

***Schizophyllum commune* Fr. Türünden Misel Eldesi, Moleküler Tanımlanması ve Antitümör Etkisinin Araştırılması**

Bekir ÇÖL*¹, Ebru BALCI¹, Hatice GÜNEŞ¹, Hakan ALLI¹

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 48170, Muğla

(Alınış / Received: 29.11.2016, Kabul / Accepted: 16.01.2017, Online Yayınlanma / Published Online: 08.02.2017)

Anahtar Kelimeler

Schizophyllum commune,
Antitümör,
Misel,
ITS geni,
PC-3,
Hela

Özet: *Schizophyllum commune*, ülkemizde sıklıkla rastlanan ve tıbbi önemi olan makrofungi türlerinden biri olup, birçok alanda; biyodegradasyon, ilaç sanayi ve gıda endüstrisinde kullanım alanına sahiptir. Çeşitli coğrafik lokasyonlardan elde edilen bu tür canlıların tanımlanması ve biyolojik etkilerinin araştırılması dünya genelinde devam etmektedir. Bu çalışmada, Muğla bölgesinden toplanan bir *Schizophyllum* türünün identifikasyonu, misel elde edilmesi ve antitümör aktivitelerinin ex vivo açıdan araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmada mantar örneğinden misel üretilerek, DNA izolasyonu yapılmış ve ardından ITS gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak saflaştırılmıştır. Mantar örneğinin ITS geninin dizi analizi sonucu, *S. commune* türüne %100 benzerliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, mantarın kuru ve misel formlarından elde edilen etanol ekstraktları kullanılarak, PC-3 ve Hela gibi çok yaygın kanser hatlarına karşı sitotoksitesisi araştırılmıştır. Filogenetik analizi de yapılan makrofungi türünün, Beas-2B'ye oranla PC-3 ve Hela kanser hücre hatlarına karşı özellikle 0,25 mg/ml ve altındaki konsantrasyonlarda seçici öldürücü özellik gösterdiği görülmüştür.

Mycelium Growth, Molecular Identification and Investigation of Antitumor Effects *Schizophyllum commune* Fr.

Keywords

Schizophyllum commune,
Antitümör,
Mycelium,
ITS,
PC-3,
Hela

Abstract: *Schizophyllum commune* is one of the medicinally important macrofungi species that is widely seen in our country and has been used in various areas including biodegradation, pharmaceutical and food industries. Identification and biological effects of such species collected from various geographical locations are among the continuous efforts actively pursued worldwide. In this study, identification, mycelium growth and ex vivo antitumor activities of a *Schizophyllum* species collected from Mugla region is aimed. Mycelium was successfully produced from the fungus sample, DNA isolation was performed, and then the ITS gene region was amplified by PCR. As a result of ITS gene sequence analysis, the macrofungi sample was found to be 100% similar to *S. commune*. In addition, using the ethanol extracts obtained from both dry and mycelium forms of the specimen, cytotoxicity against common cancer lines such as PC-3 and Hela was examined. The macrofungi specimen, which is also analyzed phylogenetically, showed selective cytotoxic effects against PC-3 and Hela cancer cell lines, especially at concentrations of 0.25 mg/ml extract and below, as compared to Beas-2B.

1.Giriş

Tıbbi mantarlar, Asya ülkelerinde Kuzey yarım küreye oranla çok eski zamanlardan beri kullanılmasına rağmen, detaylı incelenmelerine 1940'lı yıllarda ağırlık verilmeye başlanmıştır [1,2,3]. Günümüzde, 10.000 makromantar türünün sadece %5'inin tıbbi etkisinin olabileceği düşünülmektedir ve zengin mantar biyoçeşitliliğine sahip ülkemizde

mantarların biyolojik aktivitelerine yönelik çalışmalar son zamanlarda oldukça artmıştır [1, 4].

