

T.C
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ ORTAK PROGRAMI

**FARKLI SEVİYELERDE AMPİSİLİN DİRENÇLİ *ESCHERİCHIA COLI*
SUŞLARININ DİRENÇ MEKANİZMALARININ GENOMİK VE
TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ**

DOKTORA TEZİ

OSMAN TÜRKYILMAZ

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. CİHAN DARCAN

BİLECİK, 2024

10585810

T.C
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ ORTAK PROGRAMI

**FARKLI SEVİYELERDE AMPİSİLİN DİRENÇLİ *ESCHERİCHIA COLI*
SUŞLARININ DİRENÇ MEKANİZMALARININ GENOMİK VE
TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ**

DOKTORA TEZİ

OSMAN TÜRKYILMAZ

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. CİHAN DARCAN

BİLECİK, 2024

10585810

BEYAN

“Farklı Seviyelerde Ampisilin Dirençli *Escherichia coli* Suşlarının Direnç Mekanizmalarının Genomik ve Transkriptomik Analizi” adlı doktora tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın,			
Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
DESTEK ALINMIŞTIR	X	DESTEK ALINMAMIŞTIR	
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum; TÜBİTAK			
Desteğin Türü	Proje Numarası		
1- TÜBİTAK 1002	121Z657		
2- TÜBİTAK 1002B	222Z010		
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:/.....		

Öğrenci Adı ve Soyadı

Osman TÜRKYILMAZ

Tarih

..../..../2024

İmza

.....

ÖN SÖZ

Bu tez çalışması kapsamında, ampisilin direnç seviyesindeki farkın moleküler mekanizması, genomik ve transkriptomik yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin tüm araştırmacılara ve ilgili kurumlara faydalı olmasını arzu ederim.

Bu çalışmayı yapmama ilham olan, çalışmalarım boyunca rehberliğiyle yol gösteren, olumlu tavrıyla beni cesaretlendiren, bilgi birikimiyle çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan ve beni akademik hayata en iyi şekilde hazırlayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Cihan DARCAN'a en derin saygılarımla teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen ekip arkadaşlarıma ve aynı laboratuvarında tüm zamanımı birlikte geçirdiğim, ihtiyacım olduğu her anda düşünmeden yardıma koşan arkadaşım Öğr. Gör. Özge KAYGUSUZ İZGÖRDÜ'ye değerli katkı ve emekleri için teşekkürlerimi ve saygılarımla sunarım.

Doktora çalışmam süresince her anımda yanımda olan ve benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyerek bugünlere ulaşmamı sağlayan sevgili annem Nuran TÜRKYILMAZ, babam Alican TÜRKYILMAZ ve kardeşim Furkan TÜRKYILMAZ'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimin her aşamasında yanımda olan, desteklerini benden esirgemeyen ve bu zorlu sürecin tamamında bana büyük bir sabır gösteren sevgili eşim Dilek TÜRKYILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim

Son olarak bu çalışmayı gerçekleştirmem için gerekli maddi desteği 121Z657 ve 222Z010 numaralı projelerle sağlayan TÜBİTAK'a özellikle teşekkür etmek isterim.

Osman TÜRKYILMAZ

2024

ÖZET

FARKLI SEVİYELERDE AMPİSİLİN DİRENÇLİ *ESCHERİCHIA COLİ* SUŞLARININ DİRENÇ MEKANİZMALARININ GENOMİK VE TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ

Antibiyotik direnci, enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede önemli bir sorundur. Mikroorganizmaların direnç seviyesindeki farklılıklar, antibiyotik direnç mekanizmalarının anlaşılmasında zorluklara neden olmaktadır. Bu nedenle antibiyotik direnç seviyesindeki farklılıkların altında yatan moleküler nedenlerin aydınlatılması gerekmektedir. Bunu yapmak için, ampisilin antibiyotiğine adaptif direnç kazandırılmış farklı direnç seviyelerine sahip üç *Escherichia coli* suşunda genomik ve transkriptomik analizler gerçekleştirilmiştir. Farklı seviyede direnç gösteren suşların tüm genom dizilemesi sonucunda, 10 kat dirençli suşlarda 5 mutasyon tespit edilirken 95 kat dirence sahip suşa bunlara ek olarak 2 mutasyon daha tespit edilmiştir. Toplamda yedi mutasyondan 3 tanesi sadece tek baz değişimi şeklinde ortaya çıkmışken diğer 4 tanesi insersiyon yada delesyon olarak ortaya çıkmıştır. 10 katlık direnç seviyesine ulaşılmasında *ftsI*, *marAR* ve *rpoC* genlerinde bulunan mutasyonların etkisi ile ulaşıldığı düşünülürken, 95 katlık direnç seviyesine tespit edilen 5 mutasyon ile *ampC* mutasyonunun sinerjistik etkisi ile ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra genel transkriptomik profiller incelendiğinde benzer transkriptomik yanıtların indüklendiği gözlemlendi. Bu çalışma farklı direnç seviyelerine sahip bakterilerdeki direnç mekanizmalarına bakış açımızı geliştirecek ve ampisilin dirençli *E. coli* suşlarında antibiyotik direncinin moleküler mekanizmasını anlamamız için temel oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, Adaptasyon, Adaptif laboratuvar deneyleri, Ampisilin, Genomik ve transkriptomik analizler

ABSTRACT

GENOMIC AND TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS OF RESISTANCE MECHANISMS OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS WITH DIFFERENT LEVELS OF AMPICILLIN RESISTANCE

Antibiotic resistance is a major challenge in the fight against infectious diseases. Differences in the resistance levels of microorganisms cause great difficulties in understanding the mechanisms of antibiotic resistance. The molecular reasons for the differences in antibiotic resistance must therefore be clarified. For this purpose, genomic and transcriptomic analyzes were performed on three *Escherichia coli* strains with varying degrees of adaptive resistance to ampicillin. Whole genome sequencing of strains with different levels of resistance detected 5 mutations in strains with 10-fold resistance and 2 additional mutations in strains with 95-fold resistance. Overall, 3 of the seven mutations occurred as a single base change, while the other 4 occurred as insertions or deletions. While it was thought that 10-fold resistance was achieved by the effect of mutations in the *ftsI*, *marAR*, and *rpoC* genes, it was found that 95-fold resistance was achieved by the synergistic effect of 5 mutations and the *ampC* mutation. In addition, when the general transcriptomic profiles were examined, it was found that similar transcriptomic responses were elicited in strains with different levels of resistance. This study will improve our view of resistance mechanisms in bacteria with different levels of resistance and provide the basis for our understanding of the molecular mechanism of antibiotic resistance in ampicillin-resistant *E. coli* strains.

Keywords: Antibiotic resistance, Adaptation, Adaptive laboratory experiments, Ampicillin, Genomic and transcriptomic analyzes

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. <i>E. coli</i> : Antimikrobiyal Direncin Araştırılması için Bir Model Organizma.....	4
2.2. Antimikrobiyallerin Kökeni	5
2.3. Antibiyotik Direncinin Ortaya Çıkışı.....	7
2.4. Antibiyotik Direnç Problemi	11
2.5. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	14
2.5.1. Geçirgenliğin Azalması	14
2.5.2. Antibiyotiklerin Dışa Atımı	16
2.5.3. Hedefin Yapısının Değiştirilmesi, Modifikasyonu ve Koruması.....	18
2.5.4. Antibiyotiklerin İnaktivasyonu ve Modifikasyonu	20
2.5.5. Antibiyotik Hedefinin Bypass Edilmesi.....	23
2.6. Laboratuvar Ortamında Bakteriyel Adaptasyon ve Evrim	25
2.7. Adaptif Antibiyotik Direnç Gelişimine Yönelik Daha Önceki Çalışmalar	30
2.8. Çalışmanın Amaçları.....	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1. Materyaller	36
3.1.1. Kullanılan <i>E. coli</i> Suşları ve Plazmitler.....	36
3.1.2. Besiyerleri.....	37
3.2. Yöntemler	38
3.2.1. Adaptasyon Deneyleri ile Antibiyotik Direnci Kazandırma	38
3.2.2. Duyarlılık Testleri.....	39
3.2.3. Direnç Kazanmış Suşların Biyokimyasal Özelliklerinin Test Edilmesi.....	40
3.2.4. Büyüme Deneyleri.....	41
3.2.5. DNA İzolasyonu	41
3.2.6. Agaroz Jel Elektroforezi	42
3.2.7. Tüm Genom Dizileme	42
3.2.8. RNA İzolasyonu	44
3.2.9. RNA Dizileme.....	45

3.2.10. Biyoinformatik Veri Analizi	46
3.2.11. RT-qPCR için Gen Belirlenmesi ve Primer Tasarımı.....	47
3.2.12. Primerlerin Sulandırılması.....	48
3.2.13. RT-qPCR.....	48
3.2.14. <i>ampC</i> Gen Bölgesinin Sentezlenerek pEX-K248 Plazmitine Aktarılması	50
3.2.15. Transformasyon	53
3.2.16. Koloni PCR	54
3.2.17. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testleri.....	55
3.2.18. İstatistiksel Analiz.....	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. Suşların MİK Değerleri	57
4.2. Adaptasyon Deneyleri Sonucunda Elde Edilen Suşların Petri Görüntüsü	58
4.3. Ampsiline Adapte Edilmiş Suşların Büyüme Deneyleri	59
4.4. Ampsiline Adapte Edilmiş Suşların Biyokimyasal Testleri.....	60
4.5. Genom ve Transkriptom Analizi için Suşların Seçimi.....	60
4.6. Tüm Genom Dizileme.....	60
4.6.1. DNA Örneklerinin Değerlendirilmesi	60
4.6.2. Tüm Genom Dizileme Sonuçları.....	62
4.7. RNA-Dizileme	63
4.7.1. RNA Örneklerinin Değerlendirilmesi	63
4.7.2. RNA-Dizileme Verilerinin Değerlendirilmesi	65
4.7.3. RNA-Dizileme Sonuçları.....	68
4.7.4. Mutasyon Verileri ile Transkriptom Verilerinin Karşılaştırılması.....	73
4.7.5. RT-qPCR ile RNA-Dizileme Sonuçlarının Doğrulanması.....	76
4.8. <i>ampC</i> Promotör Mutasyonunun Etkisinin Doğrulanması.....	78
4.8.1. pEX-K248- <i>ampC</i> Plazmitinin Hazırlanması ve Dizilenmesi.....	78
4.8.2. pEX-K248- <i>ampC</i> plazmitinin <i>E. coli</i> W3110 ve <i>E. coli</i> W3110-10 Suşlarına Transformasyonu	82
4.8.3. pEX-K248- <i>ampC</i> Plazmitini İçeren Suşlarda Direnç ve Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi	82
4.9. Dirençli Suşların Farklı Antibiyotik ve Metallere Karşı Direnç Durumunun İncelenmesi	84
5. TARTIŞMA	86
6. SONUÇ	105
KAYNAKÇA	107
EKLER	132

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Etiketli DNA'nın Amplifikasyonunda Kullanılan Döngü Şartları	43
Tablo 3.2. RT-qPCR Primer Dizileri.....	48
Tablo 3.3. Ters Transkripsiyon Reaksiyon Bileşenleri	49
Tablo 3.4. Ters Transkripsiyon PCR Koşulları.....	49
Tablo 3.5. RT-qPCR Bileşenleri	50
Tablo 3.6. RT-qPCR Döngü Koşulları	50
Tablo 3.7. pEX-K248- <i>ampC</i> Plazmitini Doğrulamak için Kullanılan Primer Dizileri	54
Tablo 3.8. Koloni PCR Bileşenleri.....	54
Tablo 3.9. PCR Döngü Şartları	54
Tablo 3.10. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testinde Kullanılan Metaller	55
Tablo 3.11. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testinde Kullanılan Antibiyotikler	56
Tablo 4.1. Adaptasyon Süreci Boyunca Organizmaların MİK Değeri.....	57
Tablo 4.2. İzole Edilen DNA'ların Kalite Değerleri.....	62
Tablo 4.3. Pasajlama Sürecinde Meydana Gelen Mutasyonlar.....	62
Tablo 4.4. RNA'ların Kalite Analizi Sonuçları	65
Tablo 4.5. RNA Dizileme Verilerine Ait Özet Bilgiler.....	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Antimikrobikallerin Keşif Çizelgesi	6
Şekil 2.2. Antibiyotik Hedef Yapısının Değiştirilmesi ve Modifikasyonu	18
Şekil 2.3. Antibiyotik Hedefinin Korunması.....	19
Şekil 2.4. Antibiyotik İnaktivasyonu ve Modifikasyonu	22
Şekil 2.5. Antibiyotik Hedefinin Devre Dışı Bırakılması	23
Şekil 2.6. Sıvı Ortamda Adaptasyon Deney Düzenekleri	26
Şekil 2.7. Mega Plate Deney Düzeneği.....	28
Şekil 2.8. Katı Ortamda Adaptasyon Deney Düzenekleri.....	29
Şekil 3.1. pEX-K248- <i>ampC</i> Haritası	36
Şekil 3.2. Ampisilin Adaptasyon Süreci	39
Şekil 3.3. Sentezlenen <i>ampC</i> Geninin Haritası.....	51
Şekil 4.1. Final Suşlarına Ait Petri Görüntüleri.....	58
Şekil 4.2. 26. Pasaj Suşlarına Ait Büyüme Grafiği.....	59
Şekil 4.3. 50. Pasaj Suşlarına Ait Büyüme Grafiği.....	59
Şekil 4.4. İzole Edilen DNA'ların Agaroz Jel Görüntüsü	61
Şekil 4.5. DNA Fragment Analizi Sonuçları.....	61
Şekil 4.6. İzole Edilen RNA'nın Jel Görüntüsü	64
Şekil 4.7. Saflaştırılmış RNA'ların Jel Görüntüsü	64
Şekil 4.8. RNA Dizileme Verilerine Ait PCA Grafiği.....	66
Şekil 4.9. RNA Dizileme Verilerine Ait Isı Haritası	67
Şekil 4.10. <i>E. coli</i> W3110-10 ve <i>E. coli</i> W3110-95 Suşlarına Ait Global Ekspresyon Profilleri.....	68
Şekil 4.11. Gen İfade Verilerine Ait Volkan Grafiği.....	69
Şekil 4.12. <i>E. coli</i> W3110-10 ve <i>E. coli</i> W3110-95 Suşlarında Tespit Edilen DEG Sonuçlarını Karşılaştıran Venn Diyagramları.....	70
Şekil 4.13. <i>E. coli</i> W3110-10 ve <i>E. coli</i> W3110-95 Suşlarında Tespit Edilen DEG'lerin GO Zenginleştirme Analizi.....	72
Şekil 4.14. Yolak Zenginleştirme Analizi Sonuçları	73
Şekil 4.15. Mega Arayüzü.....	74
Şekil 4.16. Promotor Mutasyonuna Sahip Genlerin Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	75
Şekil 4.17. RT-qPCR Primerlerinin Koloni PCR ile Doğrulanması.....	76
Şekil 4.18. Seçilen Genlere Ait İfade Grafikleri.....	77
Şekil 4.19. <i>ampC</i> Gen Bölgesinin Dizileme Sonuçları	79
Şekil 4.20. pEX-K248- <i>ampC</i> Transforme Edilmiş Hücrelerin PCR ile Doğrulanmasına Ait Agaroz Jel Görüntüsü.....	82
Şekil 4.21. <i>E. coli</i> W3110-10, <i>E. coli</i> W3110-95, <i>E. coli</i> W3110- <i>ampC</i> ve <i>E. coli</i> W3110-10- <i>ampC</i> 'nin Ampisilin MİK Seviyeleri ve <i>ampC</i> Gen Ekspresyon Seviyeleri	83

Şekil 4.22. Dirençli Suşların Diğer Antibiyotikler ve Metaller ile Disk Difüzyon Deney Sonuçları...	84
Şekil 5.1. <i>ampC</i> Promotor Bölgesi ve <i>E. coli</i> W3110-95 Suşunda Tespit Edilen İnsersiyon	92

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<i>A. baumannii</i>	: <i>Acinetobacter baumannii</i>
ABC	: ATP Bağlayıcı Kaset Ailesi
ALE	: Adaptif Laboratuvar Evrimi
BAM	: İkili Hizalama Haritası (Binary Alignment Map)
BLAST	: Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (Basic Local Alignment Search Tool)
BLDB	: Beta Laktamaz Veri Tabanı
BWA	: Burrows-Wheeler Hizalayıcısı
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
cDNA	: Komplementer DNA
DAEC	: Diffuz Aderent <i>E. coli</i>
DEG	: Farklı Şekilde İfade Edilen Gen
DHFR	: Dihidrofolat Redüktaz
DHPS	: Dihidropteroat Sentetaz
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
EAEC	: Enteroaggregatif <i>E. coli</i>
EF-G	: Uzama Faktörü G
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB	: Eozin Metilen Mavisi Besiyeri
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
EPS	: Ekzopolisakkarit
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>

FDR	: Yanlış Keşif Oranı
GAD	: Glutamat Dekarboksilaz
GC	: Guanin ve Sitozin
GO	: Gen Ontoloji
GSBL	: Genişletilmiş Spektrumlu β -laktamazlar
GSYH	: Gayri Safı Yurt İçi Hasıla
<i>H. influenzae</i>	: <i>Haemophilus influenzae</i>
IDSA	: Amerika Bulacı Hastalıklar Derneği
KAAS	: KEGG Otomatik Açıklama Sunucusu
kDA	: Kilo Dalton
KEGG	: Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi
LB	: Luria Bertani Besiyeri
LPS	: Lipopolisakkarit
M	: Molar
MATE	: Çoklu İlaç ve Toksik Bileşen Ekstrüzyon Ailesi
Mb	: Megabayt
MEGA	: Mutasyon ve Ekspresyon Görüntüleme Aracı
MFS	: Ana Kolaylaştırıcı Süper Ailesi
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
Mm	: MiliMetre
MR	: Metil Kırmızısı
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i>
MSK	: Minimum Sidal Konsantrasyon
<i>N. gonorrhoeae</i>	: <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>N. meningitidis</i>	: <i>Neisseria meningitidis</i>
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi

OD	: Optik Yoğunluk
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PBS	: Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEC	: <i>E. coli</i> Genom Veritabanı (Profiling of <i>E. coli</i> Genome)
pH	: Potansiyel Hidrojen
Q	: Fred Skoru
qPCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIN	: RNA Bütünlük Sayısı
RNA	: Ribonükleik Asit
RND	: Direnç-Nodulasyon-Hücre Bölünmesi Ailesi
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. enterica</i>	: <i>Salmonella enterica</i>
SAM	: Dizi Hizalama Haritası
SHEA	: Amerika Sağlık Hizmetleri Epidemiyolojisi Derneği
SMR	: Küçük Çoklu İlaç Direnç Ailesi
SNP	: Tek Nükleotit Polimorfizmi
SOB	: Süper Optimal Besiyeri
SOC	: Katabolit Baskılayıcı Süper Optimal Besiyeri
sRNA	: Küçük Düzenleyici RNA'lar
TE	: Tris-Edta
UAMDSS	: Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi
UTR	: Translasyon Olmayan Bölge

VCF	: Varyant Çağrı Formatı
VP	: Voges Proskauer Besiyeri
WEF	: Dünya Ekonomi Forumu
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
bç	: Baz Çifti
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Yer Çekimi İvmesi
g	: Gram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
ng	: Nanogram
β	: Beta
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

1. GİRİŞ

Antibiyotikler, bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan oldukça önemli ilaçlardır. Keşfinden bu yana antibiyotikler, sayısız insan hayatını kurtarmış ve insan ömrünün ortalama 20 yıl uzamasını sağlamıştır (Hutchings vd., 2019). Ancak günümüzde bakterilere karşı kullanılan bu silahlar etkisini kaybetmektedir. Antibiyotik direnci ile birlikte bakteriler, antibiyotiklere karşı savunma mekanizmaları geliştirerek antibiyotiklerin etkisini azaltmakta veya ortadan kaldırmaktadır. Dirençli patojenler tüm dünyada en önde gelen ölüm nedenlerinden birisidir. Antibiyotik direnci, enfeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırmakta, tedavi sürelerini uzatmakta, ekonomik maliyetleri artırmakta ve ölüm oranlarını yükseltmektedir. Dolayısıyla dirençli patojenler nedeniyle insan, hayvan ve çevre sağlığı büyük bir tehlike altındadır.

Antibiyotik direncinin ilk belirtileri, antibiyotiklerin klinik kullanımının ardından ortaya çıkmıştır. Penisilin ilk kez kullanılmasından kısa bir süre sonra, hastanelerde penisilin direncine sahip bakterilerle karşılaşmıştır (Aminov, 2010). Benzer şekilde, aminoglikozitlere karşı dirençli bakteriler de klinik kullanımın başlamasından sonra hızla ortaya çıkmıştır (Chambers ve DeLeo, 2009). Antibiyotiklerin kullanımının artmasıyla bu sorun daha da yaygın hale gelmiştir (Appelbaum, 2006; Lowy, 2003). Günümüzde antibiyotik direnci, insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmakta ve buna yönelik acil tedbirler alınması gerekmektedir. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı, önemli patojen organizmaların hızla direnç geliştirmesine yol açmıştır. Dirençli bakterilerin kontrol altına alınması giderek daha zor hale gelmektedir ve bu sorunla mücadele etmek için direnç mekanizmalarının ayrıntılarına dair daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Mikroorganizmalar, çevresel şartlara hızlı bir şekilde adapte olabilen canlılardır. Mevcut antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiş olan mikroorganizmalar, yeni keşfedilen antibiyotiklere de kolaylıkla direnç kazanmaktadır. Her yıl ABD'de 150.000, Avrupa'da ise yaklaşık 25.000 kişi bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle hayatını kaybetmektedir (Burnham vd., 2019; Abat vd., 2018). Direnç gelişim hızı yavaşlamazsa, Türkiye'de antibiyotiklere dirençli patojenlerden kaynaklanan yıllık ölüm sayısının 2035 yılına kadar 23.000'e, dünya genelinde ise 2050 yılına kadar 10 milyonun üzerine çıkması beklenmektedir (WHO, 2014; OECD, 2023). Bu rakam, kanser, trafik kazaları veya diyabet gibi nedenlerle hayatını kaybeden insan sayısından çok daha fazladır (WHO, 2014).

Antibiyotik kullanım miktarı günümüzde endişe verici boyutlara ulaşmıştır. Yapılan bir çalışmaya göre 2018 yılında dünya genelinde her 1000 kişinin günde ortalama 14,3 doz antibiyotik kullandığı tahmin edilmektedir. Bu da tüm dünyada günlük 40,2 milyar doz antibiyotik kullanıldığı anlamına gelmektedir (Browne vd., 2021). Ülkemiz ise, 1000 kişi başına günlük 42 doz antibiyotik kullanımı ile dünya ortalamasının çok daha üzerindedir (Versporten vd., 2014). Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde en sık kullanılan antibiyotikler β -laktam sınıfına aittir. Kullanılan antibiyotiklerin %60'ından fazlasını β -laktam antibiyotikler oluşturmaktadır (Eiamphungporn vd., 2018). Antibiyotik direnci ile antibiyotik kullanımı arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Dünya sağlık örgütünün (DSÖ-WHO) 2021 yılında Avrupa genelinde yapmış olduğu araştırmada klinik *Escherichia coli* (*E. coli*) izolatlarının %53,1'inin aminopenisilin, %13,8'inin üçüncü kuşak sefalosporin ve %0,2'sinin de karpabenem dirençli olduğu tespit edilmiştir (WHO, 2023). Türkiye'de ise direnç oranları Avrupa ortalamasının çok daha üzerindedir. Ülkemizdeki klinik *E coli* izolatlarının %74,1'inin aminopenisilin, %50,2'sinin üçüncü kuşak sefalosporin ve %4,7'sinin de karpabenem dirençli olduğu ifade edilmektedir (WHO, 2023). Yarı sentetik bir antibiyotik olan ampisilin, *E. coli* hücrelerinde direncin en sık gözlemlendiği aminopenisilin grubuna aittir (Monaghan vd., 2021). Bu antibiyotik, idrar yolu enfeksiyonları (Heintz vd., 2010), gastrointestinal enfeksiyonlar (Kim vd., 2019), pnömoni (Kato vd., 2022), neonatal streptokok enfeksiyonları (Bratzler vd., 2013), koryoamniyonit (Conde-Agudelo vd., 2020) ve karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) enfeksiyonları (Tamma vd., 2022) gibi birçok farklı enfeksiyon türünü tedavi etmek veya önlemek için kullanılmaktadır. Ampisiline karşı yüksek seviyede direnç gösteren organizmalar, ampisilin ve birçok β -laktam ile tedavinin sürdürülebilirliğini olumsuz yönde etkilemekte, geniş bir kullanım alanına sahip olan bu ilaçların etkinliğini azaltmaktadır.

Direnç mekanizmalarının anlaşılması, mevcut antibiyotiklerin ömrünü uzatmak ve mikroorganizmalara karşı verdiğimiz savaşı kaybetmemek için oldukça önemlidir. Bu amaçla gerçekleştirilen tez çalışmasında, *E. coli* W3110 suşu adaptif laboratuvar deneyleri ile ampisiline dirençli hale getirilmiştir. Oluşan dirençli suşlar içerisinde farklı direnç seviyelerine sahip 3 suş (dirençsiz, 10 kat dirençli ve 95 kat dirençli) seçilerek, farklı seviyedeki direncin moleküler mekanizmasının ortaya konması amaçlanmıştır. Bunun için farklı direnç seviyesine sahip suşlarda tüm genom dizileme ve RNA dizileme yöntemleri kullanılarak genomik ve transkriptomik değişimler belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar *ftsI*, *marAR*, *gutQ*, *rpoC* ve *dcuA* genlerinde meydana gelen mutasyonun düşük seviyeli direnç kazanımında, *ampC* promotor mutasyonunun (-16_-15insG) ise yüksek seviyede ampisilin direnci kazanılmasında

önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. *ampC* promotor mutasyonunun dirençteki rolü rekombinant plazmit kullanılarak doğrulanmıştır. Ayrıca *ampC* promotor mutasyonunun düşük ampisilin direnci sağlayan mutasyonlarla sinerjistik bir etkiye sahip olabileceği ortaya konulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *E. coli*: Antimikrobiyal Direncin Araştırılması için Bir Model Organizma

E. coli ilk kez Alman mikrobiyolog ve pediyatrist Theodor Escherich tarafından 1884 yılında keşfedilmiştir (Friedmann, 2006). Doğada, *E. coli* esas olarak memeli bağırsak mikrobiyomunun bir bileşenidir, ancak daha az yaygın olmakla birlikte kuşların, sürüngenlerin ve balıkların bağırsak mikrobiyomlarında ayrıca toprakta, suda, bitkilerde ve yiyeceklerde de bulunduğu tespit edilmiştir (Leimbach vd., 2013). Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde ve koliform bir bakteri olan *E. coli*, konakçısıyla komensal ve fırsatçı patojenik bir ilişki sergilemektedir (Sandle, 2016). Doğal olarak mikrobiyom içerisinde bulunan *E. coli*, konakta bağışıklığın baskılanması veya gastrointestinal duvarların, bir yaralanma veya enflamatuvar bağırsak hastalığı gibi bir bozukluk tarafından zayıflatıldığı durumlarda, enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Kaper vd., 2004). *E. coli*'nin bir çok suşu zararsızdır ve hatta bağırsak florası için faydalıdır, ancak bazı suşlar ciddi enfeksiyonlara ve hastalıklara neden olmaktadır. Bu suşlar arasında enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroaggregatif *E. coli* (EAEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve diffuz aderent *E. coli* (DAEC) gibi toksijenik ve patojenik *E. coli* suşlarının ishal hastalığı, hemolitik üremik sendrom, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit ve sepsis komplikasyonu dahil olmak üzere önemli klinik durumlara neden olduğu tanımlanmıştır (Kaper vd., 2004; Rojas-Lopez, vd., 2018). Yapılan bir çalışmada *E. coli*'nin en yaygın kan ve idrar yolu patojenlerinden biri olduğu tespit edilmiştir (Zhanel vd., 2019). Benzer bir şekilde DSÖ tarafından 2014 yılında yayımlanan raporda, *E. coli*'nin idrar yolu enfeksiyonları (böbrek enfeksiyonları dahil) ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan patojenlerin başında geldiği belirtilmiştir. Ayrıca, *E. coli*'nin karın içi enfeksiyonlarda, menenjitte ve gıda kaynaklı enfeksiyonlarda da önde gelen etkenlerden biri olduğu vurgulanmıştır (WHO, 2014).

Ülkemizde kandan izole edilen klinik izolatlar arasında en sık gözlenen organizmanın *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (UAMDSS, 2016). *E. coli*'deki yüksek antimikrobiyal direnç, önemli bir küresel halk sağlığı sorunu haline gelmektedir. (ECDC, 2015). DSÖ, üçüncü kuşak sefalosporinlere, genişletilmiş spektrumlu β -laktamlara (GSBL) ve karbapenemlere dirençli *E. coli* suşlarını acil eylem gerektiren bakteriler listesine dahil etmiştir (Chaudhary, 2016). GSBL'ler, üçüncü kuşak sefalosporinler dahil olmak üzere çoğu β -laktam antibiyotiğe direnç kazandıran enzimlerdir ve sıklıkla diğer direnç mekanizmalarıyla kombinasyon halinde görülerek çoklu ilaç direncine neden olmaktadır (Kumar vd., 2021). Karbapenemler genellikle GSBL'den etkilenmemekte ve şiddetli enfeksiyonlar için birkaç tedavi seçeneğinden birisi

olmaya devam etmektedir (Karaikos ve Giamarellou, 2020). Ancak son zamanlarda karbapenemazların aracılık ettiği karbapenem direnci önemli bir tehdit haline gelmiştir. Karbapenamaz genleri, genellikle *E. coli* gibi *Enterobacteriaceae* ve diğer gram-negatif bakteriler arasında aktarılabilen plazmitlerde bulunmaktadır (Meletis, 2016).

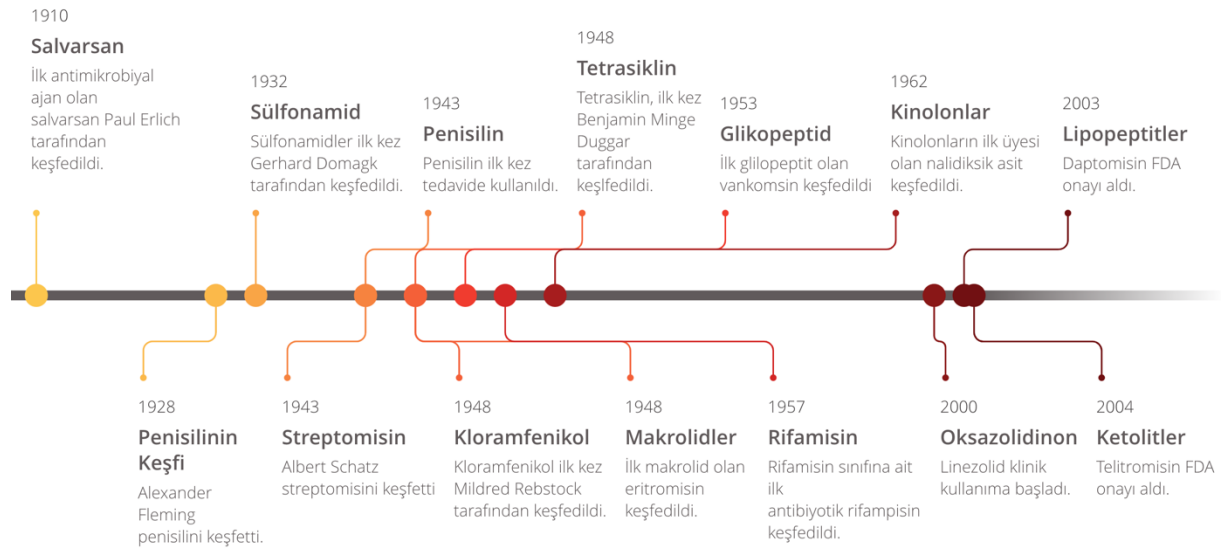
E. coli hücrelerinde antibiyotik direnç mekanizmalarının keşfedilmesi antibiyotik direnci ile mücadele için oldukça önemlidir. Antibiyotik direncinin yayılması ve ortaya çıkışındaki artış, model organizma olarak *E. coli* ile antibiyotik direncine yönelik çalışmalarda ve araştırmalarda bir artışa neden olmuştur. *E. coli*, zengin ortamlarda hızlı bir şekilde çoğalması, laboratuvar ortamında kolayca kültürlenebilmesi, yüksek transformasyon verimliliğine sahip olması, genom dizisinin belirlenmiş olması ve en çok araştırılan organizmalardan biri olması nedeniyle iyi bilinen bir model organizmadır (Gibson vd., 2018). Bu organizmaya ait fenotipik ve genotipik özellikler iyi bir şekilde karakterize edilmiştir. Ağustos 2023 itibariyle Genbank veritabanında, bu çalışmada kullanılan *E. coli* K-12 W3110 suşu da dahil olmak üzere 217.268 genom verisi bulunmaktadır. Bu, araştırmacıların kapsamlı araştırmalar gerçekleştirebilmesinin yanı sıra genlerin rollerinin belirlenmesi ve antibiyotik gibi stres faktörlerine karşı verilen tepkilerin karakterize edilmesine olanak sağlamaktadır.

2.2. Antimikrobiyallerin Kökeni

Mikroorganizmaları öldürebilen veya büyümesini engelleyebilen maddeler olan antimikrobiyallerin keşfi ve geliştirilmesi, tıp tarihindeki en önemli başarılarından biri olmuştur (Aminov, 2017). Cerrahi, transplantasyon ve kemoterapi gibi birçok tıbbi ilerlemeye olanak sağlayan antimikrobiyaller, milyonlarca insanın hayatını kurtarmıştır (Adedeji, 2016). Bununla birlikte, antimikrobiyallerin kökenleri yalnızca insan zekasına değil, aynı zamanda doğal dünyaya da atfedilmelidir. Aslında birçok antimikrobiyal, bakteri, mantar, bitki ve hayvan gibi organizmalar tarafından üretilen bileşiklerden türetilmekte veya bunlardan ilham almaktadır (Saga ve Yamaguchi, 2009). Antimikrobiyallerin kökenleri, insanların enfeksiyonları ya da yaraları tedavi etmek için bal, sirke, tuz veya küflü ekmek gibi doğal ürünleri kullandığı eski zamanlara kadar izlenebilmektedir. Bununla birlikte, antimikrobiyallerin ve etki mekanizmalarının bilimsel olarak anlaşılması, Louis Pasteur, Robert Koch, Alexander Fleming ve Paul Ehrlich gibi araştırmacıların mikroorganizmaların hastalıklardaki rollerini keşfettikleri ve onları izole etmek ve tanımlamak için yöntemler geliştirdikleri 19. yüzyılın sonları ve 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır (Gould, 2016).

İnsan hastalıklarının tarihine bakıldığında, genel olarak hastalıkların büyük çoğunluğunu bulaşıcı hastalıkların oluşturduğu görülmektedir (Saga ve Yamaguchi, 2009). Çok

eski zamanlardan beri insanlık için problem olan çeşitli bulaşıcı hastalıklardan mikroorganizmaların sorumlu olduğu ancak 19. yüzyılın ikinci yarısında anlaşılmıştır (Gould, 2016). Bu doğrultuda, etken organizmaları hedef alan kemoterapi, ana tedavi stratejisi olarak geliştirilmiştir. Dünyadaki ilk antimikrobiyal ajan, 1910 yılında Ehrlich tarafından sentezlenen ve frengi için geliştirilmiş bir ilaç olan salvarsan olmuştur (Zaffiri vd., 2012). Ardından 1932 yılında Domagk ve diğer araştırmacılar tarafından sülfonamidler geliştirilmiş ve klinik olarak kullanılmıştır (Sköld, 2000). Ancak bu ilaçlar sentetik bileşikler olduğu için, güvenlik ve etkinlik açısından sınırlamaları olduğu belirtilmiştir (Saga ve Yamaguchi, 2009).



Şekil 2.1. Antimikrobiyallerin Keşif Çizelgesi

Alexander Fleming 1928'de mavi bir küf (Penicillium cinsinden bir mantar) çevreleyen bölgede *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)'un büyümesini engellediğini bulmuş ve bu gözlem bir mikroorganizmanın diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilecek maddeler üretebileceğini keşfetmesine yol açmıştır (Lalchhandama, 2021). Tespit edilen madde penisilin olarak adlandırılmış ve 1940'larda klinikte kullanılmaya başlanmıştır (Chain vd., 2005). Güvenlik ve etkinlik açısından olağanüstü bir antimikrobiyal ajan olan penisilin, İkinci Dünya Savaşı sırasında birçok yaralı askerin hayatını kurtararak antibiyotik çağına öncülük etmiştir. Takip eden yirmi yıl boyunca, birbiri ardına yeni antimikrobiyal ajan sınıfları keşfedilmiş ve bu keşifler antimikrobiyal kemoterapinin altın çağına yaşanmasına yol açmıştır (Şekil 2.1). 1943 yılında, bir aminoglikozit antibiyotik olan streptomisin, *Streptomyces griseus* adlı toprak bakterisinden elde edilmiştir (Durand vd., 2019). Toprak bakterilerindeki potansiyelin keşfi ile birlikte 1948-1957 yılları arasında bu bakterilerden kloramfenikol, tetrasiklin, makrolid, glikopeptid ve rifamisin sınıflarına ait antimikrobiyal ajanlar izole edilmiştir (Powers, 2004).

1962 yılında kinolon sınıfının ilk temsilcisi olan nalidiksik asit bir klorokin sentezi girişimi sırasında keşfedilmiştir (Aminov, 2017). Bu antibiyotiğin keşfinden günümüze kinolonları temsil eden on binlerce yeni bileşik sentezlenmiştir. Antimikrobiyal ajanların yeni sınıflarının keşfi 1960'ların sonlarında yavaşlamış ve 2000 yılından önce son antibakteriyel sınıfı olarak 1968 yılında trimetoprim tanımlanmıştır (Durand vd., 2019). Antimikrobiyal sınıflarına eklenen son gruplar ise 2000 yılında tanımlanan oksazolidinonlar, 2003 yılında tanımlanan lipopeptitler ve 2004 yılında tanımlanan ketolitler olmuştur (Durand vd., 2019).

1960'lı yıllardan itibaren piyasaya sürülen antimikrobisallerin çoğu, daha önce keşfedilen antimikrobisallerin kimyasal modifikasyonları ile geliştirilmiştir. Bunlardan biri olan ampisilin 1961 yılında piyasaya sürülmüştür (Tolomelli vd., 2020). Orjinal penisilinlerden daha geniş bir aktivite spektrumuna sahip olan ampisilin, gram-pozitif mikroorganizmaların yanı sıra gram-negatif mikroorganizmalara karşı da etkili olmuştur. Ayrıca aside dirençli olduğu için ağızdan kullanılabilmiştir (Lima vd., 2020). Enterik ateş, solunum yolu enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bu antibiyotik etkinliğini arttırılması için günümüzde diğer antibiyotikler ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Kaushik vd., 2014). Ancak ampisilin günümüzde önemli bir antibiyotik direnci ile karşı karşıya kalmıştır. Bu nedenle, antimikrobisallerin ihtiyatlı kullanımı ve mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadele için yeni stratejilerin geliştirilmesi, insan sağlığının ve refahının korunması için önem arz etmektedir.

2.3. Antibiyotik Direncinin Ortaya Çıkışı

Antimikrobiyal ajanlara karşı direnç, antibiyotik çağının başlangıcından beri bilinmektedir. Modern kemoterapinin babası Paul Ehrlich, tripanozoma enfeksiyonlarının tedavisi sırasında kullanılan antimikrobiyal ajana dirençli organizmaların ortaya çıktığını gözlemlemiştir. Ardından bu direncin kalıtsal olduğunu ve sonraki jenerasyonlarda da görüldüğünü ortaya koymuştur (Jacoby, 2017). Antibiyotik çağının erken dönemlerinde direnç doğal ya da edinilmiş olarak kategorize edilmiştir. Doğal direnç, hücrelerin yapısal özelliklerinden dolayı bir antimikrobisale karşı gösterilen direnç olarak tanımlanmıştır. Örneğin gram-negatif mikroorganizmaların gentian violet boyasına karşı gram-pozitif mikroorganizmalara kıyasla doğal bir direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Nikaido, 1996). Edinilmiş direnç ise daha önce ilaca daha duyarlı olan bir organizmanın sonradan kazandığı bir özellikle duyarlılığının azalması olarak tanımlanmıştır (Jacoby, 2017).

Direncin ortaya nasıl çıktığı, on dokuzuncu yüzyılda Nägeli ve Koch arasında bir tartışma konusu olmuştur. Nägeli mikroorganizmaların polimorfik olduğunu ve şekil ve

biyokimyasal davranış açısından kendiliğinden dönüştüğünü savunurken Koch, bunların sabit özelliklere sahip monomorfik canlılar olduğuna ve dolayısıyla katı bir şekilde tanımlanabilen türler olarak sınıflandırılabileceğine inanmıştır. 1920'lerde ve 1930'larda bu tartışma, yerini yeni bir teoriye bırakmıştır. Bu teori, şekil, beslenme gereksinimleri, antijeniklik, virülans, kimyasal reaktivite ve dolayısıyla duyarlılık gibi özelliklerin bir organizmanın sabit özellikleri olmadığını, ancak bakteri kültürünün büyüme aşaması ve yaşam döngüsü ile değiştiğini savunmuştur (Hadley, 1927). Adaptasyon hipotezi 1940'larda Hinshelwood tarafından savunulmuş ve kültürün bir inhibitör varlığında büyütülmesi halinde, ilaç inhibisyonunun tersine çevrilebileceğini ileri sürmüştür. Ardışık olarak daha yüksek ilaç konsantrasyonlarında seri pasajlama, böylece kültürün inhibisyonu tolere etmesi için "eğitilmesi" olarak yorumlanmıştır (Hinshelwood, 1946). Ardından 1950'li yılların başında antibiyotik yokluğunda da direncin ortaya çıkabileceği ve bunun DNA ile aktarılabileceği gösterilmiştir (Hotchkiss, 1951; Lederberg ve Lederberg, 1952).

Sülfonamidler, penisilin kullanıma girene kadar hem tedavi hem de profilaksi için yaygın olarak kullanılmış ve çok geçmeden birçok patojende bu antibiyotiklere karşı direnç görülmüştür. İkinci Dünya Savaşı sırasında askeri üstlerde üst solunum yolu enfeksiyonlarını önlemek için günlük sülfadiazin uygulamasının ardından dirençli β -hemolitik streptokokların ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Damrosch, 1946). Sülfonamidlerin bel soğukluğu tedavisinde kullanılmasını, artan başarısızlık oranları ve sülfonamide dirençli *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) suşlarının çoğalması izlemiştir (Goodale ve Schwab, 1944). Benzer şekilde *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*)'te de artan sülfonamid direnci ve buna bağlı klinik başarısızlıklar kaydedilmiştir. Sülfonamid öncesi döneme ait *N. gonorrhoeae* veya *N. meningitidis* kültürlerinde sülfonamide dirençli suşlar tespit edildiğinden, dirençli suşlar antibiyotik kullanımı sırasında mı ortaya çıktı yoksa var olan dirençli suşlar mı seçildi bilinmemektedir. Bakteriyel biyokimya ve metabolizma alanları sülfonamidlerin deneysel olarak keşfedilmesinden sonra geliştiği için sülfonamid direncinin nedenlerinin aydınlatılması 1940'lı yılları bulmuştur (Huovinen vd., 1995; MacLeod, 1940; Woods, 1940).

