val	gcc Ala	acc Thr	tct Ser 5	gct Ala	aca Thr	tcc Ser	tca Ser	ttc Phe 10	ttc Phe	cct Pro	ctc Leu	cca Pro	tct Ser 15	tcc Ser	48
tct Ser	ctc Leu	gac Asp	cct Pro 20	aat Asn	ggc Gly	aaa Lys	acc Thr	aac Asn 25	aaa Lys	ctc Leu	acc Thr	tcc Ser	acc Thr 30	aac Asn	ttc Phe	96
tct Ser	gga Gly 35	ctc Leu	aac Asn	ccc Pro	ata Ile	cca Pro	aac Asn 40	tct Ser	tcc Ser	ggc Gly	agg Arg	tta Leu 45	aag Lys	gtc Val	aaa Lys	144
cca Pro 50	aac Asn	gcc Ala	caa Gln	gct Ala	cca Pro	tcc Ser 55	aag Lys	atc Ile	aac Asn	ggc Gly	aat Asn 60	aat Asn	gtc Val	tcc Ser	ttg Leu	192
cca Pro 65	ggc Gly	tca Ser	gta Val	cac His	atc Ile 70	gta Val	aag Lys	act Thr	gat Asp	aat Asn 75	aac Asn	cac His	gat Asp	ctc Leu	tcg Ser 80	240
caa Gln	caa Gln	cac His	gca Ala 85	ccc Arg	aga Arg	acg Thr	ttc Phe	atc Ile	aac Asn 90	cag Gln	cta Leu	cct Pro	gac Asp	tgg Trp 95	agc Ser	288
atg Met	ctt Leu	ctc Leu	gcc Ala 100	gcc Ala	atc Ile	aca Thr	acg Thr	gtc Val 105	ttc Phe	tta Leu	gct Ala	gct Ala	gag Glu 110	aaa Lys	cag Gln	336
tgg Trp	atg Met	atg Met 115	ctt Leu	gac Asp	tcg Ser	aaa Lys	ccg Pro 120	agg Arg	cgt Arg	tct Ser	gat Asp 125	atg Met	att Ile	atg Met	gat Asp	384
ccg Pro 130	ttc Phe	ggg Gly	tta Leu	ggg Gly	agg Arg	atc Ile 135	gtt Val	cag Gln	gat Asp	ggg Gly	ctt Leu 140	gtg Val	tac Tyr	cgt Arg	cag Gln	432
aac Asn 145	ttc Phe	gat Asp	atc Ile	agg Arg	tct Ser 150	tat Tyr	gaa Glu	ata Ile	ggt Gly 155	gct Ala	gat Asp	cgc Arg	tct Ser	gcg Ala	tct Ser 160	480
ata	gaa	aca	gtc	atg	aac	cac	tta	cag	gtatatattaca atcacactcg							527

Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln
165

attgatacta gagcttgaca tggttggtttt tatcttttta taaattgitt agtgacattt 587

tcaaacatat agatataggt tatttagata tttctaggtt cctacaaacc tacccagact 647

caaaccccggt ccggaaattt ataataattaa taccgaacag agttttattt taaaccaaaa 707

aatcagttga cccgcacggg atgttggttt ttatctattt tatacattgt ttaaggacat 767

ttttaaacat ataaatatag gttatttaga tatttctagg ttcttacgaa cctacccgga 827

aatttataat acccgaacat agtttaattt ttaaaccaaa aatccaatac ccgaaaaaac 887

caatctgtga tatgcatgat ctaactcttg tcctcgtgac ag gaa acg gct ctc 941
Glu Thr Ala Leu
170

aac cat gtg aag tct gct gga ctg ctg gga gat ggg ttt ggt tct acc 989
Asn His Val Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr
175 180 185

cct gag atg gtt aag aag aac ttg ata tgg gtc gtt act cgt atg cag 1037
Pro Glu Met Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln
190 195 200 205

gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagccctc ttagcactta 1083
Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp
210

accttaaaac aatatgcatg aatcatttgc ttattcaaatt gtctgcttca ccag g gga 1141
Gly
215

gat gtt gtt gaa gta gat aca tgg gtt agt aag tct ggg aag aat ggt 1189
Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Lys Ser Gly Lys Asn Gly
220 225 230

atg cgt cgt gat tgg cta gtt cgg gat tgt aat act gga gaa att tta 1237
Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys Asn Thr Gly Glu Ile Leu
235 240 245

aca aga gca tca ag gtttagcttct ttttgtttac tccagctatt atctgattat 1291
Thr Arg Ala Ser Ser
250

tgagttataa ccattctctgt gttgcaaaac ag t gtg tgg gtg atg atg aat aaa 1345
Val Trp Val Met Met Asn Lys
255

gtg aca agg aga tta tca aag ctt cct gaa gag gtt cga ggg gaa ata 1393
Val Thr Arg Arg Leu Ser Lys Leu Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile
260 265 270 275

gag cct tac ttt gtg aac tct gac cct atc ctt gcc gag gac agc aga 1441
Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Ile Leu Ala Glu Asp Ser Arg
280 285 290

aag tta aca aaa cta gat gag aag act gct gac tat gtt cgc tct ggt 1489
Lys Leu Thr Lys Leu Asp Glu Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly
295 300 305

ctc acc gtaagtataa atatttgitt ttatctttca gcaagtgaga ttctgatggg 1545
Leu Thr

tttggtgatt atctaacttt tgcag ccg aga tgg agt gac ttg gat gtt aac 1597
Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn

310															315															
cag	cat	gtt	aac	aac	gtg	aag	tac	att	ggt	tgg	ata	ctc	gag	agt	gct	1645														
Gln	His	Val	Asn	Asn	Val	Lys	Tyr	Ile	Gly	Trp	Ile	Leu	Glu	Ser	Ala															
	320					325					330																			
cca	gtg	gag	atg	atg	gag	aag	cat	aag	ctg	aaa	agc	atg	act	ctg	gag	1693														
Pro	Val	Glu	Met	Met	Glu	Lys	His	Lys	Leu	Lys	Ser	Met	Thr	Leu	Glu															
	335				340					345					350															
tat	agg	agg	gaa	tgc	ggg	aga	gac	agt	gtg	ctt	cag	tct	ctc	acc	gcg	1741														
Tyr	Arg	Arg	Glu	Cys	Gly	Arg	Asp	Ser	Val	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Ala															
				355					360					365																
gtt	tcg	ggt	tgc	gat	gtt	ggt	agc	ctc	ggg	aca	gct	ggt	gaa	gtg	gaa	1789														
Val	Ser	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Glu	Val	Glu															
			370					375					380																	
tgt	cag	cat	ttg	ctt	cga	ctc	cag	gat	gga	gct	gaa	gtg	gtg	aag	gga	1837														
Cys	Gln	His	Leu	Leu	Arg	Leu	Gln	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Gly															
		385					390					395																		
cga	aca	gtg	tgg	agt	tcc	aaa	aca	cca	tca	aca	act	tgg	gac	act	aca	1885														
Arg	Thr	Val	Trp	Ser	Ser	Lys	Thr	Pro	Ser	Thr	Thr	Trp	Asp	Thr	Thr															
	400					405					410																			
tcg	taa															1891														
Ser																														
415																														

<210> 12

<211> 415

<212> PRT

<213> FATB-C3 de tipo silvestre de Brassica Napus WOSR

<400> 12

Met	Val	Ala	Thr	Ser	Ala	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	Pro	Leu	Pro	Ser	Ser	
1				5					10					15		
Ser	Leu	Asp	Pro	Asn	Gly	Lys	Thr	Asn	Lys	Leu	Thr	Ser	Thr	Asn	Phe	
		20						25					30			
Ser	Gly	Leu	Asn	Pro	Ile	Pro	Asn	Ser	Ser	Gly	Arg	Leu	Lys	Val	Lys	
		35				40						45				
Pro	Asn	Ala	Gln	Ala	Pro	Ser	Lys	Ile	Asn	Gly	Asn	Asn	Val	Ser	Leu	
	50					55				60						
Pro	Gly	Ser	Val	His	Ile	Val	Lys	Thr	Asp	Asn	Asn	His	Asp	Leu	Ser	
65				70					75					80		
Gln	Gln	His	Ala	Pro	Arg	Thr	Phe	Ile	Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Trp	Ser	
			85					90					95			
Met	Leu	Leu	Ala	Ala	Ile	Thr	Thr	Val	Phe	Leu	Ala	Ala	Glu	Lys	Gln	
			100					105					110			
Trp	Met	Met	Leu	Asp	Ser	Lys	Pro	Arg	Arg	Ser	Asp	Met	Ile	Met	Asp	
		115					120					125				

Pro Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Tyr Arg Gln
 130 135 140
 Asn Phe Asp Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser
 145 150 155 160
 Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val
 165 170 175
 Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met
 180 185 190
 Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val
 195 200 205
 Asp Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val
 210 215 220
 Ser Lys Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp
 225 230 235 240
 Cys Asn Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met
 245 250 255
 Met Asn Lys Val Thr Arg Arg Leu Ser Lys Leu Pro Glu Glu Val Arg
 260 265 270
 Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Ile Leu Ala Glu
 275 280 285
 Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Glu Lys Thr Ala Asp Tyr Val
 290 295 300
 Arg Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His
 305 310 315 320
 Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val
 325 330 335
 Glu Met Met Glu Lys His Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg
 340 345 350
 Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser
 355 360 365
 Gly Cys Asp Val Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln
 370 375 380
 His Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Lys Gly Arg Thr
 385 390 395 400
 Val Trp Ser Ser Lys Thr Pro Ser Thr Thr Trp Asp Thr Thr Ser
 405 410 415

5 <210> 13
 <211> 1560
 <212> ADN
 <213> FATB-A1 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(501)
 10 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1557)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 90
 15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (487)..(489)
 <223> Met conservada
 20 <220>
 <221> CDS
 <222> (587)..(720)
 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (608)..(610)
 <223> Lys conservada
 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (680)..(682)
 <223> val conservada
 35 <220>
 <221> CDS
 <222> (795)..(908)
 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (847)..(849)
 <223> Met conservada
 45 <220>
 <221> CDS
 <222> (978)..(1149)
 50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1015)..(1017)
 <223> ser conservada
 55 <220>
 <221> CDS
 <222> (1240)..(1557)
 60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1246)..(1248)
 <223> Trp conservado
 65 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1264)..(1266)
 <223> Asn conservada
 <220>

<221> misc_feature
<222> (1270)..(1272)
<223> His conservada

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1375)..(1377)
<223> cys conservada

10 <400> 13

atg gtg gcc acc tca gct aca tcc tca ttc ttc cct ctc cca tct tcc	48
Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
cca ctc gac ccc acc gca aaa acc aac aaa gtc acc acc tcc acc aac	96
Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn	
20 25 30	
ttc tcc ggc ctc tcc ccc act cca aac tcc tcc ggc agg atg aag gtt	144
Phe Ser Gly Leu Ser Pro Thr Pro Asn Ser Ser Gly Arg Met Lys Val	
35 40 45	
aaa cca aac gct cag gcc cca ccc aag atc aac ggc aag aga gtc ggt	192
Lys Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly	
50 55 60	
ctc cct ggc tgc gtg aag cct gat aac gag acg tcc tca cag cat ccc	240
Leu Pro Gly Ser Val Lys Pro Asp Asn Glu Thr Ser Ser Gln His Pro	
65 70 75 80	
gca gca ccg agg acg ttc atc aac cag ctg cct gac tgg agc atg ctt	288
Ala Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu	
85 90 95	
ctt gct gca ata aca acc gtc ttc ttg gcg gct gag aag cag tgg atg	336
Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met	
100 105 110	
atg ctt gac tgg aaa ccg agg cgc tct gac gtg att atg gat ccg ttt	384
Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro Phe	
115 120 125	
ggg tta ggg agg atc gtt cag gat ggg ctt gtg ttc cgt cag aat ttc	432
Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe	
130 135 140	
tct att cgg tct tat gag ata ggt gct gat cgc tct gcg tct ata gaa	480
Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu	
145 150 155 160	
acg gtt atg aat cat tta cag gtactgatta tgattatgat tatgattgta	531
Thr Val Met Asn His Leu Gln	
165	
gttgcttggt gttactggac aaagttaata tgtattgctg ttatgggttat gatag gaa	589
Glu	
acg gca ctc aac cat gtt aag act gct gga ctg ctt gga gat ggg ttt	637
Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe	
170 175 180	
ggt tct act cct gag atg gtt aag aag aac ttg att tgg gtt gtt act	685
Gly Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr	
185 190 195 200	
cgt atg cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagctatt	730

Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp
205 210

ctcaagcaac cctgagaatc actgcttctt ttgtcatttg cttattcaaa tatctgtctc 790

acag g gga gat gtt gtg gaa gta gat aca tgg gtg agc cag tct gga 837
Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly
215 220 225

aag aac ggt atg cgt cgt gat tgg cta gtt cga gat ggc aat act gga 885
Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr Gly
230 235 240

gaa att tta aca aga gca tca ag gtttagatttt tatttatcgg ttaggtatct 938
Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser
245

gaaaatttga gttactaatg caaaatatta tttttgcag t gtg tgg gtg atg atg 993
Val Trp Val Met Met
255

aat aaa ctg aca aga aga tta tca aag att cct gaa gag gtt cga ggg 1041
Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly
260 265 270

gag ata gag cct tac ttt gtt aat tca gac cca gtc ctt gct gag gac 1089
Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Leu Ala Glu Asp
275 280 285

agc aga aag tta act aaa ctt gat gac aag act gct gac tat gtt cgt 1137
Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg
290 295 300

tct ggt ctc act gtaagtatgc atactttctc tatgtttcat caaagcctgt 1189
Ser Gly Leu Thr
305

aaacttctga gattcttaca gtttttattt ggtaatttaa acttttgcag ccg cgt 1245
Pro Arg

tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cac gtt aac aat gtg aag tac atc 1293
Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile
310 315 320 325

ggg tgg ata ctg gag agt gca cct gtg ggg atg atg gag agt cag aag 1341
Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met Met Glu Ser Gln Lys
330 335 340

ctg aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg gag tgc ggg agg gac agt 1389
Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser
345 350 355

gtg ctt cag tcc ctc acc gcg gtt tgc ggc tgc gat gtt ggt agt ctt 1437
Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Val Gly Ser Leu
360 365 370

ggg aca gct ggt gaa gtg gaa tgt cag cac ctg ctc cgt ctc cag gat 1485
Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg Leu Gln Asp
375 380 385

gga gct gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg agt tcc aaa aca tca 1533
Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser Lys Thr Ser
390 395 400 405

aca aca act tgg gac att aca ccg tga 1560
Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro
410

<211> 413
 <212> PRT
 <213> FATB-A1 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

5 <400> 14

```

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser
1      5      10      15

Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn
20      25      30

Phe Ser Gly Leu Ser Pro Thr Pro Asn Ser Ser Gly Arg Met Lys Val
35      40      45

Lys Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly
50      55      60

Leu Pro Gly Ser Val Lys Pro Asp Asn Glu Thr Ser Ser Gln His Pro
65      70      75      80

Ala Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu
85      90      95

Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met
100     105     110

Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro Phe
115     120     125

Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe
130     135     140

Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu
145     150     155     160

Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr
165     170     175

Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Val Lys
180     185     190

Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys
195     200     205

Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln
210     215     220

Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn
225     230     235     240

Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met Met Asn

```

245 250 255
 Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu
 260 265 270
 Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Leu Ala Glu Asp Ser
 275 280 285
 Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser
 290 295 300
 Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn
 305 310 315 320
 Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met
 325 330 335
 Met Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu
 340 345 350
 Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys
 355 360 365
 Asp Val Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu
 370 375 380
 Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp
 385 390 395 400
 Ser Ser Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro
 405 410

5
 <210> 15
 <211> 1632
 <212> ADN
 <213> FATB-A2 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

10
 <220>
 <221> CDS
 <222>(1) .. (504)

15
 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1629)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 91

20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (490)..(492)
 <223> Met conservada

25
 <220>
 <221> CDS
 <222> (584)..(717)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (605)..(607)

	<223> Lys conservada
	<220>
5	<221> misc_feature
	<222> (677)..(679)
	<223> val conservada
	<220>
10	<221> CDS
	<222> (812)..(925)
	<220>
	<221> misc_feature
15	<222> (964)..(966)
	<223> Met conservada
	<220>
	<221> CDS
20	<222> (1059)..(1230)
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1096)..(1098)
25	<223> ser conservada
	<220>
	<221> CDS
	<222> (1309)..(1629)
30	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1315)..(1317)
	<223> Trp conservado
35	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1333)..(1335)
	<223> Asn conservada
40	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1339)..(1341)
	<223> His conservada
45	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1444)..(1446)
	<223> cys conservada
50	<400> 15

atg	gtg	gct	act	tgc	gct	acg	tcg	tcg	ttt	ttt	cat	ggt	cca	tct	tct	.48
Met	Val	Ala	Thr	Cys	Ala	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	His	Val	Pro	Ser	Ser	
1				5					10					15		
tcc	tcg	ctt	gat	acg	aat	ggg	aag	ggg	aac	aga	ggt	ggg	tcc	act	aat	96
Ser	Ser	Leu	Asp	Thr	Asn	Gly	Lys	Gly	Asn	Arg	Val	Gly	Ser	Thr	Asn	
			20					25					30			
ttt	gct	gga	ctt	aac	tca	acg	cca	agc	tct	ggg	agg	atg	aag	ggt	aag	144
Phe	Ala	Gly	Leu	Asn	Ser	Thr	Pro	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Lys	Val	Lys	
		35					40					45				
cca	aac	gct	cag	gct	cca	ccc	aag	atc	aac	ggg	aag	aaa	gct	aac	ttg	192
Pro	Asn	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Lys	Ile	Asn	Gly	Lys	Lys	Ala	Asn	Leu	
	50					55					60					
cct	ggc	tct	gta	gag	ata	tca	aag	gct	gac	aac	gag	act	tcg	cag	ccc	240
Pro	Gly	Ser	Val	Glu	Ile	Ser	Lys	Ala	Asp	Asn	Glu	Thr	Ser	Gln	Pro	

65	70				75				80							
gca Ala	cac His	gca Ala	ccg Pro	agg Arg 85	acg Thr	ttt Phe	atc Ile	aac Asn	cag Gln 90	ctg Leu	cct Pro	gac Asp	tgg Trp	agt Ser 95	atg Met	288
ctg Leu	ctt Leu	gct Ala	gct Ala 100	ata Ile	act Thr	acc Thr	att Ile	ttc Phe 105	ttg Leu	gca Ala	gcg Ala	gag Glu	aaa Lys 110	cag Gln	tgg Trp	336
atg Met	atg Met	ctt Leu 115	gac Asp	tgg Trp	aaa Lys	ccg Pro	agg Arg 120	cgt Arg	tct Ser	gat Asp	atg Met	att Ile 125	atg Met	gat Asp	cct Pro	384
ttt Phe	ggt Gly 130	tta Leu	ggg Gly	aga Arg	att Ile	gtt Val 135	cag Gln	gat Asp	ggt Gly	ctt Leu	gtg Val 140	ttc Phe	cgt Arg	cag Gln	aat Asn	432
ttt Phe 145	tcc Ser	att Ile	agg Arg	tct Ser	tat Tyr 150	gaa Glu	ata Ile	ggt Gly	gct Ala	gat Asp 155	cgc Arg	tct Ser	gcg Ala	tct Ser	ata Ile 160	480
gaa act gtc atg aat cat tta cag gtactgcttt gattgtgggtt acactcacat Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 165																534
gttggtcccaa tagatatatg ctcatgacaa gctcttatgc taatgacag gaa acg gcg Glu Thr Ala 170																592
ctt Leu	aat Asn	cat His	gtg Val 175	aag Lys	tct Ser	gcc Ala	gga Gly	ctg Leu 180	ctg Leu	gaa Glu	aat Asn	ggg Gly	ttt Phe 185	ggg Gly	tcc Ser	640
act Thr	cct Pro	gag Glu 190	atg Met	ttt Phe	aag Lys	aag Lys	aat Asn 195	ttg Leu	ata Ile	tgg Trp	gtc Val	gtt Val 200	gct Ala	cgt Arg	atg Met	688
cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagccatt gttagtctta Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 205 210																737
gcacttgact taaaatcatt ttgcatatta cagtgtgcgt agatcatttg cttattcaaa																797
tatctgactc acag g gga gat gtt gtg gaa gtg gat act tgg gtt agt cag Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln 215 220 225																848
tct Ser	gga Gly	aag Lys	aat Asn	ggt Gly 230	atg Met	cgt Arg	cgt Arg	gat Asp 235	ttg Trp	cta Leu	gtt Val	cgg Arg	gat Asp	tgc Cys 240	aat Asn	896
act gga gaa att gta acg cga gca tca ag gtcagagttc ttatatatttg Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser 245 250																945
gtttactcca gctattatcg ttttgctctc tgtttgtatt gtttcctctg ccattagttt																1005
gataattgag tctttatagt tgtatatgia tggcaatttt cttctttttg cag t ttg Leu																1062
tgg Trp	gtg Val	atg Met 255	atg Met	aat Asn	aaa Lys	ctc Leu	aca Thr 260	agg Arg	aga Arg	ttg Leu	tca Ser	aag Lys 265	att Ile	cct Pro	gaa Glu	1110
gag Glu	gtt Val 270	cga Arg	ggg Gly	gaa Glu	ata Ile	gag Glu 275	cct Pro	tat Tyr	ttt Phe	gtg Val	aac Asn 280	tct Ser	gat Asp	cct Pro	gtc Val	1158

att gcc gaa gac agc aga aag tta aca aaa ctt gat gac aag act gct 1206
 ile Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala
 285 290 295 300

gac tat gtt cgt tct ggt ctc act gtaagtacct tacctttcga caagcctgtc 1260
 Asp Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr 305

aaaactcttg aggttctaata ggttttggttaa tgaacttttt tttggcag ccg agg tgg 1317
 Pro Arg Trp 310

agt gac ttg gat gtt aac cag cat gtt aac aat gta aag tac att ggg 1365
 Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly 315 320 325

tgg ata ctg gag agt gct cca gca ggg atg ctg gag agt cag aag ctg 1413
 Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu 330 335 340

aaa agc atg act ctg gag tat cgc agg gag tgc ggg aga gac agt gtg 1461
 Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val 345 350 355

ctt cag tct ctc acc gca gtc tct gga tgt gat gtc ggt aac ctc ggg 1509
 Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly 360 365 370 375

aca gcc ggg gaa gtg gag tgt cag cat ttg ctt cga ctc cag gat gga 1557
 Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly 380 385 390

gct gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg agc tcc aag aca gga gca 1605
 Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser Lys Thr Gly Ala 395 400 405

aca act tgg gac act act aca tcg taa 1632
 Thr Thr Trp Asp Thr Thr Thr Ser 410 415

<210> 16
 <211> 415
 <212> PRT
 <213> FATB-A2 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<400> 16

Met Val Ala Thr Cys Ala Thr Ser Ser Phe Phe His Val Pro Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Ser Leu Asp Thr Asn Gly Lys Gly Asn Arg Val Gly Ser Thr Asn
 20 25 30

Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys
 35 40 45

Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Ala Asn Leu
 50 55 60

Pro Gly Ser Val Glu Ile Ser Lys Ala Asp Asn Glu Thr Ser Gln Pro
 65 70 75 80

Ala His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met
 85 90 95
 Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp
 100 105 110
 Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp Pro
 115 120 125
 Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn
 130 135 140
 Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile
 145 150 155 160
 Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys
 165 170 175
 Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe
 180 185 190
 Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met Gln Val Val Val Asp
 195 200 205
 Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser
 210 215 220
 Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys
 225 230 235 240
 Asn Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser Leu Trp Val Met Met
 245 250 255
 Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly
 260 265 270
 Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp
 275 280 285
 Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg
 290 295 300
 Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val
 305 310 315 320
 Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly
 325 330 335
 Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg
 340 345 350
 Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly

355					360					365					
Cys	Asp	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Glu	Val	Glu	Cys	Gln	His
	370					375					380				
Leu	Leu	Arg	Leu	Gln	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Arg	Gly	Arg	Thr	Glu
385					390					395					400
Trp	Ser	Ser	Lys	Thr	Gly	Ala	Thr	Thr	Trp	Asp	Thr	Thr	Thr	Ser	
				405					410					415	

5 <210> 17
 <211> 1715
 <212> ADN
 <213> FATB-A3 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(507)

```

15      <220>
      <221> mat_peptide
      <222> (1)..(1712)
      <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 92

```

```

20      <220>
      <221> misc_feature
      <222> (493)..(495)
      <223> Met conservada

