

Ca²⁺ Sinyallerinin Bitki İmmünesindeki Rolü

Berna BAŞ

Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Gaziantep/Türkiye
[ORCID:/http://orcid.org/0000-0003-2455-2849]

Sorumlu yazar: bas@gantep.edu.tr

Öz

Bitkilerin en önemli besin maddelerinden biri olan kalsiyum iyonları, bitki gelişimi ve immünesinde önemli sinyal verme aracı moleküllerinden birisidir. Biyotik bir uyarana karşı bitki membranında bulunan kalsiyum iyon kanallarıyla hücreye giriş yapan Ca²⁺ katyonları fazla biriktiğinde, sitoplazmada homeostazı sağlamak amacıyla ACA protein kanallarıyla hücre dışına verilmektedir. Kalsiyumun sitoplazmik salınımı, özellikle immünesinin daha ileri aşamalarında kalmodulin ve kalmodulin benzeri proteinlere bağlı olarak gerçekleşecek olan olayların aktif hale geçirilmesi için önemlidir. Kalsiyumun bitki immünesindeki rolü bir MAMP olan FLS2 ile ilgili yapılan araştırmalarla kısmen ortaya konmuştur. Biyotik bir uyarıcının bitki membran reseptörleriyle algılandıktan sonra Ca²⁺ iyon akışıyla immün tepki arasında nasıl bağlantı olduğunu ortaya çıkarmak amacıyla bu derleme ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum sinyalleri, ACA, Bitki immünesi, Kalsiyum pompası

The Role of Ca²⁺ Signals in Plant Immunity

Abstract

Calcium ions, one of the most important nutrition in plants, are also one of the important mediator components in plant development and immunity. Ca²⁺ cations influxed into cell with ion channels in the plant membrane to biotic stimuli are effluxed in excessively accumulation outside cell through ACA protein channels to regulate homeostasis in cytoplasm. Cytoplasmic oscillation of Ca²⁺ is significant to activate the down regulation of immune cascade to occur depending calmodulin and calmodulin like proteins. The role of calcium in plant immunity has been partially uncovered in researches with associated with FLS2, a MAMP. Aim of this mini review is to disclosed the relationship between Ca²⁺ ion flux and immune reaction after a biotic stimulant is perceived via plant membrane surface receptors.

Keywords: Calcium signals, ACA, Plant immunity, Calcium pump

1. Giriş

Ca²⁺ makroelement bir besin olarak bitki hücrelerine iki amaç için giriş yapar; (Demidchik ve ark., 2018) birincisi, hücrenin yapısal ve metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için gerek duyulan kalsiyum iyonları hücreye membran üzerindeki temel Ca²⁺ iyon giriş kanalları yoluyla nanosaniye zaman diliminde pasif giriş yapar; ikinci amaç ise, hücre-içi ve hücre-dışı bir uyarıcı (biyotik veya abiyotik uyarıcı) aracılığıyla hücreye sinyal verme amacına hizmet eder, kısaca "kalsiyum sinyali" olarak isimlendirilen bir süreçtir ve böylece uyarıcının şifresi hem

fizyolojik hem de gen düzeyinde tepkiye dönüştürülerek çözülür (Swarbreck ve ark., 2013; Demidchik ve Shabala, 2018). Ca²⁺ sinyalizasyon süreci ise hızlı ve geçici bir dönem olup, sitoplazmik kalsiyum iyonlarının düzeyinde ani bir artış sağlar (Hedrich, 2012; Kudla ve ark., 2018). Aslında basit bir iyon olan kalsiyumun hücreye giriş-çıkış kanalları hücre membranında bulunan protein kanallar vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Bu kanallar da Ca²⁺ iyonlarına geçirgen kanallar, karşılıklı iyon değişim kanalları ve pompa sistemlerden oluşmaktadır (Kudla ve ark., 2018).

Bitkiler hücre-içi kalsiyum iyon stabilitesini 50-150 nM düzeyinde ayarlayarak, Ca^{+2} -transfer etme ve Ca^{+2} -tamponlama sistemlerinin uyum içinde çalışacağı şekilde evrimleşmiştir (Stael ve ark., 2012). Bu stabilite aşağıdaki şekillerde sağlanmaktadır (Demidchik ve Shabala, 2018);

1)Plazma membranı, tonoplast ya da diğer endo membranların yapısında yer alan kalsiyuma geçirgen olan katyon kanallarıyla oluşan elektrokimyasal gradyent sürecinde hücreye pasif giriş yaparlar.

2)Mikrosaniyeler içinde Ca^{+2} ATPazlar ve Ca^{+2}/H^{+} karşılıklı iyon değişim kanallarıyla oluşturulan gradyente karşı kalsiyumun hücre-içinden dışarı çıkarılmaktadır.

3)Hücre-içi serbest polivalent inorganik ve organik anyonlar (fosfatlar, ATP, ADP gibi), anyonik lipidler, Ca^{+2} -bağlayan proteinler, biyopolimerlerin karboksil reziduları ve benzer ligandlar aracılığıyla tamponlanarak stabilite sağlanmaktadır.

Bitkilerde ETI (Effector-Triggered Immunity; Etkörle Teşvik Edilen İmmünite) immüniteyle meydana gelen ve kısmen PTI (PAMP-Triggered Immunity; Patojenle İlgili Moleküler Örneklerle Teşvik Edilen İmmünite) immüniteyi de kapsayan hipersensitif tepkime de görülen moleküler olaylar dizisi SA (salisilik asit) teşvikinin düzenlenmesi, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi, NOI (nitrojen oksit ara ürünleri)'nin birikimi, MAPK olaylar dizisinin aktiflenmesi, hücre-içi kalsiyum düzeyinde değişimler, kalsiyuma bağlı protein kinaz transkripsiyonun yeniden programlanması ve antimikrobik maddelerin sentezlenmesi şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Mur ve ark., 2008; Kadota ve ark., 2014). Bitki immünitesindeki moleküler olaylar dizisiyle bağlantılı olan Ca^{+2} iyonlarının immünitedeki rollerini araştırmak amacıyla bu derleme ele alınmıştır.