Penisiline karşı direncin ana mekanizması sülfonamidlere kıyasla çok daha hızlı bir şekilde tanımlanmıştır. *S. aureus*'a karşı penisilin ile mücadelenin ilk yıllarında, bu bakteride penisilin direncinde önemli bir artış gözlenmiştir. Bu direnç, penisilini inaktive eden penisilinaz adlı bir enzim aracılığıyla gerçekleşmiştir. Penisilinaz enzimi ilk olarak *S. aureus*'ta değil, 1940 yılında penisilin ile klinik çalışmaların başladığı *E. coli*'de tanımlanmıştır (Abraham ve Chain, 1940). 1942 yılına gelindiğinde penisilin tedavisi gören hastalardan izole edilen *S. aureus*

suşlarında direnç oranının arttığı rapor edilmiş ve 1944 yılında ilaca maruz kalmamış hastalardan elde edilen dirençli *S. aureus* suşlarında da penisilinaz enzimi tespit edilmiştir (Kirby, 1944; Rammelkamp ve Maxon, 1942). Londra'daki Hammersmith Hastanesi'nde penisiline dirençli *S. aureus* izolatlarının oranı 1946'da %14 iken 1947'de %38'e, 1948'de %59'a ve günümüzde %90'a çıkmıştır (Kirby, 1944; Rolinson, 1998; Jacoby, 2017). Artan bu direnç, gelişmiş β -laktam antibiyotikleri sentezlemeye çalışan bilim insanları arasında bir yarış başlatmıştır (Medeiros, 1997). Sonraki dönemlerde de keşfedilen yeni antimikrobiyal ajanlara karşı direnç ortaya çıkmış ve bu direnç incelenmiştir. Dirençle ilişkili bir sonraki büyük adım direnç plazmitlerinin öneminin anlaşılması ile olmuştur. Bu sadece direnç kazanımı ve yayılımının daha iyi anlaşılmasına değil, rekombinant DNA ve biyoteknoloji devrimine yol açmıştır. Direnç aktarımı 1959 yılında gösterilmiş, plazmid transferi, izolasyonu ve sınıflandırılması için tekniklerin geliştirilmesi ile birlikte bu konudaki çalışmalar artmıştır (Watanabe, 1963; Watanabe, 1966; Datta ve Hedges, 1971; Meyers vd., 1976). Zaman içerisinde transpozonların, integronların ve restriksiyon enzimlerinin keşfi plazmid yapısının analizini kolaylaştırmış ve DNA klonlamasına izin vermiştir (Hedges ve Jacob, 1974; Stokes ve Hall, 1989; Toleman vd., 2006). Böylelikle antibiyotik direncinin genomik özellikleri, biyokimyasal etkileri kadar izlenebilir hale gelmiş ve moleküler biyolojiye önemli katkılarda bulunmuştur.

Antibiyotik öncesi döneme ait bakteriler üzerinde yapılan çalışmalar, direnç plazmitlerinin antibiyotiklerin klinik kullanımından önce ortaya çıktığını göstermiştir (Perry vd. 2016). Direnç genleri, çok çeşitli kökenlere sahiptir ve bazıları antibiyotiği üreten organizmalardan köken almıştır (Benveniste ve Davies, 1973; Marshall vd., 1997). Diğer bir kısmının ise antibiyotik üreten bakterilerle rekabet halinde olan organizmaların savunma mekanizmaları olduğu ve binlerce yıldır bulunduğu kabul edilmiştir. Potansiyel direnç gen rezervuarları antik permafrostta ve milyonlarca yıl boyunca izole kalmış mağaraların derinliklerinde bulunmuştur (Bhullar vd., 2012; Dcosta vd., 2011).

Antibiyotik direnç genlerinin transferi için farklı transfer yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemlerden birisi olan transformasyon, genellikle laboratuvarında kontrollü şartlar altında gerçekleştirilse de çevrede de doğal olarak gerçekleşebilmektedir. Transformasyon ile çevrede bulunan DNA parçaları uygun hücreler tarafından alınabilmektedir (Davies ve Davies, 2010). Yapılan bir çalışmada *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)'in ölmüş bakterilere ait DNA parçalarını doğal transformasyon yoluyla edinerek kanamisin, ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine direnç kazandığı tespit edilmiştir (Lu vd., 2020). Bu durum transformasyonun

antibiyotik direnç genlerinin yayılmasında etkili olduğunu göstermektedir. Doğal transformasyon, biyofilm gibi hücrelerin bir arada bulunduğu ortamlarda daha sık gerçekleşmektedir. Gen transferinde sıklıkla gözlenen bir diğer yöntem ise konjugasyondur. Konjugasyon antibiyotik direnç genlerinin transferinde sıklıkla kullanılmaktadır. *Streptococcus pneumoniae*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) gibi patojenlerin, penisilin veya kinolonlara karşı direnç sağlayan penisilin bağlayıcı proteinler (PBP) ve topoizomeraz gibi kromozomal genleri yakın akraba türleri ile konjugasyon aracılığıyla paylaştığı tespit edilmiştir (Dowson vd., 1989; Spratt vd., 1989; Stanhope vd., 2005). Antibiyotik direncinin aktarımında transdüksiyon da önemli bir rol oynamaktadır. Metagenomik yaklaşımların kullanıldığı bir çalışmada, bir çamur içerisinden elde edilen virom örneğinde tetrasiklin, ampisilin ve bleomisin dahil olmak üzere çeşitli antibiyotiklere direnç kazandırabilecek antibiyotik direnç genlerinin bulunduğu ortaya konulmuştur (Parsley vd., 2010). Yapılan başka bir çalışmada, kentsel kanalizasyon ve nehir suyu örneklerinden elde edilen faj DNA'sında β -laktamazları kodlayan iki genin ve PBP kodlayan bir genin varlığı tespit edilmiştir (Colomer-Lluch, vd., 2011). Literatürde antibiyotik direnç genlerinin fajlarla aktarılabilirliğini gösteren benzer çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Colomer-Lluch vd., 2011; Marti vd., 2014). Bu çalışmalar antibiyotik direnç genlerinin fajlar aracılığıyla çevreye yayılabileceğini göstermektedir.

Günümüzde antibiyotik direnci, antibiyotik kullanımının kaçınılmaz bir sonucu olarak kabul görmeye başlamıştır. Bu durumun yaygınlığı, antiviral, antifungal ve anti-parazitik ajanlara karşı ortaya çıkan dirençle de fazlasıyla gösterilmiştir. Antibiyotik direnç mekanizmaları ile ilgili araştırmalar, antibiyotiklerin nasıl çalıştığına dair önemli bilgiler sağlamıştır. Direnç, bir ilaç kullanılmaya başlandıktan hemen sonra veya yıllar sonra ortaya çıkabilmektedir. Metisiline dirençli *S. aureus* Birleşik Krallık'da ilacın kullanıma girmesinden sonraki birkaç yıl içinde izole edilmiştir, ancak penisiline duyarlılığı azalmış pnömokokların izole edilmesi için 20 yıl, direncin dünya çapında önemli bir sorun olarak kabul edilmesi için ise 20 yıl daha geçmesi gerekmiştir (Barber, 1961; Jevons, 1961; Klugman, 1990). Vankomisin direncinin ortaya çıkması ise daha uzun sürmüştür (Leclercq vd., 1988). Tür içerisindeki dirençli organizma oranının stabil hale gelmesi organizmalar arasında değişmektedir. β -laktamaz üretimi gonokoklarda %10-30, *H. influenzae*'da %15-35, *E. coli*'de %30-40, *Moraxella catarrhalis*'te %75 ve *S. aureus*'ta %90'a ulaşmıştır, ancak bu seviyeleri neyin belirlediği tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, direnç kazanıldıktan sonra dirençli organizma oranının azalma hızının oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (Enne vd., 2001;

Seppälä vd., 1997). Dolayısıyla direnç problemine kısa vadede daha hızlı çözümler bulan ve mevcut antibiyotiklerin ömrünü uzatacak stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır.

2.4. Antibiyotik Direnç Problemi

Antibiyotik direnci, geniş kapsamlı küresel etkileri olan, modern tıbbi ve halk sağlığını tehdit eden önemli bir sorun haline gelmiştir. Antibiyotik dirençli bakterilerin artışı, coğrafi sınırları aşan ve toplumları her düzeyde etkileyen kritik bir endişeye dönüşmüştür. Bu durum bakteriyel enfeksiyonlar için daha sınırlı tedavi seçeneklerine neden olurken, komplikasyon ve ölüm riskini arttırmıştır. Bir zamanlar rutin enfeksiyonlar olarak kabul edilen vakalar artık canlı hayatını tehdit eden sorunlara dönüşebilmektedir. Antibiyotik direnci, sadece gelişmekte olan ülkelerde değil, tüm dünyada halk sağlığı sistemleri için önemli bir tehdit olarak kabul edilmektedir (Founou vd., 2017; Prestinaci vd., 2015). Bulaşıcı hastalıkların artık antibiyotiklerle tedavi edilememesi, sağlık hizmetlerinde bilinmeyen bir geleceğe işaret etmektedir (Chokshi vd., 2019).

Mikroorganizmaların antibiyotikler ile karşılaşması sadece insan vücudunda değil, doğada her ortamda meydana gelmektedir. Birçok gelişmiş ülkede hayvanların, antibiyotik tüketiminin yaklaşık %50-80'inden sorumlu olduğu bilinmektedir. 1940'lı yıllarda hayvanların geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi edilmesinin, büyümeyi ve et verimini arttırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle, antibiyotiklerin gereksiz kullanımının direnç gelişimine neden olduğu bilinmesine rağmen uzun yıllar boyunca antibiyotikler büyümeyi hızlandırıcı olarak hayvancılıkta kullanılmıştır ve bazı ülkelerde halen kullanılmaktadır (Cully, 2014). Aynı zamanda yem üretiminde de antibiyotik sıklıkla kullanılmaktadır. Böylece hayvanlar yiyecekleri vasıtasıyla da antibiyotiklere maruz kalmaktadır. Benzer şekilde, birçok ülkede yasak olmasına rağmen, arıtılmamış yüzey suyu ile sulamadan dolayı meyve ve sebzeler antibiyotik dirençli bakteriler ile kontamine olmaktadır (Ter Kuile vd., 2016). Besin zinciri, antibiyotik dirençli bakterilerin ana taşınım yolu olarak düşünülmektedir (McEwen ve Fedorka-Cray, 2002). Barselona'nın kırsal bölgelerinde yapılan bir çalışmada hiç kinolon kullanmamış olan çocukların dörtte birinin kinolon dirençli *E. coli* taşıdıkları tespit edilmiştir. Bu dirençli bakterilerin kaynağının kümes hayvanları ya da domuz eti olduğu öne sürülmüştür (Garau vd., 1999). Direnç gelişimini önlemek için tarım ve hayvancılıkta antibiyotik kullanımının yasaklanması hayvan sağlığı, refahı ve artan gıda ihtiyacı talepleriyle birbirine uymamaktadır. Bu nedenle antibiyotik direnç gelişiminin önlenmesini araştıran çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Küresel ticaret ve seyahatin, antibiyotik direncinin yayılmasında önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Dirençli bakteriler, ticari ürünlerin, insanların ve hayvanların hareketi sayesinde ülke sınırlarını kolaylıkla aşabilmektedir. Dolayısıyla dünyanın bir köşesinde ortaya çıkan dirençli bir tür, hızla küresel bir tehdit haline gelerek uluslararası ölçekte sağlık sistemleri ve ekonomiler için zorluklar yaratabilmektedir. Bu durum antibiyotik direnç krizinin boyutunu daha da derinleştirmekte ve ulusal sınırları aşan işbirlikçi müdahaleler gerektirmektedir. Antibiyotik direnci krizinin küresel boyutunun ele alınmasında uluslararası işbirliği gerekmektedir. Hükümetler, uluslararası kuruluşlar ve sağlık kurumları, sağlam gözetim sistemleri kurmak, veri paylaşmak ve müdahale çabalarını koordine etmek için bir araya gelmelidir. Eş zamanlı bir yaklaşım, antibiyotik direnciyle mücadele çabalarının daha güçlü olmasını, mükerrer çalışmaların önlenmesini ve kaynakların etkisinin en üst düzeye çıkarılmasını sağlayacaktır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği (IDSA), Amerika Sağlık Hizmetleri Epidemiyolojisi Derneği (SHEA), Dünya Ekonomik Forumu (WEF) ve DSÖ gibi çok sayıda önemli kuruluş antibiyotik direncini "küresel bir halk sağlığı sorunu" olarak ilan etmiştir (Michael vd., 2014; Spellberg vd., 2016). CDC, 2006 yılından bu yana antibiyotik direnç problemini hedef alarak sağlık hizmetlerini iyileştirmek için çok sayıda kampanya başlatmıştır. Bu kampanyalarda özellikle gereksiz ve yanlış antibiyotik kullanımına dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. IDSA ve SHEA 2007 yılında başlayarak günümüze kadar antimikrobiyal yönetim programları oluşturmak için çeşitli kılavuzlar yayınlamıştır (Barlam vd., 2016; Dellit vd., 2007). Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı'nın bu konuda çalışmaları bulunmaktadır. 2011 yılında Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDS) kurulmuş ve bu sistem aracılığıyla direnç verileri yıllık olarak takip edilmeye ve raporlanmaya başlanmıştır. Ayrıca gereksiz antibiyotik kullanımının azaltılmasına yönelik çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

Antibiyotik direnci, ekonomi üzerinde de oldukça önemli etkilere neden olmaktadır. Antibiyotik dirençli bakteriler ile enfeksiyon, ciddi hastalıklara, hastane yatışlarının uzamasına, sağlık hizmeti maliyetlerinde artışa, ikinci basamak ilaçlarda daha yüksek maliyetlere ve tedavi başarısızlıklarına yol açmaktadır (Prestinaci vd., 2015; Shrestha vd., 2018). Örneğin, sadece Avrupa'da antibiyotik direncinin yılda 9 milyar Euro'dan fazla bir maliyetle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Llor ve Bjerrum, 2014; Prestinaci vd., 2015). Ayrıca, CDC'ye göre, antibiyotik direnci, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde doğrudan sağlık hizmeti maliyetlerine ek olarak 20 milyar dolarlık bir yük oluşturmakta ve bu da yılda yaklaşık 35 milyar dolarlık üretkenlik kaybına neden olmaktadır (Dadgostar, 2019). Farklı çalışmalara

göre, antibiyotik direnç maliyetinin 2050 yılına kadar dünya genelinde yıllık 300 milyar dolardan 1 trilyon doların üzerine çıkacağı öngörülmektedir (Chokshi vd., 2019; World Bank, 2017). Dünya Bankası tarafından yapılan son araştırmalar, antibiyotik direncinin yoksulluk oranını artıracaklarını ve düşük gelirli ülkeleri daha çok etkileyeceğini göstermektedir (Dadgostar, 2019). Araştırmalar, 2050 yılına kadar yıllık küresel gayri safi yurt içi hasıla'nın (GSYH) yaklaşık %1 oranında azalabileceğini ve gelişmekte olan ülkelerde %5-7 oranında bir kayıp yaşanacağını göstermektedir (Anderson vd., 2019; Dadgostar, 2019). Bu oran, 100-210 trilyon dolar anlamına gelmektedir (World Bank, 2017). Tüm dünyada sadece çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin neden olduğu hastalıklar arasında tüberküloz hastalığının 2050 yılına kadar 16,7 trilyon dolara mal olabileceği düşünülmektedir (Dadgostar, 2019).

Antibiyotikler, enfeksiyonlarla savaşmada kritik bir rol oynadığından dolayı, bu ilaçların etkinliğinin azalması, toplum sağlığı ve çalışma yaşındaki bireylerin sağlıklı yaşam sürelerinin olumsuz etkilenebileceği konusunda endişelere neden olmaktadır. Antibiyotik direncinin artarak devam etmesi durumunda, enfeksiyonların tedavisinin zorlaşacağı ve iyileşme süreçlerinin uzayacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla buna bağlı olarak çalışma yaşında olan bireylerin iş gücünde ve üretkenliğinde azalma olacağı tahmin edilmektedir (Naylor vd., 2018).

Antibiyotik direncindeki süregelen eğilimler devam ederse, küresel ticaret de bu durumdan büyük ölçüde etkilenecektir (Lekagul vd., 2019). Dünya Bankası, antibiyotik direncinin insan emeğinin yoğun bir şekilde kullanıldığı sektörler üzerindeki etkileri nedeniyle küresel ihracatın 2050 yılına kadar önemli ölçüde azalabileceğini öngörmektedir (World Bank, 2017). Bu uzun vadeli etkiler, ekonomilerin büyümesini sınırlayarak genel refah seviyelerini düşürecektir. Dolayısıyla, antibiyotik direncinin sadece sağlık açısından değil, aynı zamanda ekonomik açıdan da ciddi ve kalıcı etkileri olabileceği düşünülmektedir.

Antibiyotik direncinin hayvancılık üzerindeki etkileri de oldukça önemlidir (Hao vd., 2014). Antimikrobiyallere karşı direncin artması, hayvanlar üzerindeki tedavileri etkisiz hale getirerek canlı hayvan üretiminin ve ticaretinin azalmasına yol açacaktır. Nihayetinde bu durum et, süt ve yumurta gibi protein kaynaklarının azalmasına bağlı olarak protein kaynaklarının fiyatlarında artışa neden olacaktır (World Bank, 2017). Hayvansal proteinlere olan talebin dünya genelinde artmakta olduğu düşünüldüğünde, protein kıtlığı büyük bir endişe kaynağı haline gelmiştir (Van Boeckel vd., 2015). Dünya Bankası'na göre, antibiyotik direncinin, düşük-orta gelirli ülkelerde hayvancılık üretimi üzerinde ciddi etkileri olacaktır (Lekagul vd., 2019). Tahminler, antibiyotik direncindeki artış eğilimlerinin devam etmesi halinde, 2050

yılına kadar hayvancılık üretiminde %11'lik bir kayıp yaşanacağını göstermektedir (World Bank, 2017). Böylesine önemli bir kayıp, hayvansal üretimde ekonomik problemleri arttırarak gelir üretiminde düşüşe sebep olacaktır.

Antibiyotikler, modern tıbbın temel taşları olarak kabul edilmektedir ve bu taşların yerinden oynaması, tüm dünyayı etkileyen önemli sorunlara yol açacaktır. Mevcut antibiyotiklere karşı direnç kazanımı, mikroorganizmaların adapte olma yeteneği nedeniyle tamamen durdurulamayacak bir süreçtir. Çünkü adaptasyon, canlılığın temel bir özelliğidir ve organizmalar geliştirilen ilaçlara karşı adapte olacaktır. Antibiyotik direnç problemine karşı yeni çözümler geliştirilmelidir, aksi takdirde tıbbın karanlık çağına tekrar dönülebilir. Antibiyotik direnci ile mücadele, hükümet ve hükümet dışı kuruluşlar, araştırmacılar, tedarikçiler, halk sağlığı uygulayıcıları, ilaç şirketleri, hastane yönetimleri, tarım endüstrisi liderleri ve hastalar dahil olmak üzere dünya çapındaki tüm paydaşlar arasında çok sektörlü işbirliği ve ortaklıklar gerektirmektedir. Bu ortaklığın ana hedefi, toplum ve ekonomi üzerindeki olumsuz etkilerin kontrol edilebilmesi için antibiyotik direncindeki artış eğilimini yavaşlatmak olmalıdır. Böylece mevcut antibiyotiklerin ömrünü uzatırken yeni çözümler için vakit kazanılabilir.

2.5. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Bakteriler, antibiyotiklere karşı çeşitli direnç mekanizmalarını kullanarak bu ilaçların etkisini azaltabilmekte veya engelleyebilmektedir. Bu mekanizmalardan bazıları 'içsel' olarak adlandırılmaktadır. İçsel dirençte hücre, antibiyotiğe maruz kaldığında halihazırda sahip olduğu özellikleri kullanarak hayatta kalmaktadır. Diğer bazı mekanizmalar ise 'edinilmiş' olarak adlandırılmıştır. Edinilmiş dirençte hücre, sonradan kazandığı genetik özellikler sayesinde antibiyotik varlığında hayatta kalmaktadır. Antibiyotiklerin hangi etki mekanizmalarına sahip olduğuna ve bakterilerin, antibiyotiklerin öldürücü ve üremeyi durdurucu etkilerine nasıl karşı koyduğuna dair başlıca mekanizmaların neler olduğu büyük oranda tanımlanmıştır.

2.5.1. Geçirgenliğin Azalması

Birçok antimikrobiyal maddenin etkinlik gösterebilmesi için bakteri hücre zarını geçmesi gerekmektedir. Gram-negatif bakterilerde, gram-pozitif bakterilere kıyasla seçici geçirgen bir dış zar bulunması, antibiyotiklere karşı içsel direnç sağlamaktadır. Buna ek olarak, porin kaybı veya sitoplazmik membranın fosfolipid ve yağ asidi içeriğindeki değişiklikler gibi zarf yapısındaki değişiklikler, bir ilacın hücreye nüfuz etme kabiliyetini etkilemekte ve antimikrobiyal direncinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır. Gram-pozitif bakterilerde

dış zar bulunmaması, onları birçok antibiyotiğe karşı daha geçirgen kılmaktadır ancak bu bakterilerde sitoplazmik membranın bileşiminde akışkanlığı etkileyen değişikliklerin antibiyotiklere karşı geçirgenliği azaltmada önemli olduğu gösterilmiştir (Mishra vd., 2012).

Gram-negatif bakterilerin dış membranı, besin alımına izin verirken aynı zamanda koruma sağlamak amacıyla bariyer olarak görev yapmaktadır. *Salmonella enterica* (*S. enterica*) ile yapılan bir çalışmada, dış membran geçirgenliğinin büyüme fazına göre değiştiğini ve durağan fazdaki hücrelerde geçirgenliğin azalması ile birlikte antimikrobiyalin hücre içerisinde daha az biriktiği gösterilmiştir (Whittle vd., 2021). Dış membran farklı işlev ve mimarilere sahip çok sayıda porin içermektedir. Porinler genellikle çok sayıda antibiyotığın de dahil olduğu 600 kDa'dan küçük olan hidrofilik bileşiklerin hücre içine geçişine izin vermektedir (Fernández ve Hancock, 2012). Antibiyotığın hücre içerisine girmek için kullandığı porinlerde meydana gelen mutasyonlar, porin yapısının değişmesine neden olarak antibiyotığın hücre içerisine girişini engelleyebilmektedir. Yapılan bir çalışmada *Klebsiella pneumoniae*'nin OmpK36 porininde meydana gelen mutasyon ile porin yapısında önemli bir daralma meydana geldiği ve buna bağlı olarak karbapenemlere karşı toleransın arttığı tespit edilmiştir (Wong vd., 2019). Farklı bir çalışmada, çoklu ilaç direncine sahip olan *E. coli* izolatlarının OmpC porinindeki elektrik yükünü değiştiren ve bunun sonucunda sefotaksim, gentamisin veya imipenem gibi antibiyotiklerin geçirgenliğini etkileyen çoklu mutasyonlar taşıdığı bulunmuştur (Lou vd., 2011).

Antibiyotiklere karşı geçirgenlik, porinlerde meydana gelen yapısal değişikliklerin yanı sıra porin ifadesinin kontrolü ile de azaltılabilmektedir. Porin ifadesi çevresel uyarılara yanıt olarak aktif bir şekilde düzenlenmektedir. Bu duruma verilebilecek en iyi örneklerden biri *E. coli*'deki OmpC ve OmpF porinleridir. Bu porinlerin ifadesi, EnvZ-OmpR iki bileşenli sistemi ile kontrol edilmektedir. EnvZ, çevredeki değişiklikleri algılayan ve ilgili yanıt düzenleyicisi olan OmpR'nin fosforilasyon durumunu kontrol eden periplazmik bir sensör proteindir (Darcan ve Yılmaz, 2018). Hücredeki yüksek fosforile OmpR seviyeleri, *ompF* transkripsiyonunun azalmasına ve *ompC* transkripsiyonunun artmasına neden olmaktadır. Bu düzenleme sistemi uygun şartlar altında uygun porinin sentezinin artmasını sağlamaktadır. OmpF porininin, OmpC'den daha büyük olduğu bilinmektedir (Yoshida vd., 2006). Dolayısıyla antibiyotik varlığında OmpC porininin daha fazla olduğu bakteriler OmpF miktarı fazla olanlara kıyasla daha fazla hayatta kalım göstermektedir. Yapılan bir çalışmada karbapenem dirençli izolatlarda porin ifadesinin azaltıldığı görülmüştür (Adler vd., 2013). Küçük düzenleyici RNA'lar (sRNA'lar) da dış membran yapısını transkripsiyon sonrası düzeyde kontrol edebilmektedir. Bir

sRNA olan *micF*, *ompF* mRNA'sının ribozom bağlanma bölgesini ve başlangıç kodonunu içeren bölgeye bağlanarak *ompF*'nin translasyonunu inhibe etmektedir (Tyulenev vd. 2022). *micC* ise *ompC* mRNA'sının 5' UTR bölgesine doğrudan bağlanarak OmpC translasyonunu engellemektedir (Doranga ve Conway, 2023). Bu sRNA'ların transkripsiyonu, antimikrobiyal stres yanıtı olarak birlikte düzenlenmektedir. (Dam vd., 2017).

OmpF ve OmpC gibi spesifik olmayan porinler *Enterobacteriales*'in karakteristik özelliğidir ancak *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve *A. baumannii* gibi diğer önemli patojenlerde, genellikle 200 kDa'dan büyük maddelerin girişine izin vermeyen spesifik porinler bulunmaktadır. Büyük porinlerin eksikliği, dış zarlarının daha az geçirgen olmasına ve içsel bir dirence neden olmaktadır (Eren vd., 2012). Bu tür mikroorganizmalarda, porlardan geçebilecek boyutlardaki antibiyotikleri de içeren bir çok molekül OprD dış membran protein ailesinin üyeleri tarafından alınmaktadır (Zgurskaya ve Rybenkov, 2020). *P. aeruginosa*'da OprD porinlerinin kaybı, klinik açıdan önemli seviyede karbapenem direncine sahip suşların ortaya çıkmasına neden olmuştur (Chevalier vd., 2017). Yapılan başka bir çalışma ise *P. aeruginosa*'da tek bir porin kaybının ilaç girişini tamamen ortadan kaldıramayacağını göstermiş ve porin kaybı ile diğer mekanizmalar arasındaki sinerjinin önemini ortaya koymuştur (Ude vd., 2021).

2.5.2. Antibiyotiklerin Dışa Atımı

Bakteriler, antimikrobialerin hücre içerisine girişini engellemenin yanı sıra, hücre içerisine girmiş olan maddeleri dışarı atabilmektedir. Dışa atım pompaları, antibiyotikler de dahil olmak üzere çok çeşitli toksik bileşikler bakteriyel membranlardan dışarı taşıyabilen transmembran proteinlerdir. Dirençli bakterilerde genellikle geçirgenliğin azaltılması ve dışa atım pompalarının aktivasyonu sinerjistik bir şekilde çalışmaktadır. Farklı dışa atım pompaları, antibiyotik direnci üzerinde farklı seviyede etki göstermektedir. Bazı dışa atım pompalarının çalışması yüksek seviyelerde direnç sağlarken, bazıları ise düşük seviyelerde direnç sağlamaktadır (Chang vd., 2022). Bakterilerde birçok farklı tipte dışa atım pompası bulunmaktadır. Bunlar yapı ve enerji kaynağına göre sınıflandırılan beş ana aileye ayrılmıştır: ATP bağlayıcı kaset (ABC) ailesi, çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyon (MATE) ailesi, küçük çoklu ilaç direnç (SMR) ailesi, ana kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS) ve direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) ailesi (Reygaert, 2018).

Tüm bakteriler dışa atım pompasına sahipken, bu pompalar özellikle gram-negatif bakterilerde antibiyotik direncinin önemli araçları olarak kullanılmaktadır. Gram-pozitif bakterilerde bulunan dışa atım pompaları genellikle kromozom üzerinde kodlanırken az sayıda

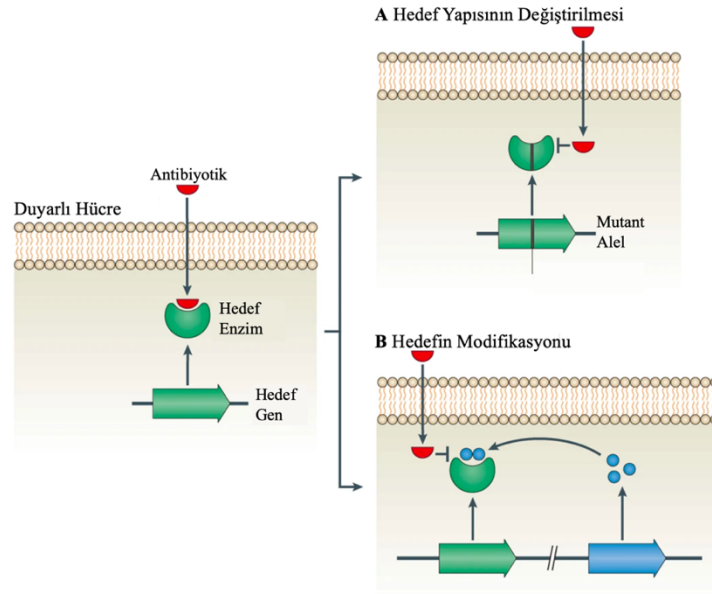
plazmit üzerinde taşınan dışa atım pompası da tespit edilmiştir. Bu pompalar MATE ve MFS ailelerinin üyelerinden oluşmaktadır (Jonas vd., 2001; Kourtesi vd., 2013; Truong-Bolduc vd., 2005). Gram-negatif bakterilerde ise tüm ailelere ait dışa atım pompaları bulunmaktadır ancak klinik açıdan en önemli direnç seviyelerine RND ailesinin üyeleri neden olmaktadır (Alav vd., 2021).

Dışa atım pompalarının çoğunun, substratları sitoplazmik membran boyunca taşıyan tek bileşenli yapılar olduğu bilinmektedir. RND ailesinin üyeleri ise membran boyunca uzanan heterotrimerik proteinlerdir. Birden fazla proteinden oluşan kompleks, substratların ihraç edildiği uzun ve kesintisiz bir tünel oluşturmaktadır. RND pompaları yapısal ve kimyasal olarak birbirinden farklı olan çok sayıda antibiyotiği dışarı atabilmekte ve bu pompaların aşırı ekspresyonu ile çoklu ilaç direncine katkıda bulunmaktadır (Du vd., 2018; Ebbensgaard vd., 2020). RND ailesine ait taşıyıcılar sadece gram-negatif bakterilerde bulunmaktadır. Gram-negatif bakterilerde RND ailesine ek olarak, diğer ailelere ait proteinlerin de çok bileşenli pompalar olarak hareket ettiği tespit edilmiştir. ABC ailesinin bir üyesi olan MacB, makrolidleri hücreden uzaklaştırmak için üçlü bir pompa (MacAB-TolC) olarak çalışmaktadır (Jo vd., 2017). MFS'nin üyesi olan EmrB'de MacB'ye benzer şekilde, *E. coli*'de nalidiksik asidi dışarı atmak için üçlü bir pompa (EmrAB-TolC) şeklinde çalışmaktadır (Tanabe vd., 2009)

Dışa atım pompalarının ifadesi hücre içerisinde etkin bir şekilde kontrol edilmektedir. Genellikle represörler, dışa atım sisteminin genlerine bitişik bir şekilde kodlanmıştır. Bu transkripsiyonel düzenleyici genlerdeki mutasyonlar, dışa atım pompalarının ekspresyonunu önemli seviyede arttırabilmektedir (Gerson vd., 2018; Salehi vd., 2021). Örneğin, MtrR, *N. gonorrhoeae*'de tek RND pompası olan *mtrCDE*'nin baskılanmasında görev almaktadır (Veal vd., 2002). MtrR bağlanma bölgesi içinde sıklıkla nokta mutasyonları meydana gelmekte ve bu mutasyonlar *mtrCDE* ifadesini arttırmaktadır. *mtrCDE* ifadesinin artması ile birlikte penisilin, tetrasiklin, azitromisin ve üçüncü nesil sefalosporinler dahil olmak üzere çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı direnç seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Veal vd., 2002). Başka bir çalışmada bu bilgilerle uyumlu olacak şekilde *mtrR*'nin aşırı ekspresyonunun penisilin ve seftriaksona karşı duyarlılığı artırdığı gösterilmiştir (Chen vd., 2019). Düzenleyici faktörlerdeki bozulmalar ile antibiyotik direnci arasındaki ilişki *Campylobacter jejuni*, *P. aeruginosa* ve *S. enterica* dahil olmak üzere diğer klinik patojenlerde de gözlenmiştir (Castanheira vd., 2019; Grimsey vd., 2020; Grinnage-Pulley ve Zhang, 2015).

2.5.3. Hedefin Yapısının Değiştirilmesi, Modifikasyonu ve Koruması

Çoğu antibiyotığın bakterilere karşı seçici toksisitesinin temelinde, önemli hücresel hedeflere yönelik yüksek özgünlükleri yatmaktadır. Antibiyotiklerin hedefine bağlanması, hücre içerisinde temel bir işlevi durdurarak, hücrenin büyümesinin engellenmesine veya ölümüne yol açmaktadır (Baquero ve Levin, 2020). Antibiyotik hedefinin yapısı değiştirilerek (Şekil 2.2A) veya modifiye edilerek (Şekil 2.2.B) antibiyotik-hedef afinitesi azaltılabilmektedir ve dolayısıyla bakteri antibiyotiğe dirençli hale gelmektedir. Örneğin, kinolon antibiyotikleri, topoizomeraz enzimlerinin aktif bölgesinin yakınına bağlanarak hedefini etkisiz hale getirmektedir. Topoizomeraz enzimindeki bazı mutasyonlar ile birlikte kinolon bağlanması engellenerek hücre dirençli hale gelebilmektedir (Bush vd., 2020). Benzer şekilde, β -laktam antibiyotiklere duyarlılığın azaltılması, penisilin bağlayıcı proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlarla sağlanmaktadır. Örneğin Hindistan'da aztreonam ve avibaktam dirençli klinik *E. coli* izolatlarının neredeyse tamamında PBP3 (FtsI) mutasyonlarına rastlanmıştır (Periasamy vd., 2020; Sauvage vd., 2014). Antibiyotik hedeflerindeki değişimler büyüme sırasında meydana gelen yada antibiyotik stresi ile ortaya çıkan rastgele mutasyonlar tarafından oluşturulmaktadır. Meydana gelen mutasyonlara alternatif olarak, hedef genlerin mutant kopyaları transformasyon yoluyla diğer bakterilerden alınabilmektedir (Alfsnes vd., 2018).

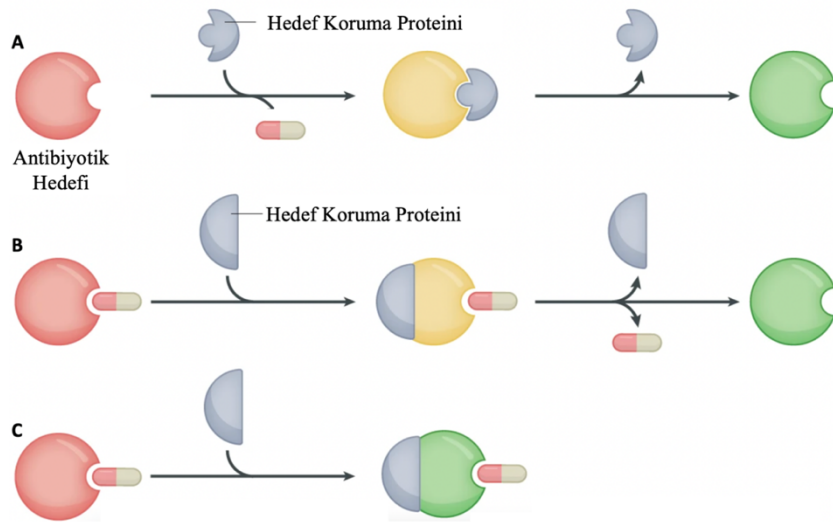


Şekil 2.2. Antibiyotik Hedef Yapısının Değiştirilmesi ve Modifikasyonu

Kaynak: (Blair vd., 2015)

Antibiyotik hedefinin modifikasyonu da antibiyotik direncine neden olmaktadır. Bu direnç mekanizması bakteriyel ribozomu hedefleyen makrolitlere karşı duyarlılığın

azaltılmasında sıklıkla görülmüştür (Vázquez-Laslop ve Mankin, 2018). 16S rRNA, ribozomal metiltransferazlar tarafından metillenebilir ve böylece makrolidlerin, linkozaminler ve streptograminlerin bağlanması önlenir (Bhujbalrao ve Anand, 2019). Hedef modifikasyonuna verilebilecek bir diğer örnek ise kolistin direncidir. Gram-negatif patojenlerde birincil antibiyotik tedavilerine karşı direnç yaygınlaştıkça, son çare antibiyotiklerden biri olan kolistin sıklıkla kullanılmaktadır. Kolistin mebrandaki lipopolisakariti (LPS) hedef alarak membran hasarı ve hücrenin ölümüne yol açan karmaşık bir etki mekanizmasına sahiptir (Elias vd., 2021; Sabnis vd., 2021). LPS modifikasyonu ile birlikte kolistin etkisi azaltılabilmektedir. Fosfatidiletanolaminden LPS'ye fosfoetanolamin transferi kolistine karşı direnç sağlayan modifiye bir LPS oluşmasına neden olmaktadır. Bu direnç sisteminin kromozom üzerindeki genler aracılığıyla sağlandığı ve suşlar arasında paylaşılmadığı düşünülmüştür ancak 2015 yılında yapılan bir çalışmada mobilize edilebilen fosfoetanolamin transferaz ailesi tanımlanmıştır. Kolistinin önemi ve mobil kolistin direncinin hızla yayılma potansiyeli göz önüne alındığında bu durum son derece endişe vericidir.



Şekil 2.3. Antibiyotik Hedefinin Korunması

Kaynak: (Darby vd., 2023)

Hedef molekülde bir mutasyon yada modifikasyon olmaksızın, hedef koruma proteinleri aracılığıyla da direnç meydana gelmektedir. Hedef koruma proteinleri, antibiyotik hedefine bağlanarak antibiyotik bağlanmasını engelleme, bağlanmış olan antibiyotik hedeften ayrılmasını sağlama ve hedef proteinin antibiyotik bağlanmışken bile işlev görmesine izin verme şeklinde 3 farklı yol ile direnç sağlamaktadır (Şekil 2.3). Bir hedefin korunması, ilgili antibiyotik minimum inhibisyon konsantrasyonunda (MİK) nispeten hafif bir artış

sağlayabilir, ancak hedef bölgenin mutasyonu ile birlikte çok daha yüksek MİK değerlerine ulaşılabilir. Bu durum, gram-negatif türlerde yaygın olarak görülen ve plazmit üzerinde taşınan genler tarafından kodlanan Qnr proteinlerinde sıklıkla görülmüştür. Qnr, topoizomerazları kinolon inhibisyonundan korumaktadır. Yapılan bir çalışmada *qnr* geninin edinilmesinin direnç üzerinde hafif bir etkiye sahip olduğu, ancak buna ek olarak *gyrA*'daki kromozomal mutasyonlarla birlikte yüksek düzeyde direnç kazanıldığı tespit edilmiştir (Ruiz, 2019). Hedef koruması, antibiyotik hedefine bağlandıktan sonra da gerçekleşebilir. Örneğin, fusidik aside dirençli *S. aureus* genellikle FusB tipi proteinleri ifade etmektedir. Fusidik asit, mRNA ve tRNA'ların işlenmesinde ve RNA translokasyonunda görevli olan uzama faktörü G'ye (EF-G) bağlanarak translokasyonu engellemektedir. FusB proteinleri, antibiyotik ve hedefi bağlanmış olsa bile durmuş kompleksin ayrışmasını teşvik ederek translasyonu kurtarabilmektedir (Cox vd., 2012). Başka bir örnek olarak ribozomu hedef alan makrolidler, linkozamidler, streptograminler ve pleuromutilinler gibi antibiyotiklere karşı kazanılan direnç verilebilir. Bu antibiyotikler, protein sentezinde hayati öneme sahip olan peptidil-transferaza bağlanarak etki göstermektedir. ATP-bağlayıcı kaset F (ABC-F) ailesine ait proteinler bu ilaçlara karşı direnç sağlanmasına katkıda bulunmaktadır. ABC taşıyıcı proteinlerin aksine, ABC-F proteinleri membrana bağlı değildir ve bu grubun üyeleri ribozom-antibiyotik kompleksine bağlanarak antibiyotiklere karşı direnç sağlamaktadır (Crowe-McAuliffe vd., 2021). Ortaya çıkan bu direnç, ABC-F proteinlerinin hedefin ilaç bağlama bölgeleriyle etkileşime giren ve hedef-antibiyotik kompleksinin bozulmasına neden olan "antibiyotik direnç bölgeleri" içermesinden kaynaklanmaktadır (Murina vd., 2018; Su vd., 2018)

2.5.4. Antibiyotiklerin İnaktivasyonu ve Modifikasyonu

Birçok patojen bakteride yaygın olarak görülen direnç mekanizmalarından biri, antimikrobiyal maddenin inaktivasyonu veya modifikasyonudur (Forsberg vd., 2015). Bu mekanizma antibiyotikler üzerinde etkili olan enzimler aracılığıyla çalışır ve bakteri hücresinin herhangi bir temel bileşeninde değişiklik olmaz. Dolayısıyla mutasyon veya hedef molekülün değiştirilmesi gibi mekanizmalara göre daha az hayatta kalım maliyeti ile ilişkilendirilmiştir. Antibiyotik inaktivasyonu ve modifikasyonu, antibiyotiğin bozunarak etkisiz hale getirilmesi veya bir kimyasal grubun aktarılmasıyla antibiyotiğin modifiye edilmesi şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Bu mekanizmaların her ikisini de kodlayan genlerin bakteriler arasında taşınabilir olması nedeniyle antibiyotik inaktivasyonu ve modifikasyonu bakteriler arasında oldukça yaygındır.

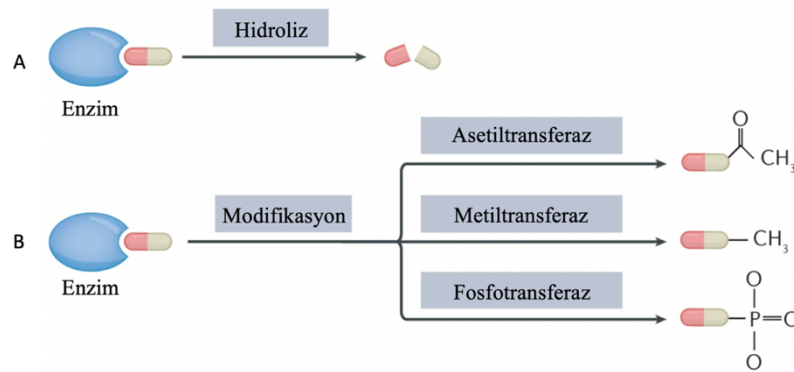
Antibiyotik inaktivasyonu, antibiyotiğin etkinliğini kaybedecek şekilde hasar gördüğü veya bozulduğu önemli bir ilaç direnç mekanizmasıdır (Şekil 2.4.A) (Schaenzer ve Wright, 2020). Bu konudaki en çok araştırılmış ve en iyi bilinen örneklerden birisi β -laktam antibiyotiklerin β -laktamazlar tarafından hidrolizidir. β -laktamazlar, β -laktam halkasının amid bağına hidrolize ederek antibiyotiğin yapısını bozan ve β -laktam ilaçlara direnç sağlayan enzimlerdir (Tooke vd., 2019). β -laktamazlar, mikroorganizmalar tarafından β -laktam antibiyotiklerin üretilmesine yanıt olarak doğada evrimleşmiştir ve 1940'lardan beri incelenmektedir (Darby vd., 2023). Karakterize edilen β -laktamazların sayısı her geçen gün artmaya devam etmektedir; Ağustos 2023 tarihi itibarıyla bir β -laktamaz veri tabanı olan BLDB'de yaklaşık 8000 farklı β -laktamaz bulunmaktadır (Naas vd., 2017). Bu β -laktamazlar primer dizideki aminoasit benzerliğini temel alan Ambler sınıflandırmasına göre 4 sınıfa (A,B,C,D) ayrılmıştır (Sawa vd., 2020). A, C ve D sınıflarındaki β -laktamazlar enzim aktif merkezinde bir serin kullanırken, B sınıfındaki β -laktamazlar çinko kullanmaktadır (Tooke vd., 2019).

β -laktam grubunun en önemli üyelerinden biri olan karbapenem direnç özellikle endişe verici bir hale gelmiştir. Çünkü karbapenemler kullanımdaki en güçlü antibiyotikler arasındadır ve karbapenem direnci diğer β -laktamlara karşı dirençle birleştiğinde tüm ilaç sınıfının kullanımını ortadan kaldırma tehlikesi oluşturmaktadır (Lima vd., 2020). Karbapenem direncinde, karbapenemaz veya genişlemiş spektrumlu bir β -laktamaz üretimine porin kaybı eşlik edebilmektedir. DSÖ 2017 yılında, hepsi karbapenem dirençli olan üç patojeni kritik öncelikli patojen olarak listelemiştir (Darby vd., 2023). Bunlar birçok β -laktam antibiyotiği hidrolize etme kapasitesine sahiptir ve belirli bir enfeksiyon için ilaç tedavisi seçeneklerinin sayısını büyük ölçüde azaltmaktadır (Queenan ve Bush, 2007; Tooke vd., 2019). Çoklu ilaca dirençli plazmidler genellikle β -laktamazların varlığı ile karakterize edilmekte ve bu genlerin farklı bakteriler arasında daha kolay yayılmasını sağlamaktadır (Bush, 2010). Plazmidlere ek olarak, β -laktamazlar genellikle insersiyon dizilerinin yakınında bulunmaktadır. Bu durum, hem direnç genini harekete geçirebilir hem de ifade düzeylerini etkileyebilir (Chatterjee vd., 2016; Héritier vd., 2006). Örneğin, *A. baumannii*'de, bla_{ampC} geninin (AmpC β -laktamaz kodlayan) önünde bulunan ISAbal insersiyon dizisi gen ifadesini arttırmıştır. Bunun sonucu olarak geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç meydana gelmiştir (Héritier vd., 2006).

