

Genetiği Değiştirilmiş Probiyotikler

Özge Şebnem Çıldır¹

Özet

Rekombinant DNA teknolojisi ve ardından hızla gelişmeye devam eden genom düzenleme teknikleri sayesinde organizmalara ait genler ve genomlar manipüle edilebilmektedir. Gen veya genomlarında manipülasyon gerçekleştirilmiş organizmalar transgenik veya genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olarak adlandırılmaktadır. Gerek insan gerekse hayvan sağlığı ve beslenmesinde oldukça önemli olan probiyotikler de teknolojinin gelişimine paralel olarak farklı amaçlarla kullanılmak üzere geliştirilmeye başlanmıştır. Genetiği değiştirilmiş probiyotikler (GDP) yalnızca fonksiyonları artırılmış probiyotikler olarak kullanılmamakta; esas amaçlarının yanı sıra çeşitli metabolitlerin sentezlendiği biyolojik fabrikalar, hastalık teşhisinde kullanılan araçlar, tedavide hedefe yönlendirilmiş canlı ilaçlar ve koruyucu hekimlikte ise birer aşı ve immunomodülatör görevi görmektedir. Henüz Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından ilaç sınıfında değerlendirilmeyen GDPlere yönelik deneysel çalışmalar umut vericidir. Metabolik hastalıklar, enfeksiyonlar, kanser, otoimmün hastalıklar, aşılamalar, antibiyotik direnci ile mücadele, hedeflenen hastalık etkenlerinin saptanması ve yok edilmesi gibi birçok alanda gerçekleştirilen çalışmalar GDPlerin çok geniş bir alanda kullanılma potansiyeli olduğunu gözler önüne sermektedir. Bu bölümde GDPlere, kullanım alanlarına ve geleceğe ilişkin öngörülere yer verilecektir.

1. Giriş

Genetik mühendisliği uygulamaları ile farklı bir türden gen veya genler aktararak belirli özellikleri değiştirilen organizmalara “transgenik” ya da “genetiği değiştirilmiş organizma” adı verilmektedir. Bu organizmalar “genetik olarak değiştirilmiş organizmalar” (GDO), ürünler ise “transgenik” veya “gen aktarımlı ürünler” olarak adlandırılmakta, GDO eldesinde kullanılan teknolojiye ise rekombinant DNA teknolojisi ismi verilmektedir

1 Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, 36100, Kars, Türkiye, oscildir@kafkas.edu.tr, 0000-0001-7070-4212

(Erbaş, 2008). Günümüzde rekombinant teknolojisinin yanı sıra genom düzenleme tekniklerinin de genetik manipölasyon amacıyla kullanımı söz konusudur (Gaj vd., 2016).

GDO, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalarda geniş bir mal ve hizmet üretimi sunmakla birlikte çeşitli avantajlar ve riskleri de beraberinde getirmektedir. GDO mikroorganizmalar ile enzim, hormon gibi biyoaktif maddelerin ve çeşitli farmasötiklerin üretimi söz konusudur. Bunun yanı sıra genetiği değiştirilmiş bakteriler ticari değeri yüksek starter költürler olarak kullanılabilir. Bazı bakterilerin genetik modifikasyonlar ile pestisit olarak düzenlenmeleri söz konusudur. Gıda katkı maddelerinin üretiminde kullanılan bazı genetiği değiştirilmiş maya, mantar ve bakterilere de rastlayabilmekteyiz. Bu ürünler ticari hale getirilmiş ve piyasada bulunan ürünlerdir (Akçelik, 2007).

2. Genetiği Değiştirilmiş Probiyotiklerin Kullanım Alanları

Probiyotikler üzerine yapılan biyoteknolojik çalışmalarda; başlarda probiyotiklerin mevcut etkinliklerini artırmaya veya probiyotik olmayan mikroorganizmalardan yeni probiyotikler meydana getirmeye odaklandığını görmekteyiz (Steidler, 2003). Bu tür çalışmalarda amaç, farklı probiyotik suşlarına ait mekanizmaları tek bir mikroorganizmada toplayabilmektir. Örneğin; bir suş patojenlerle rekabet ederek çoğalmalarını önlüyor, bir başka suş ise bakteriosinler gibi antimikrobiyal ajanlar sentezleyerek patojenlerin inhibisyonunu sağlıyorsa her iki özelliğin bir araya getirildiği genetiği değiştirilmiş bir probiyotiğin patojenler üzerindeki etkisinin daha yüksek olacağı aşıkardır.