Tıbbi mantarlar çeşitli farmakolojik özelliklere sahip, bileşikleri yapılarında bulundurlar. Bunlardan antitümör ve antiviral etkili bileşikler olarak, kalvasin, volvotoksin, lentinan, flammütoksin ve porisin örnek verilebilir [5]. Biyoaktif bileşikler, mantarın fruktifikasyon organından, miselden ya da

kültür ortamından izole edilebilir. İçerdikleri biyoaktif moleküllerin birçoğunun aktivitesi ise son çalışmalarla tespit edilmiştir [2]. Bu aktif maddelerin; antibiyotikler, antiviral, antitümör, antienflamatuar, antiprotozoal, iç dengenin onarımında, biyoregülasyonda, biyoritimin düzenlenmesinde, kanser, inme, kalp hastalığı, AIDS gibi hastalıkların tedavisinde sağlığa yararlı olduğu düşünülmektedir [2,3,6]. Ayrıca kolesterolün azaltılmasında, hiperlipideminin ve hipogliseminin iyileştirilmesinde, antitrombotik, kan basıncının indirgenmesinde ve diğer çeşitli terapötik uygulamalarda makrofunguslar kullanılmaktadır.

Dünya genelinde birçok tıbbi mantar türünde olduğu gibi, son zamanlarda *Schizophyllum commune* üretiminde de önemli artış olmuştur. Asya ilaç firmaları tıbbi olarak önemli polisakkaritlerin üretimini yapmaktadır. Buna örnek olarak *S. commune*'den elde edilen şizofilan molekülü verilebilir. Bu polisakkarit son yıllarda ilaç endüstrisinde diğer glukanolarda bulunanlardan daha yüksek immünomodülatör, antineoplastik ve antiviral faaliyetleri nedeni ile dikkatleri çekmektedir. Yenilebilir bu mantarın tıbbi önemi 1981 yılında bildirilmiştir [2]. Halsizlik, leukorrhea, soğuk algınlığı, ateş ve iltihabı azaltmada da kullanılır [7].

S. commune'nin içerdiği birçok bileşiğin, birçok kanserli hücre hattına karşı yapılan çalışmaları yapılmış olup, günümüzde oldukça yaygın görülen PC-3 ve Hela kanser hücre hatlarına karşı yapılan antitümör etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Yapılan bu çalışmada Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi mantar koleksiyonundan alınan *S. commune* tıbbi mantarından misel elde edilerek, moleküler yöntemler ile teşhisi ve örneğinin kuru mantar ve miselinden elde edilen etanol ekstraktlarının PC-3 (Prostat kanseri hücre hattı) ve Hela (Servikal kanser hücre hattı) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kuru mantar örneğinden misel eldesi

Muğla bölgesinden toplanan mantar örneğinden misel üretimi yapmak için, kuru örneğin şapka kısmının temiz bölgelerinden 3- 4 parça alınmıştır. Örnek, 4-5 saniye süreyle sırasıyla; %15 klorak (çamaşır suyu), %70 EtOH (etanol) ve steril dH₂O'dan geçirilir. Bu işlemden sonra örneğin şapka kısmından alınan parçaları, PDA (Potato Dextrose Agar) besiyerine eşit mesafelerde olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Petri ler, 25 °C karanlık ortamda 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Gelişim gösteren örnekten gliserol stok alınmıştır.

2.2. DNA izolasyonu

Gliserol stoğu alınmış mantar örneğinden PDA besi ortamına ekim yapılmıştır ve inkübasyona bırakılmıştır. Gelişim gösteren misel 0,05-0,1 gram aralığında ependorf tüp içinde tartılarak DNA izolasyonu için hazır hale getirilmiştir. DNA izolasyonu için Silika dioksit yöntemi [8] tercih edilmiştir.

2.3. ITS-PCR

Genomik DNA'sı izole edilen *Schizophyllum commune*, ITS1F (3'- CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A -5') ve ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC -3') primerleri kullanılarak ITS-PCR yapılmıştır. PCR karışımı için, örnek miktarının bir fazlası oranında son konsantrasyon 50 µl olacak şekilde sırasıyla; 31.5 µl dH₂O, 5 µl 10X Taq Buffer, 4 µl MgCl₂ (10 mM), 5 µl dNTP (2 mM), 1 µl ITS1F (10pmol/µl) ve 1 µl ITS4 (10pmol/µl) karışıma eklenerek PCR karışımı hazırlanmış, etiketlenen PCR tüplerine genomik DNA'dan 2'şer µl eklenmiştir. Son olarak PCR karışımına 0,5 µl Taq DNA Polimeraz enzimi (5U/µl) eklenmiş, karışım iyice pipetlenerek PCR tüplerine eklenen karışımın, DNA örneği ile iyice karışması sağlanmıştır. PCR programında; örnek 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 3 dakika (ilk denatürasyon), 94°C'de 1 dakika (denatürasyon), 52°C'de 1 dakika (bağlanma), 72°C'de 2 dakika (uzama) ve takiben 72°C'de 10 dakika (son uzama)'da tutulmuştur. Daha sonra PCR ürünü % 0,8'lik agaroz jele 8'er µl yüklenmiş, 100 V'da elektroforeze tabi tutulmuştur. Sonucunda UV ışık altında görüntüleme yapılmıştır (DNRminiBisPro).

