

Sağlık alanındaki biyoteknolojik ürünlerin üretimi için mantarların kullanımı

The use of fungi for the production of biotechnological products in the field of health

Şule Aybüke YAVUZ¹ (ID), Ülküye Dudu GÜL² (ID)

ÖZET

Biyoteknoloji, ekonomik değeri yüksek ürünlerin biyolojik materyaller kullanılarak üretilmesini amaçlayan disiplinler arası bir bilim dalıdır. Mantarlar; enzimlerin, vitaminlerin, polisakaritlerin, polihidrik alkollerin, pigmentlerin, lipidlerin ve glikolipidlerin üretimi gibi birçok endüstriyel işlemden kaynak olarak kullanılmaktadır. Bu ürünler ticari üretimleriyle sağlanan ekonomik değerlerinin yanı sıra biyoteknolojik çalışmalar açısından da potansiyel olarak değerlidir. İlk biyoteknolojik ürünler arasında maya ve mantarların kullanımı ile üretilen şarap ve bira gibi alkollü içecekler ile ekmekek ve peynir gibi temel besin maddeleri bulunmaktadır. Özellikle ilk antibiyotik keşfi ile mantarların sağlık biyoteknolojisinde ilaç ve benzeri maddelerin üretimi için kullanım olanakları araştırılmaya başlanmıştır. Mantar sekonder metabolitleri sağlığımız ve beslenmemiz için son derece önem arz etmesinin yanı sıra bu ürünler önemli bir ekonomik etkiye sahiptir. Son yıllarda biyoteknolojik üretimlerde moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarla geliştirilen tekniklerin kullanımı sonucu oluşturulan modifiye organizmalar kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde mayaları ve konakçı olarak diğer mantarları içeren rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen mikrobiyal enzimlere ve

ABSTRACT

Biotechnology is an interdisciplinary science that aims to produce products of high economic value using biological materials. Fungi are used as a source in many industrial processes such as the production of enzymes, vitamins, polysaccharides, polyhydric alcohols, pigments, lipids and glycolipids. These products are potentially valuable in terms of biotechnological studies as well as the economic value provided by their commercial production. The first biotechnological products include alcoholic beverages such as wine and beer also, basic nutrients such as bread and cheese produced by the use of yeast and fungi. Especially with the discovery of the first antibiotic, the possibilities of using fungi for the production of drugs and similar substances in health biotechnology have been started to be investigated. Fungal secondary metabolites are extremely important for our health and nutrition and also have a significant economic impact. In recent years, modified organisms have been used in biotechnological production as a result of the use of techniques developed by molecular biology and genetic studies. Today, there has been a significant increase in production and marketing activities for microbial enzymes and pharmaceutical

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Bilecik

²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bilecik



İletişim / Corresponding Author : Ülküye Dudu GÜL

Bilecik Şeyh Edebali Üni., Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bilecik - Türkiye

E-posta / E-mail : ulkuyedudugul@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 02.01.2020

Kabul Tarihi / Accepted : 29.03.2021

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2022.06982

Yavuz ŞA, Gül ÜD. Sağlık alanındaki biyoteknolojik ürünlerin üretimi için mantarların kullanımı.

Türk Hij Den Biyol Derg, 2021; 79(1): 163 - 172

farmasötik ürünlere yönelik üretim ve pazarlama faaliyetlerinde belirgin bir artış meydana gelmiştir. Bugün, mantar biyolojisi küresel endüstride önemli bir yere sahiptir. Yeni keşfedilmiş türler üzerine genomik ve proteomik çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmanın amacı sağlık biyoteknolojisinde mantarların yerini ve kullanım alanlarını değerlendirmektir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda maya ve mantarların sağlık biyoteknolojisinde özellikle farmasötik ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanıldığı saptanmıştır. Mantar ve mayalar antitümör ve antimikrobiyal ilaç etken maddeleri, aşılar ve hormonlar gibi çeşitli farmasötik ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca rekombinant DNA teknolojileri kullanılarak geliştirilen yeni mantar ve maya türlerinin hem daha verimli hem de etkin bir şekilde kullanılabildiği belirlenmiştir. Bunlara ilaveten yeni izole edilen ve özellikleri tam olarak belirlenmemiş birçok maya ve mantar türlerinin varlığının bilinmesi, sağlık biyoteknolojisinde yeni ürünlerin üretimi açısından umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknoloji, mantarlar, sağlık

products produced by recombinant DNA technology, including yeasts and other fungi as hosts. Today, fungal biology is an important participant in the global industry. Genomic and proteomic studies on newly discovered species are ongoing. The aim of this study is to examine the information in the literature about the use of fungi in health biotechnology. According to the results of this study, yeasts and fungi are widely used in health biotechnology, especially in the production of pharmaceutical products. Fungi and yeasts are used in the production of various pharmaceutical products such as antitumor and antimicrobial drug active substances, vaccines and hormones. In addition, it has been determined that new fungi and yeast species developed using recombinant DNA technologies can be used both more efficiently and effectively. In addition, the existence of newly isolated yeast and fungi species with many features not fully identified is promising for the production of new products in health biotechnology.