2. Kalsiyum Katyonlarının Hücreye Giriş-Çıkış Yolları

Bütün ökaryotik hücrelerin fizyolojisinde önemli rollere sahip olan kalsiyum iyonları hücre membranı içinde yer alan kalsiyuma geçirgen kanallar aracılığıyla hücreye giriş-çıkış yaparlar ve böylece kalsiyumun dengede kalması sağlanır (Rafaello ve ark., 2016; Pchitskaya ve ark., 2018). Bitkilerde kalsiyum katyonları, Ca^{+2} kanallarıyla "giriş" ve enerji-bağlı aktif transport sistemi olan kalsiyum taşıyıcılarla (transpoterler) "çıkış" yaparak uyum içinde birlikte çalışan kanallar (giriş)-taşıyıcılar (çıkış) mekanizmalarıyla

kalsiyum sinyalleri üretirler (Kudla ve ark., 2018). Model bitki *Arabidopsis*'te 5 farklı kalsiyuma geçirgen kanal tanısı yapılmıştır (Kurusu ve ark., 2013; Morgan ve Galione, 2014; Yuan ve ark., 2014), bu kanallar döngüsel nükleotit kapılı kanallar, glutamat reseptörleri, iki gözenekli kanallar, mekano duyarlı kanallar ve azaltılmış hiper osmolalite teşvikiyle $[Ca^{+2}]_{cyt}$ artışıdır. Bu kanallarla kalsiyumun hücre içine girişi sağlanırken aynı zamanda taşıyıcılarla hücre dışına çıkışı engellenir. Kalsiyumun hücre dışına çıkışını sağlayan 4 farklı taşıyıcı vardır, bunlar otoinhibe olan Ca^{+2} -ATPazlar (ACAs), ER-tipi Ca^{+2} -ATPazlar (ECAs), P1-ATPazlar ve Ca^{+2} değiştiriciler (CAX) kalsiyumun hücre dışına çıkışını sağlayan taşıyıcılardır (Costa ve ark., 2017; Yang ve ark., 2017). Enerji kaynağı olarak ATP veya H^{+} gradyanını kullanan bu kanallar, hücre membranında oluşan konsantrasyon gradyanına karşı kalsiyumu hücre dışına pompalarlar (Kudla ve ark., 2018). Bitki kalsiyum kanalları ve taşıyıcıların özel işlevleri ile immünite arasındaki bağlantı yeni keşfedilmeye başlanmıştır (Zhang ve ark., 2018; Tian ve ark., 2019; Thor ve ark., 2020).

3. Biyotik İnteraksiyonlarda Kalsiyum Sinyalleri Nasıl Algılanmaktadır?

Kalsiyum hücre içine girdikten sonra dedektör görevi yapan moleküller bulunmaktadır, bu moleküller kalmudolin (CaM), yakın bağlantılı kalmodulin-benzeri proteinler (CLPs), kalsinörin B-Benzeri proteinler (CBLs), CBL ile interaksiyona giren kinazlar (CIPKs)'dir (Kudla ve ark., 2018). CIPK grubu moleküller direk kalsiyumla bağlantı kuramamakta ancak CBL kalsiyumu bağladıktan sonra CBL üzerinden interaksiyon gerçekleşmektedir. CBL grubu moleküller simbiyotik ilişkilerdeki Ca^{+2} sinyallerine dahil olmakla beraber bitki gelişimi, beslenme, abiyotik stresle ilgili membran proteinlerinin düzenlenmesinde işlevseldir (Kudla ve ark., 2018). Ca^{+2} katyonları bu protein yapıları moleküller üzerinde EF-hand olarak isimlendirilen özel kalsiyum bağlanma bölgelerine bağlanır (Aldon ve ark., 2018). Kalsiyum bu proteinlerle bağlandıktan sonra çeşitli kanallar, enzimler, transkripsiyon regülatörleri gibi proteinlerin aktiviteleri değiştirilerek genlerin anlatımı, stoma kapanması gibi olaylarla sonuçlanan hücresel işlevler kapsamlı bir şekilde tekrar programlanır. Konuyla ilgili moleküller düzeyde bilgiler henüz çok

yetersiz olup, ancak konunun fizyolojisi anlaşılmaya başlanmıştır.

3.1. Bitki İmmünesinde CaM ve CaM-Bağlayan Proteinlerin Görevleri

Katalitik aktivitesi olmayan CaM, kalsiyum katyonlarıyla bağlandıktan sonra konformasyonel değişim geçirir ve hedeflenen çeşitli protein/amino asit moleküllere bağlanarak onların aktivitelerini değiştirir (Singh ve ark., 2020). Ökaryotlarda bulunan CaM, evrimsel olarak korunmuş protein sekanslarına sahiptir (Halling ve ark., 2016). *Arabidopsis* immünesinde savunma genlerinin düzenlenmesinde görev alan iki önemli transkripsiyon faktörleri SARD1 (Systemic Acquired Resistance Deficient 1), CBP60g (CaM Binding Protein 60g-Like g) ve tütünde de CBP60b'dir ve immün tepkinin ileri aşamalarında gereklidir (Sun ve ark., 2015). Patojenle infekteli bitkilerde sistemik savunmanın önemli hormonlarından olan salisilik asitin biyosentezi immün tepki sırasında aynı protein ailesinden olan CBP60 ve SARD1 proteinlerinin koordineli çalışmasıyla düzenlenmektedir (Huang ve ark., 2021). Buna göre CBP60g fonksiyonel özellik kazanmak için CaM'a bağlanır, ardından CaM'a bağlanma özelliği olmayan SARD1'in promotörüne bağlanarak SARD1'in aşırı ifade edilmesine neden olur (Seyfferth ve Tsuda, 2014). SARD1 ve CBP60g salisilik asit sentezinden sorumlu olan esas enzim ICSI (Isochorismate Synthase 1) geninin promotörüne bağlanarak promotör üzerindeki negatif regülatörü uzaklaştırıp SA sentezini teşvik etmektedir. Patojen infeksiyonu sırasında SA'nın ortamda birikiminden dolayı hormon vasıtasıyla sinyal transferi çeşitli savunma genlerini harekete geçirmektedir (Koo ve ark., 2020).

