

Mikrobiyal Biyoteknoloji ve Medikal Uygulamaları

Microbial Biotechnology and Medical Applications

Yunus Emre ÖZ^a,
E. Esin HAMEŞ TUNA^{a,b}

^aEge Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyomühendislik ABD,
İzmir, Türkiye
^bEge Üniversitesi Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü,
İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi/Correspondence:

E. Esin HAMEŞ TUNA
Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü,
İzmir, Türkiye
esin.hames@ege.edu.tr

ÖZET Mikroorganizmalar ve ürünleri tarım, gıda, ilaç, enerji, maden, biyoremediasyon ve atık su yönetimi gibi geniş yelpazedeki alanda kullanılmaktadır ve ekonomilere sağladığı yarar milyarlarca dolardır. Biyoteknolojik araç ve yöntemlerin gelişmesi ile ekonomik değeri yüksek olan mikrobiyal ürünlerin hem piyasada hem de literatürdeki artışı net bir şekilde görülebilmektedir. Dolayısı ile ülkelerin mikrobiyal biyoteknoloji konusunda yapacağı yatırımlar ekonomilerine büyük katkı sağlama potansiyeline sahiptir. Bu derlemede mikroorganizmaların medikal alanda biyokütle, ürün ve araç olarak kullanımları üzerine odaklanılmıştır. Günümüzde mikroorganizmanın kendisi inaktif aşı, atenüye aşı ve probiyotik üretiminde kullanılmaktadır. Mikrobiyal ürün olarak ise antimikrobiyal ve antitümör bileşikler, teröpatik enzimler, proteinler, subunit aşılarda, toksoid aşılarda, polimerler, nanopartiküller, vitaminler ve amino asitler sayılabilir. Ayrıca medikal alanda önemli birçok bileşik de mikroorganizmalar ile yürütülen biyotransformasyon süreci ile elde edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aşılarda; antibiyotikler; biyopolimerler; biyodönüşüm; endüstriyel mikrobiyoloji

ABSTRACT Microorganisms and their products are used in a wide range of fields such as agriculture, food, medicine, energy, mining, bioremediation and wastewater management, and their benefits to economies are reach billions of dollars. With the development of biotechnological tools and methods, the increase in microbial products with high economic value can be clearly seen both in the market and in the literature. Therefore the investments by countries in microbial biotechnology have the potential to contribute greatly to their economies. This review focuses on the use of microorganisms as biomass, products and tools in the medical field. Today, the microorganism itself is used in the production of inactivated vaccines, attenuated vaccines and probiotics. Microbial products include antimicrobial and antitumor compounds, therapeutic enzymes, proteins, subunit vaccines, toxoid vaccines, polymers, nanoparticles, vitamins and amino acids. In addition, many compounds important in the medical field are also obtained by the biotransformation process carried out with microorganisms.

Keywords: Vaccines; antibiotics; biopolymers; biotransformation; industrial microbiology

Mikrobiyal biyoteknoloji ürünleri, tıp ve veterinerlikte olduğu kadar ziraat ve endüstride de merkezi bir roledir. Mikroorganizmalar, enzim, probiyotik, vitamin, protein, antibiyotik gibi insanlar için önemli birçok ürünün üreticisidirler. Mikroorganizmalar ile elde edilen ürünleri mikroorganizmanın kendisi, onun ürettiği bir bileşik veya bir faaliyeti ile istenilen ürünün elde edildiği süreçler olarak üç ana gruba ayırabiliriz. Binlerce yıldır süt ürünleri ve alkollü içki üretiminde mikroorganizmalar geleneksel fermantasyon yöntemlerinde kullanılmaktadır. Ancak bu süreçlerin gelişmesinde 1883 yılında Hansen tarafından saf kültür elde edilmesi en önemli kilometre taşlarından birini oluşturmaktadır. Geçtiğimiz yüzyıl içerisinde de bu konuda önemli aşamalar kaydedilmiş ve endüstriyel süreçlerin geliştirilmesinin yanında genetik mühendisliğindeki ilerlemeler ile de mikroorganizmaların genetik yapısında düzenlemeler yapılarak daha uygun maliyetli ve verimli üretimler gerçekleştirilmiştir.¹

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

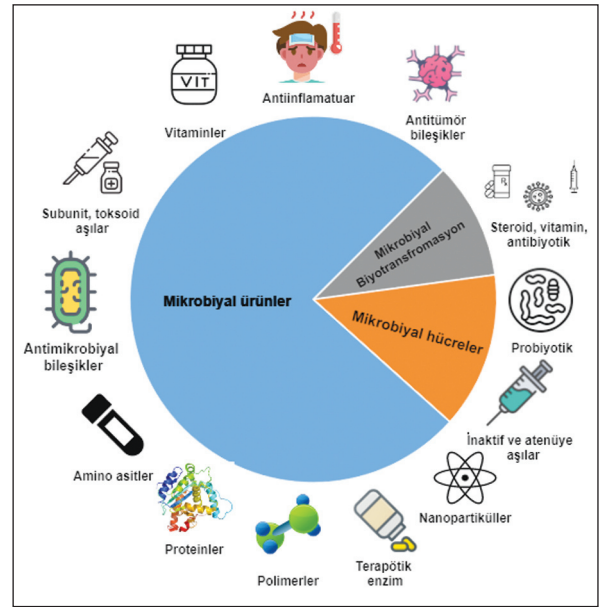
Öz YE, Hameş Tuna EE. Mikrobiyal biyoteknoloji ve medikal uygulamaları. Koçdor H, Pa- buççuoğlu A, Zihnioğlu F, Sağın F, editörler. Sağlık Biyoteknolojisi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2022. p.11-30.

Mikroorganizmaların kullanımı özel bazı ürünlerin (inaktif aşı, atenüye aşı, bazı enzimler vb.) üretimi için gerekli iken diğer bazı ürünlerde bu yöntem kimyasal süreçlere alternatif oluşturmaktadır. Kimyasal süreçler genellikle daha maliyetlidir, buna karşılık mikroorganizmalar hızlı büyürler, ucuz substratları veya endüstriyel yan/atık ürünleri kullanabilirler ve potansiyel ürün çeşitlilikleri çok fazladır.¹ Bu sebepler mikroorganizmaların birçok sektörde kullanımının önünü açmıştır. Mikrobiyal biyoteknoloji ürünlerini medikal kullanım alanına göre ilaç-aşı, doku mühendisliği ve diğer medikal ürünler (probiyotikler, vitaminler, enzimler vb.) olarak gruplandırmak mümkündür. Bu derlemede medikal uygulamalarda kullanılan mikrobiyal biyoteknolojik ürünler mikroorganizmanın kendisi, onun bir ürünü ve aracı olduğu bir sürecin ürünü şeklinde sunulmuştur (Şekil 1).

MİKROBİYAL HÜCRELER (BİYOKÜTLE)

İNAKTİF VE ATENÜYE AŞILAR

Aşılar birçok farklı yöntemle üretilmektedir. Ancak genel olarak bir kısmı mikrobiyal bir ürünü (toksin, antijen, flagel) içerirken bir kısmı mikroorganizmanın kendisini içermektedir. Mikroorganizmanın kendisini içeren tip aşılar (inaktif ve atenüye) bu başlık altında yer alırken mikroorganizmanın bir ürünü içeren aşılar (subunit, toksoid, DNA) 2.3. Proteinler başlığı altında sunulmuştur. İnaktif aşı (öldürülmüş), hastalık etkeni mikroorganizmanın öldürülerek/inak-



ŞEKİL 1: Mikroorganizmalar ve mikrobiyal ürünler.

tif hale getirilerek kullanıldığı aşı tipidir. Genellikle bakteriyel aşıların çoğu inaktif aşı şeklinde hazırlanır. Tekrarlayan aşılama gerektirebilmesinin yanında mutasyon riski taşımaz ve immün yetersizliği olan kişilerde güvenle kullanılabilir. Atenüye (zayıflatılmış) aşı ise immünojen özelliği korunmuş, hastalık yapıcı özelliği kaldırılmış/zayıflatılmış canlı bakteri hücreleri veya virüslerden oluşur (Tablo 1). Aşı içerisindeki etken hala canlı/aktif olduğundan vücuda verildiğinde antijen üretmeye devam eder ve uzun süreli bağışıklık sağ-

TABLO 1: Mikroorganizmanın kendisinin kullanıldığı inaktif ve atenüye aşılar.

| | Kaynak | Mikroorganizma | Hastalık |
|----------------|------------|-----------------------------------------|-----------------------|
| İnaktif aşılar | Bakteriyel | <i>Bordetella pertussis</i> | Boğmaca |
| | | <i>Salmonella typhi</i> | Tifo ateşi |
| | | <i>Salmonella paratyphi</i> | Paratifo ateşi |
| | | <i>Vibrio cholerae</i> | Kolera |
| | | <i>Yersinia pestis</i> | Veba |
| | Viral | <i>Rickettsia prowazekii</i> | Tifo ateşi |
| | | Kuduz virüsü (insan) | Kuduz |
| | | İnfluenza virüsü | Grip |
| | | Polio virüsü | Çocuk felci |
| | | | |
| Atenüye aşılar | Bakteriyel | <i>Mycobacterium bovis</i> | Tüberküloz |
| | Viral | Kızamık (morbilli) virüsü | Kızamık |
| | | Kabakulak virüsü | Kabakulak |
| | | Rubella (Alman kızamığı) | Kızamıkçık |
| | | Polio virüsü | Çocuk felci |
| | | Kuduz virüsü (köpek ve diğer hayvanlar) | Kuduz |
| | | Rotavirüs | Rotavirüs enfeksiyonu |
| | | Varicella zoster virüsü | Su çiçeği |

lama potansiyelindedir. Viral aşuların çoğu atenüye şekilde üretilmektedir. Özellikle son 100 yılda aşı teknolojisindeki gelişmeler ile enfeksiyon hastalıkları sebebiyle ölüm oranları ciddi oranda düşürülmüştür.¹⁻⁴

PROBİYOTİKLER

Probiyotikler, epitel hücre çoğalması, farklılaşması, bağışıklık sisteminin gelişimi ve homeostazında rol oynayan ve insanlığın uzun süredir içecek, yoğurt, farklı peynir türleri ve benzeri geleneksel yiyeceklerinde kullandığı bakteri, maya veya küf gibi mikroorganizma türlerini kapsamaktadır.⁵ *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus sporogenes*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus diacetylactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Candida pintolopesii*, *Saccharomyces boulardii* gibi mikroorganizmalar yaygın probiyotikler olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler, yalnızca sağlığımızı iyileştirmek veya patojen enfeksiyonlarını kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda hastalık tedavisi ve yönetiminde de yardımcı olabilir.⁶ Tablo 2’de bazı hastalıklar için probiyotik olarak kullanım potansiyeli olan mikroorganizmalar listelenmiştir.

MİKROBİYAL ÜRÜNLER

Doğadaki birçok mikroorganizma ticari açıdan önemli olan primer ve sekonder metabolitleri üretirler.²⁵ Bu ürünler temel olarak antibiyotikler, enzimler, proteinler, aşular, polimerler, vitaminler, aminoasitlerdir.

ANTİBİYOTİKLER

(ANTİMİKROBİYAL VE ANTİTÜMÖR BİLEŞİKLER)

Mikroorganizmalardan izole edilen ve antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal), antitümör ve/veya antiviral aktiviteler sergileyen sekonder metabolitleri ifade etmek için önceleri antibiyotik ifadesi kullanılmaktaydı.²⁶ Günümüzde antitümör bileşikleri için antitümör antibiyotikleri terimi de kullanılmaktadır.

Spor oluşturan mikroorganizmalar tarafından geniş bir biyoçeşitlilikte üretilen, biyoaktif sekonder metabolitler ağırlıklı olarak *Actinobacteria* filumu ve bazı fungus türleri tarafından üretilmektedir.^{27,28} Tablo 3’te yaygın bazı antibiyotikler, üretici mikroorganizma ve etki grubuna göre sunulmuştur. Mikroorganizmanın büyüme ve gelişimi için gerekli olmayan bu metabolitler geniş kullanım potansiyeli ile önemli pazar payına sahiptir.²⁹ Sekonder metabolitlerin en çok kullanıldığı alan olarak anti-enfektif ilaç grubu sayılabilir ve bu ilaçların küresel pazar payı ise 70 milyar ABD Dolarının üzerindedir.³⁰ Mikrobiyal sekonder metabolitler göreceli olarak büyük, kompleks organik moleküllerdir ve sentezlenmeleri için 30 ve belki de daha fazla enzimatik basamağa ihtiyaç duyarlar.³¹ Genellikle mikroorganizmanın geç büyüme fazı (idiyofaz) sırasında üretilirler.²⁹ Bu bileşiklerin mikroorganizma tarafından üretilmesinde üretim koşulları önemli değişkenlerdir. Hem karada hem de suda yer alan zengin mikrobiyal çeşitlilik, taşıdığı yüksek potansiyel nedeniyle biyoaktif sekonder metabolit üretimi için yoğun olarak araştırılmaktadır. Mikroorganizmaların büyümelerini durduran veya ölümlerine sebep olan antibiyotikler biyolojik yollarla veya sentetik olarak üretilmektedir.³² Tüm terapötik olarak aktif an-

TABLO 2: Bazı hastalıklar için probiyotik potansiyeli olan mikroorganizmalar.

| Mikroorganizma | Hastalık | Kaynak |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------|
| <i>Lactobacillus reuteri</i> | Bebek kolikleri | 7 |
| <i>Escherichia coli</i> strain Nissle 1917 | Crohn hastalığı | 8 |
| <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> | Egzema | 9,10 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | Gastroenterit | 11 |
| <i>E. coli</i> | Gıda alerjisi | 12 |
| <i>Enterococcus faecium</i> , <i>L. plantarum</i> PH04, <i>Propionibacterium freudenreichii</i> | Hiperkolesterolemi ve kardiyovasküler rahatsızlıklar | 13-15 |
| <i>Bifidobacterium infantis</i> 35624, <i>E. coli</i> DSM17252 | Huzursuz bağırsak sendromu | 16-18 |
| <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacillus</i> | Kabızlık | 19 |
| <i>L. acidophilus</i> | Laktöz intoleransı | 20 |
| <i>L. casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus gasserii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> | Obezite | 21 |
| <i>L. acidophilus</i> | Pektik ülser hastalığı | 22 |
| <i>L. casei</i> DN-114 001 | Radyasyona bağlı ishal | 23 |
| <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. plantarum</i> | Seyahat ishali | 20,24 |

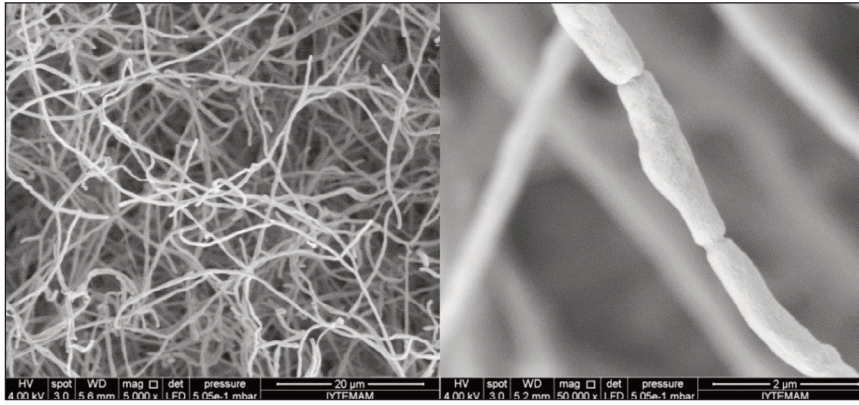
TABLO 3: Mikroorganizmalar tarafından üretilen ve önemli pazar payına sahip antibiyotik bileşiklere örnekler.

