

Apoptosis: Programlanmış Hücre Ölümleri

Mahmut ÇALIŞKAN

Mustafa Kemal Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, 31040, Hatay-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.04.1999

Özet: Normal gelişimin ve hastalıklarla bağlantılı patolojik durumların bir ögesi olarak ortaya çıkabilen "programlanmış hücre ölümü" çok hücreli pek çok canlıda bulunmuştur. Programlanmış hücre ölümü veya diğer adı ile apoptosis, belirli hücrelerin kendi ölümünü, yani "intiharlarını", aldıkları sinyal sonucu aktive etmeleridir. Apoptosis nematodlardan memelilere kadar pek çok organizmanın hücre ve doku çeşidinde tanımlanmıştır.

Apoptosis, nekrozdan farklı olarak, ölen hücrenin aktif katılımı ile meydana gelir. Yani, "intihar et" komutu alan hücre bu olayı gerçekleştirmek için bazı gen ürünleri (proteinler, enzimler) sentezler ve gerekli fizyolojik düzenlemeleri gerçekleştirir. Apoptosis'i gerçekleştiren genler hayvanlarda ve bitkilerde bulunmuştur. Bu genlerin bir kısmı apoptosis'de indükleyici bir kısmı bir inhibitör gibi davranır. Değişik organizmalardaki apoptosis ile bağlantılı genler arasında, DNA dizilimi açısından, benzerlik bulunması evrimsel açıdan canlılar arasında korunmuş ortak bir programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının varlığını akla getirmiştir. Apoptosis'in canlılardaki rolü, hayvanlarda olduğu gibi normal gelişimle ilgili olabileceği gibi, bitkilerdeki "aşırı duyarlı tepkime"de olduğu gibi patojenlere karşı savunma mekanizması ile ilgili de olabilir.

Anahtar Sözcükler: Apoptosis, Aşırı Duyarlı Tepkime, Hücre Gelişimi, Nekroz.

Apoptosis: Programmed Cell Death

Abstract: "Programmed cell death" has been found in many multicellular organisms and occurs as a part of normal development as well as in pathological processes associated with some diseases. Programmed cell death, or apoptosis, is the process whereby certain cells are induced to activate their own death or cell suicide. Apoptosis has been described in a wide variety of cell and tissue types from nematodes to mammals.

Apoptosis, unlike necrosis, is mediated by the active participation of dying cells. In another words, the dying cells synthesize certain proteins and enzymes to carry out the "suicide" process. The genes involved in apoptosis have been defined in animals as well as in plants. Some of these genes act as inducers while the others as inhibitors. It has been found that apoptosis related genes have high homology in terms of DNA sequences, suggesting the occurrence of an evolutionarily preserved common programmed cell death mechanism among multicellular organisms. The possible role of apoptosis may be related to the regulation of normal development as in animals or it may be involved in defense responses against pathogens as in hypersensitive response (HR) in plants.

Key Words: Apoptosis, Cell Development, Hypersensitive response, Necrosis.

Giriş

Canlılığın temel karakterlerinden birisi olan ölüm gerek hücre bazında, gerekse organizma bazında sıkça karşılaşılan bir olaydır. Ökaryotik hücrelerde şimdiye kadar morfolojik ve biyokimyasal analizlerle ayırt edilmiş iki tip hücre ölümü belirlenmiştir, bunlar patolojik hücre ölümü (nekroz) ve fizyolojik "programlanmış" hücre ölümüdür. İlkinin nedenleri ve mekanizmaları detaylı araştırmalara konu olduğu halde, ikincisi uzun yıllar ihmal edilmiş veya bilim adamlarınca ilgi çekici bir konu olarak görülmemiştir. Bunun bir nedeni belki de hücre ölümünün bir şekilde hücrelerin zarar görmesinden kaynaklandığı şeklindeki düşüncedir (1). Aslında normal embriyo ve bağışıklık sisteminin gelişiminden bazı hücrelerin embriyonun veya organizmanın sağlıklı gelişimi