Pseudomonas syringae ile infekteli *Arabidopsis*'te plazmodesmlerde bulunan bir CLP proteini olan CML41'in transkripsiyonu maksimum düzeye çıkmakta ve plazmodesmlerde kalloz birikimine neden olmaktadır (Xu ve ark., 2017). Biriken kalloz bakteri infeksiyonunu azaltmaktadır. Yine *Arabidopsis*'te abiyotik stres üzerine CML36 proteini kalsiyumu bağladıktan sonra ACA8'le interaksiyona girerek kalsiyum pompa sisteminin oto-inhibisyonunu sağlamakta ve artan sitoplazmik Ca^{+2} 'u bazal seviyeye düşürmektedir (Astegno ve ark., 2017). Tütünde yapılan *ScCBL* gen nakilleriyle *Ralstonia solanacearum* infeksiyonuna karşı bitkinin dayanıklılığı artmaktadır (Su ve ark., 2020).

4. Bitki İmmünesiyle Kalsiyum Arasındaki Etkileşim

Biyotik strese karşı immün reaksiyon sırasında Ca^{+2} katyonlarının salınımı, bitki savunması için ilgili genlerin yeniden programlanmasında büyük öneme sahiptir. Bu konuyla ilgili ilk çalışmalar 1990'lı yıllarda ele alınmış ve günümüze kadar arazi çalışmasından ziyade genellikle *in vitro* bitki-hücre/patojen-elisitör uygulamalarıyla mekanizmalar ortaya çıkarılmaya başlanmıştır. Bitki reseptörlerinin, patojenlere/mikroplara ait moleküler örneklerle (kısaca PAMP/MAMP) (flagellin, EF-Tu, kitin gibi) bağlanması sonucunda bitki hücrelerinin kalsiyum akış yolları aktif hale geçmektedir (Macho ve Zipfel, 2014). Efektör/reseptör etkileşiminin hemen ardından sitoplazmik Ca^{+2} iyonlarının düzeyindeki değişimlerin ise immünesinin daha sonraki aşamalarında (downstream veya sekonder olaylar) gelişecek olan biyokimyasal olayları harekete geçirmede rol oynadığı düşünülmektedir (Ranf ve ark., 2011). Bu sekonder biyokimyasal olaylar dizisi Ca^{+2} 'un kalmodulin (CaM)'e, Ca^{+2} -bağlı protein kinazlara ve protein fosfatazlara, Ca^{+2} -aracılı iyon kanallarına veya Ca^{+2} 'la aktif duruma geçen fosfolipazlara bağlanmasıyla başlamaktadır. Böylece bu fizyolojik mekanizmalar öncülüğünde özel hücrel olaylara yönelim sağlanmaktadır (Hilleary ve ark., 2020).

Arabidopsis'de kalsiyum iyonlarının ATPaz'lar yardımıyla hücre dışına transferini yapan hücre membranına yerleşik olan protein pompa sistemi olan Ca^{+2} -ATPaz'lar kısaca ACAx olarak isimlendirilir (Geissler ve ark., 2000; Oelmüller, 2021). Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişi ise kalsiyuma-geçirgen membran kanal sistemleriyle gerçekleşmektedir (Kudla ve ark., 2010; Demidchik ve ark., 2018). Birçok alt grupta sahip olan ACA proteinleri Ca^{+2} -ATPaz'larla birlikte çalışarak kalsiyum iyonlarının hücre içinde homeostazını sağlamak, çok çeşitli bitki gelişim fizyolojisini ve bitki immünesini ilgilendiren olayların düzenlenmesinde işlevseldir (Tuteja ve Mahajan, 2007; Hilleary ve ark., 2020). Bitki kalsiyum-ATPaz'ları, P-tipi ATPaz'ların üst familyasına ait bir gruptur (Geissler ve ark., 2000; Oelmüller, 2021).

ACA proteinlerinin çoğu oto-inhibitör domain alana sahip olup bu özelliğiyle ATPaz domain bölgenin aktivitesini kontrol altına alır ve kalsiyum pompa aktivitesinin düşük seviyede muhafaza edilmesini sağlar (Costa ve ark., 2017). ACA proteinlerinden ACA10 ve ACA8 kalsiyum

tarafından kontrol edilen pompa sisteminin proteinleridir, sitoplazmadan hücre dışına kalsiyum pompalar, bitki immünitesinde esas işlevsel olan *ACA10* olup, *ACA10* olmadığı zaman *ACA8*, *ACA12* ve *ACA13* genleri fonksiyonel olmaktadır (Yang ve ark., 2017; Yu ve ark., 2018). Sahip oldukları oto-inhibitör domain alanın kalmodulin-bağlama motif düzeniyle örtüşen bir yapıya sahip olması nedeniyle de ACA'lara bağlanan kalmodulin, oto-inhibisyonu serbest bırakmakta ve sonuçta kalsiyum ATPaz sistemi etkinleşmektedir (Tidow ve ark., 2012). Oto-inhibisyonun yıkılması ACA proteinlerinin düzensiz çalışmasına neden olmaktadır (Yu ve ark., 2018). Kalsiyum ya hücre dışına salınmadığı için hücre sitoplazmasında aşırı birikerek ya da apoplastik boşlukta aşırı birikerek toksik etkiye neden olabilir, dolayısıyla hücre homeostazına bağlı düzensizlikler de gelişir.