| | Antibiyotik | Üretici mikroorganizma | Hedef | Kullanım alanı | Kaynak |
|----------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Antifungal | Sefamisin C | <i>Nocardia lactomdurans</i> | Membran | Geniş spektrumlu β -lactam inhibitörü | 40,41 |
| | Kandisidin | <i>Streptomyces griseus</i> | Membran | <i>Candida albicans</i> gibi bazı mantarlara karşı etkili | 42 |
| | Natamisin | <i>Streptomyces natalensis</i> | Membran | <i>Candida albicans</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> | 43 |
| | Sikloheksimid | <i>S. griseus</i> | Protein sentezi | Geniş spektruma sahip fungusit, alg ve protozoalara karşı toksik | 44,45 |
| Antibakteriyel | Kloramfenikol | <i>Streptomyces venezuelae</i> | Protein sentezi | Gram negatif, gram pozitif bakteriler ve <i>Rickettsia</i> | 46,47 |
| | Klavulanik asit | <i>Streptomyces clavuligerus</i> | β -laktamaz inhibitörü | Geniş spektrumlu β -laktamaz inhibitörü | 48,49 |
| | Eritromisin | <i>Saccharopolyspora erythraea</i> | Protein sentezi | <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Treponema pallidum</i> | 50,51 |
| | Gentamisin | <i>Micromonospora spp.</i> | Protein sentezi | <i>Streptococcus</i> ve anaerobik mikroorganizmalar hariç geniş spektrumlu bakteriosidal etki | 52,53 |
| | Kanamisin | <i>Streptomyces kanamyceticus</i> | Protein sentezi | <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i> ve <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 54,55 |
| | Novoblosin | <i>Streptomyces niveus</i> | DNA rigaz | <i>S. aureus</i> , <i>Neisseria spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> ve <i>Brucella spp.</i> | 56,57 |
| | Rifamisin | <i>Amycolatopsis mediterranea</i> | RNA polieraz | <i>M. tuberculosis</i> , <i>Mycobacterium leprae</i> , <i>Brucellosis</i> ve <i>Legionella</i> | 58,59 |
| | Tetrasiklin | <i>Streptomyces aureofaciens</i> | Protein sentezi | Gram negatif ve pozitif bakteriler, <i>Chlamydia</i> ve <i>Rickettsia</i> | 60 |
| | Tobramisin | <i>Streptomyces tenebrarius</i> | Protein sentezi | Gram negatif bakteriler ve bazı mikrobakteriler | 61 |
| | Vankomisin | <i>Amycolatopsis orientalis</i> | Peptidoglikan | Bazı gram pozitif bakteriler | 62 |
| | Virantmisin | <i>Streptomyces nitrosporeus</i> No. AM-2722 | RNA, DNA | RNA ve DNA virüsleri | 63 |
| | Antiviral | Pumilacidin | <i>Bacillus pumilus</i> | H+, K+- | Uçuk |
| Docosanol | | <i>S. cerevisiae</i> | ATPase, Replikasyon | Dudak uçluğu | 65,66 |
| Kistamisin | | <i>Microtrasporea parvosato subsp kistnae subsp. Nov. (ATCC 55076)</i> | Membran | İnfluenza virüsü tip A | 67,68 |
| Antitümör | Daunorubisin | <i>Streptomyces peuceitius</i> | DNA | Lösemi | 69 |
| | Doksorubisin | <i>S. peuceitius</i> | SNA | Meme kanseri, çocuk solid tümörleri, Yumuşak doku sarkonu agresif lenfoma tedavisi | 70,71 |
| | Bleomisin | <i>Streptoalloteichus hindustanus</i> | DNA | Skuamöz hücreli karsinom, melanom sarkom, testis, yumurtalık kanseri | 72,73 |

tibiyotiklerin yaklaşık olarak % 90'ı mikroorganizmalardan elde edilmektedir.^{26,33} Antimikrobiyal bileşikler, mikrobiyal enfeksiyonları önlemek veya tedavi etmek amacıyla sağlık alanında (insan ve veteriner) yaygın olarak kullanılmaktadır.³⁴ Bu bileşikler, mikroorganizmaların hücre duvar sentezi, protein sentezi, nükleik asit sentezi veya metabolik yolları ve membranına müdahale ederek inhibitör etki gösterirler.³⁵ Üst solunum yolu, kulak, idrar yolu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, akne ve bron-

şit gibi rahatsızlıklarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Mikroorganizmalardan 20 binin üzerinde biyoaktif madde üretilirken bunların 17 binini antibiyotikler oluşturmaktadır.²⁶ Fakat günümüzde antibiyotik direnç problemine karşı hala yeni antibiyotiklere olan ihtiyaç devam etmektedir.³⁶ Antibiyotikler (antimikrobiyal ve antitümör bileşikler) söz konusu olduğunda özellikle *Actinobacteria* üyesi olan *Streptomyces* (Resim 1 ve 2) cinsi türleri bu endüstrinin temelini oluşturmaktadır.³⁷

**RESİM 1:** Toprakta izole edilmiş Streptomyces cinsine ait suşların koloni görünümüleri.



RESİM 2: Denizden izole edilmiş *Streptomyces* cinsine ait bir suşun 48 saatlik kültürünün farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görünümü.

Antitümör antibiyotikler (sitotoksik/antikanser anti-biyotikler), tümör gelişimini engelleyen ve mücadele eden ilaçlardır.³⁸ Dünya çapında önemli ölüm nedenlerinden biri olan kanserin tanı ve tedavisinde gün geçtikçe önemli gelişmeler kaydedilmektedir. Mevcut kemoterapötik ajanlara karşı gelişen direnç, gösterdikleri yan etkiler ve spesifik olmayan toksisiteleri gibi nedenlerle yeni antitümör bileşiklerine hala ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, yeni bir etki mekanizmasına sahip antitümör bileşiklerin keşfi veya geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Mikroorganizmalar tarafından üretilen biyoaktif bileşikler, kanser tedavisi için umut verici bir alternatif olarak görülmektedir.³⁹

MİKROBİYAL TERAPÖTİK ENZİMLER

Tüm metabolik süreçlerde yer alan ve birçok kimyasal dönüşüm için gerekli olan enzimler, özgünlük, hassasiyet ve yüksek katalitik etkinlikleri nedeniyle diğer tüm ilaç türlerinden ayrılmaktadır. Enzimler yüksek özgünlük ve hassasiyetleri (spesifisite ve sensitivite) ile hedef moleküllere

bağlanır ve onu istenen ürünlere dönüştürürler. Bu özellikler sayesinde enzimler, çok çeşitli hastalık ve metabolik bozukluklar için spesifik ve güçlü ilaçlar haline gelmektedir.⁷⁴ Terapötik enzimler, onkolitik, trombolitik, antikoagulan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve metabolik eksikliklerin yerine konma tedavisi gibi geniş çeşitlilikte kullanımlara sahiptir. Sindirim veya metabolik kaynaklı çeşitli hastalıkların (lösemi, cilt ülserleri, Pompe hastalığı, kalp-damar hastalıkları, çölyak hastalığı, Parkinson hastalığı, Fabry hastalığı, inflamasyon ve pankreas bozuklukları) güvenli bir şekilde tedavisi için, enzimler tek başına veya diğer tedaviler ile birlikte kullanılabilir. Ayrıca, teşhis, araştırma ve birçok hastalığın izlenmesinde de kullanımları mevcuttur.^{75,76} Küresel istatistikler incelendiğinde ilaç sektöründe enzimlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Sağlık sektöründe enzim talebinin 2021 yılına kadar 6,3 milyar doları aşması beklenmektedir.⁷⁷ Mikrobiyal kaynaklardan elde edilen bazı terapötik enzimler Tablo 4'te sunulmuştur.

TABLE 4: Mikrobiyal terapötik enzimler.

| Enzim | Üretici mikroorganizma | Ticari ürün | Kullanımı | Kaynak |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------|
| Rasburikaz | <i>S. cerevisiae</i> | Fasturtrec | Kanser tedavisi gören hastalarda ürik asit miktarının düşürülmesi | 78 |
| Kollajenaz | <i>Clostridium perfringens</i> | Xiaflex, Nocuxol | Deri ülseri, Dupuytren, Peyronie, Yara-yanık debridmanı | 79 |
| Glukarpidaz (Karboksipeptidaz) | <i>E. coli</i> 'de eksprese edilen bir rekombinant | Varoxaze | Böbrek yetmezliği (metotreksatları parçalar) | 80 |
| K-asparaginaz | <i>Pseudomonas karboksipeptidaz G2</i> <i>Erwinia asparaginose</i> , <i>E. coli</i> , Rekombinant <i>E. coli</i> | Cristanaspase, Elspar, L-asnase, Leunase, Oncaspar, Erwinase, Kidrolase, PEG L-asparaginase | Akut lenfoblastik lösemi | 81,82 |

PROTEİNLER (HORMONLAR, İNTERFERONLAR, İNTERLÖKİNLER, AŞILAR)

Metabolik reaksiyonları düzenleyen, hücreler arası ve hücre içi etkileşimleri ve hücre sinyal iletimini sürdüren proteinlerin üretimindeki eksiklik veya fonksiyonel olmayan formlarının sentezi bireyde genellikle hafif veya şiddetli çeşitli sorunlara neden olmaktadır. Sistemik veya doku seviyelerindeki olağan konsantrasyonlara ulaşmak için eksik protein harici kaynaklardan klinik uygulamayla yerine konulabilir. Birçok insan proteininin önemli farmasötik değeri vardır, ancak bunların doğal kaynaklardan elde edilmesi zordur. Biyolojik bir platform olarak *E. coli* kullanılarak 70'lerin sonlarında geliştirilen ve günümüzde önemli aşamalar kaydetmiş rekombinant DNA teknolojileri ile nispeten uygun maliyetli proteinlerin üretimi yapılmaya başlanmıştır.⁷⁸ Özellikle aşı proteinlerinin üretiminde *S. cerevisiae* ön plana çıkarken hormonların ve bağışıklık sistemi proteinlerinin üretiminde *E. coli* kullanılmaktadır (Tablo 5 ve 6). *E. coli*'de üretilen rekombinant farmasötiklerin çoğu, bulaşıcı hastalıkların veya endokrin, beslenme ve metabolik bozukluk hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle subunit aşı üretiminde rekombinant protein şeklinde üretilen immünojenler kullanılmaktadır. Tablo 6'da rekombinant teknoloji ile üretilen bazı aşılarına örnekler verilmiştir.

Ayrıca mikroorganizma üretilerek kültür sıvısından saflaştırılan toksini ile toksoid aşılar üretilmektedir, difteri, tetanoz ve şarbon örnek olarak verilebilir. Menejit, bakteriyel zatürre ve *Haemophilus influenza* menenjitinde bakteriyel etkenden elde edilen polisakkaritler de mikrobiyal bir ürün olarak aşı üretiminde kullanılmaktadır.¹

MİKROBİYAL POLİMERLER (DOKU İSKELESİ, ADJUVAN, ANTİKOAGÜLAN, İLAÇ DAĞITIM)

Bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan elde edilebilen polimerler günümüzde medikal, uzay sanayi, otomotiv, gıda, kozmetik, tarım, elektronik ve ilaç gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Viskoz solüsyondan, psödoplastik yapıya ya da jelimsi (hidrojel) formlarda olabilen mikrobiyal polimerlerin üretimi konusundaki çalışmalar son yıllarda

- Yüksek verimde üretilebilmeleri,
- Biyoyumlu ve biyobozunur olmaları,
- Kolay üretilebilmeleri,
- Modifikasyonlara açık olmaları ve
- Geniş çeşitlilikte üretilebilmeleri nedeniyle artış göstermiştir.¹¹⁵

TABLO 5: Farmasötik proteinler ve üretici platformu ile ticari markaları.

| Ürün | <i>E. coli</i> | <i>S. cerevisiae</i> | Kaynak |
|---------------------------------------------------|---------------------------|----------------------|--------|
| Hormonlar | | | |
| İnsan insülini ve insülin analogları | Humulin, Insuman, Exubera | NovoRapid, Levemir | 83-86 |
| Kalsitonin | Fortical, Forcaltonin | - | 87,88 |
| Paratiroid hormonu | Preatact | - | 89 |
| İnsan büyüme hormonu | Ansomone | - | 90 |
| Glukogan | Glucagon | GlucaGen | 86,91 |
| Somatropin | Humatrope, Genotropin | Valtropin | 92-94 |
| Mecasermin (İnsülin büyüme faktörü 1) | Increlex | - | 95 |
| İnferonlar | | | |
| Alfacon-1 | Infegen | - | 96 |
| Alfa-2a | Pegasys, Roferon A | - | 97,98 |
| Alfa-2b | Viraferon, Rebetron | - | 89,99 |
| Gamma-1b | Actimmune | - | 89 |
| İnferokinler | | | |
| İnferokin 11 | Thrombomax | - | 100 |
| İnferokin 2 | CellGenix® rh IL-2 | - | 101 |
| Tasonermin | Beromun | - | 93 |
| Palifermin (Keratinosit büyüme faktörü) | Kepivance | - | 102 |
| Pegvisomant (Büyüme hormonu reseptör antagonisti) | Somavert | - | 103 |
| Nesiritide (B tipi natriüretik peptid) | Natrocor | - | 88 |
| Sargramostim (Koloni uyarıcı faktör) | - | Leukine | 104 |
| Filgrastim (Granülosit koloni uyarıcı faktör) | Neupogen | - | 105 |

TABLO 6: Rekombinant teknoloji ile üretilen aşilar ve ticari markaları.

| Hastalık | E. coli | S. cerevisiae | Kaynak |
|---------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------|---------|
| Oral kolera aşısı | Dukoral | - | 106 |
| Hepatit B | - | Engerix-B, HBVAXPRO, Recombivax | 107-109 |
| İnsan papilloma virüsü aşısı | - | Gardasil/Silgard | 110,111 |
| Kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşısı | - | M-M-RVAXPRO | 112 |
| Difteri, tetanoz, boğmaca, Hepatit B, hemofili tip 1 konjugat | - | Quintanrix | 113 |
| Meningokokal protein konjugatı | - | Comvax | 86 |
| Hepatit A ve Hepatit B | - | Twinrix Adult | 114 |
| Hepatit A ve Hepatit B | - | Twinrix Paediatric | 110 |

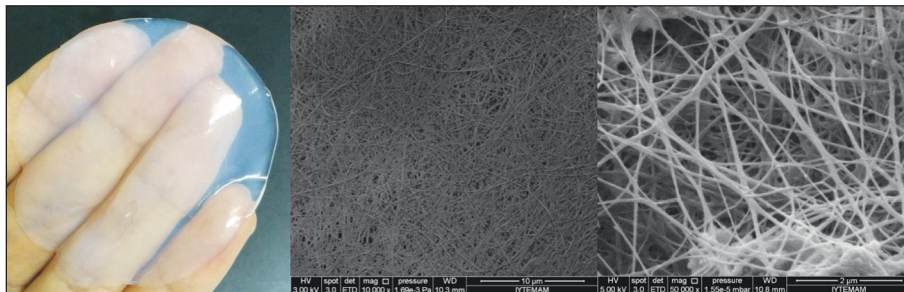
Memeli vücudunda parçalanabilir özellikteki bu polimerler petrol tabanlı polimerlere alternatif sunma potansiyelleri ve artan talebe karşı bitkisel ve hayvansal kaynakların azalmasıyla mücadele edebilmek için önemli avantajlar sunmaktadır.¹¹⁵

Günümüzde, aljinat, dekstran, jellan, ksantan, selüloz, kitin/kitosan ve hyaluronik asit gibi polisakaritler, peptidoglikan gibi proteinler, polihidroksialkonat, polihidroksibütirat, poli-3-hidroksibütirat ve polihidroksioktanoat gibi polimerler biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır.¹¹⁵ Bazı mikrobiyal polimerler ve medikal kullanım alanları aşağıda özetlenmiştir.

