

# 菊花*FT*类似基因的克隆与表达分析

潘才博, 张启翔\*, 潘会堂, 孙 明

(北京林业大学园林学院, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083)

**摘 要:** 以地被菊 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) ‘七月桃花’为材料, 利用同源基因克隆法结合 RACE 技术克隆了光周期调控开花重要基因 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 的类似基因 (基因登陆号 GQ925916, 命名为 *CmFT*)。该基因开放阅读框有 525 bp, 可编码 174 个氨基酸。蛋白比对发现, *CmFT* 所推测的氨基酸序列包含 FT 类蛋白保守基序和两个关键性氨基酸残基。通过系统遗传进化树分析进一步表明 *CmFT* 属于 *FT* 亚家族成员。SYBR GREEN 法实时荧光定量 RT-PCR 表达分析结果表明 *CmFT* 在花芽的表达量最高, 茎的表达量次之, 叶片表达量最低。在短日条件下, 该基因的表达量呈昼夜节律表达型, 在光照期间呈下降趋势, 在夜间逐渐上升, 光照前 4 h 时达到最高水平。在长日条件下, 其相对表达量显著低于短日条件下且趋于零。由此推测, 该基因主要与菊花光周期敏感性密切相关, 可能在光周期促进开花中发挥一定的作用。

**关键词:** 菊花; 光周期敏感性; *FT* 类似基因; 实时定量 RT-PCR

**中图分类号:** S 682.1<sup>+</sup>1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2010) 05-0769-08

## Clone and Expression Analysis of *FLOWERING LOCUS T* in *Chrysanthemum morifolium* Ramat.

PAN Cai-bo, ZHANG Qi-xiang\*, PAN Hui-tang, and SUN Ming

(School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University; China National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083, China)

**Abstract:** A *FT*-like gene named *CmFT* (Genbank accession No. GQ925916) was cloned by RT-PCR and rapid amplification of cDNA ends (RACE) using *Chrysanthemum morifolium* Ramat.. A predicated 525 bp open reading frame was deduced in the cloned sequence, which encoded 174 amino acids. By alignment analysis, the deduced amino acid sequence contained two critical residues and conserved region, both of which identified as diagnostic of true *FT*. The gene was proposed to belong to *FT* subfamily by phylogenetic analysis. Fluorescence quantitative RT-PCR system followed by SYBR GREEN was established to examine the expression of *CmFT* under different part of mature tissues and different photoperiod treatments. *CmFT* gene expressed highest in flower buds, next in stem and lowest in leaf. Expression of *CmFT* under the short day (SD) treatment was significantly high than that under long day (LD). Abundance of *CmFT* indicated a diurnal rhythm in SD-grown plants, so that its levels showed a decreasing trend under light, a rise during night and the maximal level before the coming of light. Under the LD treatment, the expression level tended to be zero. The results suggest that *CmFT* is associated with

收稿日期: 2009-09-18; 修回日期: 2010-04-22

基金项目: ‘十一五’ 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A18); 国家高技术研究发展计划 (‘863’ 计划) 项目 (2008AA10Z156)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zqx@bjfu.edu.cn)

photoperiod sensitivity and may function in regulating photoperiodic flowering in *Chrysanthemum*.

**Key words:** *Chrysanthemum*; photoperiod sensitivity; *FT*-like gene; real-time quantitative RT-PCR

光周期是植物成花诱导的关键因子之一, 通过控制光周期途径来调控植物开花是花期育种的一个重要途径 (Boss et al., 2004; Abe et al., 2005; Baurle & Dean, 2006)。光周期遗传调控途径主要由光受体基因、昼夜节律钟组分及相关的输出基因等 3 部分组成 (Strayer & Kay, 1999; Ausin et al., 2005)。

*FLOWERING LOCUS T* (下文简称 *FT*) 基因作为昼夜节律钟重要的输出产物之一, 在光周期途径中具有承上启下的作用 (Boss et al., 2004; Jack, 2004; Moon et al., 2005; Baurle & Dean, 2006)。昼夜节律钟输出产物 *GIGANTEA* (*GI*) 激活转录因子 *CONSTANS* (*CO*) 的表达 (Putterill et al., 1995; Fowler et al., 1999; Park et al., 1999), *CO* 进一步激活 *FT* 的转录而促进下游开花决定基因的表达 (Samach et al., 2000; Suarez-Lopez et al., 2001; Searle & Coupland, 2004; Valverde et al., 2004; Wigge et al., 2005)。