Fungal patojen *Botrytis cinerea*'ya karşı bitki hastalık dayanıklılığında gerekli olan sitoplazmik bir reseptör BIK1 *Arabidopsis*'te kalsiyum girişini hızla aktifleştirmektedir (Liang ve Zhou, 2018). Ancak kalsiyum kanallarının bitki immünitesindeki kontrol mekanizması halen netlik kazanmamıştır (Kong ve ark., 2020). Bitki hücrelerine kalsiyum-kanal aracılı Ca^{+2} katyonlarının girişinden sorumlu olan iki kanal ailesi mevcuttur; CNGC (Cyclic Nucleotide-Gated Channel) ve GLR (Glutamate Receptor Homologs) kanal protein aileleri olup biyotik/abiyotik stres toleransında fonksiyoneldir (Tian ve ark., 2020). *Arabidopsis CGNC2* lokusu mutant fenotiplerde kalsiyumun hücre içine girişi engellendiği için hücre dışı alanda aşırı miktarda Ca^{+2} katyonları birikerek kalsiyum toksisitesine neden olunmakta ve avirüent patojen infeksiyonlarıyla gelişen HR ile savunma tepkimeleri gecikmekte (Ren ve ark., 2021), ancak apoplastik kalsiyum birikiminin hücre duvarına güç kazandırması suretiyle HR tepkimesi engellenmektedir (Thor, 2019). Hem kalsiyum toksisitesi hem de kalsiyumun hücre duvarına güç kazandırması paradoksal bir durumdur. Bu mutant bireylerde virulent patojenlere dayanıklılık artışı ortaya çıkmakta, halbuki CGNC2 normal fenotiplerde virulent patojenlere dayanıklılık daha az, salisilatlar ve patogenesisle ilgili gen transkriptleri daha yüksektir (Ren ve ark., 2021). *In vitro*'da tütün hücrelerine uygulanan elisitörler (harpin, elicitin vb) ile teşvik edilen PTI aktiflenmesi sonucu sitosolik Ca^{+2} düzeyinde sağlanan geçici artış birkaç dakika içinde bazal seviyeye inmekte olup, *Arabidopsis-Pseudomonas syringae* interaksyonunda

kalsiyum katyonlarının hücreye girişi saatlerce sürmekte ve böylece bir ETI savunması olan HR aktivasyonunu geciktirmesi (Aldon ve ark., 2018), aslında kalsiyum toksisitesiyle hücre duvarının güç kazanması arasındaki çelişkili durumuda açıklamaktadır.

Arabidopsis'te sitoplazmik kalsiyumun vakuollere geçişini sağlayan ve tonoplastlarda yerleşik olan Ca^{+2}/H^{+} taşıyıcı kanal olan Cation Exchanger 1 (CAX 1 ve CAX 3 proteinleri) sistemi mutant fenotip çalışmaları yapılmıştır (Wang ve ark., 2017). *Arabidopsis cngn2* ve *cax1cax3* fonksiyon kaybı olan mutant fenotipler 0.1 mM Ca^{+2} içeren hidroponik koşullarda kontrol fenotiplere benzer bir gelişim gösterirken, 10 mM kalsiyum konsantrasyonunda mutant fenotiplerde H_2O_2 birikimi, hücre ölümleri, yapraklarda yaşlanmada artış meydana gelmiş, avirüent patojenlere HR tepkisi kısmen baskılanmıştır. Böylece CNGC2'nin yaprak gelişimi ve HR baskılanmasında direk rol oynamadığı sadece kalsiyumun yaprak içine girişine aracılık ettiği bildirilmiştir.

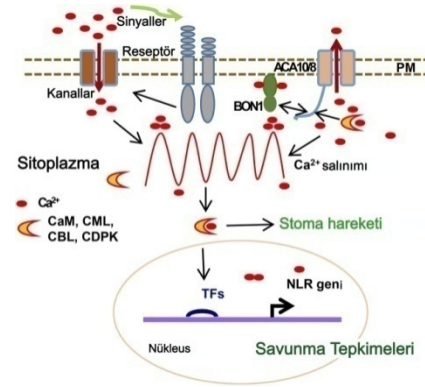
Kalsiyum sinyalizasyon dahilinde bitkilerde, biyotik ve abiyotik stresle bağlantılı olarak bitki immünitesinin ileri dönemlerinde kalsiyum katyonlarının algılanmasından sorumlu olan kalmodulin ve benzeri proteinler çok büyük bir protein ailesindedir (Wang ve ark., 2015). Çevresel streslere tepki olarak kalsiyum bağlayan bitki kalmodulin ailesi proteinleri transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, fosfatazlar, metabolik enzimler, iyon kanalları ve pompaları, hücre iskelet proteinlerinin düzenlenmesini kapsayan çok çeşitli fizyolojik mekanizmalardan sorumludur (Du ve ark., 2011; Poovaiah ve ark., 2013; Kölling ve ark., 2019).

Arabidopsis thaliana'a ait *ACA8* ve *ACA10* proteinlerinin *in planta* denemelerinde bir bakteriyel elisitör reseptörü olan FLS2 ile *ACA8* interaksiyona girerek Ca^{+2} -ATPaz transfosforilasyon geçirmek suretiyle aktivitesi düzenlenmekte olup böylece kalsiyum homeostazı Ca^{+2} -ATPaz aracılığıyla kontrol edilmektedir (Frei dit Frey ve ark., 2012). Kalsiyum iyonlarının hücre içi artışının, savunmanın daha sonraki aşamalarında gelişecek olan (downstream) olaylardan ROS'un üretilmesi, hipersensitif reaksiyon gelişimi, savunma gen transkriptlerinin artışı gibi olayların gelişmesinde öncül madde olması nedeniyle bitki için hayati önemde olduğu belirtilmiştir. Yuan ve ark. (2017) bakteriyel flagellin peptidin bitki tarafından algılanmasıyla Ca^{+2} girişini şematik olarak detaylandırmıştır. Buna göre bakteriyel elisitör flg22 ile bitki

reseptörü FLS2 bağlanınca aktif hale geçen reseptör, ACA8 ve ACA10 ile fiziksel olarak interaksyona girer ve ACA8/10'un oto-inhibitör etkisini ortadan kaldırır ki hemen ardından sitoplazmik kalsiyum düzeyi yükselmeye başlar. Yükselen sitoplazmik serbest $[Ca^{+2}]$ iyonları CaM'a bağlanır, Ca^{+2}/CaM 'da ACA8 içinde yer alan CaM domain bölgeye bağlanır, böylece kalsiyum hücre dışına çıkmaya başlar ve sitoplazmadaki seviye azalır. Frei dit Frey ve ark. (2012) *ACA8ACA10* her iki geni mutantlı bitki varyetelerinin fitobakteriye duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ancak Yang ve ark. (2017) bunun tam tersi sonuç bildirmiş olup, yapılan tekrarlı denemelerde tek başına *aca10* mutant ve *aca8aca10* genleri mutant fenotiplerde bakteriyel patojene hastalık dayanıklılığının arttığını gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar bu zıtlığın, belirsiz bir bitki ve patojen gelişim koşullarından ve iklim farklarından medyana gelebileceğini öne sürmüşlerdir.