için ortadan kalkması gerektiği biliniyordu fakat bilinmeyen bunun diğer metabolik aktiviteler (büyüme, farklılaşma vb.) gibi "programlanmış" olduğu ve ölen ya da "intihar etmesi söylenen" hücrenin aktif katılımı ile olduğudur (2, 3). Her ne kadar mekanizması tam olarak bilinmiyorsa da programlanmış hücre ölümünün veya apoptosis'in, bir hücrenin kendisini intihara götürecek mekanizmayı devreye sokması sonucu meydana geldiği düşünülmüştür. Bu tip ölümlerin morfolojik ve biyokimyasal açıdan nekrozdan farklı oldukları ve bunların hücrenin kendi iç düzenlemeleri sonucu "intihar" ettikleri belirlenmiştir. Günümüzde apoptosis'in fizyolojide ve patolojide önemli bir işleve sahip olduğu (4) ve istenmeyen her türlü hücrenin elimine edildiği fizyolojik bir ölüm (5) olduğu belirtilmiştir.

Eskiden beri apoptosis'i nekroz'dan ayırmak zor olmuştur çünkü hücre ölümünün hangi mekanizma ile olduğunu belirlemek her zaman mümkün olamamıştır. Bazı durumlarda ise hücre ölümünün hem nekroz hem de apoptosis olabileceği belirtilmiştir. Örneğin HIV-1'in neden olduğu hücre ölümünde her iki ölüm mekanizması da yani hem apoptosis hem de nekroz belirlenmiştir (6). Nekroz'un ve apoptosis'in oluşum şekilleri ve mekanizmaları arasında farklar belirlenmiştir (7). Nekroz patolojik bir nedenden dolayı hücrenin zarar görenek, kendi katılımı olmaksızın meydana gelen hücre ölümüdür. Nekroz hücre enerji kaynaklarında bir azalmayı, hücresel çözünmeyi ve bunları izleyen içsel homeostasis'in yıkımını içerir. Programlanmış hücre ölümü ise genellikle bir fizyolojik (patolojik olmayan) uyarı tarafından başlatılır ve hücre enerji kaynaklarında bir azalma esas değilken makromolekül sentezi çoğu zaman esastır. Nekrozda hücreler genellikle hacim olarak genişler ve patlayarak dağılırlar, halbuki programlanmış hücre ölümünde hücreler hacim olarak küçülür (büzülürken) ve sonrasında komşu hücreler tarafından absorbe edilirler. Aynı zamanda programlanmış hücre ölümü çekirdek yoğunlaşması, DNA parçalanması, apoptotik yapıların oluşması gibi morfolojik ve fizyolojik değişimler ile karakterize edilmiştir (1). Yaygın görüş, ölüme programlanmış hücrelerde makromolekül sentezinin durduğu şeklindedir. Fakat yakın zamanda yapılan çalışmalar ölüme programlanmış hücrelerde metabolik aktivitelerin durmadığını aksine bazı genlerin bu olayı düzenlediklerini göstermiştir (2).

Apoptosis hücrenin kendini yok etmek (intihar) için bir takım metabolik ve fizyolojik işlemleri devreye soktuğu bir olaydır (8). Yapılan çalışmalarda apoptosis ile sinyal iletim mekanizması arasında bir bağlantı olduğu gösterilmiştir (9). Raff'a göre bütün hücreler ölüme programlanmışlardır ve yaşamlarını devam ettirmek için diğer hücrelerden devamlı olarak sinyal almalıdırlar (10). Bu sinyal herhangi bir şekilde kesildiği zaman hücre intihar eder. Sinyal iletim mekanizmasının önemli bir parçası olan Ca^{++} iyonunun bazı hücrelerde apoptosisi aktive ettiği ve ortamdaki Ca^{++} iyonu bloke edildiğinde apoptosis oluşmadığı görülmüştür (11). Bunun mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber Ca^{++}/Mg^{++} bağlantılı çalışan ve DNA'yı parçalayan endonükleaz enziminin rol aldığı ileri sürülmüştür (12, 13). Programlanmış hücre ölümünde, ölen hücrenin aktif olarak RNA ve protein sentezi yapması gerektiği ve bu