2.4. Purifikasyon

Bir örnekten 3'er tüp olacak şekilde PCR'ı yapılarak çoğaltılmış, daha sonra ependorf tüpte aynı örnekler birleştirilmiş, örnek miktarı ölçülmüş (130-150 µl), örnek miktarının ¼ 'i oranında 6X Dye Loading boya eklenmiş ve % 0.8 oranında agaroz jel hazırlanarak, boya ile iyice karıştırılan örnekler jele yüklenmiştir. Örnek jelin sonuna kadar yürütülmüş, istenmeyen her türlü banttan temizlenmesi sağlanmış, örnek UV ışık altında kesilerek alınmıştır. Kesilen örneğin jel miktarı tartılmıştır. Kesilen jel, 0.70 g'ı geçmemelidir. Daha sonra Fermentas GeneJET Gel Extraction Kit'i kullanılmıştır. Elde edilen DNA % 0.8'lik agaroz jele 1 µl yüklenmiş ve UV ışık altında görüntülenmiştir (DNRminiBisPro).

2.5. Biyoinformatik analizler

Elde edilen DNA'nın nükleotid dizisini saptamak amacı ile saf PCR ürünü, ITS1F ve ITS4 primerleri ile sekans analizine tabi tutulmuştur (Macrogen, Hollanda). ITS1F ve ITS4 primerleri ile sekans reaksiyonu sonucu elde edilen nükleotid dizileri, Bioedit programında [9] birleştirilerek (500-700) kontig sekansı elde edilmiştir. Kontig sekansı NCBI

BlastN programında Genbank nükleotid verileri ile karşılaştırılmış, ClustalW ve Neighbour-joining metodu kullanılarak MEGA6 programında filogenetik ağaçları elde edilmiştir [10].

2.6. Antitümör aktivite çalışmaları

2.6.1. Mantar materyali

Schizophyllum commune'nin kuru mantar ve miselden elde edilen ekstraktları kullanılmıştır. Kuru mantar örneği; 5g tartılarak 200 ml etanol içinde çözdürülerek soxhlet cihazı kullanılmıştır. Evaporatör yardımı ile alkolden arındırılarak küçük cam tüplerin içine alınarak tartımları yapılmış, +4°C'de saklanmıştır. Misel için ise, PDA ortamında gelişen mantar miselinin tamamı alınarak (0,1-0,2 g), 50 ml etanol içinde 2 gün çalkalamada bırakılarak, evaporatör yardımıyla alkolünden uzaklaştırılmış, ekstrakt cam tüplerin içine alınır ve alkolünden tamamen arındırıldıktan sonra tartımı yapıp, +4°C'de saklanmıştır. Kuru mantar ekstraktından, 20 mg ve miselden 10 mg tartılmıştır. 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,06 mg/ml mantar konsantrasyonları ile çalışmalar yapılmıştır.

2.6.2. Hücre hatları ve kültür koşulları

Çalışmada BEAS-2B, PC-3 ve Hela hücre hatları kullanılmıştır. Hücre hatları, RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium)'da kültüre edilmiştir. RPMI-1640, %10 fetal bovin serum (FBS), penisilin/streptomisin (100U/ml/100mg/ml) ile desteklenmiştir (Biochrom, Germany). Hücreler büyüdükten sonra pasajlama yapılmış, yapışkan hücreler kullanıldığı için tripsinizasyon basamağına maruz bırakılmıştır. Hücreler trypan blue kullanılarak toma lamına yüklenmiş ve hücrelerin sayımı yapılmıştır. 2×10^5 hücre/ml olacak şekilde hücrelerin yeniden ekimi yapılmıştır. 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

