Supplemental Tables

TableS1: Oligonucleotide primers used for vector construction.

McFADX_XmaI_F	tccc**cccggg**atgggggggcagaggagctattgg	McFADX_XhoI_R	ccg**ctcgag**tcagagcttgttgtggtaccag
AThFad2_XmaI_F	tccc**cccggg**atgggtgcaggtggaag	AThFad2_XhoI_R	ccg**ctcgag**ctataacttattgttgtacc
Chimera1_F	cactccaacaccggatccctcgaaag	Chimera1_R	ctttcgagggatccggtgttggagtg
Chimera2_F	catctccggccggccgtatgacggg	Chimera2_R	cccgtcatacggccggccggagatg
Chimera3_F	gtacaggatcgcagctgcacaaggg	Chimera3_R	cccttgtgcagctgcgatcctgtaca
Chimera4_F	gacacgcacgtggctcatcacctgtt	Chimera4_R	caggtgatgagccacgtgcgtgtcc
Chimera5_F	ccctcgctctttttcctaccttctttcc	Chimera5_R	gaaggtaggaaaaagagcgagggattg
Chimera6_F	cctctctcttacctggcctggcccg	Chimera6_R	gggccaggccaggtaagagagaggc
Chimera7_F	gcgactaccaattggtagacgacg	Chimera7_R	gtcgtctaccaattggtagtcgctg
Chimera8_F	cattccaacacttcatccgtggaccgg	Chimera8_R	gtccacggatgaagtgttggaatgg
$FADX_6$mut_F	gtactcaccggcatctgggtcatcgctcacgag	$FADX_6$mut_R	gccggtgagtacgcagccctgacaggcccagtaaaggggccaggccag
$FADX_6$mut-V97L_F	cctggcctggcccgtttactgggcctgtcag	$FADX_6$mut-V97L_R	ctgacaggcccagtaaacgggccaggccagg
$FADX_6$mut-F100A_F	gccccttactggttctgtcagggctgcgtac	$FADX_6$mut-F100A_R	gtacgcagccctgacagaaccagtaaaggggc
$FADX_6$mut-A104C_F	ggcctgtcagggcgccgtactcaccggcatc	$FADX_6$mut-A104C_R	gatgccggtgagtacggcgccctgacaggcc
$FADX_6$mut-M109I_F	gtactcaccggcatgtgggtcatcgctcac	$FADX_6$mut-M109I_R	gtgagcgatgacccacatgccggtgagtac
$FADX_6$mut-G111V_F	ctcaccggcatctggggcatcgctcacgag	$FADX_6$mut-G111V_R	ctcgtgagcgatgccccagatgccggtgag
$FADX_6$mut-D115E_F	ggtcatcgctcacgactgcggccaccacgc	$FADX_6$mut-D115E_R	gcgtggtggccgcagtcgtgagcgatgacc
McG111A_F	caccggcatgtgggccatcgctcacgactg	McG111A_R	cagtcgtgagcgatggcccacatgccggtg
McG111V_F	caccggcatgtgggtcatcgctcacgactgc	McG111V_R	gcagtcgtgagcgatgacccacatgccggtg
McG111L_F	caccggcatgtggctcatcgctcacgactg	McG111L_R	cagtcgtgagcgatgagccacatgccggtg
McG111F_F	caccggcatgtggttcatcgctcacgactg	McG111F_R	cagtcgtgagcgatgaaccacatgccggtg
McG111A/D115E_F	caccggcatgtgggccatcgctcacgagtg	McG111A/D115E_R	cactcgtgagcgatggcccacatgccggtg
McG111V/D115E_F	caccggcatgtgggtcatcgctcacgagtg	McG111V/D115E_R	cactcgtgagcgatgacccacatgccggtg
McG111L/D115E_F	caccggcatgtggctcatcgctcacgagtg	McG111L/D115E_R	cactcgtgagcgatgagccacatgccggtg
McG111F/D115E_F	caccggcatgtggttcatcgctcacgagtg	McG111F/D115E_R	cactcgtgagcgatgaaccacatgccggtg

F: forward; R: reverse; restriction sites are in bold and underlined.