```

<220>
<221> CDS
<222> (740)..(873)

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (761)..(763)
<223> Lys conservada
```

```
<220>  
<221> misc_feature  
<222> (833).. (835)  
<223> val conservada
```

<220>
<221> CDS
<222> (947)..(1060)

```
40      <220>  
      <221> misc_feature  
      <222> (999)..(1001)  
      <223> Met conservada
```

45 <220>
 <221> CDS
 <222> (1139)..(1310)

```

50      <220>
      <221> misc_feature
      <222> (1176)..(1178)
      <223> ser conservada

```

<220>
<221> CDS
<222> (1395)..(1712)

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1401)..(1403)
 <223> Trp conservado

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1419)..(1421)
 <223> Asn conservada

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1425)..(1427)
 <223> His conservada

```
20      <220>  
      <221> misc_feature  
      <222> (1530)..(1532)  
      <223> cys conservada
```

25 <400> 17

[illegible]

tgacatatag atatagggtta ttttagatatt tctagggttcc tacgaaccta cccggactca	647
aaccctgtcc gtaaaattga gtttaatttt aaaccaaaaa aatccgatac ccgaaaaaac	707
cgatctgtat ctaactcttg tctcatgac ag gaa acg gct ctc aac cat gtg	760
Glu Thr Ala Leu Asn His Val	
170 175	
aag tct gca gga ctg ctg gga gat ggg ttt ggt tct aca cct gag atg	808
Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met	
180 185 190	
gtt aag aag aac ttg ata tgg gtt gtt act cgt atg cag gtt gta gtt	856
Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val	
195 200 205	
gat aaa tat cct act tg gtaagctctc ttgccactta accttaaaca	903
Asp Lys Tyr Pro Thr Trp	
210	
atatgcatga atcatttgct tattcaaatg tctgtttcac cag g gga gat gtt gtt	959
Gly Asp Val Val	
215	
gaa gta gat aca tgg gtc agt aag tct ggg aag aat ggt atg cgt cgt	1007
Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Lys Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg	
220 225 230	
gat tgg cta gtt cgt gat tgc aat act gga gaa atc tta aca cgc gca	1055
Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys Asn Thr Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala	
235 240 245 250	
tca ag gttagcttta ttttgttttt gtttactcca gctattatct gattattgag	1110
Ser Ser	
ttataaccat ctctatgtta caaaacag t gtg tgg gtg atg atg aat aaa ctg	1163
Val Trp Val Met Met Asn Lys Leu	
255 260	
aca agg aga tta tca aag ctt cct gaa gag gtt cga ggg gaa ata gag	1211
Thr Arg Arg Leu Ser Lys Leu Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu	
265 270 275	
cct tac ttt gtg aac tct gac cca atc ctt gcc gag gac agc aga aag	1259
Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Ile Leu Ala Glu Asp Ser Arg Lys	
280 285 290	
tta aca aag cta gat gac aag act gct gac tat gtt cgc tct ggt ctc	1307
Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly Leu	
295 300 305	
acc gtaagtataa atattcaact ctttatcttt tagcgtgtaa aactcttgag	1360
Thr	
agattcttat gagtttggtg atgaactttt gcag ccg aga tgg agt gac ttg gat	1415
Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp	
310 315	
gtt aac cag cat gtt aac aac gtg aag tac att ggt tgg ata ctc gag	1463
Val Asn Gln His Val Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu	
320 325 330	
agt gct cca gta gag atg atg gag aag cat aag ctg aaa agc atg act	1511
Ser Ala Pro Val Glu Met Met Glu Lys His Lys Leu Lys Ser Met Thr	
335 340 345	
ctg gag tat agg agg gaa tgc ggg aga gac agt gtg ctt cag tct ctc	1559

Leu	Glu	Tyr	Arg	Arg	Glu	Cys	Gly	Arg	Asp	Ser	Val	Leu	Gln	Ser	Leu	
	350					355					360					
acc	gcg	gtt	tcg	gga	tgc	gat	gtt	ggg	agc	ctc	ggg	aca	gct	ggt	gaa	1607
Thr	Ala	Val	Ser	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Glu	
365					370					375					380	
gtg	gaa	tgt	cag	cat	ttg	ctt	cga	cac	cag	gat	gga	gct	gaa	gtg	gtg	1655
Val	Glu	Cys	Gln	His	Leu	Leu	Arg	His	Gln	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Val	
				385					390					395		
aag	gga	cga	aca	gtg	tgg	agt	tcg	aaa	aca	cca	tca	acg	act	tgg	gac	1703
Lys	Gly	Arg	Thr	Val	Trp	Ser	Ser	Lys	Thr	Pro	Ser	Thr	Thr	Trp	Asp	
			400					405					410			
act	aca	tcg	taa													1715
Thr	Thr	Ser														
		415														

<210> 18
 <211> 415
 <212> PRT
 <213> FATB-A3 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR
 <400> 18

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

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

<210> 19
 <211> 1572
 <212> ADN
 <213> FATB-C1 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(498)

<220>

<221> mat_peptide
 <222> (1)..(1569)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 89

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (484)..(486)
 <223> Met conservada

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (579)..(712)

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (600)..(602)
 <223> Lys conservada

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (672)..(674)
 <223> val conservada

25

<220>
 <221> CDS
 <222> (791)..(904)

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (848)..(850)
 <223> Met conservada

35

<220>
 <221> CDS
 <222> (995)..(1166)

40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1032)..(1034)
 <223> ser conservada

45

<220>
 <221> CDS
 <222> (1252)..(1569)

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1258)..(1260)
 <223> Trp conservado

55

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1276)..(1278)
 <223> Asn conservada

60

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1282)..(1284)
 <223> His conservada

65

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1387)..(1389)
 <223> cys conservada

<400> 19

atg gtg gcc acc tca gct aca tcc tca ttc ttc cct ctc cca tct tcc Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser 1 5 10 15	48
ccc ctc gac ccc acc gca aaa acc aac aaa gtc acc acc tcc acc aac Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn 20 25 30	96
ttc tcc ggc ctc aca ccc acg ccg aac tcc gcc agg atg aag gtt aaa Phe Ser Gly Leu Thr Pro Thr Pro Asn Ser Ala Arg Met Lys Val Lys 35 40 45	144
cca aac gct cag gcc cca ccc aag atc aac ggc aag aga gtc ggc ctc Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly Leu 50 55 60	192
cct ggc tcg gtg gag atc ttg aag cct gat agc gag act tcg caa cca Pro Gly Ser Val Glu Ile Leu Lys Pro Asp Ser Glu Thr Ser Gln Pro 65 70 75 80	240
gca ccg agg acg ttc atc aac cag ctg cct gac tgg agc atg ctc ctc Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu Leu 85 90 95	288
gcc gcc atc acg acc gtc ttc ttg gcg gct gag aag cag tgg atg atg Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met Met 100 105 110	336
ctc gac tgg aaa ccg agg cgt tct gac gtg att atg gat ccg ttt ggg Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro Phe Gly 115 120 125	384
tta ggg agg atc gtt cag gat ggg ctt gtg ttc cgt cag aat ttt tct Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe Ser 130 135 140	432
att cgg tct tat gag ata ggt gct gat cgc tct gcg tct ata gaa acg Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu Thr 145 150 155 160	480
gtt atg aat cat tta cag gtactgatta tgattatgat tgtagtcgct Val Met Asn His Leu Gln 165	528
tggtgttact ggacaaactt aaatatgtat tgctcttatg gttgtgatag gaa acg Glu Thr	584
gca ctc aac cat gtt aag act gct ggg ctg ctt gga gat ggg ttt ggt Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly 170 175 180	632
tct act cct gag atg gtt aag aag aac ttg ata tgg gtt gtt act cgt Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg 185 190 195 200	680
atg cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagctatt ctcaacaac Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 205 210	732
tctgagaatc actgcttctt ttgtgagtca tttgcttatt caaatatctg cctcatag g 215 220 225	791
gga gat gtt gtg gaa gta gat aca tgg gtg agc cag tct gga aag aac Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly Lys Asn 215 220 225	839
ggt atg cgt cgt gat tgg ctt gtt cgg gat ggc aat act gga gag att Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr Gly Glu Ile	887

230	235	240	
tta aca aga gca tca ag	gtagattttt attttttggg	ttacttgggt	934
Leu Thr Arg Ala Ser Ser			
245			
tagatatctg ataattgagt	tataatcatc tccgtgttgt	gtaaactatt ctttttgcag	994
t gtg tgg gtg atg atg	aat aaa ctg aca aga aga	tta tca aag att cct	1043
Val Trp Val Met Met	Asn Lys Leu Thr Arg Arg	Leu Ser Lys Ile Pro	
250	255	260	265
gaa gag gtt cga ggg gag ata gag	cct tac ttt gtt aac tca gac cca		1091
Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu	Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro		
270	275	280	
gtc ctt gcc gag gac agc aga aag	tta aca aaa ctt gat gac aaa act		1139
Val Leu Ala Glu Asp Ser Arg Lys	Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr		
285	290	295	
gct gtc tat gtt cgt tct ggt ctc	act gtaagtacaa atacttcact		1186
Ala Val Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr			
300	305		
ctatgtttca acaaagcctg	taaatttttg agtctcttac	aggtttggtgta atgaactttt	1246
tgcag ccg cgt tgg agt gac ttg	gat gtt aac cag cac gtt aac aat gtg		1296
Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val	Asn Gln His Val Asn Asn Val		
310	315	320	
aag tac atc ggg tgg ata ctg gag	agt gct cca gtg ggg atg atg gag		1344
Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu	Ser Ala Pro Val Gly Met Met Glu		
325	330	335	
agt cag aag ctg aaa agc atg act	ctg gag tat cgc agg gag tgt ggg		1392
Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr	Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys Gly		
340	345	350	
aga gac agt gtg ctc cag tcc ctc	acc gcg gtt tgc ggc tgc gat atc		1440
Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr	Ala Val Ser Gly Cys Asp Ile		
355	360	365	
ggt agc ctc ggg aca gcc ggt gaa	gtg gaa tgt cag cat ctg ctc aga		1488
Gly Ser Leu Gly Thr Ala Glu Gly	Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu Arg		
370	375	380	385
ctc cag gat gga gcc gaa gtg gtg	aga gga aga aca gag tgg agt tcc		1536
Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val	Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser Ser		
390	395	400	
aaa aca tca aca aca act tgg gac	atc aca ccg tga		1572
Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp	Ile Thr Pro		
405	410		

<210> 20

<211> 412

<212> PRT

<213> FATB-C1 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<400> 20

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser
1 5 10 15

Pro Leu Asp Pro Thr Ala Lys Thr Asn Lys Val Thr Thr Ser Thr Asn
20 25 30

Phe Ser Gly Leu Thr Pro Thr Pro Asn Ser Ala Arg Met Lys Val Lys
 35 40 45
 Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Arg Val Gly Leu
 50 55 60
 Pro Gly Ser Val Glu Ile Leu Lys Pro Asp Ser Glu Thr Ser Gln Pro
 65 70 75 80
 Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu Leu
 85 90 95
 Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met Met
 100 105 110
 Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Val Ile Met Asp Pro Phe Gly
 115 120 125
 Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe Ser
 130 135 140
 Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu Thr
 145 150 155 160
 Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala
 165 170 175
 Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Val Lys Lys
 180 185 190
 Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr
 195 200 205
 Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser
 210 215 220
 Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Gly Asn Thr
 225 230 235 240
 Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ala Ser Ser Val Trp Val Met Met Asn Lys
 245 250 255
 Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile
 260 265 270
 Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Leu Ala Glu Asp Ser Arg
 275 280 285
 Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Val Tyr Val Arg Ser Gly
 290 295 300

Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn Asn
 305 310 315 320
 Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Met Met
 325 330 335
 Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu Cys
 340 345 350
 Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly Cys Asp
 355 360 365
 Ile Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His Leu Leu
 370 375 380
 Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp Ser
 385 390 395 400
 Ser Lys Thr Ser Thr Thr Thr Trp Asp Ile Thr Pro
 405 410

5 <210> 21
 <211> 1770
 <212> ADN
 <213> FATB-C2 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR
 10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(504)
 15 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (1)..(1767)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 91
 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (490)..(492)
 <223> Met conservada
 25 <220>
 <221> CDS
 <222> (581)..(714)
 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (602)..(604)