Aljinat, *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp ve *Ascophyllum nodosum* gibi kahverengi alglerin yanı sıra *Pseudomonas* sp. ve *Azotobacter vinelandii* gibi bakteriler tarafından sentezlenebilen bir biyopolimerdir.^{115,116} Ticari olarak aljinat yalnızca algal kaynaklardan üretilse de aljinata farklı fizikokimyasal özellikler kazandırmak için son yıllarda mikrobiyal fermantasyonla üretim üzerine çalışmalar artmıştır.¹¹⁷ Tekstil ve gıda endüstrilerinin yanı sıra sahip olduğu kolay ulaşılabilirliği, kolayca jel halini alabilmesi, anyonik, biyobozunur ve non-toksik olması gibi özelliklerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda da aljinat kullanılmaktadır.¹¹⁸ Aljinat kontrollü ilaç salım sistem-

leri, farmakoloji (anti-asit, süspansiyon ve emülsiyonlarda koyulaştırıcı, dengeleyici, ilaç, enzim veya hücre kapsülleme), yara örtüsü, üç boyutlu doku kültürleri, antibiyotik adjuvanı, antiviral bileşikler için matris, diyabet ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde, hücre transplantasyonunda ve doku mühendisliği uygulamalarında matris olarak kullanılmaktadır.¹¹⁹⁻¹²¹

Bakteriyel selüloz (BS): Bitkiler ve bakteriler tarafından üretilen selüloz dünyada en çok bulunan polimerdir. Bakteriyel selüloz, bitkisel selüloz ile aynı kimyasal formüle sahip olmasına rağmen bazı özellikleri bakımından farklılıklar gösterir. BS yüksek saflık, yüksek su tutma kapasitesi, yüksek kristalinite, yüksek mekanik dayanım, nanofiber ağ yapısı, yüksek polimerizasyon derecesi, biyoyoumluluk gibi özellikleri sayesinde son yıllarda biyomedikal uygulama araştırmaları için cazip bir biyopolimer durumuna gelmiştir. Laboratuvarında üretilmiş bir BS membranının görünümü Resim 3'te verilmiştir. Yüksek saflığı nedeniyle non-sitotoksik, non-genotoksik ve yüksek biyoyoumluluğa sahip bir malzeme olarak değerlendirilmektedir.¹²² BS birçok farklı mikroorganizma tarafından üretilirse de ticari ölçekte üretim kabiliyetine sahip olmasından dolayı *Gluconacetobacter xylinus* en çok tercih edilen mikroorganizmadır. BS'nin üretim sırasında



RESİM 3: *G. xylinus* tarafından bir haftalık kültivasyon sonrası hasat edilerek temizlenmiş BS membranının makro (sağ) ve mikro görünümü (orta; 10.000 büyütme, sağ; 50.000 büyütme).

ve üretim sonrasında farklı malzemelerle modifiye edilebilir ve farklı şekillerde üretilebilir olması kullanım potansiyelini arttırmaktadır. BS günümüzde doku mühendisliği, yara örtüsü, yapay kan damarı, ilaç taşınım sistemleri gibi medikal araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.¹²³⁻¹²⁹ Günümüzde XCell®, Membracell®, Bionext® Dermafill® ve Nanoderm™ gibi isimlerle BS esaslı yara örtüleri ticarileştirilmiştir. Sahip olduğu özellikler sayesinde gelecekte medikal uygulamalarda BS'nin kullanımının artması beklenmektedir.

Kitin/Kitosan: Kitin selülozdan sonra dünyada en çok bulunan polisakarittir, eklemcacaklıların dış iskeletinde, mantar ve mayaların ise hücre duvarında bulunmaktadır.¹³⁰ Kitosan, alkali bir ortamda termokimyasal kitin deasetilasyonu ile elde edilebilir ve funguslar kullanılarak doğal olarak elde edilebilir.^{131,132} Kitin ve kitosan biyoyumlu, biyobozunur non-toksik, anti-mikrobiyal ve nemlendirici özelliklere sahip malzemelerdir. Kitin ve kitosan jellere, membranlara, nanofiberlere, mikropartikül, nanopartikül ve sünger forma kolaylıkla dönüştürülür. Kitin/Kitosan yara örtüsü, kemik rejenerasyonu, doku mühendisliği, ilaç dağıtım sistemleri, koruyucu ekipman, kozmetik, biosensör ve medikal implantlarda kullanılmaktadır.^{131,133-139}

Hyaluronik asit (HA): Epitel, sinir ve bağ dokularının hücre dışı matriksinde yaygın olarak bulunan doğrusal bir polimerdir. Yüksek su tutma, biyoyumluluk ve viskoelastisite özellikleri taşıyan HA, dünya çapında yüksek ticari değere sahip farmasötik, biyomedikal ve kozmetik ürünlerin önemli bileşeni haline gelmiştir.¹⁴⁰ HA'nın dünya genelindeki pazar değeri 2019 yılında 9.1 milyar ABD Doları olarak değerlendirilmiştir.¹⁴¹ Günümüzde, HA'nın büyük ölçekli üretimi, hayvan dokularından ekstraksiyon ile sağlansa da *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* ile de üretim gerçekleştirilmektedir.¹⁴² Bununla birlikte, güvenlikle ilgili endişelerden dolayı, *Bacillus* ve *E. coli* gibi endotoksin içermeyen mikroorganizmalar da araştırılmaktadır. HA dermal dolgu maddeleri ve nemlendiriciler gibi kozmetik uygulamalarının yanı sıra ilaç dağıtım sistemleri, oftalmik cerrahi, kornea transplantasyonu, osteoartrit tedavisi ve doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla kul-

lanılmaktadır.¹⁴³ Tablo 7'de uygulamaları ve ticari ürünlere örnekler sunulmuştur.

Polihidroksialkanoat (PHA): Enerji depolanmasında rol alan lipid cisimciği olarak mikroorganizmalar tarafından hücre içinde granüler formlarda sentezlenen biyopolimerlerdir.¹⁴⁴ PHA'lar yüksek biyobozunurluğa sahip, biyoyumlu, termoplastik özellikte moleküllerdir.¹⁴⁵ Bu güne kadar 90'dan fazla bakterinin aerobik ve anaerobik koşullarda PHA ürettiği belirlenmiştir.¹⁴⁶ Bakteri kültüründen yüksek verimli PHA üretimi, özellikle bitkilerden üretime kıyasla daha ekonomiktir.¹⁴⁷ PHA'ların biosentezi için *Cupriavidus necator*, *Ralstonia eutropha* ve *Alcaligenes eutrophus* en çok kullanılan bakterilerdir.¹⁴⁸ PHA doku mühendisliği, ilaç dağıtım sistemi ve implant uygulamalarında kullanılmaktadır.¹⁴⁹ Bir polihidroksialkanoat olan polihidroksibütirat (PHB), *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve alg gibi farklı mikroorganizmalar tarafından karbon kaynağının fazlalığı ve azotun sınırlandırıldığı durumlarda sentezlenen enerji rezervleridir.¹⁵⁰ PHB, biyobozunur, non-toksik, biyoyumlu ve iyi oksijen geçirgenliğine ile yüksek UV dayanımına sahip bir polimerdir.¹⁵¹ Araştırmacılar PHB kompozitlerinin sahip olduğu özelliklerden dolayı stentlerin geliştirilmesi, ortopedik pimler, sütürler, kırıkdağlar, yenilenmiş dokular, ilaç dağıtım sistemleri, ilaç paketleme, doku mühendisliği ve kardiyovasküler yamalar gibi biyomedikal uygulamalara odaklanmıştır.^{145,152}

Polilaktik asit (PLA): Laktik asit bakterileri (*Lactobacillus*) tarafından üretilen, biyoyumlu, hidroliz ve enzimatik aktivite ile biyobozunur, çok sayıda uygulama için tasarlanabilen, çok çeşitli mekanik ve fiziksel özelliklere ve düşük immünojeniteye sahip bir polimerdir.¹⁵³ PLA, ortopedik uygulamalar, kontrollü ilaç salım sistemleri, kemik rejenerasyonu, stent, doku mühendisliği plastik cerrahi, dişçilik ve dermal dolgu gibi birçok medikal uygulamada kullanılmaktadır.¹⁵³⁻¹⁵⁶

Dekstran: Yüksek moleküler ağırlıklı bir polisakarit olan dekstran *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* türleri tarafından üretilebilmektedir. Biyoyumlu ve biyobozunur suda çözünebilir, uzun süre sta-

TABLO 7: HA'nın uygulama alanları ve ticari ürünleri

| Hastalık | Uygulama | Ticari Ürün |
|-----------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Osteoartrit | Lubrikasyon, eklemler için mekanik destek | Hyalgan®, Artz®, Orthovisc®, Healon®, Opegan®, Opelead®, Euflexxa®, Monovisc®, Supartz®, Synvisc® |
| Ameliyat bakımı | Yapay intraoküler lens implantasyonu ve viskoelastik jel | Bionect®, Connettivina®, Jossalig® |
| Embriyo implantasyonu | İn vitro fertilizasyonda kültür ortamı | EmbryoGlue® |

bilitesini koruma özelliğine sahip olan bu polimer, kontak lens, hücre enkapsülasyonu, yara örtü malzemeleri, damar tıkanıklığı, demir eksikliği anemisi, ilaç dağıtım ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır.¹⁵⁷⁻¹⁶⁰

Jellan gam: Tekrar eden tetrasakkarit birimlerinden oluşan doğrusal anyonik bir heteropolisakkarit olan jellan gam *Sphingomonas paucimobilis* ve *Pseudomonas elodea* tarafından mikrobiyal fermantasyonla üretilebilmektedir.¹⁶¹⁻¹⁶³ Yüksek ısı direnç, geniş pH aralıklarında kararlı, soğuk/sıcak suda çözünebilir, biyouyumlu ve non-toksiktir.¹⁶⁴ Bu polimer ağız, göz ve nazal ilaç formülasyonlarında ilaç katkısı, tablet çözünmesini sağlayan bileşen, kontrollü ilaç salınımı, rejeneratif tıp ve gen transfer teknolojisinde kullanılmaktadır.¹⁶⁵⁻¹⁶⁷

Ksantan: Tekrar eden D-glikoz, D-mannoz, D-glukuronik asit, asetal bağlı pirüvik asit ve D-asetil grupları içeren ksantan, suda çözünebilir anyonik bir ekzopolisakkarittir.^{168,169} Gram-negatif bir bakteri olan *Xanthomonas campestris* tarafından endüstriyel olarak üretilebilen ksantan soğuk ve sıcak suda iyi çözünebilir, düşük derişimlerde yüksek viskoziteye sahip bir malzemedir. Gıda ve tarım endüstrisinde sıklıkla kullanılan ksantan kişisel bakım ürünleri ve farmakolojik uygulamalarda da kullanılmaktadır.¹⁷⁰ Ksantan ilaç dağıtım sistemleri, kemik, kırıldak, deri rejenerasyonu, yara örtüsü, oftalmolojik çözeltilerde ve doku mühendisliğinde kullanılmaktadır.¹⁷⁰

Poli γ glutamik asit (γ -PGA): D-glutamik asit, L-glutamik asit veya DL-glutamik asit birimlerini içeren ribozomal olmayan bir amino asit polimeridir.^{171,172} γ -PGA, *Bacillus* türleri, *Fusobacterium nucleatum* ve bazı arkeler tarafından sentezlenebilir, ancak *Bacillus* türleri γ -PGA üretimi için daha çok tercih edilmektedir.^{172,173} Anyonik, suda çözünebilir, biyobozunur, non-toksik, non-immüno-

jenik, viskoz, yenilebilir bir biyopolimer olan γ -PGA'nın metal şelatör, doku mühendisliği (matris), ilaç taşıyım/dağıtım, aşı (*Bacillus anthracis*), immün modülatör ve gen dağıtım gibi medikal uygulamalar için kullanımı söz konusudur.^{172,174}

Poli ϵ -L-Lizin: L lizinin karboksil ve ϵ amino grupları arasında peptid bağlarıyla karakterize edilen bir homopoli aminoasittir.¹⁷⁵ İlk olarak Gram pozitif bir bakteri olan *B. anthracis*'in kapsülünde keşfedilen Poli ϵ -L-Lizin daha sonra *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus amyloliquefaciens* suşlarında da keşfedilmiştir.¹⁷⁶ Yüksek su tutma kapasitesine sahip, non-toksik, biyobozunur, antimikrobiyal özelliklere sahip olan bu polimer medikal alanda ilaç taşıyıcı, kaplama materyali, gen taşıyıcı, lipozom ve lipaz inhibitörü olarak kullanılabilmektedir.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷

MİKROBİYAL NANOPARTİKÜLLER

Boyutları 100 nm ya da daha küçük olan parçacıklar olarak ifade edilen nanopartiküller sahip olduğu yüksek yüzey alanı, kimyasal olarak aktif olması, elektrik, optik ve manyetik özellikleri sayesinde son yıllarda ilgi çeken malzemelerdir.^{178,179} Farklı nanopartikül türlerini sentezlemek için çok sayıda fiziksel, kimyasal, biyolojik ve hibrid yöntem kullanılmaktadır.^{180,181} Nanopartiküllerin sentezinde fiziksel ve kimyasal yöntemler daha yaygın kullanılmasına rağmen, toksik kimyasalların varlığı klinik uygulamaları büyük ölçüde sınırlamaktadır. Bu nedenle, nanopartiküllerin sentezine yönelik güvenilir, toksik olmayan ve çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesinde mikroorganizmaların kullanımı önemli bir alternatif haline gelmiştir.¹⁸² Tablo 8'de biyomedikal alanda kullanılan bazı nanopartiküller ve uygulama alanları hakkında bilgi verilmiştir.