Laktik asit bakterileri gıda alanında genetik modifikasyonlar açasından en sık çalışılan probiyotik grubunu oluşturmaktadır. Starter költürlerde kullanılan laktik asit bakterileri üzerine yapılan çalışmalar genellikle laktoz metabolizması, sitrat alımı ve proteolitik aktivite üzerinedir. Metabolizmaya yönelik çalışmalar haricinde bakteriyofajlara dirençli suşların üretimine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Ahmed, 2003). Genetiği değiştirilmiş probiyotiklerin (GDP), gerekli postbiyotiklerin eldesi ve farmasötikler için taşıyıcı organizmalar olarak kullanımına yönelik öneriler de mevcuttur (Gosalbez & Ramón, 2015). Postbiyotik kavramı probiyotikler tarafından üretilen ve gastrointestinal sistem sağlığında esas rol oynayan ürün ve metabolitleri ifade etmek üzere kullanılmaktadır (Liang & Xing, 2023).

GDP kullanımına yönelik bir diğer strateji bazı mikroorganizmalarda görölen “ara ve yok et” prensibinin kullanılmasıdır. Mikroorganizmaların konakçının hastalık yükünü tespit edip eř zamanlı olarak raporlayabilen teşhis

araçları olarak kullanılabilmesine ilişkin veriler mevcuttur. Bu sayede kanser, yangı ve enfeksiyon gibi durumlarda mikroorganizmaların klinikte kullanımını söz konusu olabilir. Teşhis haricinde, karaciğerde kanser olgularında GDO bir *E. coli* suşunun metastasize yanıt vermek üzere tasarlandığı ve tedavi amaçlı olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Woloszynek vd., 2016).

Tasarlanmış genom düzenleme stratejilerinden birisi olan CRISPR-Cas (kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar ve CRISPR ile ilişkili endonükleazlar) sistemleri Laktobasiller ve Bifidobakterilerin genetik modifikasyonunda kullanılarak aşı üretimi, konakçı bağışıklık sistemini geliştirmek ve terapötik potansiyellerini artırmak için kullanılabilmesi mümkündür (Hidalgo-Cantabrana vd., 2017). GDO olarak tasarlanan bazı Laktokok suşları, yangısal bağırsak hastalıkları, irritabl bağırsak sendromu, obezite, diyabet ve kanser gibi farklı insan patolojilerinde kullanılmak üzere model organizmalarda denenmiş, mukozal düzeyde fonksiyonel proteinleri iletmekte başarılı oldukları tespit edilmiştir. Benzer şekilde kolit vakalarında genetiği değiştirilmiş bazı probiyotik suşlarının yangı önleyici etkisi fare modellerinde deneysel olarak gösterilmiştir. Genetiği değiştirilmiş probiyotiklerin uygulanması tedavi maliyetlerinde önemli bir düşüğe, yan etkilerin azalmasına, kolay uygulamaya ve bağışıklık sistemini güçlendirmeye izin verecektir. Uygulama yolu (oral) ise hastalar için en uygun ve tercih edilebilir ilaç alım seçeneğidir (Bermúdez-Humarán & Langella, 2018). Bakterilerde stres toleransının artırılması, terapötik veya profilaktik moleküllerin iletilmesi, antimikrobiyal madde sentezi, antibiyotik direnci genlerinin ortadan kaldırılması ve bakterilerin gözlemlenmesi ve takibine yönelik birçok Bifidobakteri suşunda genom düzenleme teknikleri ile çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Zuo vd., 2020). Benzer şekilde, bazı Laktokoklar ve Laktobasillerin rekombinant suşlarının anksiyete, diyabet, kanser, dermatit, astım gibi çeşitli hastalıkların terapileri için tasarlandığını görmekteyiz (Peter vd., 2022). Solunum sistemi ile ilişkili ve ilişkili olmayan çok sayıda virüse karşı GD probiyotikler kullanılarak klinik öncesi ve klinik çalışmaları gerçekleştirilen aşılarda bulunmaktadır (Taghinezhad-S vd., 2021).

Yalnızca probiyotik bakteriler değil, probiyotik mayalar üzerinde de genetik modifikasyonlar gerçekleştirilebilmektedir. CRISPR/Cas tekniği ile probiyotik bir maya olduğu bilinen *Saccharomyces boulardii* üzerinde genetik modifikasyonlar başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve bu probiyotiğin biyofarmasötiklerin üretiminde daha güvenilir bir şekilde kullanılabilme potansiyeli ortaya konulmuştur (Liu vd., 2016).

GDO olarak tasarlanan bazı probiyotikler mukozal aşılarda HPV, diyabet, antibiyotik direncine sahip patojenler ve antikor üretimi ile HIV

gibi etkenlere karşı deneysel olarak başarı göstermiştir. Ek olarak, GDPLer tarafından sentezlenen bazı metabolitler sayesinde de obezite, diyabet, pankreatit, yangısal bağırsak hastalığı gibi farklı hastalıklarla mücadelede yeni imkânlar sunulmakta ve tedavi etkinliklerine ilişkin deneysel çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Mays & Nair, 2018).