已有研究表明, *FT* 的表达水平与光周期敏感性密切相关, 被认为是光周期途径中决定植物开花的重要因子 (Suarez-Lopez et al., 2001; Izawa et al., 2002; Turner et al., 2005; Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009)。在拟南芥中 *FT* 首次被克隆鉴定, 被认为是一个转录辅助因子 (Kardailsky et al., 1999; Kobayashi et al., 1999; Pnueli et al., 2001)。近年来, *FT* 蛋白作为成花素信号分子研究取得了突破性进展, *FT* 蛋白从叶片输送至茎顶并与 *FD* 蛋白共同起作用而促进开花 (Abe et al., 2005; Wigge et al., 2005; Lifschitz & Eshed, 2006; Corbesier et al., 2007; Jaeger & Wigge, 2007; Tamaki et al., 2007)。

光周期调控开花是菊花育种的重要手段之一, 分离鉴定光周期关键因子有利于加快育种进程。然而, 在菊科菊属中有关光周期相关基因的研究较少, 菊花 *FT* 类似基因与光周期敏感研究未见报道。

作者试图克隆菊花 *FT* 类似基因, 并初步探知该基因的光周期敏感特性, 为进一步研究光周期敏感机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料和光周期处理

供试材料为地被菊品种‘七月桃花’。取长日照处理的菊花母株的营养茎段进行扦插, 以草炭、蛭石 (体积比为 3:1) 为培养介质, 培养湿度为 55% ~ 70%, 白天温度为 (25 ± 2) °C, 夜间温度为 (22 ± 2) °C, 进行生根处理 2 周 (光照同母株)。

分两组进行不同光周期处理 (培养条件同上), 一组为长日照处理: 自然光 (12 ~ 14 h 光照) 并于夜间 22: 00 至凌晨 2: 00 加 400 W 白炽灯光源 (强度 1 000 lx) 补充光照进行暗中断 (Anderson & Ascher, 2001); 另一组用短日照处理: 每天上午 10: 00 至下午 6: 00 光照 8 h, 通过短日照遮光膜缩短日照。光周期处理 90 d 时分别于 1 日内间隔 4 h 取离茎尖第 7 节段的叶片作为实时定量的材料, 液氮速冻后 -80 °C 保存备用。

分别取短日照处理中午时期已开花植株的叶片、茎段、花芽为组织定量材料。处理共计 15 组, 每组取 3 个样株。

## 1.2 总RNA的提取和cDNA第1链的合成

按照 RNA Easy spin kit (北京盖宁公司) 说明书提取叶片和茎尖混合组织总 RNA, 并用 DNase I 酶 (Promega 公司) 去除 RNA 中的痕量 DNA。用 M-MLV 反转录酶 (MBI 公司) 对 1  $\mu\text{g}$  总 RNA 进行反转录获得第 1 链 cDNA。

## 1.3 *FT*类似基因的克隆

根据 *FT* 类似基因保守区序列设计一对引物 FT 1f: 5'-CTCCATTGGTTGGTGACTGA-3', FT 1r: 5'-CTCGCGAGTGTGAAGTT-3', 以 cDNA 第一链作模板进行 PCR 扩增。扩增产物回收、纯化, 连接 pGM-T 载体 (北京天根公司), 转化 *Escherichia coli* TOP10 感受态细胞, 蓝白斑筛选阳性克隆并测序 (北京奥科公司)。根据获得的序列, 设计 3' RACE 两个正向引物: FT 2f1: 5'-AACAGGAGCA CAGTTTGGTCAAG-3'和 FT 2f2: 5'-TCGACAACTGTGTACGCCCCAG-3', 按 3'-Full RACE Core Set Ver.2.0 (TaKaRa) 说明书进行操作, 获得 3' 端序列。将保守区序列和 3' RACE 序列进行拼接, 按 SMART™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) 说明书设计两个反向引物: FT 3r1: 5'-TGGTCTTGGGCTCTCATAGCACAC-3', FT 3r2: 5'-CAAACCTGTGCTCCTGTTGTCTG CTGG-3', 获得 5'端序列。