Key Words: Biotechnology, fungi, health

GİRİŞ

Mantarlar, ürünlerinin çeşitliliği açısından biyoteknolojik önem arz etmektedir. Son yıllarda özellikle sağlıkta kullanılan mantar ürünlerine ilgi artmaktadır. Mantar ürünleri hem düşük maliyetli elde edilmeleri hem de biyolojik uyumlu olmaları nedeniyle oldukça avantajlıdır. Literatürde mantarlardan antiviral, antiprotozoal, antifungal ve antibakteriyel özellikli ürünlerin üretildiği görülmektedir (1). Özellikle sağlık alanında kullanılan mantar ürünleri ekonomik değerlerinin yüksek olmalarından dolayı dünyada büyük bir pazar payına sahiptir. Bu çalışmanın amacı sağlık biyoteknolojisinde mantarların yerini ve kullanım alanlarını değerlendirmektir.

Hücre Fabrikaları Olarak Mantarlar

Çok eski zamanlardan beri hem küf mantarları hem de maya mantarları, bira, şarap, ekme ve peynir gibi ürünler üretmek için kullanılmıştır. Endüstriyel mikrobiyolojinin altın çağı olan 20. yüzyılda, fermantasyon işlemlerinden sayısız ürün elde edilmiş olup, bu ürünler çözücüler, antibiyotikler, enzimler, vitaminler, amino asitler, polimerler ve diğer birçok faydalı bileşiklerdir (2). Moleküler biyoloji tekniklerinin geliştirilmesi, maya ve küflerin, homolog ve heterolog (özellikle memeli) proteinlerin yanı sıra antibiyotikler, pigmentler ve yağ asitleri gibi diğer metabolitlerin üretimi için mikrobiyal hücre fabrikaları olarak kullanılması için yeni yollar sağlamıştır. Konakçı suşlar ABD Gıda ve İlaç

İdaresi (FDA) tarafından bilinen GRAS GRAS (Generally Recognized As Safe - Genel olarak Güvenli Kabul Edilir) statüsünde olanlardan seçilmektedir. Bu statüye sahip olan birkaç mantar türü şu anda rekombinant protein ve metabolitlerin büyük ölçekli üretimi için

kullanılmaktadır (3). Mantar hücreleri biyoteknolojik ürünlerin üretiminde kullanılan fabrikalar gibi çalışmaktadır. Biyoteknolojide kullanılan mantar türleri ve ürettikleri ürünlere ait bilgiler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Biyoteknolojide fabrika olarak kullanılan mantar türleri

Mantar Türü	Biyoteknolojik İşlevi	Elde Edilen Ürünler	Kaynakça
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Farmasötik Protein Endüstrisi	İnterferonlar, Hepatit B aşısı üretimi	(4) (5,6)
<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Rhizomucor miehi</i> , <i>Thermomyces lanuginosus</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	Gıda Endüstrisi	Proteinaz üretimi Lipaz üretimi	(7)
<i>Humicola lanuginosa</i>	Deterjan Endüstrisi	Lipaz, Proteaz, Oksidaz ve Peroksidaz üretimi	(8) (9)
<i>Penicillium notatum</i>	Antibiyotikler	Penisilin	(10)
<i>Tolypocladium nivenum</i>	İmmünoşüpresif Ajan	Siklosporin A	(11)
<i>Taxomyces andreanae</i>	Antitümör Ajan	Taksol	(12)
<i>Gibberella zeae</i> <i>Gibberella fujikuroi</i>	Mikotoksinler	Zearelanone Gibberellik asit	(13) (14)

Sağlık Biyoteknolojisinde Mantarların Kullanımı

Mantarların ürettiği ve sağlık alanında kullanılan önemli ürünler arasında biyofarmasötikler, bazı enzimler, antibiyotikler, immünoşüpresif ajanlar, antitümör ajanlar ve bazı mikotoksinler bulunmaktadır.

