

Evaluation of the CRISPR/Cas9 system for the development of resistance against *Cotton leaf curl virus* in model plants

SEHRISH KHAN^{1*}, MUHAMMAD SHAHID MAHMOOD¹, SAJJAD UR RAHMAN¹,
FARZANA RIZVI², AFTAB AHMAD^{3*}

¹*Institute of Microbiology, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan*

²*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, University of Agriculture,
Faisalabad, Pakistan.*

³*Department of Biochemistry/U.S.-Pakistan Center for Advanced Studies in Agriculture
and Food Security, University of Agriculture Faisalabad, Faisalabad, Pakistan.*

**Corresponding authors: aftab.ahmad@uaf.edu.pk, sana88k@gmail.com*

Electronic supplementary material (ESM)

Supplementary material 1. >NC_004583.1 *Cotton leaf curl Kokhran virus*, complete genome

ACCGGATGGCCGCGCGATTTTTTTGTGGGCCCTACCATTAACCTCTTGTCGGCCAATCATATGACGC
GCTCAAAGCTTAAATAATTCTCCCGCTTATTATAAGTACTTCGTTGCTAAGTATGCGTTTGAAAAAT
GTGGGATCCACTGTAAATGAGTTCCCCGACACCGTTCACGGTTTTAGGTGTATGTTAGCAGTTAA
ATATTTGCAGTTAGTAGAGAAAACCTACTCTCCTGATACATTGGGTTACGATTTGATAAGGGATTT
AATCCTGGTAATAAGGGCTAGGAATTATGTGGAAGCGACCAGCAGATATAATCATTTCCACGCCCG
CTTCGAAGGTACGCCGCCGTCTCAACTTCGACAGCCCATATGTGAGCCGTGCTGCTGCCCCCATTG
TCCGCGTCACCAAAGCAAAAGCATGGGCGAACAGGCCCATGAACAGAAAGCCCAGGATGTACAGGA
TGTACAGAAGTCCAGATGTTCCCTAGAGGATGTGAAGGTCCATGTAAGGTTTCAGTCGTTTGAGTCCA
GACATGATATTCAGCATATAGGTAAAGTAATGTGTGTTAGTGATGTTACTCGTGGTACTGGGCTGA
CCCATAGAGTTGGTAAGAGATTTTTGTGTAAAGTCTGTTTATGTGTTGGGTAAGATCTGGATGGATG
AGAACATTAAGACGAAGAATCACACGAATAGTGTGATGTTTTTCTTGGTTAGAGATCGTAGACCTG
TTGATAAACCTCAAGATTTTGGAGAGGTATTTAATATGTTTGATAATGAGCCCAGTACGGCGACTG
TGAAGAATGTTTCATCGTGATAGGTATCAAGTTCTGCGCAAATGGTATGCAACTGTCACCGGTGGAC
AATACGCTTCAAAGGAACAAGCTCTCGTGAAGAAATTTATTAGAGTTAATAATTATGTTGTGTATA
ACCAGCAGGAAGCTGGCAAGTATGAGAATCATTCTGAGAATGCTTTAATGTTGTATATGGCGTGTA
CTCACGCCTCTAACCAGTGTATGCTACCTTGAAGATACGGATCTACTTCTATGATTCC

