



**GIDA MİKROBİYOLOJİSİ VE GENETİK: *ESCHERICHIA COLI***  
*Sayın Prof. Dr. Nezihe Tunail anısına, saygılarımızla*

**Elif Bircan Muyanlı<sup>1,2</sup>, Remziye Yılmaz<sup>2,3\*</sup>**

<sup>1</sup>FoodOmics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayın Merkezi (IFBBC), Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Geliş / Received 08.10.2023; Kabul / Accepted: 12.03.2024; Online baskı / Published online: 29.03.2024

Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. (2024). Gıda mikrobiyolojisi ve genetik: *Escherichia coli*. GIDA (2024) 49 (2) 342-355 doi: 10.15237/gida.GD23120

Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. (2024). *Food microbiology and genetics: Escherichia coli*. GIDA (2024) 49 (2) 342-355 doi: 10.15237/gida.GD23120

## ÖZ

Gıda mikrobiyolojisi, gıdaların üretimi, kalitesi ve güvenliği üzerinde etkisi olan mikroorganizmaların incelenmesine odaklanırken, mikrobiyel genetik, mikroorganizmaların kalıtsal bilgi mekanizmalarının araştırılmasıyla ilgilenir. Mikrobiyel genetik, öncü bir disiplin olan mikrobiyoloji ve genetik mühendisliği içinde bir alandır. Bu alan, genlerin nasıl çalıştığını ve nasıl kontrol edildiğini anlamak, farklı mekanizmalarla çalışan gen ürünlerini belirlemek gibi amaçlarla mikroorganizmaları analiz eder. Bu çalışmada gıda mikrobiyolojisi ve genetik başlığını anlamamıza yardımcı olan *Escherichia coli* gibi önemli bir model mikroorganizma üzerinden giriş niteliğinde bir inceleme yapılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Gıda mikrobiyolojisi, bakteriyel genetik, *Escherichia coli*

## FOOD MICROBIOLOGY AND GENETICS: *ESCHERICHIA COLI*

### ABSTRACT

Food microbiology focuses on examining microorganisms that impact the production, quality and safety of food, while microbial genetics is concerned with investigating the genetic information mechanisms of microorganisms. Microbial genetics is a field within the pioneering discipline of microbiology and genetic engineering. Microbial genetics analyzes microorganisms to understand how genes function and how they are regulated. It also identifies gene products that operate through various mechanisms. This study provides an introductory examination by investigating a significant model microorganism such as *Escherichia coli*, which helps us to understand food microbiology and genetics.

**Keywords:** Food microbiology, bacterial genetics, *Escherichia coli*

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

E-mail: remziye@hacettepe.edu.tr, Tel: (+90) 312 297 7106

Elif Bircan Muyanlı; ORCID no: 0000-0001-5279-9131

Remziye Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-2041-1205

## GİRİŞ

Bir gıdada bulunması muhtemel tüm mikroorganizmalar yararlı, saprofit ve patojen özellikte olmakla birlikte tümü gıda bilimi ve teknolojisi açısından önem arz etmektedir (Lorenzo vd., 2018). Gıda biliminin bir disiplini olan gıda mikrobiyolojisi, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların tanımlanmasına, gelişme özelliklerine ve biyolojisine odaklanmaktadır (USDA, 2011).

Genetik, DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) dizisindeki değişikliklerin bir sonucu olarak ebeveynlerden yavrulara belirli niteliklerin veya özelliklerin nasıl geçtiğinin araştırıldığı bir alandır (Bigler, 2023; NIGMS, 2023). Genetik araştırmalar, bireysel genlerin veya gen gruplarının bir canlı organizmada işleyen sisteme nasıl dâhil olduğunu inceler ve kısaca genlerin davranışlarıyla ilgilenen biyoloji dalı olduğu söylenebilir (Petreaca, 2013). Mikrobiyel genetik ise, bakteriler, arkealar, virüsler, bazı protozoalar ve funguslar dahil mikroorganizmalardaki kalıtsal bilgi mekanizmalarının incelenmesi ile ilgilenmektedir. Mikrobiyel genetik, hüresel süreçlerin düzenlenmesinin yanı sıra işlevsel ve metabolik yolak organizasyonunun çözümlenmesi için güçlü araçlar sağlar (Weinstock, 2013). Bu, hem bireysel gen ifadesini kontrol eden düzenleyici genlerin ve bölgelerin keşfedilmesini hem de hangi genlerin düzenlendiğini, dolayısıyla sürece birlikte davranış olasılığının belirlenmesini içerir. Çoğu zaman eş düzenlenmiş genler, aynı transkripsiyonel birimde yan yana yer alabilir, ancak eş güdümlenmiş çok sayıda dağılmış gen kümesi görülmesi de mümkündür (Alberini, 2009).

Bakteriyel genetik, genetik bilginin belirli bir bakteriden diğerine ya da bakteri soylarına nasıl aktarıldığını, nasıl ifade edildiğini ve bakterinin fizyolojisini (fenotip) nasıl belirlediğinin incelenmesini içerir (Maloy, 2001). Bazen genetik varyasyon veya bakteriler arasındaki genetik bilgi aktarımı mutasyonlara yol açabilir. Bakteri popülasyonlarının büyüklüğü göz önüne alındığında son derece nadir genetik olayların bile meydana gelme olasılığı bulunur (Holmes ve Jobling, 1996). Böylece aynı türe ait farklı suşlar

arasında genetik varyasyon (polimorfizm) oluşmaktadır. Laboratuvarında, bakterilerin özelliklerini incelemek, gen transferi ve gen ifadesinin temel özelliklerini keşfetmek ve istenen özelliklere sahip mutantlar oluşturmak için genetik varyasyondan yararlanılır (Maloy, 2013). *Escherichia coli*, prokaryotlar için model mikroorganizma olmasından dolayı en çok çalışılan bakteridir ve biyolojideki birçok temel kavramın geliştirilmesinde etkili olmuştur (CDC, 2022a; Ruiz ve Silhavy, 2022). Pek çok araştırmacı daha basit bakteri sistemi ile çalışmaya başladığında araştırmalarda *E. coli*'nin merkezi rolü üstlendiği görülebilir (Denamur vd., 2021). *Escherichia coli* suşları arasında yüksek derecede polimorfizm olmasına rağmen hala model organizma olarak sıklıkla çalışılmaktadır (Pitout ve Finn, 2020). Bu çalışmada, bakteri genetiği model organizma olarak kullanılan *E. coli* üzerinden tartışılacaktır.

## *Escherichia coli*

*Escherichia coli*, normal bağırsak florasında bulunan enterik bir bakteridir (Martinson ve Walk, 2020). Çok az mikroorganizma *E. coli* kadar çok yönlüdür (Kaper vd., 2004). Temel biyolojik süreci araştırmak için ilk tercih olarak seçilen ve en iyi anlaşılan yaşayan organizmalardan biri olduğu için, moleküler genetikte bir model organizma olarak kullanılmaktadır (Taj vd., 2014). *Escherichia coli*, memeliler ve kuşlar için fırsatçı bir patojen, omurgalı bağırsak mikrobiyotasında bulunan bir bakteridir (Foster-Nyarko ve Pallen, 2022).