hücrelerdeki RNA ve protein sentezi inhibe edildiği zaman apoptosis oluşmadığı gözlenmiştir (14). Bu da apoptosis'in genlerin kontrolünde olduğunu göstermiştir. Apoptosis'in mekanizmasını aydınlatmaya yönelik bir çalışmada ise protein biyosentezinin bazı kimyasallarla (Didemnin B gibi) inhibe edilmesi durumunda, bazı hücrelerin apoptosis mekanizmasını devreye soktuğunu fakat yapılan detaylı çalışmalarda DB'nin sadece protein sentezini inhibe etmesinin apoptosis oluşumu için yeterli olmadığı ve bazı diğer faktörlerin de rol aldığı belirtilmiştir (15). Bu diğer faktörlerin hormonlar, büyüme faktörleri ve hücreler arası maddeler (Extracellular matrix) olabileceği ileri sürülmüştür (16).

Programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının hemen hemen bütün canlılarda bulunduğu saptanmış ve apoptosis'i düzenleyen genlerin varlığı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (17). Apoptosis'in en yoğun olarak çalışıldığı organizma olan nematod *Caenorhabditis elegans*'da ced-3 ve ced-4 adlı genlerin apoptosis'e neden olduğu belirlenmiştir (18). Mutasyon ile inaktif olmuş ced-3 ve ced-4 genlerini taşıyan canlılarda apoptosis meydana gelmemiştir ve normalde ölmesi gereken hücreler yaşamaya devam etmişlerdir (18). Ced-3 ve ced-4 hakkında çok az bilgi olmasına rağmen, bunların bir memeli proteaz geni ile yüksek oranda benzerlik göstermesi, bunların da proteaz aktivitesi gösteren enzimleri sentezleyebileceğini düşündürmüştür (19). Bu noktada akla gelen bu şekilde aktiviteleri ölümlerle sonuçlanabilen ced-3 ve ced-4 genlerinin nasıl bir kontrol mekanizması altında olabileceğidir. Bu sorunun cevabı 1992'de ced-9 adı verilen bir genin ced-3 ve ced-4 gen aktivitelerini kontrol ettiği belirlenerek açıklanmış oldu (20). ced-9 gen aktivitesi hücreleri programlanmış hücre ölümünden korumaktadır. Normal *C. elegans* gelişimi sırasında ölüme programlanmış hücrelerde anormal olarak ced-9 gen aktivitesi yaratılırsa, bu hücrelerin yaşadığı ve aynı şekilde normalde yaşayan hücrelerde eğer ced-9 gen aktivitesi inhibe edilirse bu hücrelerin öldüğü gözlemlenmiştir (20).

Memelilerde ICE (Interleukin-1 β -Converting Enzyme) diye isimlendirilen ve apoptosis'e sebep olan bir gen karakterize edilmiş ve bu genin bir sistein proteazı kodladığı belirlenmiştir (19), aynı şekilde Fas adlı bir hücre yüzey antijeninin de değişik antikör bağlanmaları sonucu apoptosis'i harekete geçirdiği saptanmıştır (21). *C. elegans*'da olduğu gibi diğer canlılarda da apoptosis'i inhibe eden ve Bcl-2 diye adlandırılan bir gen bulunmuştur