Çeşitli amaçlar için kullanım potansiyeli olan genetiği düzenlenmiş bazı probiyotikler Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Genetiği değiştirilmiş bazı probiyotikler ve işlevleri (Ozdemir vd., 2018)

Hedef	Konum	Model	GDO	Mekanizma	Çalışma
Kanser	GİS	Fare	<i>B. longum</i>	Tümstatin üretimi	(Wei vd., 2016)
Kanser	GİS	Fare	<i>E. coli</i>	Tümör spesifik adezyon molekülü ile hedeflemeyi artırmak	(Piñero-Lambea vd., 2015)
Kanser	GİS	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	HipA ifadesi	(Ho vd., 2018)
Kanser	Meme	Sıçan, Kobay	<i>B. longum</i>	5-florositozini tümör için toksik 5-floroaçile dönüştüren enzim sentezi	(Sasaki vd., 2006)
Kanser	Deri altı	Fare	<i>S. typhimurium</i>	IFN- γ üretimi	(Yoon vd., 2017)
Kolesterol	GİS	İnsan	<i>L. reuteri</i>	Kolesterol olmayan sterollerin emiliminin önlenmesi	(Jones vd., 2012)
Kolit	GİS	Fare	<i>L. lactis</i>	Sitokin IL-27 salınımı	(Hanson vd., 2014)
Kolit	GİS	Fare	<i>L. lactis</i>	IL-10 ifadesi	(Steidler vd., 2000)
Diyabet	GİS	Sıçan	<i>L. gasseri</i>	Bağırsak epiteli hücrelerinin insülin sentezleyen hücrelere dönüşümü için uyarımı	(Duan vd., 2015)
<i>E. coli</i>	GİS	Fare	<i>L. casei</i>	İnsan laktoferrini ifadesi ile enfeksiyona karşı koruma	(Chen vd., 2010)

<i>E. coli</i>	GİS	Tavşan	<i>E. coli</i>	Enterotoksine bağlanan kimerik lipopolisakkarit sentezi	(Paton vd., 2005)
<i>Helicobacter pylori</i>	GİS	Fare	<i>B. subtilis</i>	Üreaz B proteini ile immunizasyon	(Zhou vd., 2015)
HIV	Vajina	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	HIV girişini engelleyen antiviral protein üretimi	(Rao vd., 2005)
HIV	Vajina	-	<i>S. gordonii</i>	HIV girişini engelleyen antiviral protein üretimi	(Giomarelli vd., 2002)
Karaciğer hastalığı	GİS	Sıçan	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Pirolokinolin kinon sentezi	(Singh vd., 2014)
Lyme	GİS	Fare	<i>S. typhimurium</i>	OspA sentezi ile immunizasyon	(Dunne vd., 1995)
Mukozal hasar	GİS	-	<i>E. coli</i> Nissle 1917	İnsan EGF & lipaz ABC taşıyıcı tanınma domaini üretimi ile yara iyileşmesini geliştirmek	(Choi vd., 2012)
Obezite	GİS	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	N-açilfosfatidiletanolamin ifadesi	(Chen vd., 2014)
<i>S. enteritidis</i>	GİS	Hindi	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Mikrosin J25 sentezi	(Forkus vd., 2017)
<i>S. typhimurium</i>	GİS	Fare	<i>B. longum</i>	Salmonella antijeni ile immunizasyon	(Yamamoto vd., 2010)
<i>Streptococcus</i>	Ağız	Sıçan	<i>Lactobacillus</i>	Streptococcus antijeni ile immunizasyon	(Kruger vd., 2002)
Tetanoz	GİS ve burun	Fare	<i>L. plantarum</i>	Tetanoz toksini üretimi ile immunizasyon	(Shaw vd., 2000)
<i>V. cholerae</i>	GİS	Fare	<i>E. coli</i>	Kolera toksinine bağlanan kimerik lipopolisakkarit üretimi	(Focareta vd., 2006)
<i>V. cholerae</i>	GİS	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Kolera Al-1 ifadesi ile virulensi baskılama	(Duan ve March, 2010)
Kanser	Karaciğer	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Kanser tespiti için enzim sentezi	(Danino vd., 2015)