*Escherichia coli*'nin temel genleri hücre içinde paketlenmiş tek orijinli dairesel bir kromozom üzerine kodlanmıştır (Griswold, 2008). *Escherichia coli* genomu (kromozomu) iki replikasyon çatalının zıt yönlerde ilerlediği bir orijine sahiptir (O'Donnell vd., 2013). Her bakteri hücresindeki gibi *E. coli*'deki genetik bilgi akışı DNA'dan RNA'ya ve proteine doğru tek yönlüdür (Holmes ve Jobling, 1996). Genler, protein sentezini yöneterek bir hücredeki faaliyetleri ve işlevleri yönlendirir. Gen ifadesi veya gen ekspresyonu (Çizelge 1), bir gende kodlanan bilginin bir işleve veya bir karaktere dönüştürülmesi işlemidir (Holmes ve Jobling, 1996). Proteinleri kodlayan

RNA moleküllerinin veya diğer işlevlere hizmet eden kodlayıcı olmayan RNA moleküllerinin transkripsiyonu yoluyla gerçekleşir (Wang ve Farhana, 2023).

Çizelge 1. Bir gen dizisinin olgun bir gen ürününe (protein veya RNA) dönüştürüldüğü işlemin bir RNA transkriptinin üretimini ve protein kodlayan genler için işlenmesini, çevrilmesini ve olgunlaşmasını GO:0010467 terimi üzerinden EcoCyc veri tabanı temel alınarak açıklaması.

*Escherichia coli* K-12 substr. MG1655

Gen Ontoloji Terimleri Sınıfı: GO:0010467-gen ifadesi

Ana Sınıf	GO:0043170-makromolekül metabolik süreci	Yüksek nispi moleküler kütleyle sahip herhangi bir molekülü içeren kimyasal reaksiyonlar ve yollar, yapısı esasen düşük nispi moleküler kütleyle sahip moleküllerden fiilen veya kavramsal olarak türetilen birimlerin çoklu tekrarından oluşur.	
Alt Birimler	GO:0097659-nükleik asit şablonlu transkripsiyon	GO:0032774-RNA biyosentetik süreci	GO:0006351-DNA şablonlu transkripsiyon
	GO:0051604-protein olgunlaşması (Bir proteinin tam işlevsel kapasitesinin elde edilmesine yol açan herhangi bir süreç)	GO:0019538-protein metabolik süreci	GO:0006474-N-terminal protein amino asit asetilasyonu GO:0009249-protein lipoilasyonu (Peptidil-lizinin peptidil-N6-lipoil-L-lizine oluşturmak üzere lipoilasyonu) GO:0016485-protein işleme GO:0022417-protein katlanmasıyla protein olgunlaşması GO:0097428-demir-kükürt kümesi transferi ile protein olgunlaşması GO:0110147-nikel iyonu transferi ile protein olgunlaşması
	GO:0006412-Translasyon	GO:0009059-makromolekül biyosentetik süreci GO:0019538-protein metabolik süreci GO:0043043-peptit biyosentetik süreci	GO:0006413-translasyon başlangıcı GO:0006414-uzama GO:0006415-translasyon sonlandırma GO:0006418-protein translasyonu için sentez sırasında yeni oluşan polipeptit zincirlerinin dizisine amino asitlerin eklenmesine aracılık etmekten sorumlu nispeten küçük RNA moleküllerinin (tRNA) aminoasilasyonu GO:1990145-translasyon tamiri
	GO:0006396-RNA işleme	GO:0016070-RNA metabolik süreci	GO:0000966-RNA 5' uçlu işleme GO:0006397-DNA'dan kopyalanan genetik 'mesajı' ribozomlardaki protein toplanma bölgelerine taşımaktan sorumlu mRNA işleme GO:0008380-RNA ekleme GO:0031123-RNA 3' uçlu işleme GO:0034470-Bir veya daha fazla birincil kodlamayan RNA (ncRNA) işleme GO:0036260-RNA kapatma

Tek bir *E. coli* hücresi, bir bakteriyofajın sahip olduğu DNA baz çifti uzunluğunun yaklaşık 100 katı kadar DNA baz çifti içerir (Shao vd., 2015; Henderson, 2020). *E. coli* genomu kendi uzunluğunun yaklaşık 850 katı uzunluğunda 4639221 baz çifti içeren tek bir çift sarmallı dairesel DNA'dan oluşmaktadır (Makalowski,

2001). Kromozom, birlikte kopyalanan ve ilgili biyolojik süreçlerde yer alan genlerden oluşan, operon adı verilen işlevsel birimler halinde düzenlenir. *Escherichia coli* suşlarının genomu, 3900–5800 gene karşılık gelmektedir ve replikasyon sırasında DNA fragmanlarının sık sık silinmesinden dolayı 4.2 ila 6.0 Mbp arasında

değişir (Denamur vd., 2021). *Escherichia coli*'deki genlerin yaklaşık yarısının bir operonun parçası olarak kopyalandığı düşünülmektedir (Okuda vd., 2007).

*Escherichia coli* genomu, hücre metabolizması, DNA replikasyonu ve onarımı, protein sentezi ile gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi farklı hücresel işlevlerden sorumlu birçok farklı geni

kodlar. *Escherichia coli* genomunu anlamak, gıda mikrobiyolojisindeki biyolojik süreçleri daha iyi anlamaya yardımcı olur ve gıda biyoteknolojisi araştırmalarında çok sayıda uygulamaya olanak sağlar. *Escherichia coli* ATCC® 29055™ (*E. coli*) suşu gen ve genom özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir (ATCC, 2024).

Çizelge 2. *E. coli* özellikleri.

Suş ismi	<i>Escherichia coli</i> (ATCC® 29055™)
Uzunluk	4.588.376 nükleotit (nt)
Contig Sayısı	4 (0 Dairesel)
N <sub>50</sub>	4.423.368 nt
%GC	%50.83
Genotip	F-thr-leu-his-pro-arg-lac-gal-ara-xyl-mtl-T6r str-r*
CDS sayısı	4.245
Varsayımsal Proteinlerin Sayısı	758
tRNA sayısı	87
5s rRNA sayısı	8
16s rRNA sayısı	7
23s rRNA sayısı	7

\*F: F plazmiti, thr:treonin, leu:lösin, his:histidin, pro:prolin, arg:arjinin, lac:laktozun taşınması ve metabolizması için gerekli operon; gal:galaktozun taşınması ve metabolizması için gerekli operon; ara: *E. coli*'deki L-arabinozun parçalanması için gerekli operon; xyl:ksiloz operonu mtl:mannitol operonu, T6: *E. coli* bakterilerini enfekte eden bir bakteriyofaj suşu, Str R:streptomisin direnci.

Bakterilerde gen ekspresyonunun dış koşullarla birleşmesi transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) genomdaki belirli bölgelere bağlanması ve ilgili efektör sinyalin veya metabolitin tanınması ile gerçekleşir (Martínez-Antonio vd., 2008). Yapılan deneysel çalışmaların sonucunda, *E. coli*'de TF'leri ve bunların düzenlenmiş genleri arasında 3000'den fazla düzenleyici etkileşim olduğuna ilişkin veriler RegulonDB adı verilen özel bir veri tabanına entegre edilmiş ve belgelenmiştir (Salgado vd., 2006). *Escherichia coli*'nin hiyerarşik bir organizasyonu ve transkripsiyonel düzenleyici ağlarını vurgulayan kapsamlı çalışmalar da gerçekleştirilmiştir (Shen-Orr vd., 2002; Dobrin vd., 2004; Ma vd., 2004; Vasilyev vd., 2024). Bu çalışmalar, *E. coli* için çevresel koşullara bağlı olarak transkripsiyonun başlatılmasının, pek çok diziye özgü transkripsiyon faktörleri ve

nükleotitle ilişkili proteinler tarafından hassas bir şekilde ayarlandığını göstermiştir.