## 1.4 *FT*类似基因全长的获得与序列分析

根据 3' 端和 5' 端拼接序列设计两条特异引物 FT 4f: 5'-TCCCGTTTTTACATAATGCC-3', FT 4r: 5'-AATATGATGTGCGTGCTTTC-3' 进行 PCR 扩增, 然后克隆、测序, 获得 *FT* 类似基因全长编码序列。分析该序列所翻译的氨基酸序列, 并与拟南芥 *FT/TFL1* 所有家族成员和部分双子叶植物的同源序列比对。使用 MEGA 4.0 软件按邻接法构建双子叶植物 *FT* 类蛋白系统进化树。

## 1.5 荧光定量PCR

### 1.5.1 引物设计和标准曲线的建立

通过 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) 软件分析, 获得与 *FT* 类似基因的相似序列, 在基因的编码序列中跨内含子设计两条特异引物, FT 5f: 5'-GCGCGCATTTACACATTA-3'和 FT 5r: 5'-TTGGTGTTGAAGTTCTGGCG-3', 目的片段为 252 bp。

以已登陆的菊花 *Actin* 序列 (AB205087) 作为内参基因设计特异引物 *Actin* gsp1: 5'-TGGCATTGT GTTGGATTCTGG-3'和 *Actin* gsp2: 5'-CCATCCCAATCATAGACGGCT-3', 目的片段为 362 bp。

通过对 PCR 扩增产物的凝胶检测和测序, 进一步验证引物设计的特异性。同时根据 CT 值绘制标准曲线。

### 1.5.2 荧光定量 PCR 体系和数据处理

荧光定量PCR体系含 10  $\times$  PCR buffer 2.0  $\mu\text{L}$ , 25 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$  2.4  $\mu\text{L}$ , 10 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$  dNTP 混合液 0.4  $\mu\text{L}$ , 20  $\times$  SYBR 染料 0.5  $\mu\text{L}$ , *Taq* 0.2  $\mu\text{L}$ , 10 pmol  $\cdot \text{L}^{-1}$  的上下游引物各 0.2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 12.1  $\mu\text{L}$ , 模板 2.0  $\mu\text{L}$ 。利用 Applied Biosystems 7500 Real-time PCR System 荧光定量PCR仪进行扩增, 反应程序为 95  $^{\circ}\text{C}$  120 s; 95  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 58  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 40 个循环, 72  $^{\circ}\text{C}$  读取荧光值; 循环结束后 60  $^{\circ}\text{C}$  保温 60 s, 并进行熔解曲线分析。

检测每份样品的 *FT* 类似基因和 *Actin* 内参基因 CT 值, 每份样品 3 次 PCR 重复, 根据标准曲线计算定量结果及校正值, 再计算其平均值和标准差。

使用 Microsoft Excel 2003 软件处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 总RNA的提取和检测

经电泳检测, 所提取 RNA 的 28 S 和 18 S 条带清晰, 说明 RNA 完整性良好, 纯度高。用 *Actin* gsp1、*Actin* gsp2 对 cDNA 进行 PCR 扩增均得到 362 bp 的产物, 说明反转录得到的 cDNA 第一链结果良好。