- Farmasötik Proteinler

Mantarlar tarafından üretilen biyofarmasötikler içinde terapötik proteinler bulunmaktadır(15). Sağlık alanında tedavi amaçlı kullanılan bu önemli proteinlerin üretimi için mayalar kullanılmaktadır (16). Mayalar kullanılarak üretilen biyofarmasötik

proteinler Tablo 2’de sunulmuştur. Bir gıda organizması olan *S. cerevisiae* farmasötik proteinlerin üretimi için güvenli bir ev sahibi olarak kabul edilmektedir. Bu mayanın hızla büyütülebilmesi ile yüksek hücre yoğunluğuna kısa sürede ulaşabilmesi ve ürettiği heterolog proteinleri hücre dışına salgılayabilmesi gibi kullanım avantajlarının yanı sıra genetiği hakkındaki bilgiler diğer tüm ökaryotlardan daha ileri düzeydedir (17). Memeli genleri, insan interferonu (4), insan epidermal büyüme faktörü (18) ve insan hemoglobini (19) dahil olmak üzere *S. cerevisiae*’de klonlanmış ve eksprese edilmiştir. Ticari olarak en önemli maya rekombinant işlemi, ilk güvenli hepatit

B aşısı üretimi ile sonuçlanan, hepatit B virüsünün yüzey antijenlerini kodlayan genlerin ifade edilmesi şeklinde olmuştur (5,6).

Farmasötik protein üretimi çalışmalarında *Pichia pastoris* en yaygın kullanılan ifade sistemlerinden birisidir (16,19,20). *P. pastoris* hücreleri kullanılarak yapılan birçok hücre içi veya hücre dışı rekombinant ürün örneği vardır (16,19,21-23). Bu mükemmel ekspresyon sisteminin en önemli dezavantajı GRAS dışı statüsünde olmasıdır. Buna rağmen bu maya tarafından yapılan bazı ürünler faz III klinik çalışmalarında değerlendirilmektedir.

Filamentli mantarlarda rekombinant heterolog proteinlerin üretimi için moleküler tekniklerinin zahmetli olmasının aksine mayalarda belirgin başarılar elde edilmiştir. Mantara ait olmayan proteinlerin üretim seviyeleri, mantarın homolog proteinlerinin üretiminden daha düşüktür. Bu durum transkripsiyon, translasyon, sekresyon ve hücre dışı bozulmayı etkileyen faktörlerden kaynaklanmaktadır (3,24-26). Gen füzyonu, mantar konaklarında mantar dışı proteinler üretme girişiminde ilk tercih olmuş ve bu strateji ile memeli interlökinleri, lizozomları ve loktoferrinleri üretilmiştir (27-30).

Farmasötik uygulamaları olan birçok protein için stabilite, uygun katlanma ve farmakokinetik için N-glikozilasyon gereklidir ancak bir proteinin glikozilasyonu, hücrelerin içinde büyüdüğü ortam gibi faktörlere bağlı olarak da değişebilir (31). Her ne kadar mayadaki O-bağlı glikozilasyon, yüksek ökaryotlardakinden oldukça farklı olsa da N-bağlı glikozilasyon benzerlik göstermektedir (17). Maya rekombinant proteinlerinde olduğu gibi memeli polipeptitlerinde de endoplazmik retikulumda bir çekirdek oligosakarit ünitesi bulunur (32).

Üç glikoz tortusu ve bir mannoz çıkarılır ve mayalarla yüksek ökaryotlar arasında sapma olan golgide çekirdek oligosakaritin işlenmesi devam eder. Hiperglikosilasyonun görülmemesine ve düşük mannozlu yan zincirlerin oluştuğu görülmesine rağmen, kalıplardaki glikozilasyon konusunda çok az araştırma yapılmıştır (32-34).

Daha öncede belirtildiği üzere biyofarmasötiklerin üretimi için hayvan ve insan kökenli kaynaklar kullanılmaktaydı. Son yıllarda pazara sunulan yeni biyofarmasötik ürünlerin çoğunluğu rekombinant ekspresyon sistemleri kullanılarak elde edilmektedir. Mayalar en sık kullanılan ekspresyon sistemlerini temsil etmektedir. Zymogenetics isimli biyoteknoloji şirketi 1980'lerin başlarında ticari boyutta rekombinant insan insulini üretimi için konak olarak *S. cerevisiae*'yi geliştirmiş ve 1987'de Novolin isimi altında bu ürün Novo Nordisk Şirketi tarafından pazara sunulmuştur. Günümüzde geliştirilmiş bu *S. cerevisiae* mayasını kullanarak insülin üreten bu platform dünyadaki insülin tedarikinin yarısını tamamlamaktadır. Son on yıllık süreçte başarılı bir şekilde biyobenzer ürün üretimi nedeni ile ilgi çeken *Pichia pastoris* isimli mantar türünün 3 g/L kapasiteye sahip rekombinant insan insulini üretimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir (35,36). Dünyanın dördüncü en büyük insülin ürünleri tedarikçisi olan Biocon şirketi konak olarak *P. pastoris*'i kullanmaktadır (37). Bu bağlamda rekombinant insülin üretimi maya temelli biyofarmasötiklerin ekspresyonu ve üretimine iyi bir örnek teşkil etmektedir.