Kalsiyum kanal ve pompa sistemlerinin bozulması bitki immünesini hem pozitif hem de negatif yönde etkilemektedir (Zhu ve ark., 2010; Singh ve Pandey, 2020; Guo ve ark., 2021). Mildiyö, trichoderma gibi kitin yapılı fungal patojenler bitki immün reseptörü CERK1 ile bağlantı kurunca ROS moleküllerinin üretimini teşvik eder, bir ROS molekülü olan H_2O_2 'de annexin 1 proteinini teşvik ederek sitoplazmaya kalsiyum girişini pozitif yönde artırır (Singh ve Pandey, 2020). *TaCaM3* geni susturulmuş buğday mezofil hücrelerine kalsiyum girişi azalmaktadır, *Tabln1* geninin susturulması da kalsiyum girişini önemli oranda artırmaktadır (Guo ve ark., 2021). *Tabln1* geni buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılıkta rol oynamakta olup, *TaCaM3* ise buğdayda rastık hastalığına dayanıklılıkta önemli pozitif rollere sahip bir calmodulin proteindir ve sitoplazmik Ca^{+2} ile uyumlu çalışmaktadır. *Arabidopsis thaliana*'nın plazma membran proteini BONZAI (BONI) immün reseptör genlerinin ifade edilmesini negatif düzenlerken, stomaların kapanmasını, ACA8 ve ACA10'un aktiflenmesini ise pozitif düzenlemektedir (Yang ve ark., 2017). Aktivitesini kalsiyumla bağlantılı gösteren BON1 proteini, ACA8 ve ACA10 ile fiziksel interaksyona girerek bunların etkinleşmesini sağlamakta ve hücre içi kalsiyum salınımını ayarlamaktadır (Yu ve ark., 2018). ACA10 ve ACA8 aynı zamanda kalmodulin bağlayıcı motif yapıyla örtüşen oto-inhibitör domain alana sahip olup, bu bölgeye kalmodulinin bağlanmasıyla ACA'lar aktif hale geçmektedir (Tidow ve ark., 2012). Oto-inhibitör domain alan

olmadığı zaman ACA10'un çalışma düzeni bozulmaktadır. ACA10/8'in oto-inhibitör bölgesine BON1'in bağlanmasıyla proteinde meydana gelen konformasyonel değişimle ACA10/8'e kalmodulin proteininin bağlanması olarak sağlanmakta ve ACA10/8'in oto-inhibisyon özelliği serbest bırakılmaktadır (Yu ve ark., 2018). Oto-inhibisyonun serbest olması özellikle bir indüksiyon sonrası kalsiyum homeostazı için, Ca^{+2} kationlarının kendi kendine kanal ve pompa sistemleriyle hücre içine periyodik giriş ve çıkış yapması nedeniyle önemlidir (Şekil 1).



Şekil 1. Kalsiyum sinyalizasyonu ve bitki immünesinde fonksiyonel olan ACA10/8 ve BON1 proteinlerinin çalışma şeması (Yang ve ark., 2017).

Figure 1. Pathway modelling of ACA10/8 and BON1 proteins functional at calcium signaling and plant immunity (Yang et al., 2017).

Hücre yüzey reseptörleri patojeni algıladıktan hemen sonra hücre dışındaki kalsiyum iyonları, membran içine yerleşik olan kalsiyum kanalları aracılığıyla sitoplazmaya geçmektedir (Şekil 1). Kalsiyum konsantrasyonunda sağlanan bu geçici artış membran içine yerleşik olan BON1 proteini, ACA10 ve ACA8 proteinlerini aktifleştirir, böylece kalsiyum ATPaz aracılığıyla hücre dışına çıkışı sağlanır. Yani hücre içine giriş ve çıkış belli sürelerle periyodik salınımlar şeklinde devam etmektedir. Ca^{+2} kationlarının neden salınım yaptığının şifresi kalsiyum bağlayan proteinler sayesinde çözülmüş ve stomaların açılması-kapanması ve savunmayla ilgili *PRI* genlerinin ifade edilmesini kontrol etmek için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

BON1, ACA8 ve ACA10 mutantlı olan *Arabidopsis* bitkisi kalsiyuma duyarlılığını kaybetmekte ve patojene karşı stoma kapanması azalmaktadır, dolayısıyla patojenin bitkiye girişine elverişli ortam oluşmaktadır. Ancak

aca10 ve *aca8aca10* mutant bitkilerde bakteriyel patojene hastalık dayanıklılığı artmaktadır (Yang ve ark., 2017). ACA8/10'nun fonksiyonlarında meydana gelen bir sapma, PR1 grubu genlerin çalışmasını artırarak hastalık direncini yükseltmektedir (Yu ve ark., 2018). Yang ve ark. (2017)'e göre, kalsiyumun sabit olan stabilitesinin değişimi konukçuyu istila eden patojenin sinyallerini taklit etmekte ve sonuçta NLR genleri fazla çalışarak bitkiyi zarardan korumaktadır.

Arabidopsis model bitkisinde, immün tepkide Ca^{2+} -aracılı gen ifadesinin düzenlenmesinden sorumlu olan CaM-bağlayan transkripsiyon aktifleyicilerden (CAMTAs) biri olan *CAMTA3* gen aktivatörü mutant olan bitkide biyotik savunma genlerini baskıladığı bilinmektedir (Galon ve ark., 2008; Saijo ve Loo, 2020). Ancak henüz fizyolojik rolünün bilinmediği belirtilen ilgili genin CAMTA3 ve WRYK ile düzenlenen gen iletişimiyle bir ağ bağlantısı olduğu da açığa çıkarılmıştır (Galon ve ark., 2008).