 <223> Lys conservada
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (674)..(676)
 <223> val conservada
 40 <220>
 <221> CDS
 <222> (945)..(1058)
 <220>
 <221> misc_feature

	<222> (997)..(999)
	<223> Met conservada
5	<220>
	<221> CDS
	<222> (1190)..(1361)
10	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1227)..(1229)
	<223> ser conservada
15	<220>
	<221> CDS
	<222> (1447)..(1767)
20	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1453)..(1455)
	<223> Trp conservado
25	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1471)..(1473)
	<223> Asn conservada
30	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1477)..(1479)
	<223> His conservada
35	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1582)..(1584)
	<223> cys conservada
	<400> 21

atg gtg gct act tcc gct acg tcc tcg ttt ttt cat gtt cca tct tcc Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe His Val Pro Ser Ser 1 5 10 15	48
tcc tct ctt gat act aat ggg aag ggg aac aga gtt gcg tcc acg aac Ser Ser Leu Asp Thr Asn Gly Lys Gly Asn Arg Val Ala Ser Thr Asn 20 25 30	96
ttc gct gga ctt aac tca acg cca agc tct ggg agg atg aag gtt aaa Phe Ala Gly Leu Asn Ser Thr Pro Ser Ser Gly Arg Met Lys Val Lys 35 40 45	144
cca aac gct cag gct cca ccc aag atc aac ggg aag aaa gct aac ttg Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Ala Asn Leu 50 55 60	192
cct ggt tct gta gag ata tca aag tct gac aac gag act tcg cag ccc Pro Gly Ser Val Glu Ile Ser Lys Ser Asp Asn Glu Thr Ser Gln Pro 65 70 75 80	240
gca ccc gca ccg agg acg ttt atc aac cag ctg cct gac tgg agc atg Ala Pro Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met 85 90 95	288
ctt ctc gct gcc ata aca acc att ttc ttg gcg gct gag aaa cag tgg Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp 100 105 110	336
atg atg ctt gac tgg aaa ccc agg cgt tct gat atg att atg gat cct Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp Pro 115 120 125	384
ttc ggt tta ggg aga atc gtt cag gat ggt ctt gtc ttt cgt cag aat	432

Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn	
130 135 140	
ttc tcc att agg tct tat gag ata ggt gct gat cgc tct gcg tct ata	480
Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile	
145 150 155 160	
gaa act gtt atg aat cat tta cag gtaggtacta ctttgattgt tatcacactt	534
Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln	
165	
gtcaatagat atatatgctc atgacaagct cttatgctaa tgacag gaa acg gcc	589
Glu Thr Ala	
170	
cta aac cat gtg aag tct gcc gga ctg ctg gaa aat ggg ttt ggt tct	637
Leu Asn His Val Lys Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser	
175 180 185	
act ccc gag atg ttt aag aag aac ttg ata tgg gtc gtt gct cgt atg	685
Thr Pro Glu Met Phe Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met	
190 195 200	
cag gtt gtc gtt gat aaa tat cct act tg gtaagccatt gtcagtcctta	734
Gln Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp	
205 210	
ccacttaact taaaatcatt atgctactgt ctctgagaat ccctggttct cgttgtgagt	794
tatccaaatt atcttgcata aacttgagta tgcaagttca tgctctcact tgctcatgtg	854
actaggacat ttgacacct tagattacat gatgtgcttg catattacag tgtgcataga	914
tcattactta ttcaaatac tgactaacag g gga gat gtt gtg gaa gtg gat	966
Gly Asp Val Val Glu Val Asp	
215 220	
aca tgg gtt agt cag tct gga aag aat ggt atg cgt cgt gat tgg ctg	1014
Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu	
225 230 235	
gtt cgg gat tgc aat act gga gaa att gta acg cga gca tca ag	1058
Val Arg Asp Cys Asn Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser	
240 245 250	
gtcagagttc ttatgttttg gtttactgac tccagctatt atcattttgc tctctgtttg	1118
tattgtttgc tctgccatta gtttgataat agagacttta tatatgtatg gcaattttct	1178
tctttttgca g t ttg tgg gtg atg atg aat aaa ctc aca agg aga ttg	1226
Leu Trp Val Met Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu	
255 260	
tca aag att cct gaa gag gtt cga ggg gaa ata gag cct tat ttt gtg	1274
Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val	
265 270 275	
aac tct gat cct gtc att gcc gaa gac agc aga aag tta acc aaa ctt	1322
Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu	
280 285 290 295	
gat gac aag act gct gac tat gtt cgt tcg ggt ctc act gtaagtaccc	1371
Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr	
300 305	
tacctttcaa caacaagctt gtcaaaactc tcgagggttg ttcttatgga ttggtaatga	1431
aactttttta ttacag ccg agg tgg agt gac ttg gat gtt aac cag cat gtt	1482
Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val	

310										315					320					
aac	aat	gta	aag	tac	atc	ggg	tgg	ata	ctg	gag	agt	gct	cca	gca	ggg	1530				
Asn	Asn	Val	Lys	Tyr	Ile	Gly	Trp	Ile	Leu	Glu	Ser	Ala	Pro	Ala	Gly					
				325					330					335						
atg	ctg	gag	agt	cag	aag	ctg	aaa	agc	atg	act	ctg	gag	tat	cgc	agg	1578				
Met	Leu	Glu	Ser	Gln	Lys	Leu	Lys	Ser	Met	Thr	Leu	Glu	Tyr	Arg	Arg					
			340					345					350							
gag	tgc	ggg	aga	gac	agt	gtg	ctt	cag	tct	ctc	acc	gcg	gtc	tct	gga	1626				
Glu	Cys	Gly	Arg	Asp	Ser	Val	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Ala	Val	Ser	Gly					
		355					360					365								
tgt	gat	gtc	ggt	aac	ctc	ggg	aca	gcc	ggg	gaa	gtg	gag	tgt	cag	cat	1674				
Cys	Asp	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Glu	Val	Glu	Cys	Gln	His					
	370					375					380									
ttg	ctt	cgt	ctc	cag	gat	gga	gct	gaa	gtg	gtg	aga	gga	aga	aca	gag	1722				
Leu	Leu	Arg	Leu	Gln	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Arg	Gly	Arg	Thr	Glu					
	385				390					395					400					
tgg	agt	tcc	aag	aca	gaa	gca	aca	act	tgg	gac	act	gct	aca	tcg	taa	1770				
Trp	Ser	Ser	Lys	Thr	Glu	Ala	Thr	Thr	Trp	Asp	Thr	Ala	Thr	Ser						
				405					410					415						

<210> 22

<211> 415

<212> PRT

<213> FATB-C2 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<400> 22

Met	Val	Ala	Thr	Ser	Ala	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	His	Val	Pro	Ser	Ser
1				5					10					15	
Ser	Ser	Leu	Asp	Thr	Asn	Gly	Lys	Gly	Asn	Arg	Val	Ala	Ser	Thr	Asn
			20					25					30		
Phe	Ala	Gly	Leu	Asn	Ser	Thr	Pro	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Lys	Val	Lys
	35						40					45			
Pro	Asn	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Lys	Ile	Asn	Gly	Lys	Lys	Ala	Asn	Leu
	50					55					60				
Pro	Gly	Ser	Val	Glu	Ile	Ser	Lys	Ser	Asp	Asn	Glu	Thr	Ser	Gln	Pro
65				70					75					80	
Ala	Pro	Ala	Pro	Arg	Thr	Phe	Ile	Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Trp	Ser	Met
				85				90						95	
Leu	Leu	Ala	Ala	Ile	Thr	Thr	Ile	Phe	Leu	Ala	Ala	Glu	Lys	Gln	Trp
		100						105					110		
Met	Met	Leu	Asp	Trp	Lys	Pro	Arg	Arg	Ser	Asp	Met	Ile	Met	Asp	Pro
		115					120					125			
Phe	Gly	Leu	Gly	Arg	Ile	Val	Gln	Asp	Gly	Leu	Val	Phe	Arg	Gln	Asn
	130					135					140				

Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile
 145 150 155 160
 Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys
 165 170 175
 Ser Ala Gly Leu Leu Glu Asn Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe
 180 185 190
 Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Ala Arg Met Gln Val Val Val Asp
 195 200 205
 Lys Tyr Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser
 210 215 220
 Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp Trp Leu Val Arg Asp Cys
 225 230 235 240
 Asn Thr Gly Glu Ile Val Thr Arg Ala Ser Ser Leu Trp Val Met Met
 245 250 255
 Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro Glu Glu Val Arg Gly
 260 265 270
 Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro Val Ile Ala Glu Asp
 275 280 285
 Ser Arg Lys Leu Thr Lys Leu Asp Asp Lys Thr Ala Asp Tyr Val Arg
 290 295 300
 Ser Gly Leu Thr Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val
 305 310 315 320
 Asn Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Ala Gly
 325 330 335
 Met Leu Glu Ser Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg
 340 345 350
 Glu Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Ser Gly
 355 360 365
 Cys Asp Val Gly Asn Leu Gly Thr Ala Gly Glu Val Glu Cys Gln His
 370 375 380
 Leu Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu
 385 390 395 400
 Trp Ser Ser Lys Thr Glu Ala Thr Thr Trp Asp Thr Ala Thr Ser
 405 410 415

<210> 23
 <211> 1892
 <212> ADN

<213> FATB-C3 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<220>
 <221> CDS
 5 <222> (1)..(507)

<220>
 <221> mat_peptide
 10 <222> (1)..(1889)
 <223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 92

<220>
 <221> raisc_feature
 15 <222> (493)..(495)
 <223> Met conservada

<220>
 <221> CDS
 20 <222> (931)..(1064)

<220>
 <221> misc_feature
 25 <222> (952)..(954)
 <223> Lys conservada

<220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (1024)..(1026)
 <223> val conservada

<220>
 <221> CDS
 35 <222> (1139)..(1252)

<220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (1191)..(1193)
 <223> Met conservada

<220>
 <221> CDS
 45 <222> (1325)..(1496)

<220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (1362)..(1364)
 <223> ser conservada

<220>
 <221> CDS
 55 <222> (1572)..(1889)

<220>
 <221> misc_feature
 60 <222> (1578)..(1580)
 <223> Trp conservado

<220>
 <221> misc_feature
 65 <222> (1596)..(1598)
 <223> Asn conservada

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1602)..(1604)
 <223> His conservada

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1707)..(1709)
 <223> cys conservada

5

<400> 23

atg gtg gcc acc tct gct aca tcc tca ttc ttc cct ctc cca tct tcc Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser 1 5 10 15	48
tct ctc gac cct aat ggc aaa acc aac aaa ctc acc tcc acc aac ttc Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Asn Lys Leu Thr Ser Thr Asn Phe 20 25 30	96
tct gga ctc aac ccc ata cca aac tct tcc ggc agg tta aag gtc aaa Ser Gly Leu Asn Pro Ile Pro Asn Ser Ser Gly Arg Leu Lys Val Lys 35 40 45	144
cca aac gcc caa gct cca tcc aag atc aac ggc aat aat gtc tcc ttg Pro Asn Ala Gln Ala Pro Ser Lys Ile Asn Gly Asn Asn Val Ser Leu 50 55 60	192
cca ggc tca gta cac atc gta aag act gat aat aac cac gat ctc tcg Pro Gly Ser Val His Ile Val Lys Thr Asp Asn Asn His Asp Leu Ser 65 70 75 80	240
caa caa cac gca ccc aga acg ttc atc aac cag cta cct gac tgg agc Gln Gln His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser 85 90 95	288
atg ctt ctc gcc gcc atc aca acg gtc ttc tta gct gct gag aaa cag Met Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln 100 105 110	336
tgg atg atg ctt gac tcg aaa ccg agg cgt tct gat atg att atg gat Trp Met Met Leu Asp Ser Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp 115 120 125	384
ccg ttc ggg tta ggg agg atc gtt cag gat ggg ctt gtg tac cgt cag Pro Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Tyr Arg Gln 130 135 140	432
aac ttc gat atc agg tct tat gaa ata ggt gct gat cgc tct gcg tct Asn Phe Asp Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser 145 150 155 160	480
ata gaa aca gtc atg aac cac tta cag gtatatattaca atcacactcg Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 165	527
attgatacta gagcttgaca tggttggtttt tatctttttta taaattgttt agtgacattt	587
tcaaacatat agatataggt tatttagata ttcttaggtt cctacaaacc taccagact	647
caaaccccggt ccggaatttt ataattattaa taccgaacag agttttattt taaacaaaa	707
aatcagttga cccgcacggg atgttggttt ttatctattt tatacattgt ttaaggacat	767
ttttaaacat ataaatatag gttatttaga tttttctagg ttcttacgaa cctacccgga	827
aatttataat acccgaacat agtttaattt ttaaaccaaa aaatccaata cccgaaaaaa	887
ccaatctgtg atatgcatga tctaactctt gtccctcgtga cag gaa acg gct ctc Glu Thr Ala Leu 170	942
aac cat gtg aag tct gct gga ctg ctg gga gat ggg ttt ggt tct acc	990

Asn	His	Val	Lys	Ser	Ala	Gly	Leu	Leu	Gly	Asp	Gly	Phe	Gly	Ser	Thr		
175						180					185						
cct	gag	atg	gtt	aag	aag	aac	ttg	ata	tgg	gtc	gtt	act	cgt	atg	cag	1038	
Pro	Glu	Met	Val	Lys	Lys	Asn	Leu	Ile	Trp	Val	Val	Thr	Arg	Met	Gln		
190					195					200					205		
gtt	gtc	gtt	gat	aaa	tat	cct	act	tg	gtaagccctc	ttagcactta						1084	
Val	Val	Val	Asp	Lys	Tyr	Pro	Thr	Trp									
				210													
accttaaaac	aatatgcatg	aatcatttgc	ttattcaaat	gtctgcttca	ccag	g	gga									1142	
															Gly		
															215		
gat	gtt	gtt	gaa	gta	gat	aca	tgg	gtt	agt	aag	tct	ggg	aag	aat	ggt	1190	
Asp	Val	Val	Glu	Val	Asp	Thr	Trp	Val	Ser	Lys	Ser	Gly	Lys	Asn	Gly		
				220					225						230		
atg	cgt	cgt	gat	tgg	ctt	gtt	cgg	gat	tgt	aat	act	gga	gaa	att	tta	1238	
Met	Arg	Arg	Asp	Trp	Leu	Val	Arg	Asp	Cys	Asn	Thr	Gly	Glu	Ile	Leu		
			235					240					245				
aca	aga	gca	tca	ag	gttagcttct	ttttgtttac	tccagctatt	atctgattat								1292	
Thr	Arg	Ala	Ser	Ser													
			250														
tgagttataa	ccatctctgt	gttgcaaaac	ag	t	gtg	tgg	gtg	atg	atg	aat	aaa					1346	
					Val	Trp	Val	Met	Met	Asn	Lys						
											255						
gtg	aca	agg	aga	tta	tca	aag	ctt	cct	gaa	gag	gtt	cga	ggg	gaa	ata	1394	