TABLO 8: Mikrobiyal nanopartiküller, üretici mikroorganizmalar ve kullanım alanları.

| Nanopartikül | Özellikleri | Üretici mikroorganizma | Kullanım alanı | Kaynak |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Altın nanopartiküller (AuNP) | Optik, elektriksel fototermal özellikleri, oksidasyona karşı yüksek stabilizasyon | Hücre içi veya hücre dışı <i>Shewanella oneidensis</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> | Biyogörüntüleme, gen dağıtım, ilaç dağıtım, biyosensör, antitümör, kanser terapi | 182,185,186 |
| Kadmiyum sülfid (CdS) nanokristaller | Yarı iletken | <i>Rhodospseudomonas palustris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>E. coli</i> | Kanser teşhisinde, biyosensör olarak ve antimikrobiyal tedavilerde kullanılmaktadır | 187-190 |
| Manyetik (Fe ₃ O ₄) | Küçük ters spinel yapıya sahip yaygın bir ferritik malzeme | <i>Magnetospirillum magneticum</i> , <i>Magnetospirillum</i> , <i>S. oneidensis</i> | İlaç dağıtım, manyetik rezonans görüntüleme hücre ayırma, antimikrobiyal aktiviteler ve kanser için hipertermi tedavisi | 191-195 |
| Gümüş nanopartiküller (AgNP) | İyi bakteriyel ve optik özellikler | <i>Trichoderma viride</i> , <i>B. Licheniformis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>F. oxysporum</i> | İlaç dağıtım sistemi, katater modifikasyonu, yara iyileşmesi ve kemik iyileşmesi uygulamalarında | 196-202 |

MİKROBİYAL VİTAMİNLER

Vitaminler, normal büyüme ve beslenme için gerekli olan ve bazıları vücut tarafından sentezlenemediği için dışarıdan alınması gereken organik bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Vitaminler mikroorganizmalarda ve bitkilerde doğal olarak sentezlenir ve tüm canlı organizmaların metabolizması için gereklidir, yeterli miktarda alınmadığında farklı sağlık sorunlarına yol açabilir.¹⁸³ Geleneksel olarak vitaminler organik kimyasal sentez ile üretilir fakat yüksek reaksiyon sayısı, çevreye zararlı tehlikeli çözücülerin yanı sıra pahalı cihazların kullanımı vitaminlerin mikroorganizmalar kullanılarak üretilmesinin önünü açmıştır.^{183,184} Mikrobiyal vitamin üretimi, iklim koşulları, spesifik üretim sezonunun olmaması, ölçek büyütülebilir olması ve insan gıdalarıyla rakip olmaması gibi avantajlara sahiptir (Tablo 9).^{183,184}

MİKROBİYAL AMİNO ASİTLER

Amino asitler proteinlerin yapı taşı olmalarının yanı sıra, organizmaların büyümesi ve yaşamın sürdürülmesi için metabolik yolların ve süreçlerin düzenlenmesinde rol alan önemli moleküllerdir.^{224,225} Amino asitler, hayvan yem katkı maddesi, insan beslenmesinde aroma artırıcı veya kozmetik ve tıbbi ürünlerde kullanılmaktadır. Bu moleküller, protein hidrolizatlarından ekstraksiyon, kimyasal

sentez, enzimatik hidroliz veya fermantasyon gibi farklı yöntemlerle üretilebilirler. Hedef bileşiklerin verimini, özgülüğünü ve üretkenliğini en üst düzeye çıkarmak için uygulanan yeni genetik mühendisliği araçları nedeniyle fermantasyon ile üretim, ticari amino asit üretimi için en umut verici süreçlerden biri haline gelmiştir.²²⁶ Küresel amino asit pazar büyüklüğü 2019'da 21,18 milyar ABD Doları olarak değerlendirilmiştir ve 2020'den 2027'ye kadar da %7,8 büyümesi beklenmektedir. Pazarın, gıda, ilaç ve nutrasötik endüstrilerindeki talebin artmasıyla artacağı öngörülmektedir.²²⁷ Mikrobiyal kaynaklı amino asitler konusundaki çalışmalar Tablo 10'da özetlenmiştir.

ANTIİNFLAMATUAR, İNHİBİTÖR, İMMÜN MODULATÖR VE ANTİKOAGÜLAN BİLEŞİKLER

Bazı doğal ürünlerin antiinflamatuvar etkileri bulunmaktadır. Antiinflamatuvar bileşikler içeren ilaçlar dış, sırt, kas ağrısı, romatoid artrit, osteoartrit ve tendinit ağrısı gibi birçok rahatsızlıkta kullanılmaktadır, Çeşitli *Streptomyces* türleri antiinflamatuvar bileşikler üretebilmektedir.²⁴¹ Örnek olarak FK506 ve rapamisin verilebilir. *Streptomyces* cinsi türlerin ürettiği FK506 refrakter romatoid artrit tedavisinde etkinlik göstermiştir.²⁴²⁻²⁴⁴ Rapamisin ise inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak omurilik hasa-

TABLO 9: Mikrobiyal olarak üretilen vitaminler ve üretici mikroorganizmalar.

| Vitamin | Üretici Mikroorganizma | Kaynak |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| A | <i>S. cerevisiae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pichia pastoris</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> | 203-206 |
| D | <i>S. cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces uvarum</i> ve <i>C. utilis</i> | 207-209 |
| E | <i>Spirulina platensis</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Synechocystis sp.</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Chlamydomonas</i> , <i>Ochromonas</i> türleri, <i>Euglena gracilis</i> , <i>Dunaliella salina</i> , <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Diacronema vlkianum</i> | 210 |
| K | <i>E. coli</i> , <i>Mycobacterium phlei</i> ve <i>N. subtilis</i> | 183,211 |
| B2 | <i>Clostridium acetobutylicum</i> , <i>Candida flareri</i> , <i>Candida famata</i> , <i>Eremothecium ashbyi</i> , <i>Ashbya gossypii</i> | 212-217 |
| B9 | <i>Streptococcus macedonicus</i> , <i>Latococcus lactis</i> , <i>B. Subtilis</i> , <i>Ketogulonigenium vulgare</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces pastorianus</i> | 218-221 |
| B12 | <i>Paracoccus denitrificans</i> , <i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>E. coli</i> , <i>Sinorhizobium mellotti</i> , <i>P. freudenreichii</i> | 184,222,223 |

TABLO 10: Mikroorganizmalar kullanılarak üretilen bazı amino asitler.

| Amino asit | Fonksiyonu | Üretici mikroorganizma | Kaynak |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------|
| L-glutamik asit | Sinir sisteminde nöronları uyaran bir nörotransmitter | <i>Brevibacterium lactofermentum</i> , <i>Corynebacterium glutamicum</i> | 225,228,229 |
| L-lizin | Kalsiyum emilime yardımcı, kollojen oluşumunda görev alır | <i>C. glutamicum</i> | 225,230,231 |
| L-treonin | Karaciğer, merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sisteminin işleyişini destekler | <i>E. coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> | 225,232 |
| L-lösin | Kan şekeri seviyesinin düzenlenmesi, kemik ve kas dokularının büyümesi ve rejenerasyonu | <i>Bacillus lacto-fermentum</i> , <i>C. glutamicum</i> | 225,233-235 |
| L-izolösin | Dayanıklılığı artırabilen ve kas dokusunu iyileştirmeye yardımcı | <i>S. marcescens</i> , <i>C. glutamicum</i> | 225,236,237 |
| L-metiyonin | Tek karbon metabolizması için önemli ve karaciğerde detoksifikasyona yardımcı | <i>E. coli</i> , <i>C. glutamicum</i> | 225,234,238 |
| L-arginin | İnsülin, glukagon, büyüme hormonunun salgılanmasını uyarma, | <i>C. glutamicum</i> | 225,239,240 |

rından sonraki inflamatuvar yanıtı inhibe eder, böylece omurilikteki ikincil hasarı azaltır ve nöroprotektif bir etki sağlar.²⁴⁵ *Streptomyces* sp. SCSIO 10355 tarafından üretilen strepsesquitriolün ise makrofajlarda tümör nekroz faktörü- α üretimini inhibisyonu yoluyla antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.²⁴⁶ Denizel *Streptomyces* sp. CNB-091'den elde edilen salinamid A ve B ise topikal antiinflamatuvar aktivite göstermiştir.²⁴⁷ Bir diğer çalışmada ise *Faecalibacterium prausnitzii* süpernatantında bulunan, bir proteine ait 7 peptidin *in vivo* antiinflamatuvar özellikler gösterdiği belirlenmiştir.²⁴⁸

Enzim inhibitörleri ilaç endüstrisinde önemli bileşiklerdir. Günümüzde 100'den fazla enzim inhibitörü ticarileşmiştir ve çok daha fazlası geliştirilme aşamasındadır. Enzim inhibitörleri, hücreler, bakteriler, virüsler ve insan vücudunda enzim inhibisyonunda spesifik etkiler sergilerler. Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, erektil disfonksiyon, gastrointestinal bozukluklar ile hepatit B, hepatit C, uçuk ve HIV enfeksiyonları gibi çeşitli bozukluk ve hastalıkların tedavisinde kullanılabilirler.²⁴⁹

İmmünomodülatör bileşikler, serum antikorlarının üretimini artırarak (immünostimülatörler) veya azaltarak (immünosupresifler) bağışıklık sisteminin işleyişini düzenlerler.^{250,251} Bitkilerin yanı sıra *Bifidobacteria*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli* gibi mikroorganizmalar immünomodülatör bileşikler üretirler.²⁵²

Yaygın olarak kan inceltici (sulandırıcı) olarak bilinen antikoagülanlar ise kanın pıhtılaşmasını önleyen veya azaltan, pıhtılaşma süresini uzatan kimyasal maddelerdir.²⁵³ *P. pastoris*, *S. cerevisiae*, *B. subtilis* ZHX gibi mikroorganizmalar çeşitli antikoagülan bileşiklerin üretimini gerçekleştirilebilmektedir.²⁵⁴⁻²⁵⁶ Antiinflamatuvar, enzim

inhibitörü, immün modülatör veya antikoagülan olarak etkinliği olan farklı mikrobiyal ürünlerin listesi Tablo 11'de verilmiştir.

BIYOTRANSFORMASYON

Biyotransformasyon, kimyasal bileşiklerde yapısal değişiklikler meydana getirmek için biyolojik sistemlerin kullanılması olarak tanımlanmaktadır.²⁶⁷ Mikrobiyal biyotransformasyon genellikle çeşitli kirleticilerin veya hidrokarbon, metal ve farmasötik maddelerin transformasyonunda kullanılmaktadır.²⁶⁸ Bu işlem oksidasyon, yeni karbon bağlarının oluşumu veya fonksiyonel grupların eklenmesini içermektedir.²⁶⁹ Biyotransformasyon, kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında birçok avantaja sahiptir. Biyotransformasyonlar yalnızca bölgesel ve stereo kimyaya özgü değil, aynı zamanda enantiospesiftir ve kiral ürünlerin üretimine izin verir. Ticari açıdan, bazı biyotransformasyonlar kimyasal analoglarından daha ucuz ve daha kolay yollarla ilave işlemler gerektirmeden doğrudan elde edilebilir.²⁷⁰ Mikrobiyal biyotransformasyonun, birçok endüstride kullanılan çeşitli kimyasalların üretimini hafifletmede zorunlu bir araç olduğu kanıtlanmıştır.²⁷¹ Biyotransformasyonla steroidler, antifungal moleküller, vitamin C ve antibiyotikler elde edilebilmektedir (Tablo 12).

GELECEK EĞİLİMLERİ

Mikroorganizmalar ile birçok alanda kullanım alanı bulan değerli ürünler elde edilmektedir. Medikal alanda ise hücreler aşı üretimi ve probiyotik üretiminde kullanılırken, özellikle biyolojik aktiviteye sahip çok çeşitli moleküller de gerek tedavi (antibiyotik, antitümör, antiinflamatuvar vb) ve gerekse de yerine koyma veya destekleme (vitamin, terapötik enzimler, amino asitler vb) amacıyla kullanılmak-

TABLO 11: Farklı medikal amaçlarla kullanılan mikrobiyal ürünler.

| Ürün | Mikroorganizma | Hedef/Uygulama | Kaynak |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------|
| Antiinflamatuvar | | | |
| FK506 (Takrolimus) | <i>Streptomyces tsukubaensis</i> | Allogreft reddini engelleme, greft-konakçı hastalıklar | 73,244 |
| Rapamisin | <i>Streptomyces rapamycinicus</i> , <i>Streptomyces iranensis</i> | Antitümör | 73,257,258 |
| Enzim inhibitörü | | | |
| Acivisin | <i>Streptomyces svices</i> | Gama-glutamil transferaz | 259,260 |
| Leupeptin | <i>Streptomyces exfoliatus</i> | Sistein, serin ve treonin peptidaz | 261 |
| İmmünomodülatör | | | |
| Amfomisin | <i>Streptomyces canus FIM0916</i> | Peptidoglikan sentezi inhibisyonu | 252,262,263 |
| Daptomisin | <i>Streptomucos roseosporus</i> | Sitokin ekspresyonunu baskılar, membran geçirgenleştirici | 252,264 |
| Antikoagülan | | | |
| 4-hidroksikumarin | <i>E. coli XL1</i> | Tromboembolik hastalıklar | 265 |
| Heparosan | <i>E. coli K5</i> | Antikoagülan | 266 |

TABLO 12: Mikrobiyal biyotransformasyonla elde edilen ürünler ve kullanılan mikroorganizmalar.

| Ürün grubu | Mikroorganizma | Substrat | Ürün | Kaynak |
|-------------|----------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------|---------|
| Steroid | <i>Mycobacterium sp</i> | Kolesterol | Testesteron | 272 |
| | <i>A. flavus</i> | Progesteron | Testesteron | 273 |
| Vitamin C | <i>Gluconobacter oxydans</i> | Glikoz (D sorbitol-Lsorboz arasında) | L askorbik asit | 274,275 |
| | <i>Erwinia herbicola</i> | Glikoz (D glikonat-2 keto D glikonat arasında) | L askorbik asit | 274,276 |
| Antibiyotik | <i>S. parvulus</i> | Cis-4-methylproline | Aktinomisin | 277 |
| | <i>B. megareterium IFO 12108</i> | Lankasidin C ve metil-butirat | Lankasidin-C-14-butirat | 271 |

tadır. Mikrobiyal üretim, düşük üretim miktarı, izolasyon ve yapısal analizler gibi bazı zorluklar ile karşı karşıya olmasına rağmen sahip oldukları geniş çeşitlilik ve uygun maliyetli üretim teknikleri nedeniyle özellikle son yıllarda ilerleyen rekombinant DNA teknolojileri ile de giderek ürün yelpazesini genişletmektedir.