2.6.3. MTT ile sitotoksite deneyi

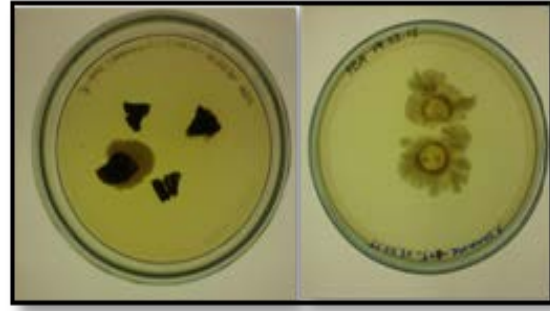
Mantar ekstraktlarının antitümör etkisi MTT (3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazolyum bromid) deneyi ile belirlenmiştir (AppliChem, ABD). Hücre hatları, RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium)'da büyütülmüştür. Kuyucuk başına 2×10^4 hücre olacak şekilde her hücreden ekim yapılmıştır (Konsantrasyon: 2×10^4 /well). Her bir hücreden 3 tekrarlı ekimler gerçekleştirilmiştir (200 µl büyüme ortamı içinde) ve ekstraktlar ilave edilmeden önce 24sa. inkübe edilmiştir. Mantar ekstraktları (2mg/ml) %10 DMSO içeren RPMI içinde çözülmüştür. Son konsantrasyon 400µg/ml olacak şekilde 20 µl her özütten hücre kültürüne eklenmiştir. Hücreler; 72sa. 37°C'de %5'lik CO₂'de inkübe edilmiştir. PBS içerisinde hazırlanan 5mg/ml MTT, 10'ar µl her bir kuyucuğun içine eklenmiş, 4sa. 37°C'de inkübe edilmiştir. 4 saat sonra besiyeri dikkatlice dışarı çıkartılmıştır ve 100 µl DMSO

(Dimetil Sülfoksit) eklendi. 150 rpm'de 5 dakika çalkalanmıştır. Böylece formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. İndirgenmiş MTT, absorbans 540 nm'de okunmuştur (Thermo Multiscan Microplate Spectrophotometer) [11]. Muamele edilmemiş hücrelerin optik yoğunlukları ile işleme tutulan hücrelerin optik yoğunluğu karşılaştırılarak; test ekstraktlarının sitotoksik etkileri belirlenmiştir.

3. Bulgular

3.1. Misel eldesi

Karanlık ortamda, PDA besi ortamında pH 5-6 aralığında gelişim gösteren 5-7 gün sonunda gözlemlenen *S. commune* misel gelişimi Şekil 1.'de verilmiştir. Miseller yeni petrilere alınarak kontaminasyon içermeyecek şekilde yetiştirilmiş ve %20 gliserol içinde -80°C'de stoklanarak saklanmıştır.



Şekil 1. *S. commune* mantar misel gelişim evreleri. Soldaki petride kuru mantar örneğinden ilk ekim sonucu elde edilen misel örneği gösterilirken, sağdaki petride saflaştırma işlemi yapılarak kontaminasyon içermeyen misel örneği elde edilerek stok alınmıştır.

3.2. Mantarın moleküler yöntem ile tanımlanması

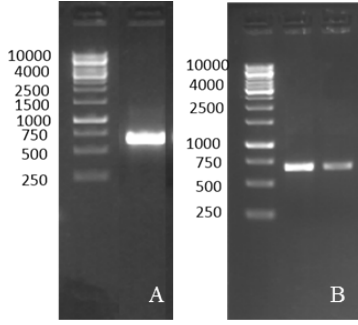
Klasik sistematik yöntemler ile mantar türünün makroskobik ve mikroskobik özellikleri göz önünde bulundurularak teşhisi yapılmıştır. Ayrıca moleküler yöntemlerden ITS gen analizi uygulanarak tür teşhisinden emin olunmuştur. Mantar türüne ait arazi resmi ve spor resmi Şekil 2.'de verilmiştir. Aynı zamanda teşhisinde zorlanan, yaşlı örnekler ve birbirine yakın türleri ayırt etmede moleküler yöntemler oldukça başarılıdır.



Şekil 2. *S. commune* türüne ait arazi resmi ve spor görüntüsü

Moleküler çalışmalar için, DNA'sı izole edilmiş mantar örneklerinin ITS gen bölgesi ITS1F ve ITS4 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Hedeflenen

bölge çoğaltılarak DNA pürifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Agaroz jel elektroforez analiz görüntüleri Şekil 3.'de verilmiştir.