Son yıllarda, birçok yeni biyofarmasötik adayı olan ürünler çeşitli platformlar tarafından *S. cerevisiae*, *P. pastoris* ve *Hansenula polymorpha* gibi mantar türleri kullanılarak üretilmektedir (38-42). Örneğin; 2012 yılında Okriplazmin FDA tarafından maya temelli biyofarmasötik olarak onaylanmış ve ThromboGenics firması tarafından Jetrea adı ile satılmıştır (43). *P. pastoris* isimli mantar türünde ekspres edilen ve glikozile bir proteaz olan Okriplazmin semptomatik vitreomaküler yapışma (vitreomacular adhesion) tedavisinde kullanım için onaylanmıştır (44). Günümüzde maya temelli birçok biyofarmasötik pazarlama ve kullanım için onay almıştır (Tablo 2) (45).

Çok sayıda maya temelli yeni biyofarmasötik ürünün geliştirilmesi için klinik çalışmalar ise devam etmektedir. Ablynx *P. pastoris*'te ekspres edilen nanobody tabanlı terapötik üretimine odaklanmış en az iki klinik program olduğunu bildirmiştir (46). Alder

biyofarmasötik şirketi ise kendi laboratuvarlarında *P. pastoris* gen ekspresyon sistemini kullanarak ALD518 (BMS-945429) isimli interlökin-6'yı (IL-6) ve ALD403 isimli kaslasyonin geni ile ilişkili peptidi hedefleyen iki klinik antikör geliştirdiğini raporlamıştır (47). ALD518 (BMS-945429) olarak üretilen insan antikoru Fc glikosilasyonu içermeyecek şekilde tasarlanmıştır. Bununla birlikte, bu ürünün yarı ömrü korunmuştur ve pazara sunulan diğer glikosile antikörlerle karşılaştırabilmektedir (48,49).

P. pastoris mayası kullanılarak başarılı bir şekilde gerçekleşen antikör ekspresyonunun bu ikinci örneği, aynı maya türü ile daha karmaşık biyofarmasötiklerin üretimine doğru bir yönelime ilgiyi arttırmıştır. Bunun sonucunda da antikörler ve terapötik proteinler dahil olmak üzere insan benzeri glikosilasyon paternlerine sahip biyofarmasötiklerin *P. pastoris* mayası kullanılarak üretimlerinin yapıldığı ile ilgi çok sayıda raporlar bulunmaktadır (50-59).

Tablo 2. Pazarlama için onay almış önemli bazı maya temelli biyofarmasötikler (45)

Orjin organizma	Konakçı organizma	Ürün
İnsan papilomavirüs	<i>S. cerevisiae</i>	Gardasil (İnsan papilomavirüs alt birim aşısı)
İnsan cDNA	<i>S. cerevisiae</i>	Glukagon
Hepatit virüs	<i>S. cerevisiae</i>	Hepatit B alt birim aşısı
Hepatit virüs	<i>P. pastoris</i>	Hepatit B alt birim aşısı
Hepatit virüs	<i>H. polymorpha</i>	Hepatit B alt birim aşısı
İnsan cDNA	<i>S. cerevisiae</i>	Lökin1 (rekombinant insan granülosit makrofaj-koloni uyarma faktörü)
İnsan cDNA	<i>S. cerevisiae</i>	Regranex (rekombinant insan trombosit türevli büyüme faktörü)
İnsan cDNA	<i>P. pastoris</i>	Kalbitor (kallikrein inhibitörü)

- Antibiyotikler

Düşük mol kütlesine sahip olan antibiyotikler, bazı organizmalar tarafından sekonder metabolit olarak sentezlenir ve çok düşük derişimlerde bile diğer mikroorganizmaların büyümesini inhibe etme özelliğine sahiptir (60). Mantarlar, türlerine özgü olarak, antimikrobiyal etkili antagonistik maddeler, fenolik bileşikler, pürin ve pirimidinler, terpenoitler, kinonlar ve fenil propanoit türevi bileşikler sentezleyebilirler (61). *Penicillium notatum* tarafından salgılanan lizozimin bakteriler üzerindeki öldürücü etkisi, Alexander Fleming tarafından, 1928 yılında keşfedilmiş ve penisilin antibiyotiği olarak kayda geçmiştir (10). 1995 yılında