Mutasyonlar, genomdaki kalıtsal değişikliklerdir. Bakterilerde bireysel olarak spontan mutasyonlar nadirdir. Bir organizmanın genotipinde kendiliğinden meydana gelebilen veya kimyasal yada fiziksel işlemlerle indüklenebilen kalıtsal değişikliklere mutasyon, referans suş olan organizmaya “yabani tip (wild type)” ve bu organizmanın mutasyonlu soylarına ise “mutant” denir (Najafi ve Pezeshki, 2013). Kalıtsal farklılıklarına göre ayırım yapılabileceği gibi; seçici ortamda büyüme ile yabani tip ve mutant suşlar arasında fenotipik özelliklere göre de ayırım yapılabilir (Holmes ve Jobling, 1996; Nichols vd., 2011). Örneğin, laktozu fermente eden fenotip Lac<sup>+</sup>, laktozu fermente edememe durumu ise Lac<sup>-</sup> olarak ifade edilmektedir. β-galaktosidaz kodlayan

*E. coli*'ye ait *lacZ* geninin nükleotit dizisi ilk kez 1983 yılında dizilenmiştir (Kalnins vd., 1983). Bu çalışmada bu genin 1023 kodondan oluştuğu hesaplanmıştır. Ancak Beal vd. (2023)'e göre *E. coli lacZ* genine ait verilerin biyoinformatik yöntemler ile analizine dayanarak *lacZ* geninde  $\beta$ -galaktosidaz fonksiyonunu bozan 2732 hatalı mutasyon karakterize edilmiştir (Beal vd., 2023). Yanlış mutasyonlar 1023 *lacZ* kodonunun 492'sini (%48) etkilediği ve  $\beta$ -galaktosidaz enzimin katalitik aktivitesini etkileyen yapısal özelliklerin daha iyi anlaşılması gerektiği vurgulanmıştır.

### Genetik bilginin aktarımı

Bakterilerde genetik bilginin aktarımı süreci, bir donörden bir alıcıya genetik bilginin transferini içerir ve bakteriler arasında gen transferi temel olarak transformasyon, konjugasyon ve transdüksiyon ile gerçekleşmektedir (Trevors, 1999). Transformasyon bir bakteri ortamındaki serbest DNA parçasının alınması ile gerçekleşir (Maloy, 2001; Iranzadeh ve Mulder, 2019). *Haemophilus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Bacillus* gibi bazı bakteri türleri doğal olarak bakterilerin serbest DNA parçalarını bağlama yetkinliğine sahipken *E. coli* ve diğer birçok bakteri laboratuvar koşullarında kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) çözeltilerine maruz bırakılarak yapay olarak yetkin hale getirilir (Kadner ve Rogers, 2023).

DNA'nın, doğrudan fiziksel temas yoluyla bakteriler arasında özellikle plazmitlerin aktarılması işlemine konjugasyon denir (Raleigh ve Low, 2013). DNA konjugasyonu sırasında, bir plazmit (küçük, dairesel bir DNA parçası) içeren bir donör bakteri hücresi, kendisini bir alıcı bakteri hücrelerine fiziksel olarak bağlayan bir konjugasyon köprüsü veya pilus oluşturur (Virolle vd., 2020). Plazmit DNA daha sonra bu bağlantı yoluyla donörden alıcıya aktarılır böylece alıcı hücre DNA konjugasyonu yoluyla yeni özellikler ve yetenekler kazanabilir (Kadner ve Rogers, 2023; NHGRI, 2023). Birçok konjugatif plazmit, çok sayıda farklı Gram negatif bakteri türü arasında aktarılabilir ve çoğalabilir (De La Cruz vd., 2010). Gram pozitif *Enterococcus* cinsinde de konjugasyon gözlenmiştir, ancak hücre tanıma ve DNA transferinin mekanizması Gram negatif bakterilerde meydana gelenden farklıdır

(Grohmann vd., 2003). Birçok çalışma, bakterilerde gen fonksiyonlarında konjugasyonun oynadığı rolü incelemiştir. Headd ve Bradford (2020) tarafından elde edilen verilere göre konjugasyonun *E. coli* hücreleri bölündükten sonra ve gelişmenin stabil kaldığı aşamaya geçmeden önce gerçekleştiği gösterilmektedir (Headd ve Bradford, 2020).

Transdüksiyon ise bakteriyofajlar aracılığı ile gerçekleşmektedir (Fillol-Salom vd., 2019). Faj olarak da bilinen bakteriyofajlar, genetik materyallerini konakçı bakteri hücrelerine enjekte etme yeteneğine sahiptir ve bazen bu işlem sırasında, donör hücreden bakteriyel DNA'nın küçük bir bölümünü de alabilirler (Kasman ve Porter, 2021). Bakteriyel DNA'nın viral genoma bu şekilde dahil edilmesine transdüksiyon denir (Kadner ve Rogers, 2023). Örneğin şiga toksini (Stx) üreten *Escherichia coli* (STEC), ishalden şiddetli hemorajik enterite kadar çeşitli hastalıklara ve bazen hemolitik üremik sendrom (HUS) ve ensefalopati gibi yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olan önemli gıda kaynaklı patojenlerdir (Siegler, 1994; Joseph vd., 2020). Stx, bu ciddi hastalıkların başlangıcından sorumlu olan temel virülans faktörüdür. O26:H11 Stx üreten *Escherichia coli*'nin evrimi boyunca Shiga toksini (Stx) 1 transdüksiyon fajındaki dinamik değişikliklere dair yapılan çalışmada (Yano vd., 2023) Stx genlerinin, lizojenik duruma girmek için konakçı kromozomlarına entegre edilen ılıman bakteriyofajlar (Stx fajları) tarafından kodlandığı açıklanmıştır.

### Rekombinant DNA yöntemleri

Hibrit DNA moleküllerini rekombinant DNA yapmak ve karakterize etmek için birçok yöntem mevcuttur. Bu tür yöntemler, hibrid replikonlarda spesifik genlerin izole edilmesini, bunların nükleotit sekanslarının belirlenmesini ve belirlenmiş lokasyonlarda mutasyonlar yaratılmasını içerir (Alberts vd., 2002). Bir klon, tek bir atadan eşeysiz üreme yoluyla türetilen bir organizma veya molekül popülasyonudur. Gen klonlama, yabancı genleri hibrit DNA replikonlarına dâhil etme işlemidir. Klonlanmış genler, uygun konakçı hücrelerde ifade edilebilir ve belirledikleri fenotipler analiz edilebilir.