### 2.2 *FT*类似基因的克隆与分析

利用引物 FT 1f 和 FT 1r, 以叶片和茎尖混合组织的 cDNA 为模板进行扩增, 获得 183 bp 保守片段。经 BLAST 分析, 发现该片段与大多数 *FT* 类似基因高度同源。用引物 FT 2f1 和 FT 2f2 进行 3' RACE, 获得了该基因 386 bp 3' 端序列, 与已知片段进行拼接, 获得了 *FT* 类似基因 3' 端部分蛋白编码序列。通过 5' RACE 获得了 370 bp 5' 端序列。该序列中 525 bp 的开放阅读框可编码 174 个氨基酸 (图 1)。

```

1      TCCCGTTTTACATAATGCCGAGGGAAGGGATCCATTGGTTGTTGGACGTGAATTGGC
1      M P R E R D P L V V G R V I G
61     GATGTTCTTGATAGTTTCACCAAGTCAATCAACCTCTCTGTGCTATAATGATAGGGAA
16     D V L D S F T K S I N L S V S Y N D R E
121    GTTGCCAACGGGTGTGAGCTAAACCCCTCTAAGGTTGTGAACCAACGAGAGTTGATATC
36     V A N G C E L K P S K V V N Q P R V D I
181    GGAGGTGATGATATGCCGCGCATTTACACATTAGTGATGGTAGATCCTGATGCTCCAAGT
56     G G D D M R A F H T L V M V D P D A P S
241    CCTAGTGACCCTAACTTAAGGGAATACTTACACTGGTTGGTTACTGATATTCAGCGACA
76     P S D P N L R E Y L H W L V T D I P A T
301    ACAGGAGCACAGTTGGTCAAGAAATTGTGTGCTATGAGAGCCCAAGGCCATCAATGGGA
96     T G A Q F G Q E I V C Y E S P R P S M G
361    ATTCATCGCATGGTTTTTGTGCTATTCCGGCAATTGGGTCGACAACTGTGTACGCCCA
116    I H R M V F V L F R Q L G R Q T V Y A P
421    GGATGGCGCCAGAACTTCAACACCAAAGACTTTGCGGAGCTCTACAACCTCGGATCTCCA
136    G W R Q N F N T K D F A E L Y N L G S P
481    GTAGCCGCGGTTTATTTAACTGTCAACGGGAAAGTGGATTGGTGGACGACGGAGATAA
156    V A A V Y F N C Q R E S G F G G R R R *
541    GATATATGGAATGTCCATGCCATGCACATGACGTTACAAATACATATTGAAAGCACGCAC
601    ATCATATT
  
```

图 1 菊花 *FT* 类似基因的 cDNA 序列及推导的氨基酸序列

\* 代表终止密码子。

Fig. 1 The complementary DNA sequence and deduced amino acid sequence for *CmFT*, a *Chrysanthemum FT*-Like gene

Stop codon is indicated by asterisk.

BLAST 分析表明, 该基因与杨属 (*Populus*)、葡萄 (*Vitis vinifera*) 等大多数双子叶植物 *FT* 类似基因的同源性可达 75%。通过氨基酸序列比对 (图 2) 发现 *CmFT* 中包含区分 *FT* 和 *TFL1* 蛋白的关键氨基酸残基酪氨酸 (Y)、谷氨酰胺 (Q), 且具有 *FT* 类蛋白的两个保守基序即 14 个保守氨基酸序列 (LGRQTVYAPGWRQN) 和 LYN/IYN 三联体 (Ahn et al., 2006)。

通过构建蛋白系统进化树 (图 3), 进一步分析菊花 *CmFT* 与其它双子叶植物 *FT*/*TFL1* 类似蛋白的遗传进化关系。结果表明, *CmFT* 蛋白与杨树 *PnFT1b*、*PnFTL4a*、*PnFT3c* 遗传距离较近, 且与拟南芥 *FT* 同属于 *FT*-Like 亚家族。可以推断, 菊花 *CmFT* 属于 *FT* 亚家族成员。