Val	Thr	Arg	Arg	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu	Glu	Val	Arg	Gly	Glu	Ile		
260					265					270					275		
gag	cct	tac	ttt	gtg	aac	tct	gac	cct	atc	ctt	gcc	gag	gac	agc	aga	1442	
Glu	Pro	Tyr	Phe	Val	Asn	Ser	Asp	Pro	Ile	Leu	Ala	Glu	Asp	Ser	Arg		
				280					285					290			
aag	tta	aca	aaa	cta	gat	gag	aag	act	gct	gac	tat	gtt	cgc	tct	ggt	1490	
Lys	Leu	Thr	Lys	Leu	Asp	Glu	Lys	Thr	Ala	Asp	Tyr	Val	Arg	Ser	Gly		
			295					300					305				
ctc	acc	gtaagtataa	atatttgttt	ttatctttca	gcaagtgaga	ttctgatggg										1546	
Leu	Thr																
tttggtgatt	atctaacttt	tgcag	ccg	aga	tgg	agt	gac	ttg	gat	gtt	aac					1598	
			Pro	Arg	Trp	Ser	Asp	Leu	Asp	Val	Asn						
			310					315									
cag	cat	gtt	aac	aac	gtg	aag	tac	att	ggt	tgg	ata	ctc	gag	agt	gct	1646	
Gln	His	Val	Asn	Asn	Val	Lys	Tyr	Ile	Gly	Trp	Ile	Leu	Glu	Ser	Ala		
	320					325					330						
cca	gtg	gag	atg	atg	gag	aag	cat	aag	ctg	aaa	agc	atg	act	ctg	gag	1694	
Pro	Val	Glu	Met	Met	Glu	Lys	His	Lys	Leu	Lys	Ser	Met	Thr	Leu	Glu		
335					340					345					350		
tat	agg	agg	gaa	tgc	ggg	aga	gac	agt	gtg	ctt	cag	tct	ctc	acc	gcg	1742	
Tyr	Arg	Arg	Glu	Cys	Gly	Arg	Asp	Ser	Val	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Ala		
				355					360					365			
gtt	tcg	ggt	tgc	gat	gtt	ggt	agc	ctc	ggg	aca	gct	ggt	gaa	gtg	gaa	1790	
Val	Ser	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Glu	Val	Glu		
			370					375					380				
tgt	cag	cat	ttg	ctt	cga	ctc	cag	gat	gga	gct	gaa	gtg	gtg	aag	gga	1838	
Cys	Gln	His	Leu	Leu	Arg	Leu	Gln	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Gly		

385 390 395
 cga aca gtg tgg agt tcc aaa aca cca tca aca act tgg gac act aca 1886
 Arg Thr Val Trp Ser Ser Lys Thr Pro Ser Thr Trp Asp Thr Thr
 400 405 410
 tcg taa 1892
 Ser
 415

<210> 24
 <211> 415
 <212> PRT
 <213> FATB-C3 de tipo silvestre de Brassica Napus SOSR

<400> 24

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Pro Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Asn Lys Leu Thr Ser Thr Asn Phe
 20 25 30

Ser Gly Leu Asn Pro Ile Pro Asn Ser Ser Gly Arg Leu Lys Val Lys
 35 40 45

Pro Asn Ala Gln Ala Pro Ser Lys Ile Asn Gly Asn Asn Val Ser Leu
 50 55 60

Pro Gly Ser Val His Ile Val Lys Thr Asp Asn Asn His Asp Leu Ser
 65 70 75 80

Gln Gln His Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser
 85 90 95

Met Leu Leu Ala Ala Ile Thr Thr Val Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln
 100 105 110

Trp Met Met Leu Asp Ser Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Ile Met Asp
 115 120 125

Pro Phe Gly Leu Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Tyr Arg Gln
 130 135 140

Asn Phe Asp Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser
 145 150 155 160

Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val
 165 170 175

Lys Ser Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met
 180 185 190

Val Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val
 195 200 205

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

<210> 25
 <211> 487
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sonda 5' AtFATB1

<400> 25

gaactttcat caaccagtta cctgactgga gcatgcttct tgctgctata actacgattt	60
tcttagcggc tgagaaacag tggatgatgc ttgattggaa acctaggcgt tctgacatgc	120
tggtggatcc ttttgggtata gggagaattg ttcaggatgg ccttggtgtc cgtcagaatt	180
tttctattag gtcatatgaa atagggtgctg atcgctctgc atctatagaa accgtcatga	240

	atcatctgca ggtaccattt gattatgatt acggttacct gttgtcactg gtttaattga	300
	tatgtatgaa caagctctta tgctcatgac aggaaacggc gcttaatcat gtttaagactg	360
	ctggattgct tggagatggg tttggctcta cacctgagat gtttaagaag gacttgatat	420
	gggttgtcac tcgtatgcag gttgtggttg ataaatatcc tacttggtaa gctatcctct	480
	tgcataa	487
5	<210> 26 <211> 22 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> cebador de oligonucleótido KVA05-14	
	<400> 26 gaactttcat caaccagtta cc	22
15	<210> 27 <211> 22 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> cebador de oligonucleótido KVA05-15	
	<400> 27 ttatgaaga ggatagctta cc	22
25	<210> 28 <211> 352 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> sonda 3' AtFATB1	
	<400> 28 cagtggtggtg gtgatgatga ataaactgac aaggagattg tcaaagattc ctgaagaggt	60
	tcgagggggaa atagagcctt attttgtgaa ttctgatcct gtccttgccg aggacagcag	120
	aaagttaaca aaaattgatg acaagactgc tgactatggt cgatctgggtc tctactgtaag	180
	tatctagtat ttactgctgt atgtttcaac aaacctttga ccagcttgta agactctcta	240
	atggccttggg aatgaacatt ttcagcctcg atggagtgc ctagatgta accagcatgt	300
35	gaataatgta aagtacattg ggtggatcct ggagagtgc ctagtgggaa ta	352
40	<210> 29 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> cebador de oligonucleótido KVA05-16	
45	<400> 29 cagtggtggtg gtgatgatga	20
	<210> 30	

	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> cebador de oligonucleótido KVA05-17	
	<400> 30	
10	tattccact ggagcactct	20
	<210> 31	
	<211> 21	
	<212> ADN	
15	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de FATB-A1 (SOSR)	
	<400> 31	
20	ctgataacga gacgtctca c	21
	<210> 32	
	<211> 20	
25	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-A1 (SORS)	
30	<400> 32	
	catcctggag acggagcagg	20
	<210> 33	
35	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
40	<223> Cebador directo para la detección de FATB-A2 (SOSR)	
	<400> 33	
	ctgcctgact ggagtatgct g	21
45	<210> 34	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
50	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-A2 (SOSR)	
	<400> 34	
	gttggtgctc ctgtcttga g	21
55	<210> 35	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
60	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de FATB-A3 (SOSR)	
	<400> 35	
65	gcagtggatg atgcttgata c	21
	<210> 36	

	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-A3 (SOSR)	
	<400> 36	
10	caagtcgttg atggtgtttt c	21
	<210> 37	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
15	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de FATB-C1 (SOSR)	
	<400> 37	
20	ctgcctgact ggagcatgct c	21
	<210> 38	
	<211> 21	
	<212> ADN	
25	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-C1 (SOSR)	
30	<400> 38	
	gttcttcttc tcaccacttc g	21
	<210> 39	
	<211> 21	
35	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de FATB-C2 (SOSR)	
40	<400> 39	
	atcggtcagg atggtcttgt c	21
	<210> 40 .	
45	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
50	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-C2 (SOSR)	
	<400> 40	
	gcagtccttgt catcaagttt g	21
55	<210> 41	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
60	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de FATB-C3 (SOSR)	
	<400> 41	
65	acagtggatg atgcttgact c	21
	<210> 42	

	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de FATB-C3 (SOSR)	
	<400> 42	
	cgaacatagt cagcagtctt c	21
10	<210> 43	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
15	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-A1	
	<400> 43	
20	cagtcttaac atggttgagt g	21
	<210> 44	
	<211> 21	
	<212> ADN	
25	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo para la detección de mutación de delección en FATB-A2	
30	<400> 44	
	catgttccat cttcttcctc g	21
	<210> 45	
	<211> 21	
35	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-A2	
40	<400> 45	
	tattgggaca acatgtgagt g	21
	<210> 46	
45	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
50	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-A3	
	<400> 46	
	ttcttcttaa ccatctcagg t	21
55	<210> 47	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
60	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-C1	
	<400> 47	
	ccaaacccat ctccaagcag c	21
65	<210> 48	

	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-C2	
	<400> 48	
	taactcaca cgagaaccag g	21
10	<210> 49	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
15	<220>	
	<223> Cebador inverso para la detección de mutación de delección en FATB-C3	
	<400> 49	
20	cttgataat ctcctgtca c	21
	<210> 50	
	<211> 22	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1-EMS05	
30	<400> 50	
	ggcggctgag aagcagtga ta	22
	<210> 51	
	<211> 22	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1	
40	<400> 51	
	ggcggctgag aagcagtga tg	22
	<210> 52	
45	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
50	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1-EMS05 y -A1	
	<400> 52	
	ggactgaagc aactgtcc	19
55	<210> 53	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1-EMS06	
	<400> 53	
	cagtggatga tgcttgactg a	21
65	<210> 54	

	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A1	
	<400> 54	
10	cagtggatga tgctgactg g	21
	<210> 55	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A1-EMS06 y -A1	
	<400> 55	
20	gcatacgagt aacaacccaa	20
	<210> 56	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2-EMS05	
	<400> 56	
30	agcagcaagc agcatacttc	20
	<210> 57	
	<211> 20	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2	
40	<400> 57	
	tagcagcaag cagcatactc	20
	<210> 58	
45	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
50	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2-EMS05 y -A2	
	<400> 58	
	gagttgggtc cactaatattt g	21
55	<210> 59	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2-EMS01	
	<400> 59	
	gagttgggtc cactaatattt g	21
65	<210> 60	

	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A2	
	<400> 60	
10	cggaacacaa gaccatccta	20
	<210> 61	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A2-EMS01 y -A2	
	<400> 61	
20	cggaacacaa gaccatcctg	20
	<210> 62	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3-EMS01	
30	<400> 62	
	tatttatcaa ctacaaccta	20
	<210> 63	
	<211> 20	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-A3	
40	<400> 63	
	tatttatcaa ctacaacctg	20
	<210> 64	
45	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
50	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-A3-EMS01 y -A3	
	<400> 64	
	caatggcaaa accaacaag c	21
55	<210> 65	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1-EMS05	
	<400> 65	
65	gttaagaaga acttgatg a	21
	<210> 66	

	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1	
	<400> 66	
10	gttaagaaga acttgatg g	21
	<210> 67	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C1-EMS05, -C1-EMS04, y -C1	
	<400> 67	
20	gttcttctc tcaccactc g	21
	<210> 68	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1-EMS04	
30	<400> 68	
	cggttatgaa tcatttaca	20
	<210> 69	
	<211> 20	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C1	
40	<400> 69	
	cggttatgaa tcatttacag	20
	<210> 70	
45	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
50	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2-EMS02	
	<400> 70	
	gtctgacaac gagacttcgt	20
55	<210> 71	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2	
	<400> 71	
	gtctgacaac gagacttcgc	20
65	<210> 72	

	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2-EMS02 y -C2	
	<400> 72	
10	cagtattgca atcccgaacc	20
	<210> 73	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2-EMS03	
	<400> 73	
20	tggcggctga gaaacagtga	20
	<210> 74	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C2	
30	<400> 74	
	tggcggctga gaaacagtgg	20
	<210> 75	
	<211> 21	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C2-EMS03 y -C2	
40	<400> 75	
	agggtactta cagtgagacc c	21
	<210> 76	
45	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
50	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C3-EMS02	
	<400> 76	
	cagtcagaa ccacttacag a	21
55	<210> 77	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido directo para la detección de FATB-C3	
	<400> 77	
	cagtcagaa ccacttacag g	21
65	<210> 78	

	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótido inverso para la detección de FATB-C3-EMS02 y -C3	
	<400> 78	
	caacctgcat acgagtaacg	20
10	<210> 79	
	<211> 2864	
	<212> ADN	
	<213> FATB1 de tipo silvestre de Arabidopsis thaliana	
15	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (501)..(998)	
20	<220>	
	<221> mat_peptide	
	<222> (501)..(2361)	
	<223> el péptido maduro comienza en el aminoácido 89	
25	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (984)..(986)	
	<223> Met conservada	
30	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (1080)..(1213)	
35	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1101)..(1103)	
	<223> Lys conservada	
40	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1173)..(1175)	
	<223> val conservada	
45	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (1441)..(1554)	
50	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1493)..(1495)	
	<223> Met conservada	
55	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (1782)..(1953)	
60	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1819)..(1821)	
	<223> ser conservada	
65	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (2044)..(2361)	
	<220>	