Mikrobiyal ürünler mevcut pazarda önemli bir paya sahiptir. BCC Research tarafından yayınlanan Mikroorganizmalar ve Mikrobiyal Ürünler Pazarı raporuna göre 2018 yılında 186,3 milyar ABD Doları olan pazarın %95'ini mikrobiyal ürünler, %5'ini ise mikroorganizmanın kendisi oluşturmaktadır. 2023 yılında ise pazarın yaklaşık %65'lik bir büyüme ile 302,4 milyar ABD Dolarına çıkacağı ve mikrobiyal ürün payının da %96 olacağı öngörülmektedir.²⁷⁸

Biyoteknoloji pazar büyüklüğü 2018'de 417 milyar ABD Dolarını aşmış ve 2025'e kadar da %8,3 oranında büyümesi beklenmektedir. Uygulamalar yönünden biyo-eczacılık, biyo-hizmetler, biyo-tarım, biyo-endüstri ve bi-

yoinformatik şeklinde segmentlere ayrılan biyoteknoloji pazarının %50'den fazla pazar payı 2018'de biyo-eczacılık segmenti ile sağlanmıştır. Kronik ve bulaşıcı hastalıkların tedavisi için kullanılan çeşitli aşılarda rekombinant proteinlerin kullanımının artmasının, biyo-ilaç pazarının büyümesini desteklemesi beklenmektedir. Ayrıca firmaların kişiselleştirilmiş ilaç geliştirilmesine odaklanmasının da ilerlemeyi artıracığı öngörülmektedir. Vücuttaki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler nedeniyle çeşitli kronik rahatsızlıklara yatkın olan hızla yaşlanan nüfusun da küresel pazardaki ürün talebini daha da arttıracığı belirtilmiştir. 2018'de yaklaşık 75 milyar ABD Doları değerinde olan doku mühendisliği ve rejenerasyon teknolojisindeki talebin artması ise kronik hastalıkların yaygınlığının artması ve artan organ yetmezliği vakalarına bağlanmaktadır. Yeni dokular ve organlar oluşturmak ve hastalıklı veya hasarlı doku ve organların yenilenmesini teşvik etmek için bu teknolojinin benimsenmesinin, segment büyümesinde önemli bir etki oluşturacağı düşünülmektedir.²⁷⁹

KAYNAKLAR

- Madigan MT, Clark DP, Stahl D, Martinko JM. Brock Biology of Microorganisms. 13th ed. Benjamin Cummings; 2010.
- Shetty N. Immunology: Introductory Textbook. New Age International; 2005.
- Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA, Kuby J. Kuby Immunology. Macmillan; 2007.
- Roitt I, Delves PJ. Roitt's Essentials in Immunology. London: Blackwell; 2001.
- Cammarota M, De Rosa M, Stellavato A, Lamberti M, Marzaioli I, Giuliano M. In vitro evaluation of Lactobacillus plantarum DSMZ 12028 as a probiotic: emphasis on innate immunity. Int J Food Microbiol. 2009;135(2):90-8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.022.
- Amara AA, Shibli A. Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi Pharm J. 2015; 23(2):107-14. doi: 10.1016/j.jsps.2013.07.001.
- Schreck Bird A, Gregory PJ, Jalloh MA, Risoldi Cochrane Z, Hein DJ. Probiotics for the Treatment of Infantile Colic: A Systematic Review. J Pharm Pract. 2017;30(3):366-74. doi: 10.1177/0897190016634516.
- Boudeau J, Glasser AL, Julien S, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Inhibitory effect of probiotic Escherichia coli strain Nissle 1917 on adhesion to and invasion of intestinal epithelial cells by adherent-invasive E. coli strains isolated from patients with Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther. 2003;18(1):45-56. doi: 10.1046/j.1365-2036.2003.01638.x.
- Niers L, Martín R, Rijkers G, Sengers F, Timmerman H, van Uden N, et al. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the PandA study). Allergy. 2009;64(9):1349-58. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02021.x. Erratum in: Allergy. 2020;75(10): 2719.

10. Soh SE, Aw M, Gerez I, Chong YS, Rauff M, Ng YP, et al. Probiotic supplementation in the first 6 months of life in at risk Asian infants--effects on eczema and atopic sensitization at the age of 1 year. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(4):571-8. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03133.x.
11. Yamada T, Nagata S, Kondo S, Bian L, Wang C, Asahara T, et al. [Effect of continuous probiotic fermented milk intake containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on fever in mass infectious gastroenteritis rest home outbreak]. *Kansenshogaku Zasshi*. 2009;83(1):31-5. Japanese. doi: 10.11150/kansenshogakuzasshi.83.31.
12. Lodinová-Zádníková R, Cukrowska B, Tlaskalova-Hogenova H. Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). *Int Arch Allergy Immunol*. 2003;131(3):209-11. doi: 10.1159/000071488.
13. Hlivak P, Odraska J, Ferencik M, Ebringer L, Jahnova E, Mikes Z. One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. *Bratisl Lek List*. 2005;106(2):67-72.
14. Kiatpapan P, Yamashita M, Kawaraichi N, Yasuda T, Murooka Y. Heterologous expression of a gene encoding cholesterol oxidase in probiotic strains of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium freudenreichii* under the control of native promoters. *J Biosci Bioeng*. 2001;92(5):459-65. doi: 10.1263/jbb.92.459.
15. Nguyen TD, Kang JH, Lee MS. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Int J Food Microbiol*. 2007;113(3):358-61. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.08.015.
16. Brenner DM, Chey WD. *Bifidobacterium infantis* 35624: a novel probiotic for the treatment of irritable bowel syndrome. *Rev Gastroenterol Disord*. 2009;9(1):7-15.
17. Enck P, Zimmermann K, Menke G, Klosterhalfen S. Randomized controlled treatment trial of irritable bowel syndrome with a probiotic *E. coli* preparation (DSM17252) compared to placebo. *Z Gastroenterol*. 2009;47(2):209-14. doi: 10.1055/s-2008-1027702.
18. Whorwell PJ, Altringer L, Morel J, Bond Y, Charbonneau D, O'Mahony L, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(7):1581-90. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00734.x.
19. Miller LE, Ouwehand AC, Ibarra A. Effects of probiotic-containing products on stool frequency and intestinal transit in constipated adults: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(6):629-39. doi: 10.20524/aog.2017.0192.
20. Hawrelak J. Probiotics: choosing the right one for your needs. *J Aust Tradit Soc*. 2003;9(2): 67-75.
21. Ejtahed HS, Angoorani P, Soroush AR, Atlasi R, Hasani-Ranjbar S, Mortazavian AM, et al. Probiotics supplementation for the obesity management: a systematic review of animal studies and clinical trials. *J Funct Foods*. 2019;52:228-42. doi: 10.1016/j.jff.2018.10.039.
22. Khoder G, Al-Menhali AA, Al-Yassir F, Karam SM. Potential role of probiotics in the management of gastric ulcer. *Exp Ther Med*. 2016;12(1):3-17. doi: 10.3892/etm.2016.3293.
23. Giralt J, Regadera JP, Verges R, Romero J, de la Fuente I, Biete A, et al. Effects of probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 in prevention of radiation-induced diarrhea: results from multicenter, randomized, placebo-controlled nutritional trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008;71(4):1213-9. doi: 10.1016/j.ijrobp.2007.11.009.
24. Michail S, Abernathy F. *Lactobacillus plantarum* reduces the in vitro secretory response of intestinal epithelial cells to enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;35(3):350-5. doi: 10.1097/00005176-200209000-00021.
25. Onbaşı D, Aslım B. *Pseudomonas* cinsi bakterilerin biyoteknolojik açıdan önemli bazı sekonder metabolitleri. *Elektron Mikrobiyoloji Derg TR*. 2011;9:25-34.
26. Bérty J. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)*. 2005;58(1):1-26. doi: 10.1038/ja.2005.1. Erratum in: *J Antibiot (Tokyo)*. 2005;58(4):C-1.
27. O'Brien J, Wright GD. An ecological perspective of microbial secondary metabolism. *Curr Opin Biotechnol*. 2011;22(4):552-8. doi: 10.1016/j.copbio.2011.03.010.
28. Dede A, Güven K, Şahi N N. Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microb Pathog*. 2020;143:104134. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104134.
29. Ruiz B, Chávez A, Forero A, García-Huante Y, Romero A, Sánchez M, et al. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Crit Rev Microbiol*. 2010;36(2):146-67. doi: 10.3109/10408410903489576.
30. Demain AL, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)*. 2009;62(1):5-16. doi: 10.1038/ja.2008.16.
31. Gokulan K, Khare S, Cerniglia C. Metabolic pathways: production of secondary metabolites of bacteria. *Encycl Food Microbiol Second Ed*. 2014;(May 2018):561-9.
32. Saygı Ş, Battal D, Şahin N. Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi. *Marmara Pharm J*. 2012;16(2):82-90.
33. Davies J, Ryan KS. Introducing the parvome: bioactive compounds in the microbial world. *ACS Chem Biol*. 2012;7(2):252-9. doi: 10.1021/cb200337h.
34. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment-a review-part I. *Chemosphere*. 2009;75(4):417-34. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
35. Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2017;33(3):300-5. doi: 10.4103/joacp.JOACP_349_15
36. D'Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwarz C, et al. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011;477(7365):457-61. doi: 10.1038/nature10388.
37. Procópio RE, Silva IR, Martins MK, Azevedo JL, Araújo JM. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis*. 2012;16(5):466-71. doi: 10.1016/j.bjid.2012.08.014.
38. Mukhtar H, Ijaz S, Ikram-UI-Haq. Production of antitumor antibiotic by *Streptomyces capoumus*. *Pakistan J Bot*. 2012;44(1):445-52.
39. Baidara P, Mandal SM. Bacteria and bacterial anticancer agents as a promising alternative for cancer therapeutics. *Biochimie*. 2020;177:164-89. doi: 10.1016/j.biochi.2020.07.020.
40. Kagliwal LD, Survase SA, Singhal RS. A novel medium for the production of cephamycin C by *Nocardia lactamdurans* using solid-state fermentation. *Bioresour Technol*. 2009;100(9):2600-6. doi: 10.1016/j.biortech.2008.11.046.
41. Bussari B, Saudagar PS, Shaligram NS, Survase SA, Singhal RS. Production of cephamycin C by *Streptomyces clavuligerus* NT4 using solid-state fermentation. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2008;35(1):49-58. doi: 10.1007/s10295-007-0265-x.
42. Gil JA, Campelo-Diez AB. Candidin biosynthesis in *Streptomyces griseus*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;60(6):633-42. doi: 10.1007/s00253-002-1163-9.
43. Farid MA, el-Enshasy HA, el-Diwany AI, el-Sayed el-S A. Optimization of the cultivation medium for natamycin production by *Streptomyces natalensis*. *J Basic Microbiol*. 2000;40(3):157-66. doi: 10.1002/1521-4028(200007)40:3<157::AID-JOBM157>3.0.CO;2-1.
44. Lopchuk JM. Imide natural products. *Imides: Medicinal, Agricultural, Synthetic Applications and Natural Products Chemistry*. Elsevier Inc.; 2019. p.255-334.

45. Paoletti F, Ainger K, Donati I, Scardigli R, Vetere A, Cattaneo A, Campa C. Novel fluorescent cycloheximide derivatives for the imaging of protein synthesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;396(2):258-64. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.04.075.
46. Vining LC, Stuttard C. Chloramphenicol. *Biotechnology*. 1995;28 (Yunis):505-30.
47. Fitzgerald KT, Newquist KL. Poisonings in the captive reptile. *Small Anim Toxicol*. 2013;229-49.
48. Gómez-Cerón S, Galindo-Betancur D, Ramírez-Malule H. Data set of in silico simulation for the production of clavulanic acid and cephamicin C by *Streptomyces clavuligerus* using a genome scale metabolic model. *Data Brief*. 2019;24:103992. doi: 10.1016/j.dib.2019.103992.
49. Finlay J, Miller L, Poupard JA. A review of the antimicrobial activity of clavulanate. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(1):18-23. doi: 10.1093/jac/dkg286.
50. Liu J, Chen Y, Wang W, Ren M, Wu P, Wang Y, et al. Engineering of an Lrp family regulator SACE_Lrp improves erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*. *Metab Eng*. 2017;39:29-37. doi: 10.1016/j.ymben.2016.10.012.
51. Farzam K, Quick J. Erythromycin. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2019.
52. Chang Y, Chai B, Ding Y, He M, Zheng L, Teng Y, et al. Overproduction of gentamicin B in industrial strain *Micromonospora echinospora* CCTCC M 2018898 by cloning of the missing genes *genR* and *genS*. *Metab Eng Commun*. 2019;9:e00096. doi: 10.1016/j.mec.2019.e00096
53. Fitzgerald KT, Vera R. Reported toxicities in reptiles. *Reptil Med Surgery*. St Louis, MO: Saunders Elsevier; 2006. p.1068-80.
54. Nepal KK, Yoo JC, Sohng JK. Functional characterization of *KanP*, a methyltransferase from the kanamycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces kanamyceticus*. *Microbiol Res*. 2010;165(7):557-64. doi: 10.1016/j.micres.2009.11.002.
55. Urbancic K, Lindsay Grayson M. Kanamycin. *Kucers use Antibiot a Clin Rev Antibacterial, Antifung Antiparasit Antivir Drugs*. 7th ed. 2017;88:949-63.
56. Hoggarth JH, Cushing KE, Mitchell JI, Ritchie DA. Induction of resistance to novobiocin in the novobiocin-producing organism *Streptomyces niveus*. *FEMS Microbiol Lett*. 1994;116(2):131-6. doi: 10.1111/j.1574-6968.1994.tb06691.x.
57. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. *Practical antimicrobial therapeutics*. Veterinary Medicine. 11th ed. W.B. Saunders; 2017. p.153-74.
58. Ma F-X, Kim JH, Kim SB, Seo Y-G, Chang YK, Hong S-K, et al. Medium optimization for enhanced production of Rifamycin B by *Amycolatopsis mediterranei* S699: combining a full factorial design and a statistical approach. *Process Biochem*. 2008;43(9):954-60. doi:10.1016/j.procbio.2008.04.021
59. Waller DG, Sampson AP. *Chemotherapy of infections*. Medical Pharmacology and Therapeutics. 5th ed. Elsevier; 2018. p.581-629.
60. Yang W, Kong L, Wang Q, Deng Z, You D. Metabolic engineering of a methyltransferase for production of drug precursors demecycline and demeclocycline in *Streptomyces aureofaciens*. *Synth Syst Biotechnol*. 2020;5(3):121-30. doi: 10.1016/j.synbio.2020.06.001.
61. Kharel MK, Basnet DB, Lee HC, Liou K, Woo JS, Kim BG, et al. Isolation and characterization of the tobramycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces tenebrarius*. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;230(2):185-90. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00881-4.
62. Ayar-Kayali H. Pentose phosphate pathway flux analysis for glycopeptide antibiotic vancomycin production during glucose-limited cultivation of *Amycolatopsis orientalis*. *Prep Biochem Biotechnol*. 2011;41(1):94-105. doi: 10.1080/10826068.2010.535401.
63. Nakagawa A, Iwai Y, Hashimoto H, Miyazaki N, Oiwa R, Takahashi Y, et al. Virantmycin, a new antiviral antibiotic produced by a strain of *Streptomyces*. *J Antibiot (Tokyo)*. 1981;34(11):1408-15. doi: 10.7164/antibiotics.34.1408.
64. Naruse N, Tenmyo O, Kobaru S, Kamei H, Miyaki T, Konishi M, et al. Pumilacidin, a complex of new antiviral antibiotics. Production, isolation, chemical properties, structure and biological activity. *J Antibiot (Tokyo)*. 1990;43(3):267-80. doi: 10.7164/antibiotics.43.267.
65. Yu T, Zhou YJ, Wenning L, Liu Q, Krivoruchko A, Siewers V, et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of very long chain fatty acid-derived chemicals. *Nat Commun*. 2017;8:15587. doi: 10.1038/ncomms15587. Erratum in: *Nat Commun*. 2018;9:16220.
66. Katz DH, Marcelletti JF, Khalil MH, Pope LE, Katz LR. Antiviral activity of 1-docosanol, an inhibitor of lipid-enveloped viruses including herpes simplex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(23):10825-9. doi: 10.1073/pnas.88.23.10825.
67. Naruse N, Tenmyo O, Kobaru S, Hatori M, Tomita K, Hamagishi Y, Oki T. New antiviral antibiotics, kistamicins A and B. I. Taxonomy, production, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *J Antibiot (Tokyo)*. 1993;46(12):1804-11. doi: 10.7164/antibiotics.46.1804.
68. Greule A, Izoré T, Iftime D, Tailhades J, Schoppet M, Zhao Y, et al. Kistamicin biosynthesis reveals the biosynthetic requirements for production of highly crosslinked glycopeptide antibiotics. *Nat Commun*. 2019;10(1):1-15.
69. Stutzman-Engwall KJ, Otten SL, Hutchinson CR. Regulation of secondary metabolism in *Streptomyces* spp. and overproduction of daunorubicin in *Streptomyces peuceetius*. *J Bacteriol*. 1992;174(1):144-54. doi: 10.1128/jb.174.1.144-154.1992.
70. Wang X, Tian X, Wu Y, Shen X, Yang S, Chen S. Enhanced doxorubicin production by *Streptomyces peuceetius* using a combination of classical strain mutation and medium optimization. *Prep Biochem Biotechnol*. 2018;48(6):514-21. doi: 10.1080/10826068.2018.1466156.
71. Giddings LA, Newman DJ. Microbial natural products: molecular blueprints for antitumor drugs. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2013;40(11):1181-210. doi: 10.1007/s10295-013-1331-1.
72. Demain AL, Vaishnav P. Natural products for cancer chemotherapy. *Microb Biotechnol*. 2011;4(6):687-99. doi: 10.1111/j.1751-7915.2010.00221.x.
73. Pham JV, Yilma MA, Feliz A, Majid MT, Maffettone N, Walker JR, et al. A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics. *Front Microbiol*. 2019;10:1-27. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01404>
74. Kaur R, Sekhon BS. Enzymes as drugs: an overview. *J Pharm Educ Res*. 2012;3(2).
75. Hemalatha T, UmaMaheswari T, Krithiga G, Sankaranarayanan P, Puvanakrishnan R. Enzymes in clinical medicine: an overview. *Indian J Exp Biol*. 2013;51(10):777-88.
76. Raja MMM, Raja A, Imran MM, Santha AMI, Devasena K. Enzymes application in diagnostic prospects. *Biotechnology*. 2011;10(1): 51-9. doi: 10.3923/biotech.2011.51.59
77. Chand S, Mahajan RV, Prasad JP, Sahoo DK, Mihooliya KN, Dhar MS, et al. A comprehensive review on microbial L-asparaginase: Bioprocessing, characterization, and industrial applications. *Biotechnol Appl Biochem*. 2020;67(4):619-47. doi: 10.1002/bab.1888.
78. Ferrer-Miralles N, Domingo-Espín J, Corchero JL, Vázquez E, Villaverde A. Microbial factories for recombinant pharmaceuticals. *Microb Cell Fact*. 2009;8:17. doi: 10.1186/1475-2859-8-17.
79. Dolynchuk K, Keast D, Campbell K, Houghton P, Orsted H, Sibbald G, Atkinson A. Best practices for the prevention and treatment of pressure ulcers. *Ostomy Wound Manage*. 2000;46(11):38-52; quiz 53-4.
80. Baldo BA. EnzymesBaldo BA. Enzymes approved for human therapy: indications, mechanisms and adverse effects. *BioDrugs*. 2015;29(1):31-55. doi: 10.1007/s40259-015-0116-7.