(22). Örneğin balıkları enfekte eden bir virüsün (IPNV) hücrelerde apoptosis'i meydana getirdiği bunu da Bcl-2 gen ailesine ait olan Mcl-1 genini inhibe ederek yaptığı belirlenmiştir (23). Aynı şekilde HIV-1 enfeksiyonu taşıyan çocuklarda yapılan araştırmalarda, bu kişilerde Fas/Apo-1 gen aktivitesinin yüksek olduğu ve aynı zamanda Bcl-2 gen aktivitesinin ise düşük olduğu gözlenmiştir (24). Bcl-2 gen aktivitesi artırıldığı zaman, Fas molekülünün apoptosis'i oluşturmasını engellenmesi, bu gen aktivitesinin hücre yaşamının devamı için gerekli olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır (21). Bcl-2 gen ürünü olan protein'in mitokondri membranında lokalize olması onun hücredeki Ca^{++} oranını kontrol edebileceğini göstermiştir, çünkü mitokondri hücredeki Ca^{++} depo yeridir (25). Evrimsel açıdan insandan nematoda kadar tüm canlılar arasında korunmuş bir programlanmış hücre ölüm mekanizmasından söz etmek mümkündür (19), çünkü ced-3 ile ICE ve ced-9 ile Bcl-2 genleri arasında yüksek oranda benzerlik bulunmuştur ve bu genler gerek memelilerde ve gerekse nematodlarda birbirlerinin yerine geçerek apoptosis mekanizmalarını aktive veya inhibe edebilmektedirler (26).

Bitkilerde bazı metabolik aktivitelerin ve bazı çevresel faktörlerin, genetik kontrol altındaki programlanmış hücre ölüm mekanizmalarını harekete geçirdiği belirtilmiştir (27). Embriyogenez'deki suspensorun, çimlenme dönemindeki aleurone (28) ve koleorize hücrelerinin (29) yok edilmesinin apoptosis sonucu olabileceği düşünülmektedir. Erken bitki gelişiminde, embriyonik kök hücrelerini desteklemek ve korumakla görevli olan koleorhiza hücreleri kökün gelişimi ile bu görevlerini tamamlarlar. Çimlenme döneminden sonra ihtiyaç duyulmayan bu hücrelerin apoptosis ile kendilerini yok ettikleri belirtilmiştir (29). Döllenen yumurta iki bölüm geliştirir, bunlardan biri embriyonu diğeri suspensoru oluşturur. Suspensor gelişen embriyonu gerek fiziksel ve gerekse besinsel yönden destekler. Embriyo kalp evresine ulaşınca, suspensorun görevi biter ve suspensor hücreleri kendilerini programlanmış hücre ölüm mekanizması ile yok ederler (30). Ksilemleri oluşturan farklılaşma mekanizmasının da programlanmış hücre ölüm mekanizmaları ile meydana geldiği saptanmıştır. Mezofil hücrelerini farklılaştırarak ksilem hücrelerini oluşturmak için yapılan bir çalışmada (31), trake elementlerinin farklılaşmasında, yaklaşık 60 saat içinde ikincil duvar oluştuğu saptanmış ve duvar oluşumundan sonra çekirdek ve kromatinlerin

parçalanmasının sadece 1-2 saat aldığı gözlenmiştir. Bu parçalanmanın nukleaz aktivitesi ve proteaz aktivitesi ile aynı zamanda olduğu belirlenmiştir (31).

Bitkilerde görülen programlanmış hücre ölüm mekanizmalarına bir örnek de yaprak senesensi'dir (32, 33). Diğer programlanmış hücre ölüm mekanizmalarında olduğu gibi yaprak senesensinde de hücrenin aktif katılımı (Protein sentezi, proteaz aktivitesi gibi) gerekmektedir (32). Bitkilerde programlanmış hücre ölümlerinin çalışıldığı bir başka konuda eşey organlarının körelmesidir (34). Tek eşeyli çiçek veren pek çok bitkide gerek erkek eşey organı (androecium) ve gerekse dişi cinsiyet organı (gynoecium) primordiyası olmakta, fakat bunlardan birisi olgunlaşmadan önce körelmekte ve programlanmış hücre ölümü ile kendisini yok etmektedir. Böylece tek eşey çiçek oluşumu görülmektedir (34).