Table S2: Fatty acid composition of untransformed and transformed *fad3/fae1* Arabidopsis seeds by GC-MS analyses of FAMEs. Values represent means ± SD of at least three independent analyses.

construct	16:0	18:0	18:1	18:2 (c,t)	18:2 (c,c)	18:3	20:0	20:1	punicic	α-ESA[a]	β-ESA[a]	Total ESA[a]
untransformed	10.2±0.5	6.4±0.4	33.2±0.6	0	46.6±0.6	1.2±0.3	1.2±0.1	0.4±0.1	0	0	0	0
Wild-type FADX	8.1±0.6	5.1±0.5	55.7±1.8	1.9±0.8	16.4±2.4	0.5±0.1	1.2±0.1	0.6±0.1	0.2±0.1	7.6±0.9	2.1±1.1	9.9±0.5
Wild-type FAD2	12.8±2.2	6.0±0.2	21.5±2.1	0.3±0.3	55.6±1.6	1.7±0.4	1.2±0.8	0.7±0.3	0	0	0	0
Chimera1	11±1.5	5.4±0.2	35.1±4.5	2.7±0.4	40.3±3.5	1.6±0.6	1.1±0.2	0.3±0.1	0.1±0.1	1.9±0.3	0.6±0.1	2.6±0.4
Chimera2	12.4±1.2	5.0±0.3	30.6±1.4	0.6±0.4	47.7±2.1	1.7±0.6	1.0±0.1	0.2±0.2	0	0.8±0.1	0	0.8±0.1
Chimera3	9.9±0.8	4.7±3.3	33.7±2.7	3.1±1.0	41.8±4.0	1.2±0.7	0.8±0.5	0.1±0	0.2±0.1	3.3±2.4	1.0±0.6	4.5±2.7
Chimera4	9.9±0.9	4.1±0.5	43.5±0.9	0.5±0	31.2±3.1	1.4±0.5	1.1±0.2	0.5±0.1	0.2±0.1	5.4±0.9	1.9±0.9	7.5±1.4
Chimera5	9.9±1.5	4.8±0.9	49.1±3.6	2.4±0.2	18.9±2.2	1.1±0.5	1.1±0.2	0.5±0.1	0.1±0.1	9.0±2.5	2.3±0.2	11.4±2.5
Chimera6	8.7±1.5	4.5±0.8	51.3±6.8	2.9±0.7	18.8±0.9	0.6±0.4	1.0±0.7	0.4±0.3	0.1±0.1	7.9±3.5	3.4±1.6	11.4±4.1
Chimera7	7.1±0.7	4.6±0.7	48.2±0.5	0.5±0.1	18.1±1.7	1.7±0.4	0.8±0.1	0.7±0.3	8.9±0.4	7.8±0.4	0.3±0.2	17.0±0.8
Chimera8	13.4±0.8	5.0±1.8	35.1±5.2	0.1±0.1	40.7±4.2	1.2±0.9	0.8±0.4	0.3±0.1	0	2.4±1.6	0.9±0.5	3.5±2.1

[a]Eleostearic acid

Table S3: Fatty acid composition of untransformed and transformed *fad2/fae1* Arabidopsis seeds by GC-MS analyses of FAMEs. Values represent means ± SD of at least three independent analyses.