81. Cachumba JJ, Antunes FA, Peres GF, Brumano LP, Santos JC, Da Silva SS. Current applications and different approaches for microbial L-asparaginase production. *Braz J Microbiol.* 2016;47(Suppl 1):77-85. doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.004.
82. Vimal A, Kumar A. Biotechnological production and practical application of L-asparaginase enzyme. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 2017;33(1):40-61. doi: 10.1080/02648725.2017.1357294.
83. Walsh G. Biopharmaceutical benchmarks 2006. *Nat Biotechnol.* 2006;24(7):769-76. doi: 10.1038/nbt0706-769.
84. Walsh G. Pharmaceutical biotechnology products approved within the European Union. *Eur J Pharm Biopharm.* 2003;55(1):3-10. doi: 10.1016/s0939-6411(02)00165-0.
85. Bill RM. Playing catch-up with *Escherichia coli*: using yeast to increase success rates in recombinant protein production experiments. *Front Microbiol.* 2014;5:85. doi: 10.3389/fmicb.2014.00085.
86. Kim H, Yoo SJ, Kang HA. Yeast synthetic biology for the production of recombinant therapeutic proteins. *FEMS Yeast Res.* 2015;15(1):1-16. doi: 10.1111/1567-1364.12195.
87. Ivanov I. Pharmaceutical and medical biotechnology. Taylor & Francis; 2007.
88. Wegmuller S, Schmid S. Recombinant peptide production in microbial cells. *Curr Org Chem.* 2014;18(8):1005-19. doi: 10.2174/138527281808140616160013
89. Saxena S. Microbial technology and biotechnology. Applied Microbiology. Springer; 2015. p.13-8.
90. Yang S, Zhang C, Cai Y, Qian X, Wu M. The potential molecular marker in distinguishing exogenous recombinant human growth hormone using MALDI-TOF-MS/MS. 2006.
91. Shin CS, Hong MS, Kim DY, Shin HC, Lee J. Growth-associated synthesis of recombinant human glucagon and human growth hormone in high-cell-density cultures of *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1998;49(4):364-70. doi: 10.1007/s002530051183.
92. Hepner F, Czeszar E, Roitinger E, Lubec G. Mass spectrometrical analysis of recombinant human growth hormone (Genotropin®) reveals amino acid substitutions in 2% of the expressed protein. *Proteome Sci.* 2005;3(1):1-12. doi: 10.1186/1477-5956-3-1
93. Baeshen MN, Al-Hejin AM, Bora RS, Ahmed MM, Ramadan HA, Saini KS, et al. Production of Biopharmaceuticals in *E. coli*: Current Scenario and Future Perspectives. *J Microbiol Biotechnol.* 2015;25(7):953-62. doi: 10.4014/jmb.1412.12079.
94. Peterkova V, Arslanoglu I, Bolshova-Zubkovskaya E, Romer T, Zdravkovic D, Kratzsch J, et al. A randomized, double-blind study to assess the efficacy and safety of valtropin, a biosimilar growth hormone, in children with growth hormone deficiency. *Horm Res Paediatr.* 2007;68(6):288-93. <https://doi.org/10.1159/000105494>
95. Jafari S, Babaeipour V, Seyedi HAE, Rahaie M, Mofid MR, Haddad L, et al. Recombinant production of mecasermin in *E. coli* expression system. *Res Pharm Sci.* 2014;9(6):453-61.
96. Kamionka M. Engineering of therapeutic proteins production in *Escherichia coli*. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011;12(2):268-74. doi: 10.2174/138920111794295693.
97. Jones GJ, Itri LM. Safety and tolerance of recombinant interferon alfa-2a (Roferon-A) in cancer patients. *Cancer.* 1986;57(8 Suppl):1709-15. doi: 10.1002/1097-0142(19860415)57:8+<1709::aid-cnrc2820571315>3.0.co;2-f.
98. DeFrees S, Wang ZG, Xing R, Scott AE, Wang J, Zopf D, et al. GlycoPEGylation of recombinant therapeutic proteins produced in *Escherichia coli*. *Glycobiology.* 2006;16(9):833-43. doi: 10.1093/glycob/cwl004.
99. Melmer G. Biopharmaceuticals and the industrial environment. *Prod Recomb Proteins.* 2005;4446(4127):8.
100. Pannell R, Kung W, Gurewich V. C1-inhibitor prevents non-specific plasminogen activation by a prourokinase mutant without impeding fibrin-specific fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2007;5(5):1047-54. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02453.x.
101. Bertineti C, Simon F, Zirik K, Heining-Mikesch K, Pfeifer D, Osterroth F, et al. Cloning of idiotype immunoglobulin genes in B cell lymphomas by anchored PCR and production of individual recombinant idiotype vaccines in *Escherichia coli*. *Eur J Haematol.* 2006;77(5):395-402. doi: 10.1111/j.1600-0609.2006.00740.x.
102. Beaven AW, Shea TC. Recombinant human keratinocyte growth factor palifermin reduces oral mucositis and improves patient outcomes after stem cell transplant. *Drugs Today (Barc).* 2007;43(7):461-73. doi: 10.1358/dot.2007.43.7.1119723.
103. Birch JR, Onakunle Y. Biopharmaceutical proteins: opportunities and challenges. *Methods Mol Biol.* 2005;308:1-16. doi: 10.1385/1-59259-922-2:001.
104. Tran AM, Nguyen TT, Nguyen CT, Huynh-Thi XM, Nguyen CT, Trinh MT, et al. *Pichia pastoris* versus *Saccharomyces cerevisiae*: a case study on the recombinant production of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *BMC Res Notes.* 2017;10(1):1-8. doi:10.1186/s13104-017-2471-6
105. Herman AC, Boone TC, Lu HS. Characterization, formulation, and stability of Neupogen® (Filgrastim), a recombinant human granulocyte-colony stimulating factor. *Formul Charact Stab Protein Drugs Case Hist.* 2002;303-28.
106. Jelinek T, Kollaritsch H. Vaccination with Dukoral against travelers' diarrhea (ETEC) and cholera. *Expert Rev Vaccines.* 2008;7(5):561-7. doi: 10.1586/14760584.7.5.561.
107. Keating GM, Noble S. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B): a review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. *Drugs.* 2003;63(10):1021-51. doi: 10.2165/00003495-200363100-00006.
108. Ebo DG, Bridts CH, Stevens WJ. IgE-mediated large local reaction from recombinant hepatitis B vaccine. *Allergy.* 2008;63(4):483-4. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01618.x.
109. Bill RM. Recombinant protein subunit vaccine synthesis in microbes: a role for yeast? *J Pharm Pharmacol.* 2015;67(3):319-28. doi: 10.1111/jphp.12353.
110. Bao J. Engineering the secretory pathway for recombinant protein secretion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Chalmers Tekniska Hogskola (Sweden).* 2018.
111. Cox MMJ. Recombinant protein vaccines produced in insect cells. *Vaccine.* 2012;30(10):1759-66.
112. Mead D, Pearson D, Devine M. Recombinant human albumin: applications as a biopharmaceutical excipient. *Innov Pharm Technol.* 2007;22:42-4.
113. Redwan E-RM. Cumulative updating of approved biopharmaceuticals. *Hum Antibodies.* 2007;16(3-4):137-58.
114. Beran J. Bivalent inactivated hepatitis A and recombinant hepatitis B vaccine. *Expert Rev Vaccines.* 2007;6(6):891-902. doi: 10.1586/14760584.6.6.891.
115. Rathna GVN, Ghosh S. Bacterial polymers : resources, synthesis and applications. *Biopolym Biomed Environ Appl.* 2011;291-316. doi:10.1002/9781118164792.ch11.
116. Basnett P, Ravi S, Roy I. Natural bacterial biodegradablemedical polymers: polyhydroxyalkanoates. *Science and Principles of Biodegradable and Biore-sorbable Medical Polymers.* Elsevier Ltd; 2017. p.257-77.
117. Remminghorst U, Rehm BH. Bacterial alginates: from biosynthesis to applications. *Biotechnol Lett.* 2006;28(21):1701-12. doi: 10.1007/s10529-006-9156-x.
118. Olatunji O. Aquatic Biopolymers. Springer; 2020.

119. Szezkalska M, PuciBowska A, Szymańska E, Ciosek P, Winnicka K. Alginate: current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Polymer Science*. 2016;2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7697031>
120. Zhang M, Zhao X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. *Int J Biol Macromol*. 2020;162:1414-28. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311.
121. Hernández-González AC, Téllez-Jurado L, Rodríguez-Lorenzo LM. Alginate hydrogels for bone tissue engineering, from injectables to bioprinting: A review. *Carbohydr Polym*. 2020;229:115514. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115514.
122. Gorgieva S, Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(10):1352. doi: 10.3390/nano9101352.
123. Coelho F, Cavicchioli M, Specian SS, Scarel-Caminaga RM, de Aquino Penteado L, de Medeiros AI, et al. Bacterial cellulose membrane functionalized with hydroxiapatite and anti-bone morphogenetic protein 2: A promising material for bone regeneration. *PLoS One*. 2019;14(8):1-23.
124. Wen X, Zheng Y, Wu J, Wang LN, Yuan Z, Peng J, et al. Immobilization of collagen peptide on dialdehyde bacterial cellulose nanofibers via covalent bonds for tissue engineering and regeneration. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:4623-37. doi: 10.2147/IJN.S84452.
125. Wu J, Yin N, Chen S, Weibel DB, Wang H. Simultaneous 3D cell distribution and bioactivity enhancement of bacterial cellulose (BC) scaffold for articular cartilage tissue engineering. *Cellulose*. 2019;26(4):2513-28. doi:10.1007/s10570-018-02240-9
126. Keskin Z, Sendemir Urkmez A, Hames EE. Novel keratin modified bacterial cellulose nanocomposite production and characterization for skin tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;75:1144-53. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.035.
127. Panaitescu DM, Lupescu I, Frone AN, Chiulan I, Nicolae CA, Tofan V, et al. Medium Chain-Length Polyhydroxyalkanoate Copolymer Modified by Bacterial Cellulose for Medical Devices. *Biomacromolecules*. 2017;18(10):3222-3232. doi: 10.1021/acs.biomac.7b00855.
128. Weyell P, Beekmann U, Küpper C, Dederichs M, Thamm J, Fischer D, et al. Tailor-made material characteristics of bacterial cellulose for drug delivery applications in dentistry. *Carbohydr Polym*. 2019;207:1-10. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.11.061.
129. Altun E, Aydogdu MO, Togay SO, Sengil AZ, Ekren N, Haskoylu ME, et al. Bioinspired scaffold induced regeneration of neural tissue. *Eur Polym J*. 2019;114:98-108. <https://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.02.008>
130. Jayakumar R, Prabakaran M, Nair SV, Tamura H. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnol Adv*. 2010;28(1):142-50. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.11.001.
131. Kalantari K, Affi AM, Jahangirian H, Webster TJ. Biomedical applications of chitosan electrospun nanofibers as a green polymer - Review. *Carbohydr Polym*. 2019;207:588-600. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.12.011.
132. Roberts GAF. *Chitin Chemistry*. 1st ed. London: Macmillan Press Ltd; 1992.
133. Nagahama H, Kashiki T, Nwe N, Jayakumar R, Furuike T, Tamura H. Preparation of biodegradable chitin/gelatin membranes with GlcNAc for tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers*. 2008;73(3):456-63. doi: 10.1016/j.carbpol.2007.12.011
134. Jayakumar R, Divya Rani VV, Shalumon KT, Kumar PT, Nair SV, Furuike T, et al. Bioactive and osteoblast cell attachment studies of novel alpha and beta-chitin membranes for tissue-engineering applications. *Int J Biol Macromol*. 2009;45(3):260-4. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2009.06.002.
135. Shalumon KT, Binulal NS, Selvamurugan N, Nair SV, Menon D, Furuike T, et al. Electrospinning of carboxymethyl chitin/poly (vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Carbohydr Polym*. 2009;77(4):863-9. doi: 10.1016/j.carbpol.2009.03.009
136. Prabakaran M, Mano JF. Chitosan-based particles as controlled drug delivery systems. *Drug Deliv*. 2005;12(1):41-57. doi: 10.1080/10717540590889781.
137. Anitha A, Rani VVD, Krishna R, Sreeja V, Selvamurugan N, Nair SV, et al. Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, O-carboxymethyl and N, O-carboxymethyl chitosan nanoparticles. *Carbohydr Polym*. 2009;78(4):672-7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.05.028>
138. Portero A, Teijeiro-Osorio D, Alonso MJ, Remuñán-López C. Development of chitosan sponges for buccal administration of insulin. *Carbohydr Polym*. 2007;68(4):617-25. doi: 10.1016/j.carbpol.2006.07.028
139. Fang J, Niu H, Lin T, Wang X. Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Sci Bull*. 2008;53(15):2265. doi:10.1007/s11434-008-0319-0
140. Sze JH, Brownlie JC, Love CA. Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech*. 2016;6(1):67. doi: 10.1007/s13205-016-0379-9.
141. Grand View Research [Internet]. Copyright © 2021 Grand View Research, Inc [Erişim tarihi: 13 Kasım 2020]. Hyaluronic Acid Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Dermal Fillers, Osteoarthritis (Single Injection, Three Injection, Five Injection), Ophthalmic, Vesicoureteral Reflux), By Region, And Segment Forecasts, 2020-2027. Erişim linki: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hyaluronic-acid-market>
142. Krahulec J, Krahulcová J. Increase in hyaluronic acid production by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* strain deficient in beta-glucuronidase in laboratory conditions. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006;71(4):415-22. doi: 10.1007/s00253-005-0173-9.
143. DeAngelis PL. Glycosaminoglycan polysaccharide biosynthesis and production: today and tomorrow. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012;94(2):295-305. doi: 10.1007/s00253-011-3801-6.
144. Poli A, Di Donato P, Abbamondi GR, Nicolaus B. Synthesis, production, and biotechnological applications of exopolysaccharides and polyhydroxyalkanoates by archaea. *Archaea*. 2011;2011:693253. doi: 10.1155/2011/693253..
145. Raza ZA, Riaz S, Banat IM. Polyhydroxyalkanoates: Properties and chemical modification approaches for their functionalization. *Biotechnol Prog*. 2018;34(1):29-41. doi: 10.1002/btpr.2565.
146. Kim HW, Chung MG, Rhee YH. Biosynthesis, modification, and biodegradation of bacterial medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. *J Microbiol*. 2007;45(2):87-97.
147. Verlinden RA, Hill DJ, Kenward MA, Williams CD, Radecka I. Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *J Appl Microbiol*. 2007;102(6):1437-49. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03335.x.
148. Vandamme P, Coenye T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54(Pt 6):2285-9. doi: 10.1099/ijs.0.63247-0.
149. Kumar M, Rathour R, Singh R, Sun Y, Pandey A, Gnansounou E, et al. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Opportunities, challenges, and prospects. *J Clean Prod*. 2020;263:121500. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.121500
150. Thapa C, Shakya P, Shrestha R, Pal S, Manandhar P. Isolation of Polyhydroxybutyrate (PHB) Producing Bacteria, Optimization of Culture Conditions for PHB production, Extraction and Characterization of PHB. *Nepal J Biotechnol*. 2019;6(1):62-8. doi: 10.3126/njb.v6i1.22339
151. Maia FR, Corrello VM, Oliveira JM, Reis RL. Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine*. Elsevier; 2019. p.535-58.
152. Kalia VC, Ray S, Patel SKS, Singh M, Singh GP. The dawn of novel biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates. *Biotechnological Applications of Polyhydroxyalkanoates*. Springer; 2019. p.1-11.
153. Tyler B, Gullotti D, Mangraviti A, Utsuki T, Brem H. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;107:163-75. doi: 10.1016/j.addr.2016.06.018.