Şekil 3. A. *Schizophyllum commune* örneğine ait ITS-PCR ve B. Pürifikasyon agaroz jel elektroforez görüntüleri

3.3. Sekans sonuçlarının değerlendirilmesi

ITS1F ve ITS4 primerleri ile sekanslanan *Schizophyllum commune*'nin QV20 değerleri sırasıyla; 492, 619'dur. Sekans, Bioedit programı kullanılarak kontig haline getirilmiş, NCBI veri tabanının BlastN programı kullanılarak, örneğin hangi türe ait olduğu saptanmıştır ve benzer sekanslar kullanılarak filogenetik ağacı oluşturulmuştur. Çoklu hizalama için, ITS sekansı, Clustal W kullanılarak hizalanmış ve filogenetik ağaç Neighbour-Joining metodu kullanılarak, Mega 6'da oluşturulmuştur (Şekil 4.). Elde edilen filogenetik ağacın geçerliliği ve dalların güvenilirliği açısından Bootstrap analizi 10.000 kez tekrarlanmıştır. Böylece örneğin *Schizophyllum commune* olduğu moleküler verilerle ortaya konulmuştur. Sekansa GenBank numarası alınmıştır ve bunun için NCBI'nin BankIt programı kullanılmıştır.

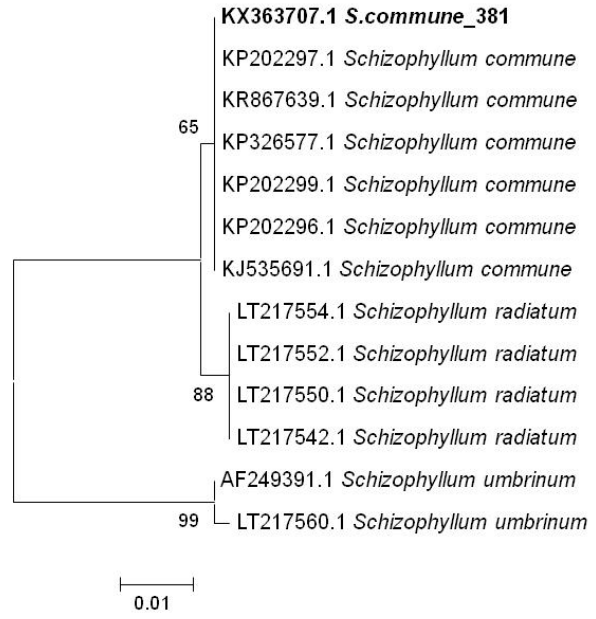
3.4. Antitümör aktivite çalışmaları

Antitümör aktivite çalışmalarında bir sağlıklı (Beas-2B), ikisi kanserli hücre hattı (PC-3 ve HeLa) olmak üzere 3 hücre hattı kullanılmıştır. Proliferasiyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyumu (MTT: sarı) kullanarak formazan (mor) boya üretmesi sonucu renk değişimleri gözlemlenmiştir. Mor renk, açığa doğru değiştikçe sitotoksikite (öldürücü etki) artar. Ekstraktların sitotoksik etkileri aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır:

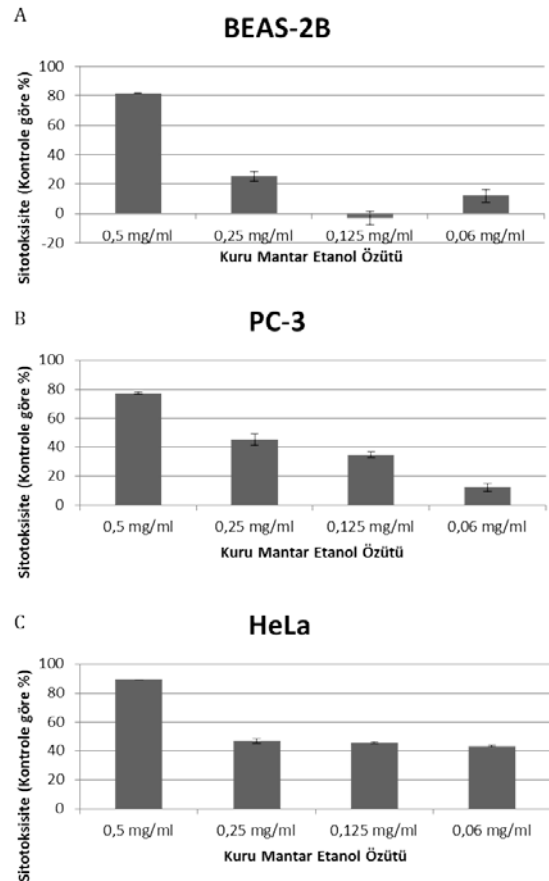
$$\% \text{Sitotoksikite} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs deney})}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