Rekombinant DNA yöntemleri, herhangi bir kaynaktan alınan spesifik DNA fragmanlarının, iyi karakterize edilmiş bakterilerde, ökaryotik hücrelerde veya in vitro çalışılabilen vektörlere klonlanmasını mümkün kılar. İyi bilinen genetiği, çok sayıda uyumlu moleküler aracı olması nedeniyle rekombinant DNA teknolojisi ile enzimlerin ve diğer proteinlerin üretiminde *E. coli* en çok kullanılan konakçı mikroorganizma olmuştur ve bu durum devam etmektedir (Kaper vd., 2004; Fakruddin vd., 2013). Bunun nedeni *E. coli*'nin heterolog proteinleri eksprese etmek için hızlı büyüme, çeşitli kültür besiyerleri veya genetik modifikasyonlar elde etmek için tasarlanmış çok sayıda modelin varlığı gibi çeşitli avantajları olması ile açıklanabilir (Huang vd., 2012; Blount, 2015; Idalia ve Bernardo, 2017; Lee vd., 2017; Xu vd., 2020). Hatta heterolog proteinlerin yüksek düzeyde üretimi için geniş bir ekspresyon plazmit kataloğu, çok sayıda tasarlanmış suş ve birçok

geliştirme stratejisi gibi moleküler araç ve protokoller mevcuttur (Rosano ve Ceccarelli, 2014).

### Gen regülasyonu

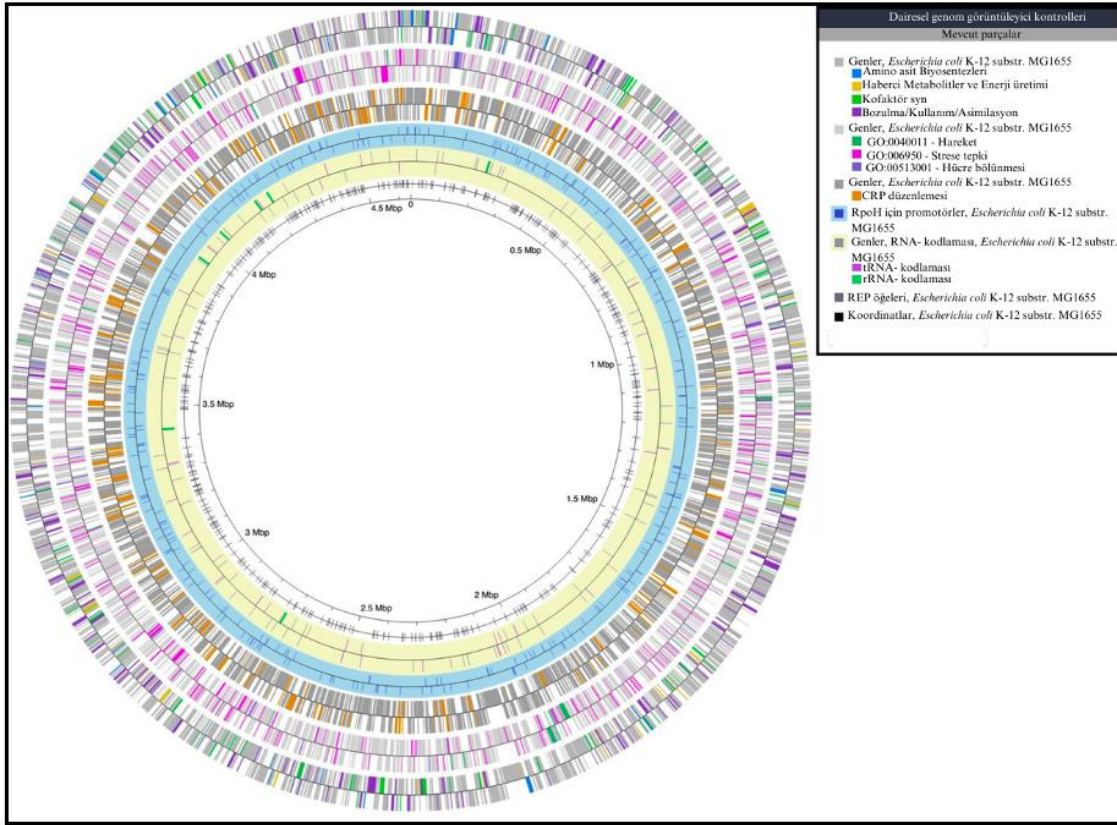
Literatür enzim işlevi, gen regülasyonu ve genetik mühendisliği üzerine araştırmalar da dahil olmak üzere, *E. coli* hakkında yüzyılı aşkın bir süredir yapılan araştırmaları bildirmektedir (Keseler vd., 2021). Uzun araştırma geçmişine rağmen, çok sayıda genin işlevi hala bilinmemektedir (Ghatak vd., 2019). Bu nedenle model organizma veri tabanlarına ihtiyaç artmıştır ve *Escherichia coli* için deneysel verileri toplayıp, özetleyen EcoCyc gibi veri tabanları oluşturulmuştur. EcoCyc *Escherichia coli* K-12 MG1655 bakterisi için bilimsel bir veri tabanıdır ve sürüm 27.5 için bulunan veri türlerine genel bir bakış Çizelge 3'te gösterilmiştir (Karp vd., 2021).

Çizelge 3. Sürüm 27.5 EcoCyc içeriği ve *Escherichia coli* gen fonksiyonları.

Veri Tipi	Veri tabanı nesnesi sayısı
Kromozom	
Toplam gen	4703
Protein genleri	4328
RNA genleri	229
Psödojenler	146
Boyut(bp)	4.641.652
Genler	4704
Yolaklar	376
Enzimatik reaksiyonlar	2347
Taşıma reaksiyonları	540
Polipeptitler	4482
Protein kompleksleri	1177
Enzimler	1734
Taşıyıcılar	485
Bileşikler	3024
Transkripsiyonel birimler	3718
tRNAlar	89
Besiyeri	439
Transkripsiyonel düzenleme	5899
Protein özellikleri	41500
Fenotip mikrodizi veri kümeleri	5
GO terimleri	69043
Gene Essentiality veri kümeleri	6

Bu veri tabanı, bir dairesel genom görüntüleyici ile genler, promotörler, bağlanma bölgeleri ve diğer ekstrasjenik bölgeleri içeren bir dizi eş merkezli daire olarak kromozom organizasyonunun genel

bir görünümünü de sağlamaktadır (Şekil 1) (EcoCyc, 2024).



Şekil 1. Çeşitli özellik türlerini, filtreleme ve vurgulama seçeneklerini gösterimi ve en dıştaki daireden içe doğru sıralandığı *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655 referans genomu EcoCyc Dairesel Genom Görüntüleyici ekranı kullanılarak oluşturulmuştur (Keseler vd., 2021).

Bütün genom bilgisinin yanı sıra aynı veri tabanında yalnızca bir gen ve bu gen üzerindeki düzenleyici etkilere ilişkin temel bilgilere ulaşılabilir. Şekil 2'de *lacZ* geni üzerindeki düzenleyici etkilerin özeti verilmiştir (Mackie, 2015).