Kanser	Deri altı ve karaciğer	Fare	<i>S. typhimurium</i>	Kanser ilaçlarının <i>in vivo</i> taşınması	(Din vd., 2016)
Kanser	Karaciğer	Fare	<i>S. typhimurium</i>	Hedef dışı terapötik etkileri azaltmak	(Swofford vd., 2015)
Kanser	Deri altı	Fare	<i>S. typhimurium</i>	Flagellin B ifadesi ile immun yanıt uyarımı	(Zheng vd., 2017)
Kolit	GIS	Fare	<i>E. coli</i>	<i>In vivo</i> terapötik gen salınımı	(Castagliuolo vd., 2005)
Ateş	Deri altı ve GIS	Fare	<i>E. coli</i>	Isıya duyarlı promotorlar ile ateşi tespit etmek ve gen ifadesini ultrason ile uzaktan kontrol etmek	(Piraner vd., 2017)
Yangı	GIS	Fare	<i>E. coli</i>	Yangı belirteçlerini 200 gün boyunca kaydeden lambda faji temelli canlı bellek	(Riglar vd., 2017)
Yangı	GIS	Fare	<i>E. coli</i> Nissle 1917	Tetrazyonot ve tiyosülfat sensörleri ile yangı tespiti	(Daeffler vd., 2017)
Yangı ve glikozüri	-	-	<i>E. coli</i>	Patolojik örneklerde azot oksit ve glikozun hassas tespiti	(Courbet vd., 2015)
<i>P. aeruginosa</i>	GIS	<i>C. elegans</i> ve fare	<i>L. casei</i>	Bakteriyosin ve dispersin üretimi	(Hwang vd., 2017)
<i>S. aureus</i>	Deri	Fare	Bakteriyofaj	Hedeflenmiş antimikrobiyal üretimi	(Bikard vd., 2014)

GIS: Gastrointestinal sistem.

3. GDP Denemelerinin Yapıldığı Bazı Hastalıklar ve Geleceğe İlişkin Öngörüler

İnsanlarda obezite, diyabet, yangısal bağırsak hastalığı, amonyak, fenilalanin, safra tuzları ve yağ metabolizması bozuklukları ile kardiyovasküler hastalıklar ve psikiyatrik hastalıklar gibi geniş bir alanda canlı biyoterapötikler

olarak kullanılan probiyotikler üzerine gerçekleştirilmiş birçok klinik öncesi ve klinik çalışma mevcuttur (Aggarwal vd., 2022; De Oliveira Filho vd., 2022; Ma vd., 2022; Pesce vd., 2022). Yapılan araştırmalar göz önüne alınarak bu GDPLerin farklı hastalıklar için de kullanılma potansiyelleri olabileceği düşünülmektedir. Gıda alerjilerinde GDPLerin bir tedavi stratejisi olarak kullanılabileceği öngörülmektedir (Wei ve diğerleri, 2023). Multiple skleroz (MS) gibi otoimmün hastalıklarda mikrobiyom, bağırsak ve beyin arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu; GDP'ler aracılığıyla düzenlenen mikrobiyomun insanlarda MS hastalığının yıkıcı etkilerini azaltma potansiyeli olabileceğine ilişkin bir görüş bulunmaktadır (Kohl vd., 2020). Yaşlanma ile birlikte bağırsak mikrobiyotasında bakteri sayısı ve çeşidinde meydana gelen azalmaların bilişsel işlevleri azalttığı bildirilmekte ve yabancı tip veya GDPLer tedavide uygulanabilecek stratejiler arasında gösterilmektedir (Sun vd., 2020). Benzer şekilde, Alzheimer hastalığında da bağırsak mikrobiyomundaki dengesizliğin önemli olduğu bildirilmektedir. Anjiyotensin (1-7) gibi bileşiklerin GDPLer aracılığıyla hastalara verilebileceği ve bu tür tedavi yöntemlerinin Alzheimer'da kullanılabilme potansiyelinin araştırılması gerektiği ifade edilmektedir (Hernandez vd., 2021).

4. Sonuç

GDPLer daha çok insan hastalıkları için tasarlanmalarına karşın, insanlar için yapılan çalışmaların çoğu öncelikle fare, sıçan, kobay, tavşan gibi deney hayvanlarında test edilmektedir (Ozdemir vd., 2018). İnsan sağlığına yönelik araştırmalar haricinde veteriner hekimlikte de aşı üretimi alanında yapılan birtakım çalışmalar bulunmaktadır. Domuz epidemik diyare virusu, domuz parvovirus enfeksiyonu, aktarılabılır gastroenteritis corona virusu, Afrika domuz ateşi virusu, enterotoksijenik *E. coli* etkenlerine karşı GDPLer ile immunizasyon denemeleri yapılmıştır. Somon balıklarında ise GDPLer sayesinde enfeksiyöz pankreatik nekroz virusuna karşı tip I interferon üretilmiş ve immün sistemin uyarılması sağlanmıştır (Khableenko vd., 2022). GDP tasarımına ilişkin teknikler sürekli geliştirilmekte ve daha güvenli hale getirilmeye çalışılmaktadır. GDPLerin insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da teşhis aracı olarak kullanım, aşılama, bağışıklık sisteminin uyarılması, antibiyotik direncinin önlenmesi, metabolik hastalıkların tedavisi gibi oldukça geniş kapsamlı bir alanda kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. Her ne kadar FDA tarafından ilaç kategorisinde değerlendirilmeler de klinik öncesi ve klinik çalışmalar ile güvenilirliklerinin kanıtlanmasının ardından GDPLerin gelecekte sağlık alanında hem tıp doktorlarının hem de veteriner hekimlerin elini güçlendirecek birer araç olarak karşımıza çıkması muhtemeldir.