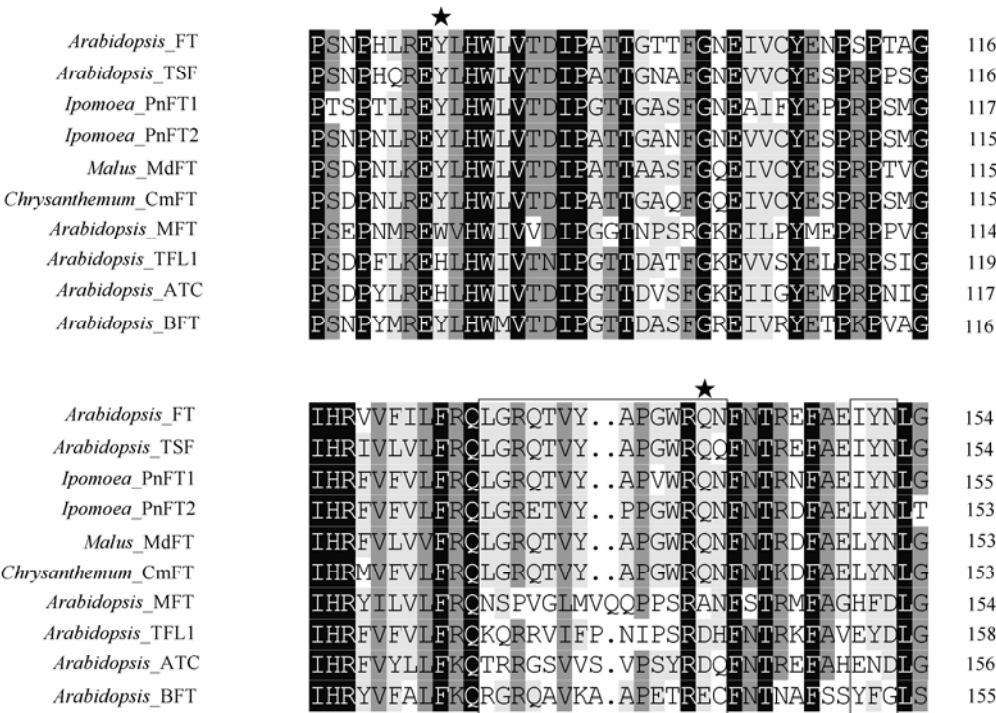


图 2 不同双子叶植物和拟南芥 *FT*/*TFL1* 蛋白家族部分氨基酸序列比对分析  
★代表区分 *FT* 和 *TFL1* 蛋白的关键氨基酸残基，黑色框表示鉴别 *FT* 基因的保守基序。

Fig. 2 Comparison of partial proteins with homologous proteins of dicots plants

Asterisks indicate amino acids that are critical to define *FT* or *TFL1*-like proteins. The 14-amino-acid stretch and the LYN triad identified as diagnostic of true *FT* genes are boxed.

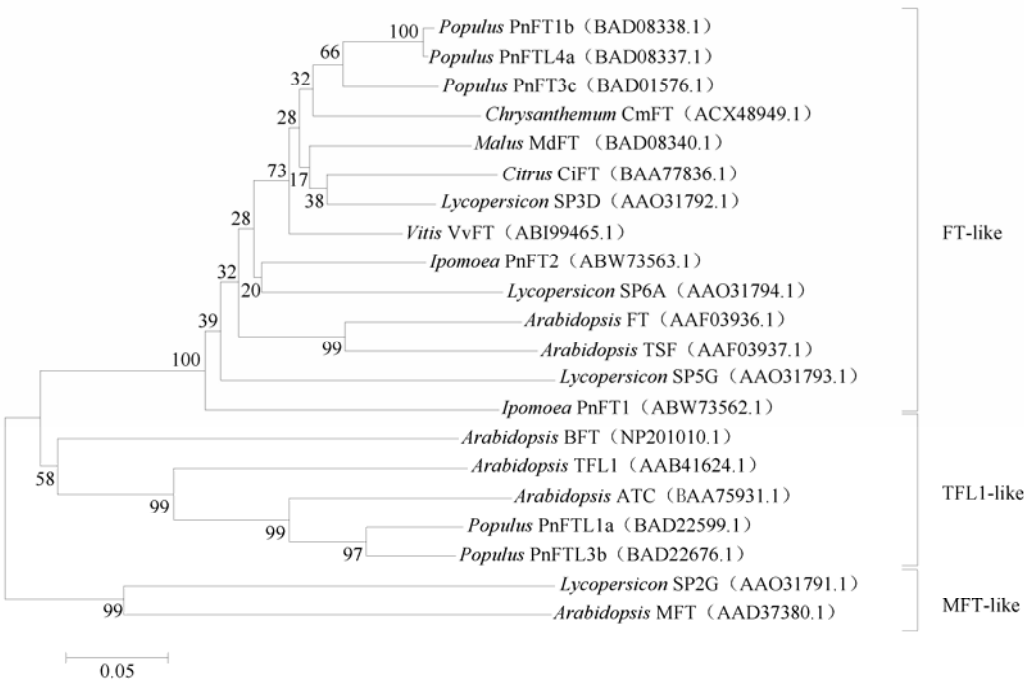


图 3 不同双子叶植物 *FT*/*TFL1* 蛋白系统进化树  
右边大括弧表示 3 个亚家族。

Fig. 3 Phylogenetic tree of *FT*/*TFL1* proteins

The three subfamilies are indicated on the right under square brackets.