Antibiyotik inaktivasyonunun bir diğer önemli örneği de tetrasiklinlerin oksidasyonunu katalize eden tetrasiklin inaktive edici enzimlerdir. En iyi bilinen örneği Tet ailesidir ve birçok farklı bakteri sınıfında karakterize edilmiştir. Yüksek seviyede tetrasiklin direnci sağlayan bu

enzimi kodlayan gen, taşınabilir elamanlar üzerinde yatay olarak hareket edebilmektedir (Fang vd., 2020; Forsberg vd., 2015). *tet* (X/X2) genleri, hastalardan alınan izolatlar da dahil olmak üzere çeşitli ortamlardaki çoklu ilaca dirençli bakterilerde yaygın olarak bulunmakta ve bir ortamdaki varlığı tetrasiklin kullanımı ile pozitif korelasyon göstermektedir (Fang vd., 2020; Gasparrini vd., 2020). Tet (X3/X4/X5) enzimleri de tigesikline karşı direnç kazandırmaktadır. Çin'de yapılan bir çalışmada tigesiklin dirençli *Enterobacterales* ve *Acinetobacter* izolatlarında Tet (X3/X4/X5) tespit edilmiştir. (He vd., 2019; Sun vd., 2019; Wang vd., 2020). Tet enzimlerinin tamamı direnç kazandırma kapasitesine sahip olsa da, tetrasiklinleri parçalama yetenekleri farklılık göstermektedir (Gasparrini vd., 2020).

Bakteriyel enzimler tarafından antibiyotik molekülü üzerindeki hassas bölgelere kimyasal grupların eklenmesi, antibiyotiğin hedef proteine bağlanmasını önleyerek antibiyotik direncine neden olmaktadır (Şekil 2.4). Şimdiye kadar çok sayıda antibiyotik modifikasyon enzimi bakterilerde tespit edilmiştir. Bu enzimler, aminoglikozidler, makrolidler, rifamisinler, linkozamidler, streptograminler ve fenikoller dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe karşı direnç sağlayabilmektedir.



Şekil 2.4. Antibiyotik İnaktivasyonu ve Modifikasyonu

Kaynak: (Darby vd., 2023)

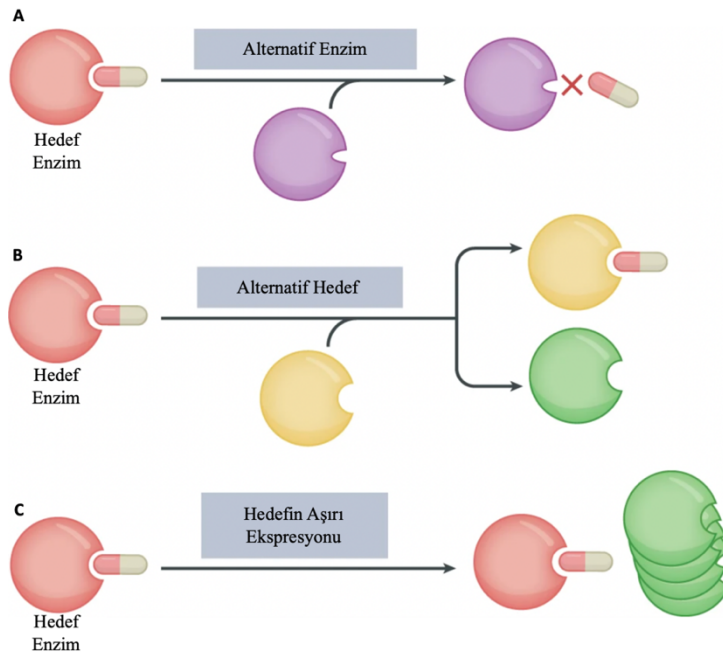
Aminoglikozitler oldukça büyük ve çok sayıda açık grup içeren antibiyotiklerdir (Blair vd., 2015). Bu durum, modifiye edici enzimler tarafından kolay bir hedef haline gelmelerine neden olmaktadır. Aminoglikozit sınıfındaki antibiyotikler asetiltransferazlar, fosfotransferazlar veya nükleotidiltransferazlar tarafından modifiye edilebilmektedir. Bu modifikasyon sırasında antibiyotiğin hidroksil veya amino gruplarının değiştirilmesiyle antibiyotiğin hedefe olan afinitesinde önemli bir azalma meydana gelmektedir (Ramirez ve Tolmasky, 2010; Szychowski vd., 2011). Birçok aminoglikozit modifiye edici enzim kromozomlara ek olarak hareketli genetik elementler üzerinde kodlanmakta ve hem gram-

pozitif hem de gram-negatif türlerde bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, diğer aminoglikozid direnç mekanizmalarından kaçabilen apramisinini inaktive edebilen bir asetiltransferaz tespit edilmiştir (Bordeleau vd., 2021).

Antibiyotik modifikasyonuna verilebilecek önemli örneklerden biri rifamisin direncidir. Rifamisinler ADP-riboziltransferazlar, glikoziltransferazlar, fosfotransferazlar ve monooksijenazlar tarafından inaktive ve modifiye edilebilmektedir (Darby vd., 2023; Goldstein, 2014). Bu modifikasyonlar rifampisin antibiyotiğinin etkisini oldukça azaltarak direnç seviyesinde bir artışa neden olmaktadır. Rifamisinler *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonlarına karşı ilk kullanılan antibiyotiklerden biri olduğu için klinik değeri yüksek antibiyotiklerdir (Luthra vd., 2018). Dolayısıyla bu enzimlerin plazmitler gibi hareketli genetik unsurlarda bulunması halk sağlığı açısından büyük risk taşımaktadır.

2.5.5. Antibiyotik Hedefinin Bypass Edilmesi

Bakteriler, bir diğer direnç mekanizması olarak hedef molekül ile aynı işleve sahip farklı bir enzimi, antibiyotiğe hedef olacak farklı bir enzimi ya da orijinal hedefi aşırı üretterek antibiyotiklerin inhibitör etkisinden kaçabilmektedir (Şekil 2.5). Bu durum, genellikle hücreye hayatta kalması için gerekli özellikleri kazandırabilen ancak orijinal antibiyotik tarafından etkin bir şekilde inhibe edilmeyen alternatif bir genin edinilmesi yoluyla gerçekleşmektedir (Munita ve Arias, 2016).



Şekil 2.5. Antibiyotik Hedefinin Devre Dışı Bırakılması

Kaynak: (Darby vd., 2023)

Alternatif enzim üretimine verilebilecek en iyi örneklerden birisi metisilin dirençli *S. aureus*'un (MRSA) ortaya çıkmasıdır. β -laktamların antibakteriyel aktivitesi, sitoplazmadan çıkan peptidoglikan birimlerinin transpeptidasyonu ve transglükosilasyonundan sorumlu enzimler olan PBP'lerin inhibisyonu yoluyla hücre duvarı sentezini bozma yeteneklerine dayanmaktadır. *S. aureus*'ta metisiline direnç, genellikle *mecA* olarak adlandırılan yabancı bir genin edinilmesinden kaynaklanmaktadır. *mecA* geni, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil olmak üzere tüm β -laktamlara karşı düşük afiniteye sahip bir PBP olan PBP2a'yı kodlamaktadır (Munita ve Arias, 2016). *mecA*'nın edinilmesi çoğu β -laktamı MRSA'ya karşı işe yaramaz hale getirirken ciddi enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Bir diğer örnek ise vankomisin dirençli enterokok ve MRSA enfeksiyonlarıdır (Gardete ve Tomasz, 2014). Bu antibiyotik de β -laktamlar gibi hücre duvarı sentezini inhibe etmektedir, ancak doğrudan PBP'lere bağlanmak yerine, pentapeptit öncüllerinden olan terminal D-alanin-D-alanine bağlanarak etki gösterir. Bu durum, bakteri hücre duvarının sentezi için gerekli olan peptidoglikan çapraz bağlarının oluşmasını engelleyerek bakterinin ölmesine neden olmaktadır. Enterokoklarda *vanA* gen kümesinin edinimiyle birlikte vankomisin antibiyotiğinin etkisi ortadan kaldırılmaktadır. Bir transpozon (Tn1546) üzerinde bulunan *vanA* gen kümesindeki genlerin ekspresyonu, hedef bölge olan peptidoglikan prekürsörlerinin farklı bir şekilde sentezine yol açmaktadır. Üretilen prekürsörlerde D-alanin-D-alanin yerine antibiyotik ile daha az afinite gösteren D-alanin-D-laktat veya D-alanin-D-serin bulunduğu tespit edilmiştir. Hedef molekülün bu şekilde değişmesi ile birlikte vankomisin afinitesinin yaklaşık 1000 kat azaldığı gözlenmiştir (Miller vd., 2014). Bu direnç stratejisi genellikle *Enterococcus* türlerinde ve diğer gram-pozitif bakterilerde görülmektedir ancak bazı MRSA suşlarının da vankomisine dirençli *E. faecalis*'den edinilen Tn1546 transpozonunu taşıdığı da tespit edilmiştir (Melo-Cristino vd, 2013; Sievert vd., 2008).

Alternatif molekül veya yolak üreterek antibiyotik direnci sağlayan bu direnç mekanizması sıklıkla hücre duvarını hedef alan antibiyotiklere karşı görünse de farklı etki mekanizmasına sahip antibiyotiklere karşı da görülmektedir. Trimetoprim ve sülfametoksazol kombinasyonu idrar yolu enfeksiyonları ve HIV'li bireylerde görülen *Pneumocystis carinii*'nin neden olduğu pnömoni için tedavide sıklıkla kullanılmaktadır (Huang vd. 2017). Bu iki antibiyotik nükleik asit ve protein sentezi için gerekli olan bakteriyel folik asit biyosentezini bloke etmektedir. Trimetoprim bir dihidrofolat redüktaz (DHFR) inhibitörü olarak işlev görür ve sülfametoksazol dihidropteroat sentetazı (DHPS) inhibe eden bir sülfonamiddir (Birmingham ve Derrick, 2002). Genel olarak, kombinasyon tedavisine direnç daha yavaş

ortaya çıkmakta ve bu da kombinasyon tedavisini cazip bir strateji haline getirmektedir. Ancak, DHFR ve/veya DHPS'nin yeni alelleri edinildiğinde ve/veya aşırı üretildiğinde trimetoprim-sülfametoksazol tedavisine karşı direnç ortaya çıkmaktadır. Bu durum antibiyotik hedefinin miktarında aşırı artışa neden olarak folik asit üretiminin devam etmesini ve hücrenin hayatta kalmasını sağlamaktadır (Munita & Arias, 2016).

2.6. Laboratuvar Ortamında Bakteriyel Adaptasyon ve Evrim

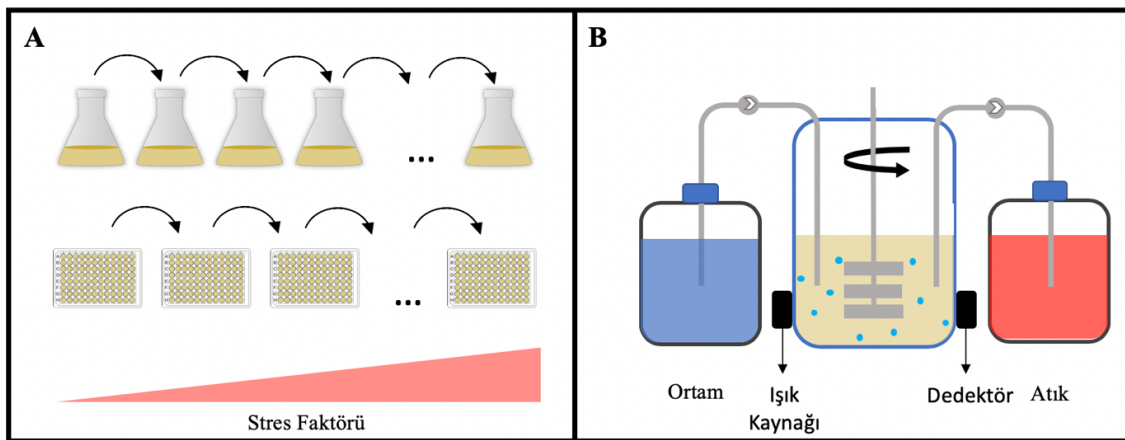
Adaptif süreç üzerinde önemli bir etkiye sahip olan spontan mutasyonlar, hücrel süreçlerin işleyişindeki aksaklıklar nedeniyle meydana gelmektedir. Meydana gelen bu mutasyonların çoğu fenotipik olarak etkili olmasa bile oluşan bazı mutasyonlar hücrenin çeşitli kabiliyetlerini sınırlayan etkilere neden olurken aynı zamanda stres faktörleri varlığında hayatta kalma avantajı da sağlamaktadır. Stres faktörlerine karşı direnç kazanımı, duyarlı bir popülasyondaki hücrelerin bir alt kümesinde, ilgili genlerde mutasyon(lar) meydana gelmesi sonucunda oluşmaktadır. Anahtar pozisyonlardaki mutasyonlar ile birlikte hücreler, stres faktörünün varlığında hayatta kalmaktadır (Reygaert, 2018). Özellikle dizileme teknolojilerindeki gelişmeler ile birlikte bu süreç laboratuvar ortamında kolayca izlenebilir hale gelmiştir.

Bakteriler neredeyse tüm stres faktörlerine karşı adapte olabilmektedir. Direnç kazanımının merkezinde, bakterilerin hayatta kalmak için kullandıkları içsel bir süreç bulunmaktadır. Bu süreç adaptif direnç mekanizmaları olarak adlandırılmaktadır (Kurenbach vd., 2018). Adaptif direnç, bir stres varlığında hayatta kalma olasılığını geçici olarak arttıran ve stresin ortadan kalkması ile birlikte kazanılan toleransın kaybolduğu kalıtsal olmayan bir yanıt olarak kabul edilmektedir. Strese maruziyet süresinin uzamasıyla birlikte direnç kalıtsal bir hale gelebilir (Sandegren, 2019). Adaptif direnç deneyleri, hücreye zararlı olan bir maddenin etkisini belirlemek için kullanılan önemli bir yöntemdir. Bu yöntem ayrıca mikroorganizmaların laboratuvar ortamında değişim dinamiklerinin doğasının aydınlatılması için güçlü bir yaklaşımdır (Du vd., 2020; Mans vd., 2018; Pereira vd., 2019; Sandberg vd., 2019). Adaptasyon sırasında meydana gelen mutasyonlar proteinin görevinde değişimlere neden olabilmektedir. Dolayısıyla, direnç mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için meydana gelen değişimlerin proteinin görevinde nasıl bir etkiye neden olduğunun belirlenmesi büyük bir önem arz etmektedir.

Adaptif laboratuvar evrimi, laboratuvar ortamında organizmaların veya moleküler sistemlerin, çevresel baskılara veya tasarlanmış koşullara uyum sağlayarak evrildiği bir süreçtir. Bu süreç, doğal seleksiyonun laboratuvar koşullarında yeniden oluşturulmasıyla

gerçekleştirilir ve biyolojik evrimin temel prensiplerini taklit etmektedir. Adaptif laboratuvar evrimi veya ALE deneyleri, hem farklı mikrobiyal fenotiplerin geliştirilmesi hem de biyolojik olayların araştırılması için giderek daha popüler hale gelen bir tekniktir. ALE deneylerinin tarihi, geçtiğimiz yüzyılın ortasındaki kontrollü evrim çalışmalarına kadar uzanmaktadır (Dragosits ve Mattanovich, 2013). En basit haliyle bu yöntem, hücrelerin bir ortamda uzun süreli kültürlenmesi sırasında meydana gelen faydalı mutasyonları içeren suşların doğal seçilime uğradığı deney düzeneği olarak açıklanabilir. Bu teknik kontrollü bir laboratuvar ortamında evrimsel olguların analizine olanak sunmaktadır. Mutasyonların ortaya çıkma hızı göz önüne alındığında, pek çok bilim insanının standart laboratuvar süreçleri (büyütme/pasajlama/stoklama) sırasında uyguladıkları döngülerde bile hücreler adaptif olarak evrimleşmektedir. Mikrobiyal ALE sırasında, bir mikroorganizma haftalar ila yıllar arasında değişen uzun süreler boyunca açıkça tanımlanmış koşullar altında büyütülmekte ve bu da istenilen fenotiplerin seçilmesine olanak tanımaktadır. ALE deneyleri, hızlı bölünen (20 dk - 10 saat) ve çok sayıda hücre (10^8 - 10^{10}) içeren popülasyonlarda oldukça verimli bir şekilde gerçekleşmektedir. Mikroorganizmalardaki mutasyon hızı ve genom boyutlarının büyüklüğü geniş bir fenotipik çeşitliliğin ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Gresham ve Dunham, 2014).

Karşılaştırmalı genomik aksine ALE, fenotipik değişikliklerin belirli bir büyüme ortamıyla doğrudan ilişkilendirilmesine olanak tanımaktadır. Dahası, yeni nesil dizileme de dahil olmak üzere oldukça yeni teknolojiler sayesinde, fenotip-genom, fenotip-transkriptom korelasyonları tüm genom dizilimi ve RNA-dizileme ile kolayca analiz edilebilmektedir (Ansorge, 2009; Hardison, 2003; Liu vd., 2012). Bunlara ek olarak, ALE proteom ve metabolom analizi ile birleştirilerek adaptasyon ile ilişkili proteomik ve metabolomik değişimler de belirlenebilmektedir (Espinosa vd., 2020).



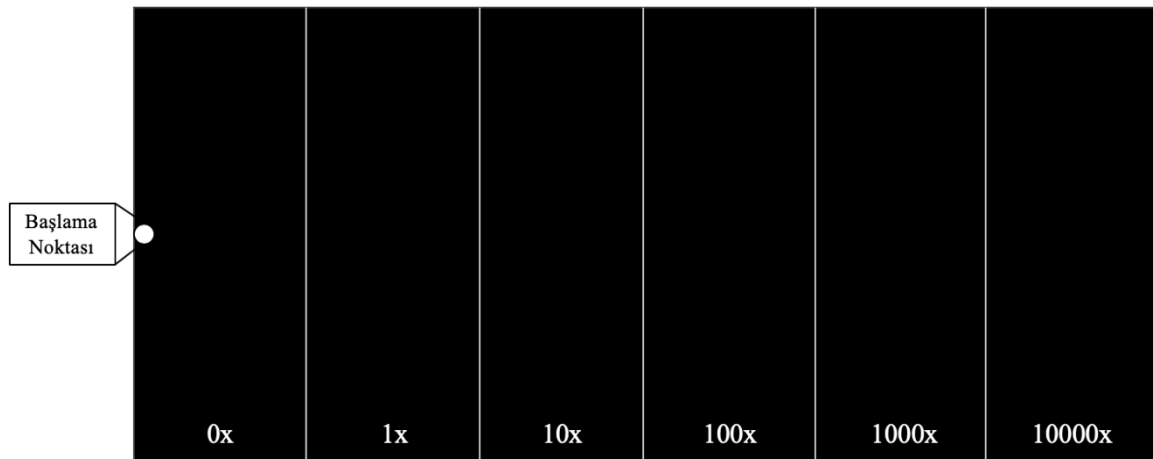
Şekil 2.6. Sıvı Ortamda Adaptasyon Deney Düzenekleri

Genel olarak, mikroorganizmalarla ALE deneyleri yapmak kolaydır ve yaygın olarak kullanılan iki yöntem bulunmaktadır. Bunlardan birincisi mikroorganizmaların seri transfer yapılarak sıvı besiyerinde çalkalamalı bir şekilde büyütülmesidir (Şekil 2.6.A). Bu yöntemde, düzenli aralıklarla (genellikle günlük olarak), kültürün bir kısmı, ek bir büyüme turu için taze besiyeri içeren yeni bir şişeye aktarılmaktadır. Bu yöntem kolay kurulum, ucuz ekipman ve çok sayıda paralel kültür kolaylığı gibi avantajlara sahiptir. Kültür hacimlerini azaltmak ve çok sayıda paralel tekrar yapabilmek için mikro plate kullanılabilir (Gonzalez ve Bell, 2013). Bu yöntemde sıcaklık ve kültürün homojenliği dahil olmak üzere çeşitli çevresel faktörler kolayca kontrol edilebilir ancak kesikli kültür içerisinde adaptasyon sürecinin, değişen popülasyon yoğunluğu, dalgalanan büyüme hızı, değişken besin kaynağı ve pH dahil olmak üzere bazı kontrol edilemeyen faktörleri bulunmaktadır. Çoğu durumda, bu faktörler deneysel düzenek için büyük önem taşımada deney yönteminin basitliği, mikrobiyal adaptasyon deneyleri için karmaşık ortamların uygulanmasını engelleyebilir.

Yaygın olarak kullanılan ikinci yöntem, kesikli kültürler için alternatif olan önemli bir ALE tekniğidir. Bu yöntemde adaptasyon süreci kemostat içerisinde sürekli kültür şeklinde gerçekleşmektedir (Wang vd., 2010; Wright vd., 2011). Böylece, kültürün büyüme oranları ve popülasyon yoğunlukları sabit tutulmaktadır. Ayrıca, besin, pH ve oksijen gibi çevresel koşullar sıkı bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı ise maliyetleridir. Kesikli kültürler ile şişelerde yapılan çok sayıda paralel çalışmanın maliyeti bile kemostat maliyetinin çok altında kalmaktadır. Ayrıca önemli bir kurulum maliyeti de gerektirmektedir. Adaptif laboratuvar evrimi için özelleştirilmiş kemostatlarda mikrobiyal adaptasyon çok daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (Toprak vd., 2013). Bu özel sistemler, bir stres faktörüne adaptasyon sırasında hücre yoğunluğunu eş zamanlı bir şekilde kontrol ederek, ortamdaki stres faktörünün konsantrasyonunu otomatik olarak ayarlayabilmektedir. Böylece deney düzeneği içerisinde bakteriler sürekli olarak antibiyotik baskısı altında tutulmakta ve hızlı bir şekilde yüksek direnç seviyelerine ulaşabilmektedir (Şekil 2.6.B).

ALE için bu iki popüler yöntem dışında farklı deney düzenekleri de kullanılmaktadır. MEGA plaka yöntemi, bu alternatifler arasında en ünlü olanıdır. Bakteriler, doğadaki çevresel zorluklar arasında göç ederken evrimleşerek hayatta kalmaya çalışmaktadır. Bu düşünce temelinde geliştirilen MEGA plaka, 120x60 cm boyutlarında, yarı sıvı besiyeri içeren ve sürekli artan stres konsantrasyonlarına sahip olan bir deney düzeneğidir (Şekil 2.7). Organizma, stres faktörü içermeyen bölümdeki başlama noktasına ekilmektedir. Besin için hareket eden mikroorganizmalar, sürekli artan stres faktörü içeren alana kadar hareket etmeye devam

edebilir. Bu alana sadece stres faktörüne karşı adapte olan mikroorganizmalar geçebilmektedir. Göç işlemi, daha yoğun stres faktörünün olduğu alanlara doğru devam eder ve organizma kısa süre içerisinde önemli derecede direnç kazanır (Baym vd., 2016). Direnç sürekli olarak artarken, bir yandan da hücreler hem fenotipik hem de genotipik olarak çeşitlenmektedir. Dolayısıyla adaptasyon süreci sonucunda çok sayıda farklı soy elde edilmektedir. Bu yöntem, hızlı bir şekilde yüksek direnç seviyelerine ulaşılması açısından oldukça faydalıdır ancak deney düzeneğinin büyük olması, fazla miktarda sarf malzeme gerektirmekte ve kontaminasyon riskini arttırmaktadır.

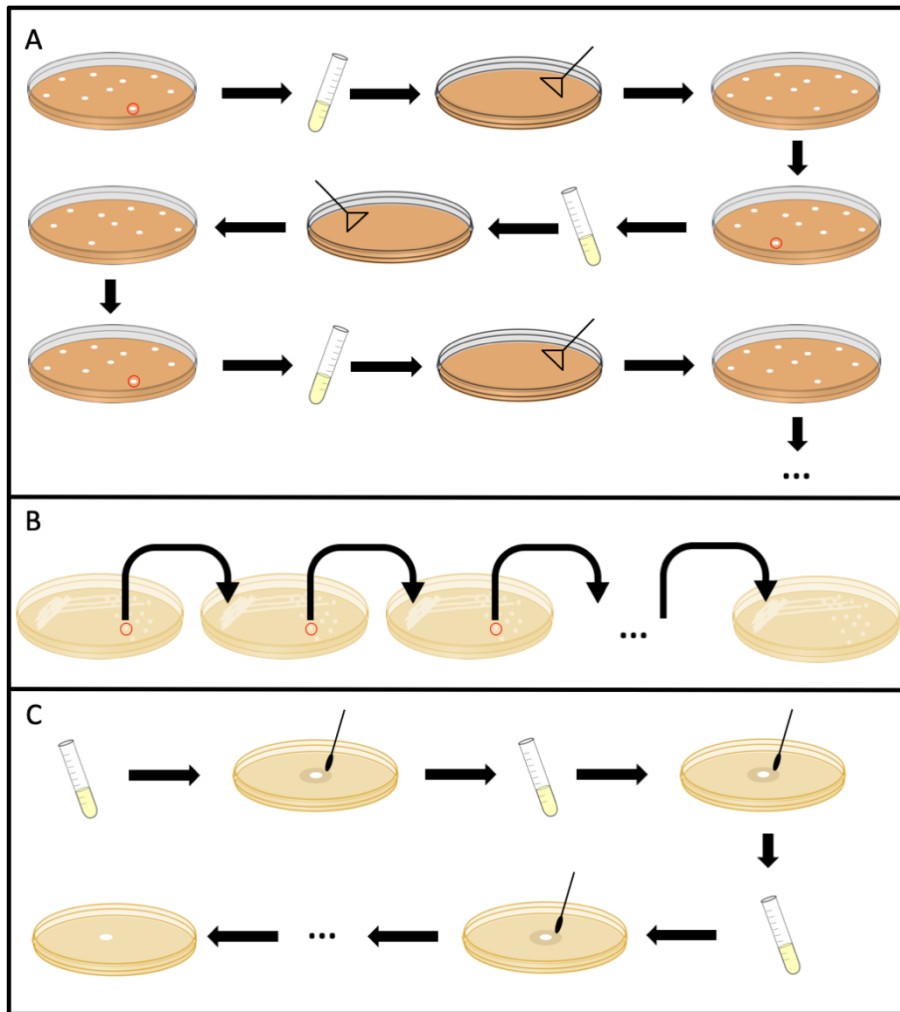


Şekil 2.7. Mega Plate Deney Düzeneği

Sıvı kültür seri transferinin uygun olmadığı adaptasyon çalışmalarında, koloni transfer yöntemi de kullanılmaktadır. Bu yöntem temel olarak iki şekilde uygulanabilmektedir. İlk olarak, agar yüzeyine yayılan hücrelerden bir koloni seçilir ve ardından sıvı kültür içerisinde büyütülür; bu büyüyen kültür daha sonra tekrar agar yüzeyine yayılır. Bu döngü, adaptasyon işleminin gerçekleştirilmesi için tekrarlanır (Şekil 2.8.A). Özellikle sıvı ortamda ciddi agregatlar oluşturan hücreler söz konusu olduğunda, ikinci yöntem alternatif bir yol olarak düşünülebilir. Bu yöntemde, hücreler stres faktörünü içeren bir agar yüzeyine seyreltme plaka yöntemi ile ekilir. Oluşan kolonilerden biri seçilir ve stres miktarı sabit tutularak veya artırılarak yeni bir agar yüzeyine ekilir. Bu işlem, istenilen adaptasyon gerçekleşene kadar tekrarlanır (Şekil 2.8.B). Koloni transfer yöntemi kontaminasyonun gözle görülebilmesi açısından oldukça büyük bir avantaja sahiptir. Ancak her seferinde sadece bir koloninin seçilmesi diğer kolonilerdeki adaptasyon potansiyelinin göz ardı edilmesine neden olmaktadır (Hirasawa ve Maeda, 2023).

Koloni transfer yönteminin farklı bir versiyonu ise duyarlılık diskleri yardımıyla gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.8.C). Nadir kullanılan bu yöntemde stres faktörüne direnç

kazandırılmak istenen bakteri petri üzerine yayıldıktan sonra üzerine duyarlılık diski yerleştirilir. İnkübasyon sonrasında diski çevreleyen inhibisyon bölgesi incelenerek inhibisyon bölgesi içinde mevcut olan herhangi bir tek koloni seçilir. Tek koloni yoksa, inhibisyon bölgesinin diske en yakın kenarı bir eküvyon kullanılarak toplanır ve bir sonraki pasajda kullanılmak üzere besiyerinde süspansiyon edilir. Bu işleme, inhibisyon bölgesinin kenarı diske ulaşana kadar devam edilir. Böylece bakterilerin MİK değerinde bir artış elde edilir (Flanagan ve Steck, 2018). Bu yöntem her ne kadar düşük maliyetli olsa da adaptasyon süreci diğer yöntemlere kıyasla daha uzun sürmektedir.



Şekil 2.8. Katı Ortamda Adaptasyon Deney Düzenekleri

Adaptif laboratuvar evrimi, biyoloji, biyoteknoloji, evrimsel biyoloji ve ilaç geliştirme gibi birçok alanda heyecan verici potansiyel sunan bir yaklaşımdır. Bu yöntem, doğal seleksiyonun laboratuvar koşullarında yeniden oluşturulmasını sağlayarak, biyolojik evrimin temel prensiplerini anlamamıza yardımcı olmaktadır. Yapılan optimizasyonlarla birlikte karmaşık problemlere karşı evrimsel süreçleri araştırmak mümkün hale gelmektedir. Bu

alanlarda yapılan araştırmalar, adaptif laboratuvar evriminin gelecekte daha da önemli bir rol oynayacağını göstermektedir.

2.7. Adaptif Antibiyotik Direnç Gelişimine Yönelik Daha Önceki Çalışmalar

Antibiyotik direncinin günümüzün en önemli sorunlarından biri haline gelmesi ve teknolojinin gelişmesi ile birlikte bu konudaki çalışmalar son yıllarda hızlı bir şekilde artmaktadır. Literatürde, antibiyotik direncinin moleküler mekanizmasını belirlemek için farklı bakış açıları ile yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Siprofloksasin antibiyotiğı ile yapılan bir çalışmada geliştirilen bir cihaz ile bakterilerin besin ihtiyacından dolayı daha yüksek antibiyotik konsantrasyonu içeren ortamlara göç etmesi sağlanmıştır. Böylece her aşamada bakteriler daha yüksek miktarda antibiyotik konsantrasyonuna adapte olmuştur. Adaptasyon deneyleri sonucunda, başlangıç MİK değerine kıyasla 200 katlık antibiyotik içeren ortamda yaşayabilen 3 suş elde edilmiştir. Bu suşlar arasında dirençten sorumlu olduğu düşünülen 4 benzer genetik değişiklik gözlenmiştir. Çalışmada ara pasajlardan ve antibiyotiksiz kontrol suşlarından dizileme yapılmamış, atasal suş ve en dirençli suşlar kullanılarak genomik değişimler incelenmiştir (Zhang vd., 2011). Kloramfenikol, doksisisiklin ve trimetoprim antibiyotikleri ile yapılan bir başka çalışmada kemostat benzeri bir cihaz ile adaptasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. 5 paralel tekrar ile gerçekleştirilen çalışmada, tüm paralel tekrarların sonunda benzer direnç seviyeleri elde edilmiştir. Adaptasyon deneyleri sonucunda, kloramfenikol, doksisisiklin ve trimetoprim için direnç seviyesi sırasıyla 870, 10 ve 1680 kat artmıştır. Dirençli hale gelen bu suşlarda tüm genom dizileme yapılarak atasal suş ile karşılaştırılmış ve meydana gelen mutasyonlar tespit edilmiştir. Veriler, farklı antibiyotiklerin direnç mekanizmalarında farklı varyasyonlar olduğunu ancak bu varyasyonların bazı antibiyotiklere karşı çapraz direnç sağladığını göstermiştir. Trimetoprim, doksisisiklin ve kloramfenikol ile yapılan paralel tekrarlarda tespit edilen mutasyonların büyük bölümünün sırasıyla *acrB*, *marR*, *folA*'da meydana geldiğı tespit edilmiştir (Toprak vd., 2012). 12 antibiyotik ile yapılmış başka bir çalışmada *E. coli* hücreleri, bu antibiyotiklere karşı adaptif direnç deneyleri ile dirençli hale getirilmiş ve dirençli suşların diğer antibiyotiklere karşı çapraz direnç durumu incelenmiştir. Yapılan duyarlılık testlerinde, kollateral duyarlılığın, antibiyotik direncinin oluşumu sırasında sıklıkla ortaya çıktığı gösterilmiştir. Spesifik olarak aminoglikozitlere karşı direnç kazanan hücrelerin diğer antibiyotiklere karşı duyarlı hale geldiğı görülmüştür. Yapılan genom dizileme çalışmaları sonucunda, majör dışa akış pompalarının aktivitesini azaltan mutasyonların bu durumdan sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Lázár vd., 2013). Rifampisin ile yapılan bir çalışmada ise

adaptasyon sırasında konsantrasyon artışı hızının genomik değişiklikler üzerine etkisi araştırılmış ve hızlı konsantrasyon artışının daha az genomik varyasyon ortaya çıkardığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada bakteriyel direncin geliştirilmesi sırasında, bir grup bakteri antibiyotik ile ön muamele edilmeden doğrudan yüksek konsantrasyonda antibiyotik içeren besiyerine inoküle edilmiştir. İkinci grup bakteri, her pasajda antibiyotik konsantrasyonu artırılarak 16 kez ara konsantrasyonda pasajlandıktan sonra yüksek konsantrasyonda antibiyotik içeren besiyerine aktarılmıştır. Üçüncü grup bakteri ise, her pasajda antibiyotik konsantrasyonu artırılarak 32 kez ara konsantrasyonda pasajlandıktan sonra yüksek konsantrasyonlu besiyerine aktarılmıştır. Çok sayıda paralel tekrar ile yapılan çalışmada, düşük antibiyotik konsantrasyonlarında ön muamele yapılmayan grupta, ön muamele ile adaptasyon yapılan gruplara göre yaşayan bakteri sayısı oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Direnç kazanan bakterilerde rifampisin direncinden sorumlu olan *rpoB* geninin dizilenmesi sonucunda, ön muamelesiz direnç kazanan bakterilerin tamamında sadece *rpoB* geninde 1 noktada varyasyon görülürken, adaptasyon ile yapılan pasajlama sonucunda daha fazla sayıda varyasyon bulunmuştur (Lindsey vd., 2013). Ampisilin ile yapılan bir çalışmada, adaptasyon sonucunda direnç kazanan bakterilerin tamamında *ampC* geninin promotorunda mutasyona rastlanmıştır. Bu nedenle kazanılan direnç bu mutasyon ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca direnç geni dışında tespit edilen *prsA* ve *metG* mutasyonlarının ise ampisiline karşı toleransda rol oynadığı ifade edilmiştir (Levin-Reisman vd., 2017). Bu çalışmaların tamamında adaptasyon sürecinin sonunda ortaya çıkan dirençli suşa odaklanılmıştır. Ancak antibiyotik direncine adaptasyonu daha iyi anlayabilmek için sadece en dirençli suşa değil, farklı direnç seviyesine sahip olan ara suşlara da odaklanılmalıdır.

Baym ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada adaptif sürecin tamamına odaklanılmıştır. Bu çalışmada MEGA plaka adında bir adaptif deney düzeneği ile hücreler trimetoprim ve siprofloksasin antibiyotiğine karşı dirençli hale getirilmiştir. Bu çalışma sonucunda *E. coli* hücreleri trimetoprim antibiyotiği için MİK değerinin 3000 katında, siprofloksasin antibiyotiği için MİK değerinin 2000 katında yaşayabilir hale gelmiştir. Deney sürecinde plaka yüzeyi bir kamera ile izlenmiş ve hücrelerde değişim olduğu düşünölen noktalar tespit edilmiştir. Daha sonra trimetoprim antibiyotiği için bu lokasyonlarda bulunan bakterilere tüm genom dizileme yapılarak genomik değişimler tespit edilmiştir. Dizileme sonuçlarında, daha önce trimetoprim direnci ile ilişkilendirilmemiş olan *pitA*, *aorK* ve *mgrB* genlerinin sıklıkla mutasyona uğradığı görölmüş ve bu genlerin atasal suşta nakavtı, direnç fenotiplerini doğrulamıştır (Baym vd., 2016). Antibiyotik direnç gelişim sürecinde meydana gelen genomik değişimlerin tespitine

odaklanmış bir diğer çalışma Li ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada *E. coli*, adaptasyon deneyleri ile ampisilin antibiyotiğine dirençli hale getirilmiştir. Atasal suşun MİK değerine kıyasla 8 kat dirençli olan ara suş ve 64 katı dirençli olan final suşu genomik değişimleri belirlemek amacıyla dizilenmiştir. Dizileme sonrasında 8 katlık MİK değerine sahip olan *E. coli*'nin 4 pozisyonda, 64 katlık MİK değerine sahip olanın ise 8 pozisyonda sinonim olmayan genomik değişim içerdiği tespit edilmiştir. Ara suşta *ompD* geninde ortaya çıkan genomik değişim final suşunda gözlenmezken, *ftsI*, *acrB* ve *marR* genindeki değişimler final suşunda da bulunmaktadır. 64 katlık dirence sahip suşta bulunan diğer varyasyonların üç tanesi *vgrG*, bir tanesi *frdD* ve diğeri ise *envZ* geninde meydana gelmiştir (Li vd., 2019). Bu çalışmanın sonuçları, birden fazla genin mutasyona uğradığını ve bu değişimlerin ampisilin antibiyotiğine karşı *E. coli* direncini arttığını göstermiştir. Ancak, bu çalışmalarda oluşan mutasyonların direnç ile direkt ilişkisi gösterilememektedir. Ampisilin dirençli suşlarda tespit edilen *envZ*, *vgrG* veya *frdD* genlerinde meydana gelen tek nükleotit polimorfizm (SNP)'lerinin hangisi veya hangilerinin dirençten sorumlu olduğu ortaya konmamıştır. Dolayısı ile meydana gelen mutasyonların ve genlerin dirençte nasıl rolleri olduğu belirlenememiştir. Ayrıca antibiyotik maruziyeti sonrası transkriptomik değişimler incelenmemiş ve oluşan mutasyonların ifade edilen genlerin düzeyinde nasıl sonuçlar doğurduğu belirlenmemiştir. Bu nedenle bu çalışmalar direncin mekanizmasını tam olarak açıklayamamaktadır.

135 *P. aeruginosa* klinik izolatu ile gerçekleştirilen bir çalışmada, antibiyotik direncinin genetik belirteçlerini tanımlamak için genomik ve transkriptomik analizler yapılmıştır. Siprofloksasin, seftazidim ve meropenem dirençleri bakımından 3'e ayrılarak analiz edilen bakterilerde siprofloksasin antibiyotiği ile ilişkili iki SNP, seftazidim antibiyotiği ile ilişkili bir SNP tespit edilmiştir. Siprofloksasin antibiyotiği ile ilişkili SNP'ler *gyrA* ve *parC* genlerinde iken seftazidim direnci ile ilişkili SNP *ampC* geninde meydana gelmiştir. Transkriptom verileri incelendiğinde ise genomik analizden farklı olarak *cbrA* geninin siprofloksasin direnci ile ilişkili olduğu, *cc4*, *gbuA* ve *oprD* genlerinin de meropenem direnci ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Khaledi vd., 2016). Bu çalışmada, her ne kadar antibiyotiklere dirençte rolü olan genler, hem transkriptomik hem de genomik yöntemler kullanılarak belirlenmiş olsa da farklı direnç seviyesine sahip bakteriler birbirleri ile karşılaştırılarak analiz edilmemiştir. Benzer bir şekilde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada *E. coli*'nin amoksisilin, enrofloksasin ve tetrasiklin antibiyotiklerine adaptasyonu sonucunda meydana gelen genomik ve transkriptomik değişiklikler incelenmiştir. Her 3 farklı antibiyotikte ifadesi değişmiş olan 4 ortak gen (*hdeA*, *gadA*, *gadB*, ve *gadC*) bulunmuştur. Ayrıca tetrasiklin ve enrofloksasin dirençli suşlar ifadesi

değişen genler bakımından diğerlerine göre daha çok benzerlik göstermiştir. Çalışmada tüm genom analizi yapılmamış onun yerine bu antibiyotiklere karşı dirençte rolü olduğu bilinen genler adaptasyon sürecinin farklı noktalarında dizilenmiştir. Dizileme verileri adaptasyon sürecinde ortaya çıkan bir varyasyonun sonraki aşamalarda kaybolabileceğini ve farklı tekrarlar da benzer mutasyonların olabileceğini göstermiştir (Händel vd., 2014). Bu çalışmada da bir öncekine benzer şekilde aynı antibiyotiğe farklı direnç seviyesine sahip olan bakteriler transkriptomik olarak karşılaştırılmamıştır. Dolayısıyla direnç mekanizması net olarak ortaya konulamamıştır.

Ampisilin, tetrasiklin, n-butanol ve n-hekzan kullanılarak yapılan bir çalışmada bakteriyel adaptasyonun arkasındaki mekanizma belirlenmeye çalışılmıştır. Bu kimyasallara karşı adapte edilen suşlar genomik ve transkriptomik olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda stres yanıt genlerinin adaptasyon sürecinde önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir. Genel stres tepkisini aktive etmekten sorumlu sigma faktörü olan *rpoS*'nin ifadesi, ampisilin, tetrasiklin ve n-butanole uyarlanmış popülasyonlarda sürekli olarak azalmıştır. Bu nedenle, *rpoS*'nin ifadesinin azalması, doğal adaptif tepkinin bir parçası olarak yorumlanmıştır (Erickson vd., 2015). Bu çalışmanın devamı niteliğinde olan diğer bir çalışmada ise bir önceki çalışmada elde edilen veriler farklı analiz yaklaşımları ile incelenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm maddelere adaptasyonda 16 genin görevli olduğu ve bu genlerin ana düzenleyicisinin *dksA* olduğu tespit edilmiştir (Erickson vd., 2017). Deneysel aşamalar 3 farklı biyolojik tekrar ile gerçekleştirilmiş ve aynı madde ile adaptasyona uğramış olan biyolojik tekrarlar arasında ifadesi değişen gen sayısında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Yapılan ilk çalışmada bu genlerden birkaç tanesi promotor bölgesini de içerecek şekilde dizilenmiş ancak gen ifadesini etkilediği düşünülen bir varyasyon bulunamamıştır. Çalışmadaki paralel tekrarların gen ifadesindeki farklılıklar, suşların direnç seviyesinden kaynaklanıyor olabilir, bu nedenle farklı direnç seviyesine sahip suşların transkriptomik profillerinin analiz edilerek, direnç seviyesi ile gen ifadesi arasındaki ilişkilerin belirlenmesi gerekmektedir.

Kinolon dirençli *E. coli* suşları ile yapılan bir çalışmada antibiyotiğin bakteriyosidal etkisini azaltan mekanizmanın neler olduğu araştırılmıştır. Çalışmada direnç seviyeleri birbirinden farklı olan 3 suş kullanılmıştır. Transkriptom verileri incelendiğinde farklı şekilde ifade edilen gen sayısının MİK değerindeki artışa paralel olarak arttığı tespit edilmiştir. Ancak çalışmada direnç mekanizmasına odaklanıldığı için farklı ifade edilen genlerin MİK değeri ile ilişkisi araştırılmamıştır (Machuca vd., 2017). MRSA, plazmit olarak CTX-M-15 taşıyan *E.*

coli ve CMY-2 taşıyan *E. coli* ile yapılan bir çalışmada bu bakterilerin sefotaksim antibiyotiğine verdiği transkripsiyonel yanıt incelenmiştir. Sonuçlar plazmit ile direnç sağlayan suşlarda transkripsiyonel yanıtın direnç seviyesine bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir (Brochmann vd., 2018). Ancak bu çalışmada kullanılan *E. coli* suşları adaptasyon yoluyla değil yatay gen transferi ile dirençli hale gelmiştir. Bu nedenle adaptif direnç sürecindeki mutasyonların değil, yatay gen transferi ile alınan direnç genlerinin etkileri yorumlanabilmektedir.