bilinen 12.000 antibiyotiğin yaklaşık %22'si filamentli mantarlar tarafından üretilmiştir ve bunlar arasında doğal penisilin G (benzilpenisilin), biyosentetik penisilin V (metilpenisilin), çok sayıda yarı sentetik penisilin (ampisilin ve metisilin) ve sefalosporinler bulunmaktadır (18,61). Bir çalışmada, *Russula delica* adı verilen makrofungi ekstrelerinden elde edilen etil asetatın, *Corynebacterium xerosis* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (62). Mantarlar tarafından üretilen diğer antibiyotiklere ise fusidik asit ve klor içeren griseofulvin örnek olarak verilebilir (63). Ticari olarak en çok üretilen antibiyotik çeşitleri ve sentezlendiği mikroorganizmanın türü Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Ticari olarak üretilen bazı antibiyotik çeşitleri ve kaynak mikroorganizmanın türü

Mantar Türü	Antibiyotik
<i>P. notatum</i>	Penisilin
<i>Fusidium coccineum</i>	Fusidik asit
<i>Penicillium griseofulvin</i>	Griseofulvin

- İmmünoşüpresif ajanlar

İlk olarak, siklosporin A, *Tolypocladium nivenum* tarafından üretilen dar spektrumlu bir antifungal peptid olarak keşfedilmiştir (11). Günümüzde *Tolypocladium inflatum* olarak adlandırılmış olan mantar hücresi, 25'in üzerinde siklosporin bileşiği üretmektedir. Ancak bu bileşiklerden yalnızca iki tanesi immünoşüpresandır ve bunların dışındaki 17 tanesi antifungal özelliğe sahiptir. İlacın immünoşüpresif aktivitesinin keşfedilmesi kalp, karaciğer ve böbrek nakli ameliyatlarında kullanılmasına olanak sağlamış olup, böylece organ nakli alanında başarılı sonuçlar elde edilmesine imkan vermiştir (64). Son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada ise immünoşüpresif ajan olarak işlev gören Siklosporin A'nın mantarlar kullanılarak batık fermantasyon yöntemi ile üretimi yapılmıştır (65).

- Antitümör ajanlar

Başlangıçta bitkilerde keşfedilmiş olan Taksol, doğal bir antikanser maddesidir (63). Mikrotübüllerin depolimerizasyonunu bloke ederek etki gösteren, meme ve yumurtalık kanseri tedavisi için onaylanmış tek ticari antitümör ilaç olan Taksol'ün, daha sonra yapılan çalışmalarda, *Taxomyces andreanae* tarafından da üretildiği gösterilmiştir (12). Son yıllarda yayınlanan bir çalışmaya göre farklı türlere ait deniz mantarları antritümör ajan olarak başarılı bulunmuştur (66).

- Mikotoksinler

Farklı *Claviceps* türleri tarafından üretilen ergot alkaloidleri, migren baş ağrısı, serebral dolaşım bozukluğu, uterus kasılması, doğum sonrası kanama

gibi birçok patolojinin tedavisinde ve erken gebelikte implantasyonun önlenmesinde kullanılmaktadır (62, 64).

Gibberella zeae tarafından üretilen Zearelanone, bir östrojendir ve indirgenmiş türevidir olan zeranol, sığır ve koyunlarda hem büyüme faktörü hem de yem verimini artıran bir anabolik ajan olarak kullanılmaktadır (13). Gibberellinler olarak bilinen fitotoksik mikotoksin grubunun bir üyesi olan Gibberellik asit, *Gibberella fujikuroi* tarafından üretilir. Gibberellinler, arpa maltını hızlandırmak, malt kalitesini arttırmak, sebze verimini arttırmak, marul ve şeker pancarı tohumundan mahsullerini elde etmek için gereken süreyi kısaltmak için kullanılır. Bunlar çiçeklenmeyi, tohum çimlenmesini ve kök uzamasını kontrol eden izoprenoid büyüme düzenleyicileridir (14).

Souç olarak; son birkaç yıl, mantarları hücre fabrikaları olarak kullanan büyük bir ilerleme süreci olmuştur. Hala üzerinde çalışılmakta olan dört temel alan bulunmaktadır. Bunlardan ilki, özellikle FDA tarafından GRAS statüsü verilen ve gıda endüstrisinde kullanılabilecek alternatif konakların geliştirilmesidir. İkinci temel alan ise filamentli mantarlarda fungal olmayan proteinlerin ekspresyonunu ve salgılanmasını geliştirmek için daha iyi moleküler tekniklerin geliştirilmesidir. Üçüncü temel alan, belirli biyosentetik yolları değiştirmek ve iyileştirmek için geliştirilen moleküler tekniklerin kullanılmasını içerir. Son temel alan da gen ekspresyonunun, yani genomik, proteomik ve metabolomik analizinin geneliyle ilgili tekniklerin kullanılmasıdır. Mantar biyoteknolojisinin