Apoptosis'in bitkilerde patojenlere karşı bir savunma sistemi olabileceği ileri sürülmüştür. Örneğin iletim kanallarını saran hücrelerin (Vascular bundle sheath cells) apoptosis sonucu öldükleri ve böylece potansiyel patojenlerin iletim kanallarına geçip yayılmalarını önlediği ileri sürülmüştür (35). Bu görüş, apoptosis'i indükleyebilen hidrojen peroksit molekülünü üreten bir gen ürününün (Okzalit oksidaz) bu hücrelerde (Vascular bundle sheath cells) spesifik olarak lokalize edilmesi ile desteklenmiştir (36, 37). Bitkilerde görülen en yaygın programlanmış hücre ölüm mekanizmaları patojenlere karşı meydana gelen "Aşırı Duyarlı Tepkime" (HR) sırasında hücre ölümleridir (38, 30). HR sırasında, bir patojenin bitki tarafından tanınması ile programlanmış hücre ölüm mekanizması hızlı bir şekilde devreye sokulmakta ve enfeksiyon alanındaki hücrelerin ölümü (intiharı) ile ölü bir tabaka oluşmaktadır. Bu HR lezyonu, patojenin daha fazla hücreyi etkileyip yayılmasını engellemekte ve bir sinyal oluşturarak bitkinin diğer savunma mekanizmalarını uyarabilmektedir (39). Bunların yanında geniş bir patojen spektrumuna karşı uzun süreli bir sistemik savunmanın (Long-lasting systemic resistance) da aktive olduğu belirtilmiştir (40). Bu şekilde aktive edilmiş olan sistemik savunmaya, kazanılmış sistemik savunma (Acquired systemic resistance) adı verilmekte ve bu savunma mekanizması bazı patojen-ilişkili proteinlerin sentez hızının artması ve salisiklik asit birikimi ile karakterize olduğu gözlenmiştir (41).

1996 yılında, HR sırasında görülen programlanmış hücre ölüm mekanizmasını negatif yönde etkileyen ve

acd-2 (accelerated cell death-2) diye adlandırılan bir gen bulunmuştur (7). Bu genin hayvanlardaki bcl-2 ve *C. elegans*'deki ced-9 gibi hareket ederek bitki hücrelerinde apoptosis oluşmasını engellediği belirlenmiştir (7). Bu genin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, HR'de rol aldığı sanılan aktif oksijen oranını kontrol ederek apoptosis'i engellediği düşünülmektedir. Bitki hücrelerinin HR'ye nasıl karar verdikleri bilinmemektedir, fakat patojen saldırısı sonucu üretilen "serbest oksijen radikalleri" ve hidrojen peroksit'in HR'yi harekete geçirdiği düşünülmektedir (36, 42). Patojen saldırısı sırasında oluşan HR'de hidrojen peroksit üreten genlerin aktivitelerinin artması (43) ve hidrojen peroksit'in bu

dokularda lokalize edilmesi (37) bu görüşü desteklemiştir. Hayvanlarda görülen apoptosis ve nekroz ile bitkilerde görülen HR'nin özellikleri Tablo 1'de karşılaştırılmıştır.

Programlanmış hücre ölümlerinin organizmalarda pek çok önemli işlevi yerine getirdikleri anlaşılmaya başlanmıştır. Programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının moleküller düzeyde daha iyi anlaşılması, organizmada anormal görünen veya istenmeyen hücreleri (kanser hücreleri gibi) ortadan kaldırmaya yarayacağı gibi, yakın gelecekte apoptosis immünolojide, onkolojide ve hücre biyolojisinde önemli gelişmelere olanak tanıyabilecektir.