Yapılan bir çalışmada, *E. coli* hücreleri durgun faza kadar büyütülmüştür. Bu hücrelerin bir kısmı transkriptomik analizler için toplanırken, kalan kısmı ise 2 ayrı taze besiyeri içerisinde dilüe edilmiştir. Bu iki besiyerinden birine lethal dozda ampisilin eklenerek, diğerine ise antibiyotik eklenmeden 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında bu iki kültür ile birlikte durgun faz hücrelerine transkriptom analizi gerçekleştirilmiştir. Ampisilinle muamele edilmiş *E. coli* hücrelerinde, ifadesi en çok artan fonksiyonel gen gruplarının amino asit taşınması ve metabolizması (28 gen), enerji tüketimi ve dönüşümü (26 gen), posttranslasyonel modifikasyon (23 gen) ile ilgili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ampisilin muamelesinde yukarıdaki fonksiyonel gruplarda bulunan genlerin bir çoğunun düzenleyicisi olan *rpoS*, *rpoH* ve *rpoE* genlerinin de ifadesinin arttığı gözlenmiştir (Deter vd., 2021). Ancak bu çalışmada dirençli suşlar değil duyarlı suşlara antibiyotik uygulanarak transkriptomik değişimler tespit edilmiştir. Gutierrez ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise ampisilin muamelesinin yabancı tip hücrede mutasyon sayısını arttırırken $\Delta rpoS$ suşlarda bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir (Gutierrez vd., 2013).

Direnç sadece antibiyotik ya da bir kimyasal ile temas durumunda ortaya çıkmak zorunda değildir. Bakterilerin kimyasal maruziyeti olmadan, besiyerinde pasajlamalar sonucunda da dirençli formların meydana gelebildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. *E. coli* ve *S. enterica* ile yapılan bir çalışmada, bakteriler antibiyotik içermeyen dört farklı besiyeri içerisinde farklı sayıda paralel tekrarlarında 500-1000 jenerasyon pasajlanmış ve finalde elde edilen 52 suş 10 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiştir. Yapılan test sonuçlarında 10 *E. coli* popülasyonunun eritromisin, rifampisin ve streptomisine 8 kat, *S. enterica* popülasyonunun ise eritromisin, fosfomisin ve amdinosisilin antibiyotiklerine 2-32 kat arasında direnç kazandığı tespit edilmiştir. Genomik değişiklikler incelendiğinde farklı besiyerlerinde pasajlanan bakteriler arasında benzerlik gözlenmezken aynı besiyerinde pasajlanan bakteriler arasında bazı benzerlikler görülmüştür (Knöppel vd., 2017). Yapılan diğer bir çalışmada *E. coli* hücreleri 50000 jenerasyon boyunca 12 paralel tekrar olacak şekilde hiç antibiyotiğe maruz bırakılmadan

pasajlanmıştır. 2000. ve 50000. jenerasyondaki bakterilerin tüm paralel tekrarları 15 antibiyotiğe karşı test edilmiş ve direnç değişimleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçların %55,8'inde atasal suşa kıyasla MİK değerinin düştüğü, %31,7'sinde atasal suş ile MİK değerinin aynı kaldığı ve %12,5'inde ise atasal suşa kıyasla MİK değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Jenerasyon sayısı arttıkça çoğu antibiyotiğe duyarlılıkta artış gözlenirken streptomisin antibiyotiğine karşı direncin arttığı tespit edilmiştir (Lamrabet vd., 2019). Dolayısı ile SNP oluşumu sadece bir antibiyotik yada kimyasal varlığında değil kimyasal maruziyet olmadan da gerçekleşebilmektedir.

2.8. Çalışmanın Amaçları

Literatür bilgilerinden de görülebileceği gibi mevcut çalışmalar ampisilin direncinin gelişim sürecini açıklamaya ve hangi genlerin tam olarak sorumlu olduğunu ispatlamaya yetmemektedir. Direnç ile ilişkili çok sayıda gen tespit edilmiş olsa da bu genler arasındaki ilişkiler bilinmemektedir. Ayrıca aynı antibiyotiğe karşı farklı direnç seviyesine sahip olan suşlarda, direnç seviyesinin farklı olmasının ardında yatan moleküler mekanizmalar araştırılmamıştır. Bu çalışmada adaptif direnç deneyleri ile farklı ampisilin direnç seviyesine sahip *E. coli* suşlarının elde edilmesi ve bu suşlar arasındaki genomik ve transkriptomik farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Belirlenen farklılıklar detaylı bir şekilde analiz edilerek “farklı direnç seviyesine sahip olan suşlarda, bu farklılığı sağlayan genomik ve transkriptomik değişimler nelerdir?” sorusuna yanıt aranmıştır.

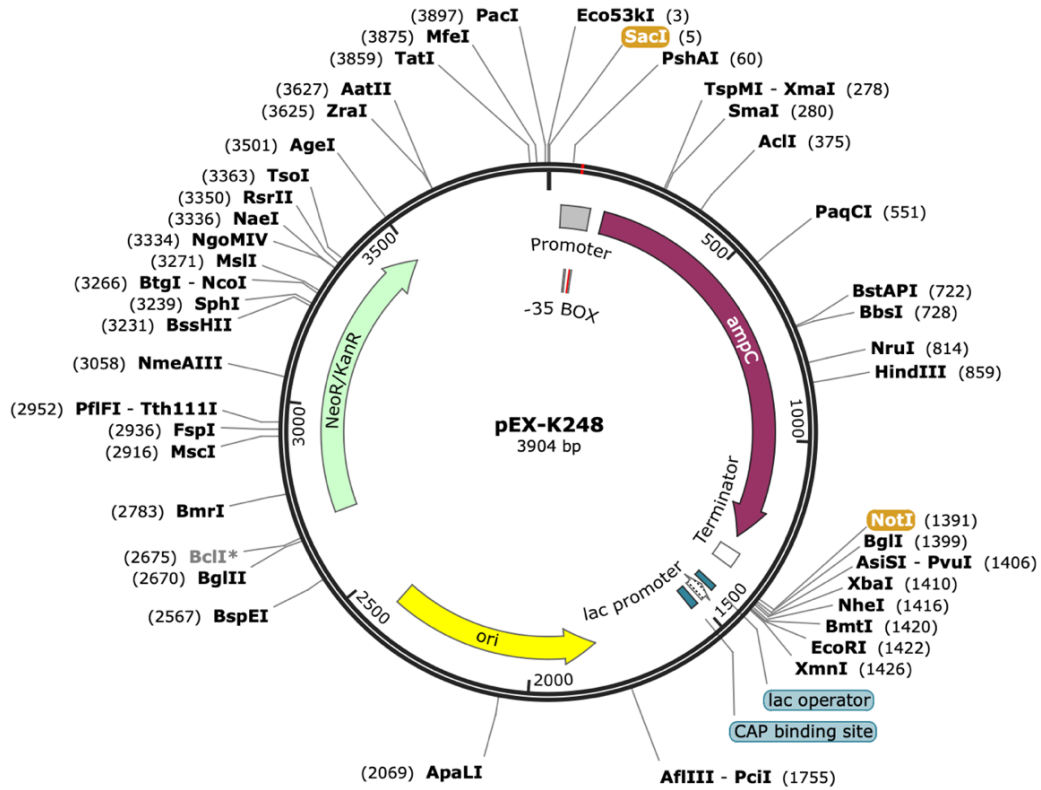
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Kullanılan *E. coli* Suşları ve Plazmitler

Bu çalışmada laboratuvar stoklarımızda bulunan yabancı tip *E. coli* W3110 suşu kullanıldı. Yabancı tip *E. coli* W3110 dışındaki tüm suşlar bu çalışma kapsamında oluşturuldu. Tüm genom dizileme ve RNA dizileme için seçilen 10 kat ve 95 kat dirençli olan suşlar sırasıyla *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 olarak adlandırıldı. Çalışmada kullanılan tüm suşların %40 gliserol (Merck) içeren LB besiyerinde stokları hazırlandı ve -80 °C’de derin dondurucuda sonraki deneylerde kullanılmak üzere saklandı (Darcan vd., 2018).

Çalışmada kullanılan pEX-K248-*ampC* plazmiti Eurofins Genomics firmasından temin edildi. Bu plazmit insliko olarak sentezlenen *ampC* genini ve seleksiyon işlemi için kullanılan kanamisin direnç kasetini içermektedir. pEX-K248 plazmiti 2507 bç’lik bir uzunluğa sahipken *ampC* geni ile birlikte 3904 bç uzunluğa sahiptir. pEX-K248-*ampC* plazmitinin haritası Şekil 3.1’de verildi.



Şekil 3.1. pEX-K248-*ampC* Haritası

3.1.2. Besiyerleri

3.1.2.1. LB Agar Besiyeri

LB agar besiyeri *E. coli* W3110'un ampicilin adaptasyonu ve bakterilerin stok olarak buzdolabında saklanması için kullanıldı. 5 g yeast extract (Merck), 10 g pepton from casein (Merck), 10 g NaCl (Merck) ve 15 g agar-agar (Merck) 1 litre distile suda eritildi ve 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak (Hirayama) steril edildi. Steril besiyeri, petrilere 20 ml dökülerek hazırlandı. Petrilere döktükten sonra su buharı oluşmaması için 20 dk steril kabin içerisinde ağzı açık bir şekilde bekletildi.

3.1.2.2. LB Besiyeri

LB besiyeri bakterilerin üretilmesinde ve gen ifadesinin araştırıldığı deneylerde üreme ortamı olarak kullanıldı. 5 g yeast extract, 10 g pepton from casein ve 10 g NaCl tartılarak 1 litre distile suda eritildi. Daha sonra 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi.

3.1.2.3. Eosin Metilen Blue (EMB) Besiyeri

EMB besiyeri adaptasyon süreci sonucunda oluşan suşların biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar olup olmadığını değerlendirilmesi için kullanıldı. 36 g EMB (Merck) tartılarak 1 litre distile litre suda eritildi ve 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Petrilere döktükten sonra su buharı oluşmaması için 20 dk steril kabin içerisinde ağzı açık bir şekilde bekletildi.

3.1.2.4. İndol (Tripton) Besiyeri

İndol besiyeri, IMVİC deneyleri sırasında indol testinin yapılması için kullanıldı. 10 g pepton from casein ve 5 g NaCl 1 litre distile suda eritildi. Daha sonra her bir standart deney tüpünde 5 ml olacak şekilde dağıtıldı. Hazırlanan tüpler 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi.

3.1.2.5. MR-VP (Methyl-red Voges-Proskauer) Besiyeri

MR-VP besiyeri, IMVİC deneyleri sırasında metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testinin yapılması için kullanıldı. 17 g MR-VP (Merck) besiyeri 1 litre distile su içerisinde eritildi. Ardından her bir standart deney tüpünde 5 ml olacak şekilde dağıtıldı. Hazırlanan tüpler 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi.

3.1.2.6. Simmons Sitrat Agar

Simmons Sitrat Agar, IMVİC deneyleri sırasında sitrat testinin yapılması için kullanıldı. 23,3 g Simmons Sitrat Agar (Merck) 1 litre distile su ile karıştırıldı. Ardından mikro dalga fırın

yardımıyla besiyeri tam olarak eritildi. Besiyeri sıvı haldeyken standart deney tüpünde 5 ml olacak şekilde dağıtıldı. Hazırlanan tüpler 121 °C’de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Otoklavın ardından tüpler 1-1,5 cm yüksekliğindeki bir çubuğa yatırılarak besiyerinin katılaşması beklendi.

3.1.2.7. Phosphate Buffer Saline (PBS) Solüsyonu

PBS solüsyonu, DNA ve RNA izolasyonu için toplanan hücrelerin yıkanması için kullanıldı. PBS solüsyonunu hazırlamak için 1 adet PBS tablet 200 ml distile suda eritildi ve daha sonra hazırlanan solüsyon 121 °C’de 15 dk otoklavlanarak steril hale getirildi.

3.1.2.8. SOB (Süper Optimal Besiyeri)

SOB, transformasyon sırasında hücrelerin büyütülmesi için kullanıldı. SOB hazırlamak için 21 g bactotripton (BD), 5 g yeast extract, 2 ml 5M NaCl ve 1 ml 2M KCl (Carlo Erba) 1 litre distile su içerisinde eritildi ve pH metre (Mettler Toledo) kullanılarak pH değeri 7’ye ayarlandı. Ardından 50 ml’lik erlenlere 9,9 ml dağıtıldı. Hazırlanan erlenler 121 °C’de 15 dk otoklavlanarak steril edildi.

3.1.2.9. SOC (Katabolit Baskılayıcı Süper Optimal Besiyeri)

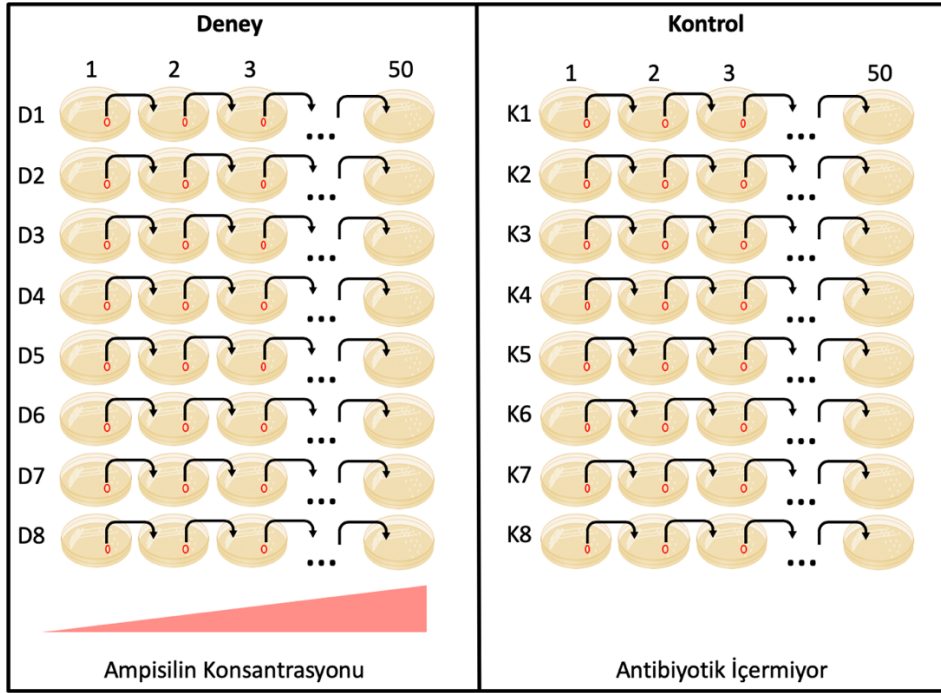
SOC, transformasyon sırasında hücrelerin büyütülmesi için kullanıldı. Bir örnek için 1,96 ml steril SOB içerisine daha önceden steril edilmiş 20 µl 2M Mg⁺² ve 14,4 µl %50’lik glukoz çözeltisi eklenerek hazırlandı.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Adaptasyon Deneyleri ile Antibiyotik Direnci Kazandırma

Antibiyotik adaptasyon deneyleri katı besiyerinden koloni transfer metodunun optimizasyonu ile gerçekleştirildi. *E. coli* W3110 suşu MİK değerinde ampisilin içeren 20 ml LB agar ile hazırlanan petrilere, seyreltme plaka ekim yöntemi ile pasajlandı ve petrilere 37 °C’de 1 gece inkübe edildi. Üreyen bakteri kolonilerinden birisi seçilerek ampisilin konsantrasyonu bir önceki pasaja göre %10 fazla olan petrilere tekrar pasajlandı. Döngü bu şekilde devam ettirilerek her pasajlama sonucunda ampisiline daha dirençli jenerasyonlar elde edildi. Adaptasyon süreci 8 tanesi deney grubu (ampisilin içeren ortam), 8 tanesi kontrol grubu (ampisilin içermeyen ortam) olmak üzere 16 pasaj hattı ile gerçekleştirildi. Adaptasyon deney düzeniğinin şeması Şekil 3.2’de verildi. Her 13 pasajda bir tüm pasajlar için MİK değeri belirlendi ve sonraki pasajlamaya yeni MİK değeri ile devam edildi. Adaptasyon deneyleri 50.

pasaj itibariyle sonlandırıldı. MİK yapılan aşamalarındaki ara suşlar ve adaptasyon sürecinin sonunda elde edilen final suşları %40 gliserol içeren LB besiyeri içerisinde -80 °C’de saklandı.



Şekil 3.2. Ampisilin Adaptasyon Süreci

3.2.2. Duyarlılık Testleri

Organizmaların antibiyotik direnç seviyeleri MİK yöntemi (CLSI, 2018; Kaygusuz vd., 2020) kullanılarak belirlendi. MİK değeri belirlenecek organizma 5 ml LB besiyerine ekildi ve 37 °C’de 1 gece çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında bakteri yoğunluğu OD₆₀₀’de 0,1 absorbans olacak şekilde ayarlandı ve daha sonra buradan 400 µl alınarak 60 ml steril LB besiyerine aktarıldı. Bu kültürden, 96 kuyucuklu mikropolanın ilk kuyucuklarına 170 veya 180 µl, sonraki kuyucuklara ise 100 µl eklendi. Daha sonra 170 ve 180 µl bakteri kültürü içeren ilk kuyucuklara sırasıyla 30 ve 20 µl antibiyotik (direnç seviyesine göre 10 mg/ml ya da 50 mg/ml) eklenerek total hacim 200 µl ye tamamlandı. Ardından antibiyotik içeren 1. kuyucuktan başlanarak 12. kuyucuğa kadar ½ seri sulandırma yapıldı ve 37 °C’de 1 gece inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün üreme olan kuyucuklar tespit edilerek MİK değerleri belirlendi. Daha sonra bileşiklerin minimum sidal konsantrasyonunu (MSK) belirlemek için üremenin olmadığı ilk kuyudan başlayarak üremenin olduğu kuyuya kadar olan kuyulardan 10 µl alındı ve LB agar içeren petrilere damlatıldı. Petriler 37 °C’de 1 gece inkübe edilerek ertesi gün MSK değerleri belirlendi. Deneyler en az 3 bağımsız tekrar ile

gerçekleştirildi. Negatif kontrol olarak kuyucuklardan birine antibiyotik içeren besiyeri, diğerine ise sadece besiyeri konularak ½ seri sulandırma yapıldı.

3.2.3. Direnç Kazanmış Suşların Biyokimyasal Özelliklerinin Test Edilmesi

Adaptasyon deneyleri sonucunda direnç kazanmış final suşları için biyokimyasal testler içerisinde sıklıkla kullanılan EMB agar ve IMVIC deneyleri gerçekleştirildi.

3.2.3.1. EMB Testi

4 °C'de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak EMB agar üzerine ekildi. Petriler 37 °C'de 1 gece inkübe edilerek ertesi gün koloni morfolojisi ve rengi incelendi.

3.2.3.2. Indol Testi

4 °C'de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak indol besiyerine ekildi ve kültürler 37 °C'de 1 gece çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 5 ml kovacs ayracı eklendi. Ardından besiyerinin üst kısmında oluşan halka incelendi. Kırmızı renk halka oluşumu pozitif, ayracın kendi rengi olan sarı renk oluşumu ise negatif olarak kabul edildi.

Kovaks ayracı, 5 g para-dimetil-amino-benzaldehitin (Merck) 75 ml izoamil alkol (İsolab) içinde eritilmesinin ardından yavaş yavaş 25 ml saf hidroklorik asit (Tekkim) eklenmesi ile elde edildi. Kullanılmadığı zamanlarda buzdolabında saklandı ve kullanılmadan önce yavaşça çalkalandı.

3.2.3.3. Metil Kırmızısı Testi

4 °C'de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak MR-VP besiyerine ekildi ve kültürler 37 °C'de 1 gece çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 0,2 ml metil kırmızısı indikatörü eklenerek iyice karıştırıldı. Ardından kültürdeki renk değişimi gözlemlendi. Kırmızı renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu negatif olarak değerlendirildi.

Metil kırmızısı indikatörü, 0,1 g metil kırmızısının (AFG Scientific) 300 ml etanol (İsolab) içerisinde eritilmesinin ardından çözeltilinin üzerine 200 ml distile su eklenmesi ile hazırlandı.

3.2.3.4. VP Testi

4 °C'de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak MR-VP besiyerine ekildi ve kültürler 37 °C'de 1 gece çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 0,6 ml alfa-naftol çözeltisi, 0,2 ml KOH çözeltisi eklenerek şiddetli bir şekilde çalkalandı. 20 dk beklendikten sonra kültürdeki renk değişimi gözlemlendi. Kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

Alfa-naftol çözeltisi hazırlamak için, 5 g alfa-naftol (Merck) 15 ml etanol içerisinde çözüldü ve ardından tüm hacim etanol ile 100 ml'ye tamamlandı. KOH çözeltisi, 40 g KOH'un (AFG Scientific) 50 ml distile su içerisinde eritilmesinin ardından tüm hacmin distile su ile 100 ml'ye tamamlanması ile hazırlandı.

3.2.3.5. Sitrat Testi

4 °C'de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak simmons sitrat agar yüzeyine ekildi. Ardından tüpler 37 °C'de 1 gece inkübe edildi ve besiyerindeki renk değişimi incelendi. İnkübasyon sonrasında besiyerinin mavi olması pozitif, yeşil olması negatif olarak değerlendirildi.

3.2.4. Büyüme Deneyleri

Bakteri kültürlerin üreme hızı büyüme deneyleri ile incelendi. Her bir suş 5 ml LB besiyeri içerisinde inoküle edildikten sonra 37 °C'de 18 saat çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. Ardından başlangıç sayılarının eşit olması için 15 ml LB besiyeri içerisinde bakteri yoğunluğu OD₆₀₀'de 0,1 absorbans olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan örnekler çalkalamalı inkübatörde 37 °C, 160 rpm'de inkübasyona bırakıldı. Bakterilerden 8 saat boyunca her 2 saatte bir örnek alınarak spektrofotometrede OD₆₀₀ absorbansları ölçüldü ve büyüme grafikleri oluşturuldu (Çetin Kılıçaslan vd., 2021). Deneyler 3 bağımsız tekrar ile gerçekleştirildi.

3.2.5. DNA İzolasyonu

-80 °C'de saklanan hücreler, ortama alıştırmak amacıyla 5 ml LB içerisinde 37 °C'de 18 saat çalkalamalı (160 rpm) olarak büyütüldü. Daha sonra bu ön kültürlerden elde edilen hücreler 1/100 dilüsyon yapılarak 10 ml taze LB içerisinde aktarıldı ve 160 rpm'de 18 saat inkübe edildi. Daha sonra kültürler, 1 ml hacimlerde oda sıcaklığında 5 dk boyunca 20.000 g'de santrifüj edildi ve hücreler toplanarak iki kez PBS ile yıkandı. Ardından Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) kullanılarak genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzolasyon için kitin protokolüne uygun olarak aşağıdaki işlemler yapıldı.

- Hücrelerin lizis olması için pellet üzerine 600 µl Nuclei Lysis solüsyonu eklenerek 80 °C'de 5 dk inkübe edildi.
- Hücre lizatına 3 µl RNase Solüsyonu eklenerek 37 °C'de 30 dk inkübe edildi.
- RNase ile muamele edilmiş olan hücre lizatından proteinleri çöktürmek için Protein Precipitation Solution eklenerek 5 dk buz üzerinde bekletildi.
- İnkübasyon sonrasında 3 dk boyunca 16.000 g'de santrifüj yapıldı ve DNA içeren süpernatant, 600 µl izopropanol içeren temiz bir santrifüj tüpüne aktarıldı.
- DNA görünür bir forma geldikten sonra 2 dk boyunca 16.000 g'de santrifüjlendi.
- Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra 600 µl %70 etanol eklendi ve DNA pelleti yıkandı.
- 2 dk boyunca 16.000 g'de santrifüjleme gerçekleştirildikten sonra etanol uzaklaştırıldı ve tüp kurutuldu.
- Tüp kuruduktan sonra, DNA'yı rehidre etmek için 100 µl DNA Rehydration Solution eklenerek 65 °C'de 1 saat inkübe edildi.
- DNA'lar analize kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.6. Agaroz Jel Elektroforezi

İzole edilen nükleik asitler %1'lik agaroz jelde yürütüldü. %1'lik agaroz hazırlamak için 1 g agaroz (Sigma-Aldrich) ve 100 ml 1x TBE (Thermo Scientific) kullanıldı. Agaroz ve TBE karışımı mikrodalgada tamamen çözündürülerek üzerine 3 µl Etidyum bromür (10 mg/ml) eklendi. Daha sonra elektroforez cihazının tankına hazırlanan agaroz jeli döküldü. Donduktan sonra 1 µl loading dye (6X) (Thermo Scientific) ve 5 µl izole edilen nükleik asit karıştırılarak jele yüklendi. 45 dk 130 Volt'da yürütme işlemi gerçekleştirildi. Yürütme işleminden sonra jel görüntüleme sistemi (Syngene, G:Box) ile görüntüleme yapıldı.

3.2.7. Tüm Genom Dizileme

Kütüphane hazırlama ve dizileme işlemi Sugenomik Biyoteknoloji firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. Kütüphane hazırlamak için Nextera DNA Library Preparation Kit (Illumina), dizileme işlemi için ise NovaSeq 6000 dizileme platformu (Illumina) kullanıldı. Kütüphane hazırlama; genomik DNA'nın etiketlenmesi, etiketli DNA'nın pürifikasyonu, etiketli DNA'nın amplifikasyonu, kütüphane pürifikasyonu ve kütüphane kontrolü/normalizasyonu olmak üzere beş basamakta gerçekleştirildi.

Genomik DNA'nın etiketlenmesi aşamasında genomik DNA parçalandı ve adaptör dizileri eklendi. NSP1 plate'e 20 µl genomik DNA eklendi. Üzerine sırasıyla 25 µl TD Buffer (Tagment DNA Buffer) ve 5 µl TDE1 (Tagment DNA Enzyme) eklenerek pipetleme ile

karıştırıldı. Daha sonra 280 g de 1 dk boyunca santrifüj edildi ve 55 °C’de 5 dk beklemek üzere termal döngü cihazı üzerine yerleştirildi.

Etiketli DNA’nın pürifikasyonu aşamasında, etiketleme yapılan DNA dizileri Nextera transpozomlardan temizlendi. Öncelikle NSP2 plate’in kuyucuklarına 180 µl Zymo DNA binding buffer eklendi. Daha sonra NSP1 plate’in her bir kuyucuğundan 50 µl alındı ve NSP2 plate kuyucuklarına eklendi ve pipetleme ile karıştırıldı. Zymo-Spin I-96 plate, toplama plate’i üzerine yerleştirilerek, NSP2’den örnek karışımları transfer edildi, 1300 g’de 2 dk boyunca santrifüj edildikten sonra toplama tüpündeki sıvı atıldı. Sonra, her bir örneğe 300 µl Zymo wash buffer eklenerek 1300 g’de 2 dk boyunca santrifüj edildi ve toplama tüpündeki sıvı atıldı (bu işlem 2 defa tekrarlandı). Wash buffer kalıntılarını uzaklaştırmak için bir kez daha 1300 g’de 2 dk boyunca santrifüj yapıldı. Zymo-Spin I-96 Plate, NSP3 üzerine yerleştirilerek, her bir kuyucuğun kolon matriksine direk olarak 25 µl RSB eklendi, 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 1300 g’de 2 dk boyunca santrifüj edildi.

Etiketli DNA’nın amplifikasyonu aşamasında, etiketlenmiş DNA amplifiye edilerek index ve dizileme adaptörleri eklendi. Plate kuyucuklarına Index 1 (i7) ve Index 2 (i5) adaptöründen 5 µl konuldu. Daha sonra her bir kuyucuğa sırayla 15 µl NPM ve 5 µl PPC eklendi. NSP3’ün her kuyucuğundan 20 µl NAP1’e transfer edildi ve pipetlenerek karıştırıldı. Daha sonra 280 g’de 1 dk santrifüj edildi ve Tablo 3.1’deki şartlar ile termal döngü cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.1. Etiketli DNA’nın Amplifikasyonunda Kullanılan Döngü Şartları

Döngü	Zaman	Sıcaklık
1	3 dk	72 °C
	30 sn	98 °C
5	10 sn	98 °C
	30 sn	63 °C
	3 dk	72 °C
Bekleme	∞	10 °C

Kütüphane pürifikasyonu aşamasında kütüphaneler saflaştırıldı ve kısa kütüphane fragmanları elimine edildi. NAP1 280 g’de 1 dk boyunca santrifüj edildikten sonra NAP2’ye transfer edildi. AMPure XP beads (Beckman Coulter) 30 saniye vortekslendi, 30 µl AMPure XP beads NAP2’ye eklendi ve pipetleme ile karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübasyonun ardından karışım berrak hale gelene kadar (~2 dk) manyetik stand üzerinde bekletildi ve

süpernatant uzaklaştırıldı. Daha sonra boncukları karıştırmamaya dikkat ederek yeni hazırlanmış 200 µl %80 EtOH eklendi ve karışım berrak hale gelene kadar (~30 saniye) manyetik stand üzerinde bekletilip yeniden süpernatant uzaklaştırıldı. (Bu işlem 2 defa tekrarlandı). Daha sonra boncuklar 15 dk boyunca açık havada kurutuldu. Ardından, manyetik stand uzaklaştırılarak, 32,5 µl RSB eklendi, pipetlenerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi. Plate tekrar manyetik stand üzerine yerleştirilerek, karışım berrak hale gelene kadar (~2 dk) bekletildi ve NAP2 den NLP ye 30µl süpernatant transfer edildi.

Son aşama olan kütüphane kontrolü/normalizasyonunda ise kütüphanelerin nitel ve nicel kontrolü yapılarak ve kütüphaneler normalize edildi. Kütüphane kuantifikasyonu florometrik bir şekilde Qubit (Thermo Scientific) kullanılarak, kalite kontrolü ise Bioanalyzer 5400 (Agilent Technology) ile yapıldı. İndeksli kütüphaneler 2 nM'a normalize edildi ve eşit hacimlerde karıştırılarak dizileme havuzu hazırlandı. Hazırlanan kütüphaneler kapsama değeri ortalama 200X olacak şekilde 150 bç uzunluğunda çift yönlü dizilendi.

3.2.8. RNA İzolasyonu

-80 °C'de saklanan hücreler, ortama alıştırmak amacıyla 5 ml LB içerisinde 37 °C'de 18 saat çalkalamalı (160 rpm) olarak büyütüldü. Büyüyen hücreler OD₆₀₀'de yaklaşık 0,005 olacak şekilde 15 ml LB besiyerine aktarıldı ve OD₆₀₀ absorbans değeri 0,1 olana kadar büyütüldü. Daha sonra bu kültüre 3/4 MİK değerinde ampisilin eklenerek OD₆₀₀ absorbans değeri 0,5-0,6 olana kadar büyütüldü. Hücrelerin büyütüldüğü her aşamada kültür 160 rpm'de çalkalandı. OD₆₀₀ absorbans değeri 0,5-0,6 olan hücreler santrifüj ile toplanarak PBS ile yıkandı ve RNA içeriğinin değişmemesi için hızlı bir şekilde RNA izolasyonu gerçekleştirildi. RNA izolasyonunda farklı yöntemler denendi ve en verimli sonuç Trizol kullanılarak elde edildi. Bu nedenle izolasyon için Trizol (TRI Reagent, Sigma) metodu aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

- Pelet üzerine 750 µl Trizol ve 200 µl kloroform eklendi ve örnekler oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon süresinin ardından santrifüj (12.000 g 15 dk 4 °C) yapıldı.
- Santrifüj sonrası örnekler 3 faza ayrıldı ve üstteki RNA içeren faz pipet ile temiz bir ependorfa aktarıldı.
- Üst faz üzerine 500 µl izopropanol eklendikten sonra oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon gerçekleştirildi.
- İnkübasyon süresinin ardından santrifüj (12.000 g 8 dk 4 °C) yapıldı.

- Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml %75 lik EtOH ile pellet yıkandı (12.000 g 5 dk 4 °C).
- Üst sıvı yeniden uzaklaştırıldı ve alkol tamamen uçana kadar tüpler kapağı açık bir şekilde kurutuldu.
- Alkol tamamen uçtuktan sonra pelet 50 µl RNase içermeyen su ile çözdürüldü ve 150 µl RNA koruma solüsyonu eklenerek 4 °C'de saklandı.

3.2.9. RNA Dizileme

Kütüphane hazırlama ve dizileme işlemi Sugenomik Biyoteknoloji firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. RNA degradasyonu ve kontaminasyon %1'lik agaroz jel üzerinde incelendi. RNA saflığı NanoPhotometer spektrofotometre (IMPLEN) kullanılarak kontrol edildi. RNA bütünlüğü ise Bioanalyzer 2100 sisteminde (Agilent Technology) RNA Nano 6000 Test Kiti (Agilent Technology) kullanılarak değerlendirildi.

RNA kütüphanesini hazırlamak için örnek başına toplam 0,5 µg RNA kullanıldı. Dizileme kütüphaneleri, üretici firmanın tavsiyesine göre NEBNext Ultra™ RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB) kullanılarak oluşturuldu ve her bir örneğe ait dizilerin ucuna indeks kodları eklendi. İpliğe-özel (strand-specific) kütüphane için, NEBNext Ultra Directional RNA Library Preparation Kit for Illumina (NEB) kullanıldı.

mRNA, poli-T oligo-bağlı manyetik boncuklar kullanılarak toplam RNA'dan saflaştırıldı. Fragmentasyon, NEBNext First Strand Synthesis Reaction Buffer(5X) içinde yüksek sıcaklık altında iki değerlikli katyonlar kullanılarak gerçekleştirildi. Birinci sarmal cDNA, random hexamer primeri ve M-MuLV Ters Transkriptaz (RNase H-) kullanılarak sentezlendi. İkinci iplik cDNA sentezi ise daha sonra DNA Polimeraz I ve RNase H kullanılarak gerçekleştirildi. Çıktı oluşturan parçalar, eksonükleaz/polimeraz aktiviteleri yoluyla kör uçlara dönüştürüldü. DNA fragmanları, 3' uçlarının adenilasyonundan sonra hibridizasyona hazırlık için hairpin loop yapılı NEBNext Adaptörü ile bağlandı. Tercihen 250~300 bp uzunluğunda cDNA fragmanlarını seçmek için kütüphane fragmanları AMPure XP sistemi (Beckman Coulter) ile saflaştırıldı. Daha sonra, boyutlarına göre seçilmiş ve adaptöre bağlanmış olan cDNA ile 3 µl USER Enzyme (NEB) 37 °C'de 15 dk ve ardından 95 °C'de 5 dk boyunca inkübe edildi. Daha sonra Phusion High-Fidelity DNA polimeraz, Universal PCR primerleri ve Index Primer ile PCR yapıldı. Sonunda PCR ürünleri saflaştırıldı (AMPure XP sistemi) ve kütüphane kalitesi Bioanalyzer 2100 sisteminde değerlendirildi.

İndekslenmiş örneklerin kümelenmesi, üreticinin talimatlarına göre TruSeq PE Küme Kiti v3-cBot-HS (Illumina) kullanılarak bir cBot Cluster Generation sisteminde gerçekleştirildi. Küme oluşturma işleminden sonra, Novaseq (Illumina) platformu kullanılarak dizileme gerçekleştirildi ve 150 bp çift uçlu okumalar üretildi.

3.2.10. Biyoinformatik Veri Analizi

3.2.10.1. Tüm Genom Dizileme Verilerinin Analizi

Genom dizileme sonucunda elde edilen verilerin analizi için bir analiz hattı oluşturuldu. Analiz hattının ilk basamağında elde edilen ham dizi verileri (FASTQ) içerisinde hatalı okumaları ayıklamak amacıyla standart olarak kullanılan hata oranlarından Q30 skoruna göre filtrelendi. Filtrelenen veriler Burrows-Wheeler Aligner (BWA) algoritması ile Ensembl (<https://bacteria.ensembl.org>) GCA_000010245 referans numaralı *E. coli* W3110 genomuna haritalandı (Li ve Durbin, 2009). Haritalama sonrasında elde edilen ve hizalama bilgilerini içeren SAM formatındaki dosyalar, bilgisayarda daha kolay işleyebilmek amacıyla Samtools kullanarak BAM formatına çevrildi (Li vd., 2009). Oluşturulan BAM formatından yine Samtools kullanılarak varyasyonlar VCF formatında elde edildi ve ardından tespit edilen varyasyonlar SnpEff yazılımı kullanılarak analiz edildi (Cingolani vd., 2012).

3.2.10.2. RNA-Dizileme Verilerinin Analizi

RNA dizi verilerinin analizinde ise Omicsbox yazılımı kullanıldı (OmicsBox, 2019). Omicsbox yeni nesil dizileme araçlarından elde edilen verilerin analizinde kullanılmak üzere ticari amaçla geliştirilmiş bir yazılımdır. Farklı analiz algoritmalarını kullanıcıya sunarak kendi analiz hatlarının oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Yaptığımız analizde RNA verileri, hızlı ve güvenilir bir algoritma olan Burrows-Wheeler Aligner (BWA) ile Ensembl veri tabanında (<https://bacteria.ensembl.org>) bulunan GCA_000010245 referans numaralı *E. coli* W3110 suşunun genomuna haritalandı (Li ve Durbin, 2009). Haritalanan verilerden transkript ifadesini elde etmek için HTSeq kullanıldı (Anders vd., 2015). Elde edilen ham transkript verilerinden farklı şekilde ifade edilmiş genlerin (DEG) tespitinde ise bir Bioconductor paketi olan edgeR kullanıldı (Robinson vd., 2010). Kontrol ve deney grubu arasında anlamlı şekilde değişen genler, \log_2 (2 kat üzeri ifade değişimi) ≥ 1 ve yanlış keşif oranı (FDR) $< 0,001$ şeklinde dikkate alınarak hesaplandı.

Farklı şekilde ifade edilen genlerin fonksiyonel analizi için Blast2GO metodolojisi kullanıldı (Conesa vd., 2005). İfadesi değişen genler çeşitli hizalama algoritmaları yardımıyla (Blast, InterProScan) online veritabanlarında (NCBI, EMBL-EBI) tarandı. Tarama sonucunda

DEG'lerin hangi Gen Ontoloji (GO) sınıfına girdiği belirlenerek 3 farklı GO sınıfında (Biyolojik Süreçler, Moleküler Fonksiyonlar ve Hüresel Bileşenler) en çok değişim gösteren gruplar analiz edildi (Ashburner vd., 2000). Yolak zenginleştirme analizi için KAAS (KEGG Automatic Annotation Server) kullanıldı. Farklı ifade edilen genler KEGG GENES veritabanında BLAST algoritması kullanılarak analiz edildi (Moriya vd., 2007). Anotasyon sonucunda tespit edilen yolaklara ait venn şemaları oluşturuldu (Heberle vd., 2015).

3.2.10.3. Genom ve Transkriptom Verilerinin Karşılaştırılması

Gerçekleştirilen analizlere ek olarak, mutasyon verileri ile transkriptom verilerinin görsel bir şekilde karşılaştırılması amacıyla Mutasyon ve Ekspresyon Görüntüleme Aracı (MEGA) geliştirildi. Elde edilen mutasyon verileri ve gen ekspresyon verileri bir java script kütüphanesi olan d3.js ile interaktif bir şekilde görselleştirildi. Bu verilere ek olarak Regulon veri tabanından (<https://regulondb.ccg.unam.mx/>) transkripsiyonel düzenlemeye ait bilgiler elde edilerek MEGA'ya entegre edildi (Tierrafría vd., 2022).

3.2.11. RT-qPCR için Gen Belirlenmesi ve Primer Tasarımı

3.2.11.1. RT-qPCR için Genlerin Seçilimi

RNA dizi verilerinin RT-qPCR ile doğrulanması amacıyla ekspresyon verileri incelenerek hem *E. coli* W3110-10'dan hem de *E. coli* W3110-95'den 5'er gen seçildi. Genlerin seçiminde en çok azalan ve artış gösteren 10'ar gene odaklanıldı ve bunların içerisinde 2'şer tanesi aynı operonda bulunmamak koşuluyla seçildi. Buna ek olarak seçilen genin diğer örnek için seçilmemiş olmasına dikkat edildi. Seçilen 4'er genin yanına *E. coli* W3110-95'de direnç gelişiminden sorumlu olduğu düşünülen *ampC*, ve *ampC* geninin düzenlenmesinden sorumlu olan *bolA* seçildi. Bu genlere ek olarak RT-qPCR sırasında referans olarak kullanılmak üzere *rrsA* (16s rRNA) geni seçildi. Seçilen genlerin tamamı Tablo 3.2'de verildi.

3.2.11.2. Primer Tasarımı

Seçilen genlere ait dizi bilgileri bir *E. coli* genom veritabanı olan PEC'den elde edildi (Yamazaki vd., 2007). Yazılan bir Python scripti ile 18-22 nükleotit uzunluğunda ve GC oranı %45-55 olan primer adayları belirlendi. Daha sonra bu primer adaylarının hairpin, self dimer ve heterodimer ihtimalleri oligo analyzer aracı ile kontrol edildi (Owczarzy vd., 2008). Primer tasarımının ardından primer çiftlerinin hepsi insiliko PCR yazılımı ile simüle edilerek kontrol edildi (Bikandi vd., 2004). Tasarlanan primerler Tablo 3.2'de verildi. Tasarlanan primerler Oligomer Biyoteknoloji firması tarafından sentezlendi.

Tablo 3.2. RT-qPCR Primer Dizileri

Gen	Forward Primer	Reverse Primer	Bant Büyüklüğü
<i>gadC</i>	ACTTTGTGCTGCGGAAATGG	AGAAGTCAGGGAAGAAGGTC	422 bç
<i>stfQ</i>	GAAGGTGAGTTACTCATCGG	TAATGCCGTCCTGTTCCCTGA	349 bç
<i>bolA</i>	GATACGTGAGCGGATAGAAG	TGTAAGTATGCAGAGCCAGC	236 bç
<i>zraP</i>	GAACACGAAAATTGCCCTGG	CTCGTTTCACCCGTA ACTCA	317 bç
<i>tdcB</i>	TAAGTTCACTGACCGATGCG	TTCCAGACCAATCGTTCCT	308 bç
<i>yjbG</i>	TCAAGGTGTTCAAGCAATGGC	CGTCACTTTCAACGCCTGAA	260 bç
<i>ydiN</i>	GGCTTTCAGCACGCCATTTA	TAACCAGTATGACCGCCGAA	410 bç
<i>ampC</i>	GCGGTGGCGGTAATTTATCA	GGAGTTGGCATAACAGACGTT	375 bç
<i>garP</i>	ACGCTGTCTATTGCTGGTAC	AACCAATCACCCCAT AACG	460 bç
<i>srlB</i>	CTCAGTGACCAGATGCTCAT	AACTTCAA AACCGATCCCG	296 bç
<i>rrsA</i>	AGAGGATGACCAGCCACAC	CGGGTAACGTCAATGAGCAAAG	194 bç

3.2.12. Primerlerin Sulandırılması

Primerlerin sulandırılması için 1X TE kullanıldı. Ana stok hazırlamak için, sentezlenen primerler final konsantrasyonu 100 µM olacak şekilde üreticinin talimatına göre TE ile sulandırıldı. Daha sonra bu ana stoklardan alikotlar hazırlamak için 10 µl bir ependorfa alındı ve 90 µl TE ile primer konsantrasyonu 10 µM'a ayarlandı. Hazırlanan primer ana stokları ve alikotları -20°C'de dondurucuda saklandı.

3.2.13. RT-qPCR

3.2.13.1. cDNA (Komplementer DNA) Sentezi

Transkriptom analizi sonucunda farklı şekilde ifade edildiği tespit edilen genlerin doğrulanması için RT-qPCR çalışması gerçekleştirildi. Transkriptom analizi için gerçekleştirilen büyüme prosedürü ile aynı şekilde büyütülen hücrelerden izole edilen RNA'lardan cDNA oluşturulması için ters transkripsiyon reaksiyonu gerçekleştirildi. İzole edilen RNA miktarı Nanodrop (Shimadzu) ile ölçüldü. Ardından eşit miktarda RNA ile başlamak için her bir örneğin RNA konsantrasyonu nükleaz içermeyen su ile 100 ng/µl olacak şekilde eşitlendi. cDNA sentezi için High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) kullanıldı. Her bir örnek için kit protokolüne göre hazırlanan reaksiyon karışımı (Tablo 3.3)'de verildi.