## 2.3 *FT*类似基因的定量表达分析

### 2.3.1 荧光产物的鉴定与标准曲线

对 *CmFT* 荧光定量特异扩增产物进行测序, 与原基因的相似性为 100%。用引物 *Actin gsp1*、*Actin gsp2* 对反转录产物进行 PCR 扩增, 均得到大小与预期相同的片段。*CmFT* 的标准曲线为  $Y = -3.5855X + 36.3178$ , 相关系数为 0.9962。*Actin* 的标准曲线为  $Y = -3.8546X + 35.4926$ , 相关系数为 0.9979。两条标准曲线的斜率相差小, 相关系数都接近 1, 熔解曲线均为单峰, 扩增产物特异性好, 荧光曲线能够准确地反映目的产物的扩增。

### 2.3.2 *FT* 类似基因在不同光周期处理下 mRNA 转录水平比较

通过 1 d 内不同光周期处理下 4 h 间隔的荧光定量分析验证了该基因与光周期响应类型之间的相关性。结果如图 4 所示, 短日照处理 (SD) 下叶片 *CmFT* 的表达量显著高于长日照处理, 长日照处理 (LD) 下该基因的表达量相对短日照下几乎不表达。在短日照处理下, 叶片 *CmFT* 在 1 d 内的表达量变化呈昼夜节律变化: 在光照期间总体呈下降趋势, 前 4 h 表达量下降幅度较大, 后 4 h 呈平稳趋势; 在黑暗期间, 前 4 h 延续下降的趋势降至 1 d 内最低点, 之后表达量逐渐上升, 并于中间时段急剧升高至最高水平, 后 4 h 逐渐下降 (图 4)。

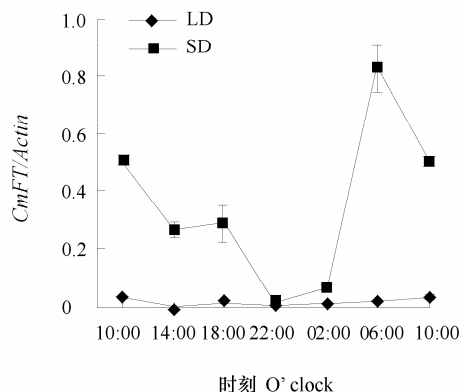


图 4 菊花叶片在长日照(LD)和短日照(SD)中 *CmFT* 的实时定量表达分析

Fig. 4 Quantitative expression of *CmFT* in leaves under SD and LD

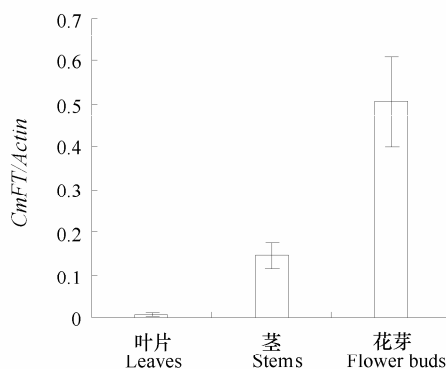


图 5 *CmFT* 在叶片、茎与花芽中的表达差异

Fig. 5 Different expression of *CmFT* in leaves, stems and flower buds

### 2.3.3 *FT* 类似基因在不同组织中的 mRNA 转录水平比较

对已开花的菊花同一植株不同组织进行 *CmFT* 荧光定量表达分析, 结果表明 (图 5), 短日照下已开花植株叶片、茎与花芽 *CmFT* 表达量存在明显差异, 花芽内显著高于同时期叶片内的表达, 而茎的表达量居中。

## 3 讨论

*FT* 为编码磷脂酰乙醇胺结合蛋白 (PEBP) 的基因家族成员, 该家族可分为两个亚家族 (*TFL*/*FT*)。在拟南芥中共有 6 个成员, 除 *FT* 外, 还包括 *TERMINAL FLOWER 1* (*TFL1*)、*TWIN SISTER OF FT* (*TSF*)、*ARABIDOPSIS THALIANA CENTRORADIALIS* (*ATC*)、*BROTHER OF FT AND TFL1* (*BFT*) 和 *MOTHER OF FT AND TFL1* (*MFT*) (Kobayashi et al., 1999)。组成型表达 *FT* 可提前开花 (Kobayashi et al., 1999; Yamaguchi et al., 2005), 组成型表达 *TFL1* 则延迟开花 (Mimida et al., 2001), *FT* 和