Özellikler	Apoptosis	HR	Nekroz
Hücre büzülmesi	+	+	-
Apoptotik yapı oluşması	+	-	-
Hücre atıklarının absorpsiyonu	+	-	-
Sitoplazma kondenzasyonu	+	+	-
Sitoplazma vesikülasyonu	+	+	+
Mitokondri stabilitesi	+	+	-
Nukleaz aktivitesi	+	+	-
nDNA fragmentasyonu	+	+	-
DNA ladder oluşumu	+	-	-
Çekirdek parçalanması	+	-	-

Tablo 1. Morfolojik ve fizyolojik özellikler bakımından bitkilerdeki HR ile hayvanlardaki apoptosis ve nekrozun karşılaştırılması.

Kaynaklar

1. Wyllie, A.H., Kerr, J.F.R. and Currie, A.R., Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cyt.* 68: 251-306, 1980.
2. Schwartz, L.M., Kosz, L. and Kay, B.K., Gene activation is required for developmentally programmed cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 6594-698, 1990.
3. Osborne, B.A., Induction of genes during apoptosis: examples from the immune system. *Seminars in Cancer Bio.* 6: 27-33, 1995.
4. Bellamy, C.O.C., Malcomson, R.D.G., Harrison, D.J. and Wyllie, A.H., Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Seminar in Cancer Biol.* 6: 3-16, 1995.
5. Ellis, R.E., Yuan, J. and Horvitz, H.R., Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell Biol.* 7: 663-698, 1991.
6. Plymale, D.R., Tang, D.S., Comardelle, A.M., Fermin, C.D., Lewis, D.E. and Garry, R.F., Both necrosis and apoptosis contribute to HIV-1 induced killing of CD4 cells. *AIDS* 13 (14): 1827-1839, 1999.
7. Mittler, R. and Lam, E., Sacrifice in the face of foes: pathogen-induced programmed cell death in plants. *Trends in Microbiology* 4: 10-15, 1996.
8. Vaux, D.L., Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 786-789, 1993.
9. Lee, S., Christakos, S. and Small, M.B., Apoptosis and signal transduction: clues to a molecular mechanism. *Curr. Op. Cell Biol.* 5: 286-291, 1993.
10. Raff, M.C., Social controls on cell survival and cell death. *Cell* 356: 397-400, 1992.
11. Bates, R.C., Buret, A., van Helden, D.F., Horton, M.A. and Burns, G.F., Apoptosis induced by inhibition of cellular contact. *J. Cell Biol.* 125: 403-415, 1994.
12. Arends, M.J., Morris, R.G. and Wyllie, A.H., Apoptosis: the role of the endonuclease. *Am. J. Pathol.* 130: 593-608, 1990.
13. Mittler, R. and Lam, E., Identification, characterization, and purification of a tobacco endonuclease activity induced upon HS cell death. *The Plant Cell* 7: 1951-1962, 1995.