Tablo 3.3. Ters Transkripsiyon Reaksiyon Bileşenleri

Bileşen	Miktar
10X RT Buffer	2,0 µl
25X dNTP Mix (100 mM)	0,8 µl
10X RT Random Primer	2,0 µl
Reverse transkriptaz	1,0 µl
dH ₂ O	4,2 µl
RNA (100 ng/µl)	10,0 µl
Toplam	20,0 µl

Protokole göre hazırlanmış olan reaksiyon pipetleme ile karıştırıldıktan sonra kısa bir santrifüj ile PCR tüpünün dibine çöktürüldü. Daha sonra Tablo 3.4'deki PCR koşullarına uygun bir şekilde inkübasyon gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA'lar kullanıma kadar -20 °C dondurucularda saklandı.

Tablo 3.4. Ters Transkripsiyon PCR Koşulları

	1. Adım	2. Adım	3. Adım
Sıcaklık	25 °C	10 °C	37 °C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk

3.2.13.2. qPCR

qPCR analizini gerçekleştirmek için AriaMx (Agilent) Gerçek Zamanlı PCR sistemi kullanıldı. Reaksiyon sonuçlarının analiz edilebilmesi için bakteri aleminde evrensel olarak bulunan *rrsA* (16S rRNA) referans gen olarak seçildi. qPCR reaksiyonu için RealQ Plus 2x Master Mix (Ampliqon) kullanılarak üreticinin protokolüne uygun bir şekilde qPCR reaksiyonları kuruldu. Gen ifadesinin belirlenmesinde bu analiz için kullanılan reaktifler ve reaksiyon şartları Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'de sunuldu. Her bir örnek için 3 bağımsız paralel tekrar gerçekleştirildi. Elde edilen Real Time PCR sonuçları Pfaffl yöntemi kullanılarak analiz edildi (Pfaffl, 2001).

Tablo 3.5. RT-qPCR Bileşenleri

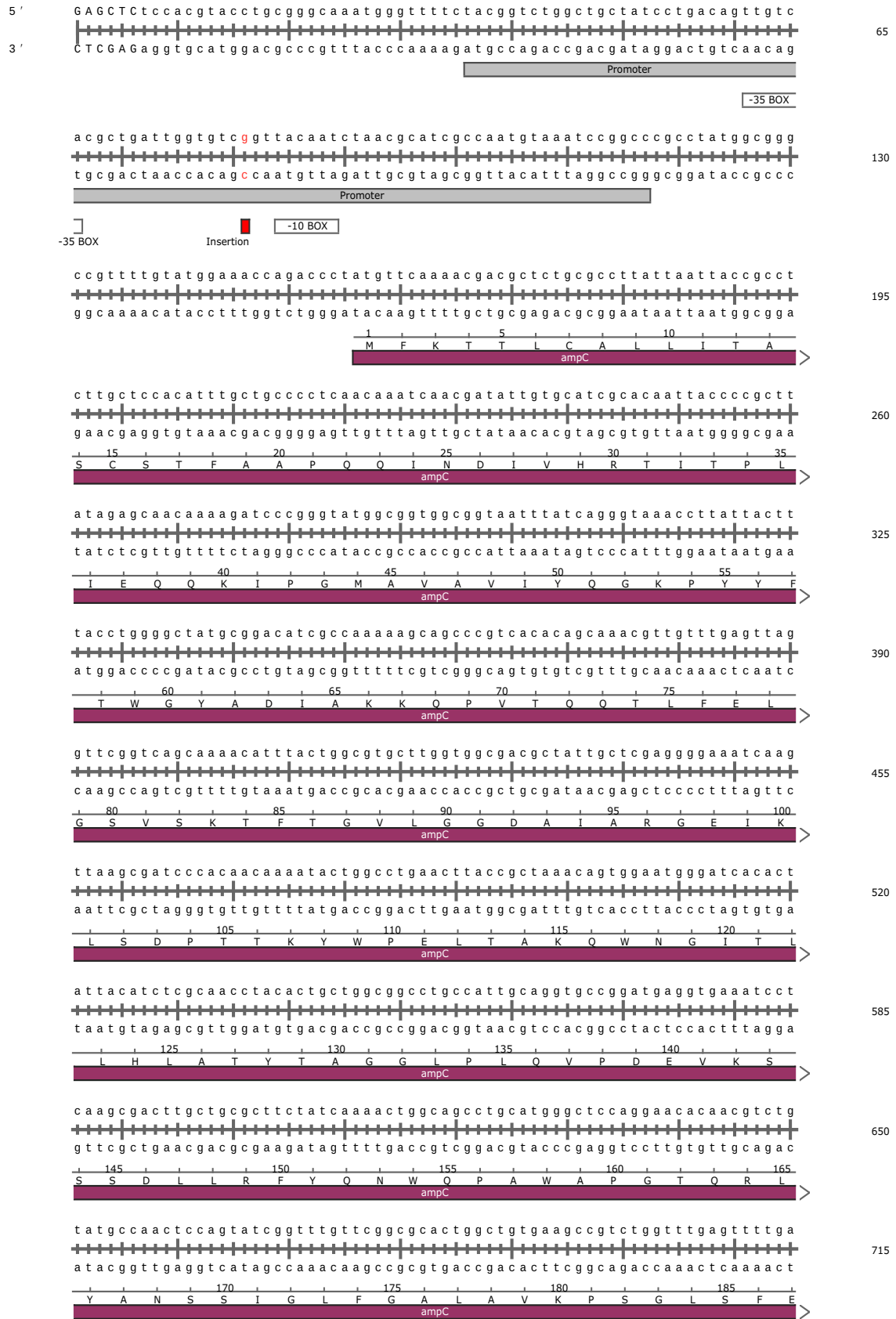
Bileşen	Miktar
RealQ Plus 2X Master Mix	12,5 µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
dH ₂ O	10,5 µl
cDNA	1,0 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3.6. RT-qPCR Döngü Koşulları

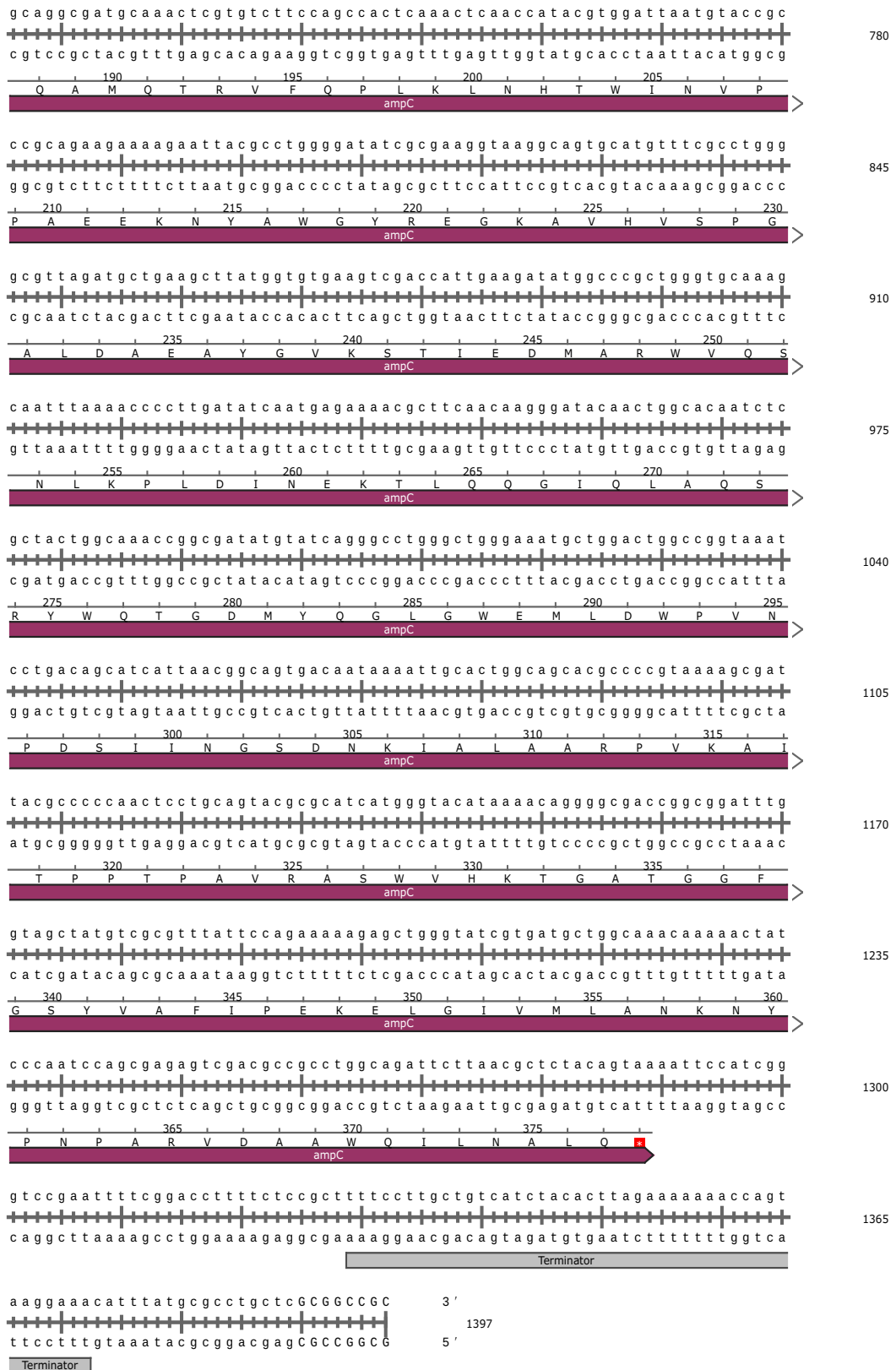
Döngü	Zaman	Sıcaklık
1	5 dk	95 °C
40	30 sn	95 °C
	1 dk	60 °C
1	30 sn	95 °C
	30 sn	65 °C
	30 sn	95 °C

3.2.14. *ampC* Gen Bölgesinin Sentezlenerek pEX-K248 Plazmitine Aktarılması

ampC genindeki promotor mutasyonunun ampisiline karşı direnç artışıdaki rolünün doğrulanması için pEX-K248-*ampC* plazmiti oluşturuldu. *ampC* gen bölgesinin dizisi, mutasyonu içeren promotor bölgesi, *ampC* kodlama bölgesi ve terminatör bölgesini içerecek şekilde 95 kat dirençli suş referans alınarak belirlendi. Sentezlenmek için belirlenen 1397 bp uzunluğundaki *ampC* dizisi Şekil 3.3’de verildi. Belirlenen bu dizi Eurofins Genomics firması tarafından insliko olarak sentezlendi ve pEX-K248 plazmitine aktarılarak pEX-K248-*ampC* plazmiti oluşturuldu. Sentezlenen dizinin doğruluğunu ve plazmit üzerindeki yerini kontrol etmek için pEX-K248-*ampC* plazmitinin, *ampC* genini içerecek şekilde 2696 bazlık kısmı Sanger dizileme yöntemi ile dizilendi. Elde edilen dizi sonuçları Geneious Prime Version 2023 1.2 kullanılarak analiz edildi ve SnapGene yazılımı ile görselleştirildi.



Şekil 3.3. Sentezlenen *ampC* Geninin Haritası



Şekil 3.3. Sentezlenen *ampC* Geninin Haritası (Devamı)

3.2.15. Transformasyon

Eurofins Genomics firması tarafından hazırlanan pEX-K248-*ampC* plazmiti liyofilize halde 4,5 µg gönderildi. 20 ng/µl'lik plazmit konsantrasyonu elde etmek için plazmitin tamamı 225 µl 1X TE (Multicell) ile çözdürüldü. Hazırlanan plazmit hem atasal suşa hem de 10 kat ampisilin dirençli suşa transforme edildi.

Transformasyon için iki farklı 5 ml LB besiyeri içerisine atasal suş ve 10 kat dirençli suş inoküle edildi ve 37 °C'de 16 saat büyütülerek ön kültür hazırlandı. Ertesi gün steril 9,9 ml SOB üzerine steril 100 µl 2M Mg⁺² ve hazırlanan ön kültürlerden 50 µl eklenerek OD₆₀₀ değeri 0,3'e gelene kadar 37 °C'de çalkalamalı inkübasyona bırakıldı. Ardından beklenen büyüme seviyesine ulaşan hücreler 2 ayrı tüpe bölünerek 5 dk buzda bekletildi ve ardından 12.000 rpm 5 dk 4 °C'de santrifüj edildi. Pellet üzerine 1 ml 0,1 M soğuk CaCl₂ eklenerek yeniden süspansiyon edildi ve 10 dk buzda bekletildi. Daha sonra 12.000 rpm 5 dk 4 °C'de santrifüj yapıldı ve pellet üzerine 200 µl 0,1M soğuk CaCl₂ eklendi. Yeniden süspansiyon edilen hücreler 30 dk buzda bekletildi. Santrifüj tüpünde bulunan 200 µl kompetent hücre üzerine 60-100 ng olacak şekilde 2 farklı konsantrasyonda vektör konularak 45 dk buz üzerinde inkübe edildi. Daha sonra hücre süspansiyonlarına soğuk-sıcak şoklaması (2 dk 42 °C, 2 dk buz) yapıldı ve üzerlerine 0,8 ml SOC medium eklenerek 37 °C'de 60 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından hücreler 5000 rpm 1 dk 4 °C'de santrifüj edildi. Daha sonra pellet tekrar 100 µl SOC medium ile süspansiyon edilerek 40 µg/ml kanamisin antibiyotiği içeren LB agar üzerine yayıldı ve bir gece 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından petri üzerindeki koloniler seçilerek 40 µg/ml kanamisin antibiyotiği içeren petrilere master plate ekimi yapıldı ve bir gece 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

Seçilen kolonilerin plazmit içerip içermediği plazmite özgü primerler ile koloni PCR yapılarak kontrol edildi. Doğrulama için iki primer çifti kullanıldı. Bu primer çiftlerinden birisi (pEX-K248-F, pEX-K248-R) pEX-K248 üzerine oturarak *ampC* geninin olduğu bölgeyi çoğaltırken diğer primer çifti (pEX-K248-F, *ampC*-K1) pEX-K248 üzerine ve *ampC* geni içerisine oturmaktadır. Böylece iki farklı şekilde hücrelerin pEX-K248-*ampC* plazmitini içerdiği doğrulandı. Plazmiti doğrulamak için kullanılan primerler Tablo 3.7'de sunuldu. PCR ile doğrulanan örneklerden seçilen bir tanesi %20 gliserol içeren LB stokları ile -80 °C'de derin dondurucuda deneylerde kullanılmak üzere saklandı (Darcan vd., 2018).

Tablo 3.7. pEX-K248-*ampC* Plazmitini Doğrulamak için Kullanılan Primer Dizileri

Primer	Primer Dizisi	Bant Büyüklüğü
pEX-K248-F	CTGGCTTAACTATGCGGCAT	1549 bç
pEX-K248-R	GGCTCGTATGTTGTGTGGAA	
pEX-K248-F	CTGGCTTAACTATGCGGCAT	477 bç
<i>ampC</i> -K1	TGCTGACCGAACCTAACTCA	

3.2.16. Koloni PCR

Tasarlanan primerlerin kontrolü ve transformasyon sonrasında plazmiti alan kolonilerin belirlenmesi için koloni PCR yöntemi kullanıldı. Bunun için seçilen koloniler 20 µl distile su içerisine süspansiyon edilerek PCR için kalıp hazırlandı. Ardından her bir reaksiyon Tablo 3.8'deki şekilde hazırlandı ve Tablo 3.9'daki reaksiyon koşullarına göre koloni PCR işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3.8. Koloni PCR Bileşenleri

Bileşen	Miktar
5X İproof HF Buffer (Bio-Rad)	4,0 µl
dNTP Mix (Bio-Rad)	0,4 µl
<i>ampC</i> Forward Primer	0,4 µl
<i>ampC</i> Reverse Primer	0,4 µl
Bakteri Süspansiyonu	1,0 µl
dH ₂ O	13,6 µl
iProof DNA Polymerase (Bio-Rad)	0,2µl
Toplam	20,0 µl

Tablo 3.9. PCR Döngü Şartları

Döngü	Zaman	Sıcaklık
1	2 dk	98 °C
35	10 sn	98 °C
	30 sn	62 °C
	45 sn	72 °C
1	10 dk	72 °C

3.2.17. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testleri

Dirençsiz, 10 kat dirençli ve 95 kat dirençli suşların diğer antibiyotiklere ve metallere karşı direnç/duyarlılık durumlarının incelenmesi için disk difüzyon deneyleri gerçekleştirildi. 4 °C’de LB agar içerisinde bulunan bakteriden seçilen bir koloni aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak LB besiyerine ekildi ve kültürler 37 °C’de 1 gece çalkalanarak (160 rpm) inkübe edildi. Ardından başlangıç sayılarının eşit olması için 5 ml LB besiyeri içerisinde bakteri yoğunluğu OD₆₀₀’de 0,1 absorbans olacak şekilde ayarlandı. Buradan 100 µl alarak 20 ml LB agar içeren petrilerin üzerine bırakıldı. Ardından steril bir drigalski yardımıyla bakteri kültürü LB agar yüzeyine homojen bir şekilde dağıtıldı ve petrinin besiyerini tamamen emmesi için 15 dk beklendi. Daha sonra petri üzerine eşit aralıklarla boş duyarlılık diskleri yerleştirildi ve bu diskler üzerine Tablo 3.10 ve Tablo 3.11’de verilen konsantrasyonlarda hazırlanmış antimikrobiyallerden 10 µl damlatıldı ve disklerin antimikrobiyalleri emmesi için 10 dk beklendi. 37 °C’de 1 gece inkübasyonun ardından disk etrafından oluşan zonlar ölçüldü ve fotoğraflandı. Deneyler 3 bağımsız tekrar ile gerçekleştirildi.

Tablo 3.10. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testinde Kullanılan Metaller

Metal	Konsantrasyon	Hazırlanış
AgNO ₃	0,2M	0,33 g AgNO ₃ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
CoSO ₄	0,2M	0,56 g CoSO ₄ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
CuSO ₄	1M	2,49 g CuSO ₄ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
MnSO ₄	2M	3,38 mg MnSO ₄ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
NiSO ₄	0,2M	0,52 mg NiSO ₄ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
ZnSO ₄	0,2M	0,57 mg ZnSO ₄ 10 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.

Tablo 3.11. Çapraz Direnç/Duyarlılık Testinde Kullanılan Antibiyotikler

Antibiyotik	Konsantrasyon	Hazırlanış
Ampisilin	10 mg/ml	50 mg ampisilin 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Kanamisin	5 mg/ml	25 mg kanamisin 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Rifampisin	5 mg/ml	25 mg rifampisin 5 ml DMF içerisinde çözüldü.
Streptomisin	5 mg/ml	25 mg streptomisin 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Kloramfenikol	5 mg/ml	25 mg kloramfenikol 5 ml etanol içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Eritromisin	5 mg/ml	25 mg eritromisin 5 ml etanol içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Tetrasiklin	5 mg/ml	25 mg tetrasiklin 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Nalidiksik asit	5 mg/ml	25 mg nalidiksik asit 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.
Novobiyosin	5 mg/ml	25 mg novobiyosin 5 ml distile su içerisinde çözüldü ve filtre ile steril edildi.

3.2.18. İstatistiksel Analiz

MİK sonuçlarının önemlilik derecelerinin belirlenmesinde Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 25.0 yazılımı kullanılarak Student-t testi yapıldı. Tüm testler $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde analiz edildi.

4. BULGULAR

4.1. Suşların MİK Değerleri

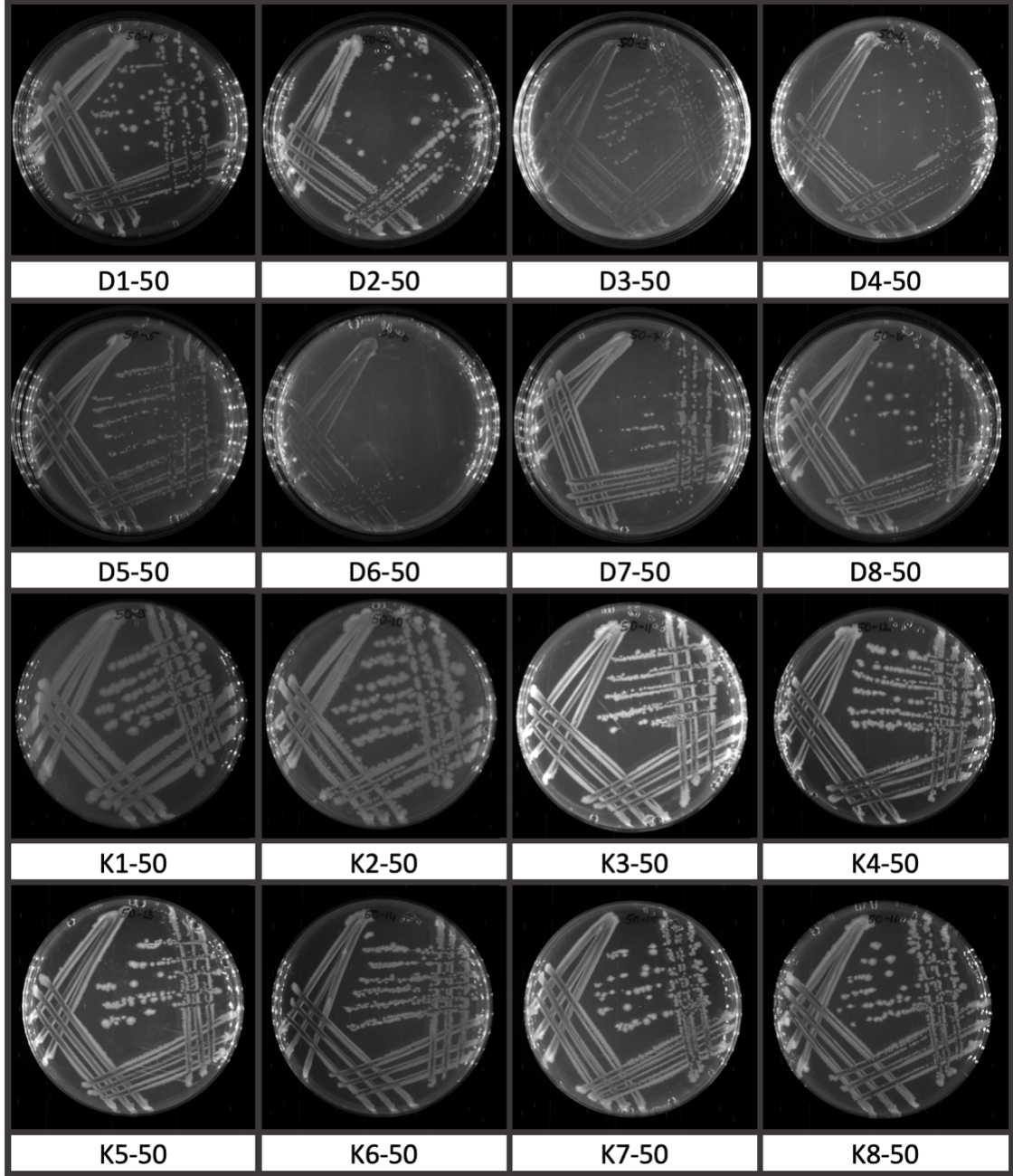
Adaptasyon deneyleri sırasında belirli aralıklarla tüm suşların MİK değerleri belirlenmiştir. Süreç boyunca kontrol suşlarının (K) direnç seviyesinde bir değişim gözlenmezken deney grubundaki suşların (D) MİK değerinde önemli değişimler gözlenmiştir. Ampisilin içeren ortamda pasajlanan suşlar 13. pasaj itibariyle benzer oranlarda direnç kazanmıştır. 26. pasajda suşların direnç seviyeleri arasında farklılıklar ortaya çıkmaya başlamış ve en yüksek direnç seviyesine ulaşan suşlar D2-26 (31,25 µg/ml) ve D7-26 (31,25 µg/ml) iken en düşük direnç seviyesine sahip suş D3 (18,75,25 µg/ml) olmuştur. 39. pasaj itibariyle bazı suşların direnç seviyesinde önemli artışlar gözlenmiştir. D1-39 (187,5 µg/ml) ve D5-39 (187,5 µg/ml) suşları en yüksek direnç seviyesine sahip olan suşlar haline gelmiştir. Adaptasyon sürecinin sonlandırıldığı 50. pasajın ardından en yüksek direnç seviyesine sahip D1-50 ve D2-50 suşlarının MİK değerleri başlangıç direnç seviyesine göre yaklaşık 95 kat artarak 275 µg/ml olurken direnç seviyesi en az artan suş ise yaklaşık 36 kat artışla D6-50 (105 µg/ml) olmuştur. Adaptasyon süreci boyunca tespit edilen tüm MİK değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Adaptasyon Süreci Boyunca Organizmaların MİK Değeri (µg/ml)

Pasaj Hattı	Başlangıç	13. Pasaj	26. Pasaj	39. Pasaj	50. Pasaj
D1	2,93	11,71	25	187,5	275
D2	2,93	11,71	31,25	125	275
D3	2,93	11,71	18,75	125	210
D4	2,93	12,7	21,87	125	210
D5	2,93	11,71	25	187,5	210
D6	2,93	11,71	21,87	93,75	105
D7	2,93	11,71	31,25	125	190
D8	2,93	11,71	21,87	125	160
K1	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K2	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K3	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K4	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K5	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K6	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K7	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93
K8	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93

4.2. Adaptasyon Deneyleri Sonucunda Elde Edilen Suşların Petri Görüntüsü

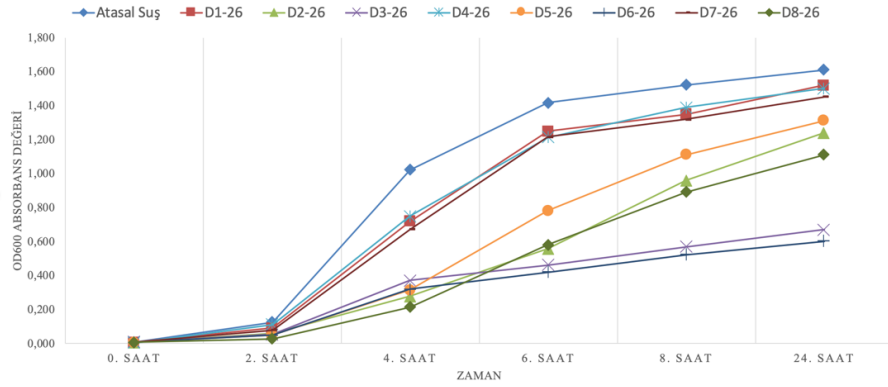
Adaptasyon sürecinin tamamlanmasının ardından elde edilen 16 suşun katı besiyerindeki koloni morfolojileri karşılaştırılmıştır. Adaptasyon süreci sonrasında kontrol grubundaki suşlarda bir farklılık gözlenmezken deney grubundaki D3-50, D4-50 ve D6-50 olarak adlandırılmış suşlarda diğerlerine kıyasla daha şeffaf, küçük ve az sayıda koloni gözlenmiştir. 50. pasaj sonrasında elde edilen tüm suşlara ait petri görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Final Suşlarına Ait Petri Görüntüleri

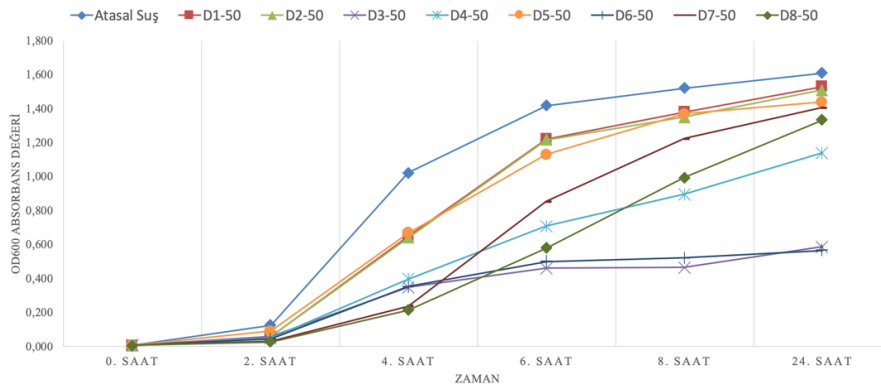
4.3. Ampsiline Adapte Edilmiş Suşların Büyüme Deneyleri

Adaptasyon sürecinin yaklaşık olarak ortasına denk gelen 26. pasaj ve adaptasyon sürecinin sonuna denk gelen 50. pasaj sonrasında elde edilen dirençli suşlara ait kültürlerin büyüme hızları atasal suş *E. coli* W3110 ile karşılaştırılmıştır. Direnç kazanım süreci ile birlikte büyümelerin atasal suşa kıyasla farklılaştığı görülmüştür. 26. pasaj suşlarından atasal suşa en yakın büyüme profili gösteren suşlar D1-26, D4-26 ve D7-26 olmuştur. Bu suşları sırasıyla D5-26, D2-26 ve D8-26 takip ederken, D3-26 ve D6-26 suşlarında büyümenin yavaşladığı görülmüştür. 26. pasaj suşlarına ait büyüme grafikleri Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. 26. Pasaj Suşlarına Ait Büyüme Grafiği

Pasajlama sürecinin sonunda elde edilen suşlara ait büyüme verileri, 26. pasajdan sonra D1-50, D7-50, D8-50, D3-50 ve D6-50 suşlarının büyümesinde önemli bir değişiklik olmadığını göstermiştir. En yüksek MİK değerlerinden birine sahip olan D2-50 suşunun büyümesinin hızlandığı, D5-50 ve D4-50 suşlarının ise büyümesinin yavaşladığı tespit edilmiştir. Petri görüntüleri ile uyumlu bir şekilde D3-50, D4-50, D6-50 suşları diğerlerine kıyasla daha az büyüdüğü tespit edilmiştir. 50. pasaj suşlarına büyüme grafikleri Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. 50. Pasaj Suşlarına Ait Büyüme Grafiği

4.4. Ampsiline Adapte Edilmiş Suşların Biyokimyasal Testleri

Adaptasyon sonrasında, hücrelerin tanımlanmasında sıklıkla kullanılan biyokimyasal testler atasal suş ve final suşlarının tamamı için gerçekleştirilmiştir. Tüm suşlarda atasal suş ile benzer şekilde EMB besiyerinde metalik yeşil renk, indol ve metil red testinde pozitif sonuç, voges-proskauer ve sitrat testinde ise negatif sonuç gözlenmiştir. Antibiyotikli ve antibiyotiksiz ortamda pasajlanan suşlar arasında testlerin sonuçları bakımından bir farklılık tespit edilmemiştir.

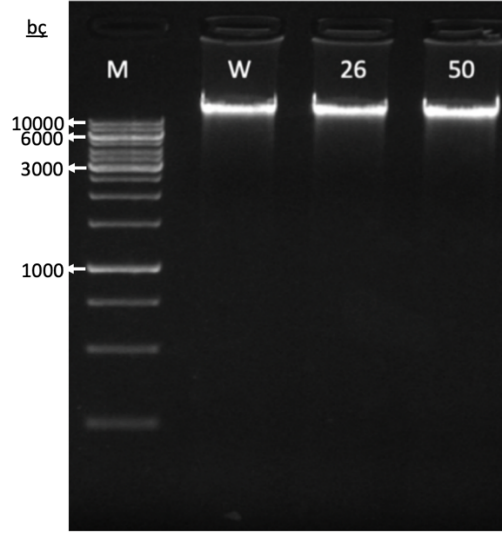
4.5. Genom ve Transkriptom Analizi için Suşların Seçimi

Farklı direnç seviyesine sahip suşlardan genomik ve transkriptomik analizlerin gerçekleştirilmesi için adapte edilen hücreler içerisinde iki suş seçilmiştir. Suşların seçimi MİK değerleri ve büyüme grafikleri göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir. 50. pasaj itibarıyla en yüksek direnç seviyesine sahip olan suşlar 275 µg/ml ampisilin MİK değeri ile D1-50 ve D2-50 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). Her iki suşun da büyüme grafiği incelendiğinde atasal suşa benzer bir profil gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Pasajlama sürecinin ortalarına denk gelen 26. pasaja ait büyüme grafiği incelendiğinde ise D1-26 numaralı suşun büyüme profilinin atasal suşa daha çok benzediği D2-26 numaralı suşun nispeten daha zayıf bir üremeye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.2). Bu nedenle genom ve transkriptom analizi için atasal suş (*E. coli* W3110), yaklaşık olarak 10 katlık direnç seviyesine sahip olan D1-26 (*E. coli* W3110-10) ve yaklaşık 95 katlık direnç seviyesine sahip olan D1-50 (*E. coli* W3110-95) seçilmiştir.

4.6. Tüm Genom Dizileme

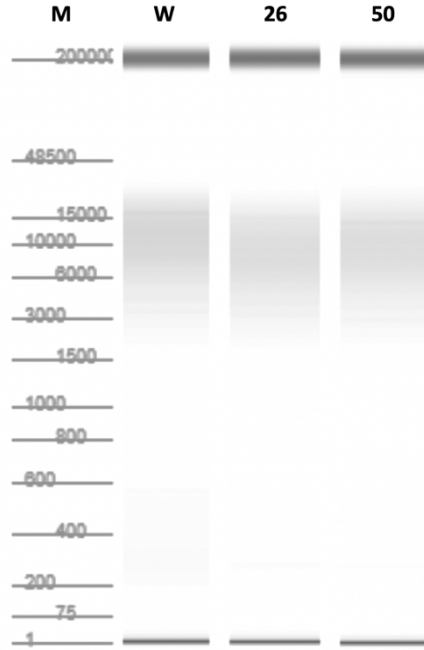
4.6.1. DNA Örneklerinin Değerlendirilmesi

Dizileme işlemleri için yüksek saflıkta, yeterli miktarda ve bütünlüğü bozulmamış başlangıç materyaline ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle dizileme işleminden önce izole edilen DNA'ların kalitesi hem agaroz jel elektroforezi ile hem de fragment analiz sistemi ile kontrol edilmiştir. İzole edilen DNA'lara ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.4'de verilmiştir. Agaroz jel görüntüsü her üç örnek için de, başlangıç materyalinden DNA'nın verimli, saf ve bütünlüğü önemli derecede bozulmamış bir şekilde izole edildiğini göstermektedir.



Şekil 4.4. İzole Edilen DNA'ların Agaroz Jel Görüntüsü (M: Marker, W: *E. coli* W3110, 26: *E. coli* W3110-10, 50: *E. coli* W3110-95)

Agaroz jel görüntüsünün ardından fragment analizi ile birlikte izole edilen DNA'ların boyut ve kalitesini incelemek için daha hassas bir analiz gerçekleştirilmiştir. Bu analizde, üç örnek için de izole edilen DNA içerisindeki fragment uzunluklarının 1.500-45.000 bç arasında değiştiği ve bu fragmentlerin büyük bir kısmının 10.000-15.000 bç aralığında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Bu fragmentler, istenen boyut aralığında ve homojen bir dağılıma sahiptir. İzole edilen DNA'ların konsantrasyonu ve miktarı Tablo 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.5. DNA Fragment Analizi Sonuçları (M: Marker, W: *E. coli* W3110, 26: *E. coli* W3110-10, 50: *E. coli* W3110-95)

Tablo 4.2. İzole Edilen DNA'ların Kalite Değerleri

	Konsantrasyon (ng/μl)	Hacim (μl)	Miktar (μg)
<i>E. coli</i> W3110	4,765	35	0,16678
<i>E. coli</i> W3110-10	3,721	35	0,13024
<i>E. coli</i> W3110-95	3,712	35	0,12992

4.6.2. Tüm Genom Dizileme Sonuçları

Adaptasyon sürecinde meydana gelen mutasyonların tespit edilmesi için *E. coli* W3110, *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 genomları dizilenmiştir. Yapılan dizilemelerin hepsinde ortalama 200x kapsama değeri elde edilmiştir. DNA dizilemesi yapılan örneklerden, ortalama 685 Mb sıkıştırılmış ham okuma verisi elde edilmiştir.

Genomik dizi üzerinde meydana gelen değişimler nadir olaylardır ve veri analizi sırasında gerçek değişimlerin okuma hatalarından ayırt edilmesi son derece önemlidir. Bu nedenle kapsama değeri düşük olan bölgelerdeki mutasyon verileri analiz dışı bırakılmıştır. Pasajlama sırasında meydana geldiği tespit edilen mutasyonlar Tablo 4.3'de sunulmuştur. Analiz sonucunda *E. coli* W3110-10 suşunun 5 mutasyon içerdiği tespit edilirken *E. coli* W3110-95 suşunda bunlara ek olarak 2 mutasyon daha gözlenmiştir. Toplam yedi mutasyondan sadece 3 tanesi SNP şeklinde ortaya çıkmışken diğer 4 tanesi insersiyon yada delesyon olarak ortaya çıkmıştır.

Tablo 4.3. Pasajlama Sürecinde Meydana Gelen Mutasyonlar (W: *E. coli* W3110, 26: *E. coli* W3110-10, 50: *E. coli* W3110-95)

Pozisyonu	26	50	Genler	Pozisyon	Varyasyon Tipi
93022	X	X	<i>ftsI</i>	1610/1767	SNP (C>T)
			<i>murE</i>	-144	
1621204	X	X	<i>marR</i>	377/435	Delesyon (A)
			<i>marA</i>	-83	
2829040	X	X	<i>gutQ</i>	575/966	Delesyon (G)
3450580	X	X	<i>rpoC</i>	752/4224	SNP (C>T)
4371270	X	X	<i>dcuA</i>	-7_-6	Delesyon (TT)
4383697	-	X	<i>frdD</i>	349/360	İnsersiyon (G)
			<i>ampC</i>	-74	
4401616	-	X	<i>amiB</i>	872/1338	SNP (C>G)

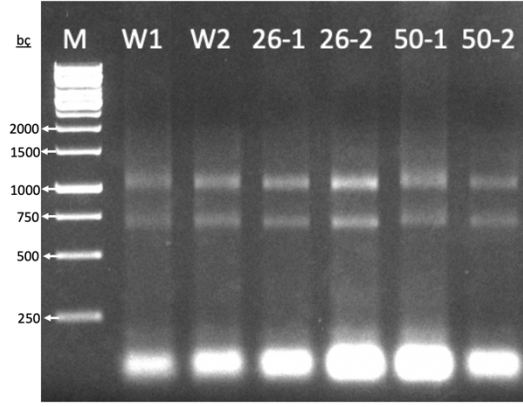
E. coli W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında ortak olarak bulunan mutasyonlar genom üzerinde 93022, 1621204, 2829040, 3450580 ve 4371270 numaralı pozisyonlarda meydana gelmiştir. 93022. pozisyonda meydana gelen SNP, *murE* geninin promotor bölgesinde bulunurken, *ftsI* geninin kodlama bölgesinde bulunmaktadır. *ftsI* geni 1767 bp uzunluğundadır ve 1610. pozisyonundaki sitozin bazı timin bazına dönüşmüştür. Bu transisyon 537. pozisyondaki alanin aminoasitinin valin aminoasidine dönüşmesine neden olmuştur. 1621204. pozisyondaki delesyon, *marA* geninin promotoruna, *marR* geninin ise kodlama bölgesine denk gelmektedir. *marR* geninin 377. bazında meydana gelen mutasyon 58 bazlık çerçeve kaymasına neden olmuştur. 2829040. pozisyonda meydana gelen mutasyon *gutQ* geninin 575. pozisyonundaki guanin bazının delesyonu ile meydana gelmiştir. Bu delesyon sonucunda bir stop kodonu oluşmuş ve hatalı bir protein üretilmiştir. 3450580. pozisyonda meydana gelen tek bazlık değişimde, *ipoC* geninin 752. pozisyonunda bulunan sitozin bazı ile timin yer değiştirmiştir. Bu transisyon ile birlikte 251. pozisyondaki prolin aminoasidi löisine dönüşmüştür. Her iki suşta da ortak olarak bulunan son mutasyon 4371270. pozisyonda meydana gelmiştir. Bu mutasyon *dcuA* geninin önünde bulunan -6 ve -7 olarak numaralandırılan bazların silinmesi ile meydana gelmiştir. Kodlanmayan bölgede yer alan bu mutasyon başka bir gen içerisine denk gelmemektedir.

E. coli W3110-95 suşunda diğer mutasyonlara ek olarak 4383697 ve 4401616. pozisyonda iki mutasyon bulunmaktadır. 4383697. pozisyonda bulunan insersiyon *frdD* geninin kodlama bölgesine denk gelirken *ampC* geninin promotor bölgesine denk gelmektedir. *frdD* geni 360 bp'lık uzunluğa sahiptir ve bu insersiyonla birlikte 11 bazlık bir çerçeve kayması meydana gelmiştir. 4401616. pozisyonda bulunan mutasyon ise 1338 bp'lık *amiB* geninin 872. pozisyonunda meydana gelmiştir. Sitozin bazının guanin bazına dönüşmesi ile meydana gelen transversiyon alanin aminoasitinin glisin olarak kodlanmasına neden olmuştur.

4.7. RNA-Dizileme

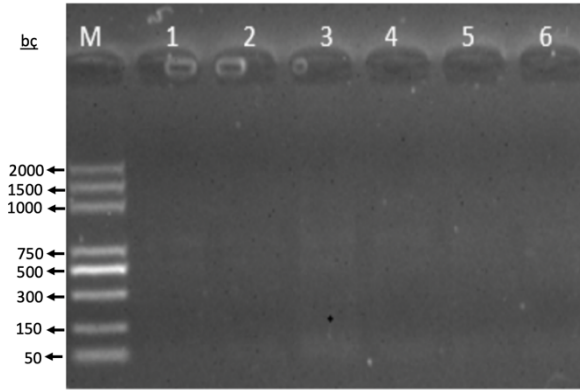
4.7.1. RNA Örneklerinin Değerlendirilmesi

RNA-dizileme işleminde kullanılmak üzere her örnek için 2 bağımsız tekrardan RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA'lar dizileme işleminden önce ön kontrol amacıyla agaroz jelde yürütülmüştür (Şekil 4.6). Agaroz jel görüntüsü, izolasyon sırasında DNA kontaminasyonu ve RNA degradasyonu olmadığını ve buna ek olarak izolasyon protokolünden kaynaklı kirliliğin kabul edilebilir seviyede olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. İzole Edilen RNA'nın Jel Görüntüsü (W: *E. coli* W3110, 26: *E. coli* W3110-10, 50: *E. coli* W3110-95)

Mikrobiyal RNA örnekleri yüksek miktarda (%95) ribozomal RNA içermektedir. mRNA dizileme işleminden önce gereksiz dizileme maliyeti ve elde edilecek anlamsız veriden kaçınmak için toplam RNA içeriğinden rRNA'nın uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla izole edilen RNA'dan mRNA zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiş ve agaroz jel ile kontrol edilmiştir (Şekil 4.7). Agaroz jel görüntüsü, rRNA'lara ait bantların ve RNA izolasyonu protokolünden kaynaklanan kirliliğin kaybolduğunu göstermektedir.



Şekil 4.7. Saflaştırılmış RNA'ların Jel Görüntüsü (M:Marker, 1: *E. coli* W3110 1. Tekrar, 2: *E. coli* W3110 2. Tekrar, 3: *E. coli* W3110-10 1. Tekrar, 4: *E. coli* W3110-10 2. Tekrar, 5: *E. coli* W3110-95 1. Tekrar, 6: *E. coli* W3110-95 2. Tekrar)

mRNA zenginleştirme işleminin ardından, fragment analizi gerçekleştirilmiştir. RNA moleküllerinin kalite kontrolünde bir standardizasyon sağlamak amacıyla çeşitli algoritmalar kullanılarak RIN (RNA Bütünlük Sayısı) değerleri hesaplanmaktadır. Yüksek bir RIN değeri yüksek RNA bütünlüğü anlamına gelmektedir. Bu değer dizileme işlemi için en az 6 olması gerekirken genellikle 7 üzerinde olması önerilmektedir (Puchta vd., 2020). Dizileme işlemi için izole edilen RNA'lara ait kalite değerleri Tablo 4.4'de sunulmuştur. Çalışmada kullanılan

RNA'ların tamamının RIN değeri 6'dan fazla iken sadece *E. coli* W3110-95 suşunun ikinci tekrarına ait RNA'nın RIN değerinin 7'nin altında olduğu görülmüştür. Ortalama RIN değeri ise 7,76 olarak tespit edilmiştir. İzole edilen RNA'lardan 3 tanesinin miktarı 0,5 µg'dan düşük çıkmıştır. Elde edilen RNA miktarının az olması RNA dizileme işleminde elde edilecek okuma sayısını sınırlandırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, bakteriyel RNA dizileme işleminde en az 4 milyon okumanın gen ifadesini yeterli ölçüde tespit edebileceği gösterilmiştir (Haas vd., 2012). Bu çalışmada 5 milyonluk okuma hedeflendiği için miktar bakımından az olan RNA örneklerinin bile 4 milyon okumanın altına düşmeyeceği öngörülerek dizileme işlemine devam edilmesine karar verilmiştir.