KAYNAKLAR

- Aggarwal, N., Koh, E. W. C., Srivastava, S. K., Sicow, B. F. L., & Hwang, Y. (2022). Microbiome Engineering for Metabolic Disorders. İçinde M. W. Chang (Ed.), *Principles in Microbiome Engineering* (ss. 47–91). Wiley-VCH.
- Ahmed, F. E. (2003). Genetically modified probiotics in foods. *Trends in Biotechnology*, 21(11), 491–497. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2003.09.006>
- Akçelik, M. (2007). Genetik mühendisliği ve yaşamımızdaki yeri. *6th Ankara Biotechnology Days: Biotechnology, Biosafety and Socio-economic Approaches*, 5–18.
- Bermúdez-Humarán, L. G., & Langella, P. (2018). Use of traditional and genetically modified probiotics in human health: What does the future hold? *Bugs as Drugs: Therapeutic Microbes for Prevention and Treatment of Disease*, 363–370. <https://doi.org/10.1128/9781555819705.ch15>
- Bikard, D., Euler, C. W., Jiang, W., Nussenzweig, P. M., Goldberg, G. W., Duportet, X., Fischetti, V. A., & Marraffini, L. A. (2014). Exploiting CRISPR-cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nature Biotechnology*, 32(11), 1146–1150. <https://doi.org/10.1038/nbt.3043>
- Castagliuolo, I., Beggiao, E., Brun, P., Barzon, L., Goussard, S., Manganeli, R., Grillot-Courvalin, C., & Palù, G. (2005). Engineered E. coli delivers therapeutic genes to the colonic mucosa. *Gene Therapy*, 12(13), 1070–1078. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302493>
- Chen, H. L., Lai, Y. W., Chen, C. S., Chu, T. W., Lin, W., Yen, C. C., Lin, M. F., Tu, M. Y., & Chen, C. M. (2010). Probiotic lactobacillus casei expressing human lactoferrin elevates antibacterial activity in the gastrointestinal tract. *BioMetals*, 23(3), 543–554. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9298-0>
- Chen, Z., Guo, L., Zhang, Y., L. Walzem, R., Pendergast, J. S., Printz, R. L., Morris, L. C., Matafonova, E., Stien, X., Kang, L., Coulon, D., McGuinness, O. P., Niswender, K. D., & Davies, S. S. (2014). Incorporation of therapeutically modified bacteria into gut microbiota inhibits obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 124(8), 3391–3406. <https://doi.org/10.1172/JCI72517>
- Choi, H. J., Ahn, J. H., Park, S. H., Do, K. H., Kim, J., & Moon, Y. (2012). Enhanced wound healing by recombinant Escherichia coli nissle 1917 via human epidermal growth factor receptor in human intestinal epithelial cells: Therapeutic implication using recombinant probiotics. *Infection and Immunity*, 80(3), 1079–1087. <https://doi.org/10.1128/IAI.05820-11>
- Courbet, A., Endy, D., Renard, E., Molina, F., & Bonnet, J. (2015). Detection of pathological biomarkers in human clinical samples via amplifying

- genetic switches and logic gates. *Science Translational Medicine*, 7(289), 289ra83-289ra83. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa3601>
- Daeffler, K. N., Galley, J. D., Sheth, R. U., Ortiz-Velez, L. C., Bibb, C. O., Shroyer, N. F., Britton, R. A., & Tabor, J. J. (2017). Engineering bacterial thiosulfate and tetrathionate sensors for detecting gut inflammation. *Molecular Systems Biology*, 13(4), 1–13. <https://doi.org/10.15252/msb.20167416>
- Danino, T., Prindle, A., Kwong, G. A., Skalak, M., Li, H., Allen, K., Hasty, J., & Bhatia, S. N. (2015). Programmable probiotics for detection of cancer in urine. *Science Translational Medicine*, 7(289). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa3519>
- De Oliveira Filho, J. G., Carvalho, A. S. e. S., Alves, J. dos S., & Egea, M. B. (2022). Next-generation probiotics as a therapeutic strategy for the treatment of phenylketonuria: a review. *Nutrition Reviews*, 80(10), 2100–2112. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuac024>
- Din, M. O., Danino, T., Prindle, A., Skalak, M., Selimkhanov, J., Allen, K., Julio, E., Atolia, E., Tsimring, L. S., Bhatia, S. N., & Hasty, J. (2016). Synchronized cycles of bacterial lysis for in vivo delivery. *Nature*, 536(7614), 81–85. <https://doi.org/10.1038/nature18930>
- Duan, F. F., Liu, J. H., & March, J. C. (2015). Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes. *Diabetes*, 64(5), 1794–1803. <https://doi.org/10.2337/db14-0635>
- Duan, F., & March, J. C. (2010). Engineered bacterial communication prevents *Vibrio cholerae* virulence in an infant mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(25), 11260–11264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1001294107>
- Dunne, M., Al-Ramadi, B. K., Barthold, S. W., Flavell, R. A., & Fikrig, E. (1995). Oral vaccination with an attenuated *Salmonella typhimurium* strain expressing *Borrelia burgdorferi* OspA prevents murine Lyme borreliosis. *Infection and Immunity*, 63(4), 1611–1614. <https://doi.org/10.1128/iai.63.4.1611-1614.1995>
- Erbaş, H. (2008). Biyoteknolojinin Tarihsel Gelişimi ve Uygulama Alanları. İçinde H. Erbaş (Ed.), *Türkiye’de Biyoteknoloji ve Toplumsal Kesimler: Profesyoneller, Kentsel Tüketiciler ve Köylüler* (Birinci ba, ss. 7–23). Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Focareta, A., Paton, J. C., Morona, R., Cook, J., & Paton, A. W. (2006). A Recombinant Probiotic for Treatment and Prevention of Cholera. *Gastroenterology*, 130(6), 1688–1695. <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.02.005>