GTGACAAATTAATAAATATTGAATTTTATTGAAGATGATTGGTCTACAAATACAACATGTTGTAAT
ACATTCCATAATACATGATCAACTGCTCTAACTACATTATTAATACTGACAATTCCTAAGTTATTTA
AATATTTAAGCACTTGAGTCCTAAAGACCCTTAAGAAACGACCAGTCGGAGGCTGTGAGGTCATCC
AGATTTCGGAAAGCTATGAAACATTTGTGTATCCCCAACGCTTTCCTCAGGTTGTGATTGAACTGTA
TCTGGACGGTGATGATGTCTCTGTTTCATTAGGAATGCTCGATTGTGGTGCTCTGTTATCTTGAAAT
ACAGGGGATTTTGAACCTCCCAGATAAACACGCCATTCTCTGCTTGAGCTGCAGTGATGAGTTCCTC
CTGTGCGTGAATCCATGGTTGTGGCAGGCTAATGCTATGAAGTACGAACACCCACAAGGGAGATCA
ACTCTCCGACGTCTGGTCCCCTTCTTGGCTAGCCTGTGCTGCACTTTGATTGGAACCTGAGTAGAG
TGGGCTCTCGAGGGTGATGAAGATTGCATTCTTTAAAGCCCAATTTTTGAGTGCAGAATTCTTCTC
TTCATCCAAAACTCTTTATAGCTTGAATTGGGTCCTGGATTGCAGAGGAAGATAGTGGGAATTCC
GCCTTTAATTTGAACTGGCTTCCCGTATTTTGTATTTGATTGCCAGTCCTTTTGGGCCCCCATGAAC
TCCTTAAAGTGCTTTAGGTAATGCGGGTCGACGTCATCAATGACGTTAAACCAGGCGTCATTACTG
TATACCCTTGGGCTCAGATCTAGATGTCCACACAGATAATTATGTGGACCTAATGATCTGGCCCAC
ATCGTCTTCCCCGTCTACTGTCACCCTCAATCACTACACTTATTGGTCTATTGGCCCGCGCAGCGG
CACTGACGACGTTCTCGGCAGCCCATACTTCAAGTTCTTCTGGAACCTTGATCGAAAGAAGAAGAGG
AAAAAGGAGAAACATAAGGAGCTGGTGGCTCCTGAAAGATTCTGTCTAGATTTGCATTTAAATTAT
GAAATTGCAGCACAAAATCCTTAGGAGCTAGTTCCTTAATGACTCTAAGAGCCTCCGACTTACTTCC
CGCGTTAAGTGCTGCGGCGTAAGCGTCATTGGCTGTCTGTTGCCCTCCTCTTGCTGACCTTCCGTC
GATCTGAAATTGCCCCAGTCGAGAATGTCCCCGTCTTCTCGATGTAGGATTTGACGTCGGAGCT
GGATTTAGCTCCCTGTATGTTTCGGATGGAAATGTGCTGACCTGCTTGGGGAGACCAAGTCGAAGAA
TCGCATATTCTGGCACTTGAATTTCCCTTCGAACTGGATGAGAACATGCAAGTGAGGAGTCCCATC
TTCGTGAAGCTCTCTGCAGATTCTAATATATTTTTTTTGAAGTTGGGGTTTGTATATTTAATAATTGG
GAAAGTGCTTCCTCTTTGGTGAGAGAACATTTGGGATAAGTGATGAAATAGTTTTTGGAAATAAATA
CCGTTCCGCTTTGGAGGCATGTTGACTAAAATTGATCACCGATTGACCGCTCTTGCAACTCTCCCCG
GTATATCGGTGATCAATATATAGTGATCACCAAATGGCATAATGGTAATAAAAAAACTTTAATTG
AAATTCAAACCAAAGGCTAAAGCGGCCATCCGTTTAATATT

Supplementary material 2. Rep gene sequence with highlighted target sequence and PAM site to design gRNA