Tablo 4.4. RNA'ların Kalite Analizi Sonuçları (W1: *E. coli* W3110 1. Tekrar, W2: *E. coli* W3110 2. Tekrar, 26-1: *E. coli* W3110-10 1. Tekrar, 26-2: *E. coli* W3110-10 2. Tekrar, 50-1: *E. coli* W3110-95 1. Tekrar, 50-2: *E. coli* W3110-95 2. Tekrar)

	Kons. (ng/µl)	Hacim (µl)	Miktar (µg)	RIN
W1	12	32	0,384	9,0
W2	15	32	0,480	8,4
26-1	46	32	1,472	8,0
26-2	17	32	0,544	8,0
50-1	12	32	0,384	7,1
50-2	17	32	0,544	6,1

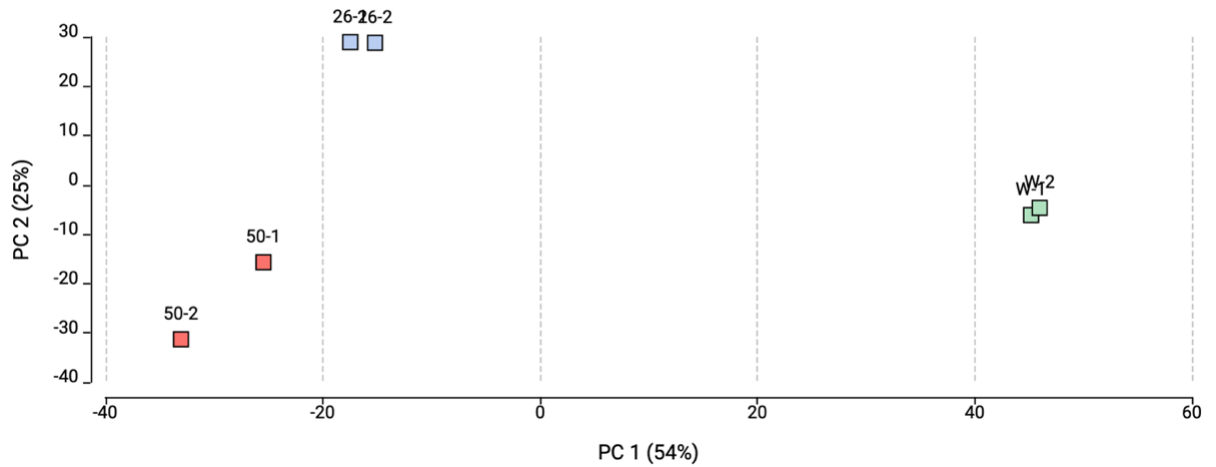
4.7.2. RNA-Dizileme Verilerinin Değerlendirilmesi

E. coli W3110, *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarının dizilenmesi ile farklı direnç seviyesine sahip suşlarda farklı şekilde ifade edilen genlerin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Yapılan dizileme sonucunda her bir örnek için ortalama 748 Mb sıkıştırılmış ham veri elde edilmiştir. RNA dizileme işleminden sonra elde edilen okumalara ait özet veriler Tablo 4.5'de sunulmuştur. En düşük okuma sayısının RNA miktarı ile uyumlu bir şekilde 50-2 olarak adlandırılan örneğe ait olduğu görülmüştür. Bunun dışındaki tüm örneklerde ise hedeflendiği gibi yaklaşık 5 milyon ham okuma elde edilmiştir. Okuma kaliteleri Fred skoru (Q) ile değerlendirildiğinde okumaların %96'dan daha fazlasının Q20 değerini geçtiği, %91'den fazlasının ise standart olarak kabul edilen Q30 değerini geçtiği tespit edilmiştir. Guanin ve Sitozin (GC) oranı bakımından incelendiğinde ise 50-1 numaralı örneğin %49,03 ile en düşük, 26-2 numaralı örneğin ise %51,16 ile en yüksek GC içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Ortalama GC içeriği ise %50,20 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. RNA Dizileme Verilerine Ait Özet Bilgiler (W1: *E. coli* W3110 1. Tekrar, W2: *E. coli* W3110 2. Tekrar, 26-1: *E. coli* W3110-10 1. Tekrar, 26-2: *E. coli* W3110-10 2. Tekrar, 50-1: *E. coli* W3110-95 1. Tekrar, 50-2: *E. coli* W3110-95 2. Tekrar)

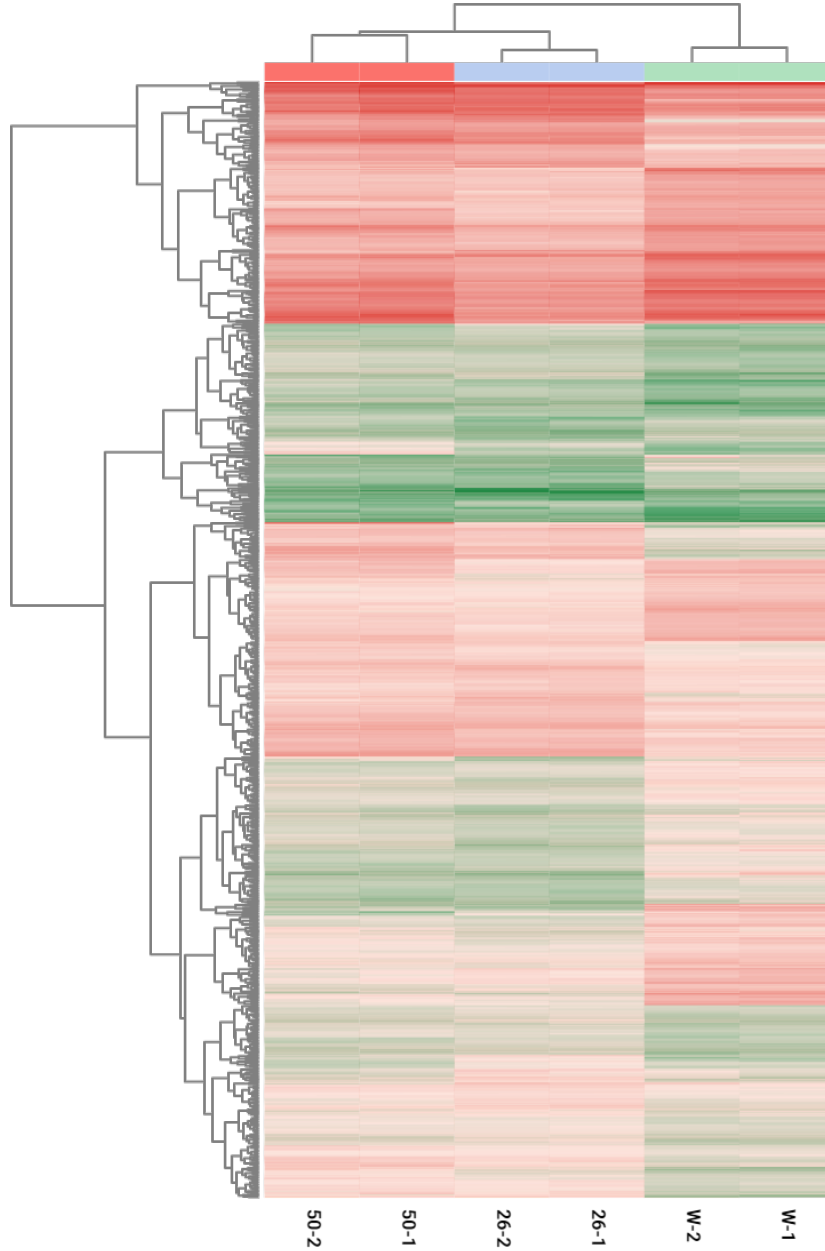
	Ham Okuma	Temiz Okuma	Verim	Hata Oranı	Q20 (%)	Q30 (%)	GC İçeriği (%)
W1	5.126.288	5.000.339	97,54	0,03	96,76	91,42	50,00
W2	4.988.078	4.911.223	98,46	0,03	96,69	91,27	50,39
26-1	5.022.222	4.933.863	98,24	0,03	96,53	91,03	50,81
26-2	5.352.263	5.248.926	98,07	0,03	96,75	91,38	51,16
50-1	4.244.681	4.178.165	98,43	0,03	96,25	90,63	49,03
50-2	5.085.849	5.005.587	98,42	0,03	96,75	91,48	49,83
Ortalama	4.969.896	4.879.683	98,19	0,03	96,62	91,20	50,20

Elde edilen okumalar Q30 skoruna göre filtrelendikten sonra *E. coli* W3110 referans genomuna hizalanmıştır. *E. coli* referans genomu 4227 gen içermektedir. Dizilenen örneklerin tamamında bu genlerin 4171 tanesinin ifadesi tespit edilirken 56 tanesinin ifadesi tespit edilememiştir. Örnekler arasındaki ifade profillerindeki benzerlikleri ortaya koymak amacıyla tespit edilen 4171 gene ait ifade verileri kullanılarak temel bileşen analizi (PCA) yapılmış ve elde edilen veriler Şekil 4.8’de sunulmuştur. Elde edilen verilerde her örneğin farklı tekrarlarının benzer profiller gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. RNA Dizileme Verilerine Ait PCA Grafiği (W1: *E. coli* W3110 1. Tekrar, W2: *E. coli* W3110 2. Tekrar, 26-1: *E. coli* W3110-10 1. Tekrar, 26-2: *E. coli* W3110-10 2. Tekrar, 50-1: *E. coli* W3110-95 1. Tekrar, 50-2: *E. coli* W3110-95 2. Tekrar)

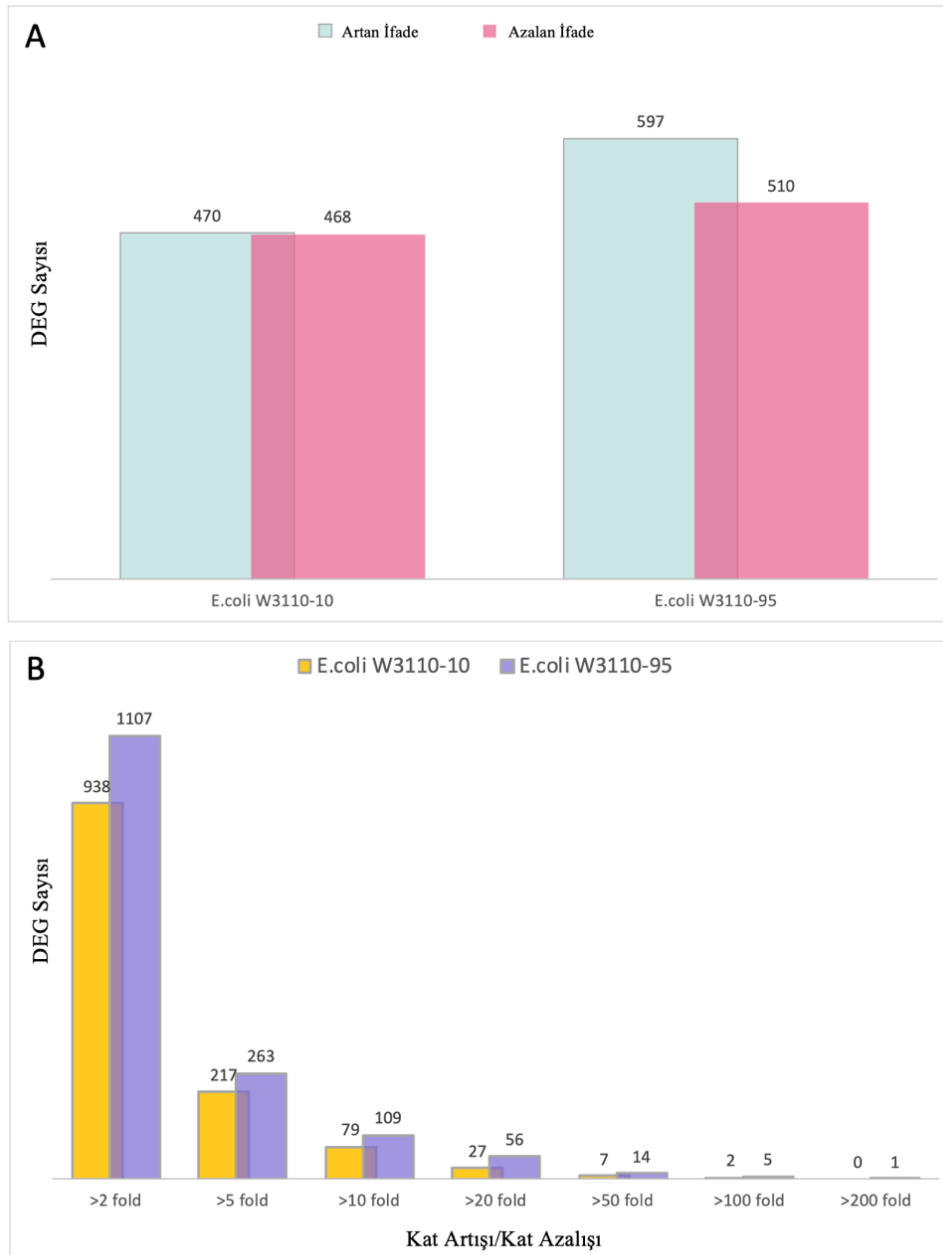
Gen ifade profillerindeki benzerlikleri farklı bir yöntem ile incelemek ve farklı suşlar arasındaki benzerliği tespit etmek için ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil 4.9). Isı haritasında her sütun, bir örneği, her satır ise bir geni temsil etmektedir. Renk skalasında koyu yeşil düşük ifadeyi, koyu kırmızı ise yüksek ifadeyi göstermektedir. Elde edilen veriler PCA grafiği ile benzer bir şekilde bağımsız tekrarların birbiri ile uyumlu sonuçlar verdiğini göstermiştir. Buna ek olarak ampisilin dirençli suşlar olan *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95'in ifade profili yabancı tipe kıyasla daha benzer çıkmıştır.



Şekil 4.9. RNA Dizileme Verilerine Ait Isı Haritası (W1: *E. coli* W3110 1. Tekrar, W2: *E. coli* W3110 2. Tekrar, 26-1: *E. coli* W3110-10 1. Tekrar, 26-2: *E. coli* W3110-10 2. Tekrar, 50-1: *E. coli* W3110-95 1. Tekrar, 50-2: *E. coli* W3110-95 2. Tekrar)

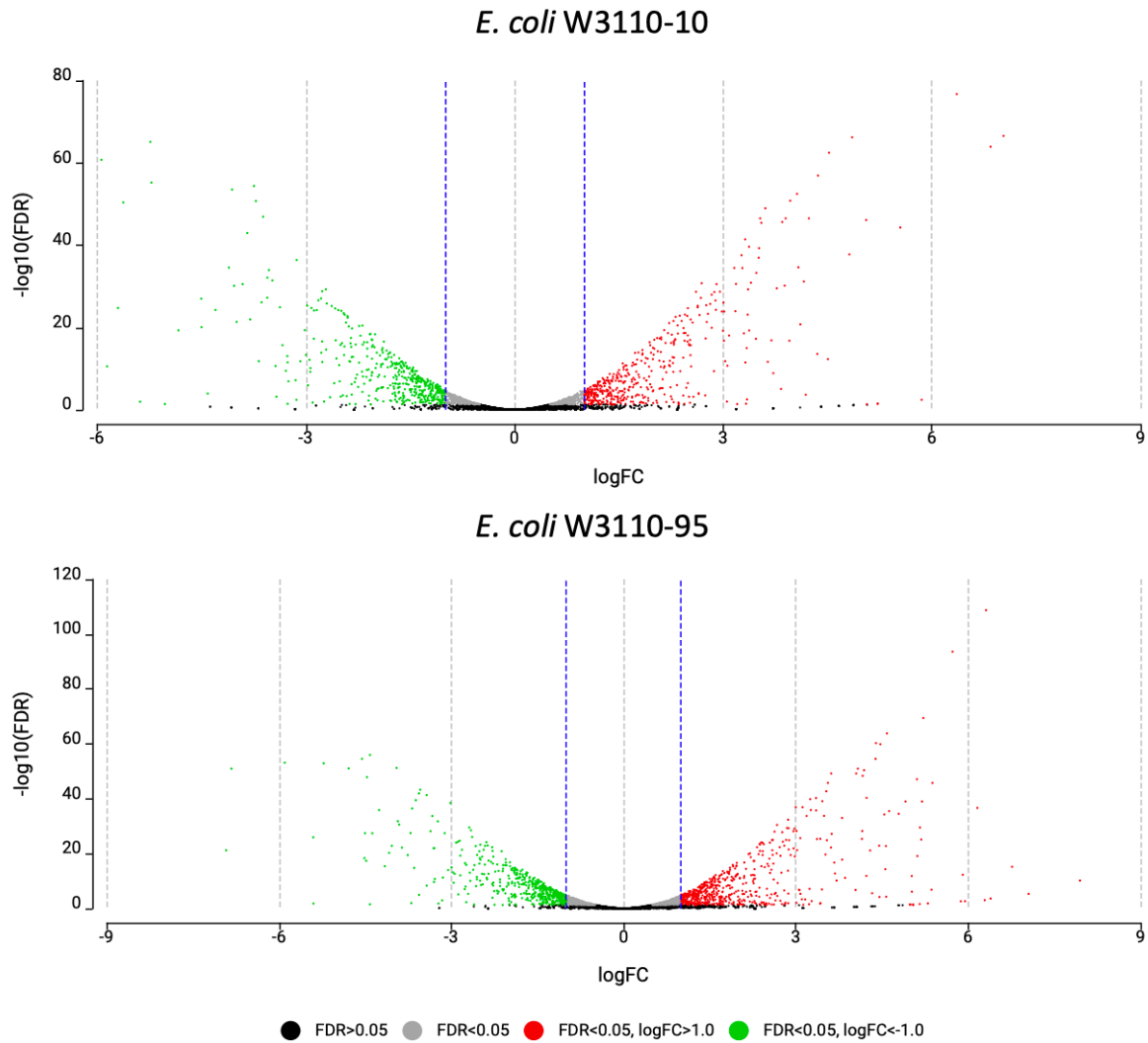
4.7.3. RNA-Dizileme Sonuçları

DEG'lerin tespit edilmesi için "Diferansiyel Gen Ekspresyon Analizi" gerçekleştirilmiştir. Bu analizde iki grup karşılaştırılmakta ve RNA-dizileme sonucunda elde edilen okuma sayılarında gözlemlenen herhangi bir farklılığın anlamlı olup olmadığı tespit edilmektedir. Atasal suş ile dirençli suşlara ait gen ifade bilgilerinin karşılaştırılmasıyla DEG'ler tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi DEG sayısında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir.



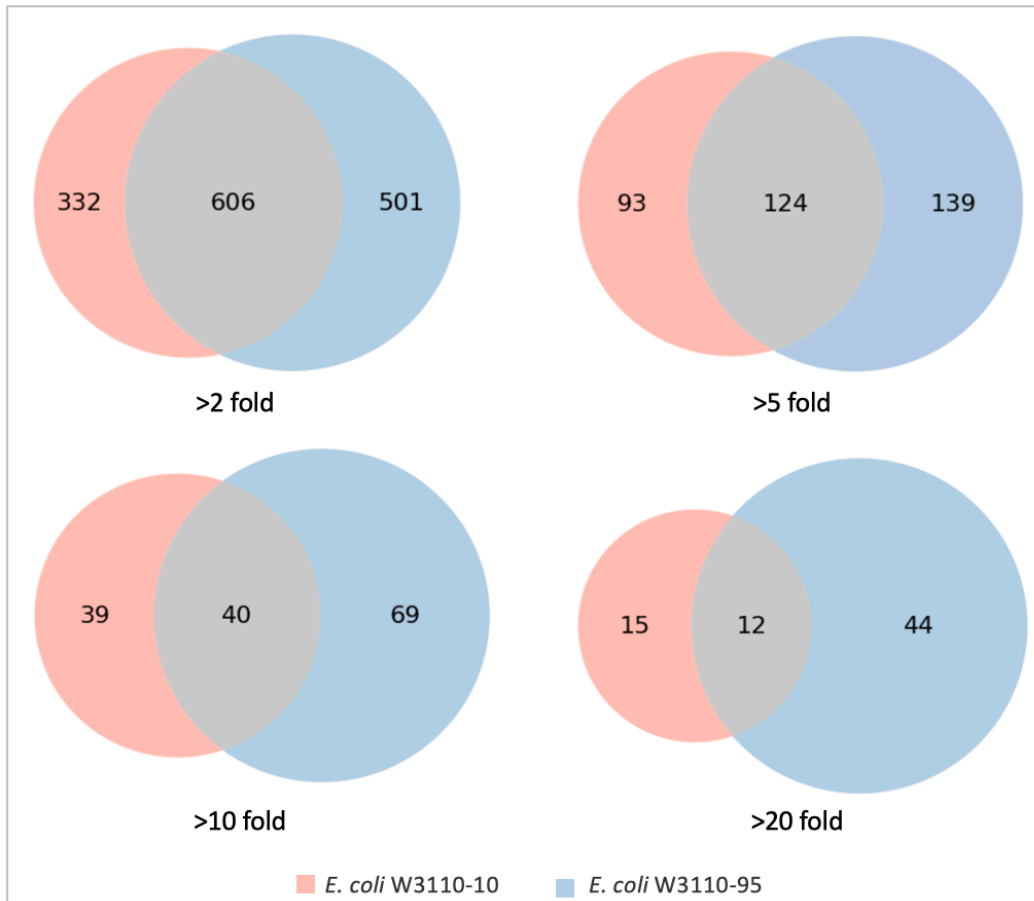
Şekil 4.10. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 Suşlarına Ait Global Ekspresyon Profilleri (A) Aynı Koşuldaki *E. coli* W3110 Suşuna Kıyasla İfadesi Artan ve Azalan Genlerin Sayısı (B) Tespit Edilen DEG'lerin Gen İfadesindeki Değişime Göre Dağılımları

DEG sayısının direnç seviyesi ile birlikte arttığı görülmektedir (Şekil 4.10.A). *E. coli* W3110-10 suşunda *E. coli* W3110'a kıyasla 938 genin ifadesinin anlamlı bir şekilde değiştiği tespit edilmiştir. Bu genlerden 470 tanesinin ifadesi artarken 468 tanesinin ifadesi azalmıştır. *E. coli* W3110-95 suşunda ise DEG sayısının artarak 1107 olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan 597 tanesinin ifadesi artarken 510 tanesinin ifadesi azalmıştır. Elde edilen bulgular direnç seviyesindeki artışla beraber DEG sayısında da bir artış olduğunu göstermektedir. Gen ifade değişimlerinin büyük bir kısmı (~%76) 2-5 kat arasındadır. 10 kattan fazla ifade değişimine sahip genlerin sayısı toplam DEG sayısının %10'dan daha azını oluşturmaktadır. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşları için sırasıyla en az 10 kat değişiklik gösteren gen sayısı 79 ve 109, en az 50 kat değişiklik gösteren gen sayısı 7 ve 14, en az 100 kat değişiklik gösteren gen sayısı ise 2 ve 5 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10.B).



Şekil 4.11. Gen İfade Verilerine Ait Volkan Grafiği

Elde edilen verilerin genel görünümünün hızlı bir şekilde incelenmesi için oluşturulan volkan grafiği (Volcano plots) Şekil 4.11’de verilmiştir. Bu grafik, tespit edilen DEG’lerin istatistiksel önemini gösteren bir dağılım grafiğidir. İstatistiksel olarak önemli olan kat değişikliklerinin hızlı bir şekilde görsel olarak tanımlanmasını sağlamaktadır. Şekil 4.11’de, siyah olarak gösterilen noktalar ifade değişiminin iki kattan fazla olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan genleri, gri olanlar ise istatistiksel olarak anlamlı ancak ifade değişiminin 2 kattan az olduğu genleri temsil etmektedir. Kırmızı ve yeşil renkler, her iki bakımdan da anlamlı olanları temsil ederken kırmızılar ifadede ki artışı yeşiller ise azalışı göstermektedir. Her iki grafikte de ifadesi artan genlerin azalan genlere kıyasla daha anlamlı ve büyük bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. *E. coli* W3110-10 suşuna ait grafik 3 genin \log_2FC kat değişiminin diğerlerine kıyasla çok yüksek olduğunu ve bunların istatistiksel olarak önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir. *E. coli* W3110-95’de ise ifadesi artan genlerin anlamlılık düzeyi bakımından daha değişken olduğu görülmüştür.



Şekil 4.12. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında tespit edilen DEG sonuçlarını karşılaştıran Venn diyagramları

E. coli W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında ortak olarak ifadesi değişen genlerin sayısı Şekil 4.12’de Venn diyagramı ile gösterilmiştir. *E. coli* W3110’a kıyasla *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 numaralı örneklerde farklı ifade edilen genlerden 606 tanesinin ortak olduğu tespit edilmiştir. Bu genler, *E. coli* W3110-10’da tespit edilenlerin %64’ünü, *E. coli* W3110-95’de tespit edilenlerin ise %54’ünü oluşturmaktadır. Ortak olmayan genlerin 332 (%36) tanesinin *E. coli* W3110-10’a, 501 (%46) tanesini ise *E. coli* W3110-95’e özgü olduğu belirlenmiştir. Gen ifade değişimindeki eşik arttıkça ortak olan genlerin oranı azalmakta ve suşa özgü genlerin oranı artmaktadır. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşları için en az 2 kat değişiklik gösteren gen sayısının %42’sinin, en az 5 kat değişiklik gösteren gen sayısının %34’ünün, en az 10 kat değişiklik gösteren gen sayısının %27’sinin ve en az 20 kat değişiklik gösteren gen sayısının ise %17’sinin ortak olduğu belirlenmiştir.

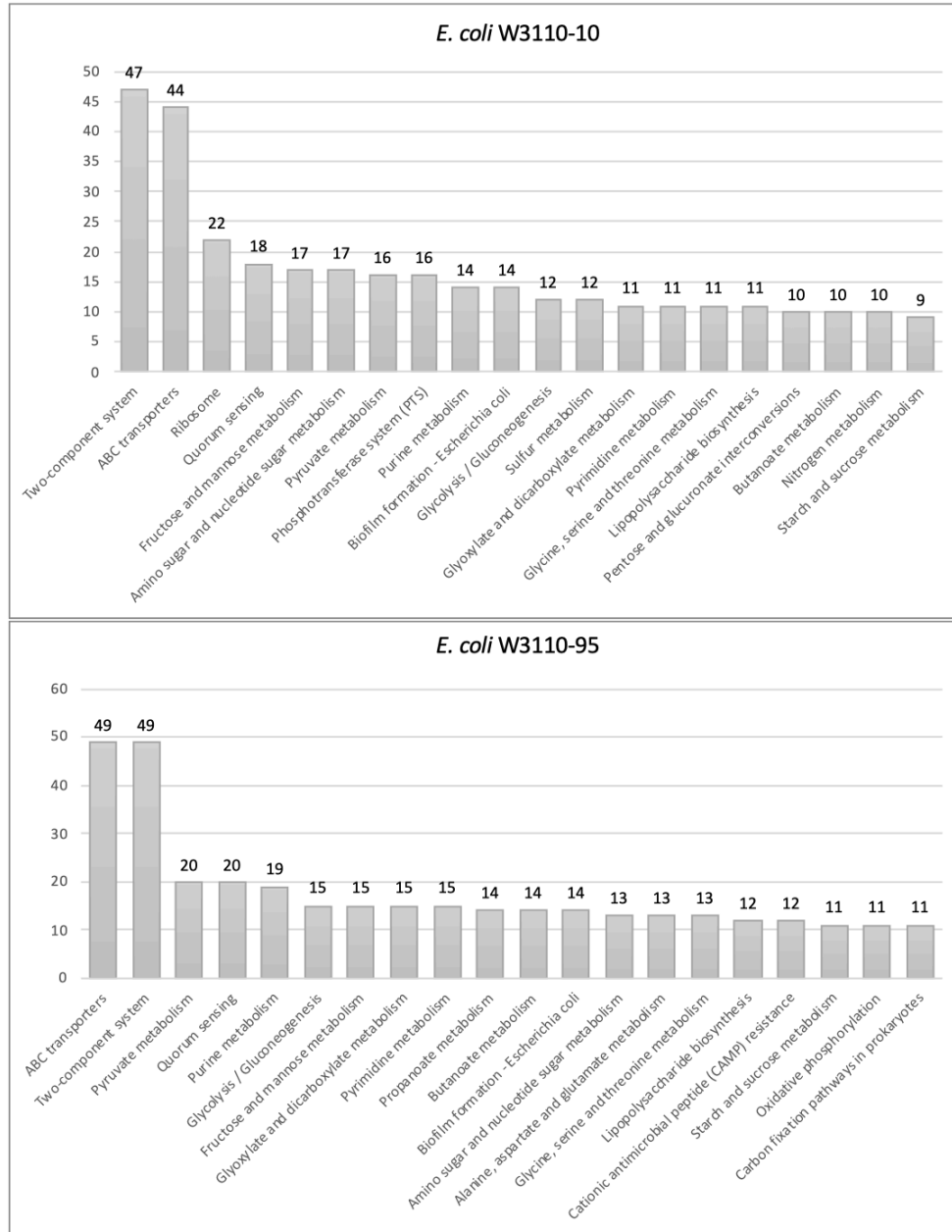
GO, moleküler fonksiyon, hücresel bileşen ve biyolojik süreç olmak üzere üç kategoriden oluşan uluslararası standartlaştırılmış bir gen fonksiyonel sınıflandırma sistemidir (Harris vd., 2004). Tespit edilen DEG’lerin gruplandırılması için bu genlerin tamamı GO veri tabanındaki terimlerle eşleştirilmiş ve bu üç ana GO kategorisinden en az birisine atanmıştır. En sık zenginleşen 15’er kategori Şekil 4.13’de gösterilmiştir. *E. coli* W3110-10 suşunda tespit edilen DEG’ler 1336 kez biyolojik süreç, 715 kez hücresel bileşen ve 1089 kez de moleküler fonksiyon kategorisi içerisinde eşleşmiştir. Bu suş için, biyolojik süreç kategorisinde en çok zenginleşen gruplar karbonhidrat metabolik süreci, transmembran taşıma ve DNA-temelli transkripsiyon düzenlenmesi, hücre bileşenleri kategorisinde plazma membranı ve sitozol, moleküler fonksiyon kategorisinde ise oksidoredüktaz aktivitesi, hidrolaz aktivitesi, transferaz aktivitesi, DNA bağlanması ve taşıyıcı aktivitesi olmuştur. *E. coli* W3110-95 suşunda ise DEG artışına benzer oranda eşleşme sayısı artmıştır. Bu suş için tespit edilen DEG’ler 1570 kez biyolojik süreç, 788 kez hücresel bileşen ve 1256 kez de moleküler fonksiyon içinde eşleşmiştir. Biyolojik süreç kategorisinde en çok zenginleşen gruplar karbonhidrat metabolik süreci, DNA-temelli transkripsiyonun düzenlenmesi, transmembran taşıma olurken, hücre bileşenleri kategorisinde plazma membranı ve sitozol, moleküler fonksiyon kategorisinde ise hidrolaz aktivitesi, transferaz aktivitesi, DNA bağlanması, oksidoredüktaz aktivitesi ve taşıyıcı aktivitesi olmuştur. Her iki direnç seviyesinde de benzer GO gruplarının zenginleştiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla GO zenginleştirme analizi sonuçlarında direnç seviyesine bağlı olarak bir farklılık tespit edilememiştir.



Şekil 4.13. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 Suşlarında Tespit Edilen DEG'lerin GO Zenginleştirme Analizi. BP (Biyolojik Süreç), CC (Hüresel Bileşen), MF (Moleküler Fonksiyon), 10 (*E. coli* W3110-10), 95 (*E. coli* W3110-95)

Antibiyotik varlığında hangi yolların çalıştığını tespit etmek için ayrıca yolak analizi yapılmıştır. *E. coli* W3110-10 suşunda tespit edilen DEG'lerden 665 tanesi 142 yolak ile örtüşmüştür. Aynı analiz *E. coli* W3110-95 için yapıldığında 815 DEG'in 172 yolak ile örtüştüğü tespit edilmiştir. Her iki analizde tespit edilen yolların 139 tanesinin ortak olduğu belirlenmiştir. Bu yollar *E. coli* W3110-10 suşunda tespit edilen yolların %98'ini oluştururken, *E. coli* W3110-95 suşunda tespit edilen yolların %80'ini oluşturmakta ve aynı

zamanda yolak analizi yapılabilmış genlerin %93'ünü içermektedir. En sık zenginleşen 20'şer kategori Şekil 4.14'de gösterilmiştir. Her iki grup için de beklenildiği gibi diğerlerine kıyasla en çok zenginleşen gruplar iki bileşenli sistemler ve ABC taşıyıcıları olmuştur. Bunların dışında çok sayıda karbonhidrat metabolizması ile ilişkili yolak olduğu tespit edilmiştir. Genel profile bakıldığında her iki suş için zenginleşen yolların büyük oranda ortak olduğu görülmüştür.



Şekil 4.14. Yolak Zenginleştirme Analizi Sonuçları

4.7.4. Mutasyon Verileri ile Transkriptom Verilerinin Karşılaştırılması

Gerçekleştirilen analizlere ek olarak mutasyon verileri ile transkriptom verilerinin görsel bir şekilde karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu nedenle MEGA yazılımı geliştirilmiştir

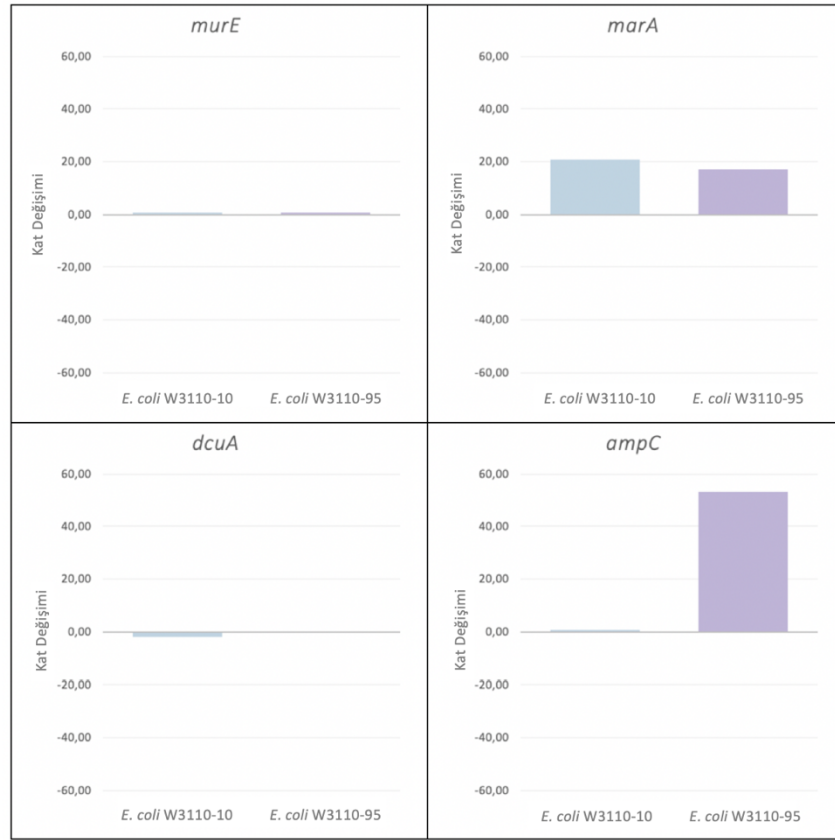
(Şekil 4.15). Geliştirilen bu araç ile hem mutasyonların meydana geldiği bölge ve mutasyon bilgileri görsel olarak incelenebilmekte hem de bu genlerdeki ifade değişimleri bir grafik halinde gözlenmektedir. Bu verilere ek olarak Regulon veri tabanından transkripsiyonel düzenlemeye ait bilgiler elde edilerek MEGA'ya dahil edilmiştir. Böylece bir genin transkripsiyon faktörlerinin ve düzenlediği genlerin de ifadesi eş zamanlı olarak görüntülenebilir hale gelmiştir.



Şekil 4.15. Mega Arayüzü

Kodlama bölgesi içerisinde mutasyon tespit edilen genlerin düzenleyici gen olmadığı belirlenmiştir. Dolayısıyla bu genlerin içerdiği mutasyonlar sadece kendi işlevlerini etkilerken kendi dışında bir genin ifadesinde değişime neden olmamaktadır. Bu nedenle mutasyon ve gen ifade değişikliği arasındaki ilişki analiz edilirken sadece başlama kodonundan önce mutasyon içeren genler ve bunlardan düzenleyici olanların ilişkili olduğu genler incelenmiştir. Başlangıç kodonu öncesinde mutasyon içeren 4 gen bulunmaktadır. Bu 4 mutasyondan *murE*, *dcuA* ve *marA* genlerinde bulunanlar *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında ortakken *ampC* genindeki mutasyon sadece *E. coli* W3110-95 suşunda bulunmaktadır. Bu dört gene ait ifade değişimleri Şekil 4.16'de gösterilmiştir. *murE* geninin ekspresyonu *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95'de bir farklılık göstermemiştir. Bu sonuç meydana gelen mutasyonun bu genin ifade seviyesinde bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. *dcuA* geni başlangıç kodonunun hemen öncesinde (-7, -6) bir delesyon içermektedir. Bu genin ifadesi *E. coli* W3110-10 suşunda 2,29 kat azalırken *E. coli* W3110-95 suşunda değişmemiştir. Bu mutasyonun her iki suşta

bulunmasına rağmen gen ifadesinde farklılıklar olması mutasyon ile gen ifadesi arasında bir ilişki bulunmadığını göstermiştir.



Şekil 4.16. Promotor Mutasyonuna Sahip Genlerin Gen Ekspresyon Seviyeleri

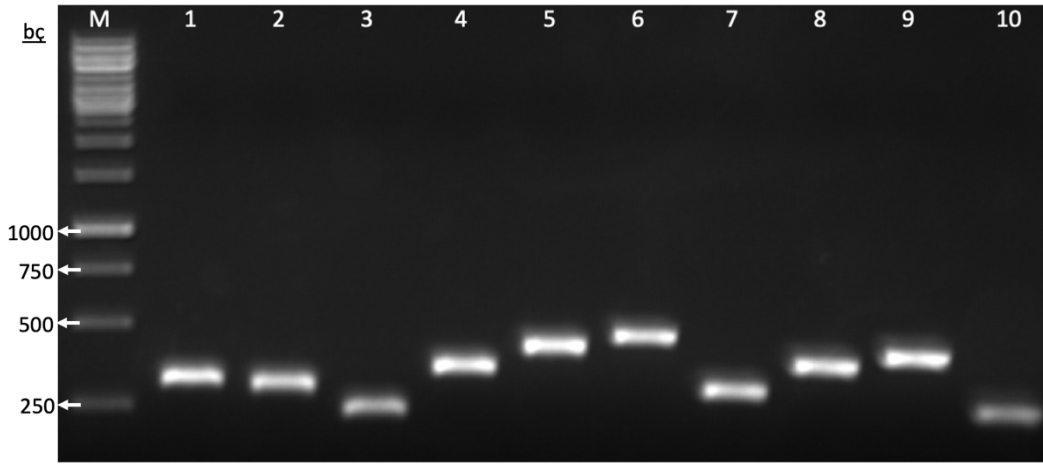
marA geninin ifadesi *E. coli* W3110-10 suşunda 20,59 kat artarken *E. coli* W3110-95 suşunda 16,90 kat artmıştır. Her iki suşta da mutasyonu içermeyen *E. coli* W3110'a göre ifade artışının olması meydana gelen mutasyonun *marA* ekspresyonu üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. *marA* geni, antibiyotik direnci ve stres tepkisi ile ilgili çok sayıda genin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyonel aktivatör olduğu bilinmektedir (Martin vd., 1996). Bu genin ifadesini düzenlediği *ymgA*, *poxB*, *acnA*, *marR*, *marB*, *ybjC*, *inaA*, *nfsA* ve *ycgZ* genlerinin ifadesi hem *E. coli* W3110-10 suşunda hem de *E. coli* W3110-95 suşunda artmıştır (EK Tablo 1 ve EK Tablo 2). Dolayısıyla *marA* mutasyonunun 10 katlık direnç kazanımında önemli bir rolü olduğu düşünülmüştür.

Elde edilen RNA-seq verilerine göre *ampC* geninin ifadesinde, mutasyonu içeren *E. coli* W3110-95 suşunda 52,98 kat artış gözlenmiş, ancak mutasyonu içermeyen *E. coli* W3110-10 suşunda değişim tespit edilmemiştir. Bu bulgular *ampC* geninin, promotor bölgesinde meydana gelen insersiyon ile birlikte gen ekspresyonunun önemli ölçüde arttığını göstermektedir. *ampC* promotor mutasyonuna sahip *E. coli* W3110-95 suşunun, atasal suşa kıyasla yaklaşık 95 kat,

W3110-10 suşuna kıyasla ise yaklaşık 10 kat daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Bu durum, antibiyotik direnç seviyesinin 10 kattan 95 kata çıkmasında *ampC* promotor mutasyonunun önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir.

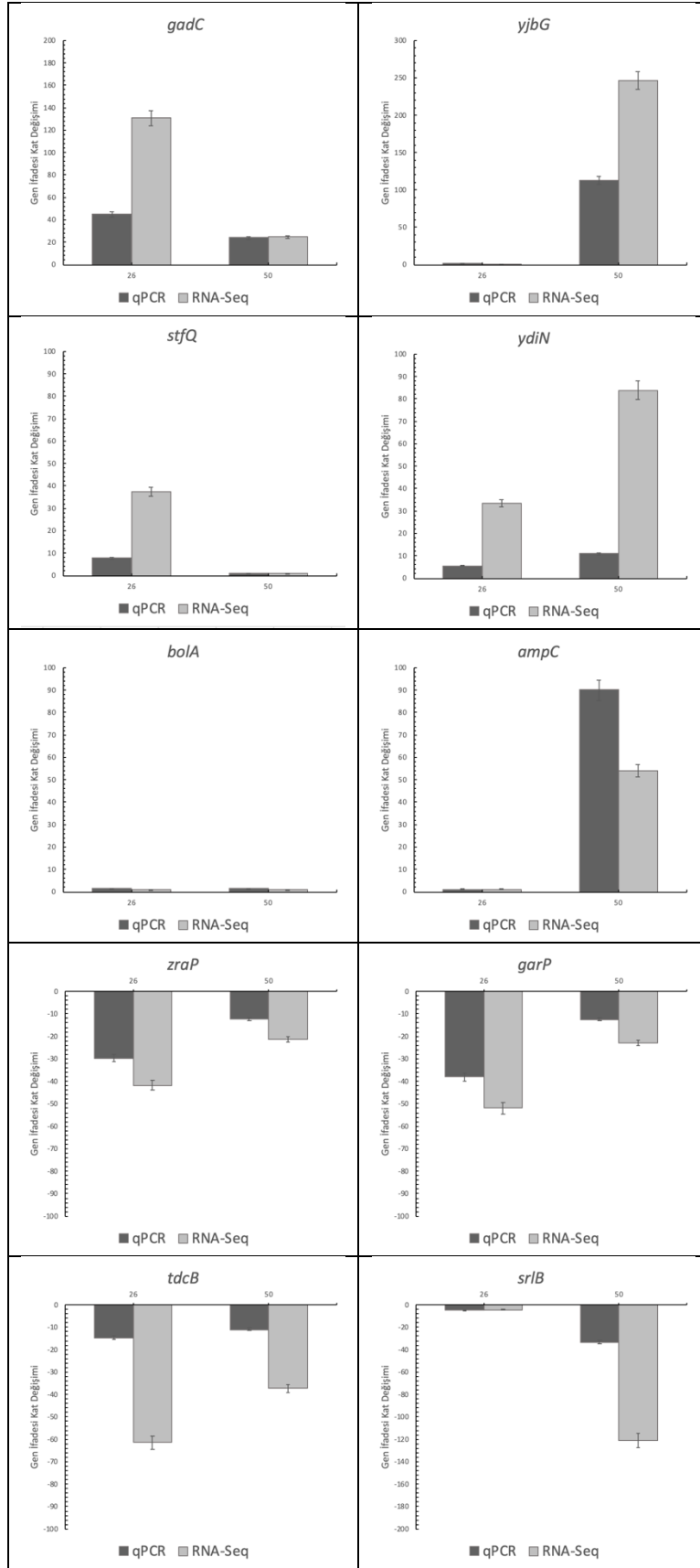
4.7.5. RT-qPCR ile RNA-Dizileme Sonuçlarının Doğrulanması

Tasarlanan primerler RT-qPCR yapılmadan önce koloni PCR ile kontrol edilmiştir. PCR sonucunda elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.17’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar primerlerde spesifik bantlar elde edildiğini ve bu bantların beklenen boyutlarda olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.17. RT-qPCR Primerlerinin Koloni PCR ile Doğrulanması. (M: Marker, 1:*zraP*, 2:*tdcB*, 3:*bolA*, 4:*stfQ*, 5:*gadC*, 6:*garP*, 7:*srlB*, 8:*ampC*, 9:*ydiN*, 10:*yjbG*)

RT-qPCR için her bir örnekten bağımsız tekrarlarla RNA izolasyonu yapılarak cDNA’ya dönüştürülmüş ve tasarlanan primerler aracılığıyla ifade değişimi tespit edilmiştir. qPCR ve RNA dizileme verileri karşılaştırıldığında hem qPCR hem de RNA dizileme verilerinde her gen için benzer yönde ifade değişimleri olduğu görülmüştür (Şekil 4.18). Oransal kat artış/azalış açısından incelendiğinde ise bazı örnekler arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. En büyük fark *ydiN* geninde görülmüştür. Bu gende *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarının qPCR ve RNA dizilemedeki ifade seviyeleri arasında sırasıyla 6,03 ve 7,7 kat fark bulunmaktadır. Bu geni 4,8 katla *E. coli* W3110-10 suşunda *stfQ* takip etmiştir. 4 katın üzerinde fark gösteren son grup *E. coli* W3110-10’a ait *tdcB* geni olmuştur. Promotorunda mutasyon içeren *ampC* geninin ifadesinin sadece *E. coli* W3110-95 suşunda arttığı qPCR ile de doğrulanmıştır. qPCR sonuçlarına göre *ampC* geninin ifadesi *E. coli* W3110-95 suşunda 89,88 kat artarken *E. coli* W3110-10 değişmemiştir.