geleceği, hali hazırda mantarlar tarafından yapılan tüm katkıların, doğada bulunan mantar türlerinin %5'inden daha azıyla yapıldığı düşünüldüğü zaman cesaretlendiricidir. Karasal ve sucul ortamlar çoğunluğunu mantarların oluşturduğu binlerce bilinmeyen mikrobiyal tür içermektedir. Ayrıca bilinen mantar proteinlerinin yaklaşık %30-50'sinin işlevi henüz belirlenememiştir. Fonksiyonel genomik ve

biyoinformatik ile daha fazla fonksiyon belirlendikçe mantar ürünlerinin taranması için yeni hedefler ortaya çıkacaktır. Yönlendirilmiş evrim ile mantar enzimleri aktivite, özgüllük ve stabilite açısından geliştirilebilecektir. Mantarlarda kombinatorial biyosentez ile yeni sekonder metabolitlerin üretimi de gelecekte yapılacak çalışmalarda temel unsur olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Solak MH, Kalmis E, Sağlam H, Kalyoncu F. Antimicrobial activity of two wild mushrooms *Clitocybe alexandri* (Gill.) Konr. and *Rhizopogon roseolus* (Corda) TM Fries collected from Turkey. *Phytother Res*, 2006;20(12):1085-7.
2. Demain AL. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999;52(4):455-63.
3. Punt PJ, van Biezen N, Conesa A, Albers A, Mangnus J, van den Hondel C. Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. *Trends Biotechnol*, 2002;20(5):200-6.
4. Hitzeman RA, Leung DW, Perry LJ, Kohr WJ, Levine HL, Goeddel DV. Secretion of human interferons by yeast. *Science*, 1983; 219(4585):620-5.
5. Miyahara A, Toh-Et A, Nozaki C, Hamadat F, Ohtomo N, Matsubara K. Expression of hepatitis B surface antigen gene in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983;80:1-5.
6. Valenzuela P, Medina A, Rutter WJ, Ammerer G, Hall BD. Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. *Nature*, 1982;298(5872):347-50.

7. Pariza MW, Johnson EA. Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: Update for a new century. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2001;33(2):173-86.
8. Pandey A, Benjamin S, Soccol CR, Nigam P, Krieger N, Soccol VT. The realm of microbial lipases in biotechnology. *VBiotechnol Appl Biochem*, 1999;29(2):119-31.
9. Carlsen S. Industrial use of enzymes; technical and economic barriers. In: Wolinak B, Scher M, editors. *Molecular biology in research and production of industrial enzymes*. 1th ed. Chicago: , 1990: 52-69.
10. Fleming A. On The antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in isolation of B. influenzae. *Br J Exp Pathol*, 1929;226-36.
11. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions*, 1976;6(4):468-75.
12. Shuster JR, Connelley MB. Promoter-tagged restriction enzyme-mediated insertion [PT-REMI) mutagenesis in *Aspergillus niger*. *Mol Genet*, 1999;262(1):27-34.
13. Hidy PH, Baldwin RS, Greasham RL, Keith CL, McMullen JR. Zearalenone and some derivatives: production and biological activities. *Adv Appl Microbiol*. 1977;22(C):59-82.
14. Tudzynski B. Biosynthesis of gibberellins in *Gibberella fujikuroi*: biomolecular aspects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999;52(3):298-310.
15. Meehl MA, Stadheim TA. Biopharmaceutical discovery and production in yeast. *Curr Opin Biotechnol*, 2014; 30:120-7.
16. Gül ÜD. Sağlık alanında biyoteknolojik uygulamalar: kırmızı biyoteknoloji. *Bilecik Şeyh Edebali Üni Fen Bilim Derg*, 2014;2330:2148-330.
17. Romanos MA, Scorer CA, Clare JJ. Foreign gene expression in yeast: a review. *Yeast*. 1992;8(6):423-88.
18. Brake AJ, Merryweather JP, Coit DG, Heberlein UA, Masiarz FR, Mullenbach GT, et al. α -Factor-directed synthesis and secretion of mature foreign proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984;81(15 I):4642-6.
19. Strohl RW. Industrial antibiotics: today and the future. In: Strohl RW, edit. *Biotechnology of Antibiotics*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1997; 1-47.
20. Higgins DR, Cregg JM. Introduction to *Pichia pastoris*. In: Higgins DR, Cregg JM, eds. *Pichia Protocols (Methods in Molecular Biology)*. New Jersey: Humana Press, 1998; 1-15.
21. Rosenfeld SA. Use of *Pichia pastoris* for expression of recombinant proteins. *Methods Enzymol*, 1999;306(1995):154-69.
22. Brierley RA. Secretion of recombinant human insulin-like growth factor I (IGF-I). *Methods Mol Biol*, 1998;103:149-77.
23. Cregg JM, Vedvick TS, Raschke WC. Recent Advances in the Expression of Foreign Genes in *Pichia pastoris*. *Bio/Technology*, 1993;11(8):905-10.
24. Romanos M. Advances in the use of *Pichia pastoris* for high-level gene expression. *Curr Opin Biotechnol*, 1995;6(5):527-33.
25. Archer DB. Filamentous fungi as microbial cell factories for food use. *Curr Opin Biotechnol*, 2000;11(5):478-83.
26. Gouka RJ, Punt PJ, Van Den Hondel CAMJJ. Efficient production of secreted proteins by *Aspergillus*: Progress, limitations and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1997;47(1):1-11.
27. Verdoes JC, Punt PJ, van den Hondel CAMJJ. Molecular genetic strain improvement for the overproduction of fungal proteins by Filamentous fungi. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1995;43(2):195-205.
28. Baron M, Tiraby G, Calmels T, Parriche M, Durand H. Efficient secretion of human lysozyme fused to the Sh ble phleomycin resistance protein by the fungus *Tolypocladium geodes*. *J Biotechnol*, 1992;24(3):253-66.