TFL1 蛋白在开花中扮演相反的功能。FT 和 TFL1 蛋白有 59% 同源性, 但在 PEBP 域中仅改变一个关键氨基酸就能使 TFL1 与 FT 功能互相转换 (Hanzawa et al., 2005)。本研究获得的 *CmFT* 与大多数双子叶植物 *FT* 类似基因的同源性较高, 氨基酸序列中包含区分 FT 和 TFL1 蛋白的关键氨基酸残基和保守基序, 系统进化分析进一步说明该基因属于 *FT* 亚家族成员。

拟南芥 *FT* 或水稻同源物 *Hd3a* (*Heading date 3a*) 的表达响应日照长短, *FT* mRNA 仅在适合开花的日照条件下积累。长日照属性拟南芥 *FT* 仅在长日照下积累, 而水稻 *Hd3a* 在适合其开花的短日照条件下才能积累达到一定水平 (Suarez-Lopez et al., 2001; Izawa et al., 2002; Kojima et al., 2002)。菊花 *CmFT* 的表达型在不同的日照长度下表达不同, 在短日照下有相对较高的积累, 长日照下几乎不表达, 表明所克隆的 *CmFT* 对日照长短存在响应机制, 与光周期诱导开花存在密切相关。短日照条件下菊花 *CmFT* 在 1 d 内的表达型与牵牛花 (*P. nil*) 在短日照下的昼夜节律表达型类似, 但与光诱导条件下拟南芥、大麦 (*Hordeum vulgare*) 等植物存在相反的表达峰 (Suarez-Lopez et al., 2001; Faure et al., 2007; Hayama et al., 2007), 这是否暗示着菊花 *CmFT* 昼夜节律表达型与短日照植物牵牛花更为相似有待于进一步研究。此外, 大多数植物光钝感特性与 *CO/FT* 类似基因间的昼夜节律表达型密切相关 (Turner et al., 2005; Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009), 探讨不同光周期菊花品种 *CO/FT* 类似基因间的表达型差异将是培育光不敏感型菊花品种的重要研究方向之一。

菊花属于短日照植物, 通常对日照长短较为敏感, 存在花期短、花期相对集中等缺点。*CmFT* 的光周期敏感性响应机制的研究有助于了解菊花光周期途径的分子机理, 为培育不同花期品种奠定基础。

## References

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science*, 309 (5737): 1052 – 1056.
- Ahn J H, Miller D, Winter V J, Banfield M J, Lee J H, Yoo S Y, Henz S R, Brady R L, Weigel D. 2006. A divergent external loop confers antagonistic activity on floral regulators FT and TFL1. *The EMBO Journal*, 25: 605 – 614.
- Anderson N O, Ascher P D. 2001. Selection of day-neutral, heat-delay-insensitive *Dendranthema × grandiflora* genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126 (6): 710 – 721.
- Ausin I, Alonso-Blanco C, Martinez-Zapater J M. 2005. Environmental regulation of flowering. *International Journal of Developmental Biology*, 49 (5-6): 689 – 705.
- Baurle I, Dean C. 2006. The timing of developmental transitions in plants. *Cell*, 125 (4): 655 – 664.
- Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape J W, Laurie D A. 2007. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 115 (5): 721 – 733.
- Boss P K, Bastow R M, Mylne J S, Dean C. 2004. Multiple pathways in the decision to flower: Enabling, promoting, and resetting. *The Plant Cell*, 16 (Supplement): 18 – 31.
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, Coupland G. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 316 (5827): 1030 – 1033.
- Faure S, Higgins J, Turner A, Laurie D A. 2007. The *FLOWERING LOCUS T*-like gene family in barley (*Hordeum vulgare*). *Genetics*, 176 (1): 599 – 609.
- Fowler S, Lee K, Onouchi H, Samach A, Richardson K, Morris B, Coupland G, Putterill J. 1999. *GIGANTEA*: A circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *The EMBO Journal*, 18 (17): 4679 – 4688.
- Hanzawa Y, Money T, Bradley D. 2005. A single amino acid converts a repressor to an activator of flowering. *Proceedings of the National Academy of Science of USA*, 102 (21): 7748 – 7753.