5. Sonuç ve Beklentiler

Yapılan çalışmalarla kalsiyum sinyalizasyon yollarının işleyişi de ortaya çıkmaya başlamıştır. Patojene ait moleküler örneklerin bitki tarafından algılanmasından sonra, hücre membranında bulunan iyon kanalları aracılığıyla sitosolik kalsiyum katyonlarının konsantrasyonunda ani, hızlı ve geçici bir artış olduğu bilinmektedir. Bu süreçte kalsiyum iyonları belli bir süre hücre içine giriş ve çıkış yaparak periyodik bir şekilde inişli-çıkışlı bir seyir takip etmektedir. Biyotik faktörün algılaması aşamasındaki bu ani artış immünitinin ilk başlangıç aşamasındaki biyokimyasal olaylar için gerekli olup, daha sonra kalsiyumun hücre dışına verilip tekrarlı olarak hücre içine giriş ve çıkış şeklinde periyodik salınımı uyarılacak olan fizyolojik olaylar için zorunludur. Bitki immünitinde flagelline bağlı sonuçlar ortaya konmasına rağmen, diğer farklı bir biyotik uyarana karşı kalsiyumun miktarındaki ani artışın nasıl düzenlendiği hala bilinmemektedir. Örneğin farklı MAMP veya PAMP'lar tek veya karışım halinde bitkiyi infekte ettiği zaman burada ele alınan ACA10 ve ACA8'in veya diğer ACA ailesi proteinlerin fonksiyonlarının gerekliliği henüz bilinmemektedir. Bitkinin makro besin maddesi olarak kalsiyumla beslenme durumuna bağlı hücresel miktarı immünitini de etkilemektedir. Bu çerçevede ele alınan konuyla ilgili henüz yeterli moleküler düzeyde araştırma bulunmamakta olup, çok fazla çeşitte bitki-patojen

örnekleriyle ilgili araştırmalara ihtiyaç vardır. Birçok araştırmalarla bu sinyal transdüksiyon olayları birbirlerinden bağımsız gibi ele alınarak sonuçlar çıkarılmaktadır. Bu nedenle bitki dayanıklılık ıslahı amaçlı biyotik-kalsiyum sinyalizasyon ağıyla ilgili bir strateji önerisi riskli olabilir. Halen fizyolojik, biyokimyasal, tarımsal, moleküler biyolojik, biyoinformatik vb. alanlarda interdisipliner çalışmaların ortak sonuçlarına dayalı birçok bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bitki immünitinin sinyalizasyon ağına rol oynayan bütün olaylar ortaya çıkarılarak tek bir parametre haline getirildiğinde, bitki dayanıklılık ıslah çalışmalarına yeni rota çizilmesinde yarar sağlayacaktır. İleri hedefler arasında patojen efektörlerinin bitki kalsiyum sinyalizasyon ağını dolaysız hedef alabileceği olası çalışmalar ya da bitki-mikrop interaksiyonlarında kalsiyum-homeostaz aktörlerinin keşif çalışmaları veya kalsiyum sinyalizasyon ağının immünitide rol oynayan ROS, SA, NOI, MAPK olayları, HR tepkimeleri gibi olaylarla çapraz bağlantı yollarındaki ilişkileri gibi konularda deneysel çalışmalar konunun moleküler mekanizmasının aydınlatılmasında yol gösterici olacaktır. Aynı zamanda yeni bitki koruma ilaçlarının geliştirilmesine de zemin hazırlayacaktır.

6. Çıkar Çatışması

Yazar ve konuyla ilgili herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

7. Yazar Katkısı

Makalenin hazırlanmasında yazarın katkısı %100'dür.

8. Kaynaklar

- Aldon, D., Mbengue, M., Mazars, M., Galaud, J.P., 2018. Calcium Signalling in Plant Biotic Interactions. *International Journal of Molecular Sciences* 19(3): 665. <https://doi.org/10.3390/ijms19030665>.
- Astegno, A., Bonza, M.C., Vallone, R., La Verde, V., D'Onofrio, M., Luoni, L., Molesini, B., Dominici, P., 2017. Arabidopsis calmodulin-like protein CML36 is a calcium (Ca^{2+}) sensor that interacts with the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase isoform ACA8 and stimulates its activity. *The Journal of Biological Chemistry* 292(36): 15049-15061. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.787796>.
- Costa, A., Louni, L., Marrano, C.A., Hashimoto, K., Köster, P., Giacometti, S., De Michelis, M.I.,