construct	16:0	18:0	18:1	18:2 (c,t)	18:2 (c,c)	18:3	20:0	20:1	punicic	α-ESA[a]	β-ESA[a]	Total ESA[a]
untransformed	7.5±0.8	4.5±0.9	80.7±2.6	0.1±0.1	0.6±0.2	2.5±0.5	1.4±0.2	0.9±0.1	0	0	0	0
Wild-type FADX	7.7±0.4	4.4±0.1	77.8±0.6	3.0±0.2	1.7±0.3	1.0±0.1	1.3±0.1	0.8±0	0	1.3±0.3	0.2±0.1	1.5±0.3
Wild-type FAD2	10.7±0.9	5.0±1.0	26.0±2.7	0	43.7±1.1	12.1±1.6	1.1±0.3	0.3±0.1	0	0	0	0
Chimera1	8.3±0.9	4.3±0.2	62.1±5.0	4.0±0.8	11.3±1.9	6.6±0.6	1.3±0.1	0.9±0.2	0	0.2±0.3	0	0.2±0.3
Chimera2	7.9±0.4	3.4±0.1	82.2±2.5	0.2±0.1	1.0±0.2	2.3±0.2	1.1±0.1	0.7±0.3	0	0	0	0
Chimera3	8.1±1.3	3.9±0.3	63.9±5.3	5.7±0.6	10.5±1.7	4.3±0.5	1.2±0.1	0.8±0.1	0	0.6±0.5	0.2±0.2	0.8±0.7
Chimera4	7.2±0.4	3.8±0.9	81.5±1.8	1.7±0.2	0.9±0.1	1.3±0.2	1.2±0.2	1.0±0.2	0	0	0	0
Chimera5	7.7±0.9	3.8±0.7	77.3±3.8	4.0±1.0	1.8±0.4	1.2±0.2	1.3±0.1	1.0±0.2	0	1.4±0.4	0.2±0.1	1.6±0.5
Chimera6	7.5±0.3	3.8±0.4	76.3±0.7	4.5±0.6	1.9±0.1	1.1±0.2	1.3±0.1	1.0±0.1	0	1.8±0.4	0.2±0.1	2.0±0.4
Chimera7	6.7±0.5	3.9±0.2	70.6±3.7	0.4±0.1	5.9±0.5	1.5±0.1	1.4±0.2	1.1±0.1	3.9±0.9	3.0±1.5	1.0±0.2	7.9±2.0
Chimera8	8.8±0.9	3.9±0.7	72.6±4.1	0.2±0.1	6.5±0.8	4.9±1.3	1.3±0.4	0.9±0.1	0	0	0	0

[a]Eleostearic acid

Table S4: Fatty acid composition of untransformed and transformed fad3/*fae1* Arabidopsis seeds by GC-MS analyses of FAMEs. Values represent means ± SD of at least three independent analyses.