Şekil 4.18. Seçilen Genlere Ait İfade Grafikleri

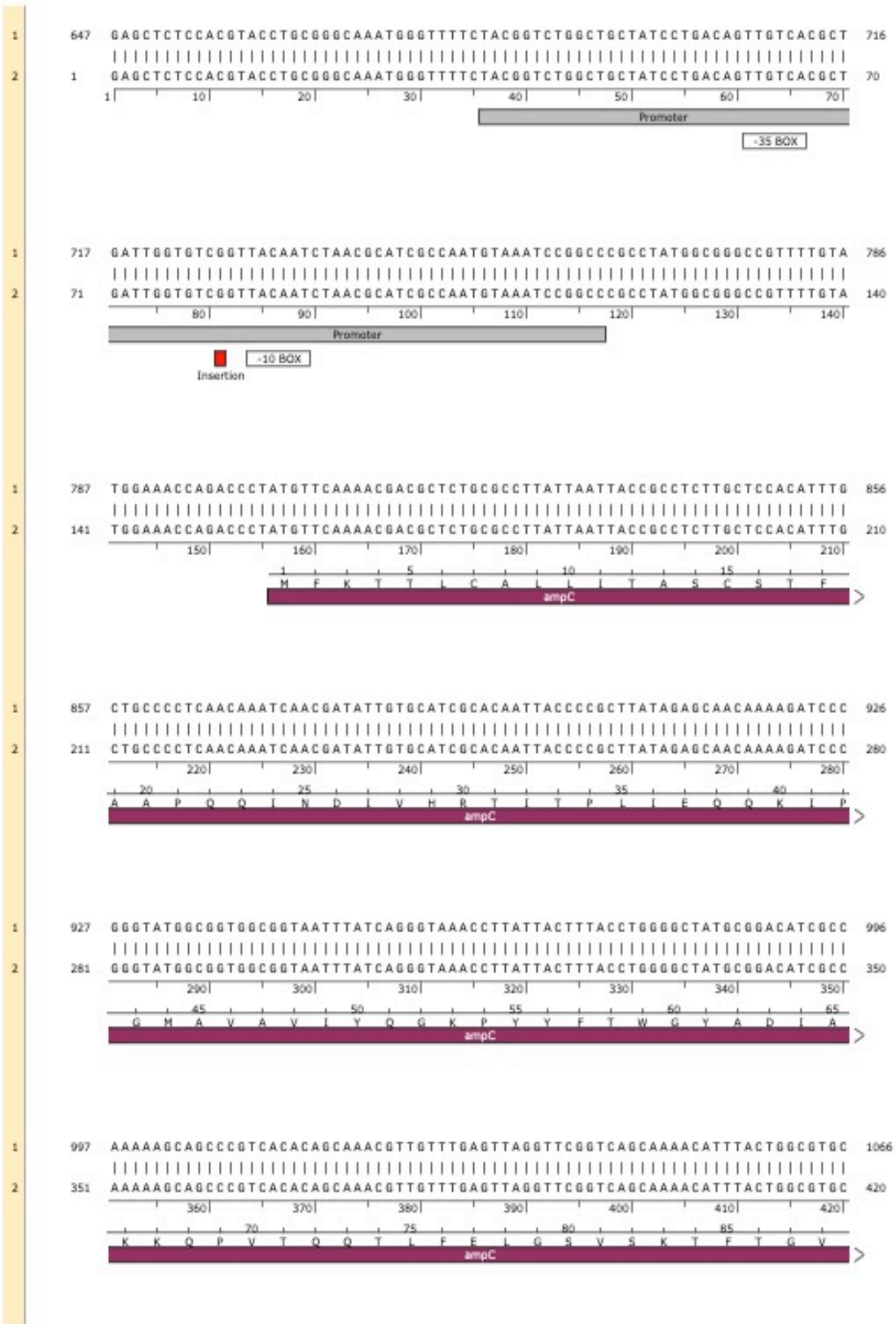
4.8. *ampC* Promotör Mutasyonunun Etkisinin Doğrulanması

Meydana gelen *ampC* promotor mutasyonunun ampisilin direnci üzerindeki etkisinin doğrulanması için bu mutasyonu taşıyan gen bölgesi bir plazmite klonlanarak *E. coli* W3110 ve *E. coli* W3110-10 suşlarına aktarılmıştır. Daha sonra bu iki suştaki ampisilin direnç ve ekspresyon seviyesi tespit edilmiştir.

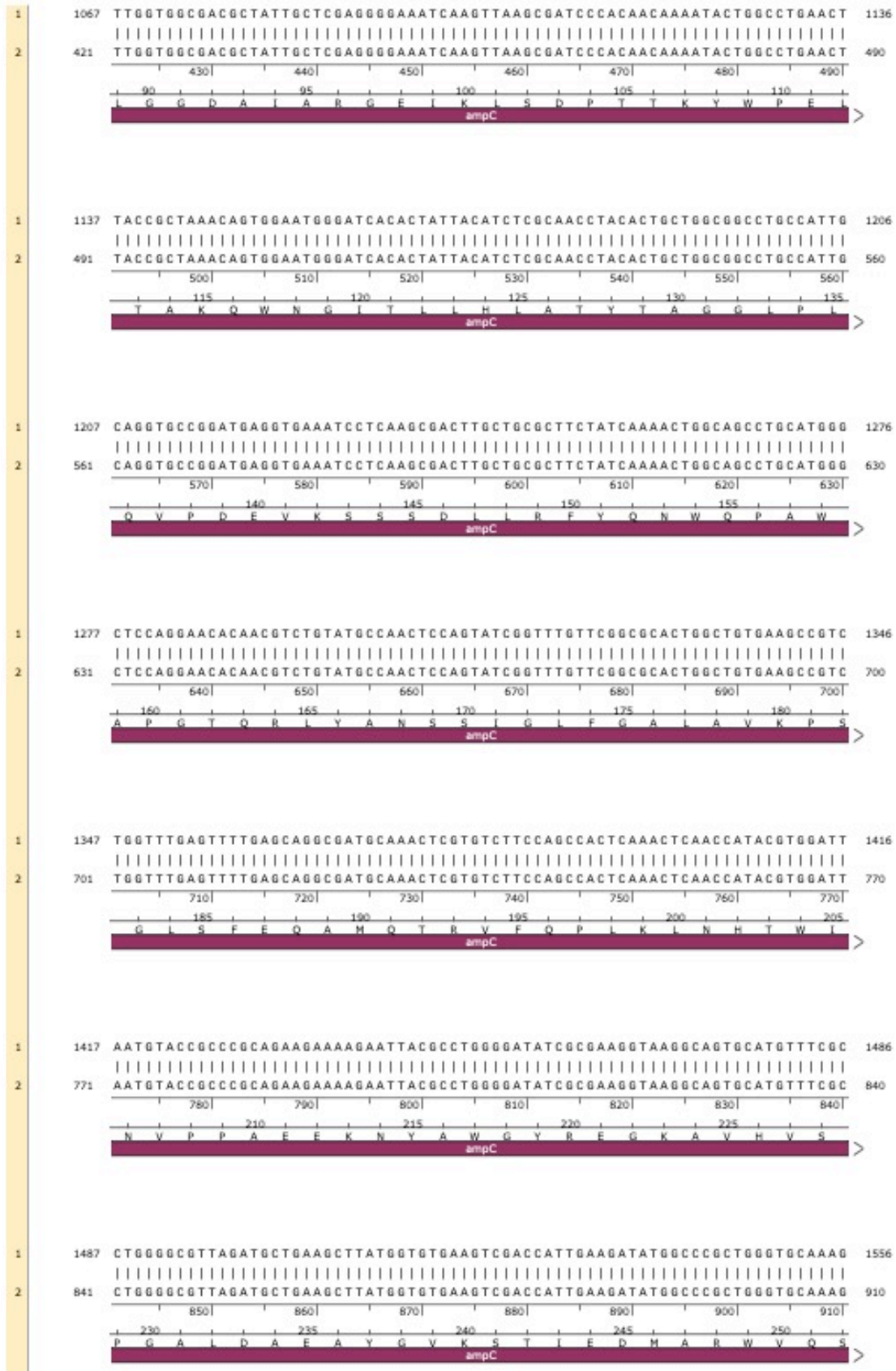
4.8.1. pEX-K248-*ampC* Plazmitinin Hazırlanması ve Dizilenmesi

Mutasyona sahip promotor, terminatör ve *ampC* kodlama bölgesini içeren 1397 baz çiftlik DNA dizisi invitro olarak sentezlenmiş ve pEX-K248 plazmitine aktarılmıştır. Bu plazmit ekspresyon vektörü değildir ancak, sentezlenmek istenen genin promotor ve terminatör bölgelerini içermesi nedeniyle ilgili genin ekspresyonunu gerçekleştirebilmektedir. Gen sentezi yönteminde sentezlenmek istenen dizi 100-200 bp uzunluğunda parçalara bölünerek sentezlenmekte ve daha sonra sentezlenen parçalar birleştirilerek istenilen gen bölgesi elde edilmektedir. Kısa oligonükleotit sentezinde hata oranının daha düşük olması nedeniyle, istenilen gen bölgesi neredeyse hatasız bir şekilde sentezlenebilmektedir. Daha sonra sentezlenen gen istenilen bir vektöre aktarılmaktadır. Bu aşamada plazmit üzerine klonladığımız gen bölgesinin ampisilin direnç geni olması nedeniyle transformasyon sırasında koloni seçilimi yapılabilmesi için kanamisin direnç kasetine sahip olan 2507 baz çifti uzunluğundaki pEX-K248 plazmiti kullanılmıştır.

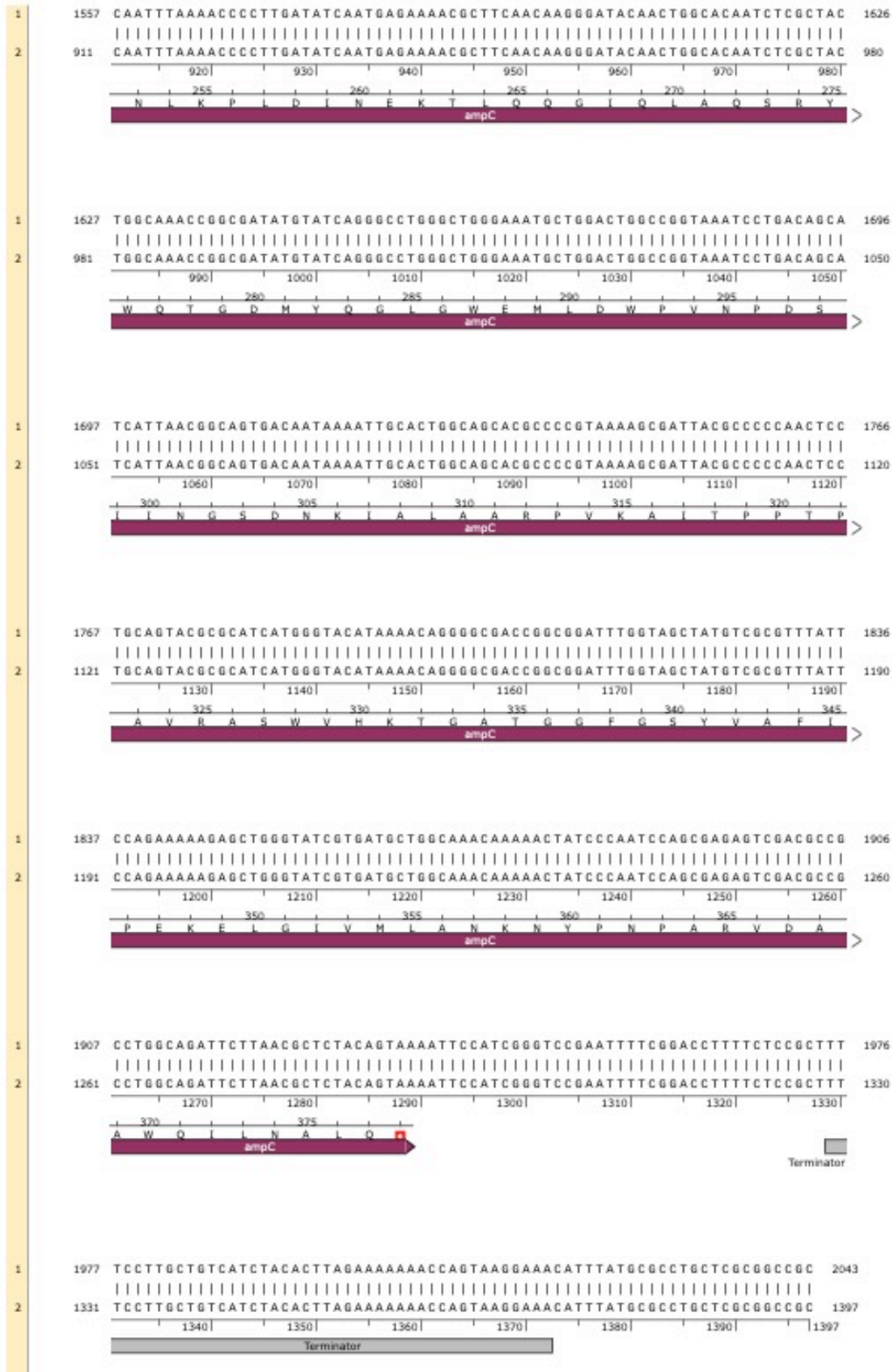
Gen sentezi ve klonlama işlemleri tamamlandıktan sonra, sentezlenen genin doğruluğunu ve plazmitin taşıdığı genetik diziyi belirlemek amacıyla detaylı bir dizileme analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde, sentezlenen genin tamamını ve vektörün bir bölümünü içeren toplamda 2696 baz çiftlik bir bölge, üç farklı primer çifti kullanılarak çoğaltılmış ve Sanger dizileme yöntemi ile dizilenmiştir. Dizileme analizinden elde edilen sonuçlar, sentezlenen genin ve plazmitin beklenen genetik diziyi doğru bir şekilde taşıdığını göstermiştir. Veri analizi sonucunda, dizilenen 2696 baz çifti uzunluğundaki bölgenin ortasında bulunan 1397 bazlık kısmının, *ampC* gen bölgesi ile %100 uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bu uçlarda kalan bölgelerin de pEX-K248 plazmiti ile %100 eşleştiği görülmüştür. Bu sonuçlar gen sentezi ve klonlama sürecinin başarıyla tamamlandığını ve sentezlenen genin güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. *ampC* gen bölgesine ait dizileme sonuçları Şekil 4.19'da sunulmuştur.



Şekil 4.19. *ampC* Gen Bölgesinin Dizileme Sonuçları (1: pEX-K248-*ampC*, 2: *ampC*)



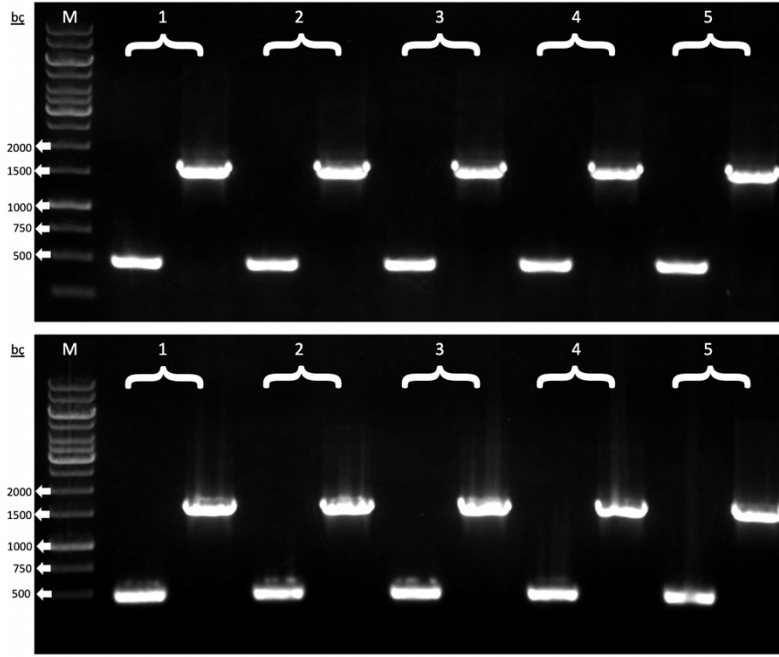
Şekil 4.19. *ampC* Gen Bölgesinin Dizileme Sonuçları (1: pEX-K248-*ampC*, 2: *ampC*) (Devamı)



Şekil 4.19. *ampC* Gen Bölgesinin Dizileme Sonuçları (1: pEX-K248-*ampC*, 2: *ampC*) (Devamı)

4.8.2. pEX-K248-ampC plazmitinin *E. coli* W3110 ve *E. coli* W3110-10 Suşlarına Transformasyonu

pEX-K248-ampC plazmitinin başarılı bir şekilde oluşturulmasının ardından plazmitin *E. coli* W3110 ve *E. coli* W3110-10 suşlarına transformasyonu gerçekleştirilmiştir. Transformasyon sonrasında 40 µg/ml kanamisin içeren LB besiyerinde çok sayıda koloni elde edilmiş ve bunlardan seçilen 5'er tanesi 2 farklı primer çifti kullanılarak PCR ile doğrulanmıştır. Seçilen kolonilerin hepsinde plazmiti içeren suşlarda beklenen 1549 bp ve 477 bp boyutunda bantlar elde edilmiş ve agaroz jel görüntüleri Şekil 4.20'de verilmiştir. PCR sonuçları seçilen kolonilerin plazmiti içerdikleri ve plazmitin ampC genini doğru bir şekilde taşıdığını göstermektedir. Seçilen kolonilerin hepsinde pozitif sonuç alınması nedeniyle hem *E. coli* W3110'da hem de *E. coli* W3110-10'da 1 numaralı koloniler seçilerek sonraki çalışmalara devam edilmiştir.

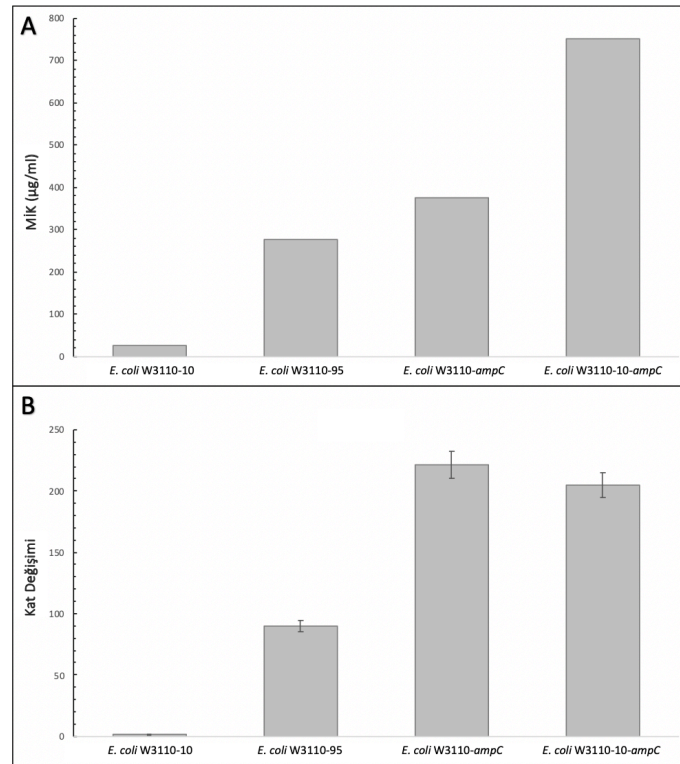


Şekil 4.20. pEX-K248-ampC Transforme Edilmiş Hücrelerin PCR ile Doğrulanmasına Ait Agaroz Jel Görüntüsü (A) Yabani Tip *E. coli* W3110 (B) 10 Kat Dirençli *E. coli* W3110 (1-6: pEX-K248-ampC Transforme Edilen Örnekler)

4.8.3. pEX-K248-ampC Plazmitini İçeren Suşlarda Direnç ve Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi

Meydana gelen ampC promotor mutasyonunun bireysel ve kümülatif etkisini belirlemek için, bu mutasyonlu geni içeren pEX-K248-ampC plazmitinin aktarıldığı *E. coli* W3110-ampC ve *E. coli* W3110-10-ampC suşlarında ampisilin MİK değeri ve ampC ekspresyon seviyesi belirlenmiştir. ampC genini içeren plazmitin transformasyonu sonucunda *E. coli* W3110'un

MİK değeri 2,94 µg/µl'den 375 µg/µl'ye çıkarırken *E. coli* W3110-10'un MİK değeri 25 µg/µl'den 750 µg/µl'ye çıkmıştır (Şekil 4.21.A). Böylece hem *E. coli* W3110-*ampC* hem de *E. coli* W3110-10-*ampC* suşunun direnç seviyesi, mutasyonu kendi kromozomunda içeren *E. coli* W3110-95'den daha yüksek seviyeye ulaşmıştır. Ekspresyon seviyeleri incelendiğinde ise *E. coli* W3110-*ampC* suşunun *ampC* ifadesinin 221 kat, *E. coli* W3110-10-*ampC* suşunun *ampC* ifadesinin ise 205 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.21.B). Bu bulgular *ampC* ekspresyonunun, plazmitin aktarıldığı iki suşta da *E. coli* W3110-95 suşundan daha fazla olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.21. *E. coli* W3110-10, *E. coli* W3110-95, *E. coli* W3110-*ampC* ve *E. coli* W3110-10-*ampC*'nin Ampisilin MİK Seviyeleri ve *ampC* Gen Ekspresyon Seviyeleri (A) Suşların Ampisilin MİK Değerlerinin karşılaştırılması, (B) Ampisilin Varlığında Suşların *ampC* Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması

E. coli W3110-*ampC* suşunda sadece mutasyonu içeren plazmitin bulunması nedeniyle meydana gelen mutasyonun direnç ve gen ifadesi üzerindeki etkisi net bir şekilde ortaya konulmuştur. *E. coli* W3110-10-*ampC* suşunda ise mevcut olan 5 mutasyon ile birlikte *ampC* promotor mutasyonunun kombine etkisi gözlenmiştir. Mevcut 5 mutasyon, bakteriye 10 kat direnç sağlarken bunlara *ampC* promotor mutasyonunun eklenmesi ile direnç seviyesi yaklaşık 250 kata çıkmıştır. Dirençteki bu artışa rağmen *ampC* geninin ifadesi, yaklaşık 125 kat direnç kazanmış olan *E. coli* W3110-*ampC* suşu ile benzerdir. Bu sonuçlar, *ampC* promotor

mutasyonu ile birlikte 10 kat direnç sağlayan 5 mutasyonun kümülatif bir etki göstererek beklenenden çok daha yüksek bir direnç seviyesine neden olduğunu göstermiştir.

4.9. Dirençli Suşların Farklı Antibiyotik ve Metallere Karşı Direnç Durumunun İncelenmesi

	<i>E. coli</i> W3110	<i>E. coli</i> W3110-10	<i>E. coli</i> W3110-95		<i>E. coli</i> W3110	<i>E. coli</i> W3110-10	<i>E. coli</i> W3110-95
Ampisilin				Streptomisin			
Kanamisin				AgNO ₃			
Rifampisin				CoSO ₄			
Novobiyosin				CuSO ₄			
Nalidiksik Asit				MnSO ₄			
Tetrasiklin				NiSO ₄			
Eritromisin				ZnSO ₄			
Kloramfenikol							

Şekil 4.22. Dirençli Suşların Diğer Antibiyotikler ve Metaller İle Disk Difüzyon Deney Sonuçları

Ampisiline karşı dirençli olan *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarının bazı antibiyotiklere (kanamisin, rifampisin, novobiyosin, nalidiksik asit, tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, streptomisin) ve bazı metallere (gümüş, kobalt, bakır, mangan, nikel, çinko) karşı direnç durumlarını incelemek amacıyla disk difüzyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Ampisilin sonuçları MİK sonuçları ile uyumlu bir profil göstermiştir. Ampisilin disk deneyinde, *E. coli* W3110 suşu etrafında 22 mm'lik bir zon oluşurken *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında sırasıyla 14 mm ve 7,5 mm'lik zon oluşmuştur. Ampisilin direnç gelişimi ile birlikte en önemli direnç artışı kloramfenikol ve nalidiksik asit antibiyotiklerine karşı olmuştur. *E.coli* W3110 suşunda kloramfenikol etrafında 23 mm'lik bir zon oluşurken *E. coli* W3110-10 suşunda 14 mm *E. coli* W3110-95 suşunda 13 mm'lik zon oluşmuştur. Benzer şekilde *E.coli* W3110 suşunda nalidiksik asit etrafında 20,5 mm'lik bir zon oluşurken diğer iki suşda da 16 mm'lik bir zon oluşmuştur. Bu antibiyotiklere ek olarak ampisilin dirençli suşlarda rifampisin, novobiosin, tetrasiklin, eritromisin antibiyotiklerine karşı da direnç gelişimi görünürken kanamisin ve streptomisine karşı duyarlılıkta bir değişim gözlenmemiştir. Metal direnç seviyeleri incelendiğinde ise en önemli değişim gümüş duyarlılığında gözlenmiştir. *E.coli* W3110 suşunda gümüş etrafında 10 mm'lik bir zon oluşurken *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşunda 14 mm'lik zon oluşmuştur. Buna ek olarak test edilen metallere çinkoya düşük seviyede direnç gelişimi gözlenirken kobalt, bakır ve nikel duyarlılıklarında bir değişim gözlenmemiştir. Diğerlerinden farklı olarak ampisilin dirençli suşlarda mangan metaline karşı direnç net olarak gözlenmese de disk etrafındaki zon sınırlarında bozulmalar gözlenmiştir. Bu durum dirençli suşlarda mangan toksisitesinin azaldığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.22'de gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Antibiyotikler, insan hayatını değiştiren en önemli bilimsel keşiflerden birisi olmuştur. Bakterilerde temel işlevleri engelleyen antimikrobiyallerin bir alt kümesi olan antibiyotikler tıpta birçok açıdan devrim yaratmış ve sayısız hayat kurtarmıştır. Ne yazık ki, bu harika ilaçların kullanımını ile birlikte dirençli suşlar hızla ortaya çıkmıştır. Antibiyotiklere karşı direnç kazanımı ile bakteriler, duyarlı oldukları antibiyotiklerin öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilmektedirler. Böylece dirençli bakteri daha önce yaşayamadığı antibiyotik konsantrasyonlarında yaşama avantajı sağlamaktadır. Direnç mekanizmalarının anlaşılması, mevcut antibiyotiklerin ömrünü uzatmak için oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle gerçekteştirdiğimiz çalışmada, ampisilin direnç gelişim süreci ve ampisilin antibiyotiğine adaptif direnç kazandırılmış 3 farklı direnç seviyesine sahip suşta farklı seviyedeki direncin moleküler mekanizması araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan *E. coli* W3110 suşu, adaptif laboratuvar deneyleri ile yaklaşık 2 yıl boyunca ampisilin varlığında pasajlanarak dirençli hale getirilmiştir. Bu süreç içerisinde 8 pasaj hattının her birinde yaklaşık 2400 jenerasyon oluşurken 50 kez pasajlama işlemi gerçekteştirilmiştir. Her pasajda antibiyotik konsantrasyonu bir öncekine kıyasla %10 arttırılmıştır. 50 pasaj sonunda bakterilerin antibiyotik direnç seviyesinin, atasal suşa kıyasla 36-95 kat arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, adaptif direnç deneyleri ile bakterilerin her hangi bir stres faktörüne karşı direnç kazanabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda direnç kazandırmak için kullanılan atasal suşun MİK değeri 2,93 µg/ml olarak belirlenmiştir. Literatürde bulunan iki farklı çalışmada *E. coli* W3110 suşunun ampisilin MİK değerinin 2 µg/ml olduğu tespit edilmiştir (Feng vd., 2018; Mellbye vd., 2010). Elde edilen bulgular *E. coli* W3110 için belirlenen MİK değerinin literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Çalışmada 26. pasaj itibariyle elde edilen suşların ortalama MİK değeri 24,6 µg/ml iken dizileme analizi için seçilen *E. coli* W3110-10'un MİK değeri 25 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu değerler pasajlama sürecinin ortasında, suşların yaklaşık olarak ortalama 10 kat dirençli hale geldiğini göstermiştir. Pasajlama sürecinin sonunda elde edilen suşların ortalama MİK değeri ise 204,3 µg/ml iken dizileme analizi için seçilen *E. coli* W3110-95'in MİK değeri ise 275 µg/ml olmuştur. Bu da final suşlarının yaklaşık olarak ortalama 70 kat direnç kazandığını gösterirken *E. coli* W3110-95'in 95 kat direnç kazandığını göstermiştir. 2020 yılı CLSI raporuna göre 8 µg/ml'den düşük MİK değerine sahip Enterobakteri'lerin duyarlı, 32 µg/ml'den yüksek MİK değerine sahip olanların ise dirençli olduğu belirtilmiştir. Bu iki değerin arasındaki bölge ise geçiş bölgesi olarak kabul edilmiştir (CLSI, 2020). Bu standartlara göre incelendiğinde, atasal

suşun duyarlı kategorisinde bulunduğu, *E. coli* W3110-95'in dirençli kategorisinde bulunduğu ve *E. coli* W3110-10'un ise geçiş bölgesinde bulunduğu görülmektedir. Böylece çalışmada kullanılan 3 suşun direnç seviyelerinin çalışmanın amacına uygun olacak şekilde birbirinden farklı olduğu söylenebilir.

Antibiyotik konsantrasyonunun yavaş bir şekilde artması mikroorganizmalar tarafından kolayca tolere edilebilirken, konsantrasyonun hızlı bir biçimde artması daha zor tolere edilmektedir. Yaptığımız çalışmada, her pasajda %10'luk konsantrasyon artışına organizmanın hızlı bir şekilde adapte olduğu gözlenmiştir. Lindsey ve ark. aniden yüksek konsantrasyonda antibiyotiğe maruz kalmanın adaptasyonu zorlaştırdığını göstermiştir. Yapılan çalışmada bakteriyel direncin geliştirilmesi sırasında, bir grup bakteri antibiyotik ile ön muamele edilmeden doğrudan yüksek konsantrasyonda antibiyotik içeren besiyerine inoküle edilmiştir. İkinci grup bakteri, her pasajda antibiyotik konsantrasyonu artırılarak 16 kez ara konsantrasyonda pasajlandıktan sonra yüksek konsantrasyonda antibiyotik içeren besiyerine aktarılmıştır. Üçüncü grup bakteri ise, her pasajda antibiyotik konsantrasyonu artırılarak 32 kez ara konsantrasyonda pasajlandıktan sonra yüksek konsantrasyonlu besiyerine aktarılmıştır. Çok sayıda paralel tekrar ile yapılan çalışmada, düşük antibiyotik konsantrasyonlarında ön muamele yapılmayan grupta, ön muamele ile adaptasyon yapılan gruplara göre yaşayan bakteri sayısının oldukça düşük olduğu belirlenmiştir (Lindsey vd., 2013) . Benzer şekilde Baym ve ark. ara konsantrasyonda antibiyotik muamelesinin adaptasyon süresini kısalttığını göstermiştir. Yapılan çalışmada siprofloksasin ve trimetoprim kullanılarak sırasıyla 2000 ve 3000 katlık dirençli suşların elde edilmesinde ara antibiyotik konsantrasyonunun önemi incelenmiştir. Siprofloksasin antibiyotiği ile yapılan denemelerde 200 ve 2000 kat antibiyotik içeren ortama doğrudan adaptasyon yapılmaya çalışıldığında başarılı olunmamış ancak bunlardan önce 20 katlık antibiyotik içeren bir ortama konulduğunda yüksek konsantrasyona adaptasyonun başarılı olduğu görülmüştür. Trimetoprim ile yapılan çalışmalarda ise 3000 kat antibiyotik içeren ortama adaptasyonun 250 saatten fazla sürdüğü ancak araya 3 kat veya 30 kat antibiyotik içeren bir aşamanın eklenmesiyle bu sürenin neredeyse yarı yarıya azaldığı tespit edilmiştir (Baym vd., 2016). Bu sonuçlar yüksek antibiyotik direnç seviyelerine ulaşmak için ara antibiyotik konsantrasyonlarının itici gücünü göstermektedir. Bu bilgiler ışığında özellikle antibiyotik kullanımı ile ilgili politikalar hazırlanırken, antibiyotik dozunun önemi göz önünde bulundurulmalıdır.

Adaptasyon süreci mikroorganizmanın zorlu çevresel koşullar altında uyguladığı bir stratejidir. Bir mikroorganizma belirli bir ortamda veya nişte hayatta kalmak için adapte

olduğunda, elde ettiği bu avantaja karşı bazı özelliklerini kaybederek bir hayatta kalım maliyeti ödemektedir. Antibiyotik direnci kazanmanın organizmaya belirli bir maliyet yüklediği ve bu organizmaların duyarlı suşlara göre daha düşük büyüme oranlarına sahip olduğu yönünde genel bir düşünce bulunmaktadır (Gagneux vd., 2006; Melnyk vd., 2015; Reynolds, 2000). Yaptığımız büyüme deneylerinde bu düşünce ile uyumlu bir şekilde antibiyotik dirençli suşların yabancı tipe kıyasla büyümesinin zayıfladığı görülmüştür. Büyümedeki bu değişim, farklı pasaj hatlarında farklı seviyelerde meydana gelmiştir. Bazı suşlar yabancı tipten büyük farklılıklar göstermemiş olsa da bazı suşlarda önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Aynı şartlar altında pasajlanan ve aynı atasal suştan köken alan paralel tekrarlar arasında büyümenin farklılaşması hayatta kalım maliyetinin her seferinde benzer bir şekilde ortaya çıkmadığını ve sürecin rastgele bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca ortamda stres faktörünün seçici baskısının devam etmesi durumunda mikroorganizmalar direnç kazanımına devam ederken hayatta kalım maliyetini de azaltabilmektedir. Buna benzer bir durum D2 pasaj hattında gözlenmiştir. Çalışmanın ortalarına doğru elde edilen D2-26 suşu yabancı tipe kıyasla daha zayıf bir büyüme gösterirken D2-50 suşu yabancı tipe benzer bir büyüme göstermiştir. Bu durum direnç seviyesindeki artışa ek olarak meydana gelen maliyetin azaltıldığını göstermiştir. Dolayısıyla dirençli suşların adaptasyona devam ederek meydana gelen hayatta kalım maliyetini minimuma indirebileceği göz ardı edilmemelidir.

Farklı direnç seviyesine sahip suşlarda, direnç seviyesindeki farklılığın moleküler mekanizması halen açık değildir. Bu nedenle farklı direnç seviyesine sahip *E. coli* W3110 suşlarının ampisiline karşı direncinin moleküler mekanizmasını araştırmak için bakteriyel tüm genom ve transkriptom analizi yapılmıştır. Tüm genom dizileme sonucunda *E. coli* W3110-10'un 5 mutasyon içerdiği tespit edilirken *E. coli* W3110-95'de bunlara ek olarak 2 mutasyon daha tespit edilmiştir. Bu 7 mutasyondan 3 tanesi SNP iken 4 tanesi insersiyon-delesyon olarak ortaya çıkmıştır. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95'de ortak olarak bulunan mutasyonlar genom üzerinde 93022, 1621204, 2829040, 3450580 ve 4371270 numaralı pozisyonlarda meydana gelmiştir.

Genom üzerinde 93022. pozisyonda bulunan SNP, *murE* geninin promotor bölgesine, *ftsI* geninin ise kodlama bölgesine denk gelmiştir. MurE hücre duvarı sentezi, hücre bölünmesi ve hücre şeklinin düzenlenmesi gibi süreçlerde rol almaktadır (Michaud vd., 1990). Mutasyon bu genin promotor bölgesindedir ancak ekspresyon üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu nedenle bu mutasyonun direnç ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür. *ftsI* geni hücre bölünmesinde görevli olan temel bir moleküldür ve β -laktam antibiyotiklerin hedefidir.

Bu gende meydana gelen mutasyonlar, hücrenin β -laktam antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına neden olabilmektedir. Yapılan bir çalışma sonucunda ampisilin direnci kazanmış olan üç suşun tamamında 536. aminoasidin değiştiği tespit edilmiştir. (Xing vd., 2020). *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında ise 537. aminoasidin değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen bu bilgiler doğrultusunda 536 ve 537. aminoasitleri içeren *ftsI* bölgesinin ampisilin ile etkileşimde önemli olduğu düşünülmektedir.

Genom üzerinde 1621204. pozisyonda meydana gelen delesyon, *marA* geninin promotor bölgesine ve *marR* geninin kodlama bölgesine denk gelmiştir. *marABR* genlerinin farklı antibiyotik sınıflarına (başlıca β -laktamlar, kloramfenikol, kinolonlar ve tetrasiklin), dezenfektanlara ve organik çözücülere karşı düşük düzeyde direnç gösterdiği bilinmektedir (Randall ve Woodward, 2002). Ayrıca *marA* geni, antibiyotik direnci ve stres tepkisi ile ilgili çok sayıda genin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyonel aktivatördür (Martin vd., 1996). Elde edilen transkriptom verileri, *marA* tarafından düzenlenen ve stres yanıtı ve antibiyotik direnci ile ilişkili olan bir dizi genin ekspresyonunda önemli değişiklikler olduğunu göstermiştir (Kettles vd., 2019; Martin ve Rosner, 2002). Çalışmamıza benzer bir şekilde yapılan bir araştırmada, 8 $\mu\text{g/ml}$ ve 64 $\mu\text{g/ml}$ olmak üzere iki farklı ampisilin direnç seviyesine sahip *E. coli* suşlarının *marR* genlerinde bir mutasyon olduğu tespit edilmiştir (Li vd., 2019). Ancak çalışmada genlerin promotor bölgelerinin incelenmemesi ve mutasyonların gen içerisindeki pozisyonlarının verilmemesi mutasyonların karşılaştırılmasını sınırlandırmıştır. Farklı bir çalışmada doksisiklin direnci kazanan 4 suşun ikisinde *marR* geninde 69 numaralı aminoasitin, birinde 84 numaralı aminoasitin ve diğerinde ise 94 numaralı aminoasitin değiştiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada elde edilen kloramfenikol dirençli bir suшта doksisiklin dirençli suşlarla ortak bir şekilde 94 numaralı aminoasit değişmiştir (Toprak vd., 2012). Literatürde *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında bulunan mutasyon ile benzer pozisyonda olan bir mutasyona rastlanmamıştır. Tespit ettiğimiz mutasyonun *marA* geninin promotor bölgesine de denk gelmesi nedeniyle gen ifadesi üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. Bu mutasyonun direnç mekanizması üzerindeki etkisi gen ifade verileri ile birlikte daha detaylı bir şekilde tartışılmıştır. Elde edilen sonuçlar, *mar* genlerinin antibiyotik adaptasyonu sırasında sıklıkla mutasyona uğradığını ve bu mutasyonların orta derecede direnç seviyesine önemli bir katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Genom üzerinde 2829040. pozisyonda bulunan delesyon, *gutQ* geninin 575. bazına denk gelmiştir. Bu pozisyonda bulunan guanin bazı silinmiştir. Bu durum bir stop kodonu oluşmasına neden olarak hatalı protein üretilmesine neden olmuştur. Bu gen, *E. coli*'deki iki D-

arabinoz 5-fosfat izomerazdan ikincisini kodlamaktadır. *gutE* tarafından kodlanan D-arabinoz 5-fosfat izomerazın biyokimyasal özelliklerinin ilk tanımlanan D-arabinoz 5-fosfat ile benzer olduğu bilinmektedir (Meredith ve Woodard, 2005). Bu genlerin ve ürünlerin benzer olması nedeniyle bu genlerden herhangi birinde mutasyon içeren suşların yaşayabildiği ve fonksiyonel bir lipopolisakkarit tabakaya sahip olduğu görülmüştür. Ancak her iki genin mutant olduğu durumlarda hücrelerin yaşayabilmesi için ortamda arabinoz 5-fosfat'a ihtiyaç olduğu tespit edilmiştir (Meredith ve Woodard, 2005). *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında bu iki genden sadece *gutQ*'nun mutasyona uğramış olması nedeniyle, mutasyonun önemli bir etkisinin olmadığı düşünülmüştür. Literatürde bu gendeki mutasyonların antibiyotik direnci ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Genom üzerinde 3450580. pozisyonda meydana gelen tek bazlık değişimde *rpoC* geninin 752. pozisyonunda bulunan sitozin bazı ile timin yer değiştirmiştir. Bu değişim ile birlikte 251. pozisyonadaki prolin aminoasidi lösine dönüşmüştür. RpoC, RNA polimerazın β' altbirimini oluşturmaktadır (Miller vd. 2021). β' altbirimi, hedef bölgenin tanınmasını ve β altbirimi ile birlikte kısaç benzeri bir yapı oluşturarak promotor bölgede iki DNA zincirinin birbirinden ayrılmasını (promotor melting) sağlamaktadır. Bu süreç transkripsiyonun başlaması için büyük bir öneme sahiptir ve bakterilerde oldukça korunmuştur (Chen vd., 2010). Dolayısıyla *rpoC* geninde meydana gelen değişiklikler, hücrelerin transkripsiyon mekanizmalarını bozarak hücre ölümüne yol açabilmektedir. Tetrasiklin ile yapılan bir çalışmada, tetrasikline adapte edilmiş hücrelerde RpoC'nin 367. aminositinin glisinden sisteine döndüğü raporlanmıştır (Hoeksema vd., 2019). Başka bir çalışmada ise 47 salinamid A dirençli *E. coli* suşunda RpoC'nin 690-783. pozisyonları arasında toplam 16 aminoasitin değiştiği tespit edilmiştir (Degen vd., 2014). Yaptığımız çalışmada ise tespit ettiğimiz *rpoC* mutasyonu 251. aminoasite denk gelmektedir. Literatürde, antibiyotik dirençli suşlarda bu bölgeye yakın bir mutasyon ile karşılaşılmamıştır. Young ve ark., *E. coli*'de yaptıkları bir çalışma ile transkripsiyonu başlatabilen bir RNA polimerazda hangi bölgelerin aktif olarak rol aldığını araştırmıştır. Elde edilen sonuçlara göre σ faktörünün küçük bir bölümünün ve β' alt biriminin ilk 314 amino asidinin transkripsiyonun başlaması ve promotor bölgesinin açılması için yeterli olduğu görülmüştür (Young vd., 2004). Tespit ettiğimiz mutasyon bu bölge içine denk gelmiş olsa da organizmanın gen ifadesini başlatmada hayati bir problem yaşamadığı tespit edilmiştir.