- Forkus, B., Ritter, S., Vlysidis, M., Geldart, K., & Kaznessis, Y. N. (2017). Anti-microbial Probiotics Reduce Salmonella enterica in Turkey Gastrointestinal Tracts. *Scientific Reports*, 7(July 2016), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep40695>
- Gaj, T., Sirk, S. J., Shui, S., & Liu, J. (2016). Genome-Editing Technologies: Principles and Applications. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(12), a023754. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a023754>
- Giomarelli, B., Provvedi, R., Meacci, F., Maggi, T., Medaglini, D., Pozzi, G., Mori, T., McMahon, J. B., Gardella, R., & Boyd, M. R. (2002). The microbicide cyanovirin-N expressed on the surface of commensal bacterium Streptococcus gordonii captures HIV-1. *Aids*, 16(10), 1351–1356. <https://doi.org/10.1097/00002030-200207050-00006>
- Gosálbez, L., & Ramón, D. (2015). Probiotics in transition: Novel strategies. *Trends in Biotechnology*, 33(4), 195–196. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.01.006>
- Hanson, M. L., Hixon, J. A., Li, W., Felber, B. K., Anver, M. R., Stewart, C. A., Janelins, B. M., Datta, S. K., Shen, W., McLean, M. H., & Durum, S. K. (2014). Oral Delivery of IL-27 Recombinant Bacteria Attenuates Immune Colitis in Mice. *Gastroenterology*, 146(1), 210-221.e13. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.09.060>
- Hernandez, A. R., Banerjee, A., Carter, C. S., & Buford, T. W. (2021). Angiotensin (1–7) Expressing Probiotic as a Potential Treatment for Dementia. *Frontiers in Aging*, 2(March), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fragi.2021.629164>
- Hidalgo-Cantabrana, C., O’Flaherty, S., & Barrangou, R. (2017). CRISPR-based engineering of next-generation lactic acid bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.05.015>
- Ho, C. L., Tan, H. Q., Chua, K. J., Kang, A., Lim, K. H., Ling, K. L., Yew, W. S., Lee, Y. S., Thiery, J. P., & Chang, M. W. (2018). Engineered commensal microbes for diet-mediated colorectal-cancer chemoprevention. *Nature Biomedical Engineering*, 2(1), 27–37. <https://doi.org/10.1038/s41551-017-0181-y>
- Hwang, I. Y., Koh, E., Wong, A., March, J. C., Bentley, W. E., Lee, Y. S., & Chang, M. W. (2017). Engineered probiotic Escherichia coli can eliminate and prevent Pseudomonas aeruginosa gut infection in animal models. *Nature Communications*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms15028>
- Jones, M. L., Martoni, C. J., & Prakash, S. (2012). Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by Lactobacillus reuteri NCIMB 30242: A randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(11), 1234–1241. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.126>