29. Broekhuijsen MP, Mattern IE, Contreras R, Kinghorn JR, van den Hondel CAMJJ. Secretion of heterologous proteins by *Aspergillus niger*: Production of active human interleukin-6 in a protease-deficient mutant by KEX2-like processing of a glucoamylase-hIL6 fusion protein. *J Biotechnol*, 1993;31(2):135-45.
30. Contreras R, Carrez D, Kinghorn JR, van den Hondel CAMJJ, Fiers W. Efficient KEX2-like processing of a glucoamylase-interleukin-6 fusion protein by *Aspergillus nidulans* and secretion of mature Interleukin-6. *Bio/Technology*, 1991;9(4):378-81.
31. Jenkins N, Curling EMA. Glycosylation of recombinant proteins: problems and prospects. *Enzyme Microb Technol*, 1994;16(5):354-64.
32. Kukuruzinska MA, Bergh MLE, Jackson BJ. Protein glycosylation in yeast. *Annu Rev Biochem*, 1987 Jun;56(1):915-44.
33. Elbein AD, Mitchell M, Molyneux RJ. Effect of castanospermine on the structure and secretion of glycoprotein enzymes in *Aspergillus fumigatus*. *J Bacteriol*, 1984;160(1):67-75.
34. Maras M, van Die I, Contreras R, van den Hondel CAMJJ. Filamentous fungi as production organisms for glycoproteins of bio-medical interest. *Glycoconj J*, 1999;107:19-27.
35. Xie T, Liu Q, Xie F, Liu H, Zhang Y. Secretory expression of insulin precursor in *Pichia pastoris* and simple procedure for producing recombinant human insulin. *Prep Biochem Biotechnol*, 2008 Jul;38(3):308-17.
36. Gurramkonda C, Polez S, Skoko N, Adnan A, Gäbel T, Chugh D, et al. Application of simple fed-batch technique to high-level secretory production of insulin precursor using *Pichia pastoris* with subsequent purification and conversion to human insulin. *Microb Cell Fact*, 2010; 12:9.
37. Biocon - India's largest biopharmaceutical compan. <https://biocon.com/>, (Erişim Tarihi: 19 Temmuz 2020).
38. Berlec A, Štrukelj B. Current state and recent advances in biopharmaceutical production in *Escherichia coli*, yeasts and mammalian cells. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 40(3-4):257-74.
39. Çelik E, Çalık P. Production of recombinant proteins by yeast cells. *Biotechnol Adv* 2012;30(5):1108-18.
40. Frenzel A, Hust M, Schirrmann T. Expression of recombinant antibodies. *Front Immunol*, 2013; 4: 217.
41. Mattanovich D, Branduardi P, Dato L, Gasser B, Sauer M, Porro D. Recombinant protein production in yeasts. *Methods Mol Biol*, 2012;824:329-58.
42. Spadiut O, Capone S, Krainer F, Spadiut O, Capone S, Krainer F, Glieder A, Herwig C. Microbials for the production of monoclonal antibodies and antibody fragments. *Trends Biotechnol*, 2014;32(1):54-60.
43. Mullard A. 2012 FDA drug approvals. *Nat Rev Drug Discov*, 2013;12(2):87-90.
44. Syed YY, Dhillon S. Ocriplasmin: a review of its use in patients with symptomatic vitreomacular adhesion. Vol. 73, *Drugs*. Springer International Publishing; 2013. p. 1617-25.
45. Kavanagh K. *Fungi: Biology and Applications: Second Edition*. Wiley; 2011. 1-366 p.
46. 'https://www.ablynx.com/' (Erişim Tarihi: 19 Temmuz 2020).
47. / www.lundbeck.com/global/ (Erişim Tarihi: 19 Temmuz 2020).
48. Mease P, Strand V, Shalamberidze L, Dimic A, Raskina T, Xu L-A, et al. A Phase II, Double-Blind, Randomised, Placebo-Controlled Study of BMS945429 (ALD518) in Patients with Rheumatoid Arthritis with an Inadequate Response to Methotrexate. *Ann Rheu Dis*, 2012; 71: 1183-9.
49. Jung ST, Kang TH, Kelton W, Georgiou G. Bypassing glycosylation: Engineering aglycosylated full-length IgG antibodies for human therapy. *Cur O Bio*, 2011; 22(6): 858-67.
50. Barnard GC, Kull A, Sharkey N, Shaikh SS, Rittenhour AM, Burnina I, Jet al. High-throughput screening and selection of yeast cell lines expressing monoclonal antibodies. *J Ind Microbiol*, 2010; 37: 961-71.