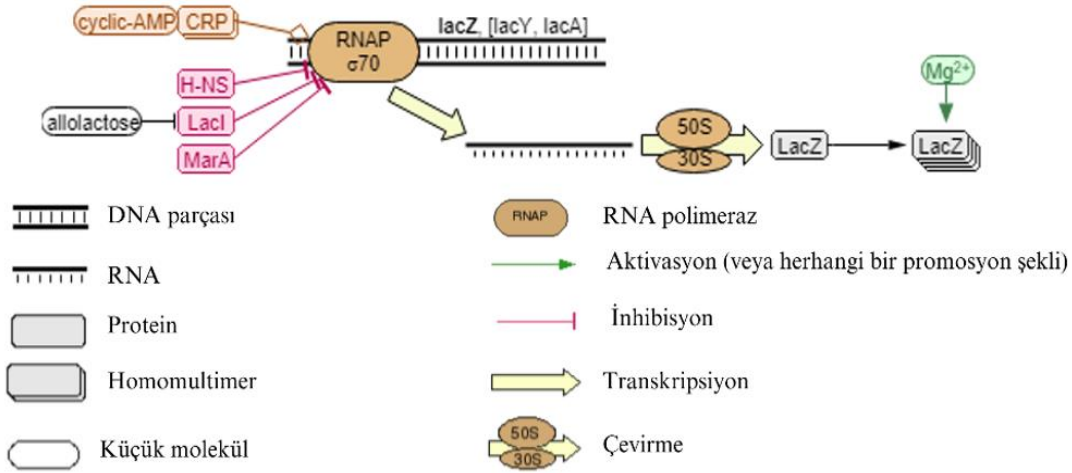
Bakteriler gen düzenlemek için operonları kullanır. *lac* operonunu kontrol ederek, bakteri hücreleri laktöz şekerinin varlığına yanıt olarak gen ifadesini düzenleyebilir. *Lac* operonu *lacZ* ( $\beta$ -Galaktosidaz enzimini kodlar), *lacY* (permeaz enzimini kodlar) ve *lacA* (asetilaz enzimini kodlar) olmak üzere üç genden oluşur.

### Tüm Genom Dizileme (WGS, Whole Genome Sequencing)

Tüm genom dizileme bir organizmanın DNA'sının tüm dizisini belirleyerek genetik bilgilerin kapsamlı bir analizini sağlayan bir tekniktir (CDC, 2022b). Tüm genom dizileme ile tüm genetik materyalin tam bir haritası oluşturulduğu için organizmanın genetik varyasyonları, tekrarlayan dizileri, mutasyonları ve diğer genetik özellikleri incelenebilmektedir (Roach vd., 1995; Roach vd., 2010; Lewis, 2013). WGS, DNA bazlı veya RNA bazlı sekanslama yöntemlerini içermektedir (Alberts vd., 2002). DNA bazlı genom sekanslama yöntemleri, organizmanın DNA'sının dizisini belirlemek için

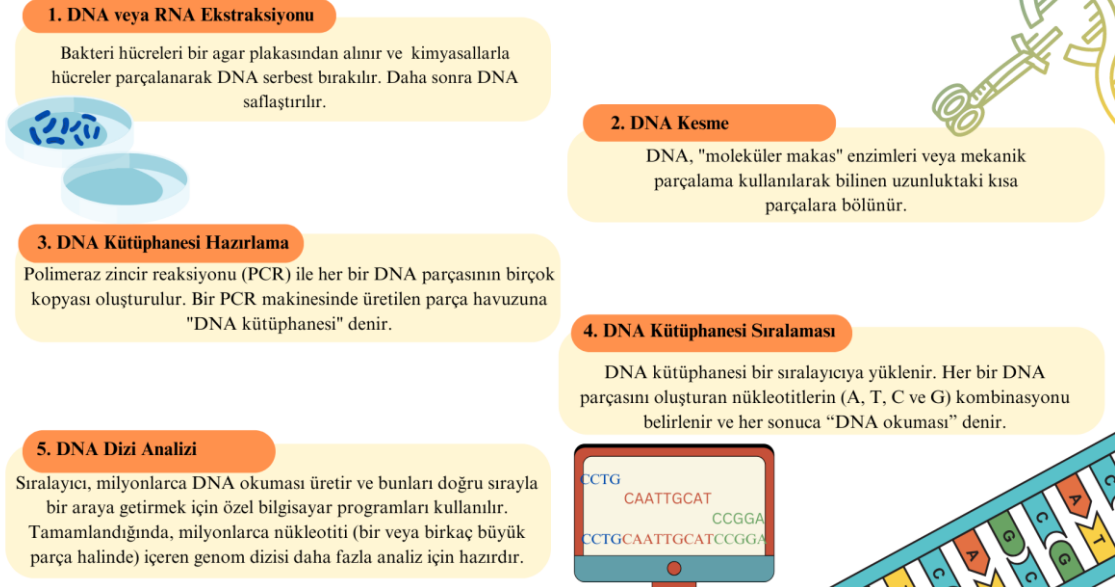
kullanılır. Uzun DNA parçalarının tek sarmal dizilenmesini sağlayan Sanger dizileme ve kısa parçaların aynı anda yüksek sayıda dizilenmesini sağlayan yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing-NGS) yöntemleri DNA bazlı genom sekanslama yöntemlerindedir (KhanAcademy, 2023). RNA bazlı genom sekanslama yöntemleri ise, organizmaların transkriptomunu (tüm RNA

moleküllerini) incelemek için kullanılır. Burada amaç organizmanın tüm transkriptlerinin dizisini belirlemektir. RNA-Seq ve kütüphane tabanlı RNA sekanslama yöntemleri RNA bazlı genom sekanslama yöntemlerindedir (Kukurba ve Montgomery, 2015). Şekil 3'te tüm genom sekanslama basamakları verilmiştir (CDC, 2022b).



Şekil 2. *LacZ* üzerindeki düzenleyici etkilerin özeti.

### TÜM GENOM SEKANSLAMA



Şekil 3. Tüm genom sekanslama basamakları.



Bir *E. coli* suşunun (*E. coli* K-12) ilk tüm genom dizisi 1997'de yayınlanmıştır (Blattner vd., 1997). O zamandan beri binlerce *E. coli* izolatının dizileri elde edilmiş (NCBI, 2024) ve mevcut verilerden, *E. coli* genomunun (plazmitleri ve profajı içeren) boyutunun değişebileceği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, tüm genom dizilimi, alelik varyasyona veya serotipleme gibi gen içeriğindeki farklılıklara dayanan *E. coli* alt türlerini doğru bir şekilde belirlemek için kullanılabilir (Ingle vd., 2016). Tüm genom dizilimi aynı zamanda dizi tiplemesinin temelini oluşturan *E. coli*'nin çekirdek genomundaki tek nükleotit polimorfizmleri hakkında bilgi sağlar ve bireysel suşların evrimini ve yayılmasını izlemek için diğer sistemlerden daha güvenilirdir (Robins-Browne vd., 2016).