Tıbbi mantar özelliği gösteren *Schizophyllum commune*'de kuru mantar ve miselden elde edilen ekstraktlar kullanılarak yapılan antikanser aktivite çalışmaları sonucunda, *S. commune*'nin HeLa ve PC-3 hücrelerine karşı öldürücü özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Fakat önemli olan normal hücre hattına (Beas-2B) oranla daha fazla öldürme yeteneğine sahip olmasıdır. Buna hücrenin seçici öldürücü özelliği adı verilir. Kuru mantar ve misel örneklerinden elde edilen ekstraktta, sağlıklı ve hasta

hücre hatlarına karşı gösterilen öldürücü etki grafikleri Şekil 5. ve 6'da verilmiştir.



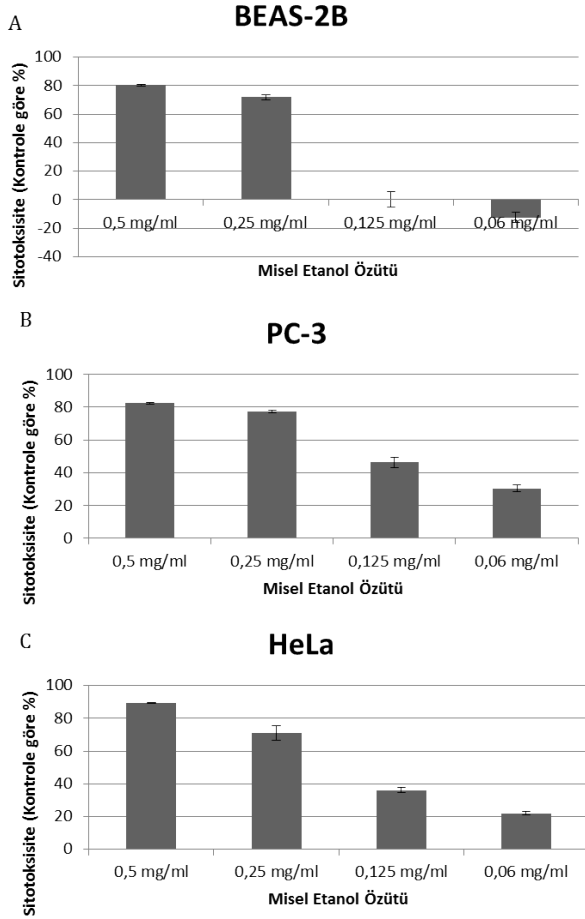
Şekil 4. *Schizophyllum commune* örneğine ait ITS sekansının ve veri tabanından elde edilen bazı sekansların filogenetik ağacı.



Şekil 5. Kuru mantar ekstraktlarının farklı hücre ve konsantrasyonlardaki sitotoksik etkisi

Kuru mantar örneğinden elde edilen ekstraktın kullanıldığı çalışmada, PC-3 (Prostat kanseri hücre hattı), BEAS-2B (Sağlıklı akciğer epitel hücre) sonuçları göz önünde bulundurularak

değerlendirilmiştir ve kuru mantar ekstraktı, özellikle 0,25mg/ml ve 0,125 mg/ml konsantrasyonlarında sağlıklı hücreye kıyasla PC-3'e karşı seçici öldürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Hela (Servikal kanser hücre hattı) hücreleri ise normal sağlıklı hücreye kıyasla tüm konsantrasyonlarda seçici öldürücü etkiye sahip olsa da özellikle 0,125 mg/ml konsantrasyonunda bu miktar fazladır (Şekil 5.).



Şekil 6. Misel ekstraktlarının farklı hücre ve konsantrasyonlardaki sitotoksik etkisi

Misel örneği kullanılan çalışmada ise, PC-3 hücresinin normal hücre hattına oranla 0,5 mg/ml'den az konsantrasyonlarda seçici öldürücü özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Hela hücre hattında ise 0,25 mg/ml dışında ki konsantrasyonlarda özellikle de 0,25 mg/ml'in altındaki konsantrasyonlarda öldürücü özellik gözlemlenmiştir (Şekil 6.).