- Hayama R, Agashe B, Luley E, King R, Coupland G. 2007. A circadian rhythm set by dusk determines the expression of *FT* homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis*. *The Plant Cell*, 19 (10): 2988 – 3000.
- Izawa T, Oikawa T, Sugiyama N, Tanisaka T, Yano M, Shimamoto K. 2002. Phytochrome mediates the external light signal to repress *FT* orthologs in photoperiodic flowering of rice. *Genes and Development*, 16 (15): 2006 – 2020.
- Jack T. 2004. Molecular and genetic mechanisms of floral control. *The Plant Cell*, 16 (Supplement): 1 – 17.
- Jaeger K E, Wigge P A. 2007. FT protein acts as a long-range signal in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 17 (12): 1050 – 1054.
- Kardailsky I, Shukla V K, Ahn J H, Dagenais N, Christensen S K, Nguyen J T, Chory J, Harrison M J, Weigel D. 1999. Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science*, 286 (5446): 1962 – 1965.
- Kobayashi Y, Kaya H, Goto K, Iwabuchi M, Araki T. 1999. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science*, 286 (5446): 1960 – 1962.
- Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, Yano M. 2002. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of Hd1 under short-day conditions. *Plant & Cell Physiology*, 43 (10): 1096 – 1105.
- Lifschitz E, Eshed Y. 2006. Universal florigenic signals triggered by *FT* homologues regulate growth and flowering cycles in perennial day-neutral tomato. *Journal of Experimental Botany*, 57 (13): 3405 – 3414.
- Mimida N, Goto K, Kobayashi Y, Araki T, Ahn J H, Weigel D, Murata M, Motoyoshi F, Sakamoto W. 2001. Functional divergence of the *TFL1*-like gene family in *Arabidopsis* revealed by characterization of a novel homologue. *Genes Cells*, 6 (4): 327 – 336.
- Moon J, Lee H, Kim M, Lee I. 2005. Analysis of flowering pathway integrators in *Arabidopsis*. *Plant & Cell Physiology*, 46 (2): 292 – 299.
- Park D H, Somers D E, Kim Y S, Choy Y H, Lim H K, Soh M S, Kim H J, Kay S A, Nam H G. 1999. Control of circadian rhythms and photoperiodic flowering by the *Arabidopsis GIGANTEA* gene. *Science*, 285 (5433): 1579 – 1582.
- Pnueli L, Gutfinger T, Hareven D, Ben-Naim O, Ron N, Adir N, Lifschitz E. 2001. Tomato SP-interacting proteins define a conserved signaling system that regulates shoot architecture and flowering. *The Plant Cell*, 13: 2687 – 2702.
- Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G. 1995. The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell*, 80 (6): 847 – 857.
- Samach A, Onouchi H, Gold S E, Ditta G S, Schwarz-Sommer Z, Yanofsky M F, Coupland G. 2000. Distinct roles of *CONSTANS* target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science*, 288 (5471): 1613 – 1616.
- Searle I, Coupland G. 2004. Induction of flowering by seasonal changes in photoperiod. *The EMBO Journal*, 23: 1217 – 1222.
- Strayer C A, Kay S A. 1999. The ins and outs of circadian regulated gene expression. *Current Opinion in Plant Biology*, 2 (2): 114 – 120.
- Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G. 2001. *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 410 (6832): 1116 – 1120.
- Tamaki S, Matsuo S, Wong H L, Yokoi S, Shimamoto K. 2007. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, 316 (5827): 1033 – 1036.
- Turner A, Beales J, Faure S, Dunford R P, Laurie D A. 2005. The pseudo-response regulator *Ppd-H1* provides adaptation to photoperiod in barley. *Science*, 310 (5750): 1031 – 1034.
- Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G. 2004. Photoreceptor regulation of *CONSTANS* protein in photoperiodic flowering. *Science*, 303 (5660): 1003 – 1006.
- Wigge P A, Kim M C, Jaeger K E, Busch W, Schmid M, Lohmann J U, Weigel D. 2005. Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science*, 309 (5737): 1056 – 1059.
- Wilhelm E P, Turner A S, Laurie D A. 2009. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theoretical and Applied Genetics*, 118 (2): 285 – 294.
- Yamaguchi A, Kobayashi Y, Goto K, Abe M, Araki T. 2005. TWIN SISTER OF FT (TSF) acts as a floral pathway integrator redundantly with FT. *Plant Cell Physiology*, 46 (8): 1175 – 1189.