- Kudla, J., Bonza, M.C., 2017. Ca²⁺-dependent phospho regulation of the plasma membrane Ca²⁺-ATPase ACA8 modulates stimulus-induced calcium signatures. *Journal of Experimental Botany* 68(12): 3215-3230. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx162>.
- Demidchik, V., Shabala, S., 2018. Mechanisms of cytosolic calcium elevation in plants: the role of ion channels, calcium extrusion systems and NADPH oxidase-mediated ROS-Ca²⁺ Hub. *Functional Plant Biology* 45: 9-27. <https://doi.org/10.1071/FP16420>.
- Demidchik, V., Shabala, S., Isayenkov, S., Juin, T.A., Pottosin, I., 2018. Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. *The New Phytologist* 220(1): 49-69. <https://doi.org/10.1111/nph.15266>.
- Du, L., Yang, T., Puthanveetil, S.V., Poovaiah, B.W., 2011. Decoding of calcium signals through calmodulin: calmodulin-binding proteins in plants. In: S.Luan, (Eds): *Coding and decoding of calcium signals in plants*. Berlin, pp. 177-233.
- Frei dit Frey, N., Mbengue, M., Kwaaitaal, M., Nitsch, L., Altenbach, D., Häweker, H., Lozana-Duran, R., Njo, M.F., Beeckman, T., Huettel, B., Borst, J.W., Panstruga, R., Robatzek, S., 2012. Plasma membrane calcium ATPases are important components of receptor-mediated signaling in plant immune responses and development. *Plant Physiology* 159(2): 798-809. <https://doi.org/10.1104/pp.111.192575>.
- Galon, Y., Nave, R., Boyce, J.M., Nachmias, D., Knight, M.R., Fromm, H., 2008. Calmodulin-binding transcription activator (CAMTA) 3 mediates biotic defense responses in *Arabidopsis*. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 582: 943-948. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.02.037>.
- Geisler, M., Axelsen, K.B., Harper, J.F., Palmgren, M.G., 2000. Molecular aspects of higher plants P-type Ca⁽²⁺⁾-ATPases. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465(1-2): 52-78. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(00\)00131-0](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(00)00131-0).
- Guo, S., Zhang, Y., Zeng, P., Li, M., Zhang, Q., Li, T., Wang, X., Kang, Z., Zhang, Z., 2021. *TaBIN1* negatively regulates wheat resistance to stripe rust by reducing Ca²⁺ influx. *bioRxiv* 2021.07.16.452683. <https://doi.org/10.1101/2021.07.16.452683>.
- Halling, D.B., Liebeskind, B.J., Hall, A.W., Aldrich, R.W., 2016. Conserved properties of individual Ca²⁺-binding sites in calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences Of the United States of America* 113(9): E1216-E1225. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600385113>.
- Hedrich, R., 2012. Ion channels in plants. *Physiological Reviews* 92(4): 1777-1811. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2011>.
- Hilleary, R., Paez-Valencia, J., Vens, C., Toyota, M., Palmgren, M., Gilroy, S., 2020. Tonoplast-localized Ca²⁺pumps regulate Ca²⁺ signals during pattern-triggered immunity *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 117(31): 18849-18857. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004183117>.
- Huang, W., Wu, Z., Tian, H., Li, X., Zhang, Y., 2021. Arabidopsis Calmodulin-Binding Protein 60b plays dual roles in plant immunity. *Plant Communications* 2(6): 100213. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100213>.
- Kadota, Y., Sklenar, J., Derbyshire, P., Stransfeld, L., Asai, S., Ntoukakis, V., Jones, J.D.G., Shirasu, K., Menke, F., Jones, A., Zipfel, C., 2014. Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. *Molecular Cell* 54: 43-55. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.02.021>.
- Kong, X., Xu, L., Jamieson, P., 2020. Plant Sense: The Rise of Calcium Channels. *Trends in Plant Science* 25(9): 838-841. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.06.002>.
- Koo, Y.M., Heo, A.Y., Choi, H.W., 2020. Salicylic Acid as a Safe Plant Protector and Growth Regulator. *Plant Pathology Journal* 36(1): 1-10. <https://doi.org/10.5423/PPJ.RW.12.2019.0295>.
- Kölling, M., Kumari, P., Bürstenbinder K., 2019. Calcium- and calmodulin-regulated microtubule-associated proteins as signal-integration hubs at the plasma membrane-cytoskeleton nexus. *Journal of Experimental botany* 70(2): 387-396. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery397>.
- Kudla, J., Batistic, O., Hashimoto, K., 2010. Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *The Plant Cell*, 22(3): 541-563. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072686>.
- Kudla, J., Becker, D., Grill, E., Hedrich, R., Hippler, M., Kummer, U., Parniske, T., Romeis, T., Schumacher K., 2018. Advances and current challenges in calcium signaling. *The New Phytologist* 218(2): 414-431. <https://doi.org/10.1111/nph.14966>.
- Kurusu, T., Kuchitsu, K., Nakano, M., Nakayama, Y., Iida, H., 2013. Plant mechanosensing and Ca²⁺ transport. *Trends in Plant Science* 18: 227-233.
- Liang, X., Zhou J.M., 2018. Receptor-like cytoplasmic kinases: central players in plant receptor kinase-mediated signaling. *Annual Review of Plant Biology* 69: 267-299.
- Macho, A.P., Zipfel, C., 2014. Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Molecular Cell* 54(2): 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.028>.
- Morgan, A.J., Galione, A., 2014. Two-pore channels (TPCs): current controversies. *BioEssays* 36(2): 173-183. <https://doi.org/10.1002/bies.201300118>. Mur, L.A., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H.,