- Khableenko, A. D., Danylenko, S. G., Yalovenko, O. I., Duhan, O. M., Potemskaiia, O. I., & Prykhodko, D. S. (2022). Recombinant Probiotic Preparations: Current State, Development and Application Prospects. *Innovative Biosystems and Bioengineering*, 6(3–4), 119–147. <https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.3-4.268349>
- Kohl, H. M., Castillo, A. R., & Ochoa-Repáraz, J. (2020). The Microbiome as a Therapeutic Target for Multiple Sclerosis: Can Genetically Engineered Probiotics Treat the Disease? *Diseases*, 8(3), 33. <https://doi.org/10.3390/diseases8030033>
- Kruger, C., Hu, Y., Pan, Q., Marcotte, H., Hultberg, A., Delwar, D., van Dalen, P. J., Pouwels, P. H., Leer, R. J., Kelly, C. G., van Dolleweerd, C., Ma, J. K., & Hammarstrom, L. (2002). Single chain producing lactobacilli: a new tool for in situ delivery of passive immunity. *Nat Biotech*, 20(July), 702–706.
- Liang, B., & Xing, D. (2023). The Current and Future Perspectives of Postbiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, January. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10045-x>
- Liu, J. J., Kong, I. I., Zhang, G. C., Jayakody, L. N., Kim, H., Xia, P. F., Kwak, S., Sung, B. H., Sohn, J. H., Walukiewicz, H. E., Rao, C. V., & Jin, Y. S. (2016). Metabolic engineering of probiotic *Saccharomyces boulardii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(8), 2280–2287. <https://doi.org/10.1128/AEM.00057-16>
- Ma, J., Wang, J., Xu, L., Liu, Y., & Gu, J. (2022). The beneficial effects of genetically engineered *Escherichia coli* Nissle 1917 in obese C57BL/6J mice. *International Journal of Obesity*, 46(5), 1002–1008. <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01073-8>
- Mays, Z. J., & Nair, N. U. (2018). Synthetic biology in probiotic lactic acid bacteria: At the frontier of living therapeutics. *Current Opinion in Biotechnology*, 53(1), 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.01.028>
- Ozdemir, T., Fedorec, A. J. H., Danino, T., & Barnes, C. P. (2018). Synthetic Biology and Engineered Live Biotherapeutics: Toward Increasing System Complexity. *Cell Systems*, 7(1), 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.06.008>
- Paton, A. W., Jennings, M. P., Morona, R., Wang, H., Focareta, A., Roddam, L. F., & Paton, J. C. (2005). Recombinant Probiotics for Treatment and Prevention of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Diarrhea. *Gastroenterology*, 128(5), 1219–1228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.01.050>
- Pesce, M., Seguella, L., Del Re, A., Lu, J., Palenca, I., Corpetti, C., Rurgo, S., Sanseverino, W., Sarnelli, G., & Esposito, G. (2022). Next-Generation Probiotics for Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5466. <https://doi.org/10.3390/ijms23105466>

- Peter, S. B., Qiao, Z., Godspower, H. N., Ajeje, S. B., Xu, M., Zhang, X., Yang, T., & Rao, Z. (2022). Biotechnological Innovations and Therapeutic Application of *Pediococcus* and Lactic Acid Bacteria: The Next-Generation Microorganism. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(February), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.802031>
- Piñero-Lambea, C., Bodelón, G., Fernández-Periáñez, R., Cuesta, A. M., Álvarez-Vallina, L., & Fernández, L. Á. (2015). Programming controlled adhesion of *E. coli* to target surfaces, cells, and tumors with synthetic adhesins. *ACS Synthetic Biology*, 4(4), 463–473. <https://doi.org/10.1021/sb500252a>
- Piraner, D. I., Abedi, M. H., Moser, B. A., Lee-Gosselin, A., & Shapiro, M. G. (2017). Tunable thermal bioswitches for in vivo control of microbial therapeutics. *Food, Pharmaceutical and Bioengineering Division 2017 - Core Programming Area at the 2017 AIChE Annual Meeting*, 2(November 2016), 695–702. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2233>
- Rao, S., Hu, S., McHugh, L., Lueders, K., Henry, K., Zhao, Q., Fekete, R. A., Kar, S., Adhya, S., & Hamer, D. H. (2005). Toward a live microbial microbicide for HIV: Commensal bacteria secreting an HIV fusion inhibitor peptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(34), 11993–11998. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504881102>
- Riglar, D. T., Giessen, T. W., Baym, M., Kerns, S. J., Niederhuber, M. J., Bronson, R. T., Kotula, J. W., Gerber, G. K., Way, J. C., & Silver, P. A. (2017). Engineered bacteria can function in the mammalian gut long-term as live diagnostics of inflammation. *Nature Biotechnology*, 35(7), 653–658. <https://doi.org/10.1038/nbt.3879>
- Sasaki, T., Fujimori, M., Hamaji, Y., Hama, Y., Ito, K. I., Amano, J., & Taniguchi, S. (2006). Genetically engineered *Bifidobacterium longum* for tumor-targeting enzyme-prodrug therapy of autochthonous mammary tumors in rats. *Cancer Science*, 97(7), 649–657. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2006.00221.x>
- Shaw, D. M., Gaerthé, B., Leer, R. J., Van Der Stap, J. G. M. M., Smittenaar, C., Heijne Den Bak-Glashouwer, M. J., Thole, J. E. R., Tielen, F. J., Pouwels, P. H., & Havenith, C. E. G. (2000). Engineering the microflora to vaccinate the mucosa: Serum immunoglobulin G responses and activated draining cervical lymph nodes following mucosal application of tetanus toxin fragment C-expressing lactobacilli. *Immunology*, 100(4), 510–518. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00069.x>
- Singh, A. K., Pandey, S. K., & Naresh Kumar, G. (2014). Pyrroloquinoline quinone-secreting probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 ameliorates ethanol-induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats. *Alcohol*