```

<221> misc_feature
<222> (2050)..(2052)
<223> Trp conservado

5      <220>
      <221> misc_feature
      <222> (2068)..(2070)
      <223> Asn conservada

10     <220>
      <221> misc_feature
      <222> (2074)..(2076)
      <223> His conservada

15     <220>
      <221> misc_feature
      <222> (2179)..(2181)
      <223> cys conservada

20     <400> 79

acaagttttt gtttttcttt tgcgtttcta cgatctgggt ttaccggcct tagctttttc      60
tcgcttctgt tctttgttgt tttgtatttc agatctgggt ttttttttct tacctgcatc      120
aaattgggtt ctaccaaaac ttcggaaaacc tcttttggca aatgttgaat ctttgaatac      180
aatgacgatt tacataatag tctcagtggc cgaactggat tatcttaca tttacgcaat      240
aacaaaaagt tttttttttt tttttttttt tgtgtgtgtg tgtgggtgtg tgaagatttt      300
tagtgtttgt ttacttcggt tatggaagtc cttttcctct tctgccattt ttgtagttaa      360
ctacaaatta tacctacttt aggaagatcc tcctgctagt agctaaaaga tgtagcattt      420
attttattat cactcacttg agctaacttt tttcgatctt tatttggtgg cagtgtcttt      480
gaacgcttca tctcctcgtc atg gtg gcc acc tct gct acg tcg tca ttc ttt      533
                        Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe
                        1          5          10

cct gta cca tct tct tca ctt gat cct aat gga aaa ggc aat aag att      581
Pro Val Pro Ser Ser Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Gly Asn Lys Ile
                15                20                25

```

ggg tct acg aat ctt gct gga ctc aat tct gca cct aac tct ggt agg Gly Ser Thr Asn Leu Ala Gly Leu Asn Ser Ala Pro Asn Ser Gly Arg 30 35 40	629
atg aag gtt aaa cca aac gct cag gct cca cct aag att aat ggg aaa Met Lys Val Lys Pro Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys 45 50 55	677
aag gtt ggt ttg cct ggt tct gta gat att gta agg act gat acc gag Lys Val Gly Leu Pro Gly Ser Val Asp Ile Val Arg Thr Asp Thr Glu 60 65 70 75	725
acc tca tca cac cct gcg ccg aga act ttc atc aac cag tta cct gac Thr Ser Ser His Pro Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp 80 85 90	773
tgg agc atg ctt ctt gct gct ata act acg att ttc tta gcg gct gag Trp Ser Met Leu Ala Ala Ile Thr Ile Phe Leu Ala Glu 95 100 105	821
aaa cag tgg atg atg ctt gat tgg aaa cct agg cgt tct gac atg ctg Lys Gln Trp Met Met Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Leu 110 115 120	869
gtg gat cct ttt ggt ata ggg aga att gtt cag gat ggc ctt gtg ttc Val Asp Pro Phe Gly Ile Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe 125 130 135	917
cgt cag aat ttt tct att agg tca tat gaa ata ggt gct gat cgc tct Arg Gln Asn Phe Ser Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser 140 145 150 155	965
gca tct ata gaa acc gtc atg aat cat ctg cag gtaccatttg attatgatta Ala Ser Ile Glu Thr Val Met Asn His Leu Gln 160 165	1018
cggttacctg ttgtcactgg tttaattgat atgtatgaac aagctcttat gctcatgaca	1078
g gaa acg gcg ctt aat cat gtt aag act gct gga ttg ctt gga gat ggg Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala Gly Leu Leu Gly Asp Gly 170 175 180	1127
ttt ggc tct aca cct gag atg ttt aag aag aac ttg ata tgg gtt gtc Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe Lys Lys Asn Leu Ile Trp Val Val 185 190 195	1175
act cgt atg cag gtt gtg gtt gat aaa tat cct act tg gtaagctatc Thr Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr Pro Thr Trp 200 205 210	1223
ctcttgcata aacctgggttc tgcagggttca tgctctcact ctttttaacc aggtttggga	1283
aaaatgatgt gtatttcggt ttttcagttg atactgcttt tacagtacga gatatatgct	1343
catatgacta atgacttctt gcaccctgaa ttatatgctc tgcattgcata ttatattgca	1403
tcataactca ttgtcttatt caatatatgc ctacacag g gga gat gtt gtt gaa Gly Asp Val Val Glu 215	1456
gta gac acc tgg gtc agt cag tct gga aag aat ggt atg cgt cgt gat Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser Gly Lys Asn Gly Met Arg Arg Asp 220 225 230	1504
tgg cta gtt cgg gac tgt aat act gga gaa acc tta aca cga gca tca Trp Leu Val Arg Asp Cys Asn Thr Gly Glu Thr Leu Thr Arg Ala Ser 235 240 245	1552

ag gttagatttt cttttggtat atttataagt tattctcatt ttcttcatct 1604
 Ser

 gatcattcat tggcttttct gatgaagata cctgatgtct ttactctctt tttatagtgt 1664
 ttgctctatc atcaattaaa caaaaaacta cacaagttta tgtaatgaat aattaggaat 1724
 tttttggtct catggggttag ctatttgaca gatgtattgc aaaatattat cttgcag t 1782
 gtg tgg gtg atg atg aat aaa ctg aca agg aga ttg tca aag att cct 1830
 Val Trp Val Met Met Asn Lys Leu Thr Arg Arg Leu Ser Lys Ile Pro 265
 250 255 260
 gaa gag gtt cga ggg gaa ata gag cct tat ttt gtg aat tct gat cct 1878
 Glu Glu Val Arg Gly Glu Ile Glu Pro Tyr Phe Val Asn Ser Asp Pro 280
 270 275
 gtc ctt gcc gag gac agc aga aag tta aca aaa att gat gac aag act 1926
 Val Leu Ala Glu Asp Ser Arg Lys Leu Thr Lys Ile Asp Asp Lys Thr 295
 285 290
 gct gac tat gtt cga tct ggt ctc act gtaagtatct agtatttact 1973
 Ala Asp Tyr Val Arg Ser Gly Leu Thr 305
 300
 gctgtatggt tcaacaaacc ttgaccagc ttgtaagact ctctaattggc ttggtaatga 2033
 acattttcag cct cga tgg agt gac cta gat gtt aac cag cat gtg aat 2082
 Pro Arg Trp Ser Asp Leu Asp Val Asn Gln His Val Asn 315
 310
 aat gta aag tac att ggg tgg atc ctg gag agt gct cca gtg gga ata 2130
 Asn Val Lys Tyr Ile Gly Trp Ile Leu Glu Ser Ala Pro Val Gly Ile 335
 320 325 330
 atg gag agg cag aag ctg aaa agc atg act ctg gag tat cgg agg gaa 2178
 Met Glu Arg Gln Lys Leu Lys Ser Met Thr Leu Glu Tyr Arg Arg Glu 350
 340 345
 tgc ggg aga gac agt gtg ctt cag tcc ctc act gca gtt acg ggt tgc 2226
 Cys Gly Arg Asp Ser Val Leu Gln Ser Leu Thr Ala Val Thr Gly Cys 365
 355 360
 gat atc ggt aac ctg gca aca gcg ggg gat gtg gaa tgt cag cat ttg 2274
 Asp Ile Gly Asn Leu Ala Thr Ala Gly Asp Val Glu Cys Gln His Leu 380
 370 375
 ctc cga ctc cag gat gga gcg gaa gtg gtg aga gga aga aca gag tgg 2322
 Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Glu Val Val Arg Gly Arg Thr Glu Trp 395
 385 390
 agt agt aaa aca cca aca aca act tgg gga act gca ccg taagaaaaag 2371
 Ser Ser Lys Thr Pro Thr Thr Trp Gly Thr Ala Pro 410
 400 405
 aaaacacaac aacaatggct catttgaatc cccttgtaac tatatctgct actaccacct 2431
 tgcttgcttg caaccaccac caccaccacc accatttcat gtcctcctcc tcacaaaagt 2491
 ttcggccacc aaccctttgt atatttcttt ttttggttct tcttcttttt ttattcgatg 2551
 gagatttatt atatttattt aatctttcta tttatttttt tgcttaatgg gaaatgggtg 2611
 tcgtgtatca ttacgaattc tgatgttatg taacccatgt gccagcggaa gacaaaggca 2671
 tcaactctct cttatcctaa atttattgta ctttgttgag tttttagatt gtttccagct 2731
 aaacaagcac gtggacgatc cttgtaatga atttgtatga atgtgatgcc ttgtacctgt 2791
 aaatttgatt gaaaggctat ttaataaaca cgaacaacca aaacggtttg tccaaacaat 2851
 aaagccatcg cat 2864

5

<210> 80
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> FATB1 de tipo silvestre de Arabidopsis thaliana
 <400> 80

```

Met Val Ala Thr Ser Ala Thr Ser Ser Phe Phe Pro Val Pro Ser Ser
1          5          10          15

Ser Leu Asp Pro Asn Gly Lys Gly Asn Lys Ile Gly Ser Thr Asn Leu
          20          25          30

Ala Gly Leu Asn Ser Ala Pro Asn Ser Gly Arg Met Lys Val Lys Pro
          35          40          45

Asn Ala Gln Ala Pro Pro Lys Ile Asn Gly Lys Lys Val Gly Leu Pro
          50          55          60

Gly Ser Val Asp Ile Val Arg Thr Asp Thr Glu Thr Ser Ser His Pro
65          70          75          80