construct	16:0	18:0	18:1	18:2 (c,t)	18:2 (c,c)	18:3	20:0	20:1	punicic	α-ESA[a]	β-ESA[a]	Total ESA[a]
untransformed	10.2±0.5	6.4±0.4	33.2±0.6	0	46.6±0.6	1.2±0.3	0.4±0.1	1.2±0.1	0	0	0	0
Wild-typeFADX	8.1±0.6	5.1±0.5	55.7±1.8	1.9±0.8	16.4±2.4	0.5±0.1	1.2±0.1	0.6±0.1	0.2±0.1	7.7±0.9	2.1±1.1	9.9±0.5
$FADX_6$mut	9.4±0.5	3.9±0.2	42.7±3.2	0.5±0	19.4±0.6	0.9±0.1	1.3±0.1	0.6±0.1	9.5±1.1	9.5±0.9	1.1±0.1	20.1±2.0
$FADX_6$mut-V97L	8.2±0.4	4.3±0.4	47.1±0.7	0.5±0.1	19.9±1.5	0.7±0.1	1.4±0.2	0.6±0.1	7.3±0.8	7.7±0.7	0.9±0.1	15.8±1.4
$FADX_6$mut-F100A	8.9±0.6	3.9±0.1	45.8±3.5	0.5±0.1	19.5±0.7	0.8±0.1	1.2±0.1	0.7±0	8.9±1.2	8.2±1	0.7±0.3	17.8±2.2
$FADX_6$mut-A104C	8.7±0.3	4.3±0.5	45.2±0.9	0.4±0	20.5±0.8	0.8±0.1	1.3±0.2	0.6±0.1	7.8±0.9	8.9±0.6	0.8±0.4	17.2±1.2
$FADX_6$mut-M109I	9.2±0.7	4.0±0.6	44.3±1.1	0.5±0	18.7±0.2	0.7±0.1	1.3±0.1	0.6±0	9.7±0.4	8.6±0.2	0.9±0.5	19.2±0.4
$FADX_6$mut-G111V	8.0±0.4	3.7±0.1	51.4±1	1.2±0.3	21.0±1.9	0.7±0	1.2±0.1	0.6±0.1	0	10.7±0.4	0.8±0.1	11.5±0.3
$FADX_6$mut-D115E	7.9±0.3	3.8±0.2	49.7±2.3	1.4±0.1	19.2±1.3	0.7±0.1	1.1±0.1	0.6±0	2.1±0.5	12.0±2.4	0.9±0.2	15.0±2.6
G111A	8.9±0.2	4.3±0.2	55.4±0.8	2.1±0.7	17.2±1.1	0.7±0.2	1.2±0.2	0.5±0.2	0.1±0.1	6.4±1.9	2.4±0.7	8.9±1.3
G111V	8.5±0.2	4.4±0.3	44.1±0.7	1.6±0.2	16.9±1.3	0.7±0	1.5±0.1	0.7±0	2.8±0.4	16.1±0.4	1.5±0.6	20.4±1.1
G111L	9.4±0.3	3.8±0.1	50.2±2.0	0.9±0.3	27.4±1.3	0.8±0.1	1.1±0.1	0.5±0.1	0.1±0.2	4.2±1.7	1.2±0.5	5.5±1.4
G111F	9.6±0.6	4.0±0.2	47.2±2.0	1.0±0.2	29.2±2.1	1.3±0.1	1.4±0.1	0.9±0.2	0.2±0.1	5.2±0.4	0.3±0.1	5.7±0.4
D115E	7.6±0.5	3.9±0.3	56.2±1.5	1.7±0.3	17.4±0.7	0.7±0.1	1.3±0.4	0.6±0.1	0.2±0.1	8.8±0.1	0.5±0.3	9.6±0.4
G111A/D115E	7.9±0.5	4.1±0.2	55.3±0.3	1.3±0.7	19.1±1.6	0.7±0.2	1.3±0.1	0.7±0.1	0	8.8±0.6	0.8±0.2	9.6±0.8
G111V/D115E	8.1±1.4	4.3±0.3	43.8±3.1	0.5±0.1	18.8±1.5	0.6±0.2	1.5±0.4	0.6±0.1	10.5±2.0	9.7±1.4	1.0±0.3	21.2±3.2
G111L/D115E	9.4±0.7	4.3±0.3	46.6±2.3	1.0±0.4	29.8±1.1	1.1±0.2	1.4±0.2	0.9±0.1	1.3±0.2	3.7±0.4	0.6±0.1	5.6±0.5
G111F/D115E	9.6±0.6	4.0±0.2	47.2±2.0	1.0±0.2	29.2±2.1	1.3±0.1	1.4±0.1	0.9±0.2	0.2±0.1	5.2±0.4	0.3±0.1	5.7±0.4

[a]Eleostearic acid

Table S5: Fatty acid composition of untransformed and transformed *fad2/fae1* Arabidopsis seeds by GC-MS analyses of FAMEs. Values represent means ± SD of at least three independent analyses.