### ***E. coli* ve CRISPR teknolojisi**

Genom düzenleme, özellikle bilimsel ve endüstriyel önemi olan mikroorganizmalardaki fizyolojik ve metabolik süreçlerin genetik temelini araştırmaları için oldukça önem arz etmektedir (Li vd., 2016; Liang vd., 2017). Bakterilerde genom düzenlemeye yönelik mevcut en son teknoloji yaklaşımı, bir DNA şablonunun homolog rekombinasyonunu CRISPR-Cas (Kümelenmiş, düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar (CRISPR)/CRISPR ile ilişkili protein (Cas)) sistemlerinde programlanabilir nükleazlar tarafından hedeflenen DNA ile birleştirmektir (Arroyo-Olarte vd., 2021). CRISPR ilk olarak *Escherichia coli*'de (Ishino vd., 1987) keşfedilmiş ve son zamanlarda birçok bakteride (Sorek vd., 2008) tanımlanmıştır. CRISPR'lar, diziye özgü bir şekilde nükleik asidi hedefleyerek virüslere ve plazmitlere karşı kazanılmış bağışıklık sağlar (Horvath ve Barrangou, 2010). *Escherichia coli*'de CRISPR-Cas sistemlerinin transkripsiyonel baskılayıcı özelliği nedeniyle laboratuvar koşullarında aktif olmadığı genel olarak kabul edilmektedir. Doğal izolatlarda, CRISPR dizilerinin yıllar boyunca sabit kaldığı ve çoğu aralayıcı hedefin (protospacer) bilinmediği gösterilmiştir. Son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalar bilinen doğal *E. coli* aralayıcı kütüphanesini de %60 oranında genişletmiştir (Dion vd., 2024).

*Escherichia coli*, etanol, yüksek alkoller, yağ asitleri, amino asitler, şikimat türevleri, terpenoidler, poliketidler gibi kimyasalların üretiminde en yaygın kullanılan hücresel fabrikalardan biridir (Yang vd., 2021). Bu biyokimyasalların üretimine yönelik metabolik mühendislik, verimliliğin artması için hücresel metabolizmanın yeniden düzenlenmesini gerektirir. Genom düzenleme, zaman kazandıran sıralı veya çoklu manipülasyonları gerçekleştirmek için etkili araçlar sağlamaktadır (Dong vd., 2021). Daha önce gen silme ve yerleştirme de dahil olmak üzere çeşitli hassas genom modifikasyonlarını en yüksek verimlilikle gerçekleştirmek için *Streptococcus pyogenes* Tip II CRISPR-Cas9 sistemini kullanarak *Escherichia coli* genomuna hedefli, sürekli bir çoklu gen düzenleme stratejisi uygulanarak üç hedefe kadar eşzamanlı çoklu gen düzenleme gerçekleştirilmiştir (Jiang vd., 2015). Etkili bir gen düzenleme aracı olan CRISPR yanı sıra CRISPR müdahalesi de (CRISPRi) programlanabilir gen baskılaması için tasarlanmıştır (Wu vd., 2017). Emek yoğun çalışmalar sonunda tasarlanmış *E. coli* suşunun gelişimi, yinelemeli gen mutasyonunu, bir genin silinmesini veya eklenmesini içerebilmektedir (Maeder ve Gersbach, 2016). CRISPR ve CRISPRi ayrı ayrı kullanılabilmesi gibi birlikte ele alındığında, CRISPR ve CRISPRi kombinasyonu ile *E. coli*'nin metabolik mühendisliğinin yapılabilirliği gösterilmiştir (Wu vd., 2017).

### **SONUÇ**

Endüstriyel uygulama gereksiniminin artması nedeni ile mikroorganizmaların tanımlanması, genetik çeşitliliğinin ortaya konması ve yeniden inşası giderek daha fazla önem kazanan bir konudur. Bu çalışma model organizma olarak kullanılan ve önemi gittikçe artan *E. coli* üzerine bakteri genetiği açısından farklı bir bakış açısı ile giriş niteliğinde bir inceleme sağlamaktadır. Gıda mikrobiyolojisi alanında daha fazla bakteriyel genetik araştırmaları ve ilgili stratejiler ile elde edilen bilgiler endüstriyel uygulamalar için yeni olanaklar sunacaktır.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI**

Bu çalışmada yazarlar arasında, başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**YAZAR KATKILARI**

Yazarlar makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır.

**KAYNAKLAR**

- Alberini, C. M. (2009). Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiological reviews*, 89(1): 121-145, doi:10.1152/physrev.00017.2008.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). Isolating, cloning, and sequencing DNA. In: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, NewYork.
- Arroyo-Olarte, R. D., Bravo Rodríguez, R., Morales-Ríos, E. (2021). Genome Editing in Bacteria: CRISPR-Cas and Beyond. *Microorganisms*, 9(4), doi:10.3390/microorganisms9040844.
- ATCC. (2024). *Escherichia coli* (ATCC® 29055™). ATCC. <https://genomes.atcc.org/genomes/ac6f0af3fb53407f?tab=overview-tab> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Beal, M. A., Meier, M. J., Dykes, A., Yauk, C. L., Lambert, I. B., Marchetti, F. (2023). The functional mutational landscape of the lacZ gene. *iScience*, 26(12): 108407, doi:10.1016/j.isci.2023.108407.
- Bigler, A. (2023). Propelling Rare Disease Research for More Than 50 Years. National Institute of General Medical Sciences. <https://biobeat.nigms.nih.gov/category/genes/> (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Blattner, F. R., Plunkett, G., 3rd, Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., Mayhew, G. F., Gregor, J., Davis, N. W., Kirkpatrick, H. A., Goeden, M. A., Rose, D. J., Mau, B., Shao, Y. (1997). The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 277(5331): 1453-1462, doi:10.1126/science.277.5331.1453.
- Blount, Z. D. (2015). The unexhausted potential of *E. coli*. *Elife*, 4: e05826.
- CDC. (2022a). *Escherichia coli* <https://www.cdc.gov/ecoli/index.html> (Erişim Tarihi: 05.05.2023).
- CDC. (2022b). Whole Genome Sequencing. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/wgs.html> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- De La Cruz, F., Frost, L. S., Meyer, R. J., Zechner, E. L. (2010). Conjugative DNA metabolism in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(1): 18-40, doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00195.x.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1): 37-54, doi:10.1038/s41579-020-0416-x.
- Dion, M. B., Shah, S. A., Deng, L., Thorsen, J., Stokholm, J., Krogfelt, K. A., Schjørring, S., Horvath, P., Allard, A., Nielsen, D. S., Petit, M.-A., Moineau, S. (2024). *Escherichia coli* CRISPR arrays from early life fecal samples preferentially target prophages. *The ISME Journal*, doi:10.1093/ismejo/wrae005.
- Dobrin, R., Beg, Q. K., Barabási, A.-L., Oltvai, Z. N. (2004). Aggregation of topological motifs in the *Escherichia coli* transcriptional regulatory network. *BMC bioinformatics*, 5(1): 1-8, doi:10.1186/1471-2105-5-10.
- Dong, H., Cui, Y., Zhang, D. (2021). CRISPR/Cas Technologies and Their Applications in *Escherichia coli*. *Front Bioeng Biotechnol*, 9: 762676, doi:10.3389/fbioe.2021.762676.
- EcoCyc. (2024). *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655 reference genome (EcoCyc) EcoCyc. <https://ecocyc.org/cgweb> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Fakruddin, M., Mohammad Mazumdar, R., Bin Mannan, K. S., Chowdhury, A., Hossain, M. (2013). Critical factors affecting the success of cloning, expression, and mass production of enzymes by recombinant *E. coli*. *International*