Ala Pro Arg Thr Phe Ile Asn Gln Leu Pro Asp Trp Ser Met Leu Leu
          85          90          95

Ala Ala Ile Thr Thr Ile Phe Leu Ala Ala Glu Lys Gln Trp Met Met
          100          105          110

Leu Asp Trp Lys Pro Arg Arg Ser Asp Met Leu Val Asp Pro Phe Gly
          115          120          125

Ile Gly Arg Ile Val Gln Asp Gly Leu Val Phe Arg Gln Asn Phe Ser
          130          135          140

Ile Arg Ser Tyr Glu Ile Gly Ala Asp Arg Ser Ala Ser Ile Glu Thr
          145          150          155          160

Val Met Asn His Leu Gln Glu Thr Ala Leu Asn His Val Lys Thr Ala
          165          170          175

Gly Leu Leu Gly Asp Gly Phe Gly Ser Thr Pro Glu Met Phe Lys Lys
          180          185          190

Asn Leu Ile Trp Val Val Thr Arg Met Gln Val Val Val Asp Lys Tyr
          195          200          205

Pro Thr Trp Gly Asp Val Val Glu Val Asp Thr Trp Val Ser Gln Ser
          210          215          220

```

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

<210> 81
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS05

<400> 81
 gcgcctcggt ttccagtcaa gcatcatc

28

<210> 82
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS05

<400> 82
 tcactgcttc tcagcc

16

5	<210> 83 <211> 32 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS06 <400> 83 gatccataat cacgtcagag cgcctcgggt tc	32
15	<210> 84 <211> 17 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A1-EMS06 <400> 84 tcagtcaagc atcatcc	17
25	<210> 85 <211> 40 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS01 <400> 85 acctaattgga aaaattctga cggaacacaa gaccatcctt	40
35	<210> 86 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
40	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS01 <400> 86 aaacaattct ccctaaacca	20
45	<210> 87 <211> 40 <212> ADN <213> Artificial	
50	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS05 <400> 87 tgccaagaaa atggtagtta tagcagcaag cagcatactc	40
55	<210> 88 <211> 14 <212> ADN <213> Artificial	
60	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A2-EMS05 <400> 88 tcagtcaggc agct	14

5	<210> 89 <211> 41 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A3-EMS01 <400> 89 aagagagctt accaagtagg atatttatca actacaacct t	41
15	<210> 90 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-A3-EMS01 <400> 90 acatacgagt aacaaccc	18
25	<210> 91 <211> 43 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS04 <400> 91 ccagtaacaa caagcgacta caatcataat cataatcagt ace	43
35	<210> 92 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
40	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS04 <400> 92 ttgtaaatga ttcataaccg ttt	23
45	<210> 93 <211> 41 <212> ADN <213> Artificial	
50	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS05 <400> 93 taggatattt atcaacgaca acctgcatac gagtaacaac c	41
55	<210> 94 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
60	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C1-EMS05 <400> 94 tcatatcaag ttcttcttaa cca	23
65		

5	<210> 95 <211> 43 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS02	
	<400> 95 cctgggtctg tagagatatc aaagtctgac aacgagactt cgc	43
15	<210> 96 <211> 12 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS02	
	<400> 96 tagcccgcac cc	12
25	<210> 97 <211> 31 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS03	
	<400> 97 agaacgcctg gggtccagt caagcatcat c	31
35	<210> 98 <211> 16 <212> ADN <213> Artificial	
40	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C2-EMS03	
45	<400> 98 tcactgttc tcagcc	16
50	<210> 99 <211> 40 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C3-EMS02	
55	<400> 99 cgctctgcgt ctatagaaac agtcatgaac cacttacagt	40
60	<210> 100 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> oligonucleótido para la detección de FATB-C3-EMS02	
65	<400> 100 atatattaca atcacactcg attg	24

5	<210> 101 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> oligonucleótido para la detección de ENDO1 <400> 101 tgaggagcgt ggtggtcca cacctt	26
15	<210> 102 <211> 13 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> oligonucleótido para la detección de ENDO1 <400> 102 cgatgcgacc agc	13

REIVINDICACIONES

1. Una planta de *Brassica*, o una célula, parte, semilla o progenie de la misma, caracterizada porque comprende al menos tres alelos *FATB* mutantes en su genoma, que producen aceite de semillas, en la que el aceite de semillas tiene menos del 7 % en peso de ácidos grasos saturados, basado en la cantidad total de ácidos grasos en el aceite de semillas,
 en la que dichos alelos *FATB* mutantes son alelos mutantes de un gen que codifica una proteína *FATB* funcional, en la que el gen *FATB* funcional comprende una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
 - una molécula de ácido nucleico que comprende al menos el 90 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 1, SEC ID N°: 3, SEC ID N°: 5, SEC ID N°: 7, SEC ID N°: 9 o SEC ID N°: 11; y
 - una molécula de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende al menos el 90 % de identidad de secuencias con SEC ID N°: 2, SEC ID N°: 4, SEC ID N°: 6, SEC ID N°: 8, SEC ID N°: 10 o SEC ID N°: 12
 en la que dichos alelos *FATB* mutantes comprenden una región de ADN mutada que consiste en uno o más nucleótidos insertados, delecionados o sustituidos en comparación con una región de ADN no mutante correspondiente en el gen *FATB* funcional y en la que dichos alelos *FATB* mutantes codifican una proteína no funcional que no tiene actividad de acil ACP-tioesterasa *in vivo*, o no codifica proteína.