154. Singh S, Prakash C, Ramakrishna S. Three-Dimensional Printing of Porous Poly(lactic-Acid Scaffolds for Tissue Engineering. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. Elsevier Ltd.; 2020. p.1-15.
155. Zou F, Sun X, Wang X. Elastic, hydrophilic and biodegradable poly (1, 8-octanediol-co-citric acid)/poly(lactic acid nanofibrous membranes for potential wound dressing applications. *Polym Degrad Stab*. 2019;166(3):163-73.
156. Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2010;75(1): 1-18. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
157. Bhavani AL, Nisha J. Dextran-the polysaccharide with versatile uses. *Int J Pharma Bio Sci*. 2010;1(4):569-73.
158. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64:18-23. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>
159. Das M, Giri TK. Hydrogels based on gellan gum in cell delivery and drug delivery. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020;56:101586.
160. Johnson CS. Intravenous iron-dextran in the treatment of iron deficient anemia. *J Natl Med Assoc*. 1979;71(11):1101-5.
161. Bajaj IB, Survase SA, Saudagar PS, Singhal RS. Gellan gum: Fermentative production, downstream processing and applications. *Food Technol Biotechnol*. 2007;45(4):341-54.
162. Spera R, Nobile S, Trapani LD. Gellan gum for tissue engineering applications: A mini review. *Biomed J Sci Tech Res*. 2018;7(2):5785-6. doi: 10.26717/BJSTR.2018.07.001474.
163. Vendrusculo CT, Pereira JL, Scamparini ARP. Gellan gum: production and properties. *Food Hydrocolloids*. Springer; 1994. p.91-5.
164. Muthukumar T, Song JE, Khang G. Biological Role of Gellan Gum in Improving Scaffold Drug Delivery, Cell Adhesion Properties for Tissue Engineering Applications. *Molecules*. 2019;24(24):4514. doi: 10.3390/molecules24244514.
165. Vijan V, Kaity S, Biswas S, Isaac J, Ghosh A. Microwave assisted synthesis and characterization of acrylamide grafted gellan, application in drug delivery. *Carbohydr Polym*. 2012;90(1):496-506. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.05.071.
166. da Silva LP, Cerqueira MT, Sousa RA, Reis RL, Correló VM, Marques AP. Engineering cell-adhesive gellan gum spongy-like hydrogels for regenerative medicine purposes. *Acta Biomater*. 2014;10(11):4787-97. doi: 10.1016/j.actbio.2014.07.009.
167. Osmalek T, Froelich A, Tasarek S. Application of gellan gum in pharmacy and medicine. *Int J Pharm*. 2014;466(1-2):328-40. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.03.038.
168. Liakopoulou-Kyriakides M, Psomas SK, Kyriakidis DA. Xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* w.t. fermentation from chestnut extract. *Appl Biochem Biotechnol*. 1999;82(3):175-83. doi: 10.1385/abab:82:3:175.
169. Palaniraj A, Jayaraman V. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*. 2011;106(1):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.035>
170. Hublik G. Xanthan. 2012. p.221-9.
171. Al-tae A. Production of polyglutamic acid by *Bacillus subtilis*. Lambert Academic Publishing; 2016.
172. Luo Z, Guo Y, Liu J, Qiu H, Zhao M, Zou W, et al. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid: current progress, challenges, and future perspectives. *Biotechnol Biofuels*. 2016;1-12. doi:10.1186/s13068-016-0537-7
173. Candela T, Moya M, Haustant M, Fouet A. *Fusobacterium nucleatum*, the first Gram-negative bacterium demonstrated to produce polyglutamate. *Can J Microbiol*. 2009;55(5):627-32. doi: 10.1139/w09-003.
174. Alsaheb RAA, Othman NZ, Malek RA, Leng OM, Aziz R, Enshasy HA El, et al. Polyglutamic acid applications in pharmaceutical and biomedical industries. *Scholar Research Library*. 2016;8(9):217-25.
175. Yoshida T, Nagasawa T. epsilon-Poly-L-lysine: microbial production, biodegradation and application potential. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;62(1):21-6. doi: 10.1007/s00253-003-1312-9.
176. Feng SHI, Zhinan XU, Peilin CEN. Microbial production of natural poly amino acid. *Science in China Series B: Chemistry*. 2007;50(2006).
177. Chand S, Singh A, Kumar A, Mishra A. Review on production and medical applications of ϵ -Polylysine. *Biochem Eng J*. 2012;65:70-81.
178. Kato H. In vitro assays: Tracking nanoparticles inside cells. *Nat Nanotechnol*. 2011;6(3):139-40. doi: 10.1038/nnano.2011.25.
179. Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev*. 2004;104(1):293-346. doi: 10.1021/cr030698+.
180. Luechinger NA, Grass RN, Athanassiou EK, Stark WJ. Bottom-up fabrication of metal/metal nanocomposites from nanoparticles of immiscible metals. *Chem Mater*. 2010;22(1):155-60. doi: 10.1021/cm902527n
181. Liu J, Qiao SZ, Hu QH, Lu GQ. Magnetic nanocomposites with mesoporous structures: synthesis and applications. *Small*. 2011;7(4):425-43. doi: 10.1002/sml.201001402.
182. Li X, Xu H, Chen Z, Chen G. Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications. *Journal of Nanomaterials*. 2011; 2011.
183. Santos MA, Jiménez A, Revuelta JL. Microbial production of vitamins. In: *Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals*. Woodhead Publishing Limited; 2013. p.571-94.
184. Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. *Microb Cell Fact*. 2017;16(1):15. doi: 10.1186/s12934-017-0631-y.
185. Shedbalkar U, Singh R, Wadhvani S, Gaidhani S, Chopade BA. Microbial synthesis of gold nanoparticles: current status and future prospects. *Adv Colloid Interface Sci*. 2014;209:40-8. doi: 10.1016/j.cis.2013.12.011.
186. Ahmed S, Annu, Ikram S, Yudha S S. Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach. *J Photochem Photobiol B*. 2016;161:141-53. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.034.
187. Vats S. Microbial biosynthesis of cadmium sulfide (CDS) nanoparticles microbial biosynthesis of cadmium sulfide (CDS) nanoparticles and. 2016.
188. Kowshik M, Deshmukh N, Vogel W, Urban J, Kulkarni SK, Paknikar KM. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnol Bioeng*. 2002;78(5):583-8. doi: 10.1002/bit.10233.
189. Bai HJ, Zhang ZM, Guo Y, Yang GE. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2009;70(1):142-6. doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.12.025.
190. Sekar PV, Parvathi VD, Sumitha R. Green nanotechnology in cadmium sulphide nanoparticles and understanding its toxicity and antimicrobial properties. *Biomedical Research*. 2019;30(5):805-9. doi:10.35841/biomedicalresearch.30-19-324
191. Le Nagard L, Zhu X, Yuan H, Benzerara K, Bazylinski DA, Fradin C, et al. Magnetite magnetosome biomineralization in *Magnetospirillum magnetinum* strain AMB-1: A time course study. *Chem Geol*. 2019;530(4): 119348. doi: 10.1016/j.chemgeo.2019.119348
192. Schüler D, Monteil CL, Lefevre CT. *Magnetospirillum gryphiswaldense*. *Trends Microbiol*. 2020;28(11):947-8. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.001.
193. Perez-Gonzalez T, Jimenez-Lopez C, Neal AL, Rull-Perez F, Rodriguez-Navarro A, Fernandez-Vivas A, et al. Magnetite biomineralization induced by *Shewanella oneidensis*. *Geochim Cosmochim Acta*. 2010;74(3):967-79. doi: 10.1016/j.gca.2009.10.035

194. Obayemi JD, Dozie-Nwachukwu S, Danyuo Y, Odusanya OS, Anuku N, Malatesta K, et al. Biosynthesis and the conjugation of magnetite nanoparticles with luteinizing hormone releasing hormone (LHRH). *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;46:482-96. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.081.
195. Revati K, Pandey BD. Microbial synthesis of iron-based nanomaterials-A review. *Bulletin of Materials Science*. 2011;34(2):191-8. doi:10.1007/s12034-011-0076-6
196. Burduşel AC, Gherasim O, Grumezescu AM, Mogoantă L, Ficai A, Andronescu E. Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview. *Nanomaterials (Basel)*. 2018;8(9):681. doi: 10.3390/nano8090681.
197. Ganesh Babu MM, Gunasekaran P. Production and structural characterization of crystalline silver nanoparticles from *Bacillus cereus* isolate. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2009;74(1):191-5. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.016.
198. Mohammed Fayaz A, Balaji K, Kalaichelvan PT, Venkatesan R. Fungal based synthesis of silver nanoparticles--an effect of temperature on the size of particles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2009;74(1):123-6. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.002.
199. Kalimuthu K, Suresh Babu R, Venkataraman D, Bilal M, Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2008;65(1):150-3. doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.02.018.
200. Senapati S, Mandal D, Ahmad A, Khan MI, Sastry M, Kumar R. Fungus mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel biological approach. *Indian J Phys*. 2004;78:101-5.
201. Vigneshwaran N, Ashtaputre NM, Varadarajan PV, Nachane RP, Paralikar KM, Balasubramanya RH. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. *Mater Lett*. 2007;61(6): 1413-8. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.07.042>
202. Bhainsa KC, D'Souza SF. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2006;47(2):160-4. doi: 10.1016/j.colsurfb.2005.11.026.
203. Sun L, Kwak S, Jin YS. Vitamin A Production by Engineered *Saccharomyces cerevisiae* from Xylose via Two-Phase in Situ Extraction. *ACS Synth Biol*. 2019;8(9):2131-40. doi: 10.1021/acssynbio.9b00217.
204. Jang HJ, Yoon SH, Ryu HK, Kim JH, Wang CL, Kim JY, et al. Retinoid production using metabolically engineered *Escherichia coli* with a two-phase culture system. *Microb Cell Fact*. 2011;10:59. doi: 10.1186/1475-2859-10-59.
205. Sabirova JS, Haddouche R, Van Bogaert I, Mulaa F, Verstraete W, Timmis K, et al. The 'LipoYeasts' project: using the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* in combination with specific bacterial genes for the bioconversion of lipids, fats and oils into high-value products. *Microb Biotechnol*. 2011;4(1):47-54. doi: 10.1111/j.1751-7915.2010.00187.x.
206. Bailey R, Madden KT, Trueheart J. Production of carotenoids in oleaginous yeast and fungi. Google Patents; 2010.
207. Souza CM, Schwabe TM, Pichler H, Ploier B, Leitner E, Guan XL, et al. A stable yeast strain efficiently producing cholesterol instead of ergosterol is functional for tryptophan uptake, but not weak organic acid resistance. *Metab Eng*. 2011;13(5):555-69. doi: 10.1016/j.ymben.2011.06.006.
208. Shimizu S. Vitamins and related compounds: microbial production. *Biotechnol Spec Process*. 2001;10:318-40. doi:10.1002/9783527620999.ch11k
209. He X, Guo X, Liu N, Zhang B. Ergosterol production from molasses by genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007;75(1):55-60. doi: 10.1007/s00253-006-0807-6.
210. Ogbonna JC. Microbiological production of tocopherols: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009;84(2):217-25. doi: 10.1007/s00253-009-2104-7.
211. Walther B, Chollet M. Menaquinones, bacteria, and foods: vitamin K2 in the diet. *Vitam K2-Vital Heal Wellbeing*. 2017:63-82. doi:10.5772/63712
212. Lim SH, Choi JS, Park EY. Microbial production of riboflavin using riboflavin overproducers, *Ashbya gossypii*, *Bacillus subtilis*, and *Candida famate*: an overview. *Biotechnol Bioprocess Eng*. 2001; 6(2):75-88.
213. Batghare AH, Roy K, Khaire KC, Moholkar VS. Mechanistic investigations in ultrasound-induced intensification of fermentative riboflavin production. *Bioresour Technol Reports*. 2020;9:100380.
214. LeBlanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vannini V, van Sinderen D, Taranto MP, de Valdez GF, de Giori GS, Sesma F. B-group vitamin production by lactic acid bacteria--current knowledge and potential applications. *J Appl Microbiol*. 2011;111(6):1297-309. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05157.x.
215. Ledesma-Amaro R, Serrano-Amatriain C, Jiménez A, Revuelta JL. Metabolic engineering of riboflavin production in *Ashbya gossypii* through pathway optimization. *Microb Cell Fact*. 2015;14(1):163. doi: 10.1186/s12934-015-0354-x
216. Aguiar TQ, Silva R, Domingues L. New biotechnological applications for *Ashbya gossypii*: Challenges and perspectives. *Bioengineered*. 2017;8(4):309-15. doi: 10.1080/21655979.2016.1234543.
217. Silva R, Aguiar TQ, Oliveira R, Domingues L. Light exposure during growth increases riboflavin production, reactive oxygen species accumulation and DNA damage in *Ashbya gossypii* riboflavin-overproducing strains. *FEMS Yeast Res*. 2019;19(1). doi: 10.1093/femsyr/foy114.
218. Laiño JE, Levit R, de Moreno de LeBlanc A, Savoy de Giori G, LeBlanc JG. Characterization of folate production and probiotic potential of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *macedonicus* CRL415. *Food Microbiol*. 2019;79:20-6. doi: 10.1016/j.fm.2018.10.015.
219. Sybesma W, Starrenburg M, Kleerebezem M, Mierau I, de Vos WM, Hugenholtz J. Increased production of folate by metabolic engineering of *Lactococcus lactis*. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(6):3069-76. doi: 10.1128/AEM.69.6.3069-3076.2003.
220. Zhu T, Pan Z, Domagalski N, Koepsel R, Ataai MM, Domach MM. Engineering of *Bacillus subtilis* for enhanced total synthesis of folic acid. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(11):7122-9. doi: 10.1128/AEM.71.11.7122-7129.2005.
221. Cai L, Yuan MQ, Li ZJ, Chen JC, Chen GQ. Genetic engineering of *Ketogulonigenium vulgare* for enhanced production of 2-keto-L-gulonic acid. *J Biotechnol*. 2012;157(2):320-5. doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.12.004.
222. Gu Q, Li P. Biosynthesis of vitamins by probiotic bacteria. *Probiotics prebiotics Hum Nutr Heal*. 2016. <http://dx.doi.org/10.5772/63117>
223. Martens JH, Barg H, Warren MJ, Jahn D. Microbial production of vitamin B12. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002;58(3):275-85. doi: 10.1007/s00253-001-0902-7.
224. Cesari M, Rossi GP, Sticchi D, Pessina AC. Is homocysteine important as risk factor for coronary heart disease? *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005;15(2):140-7. doi: 10.1016/j.numecd.2004.04.002.
225. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 2009;37(1):1-17. doi: 10.1007/s00726-009-0269-0.
226. D'Este M, Alvarado-Morales M, Angelidaki I. Amino acids production focusing on fermentation technologies-A review. *Biotechnol Adv*. 2018;36(1):14-25. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.09.001.
227. Grand View Research [Internet]. Copyright © 2021 Grand View Research, Inc. [Erişim tarihi: 7 Kasım 2020]. Global Amino Acids Market Size, Industry Report, 2020-2027. Grand View Research. p.273. Erişim linki: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/amino-acids-market>
228. Kawahara Y, Takahashi-Fuke K, Shimizu E, Nakamatsu T, Nakamori S. Relationship between the glutamate production and the activity of 2-oxoglutarate dehydrogenase in *Brevibacterium lactofermentum*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1997;61(7):1109-12. doi: 10.1271/bbb.61.1109.

