

# Assembly and Spatiotemporal Accumulation of Florigen Activation Complex in Arabidopsis

## Abstract

Flowering is an important event in the life cycle of angiosperms, and is essential for their reproductive success. The floral transition is the first step by which flowering plants transition from vegetative growth to reproductive development. The initiation of this process is triggered by “florigen”, which includes a protein encoded by *FT* genes in leaves that is transported to the shoot apical meristem (SAM). In the SAM, FT interacts with the bZIP transcription factor FD and individual 14-3-3 proteins to form the florigen activation complex (FAC), which initiates the transcription of floral regulated genes. The existing FAC model is based on the crystallization of 14-3-3 and a truncated FT homolog without its carboxy terminus, dipped with a short FD C-terminal peptide and does not include DNA. This model raises questions about the involvement of other parts of FD, the significance of 14-3-3 proteins in the structure, contributions of components to DNA binding, and the impact of the absent FT carboxy terminus. In addition, the distribution and dynamics of endogenously expressed FT in the SAM remain unstudied in detail due to its low abundance.

In the first part of this thesis, I examined the regulatory role of 14-3-3 proteins on FD. I found that FD is phosphorylated at T282 *in planta*, and that this is required for the interaction of FD with 14-3-3 proteins. This interaction is crucial for conferring DNA-binding ability to FD, in addition to counteracting its tendency for liquid phase condensation, and promoting FD dimerization for effective DNA binding.

In the second part of the thesis, I characterized the accumulation pattern of FT in the leaves and the SAM, and distinguished between accumulation of FT that was due to protein transport and to local transcription. Cellular analysis revealed temporal and spatial overlap in the accumulation of FT, FD, and 14-3-3 within the SAM. After movement of FT protein to the SAM, transcription of *FT* was detected in axillary meristems and floral primordia. Furthermore, I demonstrated that recruitment of FT to the 14-3-3–FD complex is facilitated by interaction between C-terminal amino-acid residues of FT that were absent in the original model and DNA. Overall, the work in this thesis demonstrates the spatio-temporal pattern of FT accumulation at the apex, the multifaceted regulatory roles of 14-3-3 proteins on FD activity, and highlights the

essential roles of DNA and the C-terminus of FT in assembly of the FAC, leading to the transcription of flowering genes in the SAM and floral primordia.

---

## Zusammenfassung

Die Blüte ist ein wichtiges Ereignis im Lebenszyklus von Angiospermen und entscheidend für ihren Fortpflanzungserfolg. Der Blühbeginn ist der erste Schritt der blühenden Pflanzen vom vegetativen Wachstum zum reproduktiven Wachstum. Ausgelöst wird dieser Prozess durch "Florigen", ein Protein, das von FT-Genen in den Blättern kodiert wird und zum apikalen Meristem des Sprosses (SAM) transportiert wird. Dort interagiert FT mit dem bZIP-Transkriptionsfaktor FD und einzelnen 14-3-3-Proteinen, um den Aktivierungskomplex (FAC) zu bilden, der die Transkription floral regulierter Gene initiiert. Jedoch beruht das bestehende FAC-Modell, basierend auf der Kristallisation von 14-3-3 und einem verkürzten FT-Homolog ohne sein Carboxy terminus, getaucht mit einem kurzen FD-C-Terminus-Peptid, aber ohne DNA, auf einer Struktur, die keine DNA enthält und ein gekürztes FT-Homolog ohne seinen Carboxy-terminus. Dies wirft Fragen zur Regulation von FD, zur Rolle der 14-3-3-Proteine, zur DNA-Bindung und zu den Auswirkungen des Carboxyterminus von FT auf das Modell auf. Darüber hinaus wurde die Verteilung und Dynamik endogen exprimierter FT im apikalen Meristem aufgrund seiner geringen Häufigkeit noch nicht im Detail untersucht.

Im ersten Teil dieser Arbeit habe ich die regulatorische Rolle der 14-3-3-Proteine auf FD demonstriert. Ich fand heraus, dass FD in planta bei T282 phosphoryliert wird und dass dies für die Interaktion von FD mit den 14-3-3-Proteinen erforderlich ist. Diese Interaktion ist entscheidend für die Verleihung der DNA-Bindungsfähigkeit an FD. Darüber hinaus wirkt sie seiner Tendenz, zur Flüssigphasenkondensation entgegen und fördert die Dimerisierung von FD für eine effektive DNA-Bindung.

Im zweiten Teil der Arbeit habe ich das Akkumulationsmuster von FT in den Blättern und im apikalen Meristem charakterisiert und unterschieden, welche Akkumulation von FT auf den Proteintransport und welche auf die lokale Transkription zurückzuführen ist. Zelluläre Analysen zeigten zeitliche und räumliche Überlappungen bei der Akkumulation von FT, FD und 14-3-3 im apikalen Meristem. Darüber hinaus habe ich gezeigt, dass die Rekrutierung von FT in den 14-3-3-FD Komplex durch die Wechselwirkung zwischen den C-terminalen Aminosäureresten von FT und DNA erleichtert wird.

Insgesamt zeigt die Arbeit in dieser Dissertation die vielschichtigen regulatorischen Funktionen der 14-3-3-Proteine auf die FD-Aktivität und unterstreicht die wesentlichen Rollen von DNA und dem C-Terminus von FT bei der Bildung des FAC, das die Transkription von Blütenessenen im apikalen Meristem SAM und in den Blütenanlagen reguliert.