4. Tartışma ve Sonuç

Tümör gelişimini engelleyen bileşiklere antitümöral bileşikler adı verilir ve makrofunguslar gibi içinde çok fazla tür bulunduran bir alemde, bazı türlerin bu bileşikleri yapısında bulundurması ve daha fazla bileşiğin aydınlatılması adına çalışmalar yapılması oldukça önemlidir. Bu sebeple, tıbbi mantar özelliği gösteren *Schizophyllum commune* türünün kuru mantar ve miselinden elde edilen ekstraktlar kullanılarak PC-3 (Prostat kanseri hücre hattı) ve

Hela (Servikal kanser hücre hattı) hücre hatlarına karşı sitotoksosite çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmalar neticesinde; 0,5 mg/ml ekstrakt içeren örnekte yalnızca Hela hücre hattına karşı sitotoksosite görülürken, sağlıklı hücre hattı (Beas-2B) ile kıyaslandığında PC-3 hücre hattına karşı öldürücü etki tespit edilmemiştir. Genel olarak 0,25 mg/ml ve altındaki mantar konsantrasyonlarında PC-3 ve Hela hücre hatlarına karşı seçici öldürücü özellik görülmüştür. Detaylı incelendiğinde, 0,25 mg/ml konsantrasyonunda kuru mantar örneği misel örneğine oranla iki kat ve daha fazla öldürücü etkiye sahiptir. 0,125 mg/ml'da kuru mantar içeren örnek, Hela hücre hattına ve misel içeren ekstrakt PC-3 hücre hattına karşı yaklaşık %45 oranıyla en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiştir. İki örneğinde 0,125 mg/ml'de sitotoksosite PC-3 ve Hela'ya karşı oldukça yüksektir. 0,06 mg/ml örnek içeren iki ekstrakt değerlendirildiğinde misel daha etkilidir. Ayrıca en etkili sitotoksik etki iki ekstrakt örneği için de 0,125 mg/ml konsantrasyonu olarak tespit edilmiştir.

Yapılan benzer bir çalışmada 7 farklı *Morchella sp.* Türü ve çeşitli makrofungus türleri ile çeşitli kanserli hücre hatlarına karşı sitotoksosite çalışmaları yapılmıştır. Ancak, tüm ekstraktlar tek bir hücre hattına karşı (K562) %36-72 aralığında sitotoksosite göstermiştir. En yüksek sitotoksosite *M. distance* %72 ile K562 hücrelerine karşı iken en düşük *M. esculante* türünün %36'dır [11].

S. commune ile yapılan birçok antitümör aktivite çalışması Şizofilan bileşiği kullanılarak yapılmıştır. Bu bileşiğin kanserli hücre hatlarına karşı gösterdiği engelleyici ve öldürücü etki tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada şizofilan dört çeşit tümörün (sarkoma-37, sarkoma-180, Ehrlich karsinomu, ve Yoshida sarkoma) hem asit hem de solid formuna karşı denenmiştir. Asit formundaki tümörlerinin büyümesi önlenememiş olup, solid formundaki tümörlerde 0,5-10 mg/kg dozda en etkili sonuçlar elde edilmiştir [12]. Yine şizofilan maddesinin Sarcoma 180 (bağ doku kanseri) kanser hattına karşı antitümör aktivitesinin olduğu başka bir çalışma ile gösterilmiştir [13]. Almanya'da ki bir çalışmada, %99 oranında Sarkoma 180 tümörlerini azalttığı bulunmuştur [7]. Yine Şizofilan (SPG) ile yapılan bir çalışmada mide kanseri hastaları için kullanımı önerilmiştir [14]. Ayrıca mantarlarda oldukça bol bulunan Hidrofobin proteinleri ile de bu tür çalışmalar yapılmıştır. Örneğin bir çalışmada, *S. commune*'de bulunan Hidrofobin SC-3'ün antitümör aktivitesine sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Burada in vitro hücre kültür çalışmaları ile SC-3'ün sarkom hücrelerine karşı doğrudan bir sitotoksik etki göstermediği, melanom hücrelerine karşı gösterdiği görülmüştür ve kemoterapi, radyoterapi ile kombine edildiğinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir [15]. Diğer bir bileşik olan İminolaktonlar; Şizin A ve B mantarın meyve organından izole edile edilmiş olup kanser hücrelerinin büyümesini durdurmaktadır