2. La planta de *Brassica*, o una célula, parte, semilla o progenie de la misma según la reivindicación 1, en la que dichos alelos *FATB* mutantes están seleccionados del grupo que consiste en:
 - un alelo *FATB* mutante que comprende una deleción de un gen *FATB* que tiene la secuencia de SEC ID N°: 13;
 - un alelo *FATB* mutante que comprende una deleción de un gen *FATB* que tiene la secuencia de SEC ID N°: 15;
 - un alelo *FATB* mutante que comprende una deleción de un gen *FATB* que tiene la secuencia de SEC ID N°: 21;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 13, en la que la g en la posición 279 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 13, en la que la g en la posición 333 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 13, en la que la g en la posición 348 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 15, en la que la g en la posición 282 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 15, en la que la c en la posición 406 está sustituida con t;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 17, en la que la c en la posición 845 está sustituida con t;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 19, en la que la g en la posición 668 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 21, en la que la c en la posición 235 está sustituida con t;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 21, en la que la c en la posición 331 está sustituida con t;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 21, en la que la g en la posición 336 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 13, en la que la g en la posición 502 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 13, en la que la g en la posición 587 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 15, en la que la g en la posición 505 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 15, en la que la g en la posición 504 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 19, en la que la g en la posición 498 está sustituida con a;
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 21, en la que la g en la posición 581 está sustituida con a; y
 - una molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 23, en la que la g en la posición 508 está sustituida con a.
3. Una planta según la reivindicación 1 ó 2, en la que el aceite de semillas tiene igual o inferior al 3,5 % en peso de ácidos grasos saturados, especialmente ácido palmítico y/o esteárico, basado en la cantidad total de ácidos grasos en el aceite de semillas.
4. Una planta según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha planta es una especie oleaginosa de *Brassica*, preferentemente *Brassica napus*, *Brassica juncea* o *Brassica rapa*.
5. Un método para producir aceite de semillas que comprende las etapas de recoger las semillas de una planta de *Brassica* que comprende al menos tres alelos *FATB* mutantes como se describen en la reivindicación 1 ó 2 en su genoma, y extraer el aceite de dichas semillas.
6. Una planta de *Brassica*, o una célula, parte, semilla o progenie de la misma
 - que comprende una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 13 en la que la g en la posición 333 está sustituida con a, una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 17 en la que la c en la posición 845 está sustituida con t, una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 19 en la que la g en la posición 498 está sustituida con a, y una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 23 en la que la g en la posición 508 está sustituida con a, semilla de *Brassica* de referencia que se ha depositado en la NCIMB Limited el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41568,
 - que comprende una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 13 en la que la g en la posición 348 está sustituida con a, una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 15 en la que la c en la posición 406 está sustituida con t, una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 19 en la que la g en la posición 668 está

sustituida con a, y una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 21 en la que la g en la posición 336 está sustituida con a, semilla de *Brassica* de referencia que se ha depositado en la NCIMB Limited el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41567, o

- 5 - que comprende una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 15 en la que la g en la posición 282 está sustituida con a, una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 19 en la que la g en la posición 668 está sustituida con a, y una secuencia de ácidos nucleicos de SEC ID N°: 21 en la que la c en la posición 235 está sustituida con t, semilla de *Brassica* de referencia que se ha depositado en la NCIMB Limited el 27 de junio de 2008, bajo el número de acceso NCIMB 41566.

Figura 1

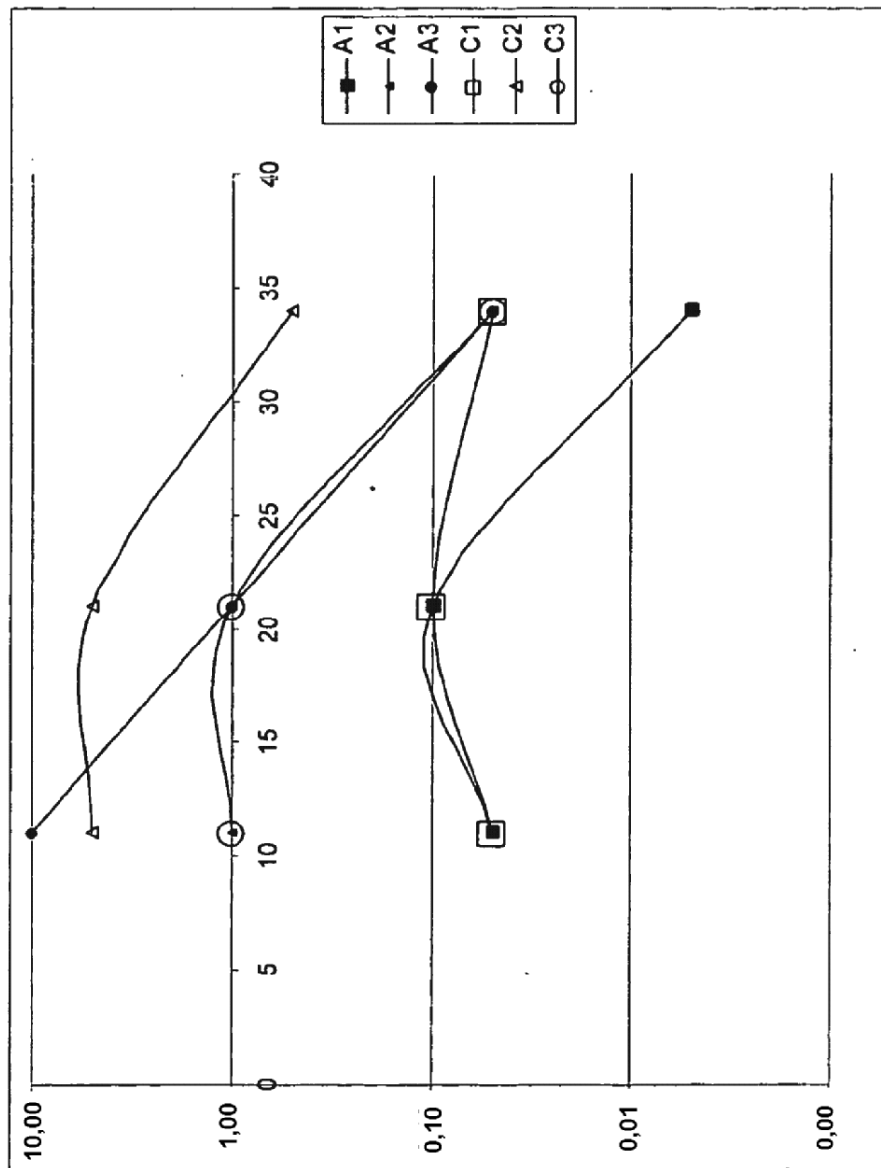


Figura 2

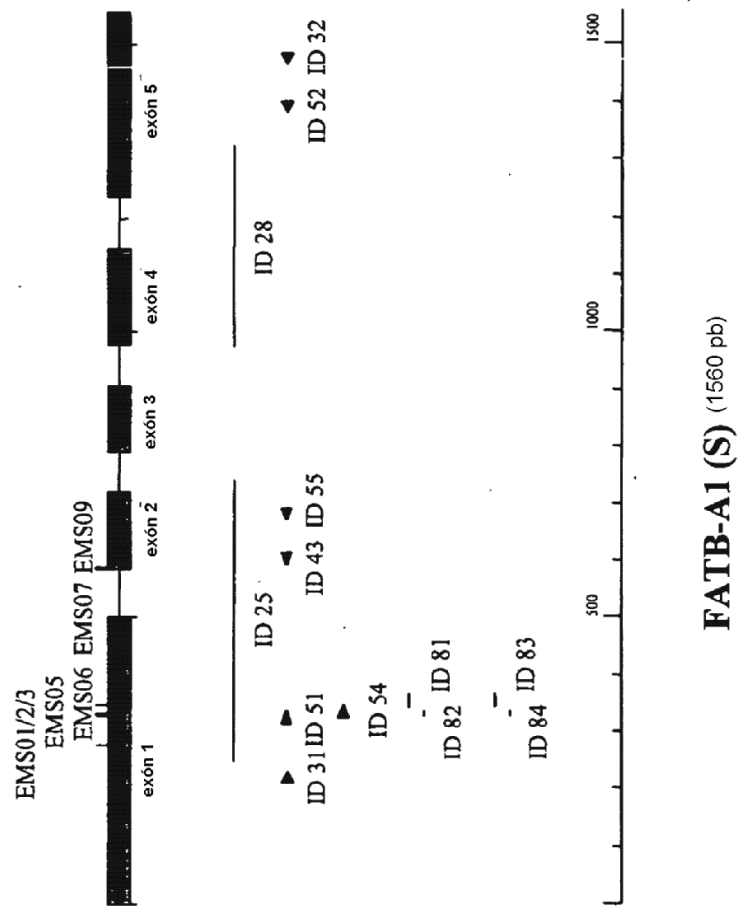
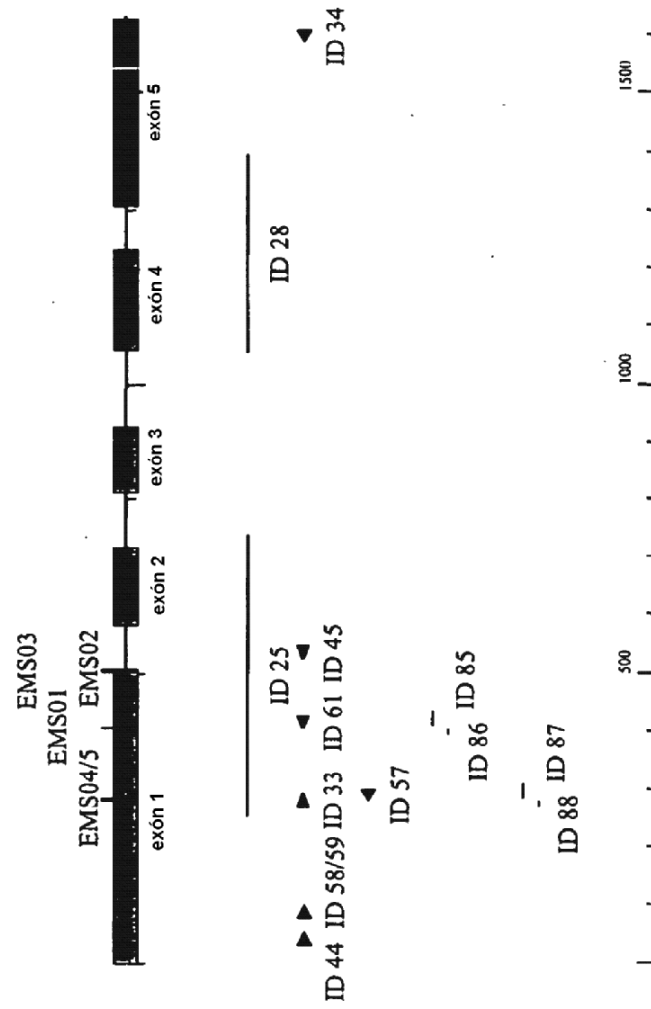


Figura 3



FATB-A2 (S) (1632 pb)

Figura 4

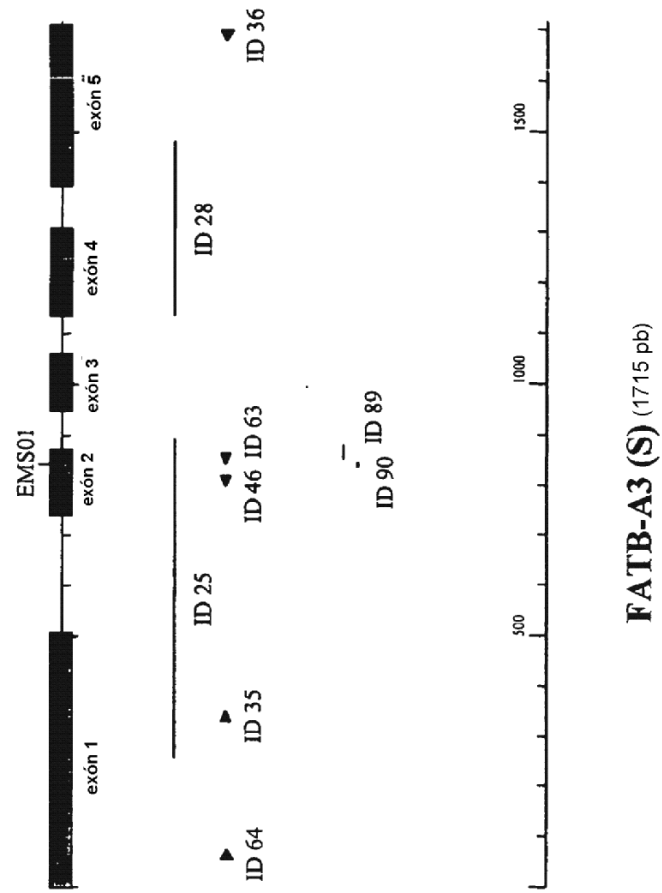


Figura 5

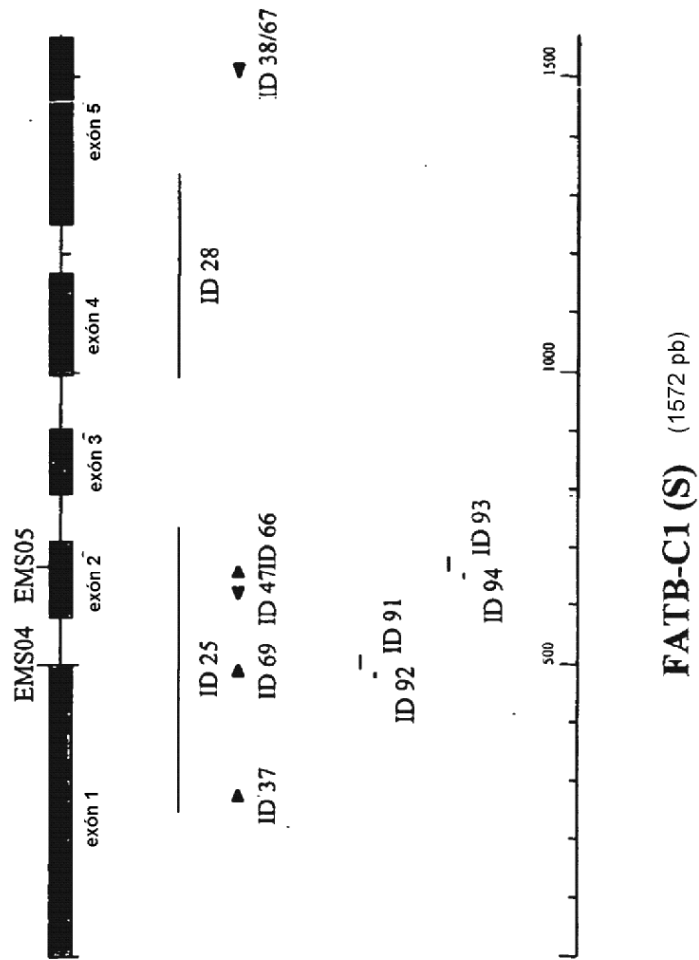


Figura 6

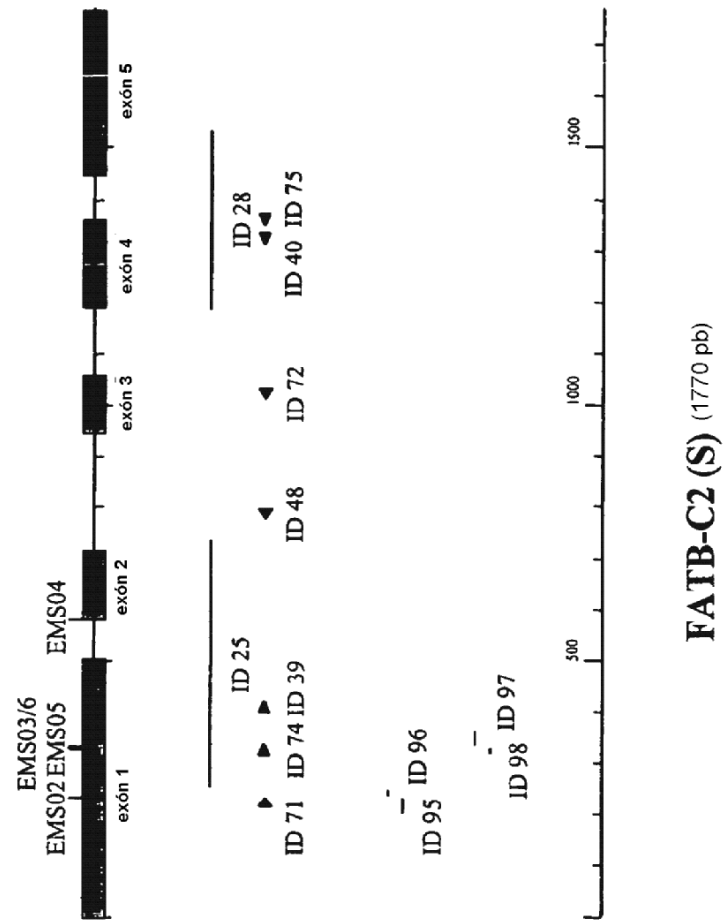
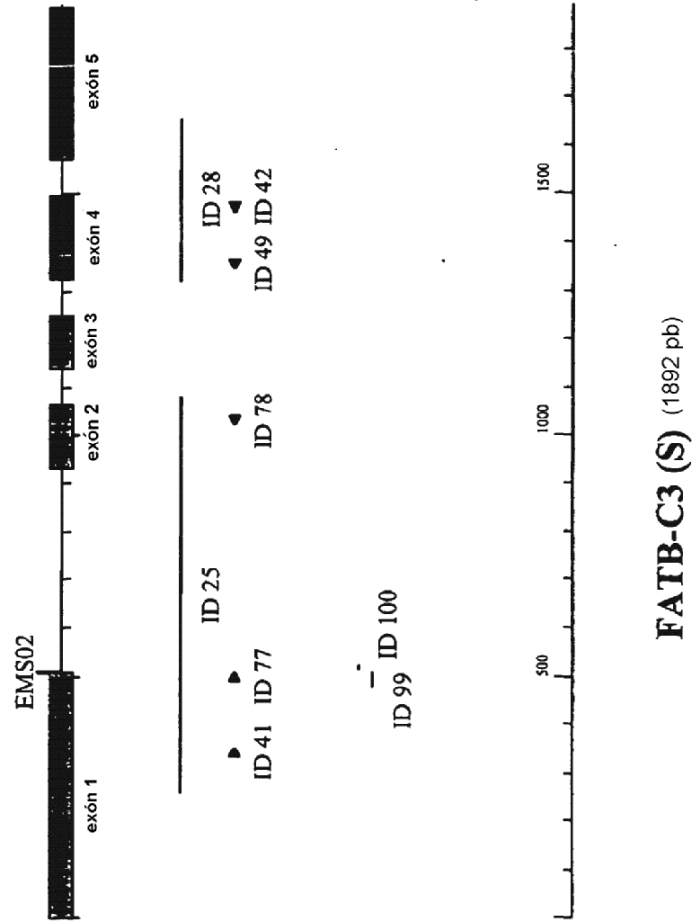


Figura 7



[illegible]

[illegible]