- Scholarly Research Notices*, 2013, doi:10.5402/2013/590587.
- Fillol-Salom, A., Alsaadi, A., Sousa, J. A. M. d., Zhong, L., Foster, K. R., Rocha, E. P., Penades, J. R., Ingmer, H., Haaber, J. (2019). Bacteriophages benefit from generalized transduction. *PLoS pathogens*, 15(7): e1007888, doi:10.1371/journal.ppat.1007888.
- Foster-Nyarko, E., Pallen, M. J. (2022). The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(3): fuac008, doi:10.1093/femsre/fuac008.
- Ghatak, S., King, Z. A., Sastry, A., Palsson, B. O. (2019). The y-ome defines the 35% of *Escherichia coli* genes that lack experimental evidence of function. *Nucleic acids research*, 47(5): 2446-2454, doi:10.1093/nar/gkz030.
- Griswold, A. (2008). Genome Packaging in Prokaryotes: The Circular Chromosomes of *E. coli*. *Nature Education*, 1(57).
- Grohmann, E., Muth, G. n., Espinosa, M. (2003). Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(2): 277-301, doi:10.1128/mubr.67.2.277-301.2003.
- Headd, B., Bradford, S. A. (2020). The Conjugation Window in an *Escherichia coli* K-12 Strain with an IncFII Plasmid. *Applied and environmental microbiology*, 86(17): e00948-00920, doi:10.1128/AEM.00948-20.
- Henderson, H. (2020). New Study Shows Huge Phages Are Everywhere. <https://innovativegenomics.org/news/huge-phages-are-everywhere/> (Erişim Tarihi: 16.02.2024).
- Holmes, R. K., Jobling, M. G. (1996). Genetics. In: *Medical microbiology* S. Baron (ed.), 4th Edition, University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Horvath, P., Barrangou, R. (2010). CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science*, 327(5962): 167-170, doi:10.1126/science.117955.
- Huang, C.-J., Lin, H., Yang, X. (2012). Industrial production of recombinant therapeutics in *Escherichia coli* and its recent advancements. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 39(3): 383-399, doi:10.1007/s10295-011-1082-9.
- Idalia, V.-M. N., Bernardo, F. (2017). *Escherichia coli* as a model organism and its application in biotechnology. *Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*, 13: 253-274.
- Ingle, D. J., Valcanis, M., Kuzevski, A., Tauschek, M., Inouye, M., Stinear, T., Levine, M. M., Robins-Browne, R. M., Holt, K. E. (2016). In silico serotyping of *E. coli* from short read data identifies limited novel O-loci but extensive diversity of O:H serotype combinations within and between pathogenic lineages. *Microbial Genomics*, 2(7): e000064, doi:10.1099/mgen.0.000064.
- Iranzadeh, A., Mulder, N. J. (2019). Bacterial Pan-Genomics. In: *Microbial Genomics in Sustainable Agroecosystems: Volume 1*, V. Tripathi, P. Kumar, P. Tripathi, A. Kishore (ed.), Springer, Singapore, pp. 21-38.
- Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., Nakata, A. (1987). Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of bacteriology*, 169(12): 5429-5433.
- Jiang, Y., Chen, B., Duan, C., Sun, B., Yang, J., Yang, S. (2015). Multigene Editing in the *Escherichia coli* Genome via the CRISPR-Cas9 System. *Applied and environmental microbiology*, 81(7): 2506-2514, doi:10.1128/AEM.04023-14.
- Joseph, A., Cointe, A., Mariani Kurkdjian, P., Rafat, C., Hertig, A. (2020). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. *Toxins*, 12(2): 67, doi:10.3390/toxins12020067.
- Kadner, R. J., Rogers, K. (2023). Exchange of genetic information. *Britannica*. <https://www.britannica.com/science/bacteria/The-importance-of-bacteria-to-humans> (Erişim Tarihi: 16.05.2023).

- Kalnins, A., Otto, K., Rütther, U., Müller-Hill, B. (1983). Sequence of the lacZ gene of *Escherichia coli*. *Embo Journal*, 2(4): 593-597, doi:10.1002/j.1460-2075.1983.tb01468.x.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2): 123-140, doi:10.1038/nrmicro818.
- Karp, P. D., Kothari, A., Paley, S., Krummenacker, M., Paulsen, I., Mackie, A., Moore, L., Collado-Vides, J., Bonavides-Martinez, C., Gama-Castro, S., Santos-Zavaleta, A., Tierrafria, V. H., Figueroa, P. L. (2021). Summary of *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655, version 27.5 Tier 1 Highly Curated Database. EcoCyc. <https://ecocyc.org/ECOLI/organism-summary> (Erişim Tarihi: 15.01.2024).
- Kasman, L. M., Porter, L. D. (2021). Bacteriophages. Treasure Island (FL).
- Keseler, I. M., Gama-Castro, S., Mackie, A., Billington, R., Bonavides-Martínez, C., Caspi, R., Kothari, A., Krummenacker, M., Midford, P. E., Muñoz-Rascado, L. (2021). The EcoCyc database in 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12: 711077, doi:10.3389/fmicb.2021.711077.
- KhanAcademy. (2023). DNA sequencing. <https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/biotechnology/a/dna-sequencing> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- Kukurba, K. R., Montgomery, S. B. (2015). RNA sequencing and analysis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015(11), doi:10.1101/pdb.top084970.
- Lee, S. Y., Nielsen, J., Stephanopoulos, G. (2017). Emerging areas in bioengineering. John Wiley & Sons, Republic of Korea, ISBN:3527803289.
- Lewis, T. (2013). Human genome project marks 10th anniversary. <https://www.livescience.com/28708-human-genome-project-anniversary.html> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- Li, H., Shen, C. R., Huang, C.-H., Sung, L.-Y., Wu, M.-Y., Hu, Y.-C. (2016). CRISPR-Cas9 for the genome engineering of cyanobacteria and succinate production. *Metabolic engineering*, 38: 293-302, doi:10.1016/j.ymben.2016.09.006.
- Liang, L., Liu, R., Garst, A. D., Lee, T., Beckham, G. T., Gill, R. T. (2017). CRISPR Enabled Trackable genome Engineering for isopropanol production in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*, 41: 1-10, doi:10.1016/j.ymben.2017.02.009.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., Franco, D. (2018). Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description. In: *Innovative Technologies for Food Preservation*, F. J. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, M. Koubaa (ed.), Academic Press, pp. 53-107.
- Ma, H.-W., Kumar, B., Ditges, U., Gunzer, F., Buer, J., Zeng, A.-P. (2004). An extended transcriptional regulatory network of *Escherichia coli* and analysis of its hierarchical structure and network motifs. *Nucleic acids research*, 32(22): 6643-6649, doi:10.1093/nar/gkh1009.
- Mackie, A. (2015). Summary of Regulatory Influences on lacZ. EcoCyc. <https://ecocyc.org/gene?orgid=ECOLI&id=EG10527> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Maeder, M. L., Gersbach, C. A. (2016). Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Molecular Therapy*, 24(3): 430-446, doi:10.1038/mt.2016.10.
- Makalowski, W. (2001). The human genome structure and organization. *Acta Biochimica Polonica*, 48(3): 587-598.
- Maloy, S. (2001). Bacterial Genetics. In: *Encyclopedia of Genetics*, S. Brenner J. H. Miller (ed.), Academic Press, New York, pp. 156-163.
- Maloy, S. (2013). Bacterial Genetics. In: *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*, S. A. Levin (ed.), Academic Press, Waltham, pp. 317-325.
- Martínez-Antonio, A., Janga, S. C., Thieffry, D. (2008). Functional organisation of *Escherichia coli* transcriptional regulatory network. *Journal of Molecular Biology*, 381(1): 238-247, doi:10.1016/j.jmb.2008.05.054.
- Martinson, J. N., Walk, S. T. (2020). *Escherichia coli* residency in the gut of healthy human adults.