[16]. Görüldüğü üzere türün sahip olduğu bileşikler, birçok hücre hattında denenmiştir. Fakat birçok tıbbi mantar türünün, oldukça yaygın görülen PC-3 (Prostat kanser hücre hattı) ve Hela (Servikal kanser hücre hattı) hücreleri ile çalışmaları mevcut olup, *S. commune* türü ile çalışılmamıştır. Her ne kadar bu mantar türünün deneysel olarak bazı kanser hücrelerinin gelişimini engellediği gösterilmiş olsa da, tedavi amaçlı olarak kullanılması için henüz erkendir ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Örneğin mantarın yenerek tüketilmesinin asla tek başına bir tedavi süreci olamayacağına dikkat edilmesi son derece önemlidir. Bu mantar türü üzerinde, ilaç adayı olma potansiyeli olan, aktif bileşik taraması çalışmaları devam etmektedir ve etmelidir.

Teşekkür

Finansal desteklerinden dolayı Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi'ni BAP (15/114 numaralı proje) birimine teşekkür ederiz.

Kaynakça

- [1] Kalyoncu, F., Oskay, M. ve Kalmış, E. 2010. Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi, *The Journal of Fungus*, 1(1)1-8.
- [2] Salahuddin, A.H. 2008. Biological activities of *Schizophyllum commune* Fr. Faculty of Science University of Malaya Kuala Lumpur, Thesis, 194s.
- [3] Öztürk, A. ve Çopur, Ö.U. 2009. Mantar bileşenlerinin teröpatik etkileşimleri, *Bahçe*, 38(1):19-24.
- [4] Altınsoy B., Çelik Y. G. 2016. Fungal polisakkaritlerin bazı biyoaktivite özellikleri , *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 25: 53-57.
- [5] Kalyoncu, F., Kalmış, E., Solak M.H. 2008. Bazı Makrofungus Türlerine Ait Misellerin Farklı Kültür Ortamlarındaki Gelişim Hızlarının Belirlenmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12-2, 109-114.
- [6] Duman R., Taner H., Doğan H.H. 2007. Bazı makrofungusların antimikrobiyal aktiviteleri, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 55-65.
- [7] Rogers, R. 2011. *The Fungal Pharmacy, The complete guide to medicinal mushroom& lichens to North America*.
- [8] Balcı E. 2016. Bazı *Stereum hirsutum* ve *Schizophyllum commune* Makrofungus Türlerine ait Örneklerden Misel Üretimi ve RAPD-PCR Analizi ile Genetik Akrabalıklarının Araştırılması, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 65s.
- [9] Hall T. 1997-2013. *Bioedit: Biological sequence alignment editor*, Ibis Biosciences, Carlsbad CA.
- [10] Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A.,3 and Kumar S. 2013. *MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0*, Oxford University, *Mol. Biol. Evol.* 30(12):2725-2729.
- [11] Poyraz, P., Güneş, H., Tül, B. and Sermenli B.H. 2015. Antibacterial and antitumor activity of crude extracts from various macrofungi species, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 8(1): 05-10.
- [12] Komatsu N., Okubo S., Kikumoto S., Kimura K., Saito G. and Sakai S. 1969. Host-Mediated Antitumor Action of Schizophyllum, a Glucan Produced by *Schizophyllum commune*, *Gann*, 60, 137-144.
- [13] Tabata, K., Ito, W., Kojima T., Kawabata, S. and Misaki A. 1981. Ultrasonic degradation of schizophyllum, an antitumor polysaccharide produced by *Schizophyllum commune* Fries, *Carbohydrate research*, 16;89(1): 121-35.
- [14] Nakao I., Uchino H., Orita K., Kaido I., Kimura T., Goto Y., Kondo T., Takino T., Taguchi T., Nakajima T., Fujimoto S., Miyazaki T., Miyoshi A., Yachi A., Yoshida K., Ogawa N. and Furue H. 1983. Clinical evaluation of schizophyllum (SPG) in advanced gastric cancer--a randomized comparative study by an envelope method, *10(4):1146-59*.
- [15] Akanbi M.H., Post E., van Putten S.M., de Vries L., Smisterova J., Meter-Arkema A.H., Wösten H.A., Rink R. And Scholtmeijer K. 2013. The antitumor activity of hydrophobin SC3, a fungal protein, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 97(10):4385-92.
- [16] Liu X., Frydenvang K., Liu H., Zhai L., Chen M., Olsen C.E., Christensen S.B. 2015. *J Nat Prod.*, 22;78(5):1165-8.