construct	16:0	18:0	18:1	18:2 (c,t)	18:2 (c,c)	18:3	20:0	20:1	punicic	α-ESA[a]	β-ESA[a]	Total ESA[a]
untransformed	7.5±0.8	4.5±0.9	80.6±2.6	0.1±0.1	0.6±0.2	2.5±0.5	1.4±0.2	0.9±0.1	0	0	0	0
Wild-type FADX	7.7±0.4	4.4±0.1	77.8±0.6	3.0±0.2	1.7±0.3	1.0±0.1	1.3±0.1	0.8±0	0	1.3±0.3	0.2±0.1	1.5±0.3
$FADX_6$mut	6.2±0.3	3.2±0.2	70.5±1.4	0.5±0.1	7.1±0.6	1.8±0.1	1.1±0.1	0.9±0	4.1±0.9	3.3±0.1	0.4±0.1	7.8±0.9
$FADX_6$mut-V97L	4.8±0.8	4.9±1.7	61.9±8.3	1.4±1.1	6.1±0.4	1.7±0.2	2.7±1.1	1.6±0.2	5.3±0.7	5.1±0.1	0.7±0.2	11.0±0.8
$FADX_6$mut-F100A	6.0±0.5	3.3±0	69.0±2.7	0.5±0.1	6.6±0.7	1.8±0.2	1.4±0.2	1±0.6	4.9±1.2	4±0.5	0.5±0.2	9.4±1.7
$FADX_6$mut-A104C	6.4±0.2	3.3±0.4	68.5±0.2	0.5±0.1	6.7±0.5	1.8±0.2	1.3±0.3	1±0.1	4.5±0.2	4.3±0.2	0.6±0.1	9.4±0.2
$FADX_6$mut-M109I	7.3±1.7	5.6±3.2	63.1±5.2	0.6±0.1	5.9±0.4	1.5±0.2	0.3±0.5	1.1±0.1	5.7±1.1	3.5±0.6	0.5±0.1	9.7±1.8
$FADX_6$mut-G111V	4.7±0.6	3.2±0.4	80.4±2.3	2.6±0.3	2.1±0.2	1.9±0.2	1.6±0.4	1.5±0.1	0	2.3±0.7	0.1±0	2.5±0.6
$FADX_6$mut-D115E	6.1±0.2	3.5±0.3	72.3±1.3	1.2±0.1	5.6±0.3	1.8±0.2	1.4±0.1	1±0.1	1.1±0.2	4.6±0.3	0.5±0.1	6.2±0.3
G111A	6.1±0.1	3.3±0.1	77.6±1.0	2.4±0.5	3.1±0.5	1.8±0.3	1.2±0.1	1.0±0.1	0	2.4±0.6	0.8±0	3.2±0.6
G111V	4.3±0.3	4.0±0.5	67.6±6.5	1.9±0.5	5.6±0.4	1.3±0.3	2.0±0.6	1.3±0.3	2.2±0.5	8.4±1.6	1.0±0.5	11.6±2.5
G111L	5.8±0.6	3.0±0.5	83.1±1.8	1.6±0.4	1.7±0.4	1.7±0.2	1.1±0.1	0.8±0.1	0	0.5±0.2	0.1±0.1	0.6±0.3
G111F	6.7±0.5	2.9±0.3	84.7±1.0	0.3±0.3	0.8±0.3	2.0±0.5	1.0±0.2	0.8±0.2	0	0.1±0.1	0	0
D115E	6.3±0.3	3.3±0.9	78.2±2.7	2.7±0.5	3.3±2.1	1.8±0.4	1.0±0.8	0.6±0.5	0	1.2±0.5	0	1.2±0.5
G111A/D115E	5.8±0.2	4.1±0.2	78.1±1.2	1.5±0	3.2±0.2	1.0±0.1	1.5±0.1	1.1±0.1	0	3.2±0.8	0.4±0.2	3.6±1.0
G111V/D115E	5.7±0.6	3.5±1.0	67.3±3.5	1.3±1.1	6.4±0.6	1.8±0.2	1.8±1.3	1.3±0.5	5.8±0.3	4.2±0.3	0.8±0.4	10.8±0.7
G111L/D115E	6.3±0.2	3.4±0.2	83.1±1.5	1.3±0.6	1.6±0.4	1.7±0.3	1.3±0.1	1.1±0.3	0	0.2±0.1	0	0.2±0.1
G111F/D115E	6.3±0.8	4.8±2.5	84.5±1.1	0.6±0.2	0.3±0.2	0.8±0.4	1.2±0.3	0.8±0.3	0	0.1±0.1	0	0.1±0.1

[a]Eleostearic acid