- EcoSal Plus*, 9(1), doi:10.1128/ecosalplus.esp-0003-2020.
- Najafi, M. B. H., Pezeshki, P. (2013). Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal*.
- NCBI. (2024). Genome Information by Organism:Escherichia coli. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse#!/prokaryotes/167/> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- NHGRI. (2023). Plasmid. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Plasmid> (Erişim Tarihi: 21.05.2023).
- Nichols, R. J., Sen, S., Choo, Y. J., Beltrao, P., Zietek, M., Chaba, R., Lee, S., Kazmierczak, K. M., Lee, K. J., Wong, A. (2011). Phenotypic landscape of a bacterial cell. *Cell*, 144(1): 143-156, doi:10.1016/j.cell.2010.11.052.
- NIGMS. (2023). What is genetics? <https://nigms.nih.gov/education/factsheets/Pages/genetics.aspx#:~:text=%E2%80%8B%E2%80%8B%E2%80%8BWhat%20is,that%20help%20the%20body%20work> (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- O'Donnell, M., Langston, L., Stillman, B. (2013). Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), doi:10.1101/cshperspect.a010108.
- Okuda, S., Kawashima, S., Kobayashi, K., Ogasawara, N., Kanehisa, M., Goto, S. (2007). Characterization of relationships between transcriptional units and operon structures in *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *BMC genomics*, 8: 1-12, doi:10.1186/1471-2164-8-48.
- Petreaca, R. (2013). Yeast Genetics. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, Elsevier Inc., pp. 385-387.
- Pitout, J. D., Finn, T. J. (2020). The evolutionary puzzle of *Escherichia coli* ST131. *Infection, Genetics and Evolution*, 81: 104265.
- Raleigh, E. A., Low, K. B. (2013). Conjugation. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*, S. Maloy K. Hughes (ed.), Academic Press, San Diego, pp. 144-151.
- Roach, J. C., Boysen, C., Wang, K., Hood, L. (1995). Pairwise end sequencing: a unified approach to genomic mapping and sequencing. *Genomics*, 26(2): 345-353, doi:10.1016/0888-7543(95)80219-C.
- Roach, J. C., Glusman, G., Smit, A. F., Huff, C. D., Hubley, R., Shannon, P. T., Rowen, L., Pant, K. P., Goodman, N., Bamshad, M. (2010). Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science*, 328(5978): 636-639.
- Robins-Browne, R. M., Holt, K. E., Ingle, D. J., Hocking, D. M., Yang, J., Tauschek, M. (2016). Are *Escherichia coli* Pathotypes Still Relevant in the Era of Whole-Genome Sequencing? *Front Cell Infect Microbiology*, 6: 141, doi:10.3389/fcimb.2016.00141.
- Rosano, G. L., Ceccarelli, E. A. (2014). Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 5: 172, doi:10.3389/fmicb.2014.00172.
- Ruiz, N., Silhavy, T. J. (2022). How *Escherichia coli* Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology. *Journal of bacteriology*, 204(9): e00230-00222, doi:10.1128/jb.00230-22.
- Salgado, H., Gama-Castro, S., Peralta-Gil, M., Diaz-Peredo, E., Sánchez-Solano, F., Santos-Zavaleta, A., Martínez-Flores, I., Jiménez-Jacinto, V., Bonavides-Martinez, C., Segura-Salazar, J. (2006). RegulonDB (version 5.0): *Escherichia coli* K-12 transcriptional regulatory network, operon organization, and growth conditions. *Nucleic acids research*, 34(suppl\_1): 394-397, doi:10.1093/nar/gkj156.
- Shao, Q., Hawkins, A., Zeng, L. (2015). Phage DNA dynamics in cells with different fates. *Biophysical journal*, 108(8): 2048-2060, doi:10.1016/j.bpj.2015.03.027.
- Shen-Orr, S. S., Milo, R., Mangan, S., Alon, U. (2002). Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*. *Nature genetics*, 31(1): 64-68, doi:10.1038/ng881.

- Siegler, R. L. (1994). Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome. *The Journal of pediatrics*, 125(4): 511-518.
- Sorek, R., Kunin, V., Hugenholtz, P. (2008). CRISPR—a widespread system that provides acquired resistance against phages in bacteria and archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 6(3): 181-186, doi:10.1038/nrmicro1793.
- Taj, M. K., Samreen, Z., Ling, J. X., Taj, I., Hassan, T., Yunlin, W. (2014). *Escherichia coli* as a model organism. *International Journal of Engineering Research and Science and Technology*, 3(2): 1-8.
- Trevors, J. (1999). Evolution of gene transfer in bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 1-6.
- USDA. (2011). Overview of Food Microbiology. [https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media\\_file/2020-08/PHVt-Food\\_Microbiology.pdf](https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2020-08/PHVt-Food_Microbiology.pdf) (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Vasilyev, N., Liu, M. M., Epshtein, V., Shamovsky, I., Nudler, E. (2024). General transcription factor from *Escherichia coli* with a distinct mechanism of action. *Nature Structural & Molecular Biology*: 1-9, doi:10.1038/s41594-023-01154-w.
- Violle, C., Goldlust, K., Djermoun, S., Bigot, S., Lesterlin, C. (2020). Plasmid transfer by conjugation in Gram-negative bacteria: from the cellular to the community level. *Genes*, 11(11): 1239, doi:10.3390/genes11111239.
- Wang, D., Farhana, A. (2023). Biochemistry, RNA Structure. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Weinstock, G. M. (2013). Microbial Genetics. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*, S. Maloy K. Hughes (ed.), Academic Press, San Diego, pp. 392-395.
- Wu, M. Y., Sung, L. Y., Li, H., Huang, C. H., Hu, Y. C. (2017). Combining CRISPR and CRISPRi Systems for Metabolic Engineering of *E. coli* and 1,4-BDO Biosynthesis. *ACS Synthetic Biology*, 6(12): 2350-2361, doi:10.1021/acssynbio.7b00251.
- Xu, W., Klumbys, E., Ang, E. L., Zhao, H. (2020). Emerging molecular biology tools and strategies for engineering natural product biosynthesis. *Metabolic Engineering Communications*, 10: e00108, doi:10.1016/j.mec.2019.e00108.
- Yang, D., Prabowo, C. P. S., Eun, H., Park, S. Y., Cho, I. J., Jiao, S., Lee, S. Y. (2021). *Escherichia coli* as a platform microbial host for systems metabolic engineering. *Essays in biochemistry*, 65(2): 225-246, doi:10.1042/EBC20200172.
- Yano, B., Taniguchi, I., Gotoh, Y., Hayashi, T., Nakamura, K. (2023). Dynamic changes in Shiga toxin (Stx) 1 transducing phage throughout the evolution of O26:H11 Stx-producing *Escherichia coli*. *Scientific reports*, 13(1): 4935, doi:10.1038/s41598-023-32111-8.