51. Potgieter TI, Cukan M, Drummond JE, Houston-Cummings NR, Jiang Y, Li F, et al. Production of monoclonal antibodies by glycoengineered *Pichia pastoris*. *J biotechnology*, 2009; 139(4): 318-25.
52. Zha D. Glycoengineered pichia-based expression of monoclonal antibodies. *Methods Mol Biol*, 2013;988:31-43.
53. Hamilton SR, Cook WJ, Gomathinayagam S, Burnina I, Bukowski J, Hopkins D, et al. Production of sialylated O-linked glycans in *Pichia pastoris*. *Glycobiol*, 2013; 23(10): 1192-1203.
54. Glycoproteins SRH. Humanization of yeast to produce complex terminally sialylated glycoproteins. science.sciencemag.org [Internet]. 2014 [cited 2020 Jun 19];18. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/313/5792/1441.short>
55. Hamilton SR, Davidson RC, Sethuraman N, Nett JH, Jiang Y, Rios S, et al. Humanization of yeast to produce complex terminally sialylated glycoproteins. 2014; 313(5792):1441-3.
56. Liu L, Li H, Hamilton SR, Gomathinayagam S, Rayfield WJ, van Maanen M, et al. The impact of sialic acids on the pharmacokinetics of a pegylated erythropoietin. *J Pharm Sci*, 2012;101(12):4414-8.
57. Liu L, Gomathinayagam S, Hamuro L, Prueksaritanont T, Wang W, Stadheim TA, et al. The impact of glycosylation on the pharmacokinetics of a TNFR2:Fc fusion protein expressed in glycoengineered *pichia pastoris*. *Pharm Res*, 2013;30(3):803-12.
58. Liu L, Stadheim A, Hamuro L, Pittman T, Wang W, Zha D, et al. Pharmacokinetics of IgG1 monoclonal antibodies produced in humanized *Pichia pastoris* with specific glycoforms: A comparative study with CHO produced materials. *Biologicals*, 2007; 39: 205-10.
59. Choi BK, Actor JK, Rios S, D'Anjou M, Stadheim TA, Warburton S, et al. Recombinant human lactoferrin expressed in glycoengineered *Pichia pastoris*: effect of terminal N-acetylneuraminic acid on in vitro secondary humoral immune response. *Glycoconj J*, 2008;25(6):581-93.
60. Öztürk A, Çopur ÖU. Mantar Bileşenlerinin Teröpatik Etkileri. *Bahçe*, 2009;38(1):19-24.
61. Schmid RD, Verger R. Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. *Angew Chemie Int Ed*, 1998;37(12):1608-33.
62. Gül ÜD, Coşdan Ö, Eryılmaz M. Antimicrobial Activity of Medicinal Macrofungi. In: International Congress on Medicinal and Aromatic Plants, 'Natural and Healthy Life' May, 9-12, Konya-Turkey 2017. (Proceeding Book, p. 1168).
63. Wall ME, Wani MC. Camptothecin and taxol: discovery to clinic--thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Res*, 1995;55(4):753-60.
64. Janos B. Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? *Biotechnologija*. 1995; 61:1004-12.
65. Anjum T, Iram W. Production of Cyclosporine A by Submerged Fermentation. In: Merillon JM., Ramawat K. (eds) *Fungal Metabolites*. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham. 2015.
66. Deshmukh SK, Prakash V, Ranjan N. Marine fungi: a source of potential anticancer compounds. *Front Microbiol*, 2017; 8: 2536.