1441 agttcccctg tgcgtgaatc catggttggt gcaggcta gctatgaagt acgaacaccc
1501 acaagggaga tcaactctcc gacgtctggt ccccttcttg gctagcctgt gctgcacttt
1561 gattggaacc tgagtagagt gggctctcga gggatgatgaa gattgcattc ttaaagccc
1621 aatttttgag tgcagaattc ttctttcat caaaaaactc ttatagctt gaattgggtc
1681 ctggattgca gaggaagata gtgggaattc cgcctttaat ttgaactggc ttcccgattt
1741 ttgtatttga ttgccagtc tttggggccc ccatgaactc cttaaagtgc ttaggtaat
1801 gggggtcgac gtcataatg acgttaaacc aggcgtcatt actgtatacc ctggggctca
1861 gatctagatg tccacacaga taattatgtg gacctaata tctggccac atcgtcttc
1921 ccgtctact gtcacctca atcactacac ttattgtct attggccgc gcagcggcac
1981 tgacgactt ctcggcagcc catactcaa gttctctgg aactgatcg aaagaagaag
2041 aggaaaaagg agaaacataa ggagctggtg gctctgaaa gattctgtct agattgcat
2101 ttaaattatg aaattgcagc aaaaatcct taggagctag ttcttaatg actctaagag
2161 cctccgactt actcccgcg ttaagtgtg cggcgtaagc gtcattggct gtctgttgc
2221 ctctcttgc tgacctcgc tcgatctgaa attgccccca gtcgagaatg tcccgtct
2281 tctgatgta ggatttgacg tcggagctgg atttagctcc ctgtatgtc ggatggaaat
2341 gtgctgacct gctggggag accaagtcga agaatcgc atctggcac ttgaattcc
2401 ctcgaactg gatgagaaca tgcaagtga gagtccatc ttcgtgaagc tctctgcaga
2461 ttctaata ttttttgaa gttgggggtt gtatatata taattggga agtgcttct
2521 ctttggtgag agaacattg ggataagtga tgaatagtt ttggaataa ataccgttc
2581 gctttggagg catgttgact aaaattgat accgattgac cgctcttgca actctccccg
2641 gtatatcggg gatcaatata tagtgatcac caaatggcat aatggtaata aaaaaactt

ACCGTGGGCGAGCGGTGCCTCCGGGGACGCAGTGGGTCCCACTGCTGGTATTGACTTGATTTGACT
TATATTGGGCCAATTTAATGGGTGAAAATGTTTGGGCCTTTGAAAAAGAGTCTTTTTATGGAATA
GGGCTCTGTATATTGTTGGTGATATGTGTGTTAAATATGCATTGCTGGTTTGTGTTTGGAATTTAA
ACGGTGAACTTTTTATTGAATACGTACGGTTCGTTTACATCCATTCCCAATATCTCTGGGTTTTCAA
GTACAAGTATATCAAGTCTGTGAACTATATCTTCTATCTCGATCTCTTCTATCTTTGCCTCGTTGTA
TGCGAATAGGAAATTCGCTATGATGCTCCCTTCAAAGCCGTTGAAGTCGAATGGAACGTGTATGTC
TTCGTACGTGTACTGGACGATCCCTTCATACTTGATTAGCGATGGTGACTTTGTGGATAGTATCCT
CATGTGAATGAAGATCTTCATATTCTTCATGATGCGAACGTCGACTATGAACCTGACTCCCTCCTTG
TTTGTTCCGCTCGTTGTCATTTCTGCTTATTTGATGGAATTGTTTAGTGTGCATGCAATTTATAGACT
TAATGAACAGATATTCTGTGTAGTTGTGTGGTTGTGAGTGATTTATTATTATGTGATTGTCCATTA
AAGGGATAAAGTGATGATGGAGACGTATTACACGTGTTGTCATTTTGGCTTGAAATCTTTATACAT
GGGTTTGTACCGTATATACCTATATATACGGATAGAAAACGGATGAGAAAAGGAAAAACGGAACGTG
AAGAGGAAAAACAAAGAAAAGAAACAATGATATATTATTTATGAAAGAAATGGGAGCGCAGCGAAT
CGAAACAGGAAAACCCAAGGAAAGAGAAAAAATAAAAAAGTAAAGAGAAAAAAAATATAAATTCGA
AAACGTCATCGTTTGAGAGTAATAAAAAAAAAAGAAAAACAAAAACATATCCGAAAACGTCGGCGT
TTGAAGGTGACTGTGTGGTTTTACCATTTACTGTGTGGTAAATGGTAAGTGATTGAAGAAGGGAAA
GGTAAATTTGTCACCAATAGGTAAATTGATCACCGATATATCGGTGATCAATTGGGGACTCATAAA
TTGCCTTTCCTAAAATACCCCCGCTTTTGTGTCTAAGAGGCGCGTCGGAGTGCGCCTATAAAGTT
AACATTCTCTCTCCTCTTTTGATCTCCAATACAATTTCCCGGTGATCGGAGTCGAATTTTACGACAC
GCGCGGCGGTGTGTACCCCTGGGAGGGTAGAAACCACTACGCTACGCAGCAGCCTTAGCTACGCCG
GAGCTTAGCTCGCCACGCTTTAATATT