- lism: Clinical and Experimental Research*, 38(7), 2127–2137. <https://doi.org/10.1111/acer.12456>
- Steidler, L. (2003). Genetically engineered probiotics. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, 17(5), 861–876. [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00072-6](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00072-6)
- Steidler, L., Hans, W., Schotte, L., Neiryck, S., Obermeier, F., Falk, W., Fiers, W., & Remaut, E. (2000). Treatment of Murine Colitis by Lactococcus lactis Secreting Interleukin-10. *Science*, 289(5483), 1352–1355. <https://doi.org/10.1126/science.289.5483.1352>
- Sun, Y., Baptista, L. C., Roberts, L. M., Jumbo-Lucioni, P., McMahon, L. L., Buford, T. W., & Carter, C. S. (2020). The gut microbiome as a therapeutic target for cognitive impairment. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 75(7), 1242–1250. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz281>
- Swofford, C. A., Van Dessel, N., & Forbes, N. S. (2015). Quorum-sensing Salmonella selectively trigger protein expression within tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11), 3457–3462. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414558112>
- Taghinezhad-S, S., Mohseni, A. H., Bermúdez-Humarán, L. G., Casolaro, V., Cortes-Perez, N. G., Keyvani, H., & Simal-Gandara, J. (2021). Probiotic-based vaccines may provide effective protection against covid-19 acute respiratory disease. *Vaccines*, 9(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050466>
- Wei, C., Xun, A. Y., Wei, X. X., Yao, J., Wang, J. Y., Shi, R. Y., Yang, G. H., Li, Y. X., Xu, Z. L., Lai, M. G., Zhang, R., Wang, L. S., & Zeng, W. S. (2016). Bifidobacteria Expressing Tumstatin Protein for Antitumor Therapy in Tumor-Bearing Mice. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 15(3), 498–508. <https://doi.org/10.1177/1533034615581977>
- Wei, Y., Peng, J., Wang, S., Ding, Z., Chen, G., & Sun, J. (2023). Probiotics and the Potential of Genetic Modification as a Possible Treatment for Food Allergy. *Nutrients*, 15(19). <https://doi.org/10.3390/nu15194159>
- Woloszynek, S., Pastor, S., Mell, J. C., Nandi, N., Sokhansanj, B., & Rosen, G. L. (2016). Engineering Human Microbiota: Influencing Cellular and Community Dynamics for Therapeutic Applications. İçinde *International Review of Cell and Molecular Biology* (C. 324). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.01.003>
- Yamamoto, S., Wada, J., Katayama, T., Jikimoto, T., Nakamura, M., Kinoshita, S., Lee, K. M., Kawabata, M., & Shirakawa, T. (2010). Genetically modified Bifidobacterium displaying Salmonella-antigen protects mice from lethal challenge of Salmonella Typhimurium in a murine typhoid fever model. *Vaccine*, 28(41), 6684–6691. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.007>

- Yoon, W., Park, Y. C., Kim, J., Chae, Y. S., Byeon, J. H., Min, S. H., Park, S., Yoo, Y., Park, Y. K., & Kim, B. M. (2017). Application of genetically engineered *Salmonella typhimurium* for interferon-gamma-induced therapy against melanoma. *European Journal of Cancer*, 70, 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.10.010>
- Zheng, J. H., Nguyen, V. H., Jiang, S.-N., Park, S.-H., Tan, W., Hong, S. H., Shin, M. G., Chung, I.-J., Hong, Y., Bom, H.-S., Choy, H. E., Lee, S. E., Rhee, J. H., & Min, J.-J. (2017). Two-step enhanced cancer immunotherapy with engineered *Salmonella typhimurium* secreting heterologous flagellin. *Science Translational Medicine*, 9(376), eaak9537. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aak9537>
- Zhou, Z., Gong, S., Yang, Y., Guan, R., Zhou, S., Yao, S., Xie, Y., Ou, Z., Zhao, J., Li, X. M., & Liu, Z. (2015). Expression of *Helicobacter pylori* urease B on the surface of *Bacillus subtilis* spores. *Journal of Medical Microbiology*, 64(1), 104–110. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.076430-0>
- Zuo, F., Chen, S., & Marcotte, H. (2020). Engineer probiotic bifidobacteria for food and biomedical applications - Current status and future perspective. *Biotechnology Advances*, 45(May), 107654. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107654>