229. Hirasawa T, Wachi M. Glutamate fermentation-2: mechanism of L-glutamate overproduction in *Corynebacterium glutamicum*. In: Amino Acid Fermentation. Springer; 2016. p.57-72.
230. Becker J, Zelder O, Häfner S, Schröder H, Wittmann C. From zero to hero--design-based systems metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-lysine production. *Metab Eng.* 2011;13(2):159-68. doi: 10.1016/j.ymben.2011.01.003.
231. Flodin NW. The metabolic roles, pharmacology, and toxicology of lysine. *J Am Coll Nutr.* 1997;16(1):7-21. doi:10.1080/07315724.1997.10718644.
232. Lee MH, Lee HW, Park JH, Ahn JO, Jung JK, Hwang YI. Improved L-threonine production of *Escherichia coli* mutant by optimization of culture conditions. *J Biosci Bioeng.* 2006;101(2):127-30. doi: 10.1263/jbb.101.127.
233. Qingeng H, Ling L, Weibin W, Songgang W, Jianzhong H. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* to enhance L-leucine production. *African J Biotechnol.* 2017;16(18):1048-60. doi: 10.5897/AJB2017.15911
234. Sanchez S, Rodriguez-Sanoja R, Ramos A, Demain AL. Our microbes not only produce antibiotics, they also overproduce amino acids. *J Antibiot (Tokyo).* 2017. doi: 10.1038/ja.2017.142.
235. Pedroso JA, Zampieri TT, Donato J Jr. Reviewing the Effects of L-Leucine Supplementation in the Regulation of Food Intake, Energy Balance, and Glucose Homeostasis. *Nutrients.* 2015;7(5):3914-37. doi: 10.3390/nu7053914.
236. Wada M, Uchida T, Kato J, Chibata I. Continuous production of L-isoleucine using immobilized growing *Serratia marcescens* cells. *Biotechnol Bioeng.* 1980;22(6):1175-88. doi: 10.1002/bit.260220606
237. Yin L, Shi F, Hu X, Chen C, Wang X. Increasing L-isoleucine production in *Corynebacterium glutamicum* by overexpressing global regulator Lrp and two-component export system Brn FE. *J Appl Microbiol.* 2013;114(5): 1369-77.
238. Krömer JO, Wittmann C, Schröder H, Heinzle E. Metabolic pathway analysis for rational design of L-methionine production by *Escherichia coli* and *Corynebacterium glutamicum*. *Metab Eng.* 2006;8(4):353-69. doi: 10.1016/j.ymben.2006.02.001.
239. Park SH, Kim HU, Kim TY, Park JS, Kim SS, Lee SY. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-arginine production. *Nat Commun.* 2014;5:4618. doi: 10.1038/ncomms5618.
240. Szeffel J, Danielak A, Kruszewski WJ. Metabolic pathways of L-arginine and therapeutic consequences in tumors. *Adv Med Sci.* 2019;64(1):104-10. doi: 10.1016/j.advms.2018.08.018.
241. Cleveland Clinic [Internet]. © 2021 Cleveland Clinic [Erişim tarihi: 8 Kasım 2020]. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). Erişim linki: <https://my.clevelandclinic.org/health/drugs/11086-non-steroidal-anti-inflammatory-medicines-nsaids>
242. Mo S, Lee SK, Jin YY, Suh JW. Improvement of FK506 Production in the High-Yielding Strain *Streptomyces sp.* RM7011 by Engineering the Supply of Allylmalonyl-CoA Through a Combination of Genetic and Chemical Approach. *J Microbiol Biotechnol.* 2016;26(2):233-40. doi: 10.4014/jmb.1506.06032.
243. Chen D, Zhang Q, Zhang Q, Cen P, Xu Z, Liu W. Improvement of FK506 production in *Streptomyces tsukubaensis* by genetic enhancement of the supply of unusual polyketide extender units via utilization of two distinct site-specific recombination systems. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(15): 5093-103. doi: 10.1128/AEM.00450-12.
244. Migita K, Eguchi K. FK506: anti-inflammatory properties. *Curr Med Chem Anti-Allergy Agents.* 2003;2(3):260-4. doi: 10.2174/1568014033483761
245. Song Y, Xue H, Liu TT, Liu JM, Chen D. Rapamycin plays a neuroprotective effect after spinal cord injury via anti-inflammatory effects. *J Biochem Mol Toxicol.* 2015;29(1):29-34. doi: 10.1002/jbt.21603.
246. Yang XW, Peng K, Liu Z, Zhang GY, Li J, Wang N, et al. Strepesquiritriol, a rearranged zizaane-type sesquiterpenoid from the deep-sea-derived actinomycete *Streptomyces sp.* SCSIO 10355. *J Nat Prod.* 2013;76(12):2360-3. <https://doi.org/10.1021/np400923c>
247. Trischman JA, Tapiolas DM, Jensen PR, Dwight R, Fenical W, McKee TC, et al. Salinamides A and B: anti-inflammatory depsipeptides from a marine streptomycete. *J Am Chem Soc.* 1994;116(2):757-8.
248. Breyner NM, Michon C, de Sousa CS, Vilas Boas PB, Chain F, Azevedo VA, et al. Microbial Anti-Inflammatory Molecule (MAM) from *Faecalibacterium prausnitzii* Shows a Protective Effect on DNBS and DSS-Induced Colitis Model in Mice through Inhibition of NF- κ B Pathway. *Front Microbiol.* 2017;8:114. doi: 10.3389/fmicb.2017.00114.
249. Ouertani A, Neifar M, Ouertani R, Masmoudi AS, Cherif A. Effectiveness of enzyme inhibitors in biomedicine and pharmacotherapy. 2019;5(2):85-90. doi: 10.15406/atroa.2019.05.00104
250. Avorn J. Learning about the safety of drugs--a half-century of evolution. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2151-3. doi: 10.1056/NEJMp1110327.
251. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: oral and systemic adverse effects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014;19(1):e24-31. doi: 10.4317/medoral.19087.
252. Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G. Bacterial Natural Compounds with Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Properties (Mini Review). *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:3787-801. doi: 10.2147/DDDT.S261283.
253. Sun C, Zhao W, Wang X, Sun Y, Chen X. A pharmacological review of dicoumarol: An old natural anticoagulant agent. *Pharmacol Res.* 2020; 160:105193. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105193.
254. Inan M, Chiruvolu V, Eskridge KM, Vlasuk GP, Dickerson K, Brown S, et al. Optimization of temperature-glycerol-pH conditions for a fed-batch fermentation process for recombinant hookworm (*Ancylostoma caninum*) anticoagulant peptide (AcAP-5) production by *Pichia pastoris*. *Enzyme Microb Technol.* 1999;24 (7):438-45.
255. Cao X, Che Z, Zhou B, Guan B, Chen G, Zeng W, et al. Investigations in ultrasound-assisted anticoagulant production by marine *Bacillus subtilis* ZHX. *Ultrason Sonochem.* 2020;64:104994. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.104994.
256. Kim MD, Rhee SK, Seo JH. Enhanced production of anticoagulant hirudin in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* by chromosomal delta-integration. *J Biotechnol.* 2001;85(1):41-8. doi: 10.1016/s0168-1656(00)00376-x.
257. Yoo YJ, Hwang JY, Shin HL, Cui H, Lee J, Yoon YJ. Characterization of negative regulatory genes for the biosynthesis of rapamycin in *Streptomyces rapamycinicus* and its application for improved production. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2015;42(1):125-35. doi: 10.1007/s10295-014-1546-9.
258. Netzker T, Schroeck V, Gregory MA, Flak M, Krespach MKC, Leadlay PF, et al. An Efficient Method To Generate Gene Deletion Mutants of the Rapamycin-Producing Bacterium *Streptomyces iranensis* HM 35. *Appl Environ Microbiol.* 2016;82(12):3481-92. doi: 10.1128/AEM.00371-16.
259. Sabotič J, Kos J. Microbial and fungal protease inhibitors--current and potential applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;93(4):1351-75. doi: 10.1007/s00253-011-3834-x.
260. Obrador E, Carretero J, Ortega A, Medina I, Rodilla V, Pellicer JA, et al. gamma-Glutamyl transpeptidase overexpression increases metastatic growth of B16 melanoma cells in the mouse liver. *Hepatology.* 2002;35 (1):74-81. doi: 10.1053/jhep.2002.30277.
261. Kim IS, Kim YB, Lee KJ. Characterization of the leupeptin-inactivating enzyme from *Streptomyces exfoliatus* SMF13 which produces leupeptin. *Biochem J.* 1998;331 (Pt 2)(Pt 2):539-45. doi: 10.1042/bj3310539.
262. Yang HJ, Huang XZ, Zhang ZL, Wang CX, Zhou J, Huang K, et al. Two novel amphomycin analogues from *Streptomyces canus* strain FIM-0916. *Nat Prod Res.* 2014;28(12):861-7. doi: 10.1080/14786419.2014.886210.

263. Banerjee DK. A recent approach to the study of dolichyl monophosphate topology in the rough endoplasmic reticulum. *Acta Biochim Pol.* 1994;41(3):275-80.
264. Ng IS, Ye C, Zhang Z, Lu Y, Jing K. Daptomycin antibiotic production processes in fed-batch fermentation by *Streptomyces roseosporus* NRRL11379 with precursor effect and medium optimization. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37(3):415-23. doi: 10.1007/s00449-013-1007-2.
265. Lin Y, Shen X, Yuan Q, Yan Y. Microbial biosynthesis of the anticoagulant precursor 4-hydroxycoumarin. *Nat Commun.* 2013;4:2603. doi: 10.1038/ncomms3603.
266. Wang Z, Dordick JS, Linhardt RJ. *Escherichia coli* K5 heparosan fermentation and improvement by genetic engineering. *Bioeng Bugs.* 2011;2(1):63-7. doi: 10.4161/bbug.2.1.14201.
267. Sultana N. Microbial biotransformation of bioactive and clinically useful steroids and some salient features of steroids and biotransformation. *Steroids.* 2018;136:76-92. doi: 10.1016/j.steroids.2018.01.007.
268. Karigar CS, Rao SS. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme Res.* 2011;2011:805187. doi: 10.4061/2011/805187.
269. Parkinson A, Ogilvie BW, Buckley DB, Kazmi F, Czerwinski M, Parkinson O. Biotransformation of xenobiotics. In: Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2012.
270. Sultana N, Saify ZS. Enzymatic biotransformation of terpenes as bioactive agents. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2013;28(6):1113-28. doi: 10.3109/14756366.2012.727411.
271. Singh R. Microbial biotransformation: a process for chemical alterations. *J Bacteriol Mycol Open Access.* 2017;4(2):47-51 doi: 10.15406/jbmoa.2017.04.00085
272. Hung B, Falero A, Llanes N, Pérez C, Ramirez MA. Testosterone as biotransformation product in steroid conversion by *Mycobacterium* sp. *Biotechnol Lett.* 1994;16(5):497-500.
273. Mostafa ME, Zohri AA. Progesterone side-chain degradation by some species of *Aspergillus flavus* group. *Folia Microbiol (Praha).* 2000;45(3):243-7. doi: 10.1007/BF02908952.
274. Bremus C, Herrmann U, Bringer-Meyer S, Sahn H. The use of microorganisms in L-ascorbic acid production. *J Biotechnol.* 2006;124(1):196-205. doi: 10.1016/j.jbiotec.2006.01.010.
275. Sugisawa T, Hoshino T, Masuda S, Nomura S, Setoguchi Y, Tazoe M, et al. Microbial production of 2-keto-L-gulonic acid from L-sorbose and D-sorbitol by *Gluconobacter melanogenus*. *Agric Biol Chem.* 1990;54(5):1201-9. <https://doi.org/10.1080/00021369.1990.10870125>
276. Anderson S, Marks CB, Lazarus R, Miller J, Stafford K, Seymour J, Light D, Rastetter W, Estell D. Production of 2-Keto-L-Gulonate, an Intermediate in L-Ascorbate Synthesis, by a Genetically Modified *Erwinia herbicola*. *Science.* 1985;230(4722):144-9. doi: 10.1126/science.230.4722.144.
277. Katz E, Williams WK, Mason KT, Mauger AB. Novel actinomycins formed by biosynthetic incorporation of cis- and trans-4-methylproline. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;11(6):1056-63. doi: 10.1128/AAC.11.6.1056.
278. BCC Research [Internet]. © 2020 BCC Research [Erişim tarihi: 8 Kasım 2020]. *Microbial Products: Technologies, Applications and Global Markets*. Erişim linki: <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/microbial-products-technologies-applications-and-global-markets-report.html>
279. Global Market Insights [Internet]. Global Market Insights Inc. © 2021 [Erişim tarihi: 12 Kasım 2020]. *Biotechnology Market Size By Application*. Erişim linki: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/biotechnology-market>