14. Oppenheim, R.W., Prevette, D., Tytell, M. and Homma, S., Naturally occurring and induced neuronal death in the chick embryo in vivo requires protein and RNA synthesis: evidence for the role of cell death genes. *Developmental Biol.* 138: 104-113, 1990.
15. Beidler, D.R., Ahuja, D., Wicha, M.S. and Toogood, P.L., Inhibition of protein synthesis by didemnin B is not sufficient to induce apoptosis in human mammary carcinoma (MCF7) cells. *Biochem. Pharmacol.* 58(6): 1067-1074, 1999.
16. Meredith, J.E., Fazeli, B. and Schwartz, M.A., The extracellular matrix as a cell survival factor. *Mol. Biol. Cell* 4: 953-961, 1993.
17. Ameisen, J.C., The origin of programmed cell death. *Science* 272: 1278-1279, 1996.
18. Ellis, H.M. and Horvitz, H.R., Genetic control of pcd in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cell* 44: 817-829, 1986.
19. Vaux, D.L., Haecker, G. and Strasser, A., An evolutionary perspective on apoptosis. *Cell* 76: 777-779, 1994.
20. Hengartner, M.O., Ellis, R.E. and Horvitz, H.R., *Caenorhabditis elegans* gene ced-9 protects cells from programmed cell death. *Nature* 356: 494-499, 1992.
21. Takahashi, M., Saito, H., Okuyama, T., Miyashita, T., Kosuga, M., Sumisa, F., Yamada, M., Ebinuma, H. and Ishii, H., Overexpression of Bcl-2 protects human hepatoma cells from Fas-antibody-mediated apoptosis. *J. Hepatol.* 31(2): 315-322, 1999.
22. Nunez, G. and Clarke, M.F., The Bcl-2 family of proteins: regulators of cell death and survival. *Trends in Cell Biol.* 4: 399-403, 1994.
23. Hong, J.R., Hsu, Y.L. and Wu, J.L., Infectious pancreatic necrosis induces apoptosis due to down-regulation of survival factor MCL-1 protein expression in a fish cell line. *Virus Res.* 63 (1-2): 75-83, 1999.
24. Torre, D., Zeroli, C., Speranza, F., Martegani, R., Fiori, G. and Airoldi, M., Serum levels of Fas/Apo-1 and Bcl-2 in children with HIV-1 infection. *Scand. J. Infect. Dis.* 30 (6): 565-568, 1998.
25. Hockenbery, D., Nunez, G., Millman, C., Schreiber, R.D. and Korsmeyer, S. Y., Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks pcd. *Nature* 348: 334-336, 1990.
26. Hengartner, M.O. and Horvitz, H.R., Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4: 581-586, 1994.
27. Pennell, R.I. and Lamb, C., Programmed cell death in plants. *Plant Cell* 9: 1157-1168, 1997.
28. Yeung, E.C. and Meinke, D.W., Embryogenesis in angiosperms: development of the suspensor. *Plant Cell* 5: 1371-1381, 1993.
29. Caliskan, M., Temporal and spatial analysis of germin synthesis, PhD Thesis, University of Leeds, U.K., 1997.
30. Jones, A.M. and Dangl, J.L., Logjam at the styx: programmed cell death in plants. *Trends in Plant Sci* 1: 114-119, 1996.
31. Fukuda, H., redifferentiation of single mesophyll cells into tracheary elements. *Int. J. Plant Sci.* 155: 262-271, 1994.
32. Smart, C.M., Gene expression during leaf senescence. *New Phytol.* 126: 419-448, 1994.
33. Gan, S. and Amasino, R.M., Making sense of senescence: molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence. *Plant Physiol.* 113: 313-319, 1997.
34. Grant, S., Genetics of sex determination in flowering plants. *Dev. Genet.* 15: 214-230, 1994.
35. Carrington, J.C., Kasschau, K.D., Mahajan, S.K. and Schaad, M.C., Cell-to-cell and long distance transport of viruses in plants. *Plant Cell* 8: 1669-1681, 1996.
36. Caliskan, M. and Cuming, A.C., Spatial specificity of H₂O₂ - generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo development. *Plant Journal* 15 (2): 165-171, 1998.
37. Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y. and Collinge, D.B., Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J.* 11 (6): 1187-1194, 1997.
38. Ross, A.F., Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology* 14: 340-358, 1961.
39. Dietrich, R.A., Delaney, T.P., Uknes, S.J., Ward, E.R., Ryals, J.A. and Dangl, J.L., Arabidopsis mutants simulating disease resistance response. *Cell* 77: 565-577, 1994.
40. Ward, E.R., Uknes, S.J., Williams, S.C., Dincher, S.S., Wiederhold, D.L., Alexander, D.C., Ahl-Goy, P., Metraux, J.-P. and Ryals, J.A., Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3: 1085-1094, 1991.
41. Greenberg, J.T., Guo, A., Klessig, D.F. and Ausubel, F.M., Programmed cell death in plants: a pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense functions. *Cell* 77: 551-563, 1994.
42. Wojtaszek, P., Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322: 681-692, 1997.
43. Zhang, Z., Collinge, D.B. and Thordal-Christensen, H., Germin-like oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme, accumulates in barley attacked by the powdery mildew fungus. *Plant J.* 8 (1): 139-145, 1995.