- Prats, E., 2008. The hypersensitive response: the centenary is upon us but how much do we know?. *Journal of Experimental Botany* 59(3): 501-520. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm239>.
- Oelmüller, R., 2021. Threat at One End of the Plant: What Travels to Inform the Other Parts? *International Journal of Molecular Sciences* 22(6): 3152. <https://doi.org/10.3390/ijms22063152>.
- Pchitskaya, E., Popugaeva, E., Bezprozvanny, I., 2018. Calcium signaling and molecular mechanisms underlying neuro degenerative diseases. *Cell Calcium* 70: 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2017.06.008>.
- Poovaiah, B.W., Du, L., Wang, H., Yang, T., 2013. Recent advances in calcium/calmodulin-mediated signaling with an emphasis on plant-microbe interactions. *Plant Physiology* 163: 531-542. <https://doi.org/10.1104/pp113.220780>.
- Rafaello, A., Mammucari, C., Gherardi, G., Rizzuto, R., 2016. Calcium at the Center of Cell Signaling: Interplay between Endoplasmic Reticulum, Mitochondria, and Lysosomes. *Trends in Biochemical Sciences* 41(12): 1035-1049. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.09.001>.
- Ranf, S., Eschen-Lippold, L., Pecher, P., Lee, J., Scheel, D., 2011. Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe- or damage-associated molecular patterns. *The Plant Journal* 68: 100-113. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04671.x>.
- Ren, H., Zhao, X., Li, W., Hussain, J., Qi, G., Liu, S., 2021. Calcium Signaling in Plant Programmed Cell Death. *Cells* 10(5): 1089. <https://doi.org/10.3390/cells10051089>.
- Saijo, Y., Loo, E. P., 2020. Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses. *The New Phytologist* 225(1): 87-104. <https://doi.org/10.1111/nph.15989>.
- Seyfferth, C., Tsuda, K., 2014. Salicylic acid signal transduction: the initiation of biosynthesis, perception and transcriptional reprogramming. *Frontiers in Plant Science* 5: 697. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00697>.
- Singh, S., Virdi, A.S., Singh, P., 2020. Calmodulin-Binding Kinases. *Protein Kinases and Stress Signaling in Plants: Functional Genomic Perspective* 248-265.
- Singh, N., Pandey, G.K., 2020. Calcium signatures and signal transduction schemes during microbe interactions in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 29: 675-686. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00604-6>.
- Stael, S., Wurzing, B., Mair, A., Mehlmer, N., Vothknecht, U.C., Teige, M., 2012. Plant organellar calcium signalling: an emerging field. *Journal of Experimental Botany* 63(4): 1525-1542. <https://doi.org/10.1093/jxb/err394>.
- Su, W., Huang, L., Ling, H., Ling, H., Mao, H., Huang, N., Su, Y., Ren, Y., Wang, D., Xu, L., Muhammad, K., Que, Y., 2020. Sugar cane calcineurin B-like (CBL) genes play important but versatile roles in regulation of responses to biotic and abiotic stresses. *Scientific Reports* 10(1): 167. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57058-7>.
- Sun, T., Zhang, Y., Li, Y., Zhang, Q., Ding, Y., Zhang, Y., 2015. ChIP-seq reveals broad roles of SARD1 and CBP60g in regulating plant immunity. *Nature Communications* 6: 10159. <https://doi.org/10.1038/ncomms10159>.
- Swarbreck, S.M., Colaço, R., Davies, J.M., 2013. Plant calcium-permeable channels. *Plant Physiology* 163(2): 514-522. doi: 10.1104/pp.113.220855.
- Thor, K., 2019. Calcium-Nutrient and Messenger. *Frontiers in Plant Science* 10: 440. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00440>.
- Thor, K., Jiang, S., Michard, E., George, J., Scherzer, S., Huang, S., Dindas, J., Derbyshire, P., Zipfel, C., 2020. The calcium permeable-channel OSCA 1.3 regulates plant stomatal immunity. *Nature* 585(7826): 569-573. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2702-1>.
- Tian, W., Hou, C., Ren, Z., Wang, C., Zhao, F., Dahlbeck, D., Hu, S., Zhang, L., Niu, Q., Li, L., Staskawicz, B.J., Luan, S., 2019. A calmodulin-gated calcium channel links pathogen patterns to plant immunity. *Nature* 572(7767): 131-135. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1413-y>.
- Tian, W., Wang, C., Gao, Q., Li, L., Luan, S., 2020. Calcium spikes waves and oscillations in plant development and biotic interactions. *Nature Plants* 6(7): 750-759. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0667-6>.
- Tidow, H., Poulsen, L.R., Andreeva, A., Knudsen, M., Hein, K.L., Wiuf, C., Palmgren, M.G., Nissen, P., 2012. A bimodular mechanism of calcium control in eukaryotes. *Nature* 491(7424): 468-472. <https://doi.org/10.1038/nature11539>.
- Tuteja, N., Mahajan, S., 2007. Calcium signaling network in plants: an overview. *Plant Signaling and Behavior* 2(2): 79-85. <https://doi.org/10.4161/psb.2.2.4176>.
- Wang, G., Zeng, H., Hu, X., Zhu, Y., Chen, Y., Shen, C., Wang, H., Poovaiah, B.W., Du, L., 2015. Identification and expression analyses of calmodulin-binding transcription activator genes in soybean. *Plant and Soil* 386: 205-221. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2267-6>.
- Wang, Y., Kang, Y., Ma, C., Miao, R., Wu, C., Long, Y., Ge, T., Wu, Z., Hou, X., Zhang, J., Qi, Z., 2017. CNGC2 Is a Ca²⁺ Influx Channel That Prevents Accumulation of Apoplastic Ca²⁺ in the Leaf. *Plant Physiology* 173(2): 1342-1354. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01222>.

- Xu, B., Cheval, C., Laohavisit, A., Hocking, B., Chiasson, D., Olsson, T.S.G., Shirasu, K., Faulkner, C., Gilliam, M., 2017. A calmodulin-like protein regulates plasmodesmal closure during bacterial immune responses. *The New Phytologist* 215(1): 77-84. <https://doi.org/10.1111/nph.14599>.
- Yang, D.L., Shi, Z., Bao, Y., Yan, J., Yang, Z., Yu, H., Li, Y., Gou, M., Wang, S., Zou, B., Xu, D., Ma, Z., Kim, J., Hua, J., 2017. Calcium Pumps and Interacting BON1 Protein Modulate Calcium Signature, Stomatal Closure and Plant Immunity. *Plant Physiology* 175(1): 424-437. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00495>.
- Yu, H., Yan, J., Du, X., Hua, J., 2018. Overlapping and differential roles of plasma membrane calcium ATPases in *Arabidopsis* growth and environmental responses. *Journal of Experimental Botany* 69(10): 2693-2703. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery073>.
- Yuan, F., Yang, H., Xue, Y., Kong, D., Ye, R., Li, C., Zhang, J., Theprungsirikul, L., Shrift, T., Krichilsky, B., Johnson, D. M., Swift, G.B., He, Y., Siedow, J.N., Pei, Z. M., 2014. OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature* 514(7522): 367-371. <https://doi.org/10.1038/nature13593>.
- Yuan, P., Jauregui, E., Du, L., Tanaka, K., Poovaiah, B.W., 2017. Calcium signatures and signaling events orchestrate plant-microbe interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 38: 173-183. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.06.003>.
- Zhang, H., Hu, Z., Lei, C., Zheng, C., Wang, J., Shao, S., Li, X., Xia, X., Cai, X., Zhou, J., Zhou, Y., Yu, J., Foyer, C.H., Shi, K., 2018. A plant phytoalexin peptide initiates auxin-dependent immunity through cytosolic Ca^{2+} signaling in tomato. *The Plant Cell* 30(3): 652-667. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00537>.
- Zhu, X., Caplan, J., Mamillapalli, P., Czymmek, K., Dinesh-Kumar, S.P., 2010. Function of endoplasmic reticulum calciumATPase in innate immunity-mediated programmed cell death. *European Molecular Biology Organization* 29(5): 1007-1018. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.402>.