Ortamda stresörlerin varlığı *rpoC* geninin sıklıkla mutasyona uğramasına neden olmaktadır. Literatürde antibiyotik (Cohen ve Hershberg, 2022), ozmotik stres (Guo vd., 2017), yağ asidi (Chen vd., 2020), asit (Harden vd., 2015), sıcaklık (Sandberg vd., 2014), iyonlaştırıcı

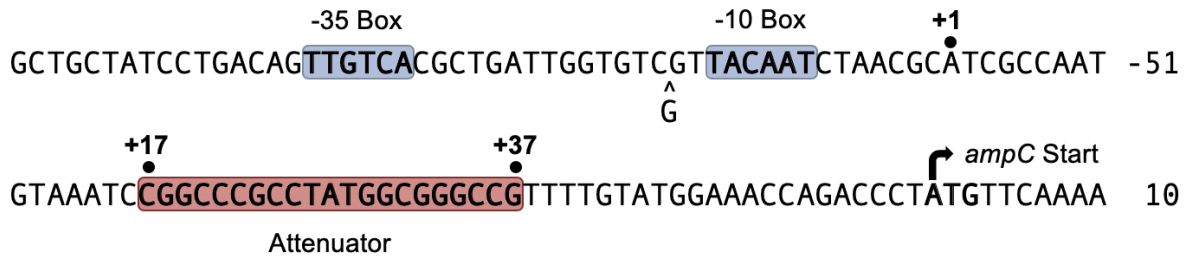
radasyon (Bruckbauer et al., 2019), hidrojen peroksit (Pereira vd., 2021) ve klorheksidin (Pereira vd., 2021) gibi çeşitli faktörlere adaptasyon sürecinde *rpoC* geninin mutasyona uğradığı gösterilmiştir. Ayrıca hidrojen peroksit ve klorheksidin adaptasyon süreci sonunda *rpoC* mutasyonu içeren hücrelerin ampisilin direnç seviyesi incelendiğinde 2 katlık bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler, *rpoC* mutasyonunun tesadüfi olmadığını ve henüz bilinmeyen bir mekanizma ile kontrol edildiğini göstermektedir.

Genom üzerinde 4371270. pozisyonda bulunan mutasyon *dcuA* geninin önünde bulunan -6 ve -7 olarak numaralandırılan bazların silinmesi ile meydana gelmiştir. Kodlanmayan bölgede yer alan bu mutasyon başka bir gen içerisine denk gelmemiştir. *dcuA*, aerobik koşullar altında bir nitrojen kaynağı olarak L-aspartat alımını sağlayan ana taşıyıcıdır (Schubert vd., 2021; Strecker vd., 2018). *dcuA* ve *dcuB*'nin birbirlerine oldukça benzer dizilere sahip olması nedeniyle bu genlerin herhangi birinin mutant olduğu durumlarda hücre büyümesinde bir problem yaşanmadığı tespit edilmiştir (Six vd., 1994). Çalışmada tespit ettiğimiz bu mutasyonun, hem gen dışında bir bölgeye denk gelmesi hem de mutasyonun gen ifadesini etkilememesi, direnç üzerinde bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

E. coli W3110-10'un yaklaşık 10 katlık dirence sahip olmasında *ftsI*, *marAR* ve *rpoC* mutasyonlarının etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu mutasyonların tamamının bir suşta bulunması nedeniyle tek bir genin etkisi değil birden fazla genin kombinasyonel etkisi gözlenmiştir. Tespit edilen mutasyonların hepsinin direnç ile ilişkili olabileceğine dair mevcut bilgiler, bu üç mutasyonun 10 katlık direnç seviyesine ulaşılmasında toplu bir etkisinin olabileceğini göstermektedir.

E. coli W3110-95 atasal suşa kıyasla 95 kat dirence sahipken *E. coli* W3110-10 suşu 10 kat dirence sahiptir. Bu direnç farkının sebebinin *E. coli* W3110-95 suşunda meydana gelen 2 ek mutasyon olduğu düşünülmüştür. 4383697. pozisyonda bulunan insersiyon *frdD* geninin kodlama bölgesine denk gelirken *ampC* geninin promotor bölgesine denk gelmiştir. *frdD* geni fumaratı süksinata çeviren fumarat reduktaz enziminin D altbirimini kodlamaktadır. Bu gen 360 nükleotit uzunluğundadır ve 303 ve 360. bazları arasındaki bölge *ampC* geninin promotor bölgesi ile çakışmaktadır (Tierrafría vd., 2022; Yamazaki vd., 2007). Literatürde *frdD* geninde meydana gelen mutasyonların β -laktam direncine neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Triklosanın, antibiyotik direnci üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, 30 günlük adaptasyon sürecinin sonunda *fabI*, *frdD*, *marR*, *acrR* ve *soxR* genlerinin mutasyonlar içerdiği ve bunların yanı sıra β -laktam direncinin arttığı tespit edilmiştir (Lu vd., 2018). Benzer şekilde *E. coli* hücrelerinin ampisiline adaptasyonunun gerçekleştirildiği başka bir çalışmada

frdD, *ftsI*, *acrB*, *ompD*, *marR*, *vgrG*, ve *envZ* genlerinin mutasyona uğradığı ve ampisilin direncinin 64 katına çıktığı tespit edilmiştir (Li vd., 2019). Farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotiklerle gerçekleştirilen bir çalışmada yine ampisiline adapte edilmiş suşların *frdD* geninde bir insersiyon içerdiği görülmüştür (Karve ve Wagner, 2022). Bahsedilen çalışmaların ikisinde *frdD* geninde bir bazlık insersiyon tespit edilirken Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada bir nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Bu çalışmalar, *frdD* geninin henüz bilinmeyen bir şekilde ampisilin direnci ile ilişkili olan metabolik yollarda yer aldığını öne sürmektedir ancak bu çalışmaların tamamında *ampC* geninin promotorunun *frdD* geni içerisinde yer aldığı göz önünde bulundurulmamıştır. Triklosan ile yapılan çalışmada *frdD* genindeki insersiyon 345. pozisyonda bulunmaktadır. Bu insersiyon aynı zamanda *ampC* geninin promotor bölgesi içerisine denk gelmektedir. Diğer iki çalışmada mutasyonların *frdD* geninin hangi bölgesinde bulunduğu gösterilmemiştir. Dolayısıyla çalışmalarda bu gendeki mutasyonların daha derin bir analizine ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 5.1. *ampC* Promotor Bölgesi ve *E. coli* W3110-95 Suşunda Tespit Edilen İnsersiyon

Bir β -laktamaz olan *ampC* penisilinlere, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere ve sefamisinlere direnç kazanılmasını sağlamaktadır (McCann vd., 2022). Bu gen, *E. coli* hücrelerinde bulunmasına rağmen bir çok *E. coli* suşu tarafından klinik olarak anlamlı bir dirence neden olacak seviyede ifade edilememektedir. Bu nedenle genellikle plazmit üzerinde bulunan *ampC* geni ile direnç sağlanmaktadır (MacDougall, 2011). Bazı mutasyonların *ampC* geni ekspresyonunda artışa neden olduğu bilinmektedir (Singh vd., 2020; Tracz vd., 2005). Rapor edilen mutasyonlar *ampC* geni promotor ve attenuatör bölgesini kapsayan alan içerisinde bulunmaktadır. *ampC* geni promotor ve attenuatör bölgesi Şekil 5.1’de gösterilmiştir. Bu çalışmada, tespit ettiğimiz mutasyonların gen içerisindeki ve öncesindeki pozisyonları belirlenirken translasyonun başladığı nokta +1 pozisyonu olarak kabul edilmiştir. Ancak promotor bölgesi ile ilgili çalışmaların çoğunda transkripsiyonun başladığı pozisyon +1 olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, translasyon başlama noktasına göre -74. pozisyonda tespit ettiğimiz *ampC* promotor mutasyonu transkripsiyon başlama noktasına göre -15. pozisyona

denk gelmektedir. Bu bölge -35 ve -10 kutuları arasında yer almaktadır ve mutasyonun pozisyonu Şekil 5.1’de gösterilmiştir.

Tracz ve ark., sefoksitin dirençli 52 *E. coli* ile yaptıkları bir çalışmada *ampC* promotorunu güçlendiren mutasyonları tanımlamıştır. Bu mutasyonlar içerisinde aktivasyonu en çok arttıran mutasyonların -35 kutusu içerisinde meydana geldiği tespit edilmiştir (Tracz vd., 2007). Dolayısıyla β -laktamaz üretimi fazla olan suşlarda bu bölge sıklıkla mutasyona uğramaktadır. Doğada *ampC* ifadesini arttıran ve en yaygın olarak görülen mutasyonun T-32A olduğu bildirilmiştir (Lewis vd., 2016). Bu mutasyon ile birlikte promotor aktivitesi yaklaşık olarak 21 kat artmaktadır (Jaurin vd., 1982). Başka bir çalışmada aynı mutasyonu içeren suşlarda *ampC* geninin ifadesinin 10 ile 40 kat arttığı gösterilmiştir (Singh vd., 2019).

Promotor içerisindeki -35 ve -10 kutularını birleştiren bölgenin uzunluğu transkripsiyonun başlaması için oldukça önemlidir. *ampC* promotorunda bu bölgenin 16 bazdır ancak optimal mesafe 17-18 baz uzunluğundadır (Siu vd., 2003, Klein 2021). Tracz ve ark. tarafından yapılan çalışmada, -35 ve -10 kutularının arası en sık mutasyon içeren ikinci bölge olarak tanımlanmıştır (Tracz vd., 2007). Bu bölgedeki insersiyonlar ile 35 ve -10 kutuları arasındaki mesafe 17-18 baz çiftine çıkabilmektedir. -21_-20insT mutasyonuna sahip hücrelerde *ampC* geninin ifadesi 4-6 kat artmıştır (Singh vd., 2019). -16_-15insG mutasyonuna sahip bir başka suşta, promotor aktivitesinin yaklaşık 15 kat arttığı tespit edilmiştir (Jaurin vd., 1982). Bu bölge içerisinde sıklıkla meydana gelen bir mutasyon da G-18A değişimidir. Klinik olarak anlamlı bir şekilde β -laktam direncine sahip olan 411 suş ile yapılan bir çalışmada, 58 suşun (%14) -18. pozisyonunda mutasyon içerdiği tespit edilmiştir. G-18A mutasyonu, *ampC* promotorunda yeni bir -10 kutusu (TATCGT) oluşturarak gen ifadesini 8-32 kat arttırmıştır (Nelson ve Elisha, 1999; Yu vd., 2009).

ampC ifadesinin fazla olduğu *E. coli* hücrelerinde, -10 kutusu diğer bölgelere kıyasla daha az mutasyona uğramıştır (Tracz vd., 2007). Bu bölge içerisinde en sık mutasyona uğrayan bazın -11. pozisyonunda bulunan sitozin olduğu tespit edilmiştir. C-11A mutasyonunu içeren suşlarda *ampC* ekspresyonu yaklaşık 20 kat artmıştır (Singh vd., 2019). Aynı pozisyonunda meydana gelen ve başka bir mutasyon olan C-11T değişimi ise *ampC* ifadesini 6 kat arttırmıştır (SteCorvec vd., 2002).

Konsensus dizilerinin dışındaki bölgelerde de gen ifadesini arttıran mutasyonlar gözlenmiştir. Bunlardan en sık görüleni C-42T mutasyonu olmuştur (Corvec vd., 2007). Bu mutasyonun dışında -88, -82, 17, 23, 31, 58 ve 63. pozisyonlarda da gen ifadesini arttıran mutasyonlar tespit edilmiştir (Corvec vd., 2007; Gude vd., 2012; Sadeghi, 2019). Ancak β -

laktamaz üreten izolatların promotor bölgesinde bu mutasyonlardan genellikle birden fazla sayıda bulunmaktadır. Böylece organizmalar daha yüksek seviyede *ampC* ifadesine ve direncine ulaşabilmektedir. T-32A, C-11A, -22_-21insT ve 16_43del mutasyonlarına sahip bir suşun *ampC* ifadesinin 140 kat arttığı tespit edilmiştir (Tracz vd., 2005).

E. coli W3110-95’de tespit edilen diğer mutasyon 4401616. pozisyonda meydana gelmiştir. Bu mutasyonun gözlemlendiği gen *amiB*, hücre duvarı glikopeptitlerinde N-asetilmuramoil ile L-amino asit arasındaki bağı ayıran N-asetilmuramoil-L-alanin amidaz enzimini kodlamaktadır. Yapılan bir çalışmada bu genin mutant olduğu hücrelerde gentamisin, tobramisin, vankomisin, meropenem, ertapenem antibiyotiklerine duyarlılığın arttığı tespit edilmiştir (Yakhnina vd., 2015). Literatürde, bu gendeki mutasyonlar sonucunda antibiyotik direnç kazanımı görülen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tüm genom dizileme yapılan suşlarda transkriptomik değişimlerin belirlenmesi için RNA-dizileme işlemi de gerçekleştirilmiştir. Bu suşlar $\frac{3}{4}$ MİK ampisilin içeren ortamda büyütülmüş ve ardından izole edilen mRNA’ların tamamı dizilenecek gen ifade seviyeleri belirlenmiştir. *E. coli* W3110 ile kıyaslandığında *E. coli* W3110-10 numaralı örnekte 938 genin, *E. coli* W3110-95 numaralı örnekte ise 1107 genin ifadesi anlamlı bir şekilde değişmiştir. Siprofloksasin dirençli bakterilerle yapılan bir çalışmada bulduğumuz sonuçlara benzer şekilde direnç seviyesinin artması ile birlikte DEG sayısının da arttığı gözlenmiştir (Machuca vd., 2017). Aynı çalışmada ifadesi artan ve azalan gen sayısında önemli farklılıklar bulunmuştur. Direnç seviyesi fark etmeksizin dirençli suşların tamamında ifadesi artan gen sayısı, ifadesi azalan gen sayısının yaklaşık iki katı olarak tespit edilmiştir. *E. coli* W3110-10 suşunda ifadesi artan gen sayısı 470 iken ifadesi azalan gen sayısı 468 olmuştur. Benzer şekilde *E. coli* W3110-95 suşunda ifadesi artan gen sayısı 597 iken ifadesi azalan gen sayısı 510 olarak tespit edilmiştir. Her ne kadar ifadesi artan gen sayısı, ifadesi azalan gen sayısından fazla olsa da aradaki bu fark anlamlı değildir. Dolayısıyla direnç seviyesi artışıyla birlikte gen ekspresyonunun değişim yönü hakkında genel bir kanıya varılamayacağı ortaya konmuştur.

E. coli W3110-95 suşunda her ne kadar DEG sayısı *E. coli* W3110-10 suşuna kıyasla fazla olsa da dirençli suşların ampisiline verdiği transkriptomik yanıt büyük oranda benzer genlerden oluşmuştur. Atasal suşa kıyasla *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında farklı şekilde ifade edilmiş genlerden 606 tanesinin ortak olduğu belirlenmiştir. Bu genler, *E. coli* W3110-10 suşunda tespit edilenlerin %64’ünü, *E. coli* W3110-95 suşunda tespit edilenlerin ise %54’ünü oluşturmuştur. Yolak analizi sonuçları incelendiğinde her iki suş için de aynı yolakların zenginleştiği gözlenmiştir. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95’da tespit edilen

yolaklardan 139 yolağın ortak olduğu belirlenmiştir. Bu rakam *E. coli* W3110-10 için tespit edilen yolakların %98'ini oluştururken, *E. coli* W3110-95'de tespit edilen yolakların %80'ini oluşturmakta ve yolak analizi yapılabilmış genlerin %93'ünü içermektedir. *E. coli* W3110-95 suşunda yolak analizi yapılabilen genlerin sadece %7'si farklı yolakları zenginleştirmiştir ancak bunların da çoğu istatistiksel olarak anlamlı değildir. Dolayısıyla artan direnç seviyesi ve antibiyotik konsantrasyonu ile birlikte yeni yolakların kullanılmaya başlanmasından ziyade, aynı yolakların daha fazla zenginleştiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar farklı seviyede direnç seviyesine sahip olan suşlarda transkriptomik yanıtın büyük oranda benzer yolaklar üzerinden daha etkili bir biçimde verildiğini göstermektedir.

Yolak analizi sonucunda en çok zenginleşen yolakların “iki bileşikli sistemler” ve “ABC taşıyıcıları” olduğu tespit edilmiştir. Bakteriler ABC taşıyıcılarının dışa atım kanallarını aktive ederek geniş bir antibiyotik yelpazesine direnç sağlamaktadır. Bu taşıyıcılar antibiyotik taşınması ve direncinde hayati bir rol oynamaktadır. ABC taşıyıcılarının çoğu, antibiyotiklerin varlığını tespit etme yeteneğine sahiptir ve iki bileşenli sistemler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Taşıyıcıların hem hücre dışını algılayan bir parçalarının olması hem de iki bileşenli sistemler ile birlikte çalışması, antibiyotiklere karşı hızlı ve spesifik bir yanıtın tetiklenmesini sağlamaktadır (Ahmad vd., 2019; Nawrocki vd., 2014). Yolak analizinde iki bileşenli sistemler ve ABC taşıyıcıları dışında karbonhidrat metabolizması ile ilişkili yolaklar da önemli derecede zenginleşmiştir. Hücrelerde antibiyotik gibi bir stres varlığında hayatta kalma stratejisi olarak bir çok metabolik değişiklik meydana gelmektedir. Bunlardan birisi ampisilin varlığında hücrelerin K vitamini sentezini azaltmasıdır. K vitamini hücrelerin membran geçirgenliğini arttırmaktadır. Dolayısıyla antibiyotiklerin etkisi K vitamini ile birlikte artmaktadır. Bu nedenle ampisilin varlığında hücreler doğal bir savunma mekanizması olarak K vitamini üretimini azaltmaktadır (Nadeem vd., 2020). Benzer bir metabolik değişim, antibiyotik stresi varlığında ampisilin dirençli hücrelerde oksoglutarat konsantrasyonunun artması ile meydana gelmiştir. Oksoglutarat, karbon ve nitrojen metabolizması için ortak düzenleyici metabolittir. Nitrojen miktarında bir azalma olduğu zaman, *E. coli* hücrelerinde oksoglutarat birikir ve fosfotransferaz sisteminin ilk adımı olan enzim I'i inhibe ederek glikoz alımını doğrudan bloke edebilir. Karbon ihtiyacı olduğunda ise nitrojen yokluğundaki duruma zıt bir şekilde, oksoglutarat miktarı azalır ve buna bağlı olarak glikoz alımı artırılır. Böylece glikolitik akışın modülasyonu hızlı bir şekilde yapılmış olur (Doucette vd., 2011; Nadeem vd., 2020; Yan vd., 2011). Yaptığımız çalışmada da *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında karbonhidrat metabolizması ile ilişkili yolakların önemli derecede zenginleştiği

tespit edilmiştir. Dolayısıyla karbonhidrat metabolizmasındaki değişikliklerin antibiyotik direncine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, karbonhidrat metabolizmasının antibiyotik direncini nasıl etkilediğini anlamak, enfeksiyonlarla mücadelede yeni stratejiler geliştirmek için çok önemlidir.

Gen ontoloji zenginleştirme analizi, veri kümesindeki genlerin veya proteinlerin biyolojik işlevleri, hücresel bileşenleri ve biyolojik süreçleri ile ilgili önemli bilgiler sağlamaktadır. Gerçekleştirilen analizler, her iki dirençli suş için benzer GO sınıflarının zenginleştiğini göstermektedir. Biyolojik süreç kategorisi altında en çok zenginleşen gruplar karbonhidrat metabolik süreci, transmembran taşıma ve DNA-temelli transkripsiyon düzenlenmesi, hücre bileşenleri kategorisinde plazma membranı ve sitozol, moleküler fonksiyon kategorisinde ise oksidoredüktaz aktivitesi, hidrolaz aktivitesi, transferaz aktivitesi, DNA bağlanması ve taşıyıcı aktivitesi olmuştur. Her iki suşta da en çok bu sınıfların zenginleştiğinin tespit edilmesi, bu sınıfların antibiyotik direnci ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Yolak analizine benzer bir şekilde, direnç seviyesinin yüksek olduğu *E. coli* W3110-95 suşunda yukarıda belirtilen GO sınıflar daha çok zenginleşmiştir. Her iki analizde de elde edilen sonuçlar, antibiyotiğe karşı verilen yanıtın şiddetinin direnç seviyesi ile birlikte arttığını göstermektedir. Bu durumun, *E. coli* W3110-95 suşunda kullanılan antibiyotik konsantrasyonunun *E. coli* W3110-10'a kıyasla 10 kat fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yüksek antibiyotik konsantrasyonu hücredeki sensörler aracılığıyla gen regülasyonunu değiştirebilmektedir. Ancak, bu sonuçlar daha fazla deneysel doğrulama gerektiren önemli bir bulgudur ve ileri araştırmalarla desteklenmelidir.

E. coli W3110-10 suşunda ifadesi en çok artan genler *gadABCE* olmuştur. Bu dört gen için sırasıyla 82, 114, 130 ve 46 katlık ifade artışı tespit edilmiştir. Aynı genler *E. coli* W3110-95 suşunda sırasıyla 18, 30, 24 ve 17 kat ifade artışı göstermiştir. Her iki suşta da *gad* genlerinin ifadesinin önemli derecede yüksek olması bu genlerin ampisilin direncinde önemli bir role sahip olabileceğini göstermektedir. Bu genler *E. coli*'deki en etkili asit direnç mekanizması olan glutamat dekarboksilaz (GAD) sisteminin parçalarıdır (Castanié -Cornet vd., 2010; Vanaja vd., 2009). Antibiyotik ve asit direnç mekanizmaları birbirinden farklı olsa da bazı kesişim noktaları bulunmaktadır. *evgA*, *ydeO*, *gadE* genlerinin dahil olduğu bir dizi sinyal kaskadı galyum nitrat dahil olmak üzere diğer ilaçlara karşı antimikrobiyal toleransı da kolaylaştırmıştır (Zeng vd., 2021). Galyum nitrat, kanserojen hiperkalsemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan FDA onaylı bir ilaçtır ve klinik olarak önemli birkaç çoklu ilaca dirençli bakteriye karşı etkili olduğu bilinmektedir. *evgS* ve *evgA* mutantlarının, galyum nitrat toleransı sağlamada başarısızdır.

Fosforile edilmiş EvgA, *safA*, *ydeO* ve *gadE*'nin ifadesini arttırmaktadır. *gadE*'nin mutant olduğu durumlarda da galyum nitrat toleransı azalmaktadır. Bu nedenle GadE, EvgS aracılı galyum nitrat toleransının anahtar düzenleyicisi olarak görev yapar ve aynı zamanda glutamat bağımlı asit direnç sisteminin merkezi düzenleyicisidir (Zeng vd., 2021). Antibiyotik ve asit direncinin bir başka kesişim noktası ise AcrAB-TolC düzenlenmesidir. AcrAB-TolC, bir dış zar kanalı (TolC), bir iç zar kanalı (AcrB) ve bir periplazmik proteinden (AcrA) oluşan akış pompasıdır. Anaerobik koşullar altında, AcrA, asit kaynaklı taşıma genlerinin (*gadE*-*mdtEF* operonu) ifadesini 20 kattan fazla arttırmıştır. Bu durum hem antibiyotik hem de asit direncinin aynı anda artmasına neden olmuştur (Sheikh vd., 2021; Zhang vd., 2011). *gad* genlerinin antibiyotik direnci ile ilişkisini inceleyen başka bir çalışmada ise amoksisilin, enrofloksasin ve tetrasiklin kullanılmıştır. Bu üç antibiyotiğe adapte edilen bakterilerin tamamında *gadA*, *gadB* ve *gadC* genlerinin ifadesi anlamlı bir şekilde değişmiştir (Händel vd., 2014). Bu veriler ve elde ettiğimiz bulgular antibiyotik direnci ve GAD sisteminin henüz net olarak bilinmeyen bir mekanizma ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, *gad* genlerinin işlevini ve düzenlenmesini anlamak, antibiyotik direnciyle mücadele etmek için yeni stratejiler geliştirmeye yardımcı olacaktır.

E. coli W3110-10 suşunda ifadesi en çok azalan 10 genin dört tanesinin *tdc* operonuna ait olduğu belirlenmiştir. Bu dört genin ifadesi 32 kat ile 61 kat arasında azalırken aynı operona ait diğer genlerin de ifadesi önemli derecede azalmıştır. Benzer şekilde *E. coli* W3110-95'de de ifadesi en çok azalan 11 genin 4 tanesi bu operona aittir. Bu sonuçlar, *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında *tdc* operonuna ait genlerin antibiyotik yanıtında bir rolü olduğunu göstermektedir. *E. coli*'de, *tdcABCDEFGHIJ* operonu, L-treonin ve L-serin'in taşınması ve metabolizmasında rol oynamaktadır (Lim vd., 2010). *tdc* operonu ve antibiyotik ilişkisini gösteren çalışma sayısı sınırlıdır. Bu çalışmalardan birinde, antibiyotiklere yanıt olarak ortaya çıkan gen ifade profilleri tespit edilmek istenmiştir. Sonuç olarak, düşük norfloksasin konsantrasyonlarında (MIC/2, MIC ve 2xMIC) *tdcB* ve *tdcC* genlerinin ifadesinin arttığı, yüksek norfloksasin konsantrasyonlarında (33xMIC ve 133xMIC) ise bu genlerin ifadesinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Shaw vd., 2003). Rifampisin ile yapılan başka bir çalışmada, yüksek konsantrasyonda rifampisin antibiyotiği uygulanan hücrelerde *tdc* operonunun ifadesinin arttığı tespit edilmiştir (Selinger vd., 2003). Bu çalışmalar, *tdc* operonunun gen ifadesinin antibiyotik konsantrasyonuna bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir. Bu durum, antibiyotiklere karşı hücrel yanıtın karmaşıklığını ve hassaslığını yansıtan önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Bu tez çalışmasında gen ifadesinin belirlenmesi için MIC değerinin

altında antibiyotik konsantrasyonu kullanılmıştır. Bu konsantrasyona verilen yanıt norfloksasin ve rifampisin ile yapılan çalışmalara zıt bir şekilde gen ifadesinin azalması şeklinde olmuştur. Hem *E. coli* W3110-10'da hem de *E. coli* W3110-95 suşunda bu genlerin ifadesinin benzer yönde şiddetli bir şekilde değişmesi bu genlerin antibiyotik direncine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu operonun antibiyotik direncine ve hücrel yanıt mekanizmalarına katkılarını daha derinlemesine anlamak, yeni tedavi stratejileri geliştirmek ve antibiyotik direncini daha iyi anlamak için önemli bir adım olabilir.

E. coli W3110-95 suşunun transkriptom verileri incelendiğinde ifadesi en çok artan 5 genden 3 tanesinin *yjbEFGH* operonuna ait olduğu görülmüştür. Bu genlerin ifadesi bu suşta sırasıyla 79, 108, 246 ve 7 kat artmıştır. Aynı genlerin ifadesi *E. coli* W3110-10 suşunda incelendiğinde *yjbG* ve *yjbF*'nin farklı şekilde ifade edilmediği *yjbE* ve *yjbH*'in ifadelerinin ise sırasıyla 5 ve 2 kat arttığı tespit edilmiştir. *yjbEFGH* operonu, ekzopolisakkarit (EPS) üretiminde görevli olan genleri içermektedir. Antimikrobiyal maddelere yanıt sırasında ekzopolisakkarit üretiminin arttığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bir bakteriyosin olan kolisin M ile gerçekleştirilen çalışmada *E. coli* hücreleri, MİK değerinin altında kolisin M'ye maruz bırakılmış ve meydana gelen transkripsiyonel yanıt incelenmiştir. Kolisin M peptidoglikan hasarına neden olmaktadır. Dolayısıyla *E. coli* hücreleri peptidoglikan hasarının neden olduğu zarf stresine karşı adaptif bir yanıt oluşturmuştur. Bu yanıt içerisinde *yjbEFGH*'nin yanı sıra kapsül sentez sistemine ait olan *wca*, *osmB*, *ymgG*, *ymgD*, *ivy*, *yfbR*, *ugd*, *yfdC*, *yjbJ*, *galU*, *yaaX*, *yggG*, *yegS*, *spy*, *rprA*, *bdm* ve *yaiY* genlerinin ifadesi de önemli derecede değişmiştir (Kamenšek ve Žgur-Bertok, 2013). B-laktam antibiyotikler de peptidoglikan hasarına neden olmaktadır. β -laktam antibiyotiklerle yapılan başka bir çalışma, farklı β -laktam antibiyotiklerin ortak bir şekilde kapsül sentez sistemini aktive ettiğini göstermiştir (Laubacher ve Ades, 2008). *E. coli* W3110-95 ve *E. coli* W3110-10 suşlarının transkriptom sonuçları da bu çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzer bir profil göstermiştir. *E. coli* W3110-10 suşunda *yjbEH*, *osmB*, *ymgDG*, *ivy*, *yfdC*, *yjbJ*, *yegS*, *spy*, *bdm*, *ugd* ve *yaiY* genlerinin ifadesi anlamlı bir şekilde değişirken *E. coli* W3110-95'de ise bunlara ek olarak *yjbFG*, *wca* ve *yaaX* genlerinin de ifadesi önemli derecede değişmiştir. Bu sonuçlar, dirençli suşların ampisilin direnç seviyesinden bağımsız olarak kapsül hasarına yanıt verdiğini göstermektedir.

E. coli W3110-95 suşunda ifadesi en çok azalan 10 genden 3 tanesi *srlABE* olmuştur. *E. coli* W3110-95'de bu genlerin ifadesi sırasıyla 59, 121 ve 22 kat, *E. coli* W3110-10'da ise sırasıyla 5, 4, 4 kat azalmıştır. *E. coli*'nin *srl* lokusu, D-glusitol'ü (sorbitol) metabolize etmek

için gerekli olan genlerden oluşmaktadır (Ng vd. 2018). Bu lokustaki *srLABE* genleri ise sorbitol taşınmasında görevlidir. Bu genlerin ifadesinin azalması ile birlikte sorbitol alımı durdurularak bu metabolik yolun çalışması engellenmektedir. Zuroff ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, bazı heksozların, özellikle sorbitolün, *E. coli* hücrelerinin antibiyotiklere olan hassasiyeti artırabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada, glikoza alternatif olarak indirgenmiş sorbitolün kullanılmasıyla *E. coli* hücrelerinin ampisiline karşı daha duyarlı hale geldiği tespit edilmiştir (Zuroff vd., 2010). Dolayısıyla ampisilin dirençli suşlarda sorbitol alımı ile ilişkili genlerin ifadesinin azalması bir savunma mekanizması olabilir. *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarının karşılaştırılması, yüksek dirençli suşun, *srLABE* genlerinin ifadesinin daha belirgin bir şekilde azaldığını göstermiştir. Bu durum sorbitol metabolizmasının ampisilin direnci ve direnç seviyesi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, antibiyotik direncinin altında yatan genetik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına ve potansiyel olarak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Genom ve transkriptom verileri, ampisilin direnci ve bu direncin altında yatan mekanizmanın anlaşılmasına dair önemli ipuçları sunmuştur. Ancak, bu verilerin karşılaştırmalı bir analizi, ampisilin direnç mekanizmasının daha kapsamlı bir şekilde analiz edilmesine olanak sağlamıştır. Kodlama bölgesi içerisinde mutasyon tespit edilen *ftsI*, *marR*, *gutQ*, *rpoC*, *frdD*, *amiB* genlerden hiç biri düzenleyici gen değildir. Dolayısıyla bu genlerin içerdiği mutasyonlar sadece kendi işlevlerini etkilerken kendi dışında bir genin ifadesinde değişime neden olmamaktadır. *murR*, *dcuA*, *marA* ve *ampC* genleri ise başlangıç kodonun öncesinde mutasyon içermektedir. Bu 4 mutasyondan *murE*, *dcuA* ve *marA* genlerinde bulunanlar *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında ortakken *ampC* genindeki mutasyon sadece *E. coli* W3110-95 suşunda bulunmaktadır. MurE'nin peptidoglikan monomerlerinin sentezinde yer alan temel bir bakteriyel enzim olduğu bilinmektedir (Bratkovič vd., 2008). Dolayısıyla MurE bir çok β -laktam antibiyotiğin hedefindedir. Ancak antibiyotik dirençli *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarına ait RNA-dizileme verileri promotor bölgesinde mutasyon içeren *murE* geninin ifadesinde farklılık olmadığını göstermiştir. Dolayısıyla bu mutasyonun, genin ifade seviyesini etkilemediği ortaya konmuştur. *dcuA* geni başlangıç kodonunun önünde bulunan ve -6 ve -7 olarak adlandırılan pozisyonda iki bazlık bir delesyon içermektedir. Bu genin ifadesi *E. coli* W3110-10 suşunda 2,29 kat azalırken *E. coli* W3110-95 suşunda değişmemiştir. Bu mutasyonun her iki suшта bulunmasına rağmen gen ifadesinde farklılıklar olması mutasyon ile gen ifadesi arasında bir ilişki bulunmadığını göstermektedir. *dcuA* promotor bölgesi mutasyona uğrayan bölgenin çok daha öncesinde

bulunmaktadır (Golby vd., 1998). Dolayısıyla elde ettiğimiz bulgulara uygun bir şekilde bu mutasyonun gen ifadesini etkilemesi beklenmemiştir. Ancak farklı genlerde başlangıç kodonuna yakın mutasyonların translasyon verimliliğini düşürdüğüne dair çalışmalar mevcuttur (Hui vd., 1984). Bu nedenle *dcuA* mutasyonunun translasyon üzerine etkisi ile antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin daha derinlemesine araştırılması antibiyotik direnç mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Bakterilerin antibiyotiklere ve diğer çevresel faktörlere karşı stres tepkisinde rol oynayan MarA, transkripsiyonel bir düzenleyicidir (Martin vd., 1996; Reyes-Fernández ve Schuldiner, 2020). Düşük direnç seviyesi ile ilişkili olan MarA'nın, AcrAB-TolC pompasının ifadesini arttırarak ve OmpF porininin ifadesini azaltarak dirence aracılık ettiği bildirilmiştir (Randall ve Woodward, 2002). *marA* geninin ifadesi, *E. coli* W3110-10 suşunda 20,59 kat artarken *E. coli* W3110-95 suşunda 16,90 kat artmıştır. Her iki suşta da mutasyonu içermeyen *E. coli* W3110'a göre ifade artışının olması meydana gelen mutasyonun *marA* ekspresyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. MarA'nın antibiyotik direncinde ekspresyonunu düzenlediği *acrAB*, *tolC* ve *ompF* genlerinin ifadesi incelendiğinde *acrAB* ve *tolC*'nin ifadesinde anlamlı bir değişim olmadığı *ompF* ifadesinde ise *E. coli* W3110-10 suşunda 16,6 kat, *E. coli* W3110-95 suşunda 15,4 kat azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ampisilin dirençli suşlarda MarA'nın OmpF aracılığıyla düşük seviyede direnç kazanımına katkıda bulunduğunu doğrulamıştır. MarA tarafından sağlanan antibiyotik direnç seviyesi düşük olsa da, bu durum daha yüksek direnç seviyelerine ulaşmak için bir basamak olabilir. Elde edilen bulgular, antibiyotik direncinin moleküler mekanizmalarını daha iyi anlama ve yeni tedavi stratejileri geliştirme çabalarına ışık tutmaktadır. MarA gibi düzenleyici faktörlerin hedeflenmesi, antibiyotik direncinin önlenmesi veya tersine çevrilmesi için potansiyel bir yaklaşım olabilir. Bu nedenle, gelecekteki araştırmaların, MarA gibi düzenleyici faktörlerin daha derinlemesine anlaşılmasına odaklanması önemlidir. Bu şekilde, antibiyotiklere karşı direncin daha iyi yönetilmesine ve etkili antibiyotik tedavilerinin sürdürülebilirliğine katkı sağlanabilir.

Başlangıç kodonunun öncesinde mutasyon içeren son gen *ampC* genidir. Bu gen bir çok β -laktam antibiyotiğe direnç sağlayan bir β -laktamaz enzimi kodlamaktadır (Hanson, 2003). RNA dizileme verilerine göre *ampC* geninin ifadesi daha düşük direnç seviyesine sahip olan *E. coli* W3110-10 suşunda anlamlı bir şekilde değişmezken yüksek direnç seviyesine sahip *E. coli* W3110-95 suşunda, atasal suşa ve *E. coli* W3110-10'a kıyasla sırasıyla 52,98 ve 45,59 kat artmıştır. qPCR verileri incelendiğinde ise final suşunda ifade miktarlarının sırasıyla 89,88

ve 74,9 kat arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *E. coli* W3110-95 suşunda meydana gelen *ampC* promotor mutasyonunun gen ifadesini önemli derecede arttırdığını ve antibiyotik direncine büyük bir katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgularla uyumlu bir şekilde literatürde bir çok farklı *ampC* promotor mutasyonunun gen ifadesini arttırarak ampisilin direncine neden olduğu gösterilmiştir (Caroff vd., 1999; Jacoby, 2009; Tracz vd., 2007). Ancak literatürde tek bazlık bir mutasyon sonucunda gen ifadesinin bu derece arttığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. *E. coli* W3110-95 suşunun *ampC* promotor bölgesinde -16_-15insG mutasyonu bulunmaktadır. Tespit ettiğimiz mutasyonun promotor aktivitesi ve antibiyotik direnci üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada antibiyotik direncinin ve promotor aktivitesinin yaklaşık 15 kat arttığı tespit edilmiştir (Jaurin vd., 1982). Bu promotor aktivitesi ve direnç seviyesi aynı mutasyonu içeren *E. coli* W3110-95 suşunda tespit ettiğimiz seviyelere kıyasla oldukça düşüktür. Direnç seviyesi ve promotor aktivitesindeki bu farklılıkların, *E. coli* W3110-95'in *ampC* promotor mutasyonu yanında farklı mutasyonları da içermesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Meydana gelen *ampC* promotor mutasyonun bireysel ve kümülatif etkisini test etmek için *ampC* promotor mutasyonuna sahip bir gen içeren plazmit bu mutasyonu taşımayan *E. coli* W3110 ve *E. coli* W3110-10 suşuna transforme edilmiştir. *E. coli* W3110 suşuna *ampC* promotor mutasyonuna sahip geni içeren plazmitin aktarılmasıyla beraber ampisilin direnç seviyesi yaklaşık 125 kat, ekspresyon seviyesi ise 221 kat artmıştır. Aynı plazmit 5 pozisyonda mutasyon içeren *E. coli* W3110-10'a aktarıldığında ise direnç seviyesi yaklaşık 250 kat, ekspresyon seviyesi ise 205 kat artmıştır. Her iki suşta da direnç seviyesinin artması *ampC* promotor mutasyonunun ampisilin direnç seviyesini arttırdığını net bir şekilde ortaya koymuştur. Ancak her iki suşun ampisilin direnç seviyesinin bu mutasyonu kendi kromozomunda içeren *E. coli* W3110-95 suşuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Gen ifade seviyeleri incelendiğinde *E. coli* W3110-*ampC* ve *E. coli* W3110-10-*ampC* suşlarındaki ekspresyonun *E. coli* W3110-95 suşuna göre fazla olması direnç seviyesinin yüksek olmasını açıklamaktadır. Transformasyon sırasında hücreye eş zamanlı olarak birden fazla plazmitin girmesi sıklıkla görülmektedir (Goldsmith vd., 2007; Tomoiaga vd, 2022). Dolayısıyla *E. coli* W3110-*ampC* ve *E. coli* W3110-10-*ampC* suşları *ampC* geninin birden fazla kopyasını taşımaktadır. Böylece benzer şartlar altında *E. coli* W3110-95 suşuna kıyasla daha fazla *ampC* ekspresyonu gerçekleştirmişlerdir.

E. coli W3110-*ampC* suşunda *ampC* ekspresyon seviyesinin *E. coli* W3110-10-*ampC* suşundan daha yüksek olmasına rağmen direnç seviyesinin çok daha düşük olduğu görülmüştür.

E. coli W3110-10-*ampC* suşu *E. coli* W3110-*ampC* suşuna kıyasla fazladan 5 mutasyon içermektedir. Bu mutasyonlar *E. coli* W3110-10 suşunda 25 µg/ml direnç sağlarken, plazmit içeren suşlarda direnç seviyesinin 375 µg/µl'den 750 µg/µl'ye çıkmasına neden olmuştur. Elde edilen bulgular 10 kat direnç sağlayan 5 mutasyon ile 125 kat direnç sağlayan *ampC* mutasyonu bir araya geldiğinde beklenenden çok daha yüksek bir direnç seviyesi ortaya çıktığını göstermiştir. Bu durum düşük seviyede direnç sağlayan mutasyonlarla *ampC* promotor mutasyonunun sinerjistik etkisinden kaynaklanmaktadır. Sinerjistik etki ile birden fazla mutasyon bireysel etkilerinden çok daha büyük bir etki göstermektedir (Friedman vd., 1984). Bu çalışmada *ampC* promotor mutasyonu ile birlikte sinerjistik etki gösteren mutasyonlar ilk defa tanımlanmış ve ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular, antibiyotik direncinin karmaşıklığını ve çoklu mutasyonların etkilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, tek bir mutasyonun ötesine geçebilir ve birden fazla genetik değişikliğin bir araya gelmesiyle direncin şiddeti beklenenden çok daha yükseğe çıkabilir. Bu nedenle yeni çalışmalar, bu sinerjistik etkiler daha ayrıntılı bir şekilde incelenmeli ve antibiyotik direncinin altında yatan mekanizmaları anlamamıza katkıda bulunmalıdır.

Yüksek seviyede dirençle ilişkili ana gen olan *ampC* geninin ifadesinin *E. coli* W3110-95 suşunda en çok artan genler içerisinde 11. sırada olduğu tespit edilmiştir. Düşük seviyede dirençle ilişkilendirilmiş olan *marA* geninin ifadesi ise *E. coli* W3110-10'da 14. sırada iken *E. coli* W3110-95 suşunda 49. sırada yer almıştır. Direnç kazanımına katkıda bulunan bir diğer gen *ftsI*'nin ifadesi ise her iki suşta da değişmemiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi ifadesi en çok artan ya da azalan genlerin büyük oranda aynı operonlara ait genlerden oluştuğu gözlenmiştir. Bu bulgular, transkriptom verilerinde ifadesi en çok artan ve azalan genlere odaklanmanın, antibiyotik direnç mekanizmalarını tam olarak anlamak için yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır. Antibiyotik direnci, birçok genin karmaşık etkileşimleri sonucu ortaya çıkan bir fenomendir ve bu nedenle gen ifadesi düzeyleri tek başına yeterli bir gösterge olmayabilir. Bu çalışma, direnç mekanizmalarını daha iyi anlamak için gen ifadesi yanı sıra genetik mutasyonların, da göz önünde bulundurulması gerektiğini vurgulamaktadır.

Bir antimikrobiyale karşı kazanılan direnç sıklıkla beraberinde diğer antimikrobiyallere karşı duyarlılıkta bir değişim meydana getirmektedir (Lázár vd., 2013). Laboratuvar ortamında ampisiline adapte ettiğimiz *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarının ampisilin direnç kazanımı ile birlikte çok sayıda antibiyotiğe karşı duyarlılığının azaldığı ortaya konmuştur. Duyarlılıktaki en önemli artış kloramfenikol antibiyotiğinde olmuştur. Bu antibiyotiğe direnç seviyesinin *E. coli* W3110-10 ve *E. coli* W3110-95 suşlarında benzer seviyede olduğu

gözlenmiştir. Dolayısıyla sadece *E. coli* W3110-95 suşunda bulunan mutasyonların bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur. Her ne kadar bu iki antibiyotik farklı etki mekanizmalarına sahip olsalar da ampisilin ve kloramfenikol direncinin aynı anda ortaya çıktığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Randall ve Woodward, 2002; Zhao vd., 2021) . Kloramfenikol antibiyotiğine ek olarak, ampisilin ile birlikte tetrasiklin ve nalidiksik asit çapraz direnci de sıklıkla gözlenmektedir (Bore vd., 2007; Kohanski vd., 2010; Xing vd., 2020). Bu bulgularla tutarlı bir şekilde çok sayıda antibiyotiğe karşı düşük de olsa direnç seviyesinin artması potansiyel olarak stres yanıtının bir sonucu olarak değerlendirilmiştir. *E. coli* W3110-10 suşunda meydana gelen mutasyonlardan birinin bulunduğu *marA* geni çoklu antibiyotik direnci ile ilişkilendirilmektedir. Literatürdeki çalışmalarda bu genin ifadesindeki artışın kloramfenikol, tetrasiklin, norfloksasin, imipenem, nalidiksik asit ve çok sayıda antibiyotiğe direnç kazandırdığı gösterilmiştir (Chollet vd., 2002; Seoane vd., 1995). Dolayısıyla farklı etki mekanizmalarına sahip olan bu antibiyotiklere karşı kazanılan direncin büyük oranda *marA* aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmüştür. Tedavi süreçlerinde çapraz direnç ilişkilerini göz önünde bulundurmak daha etkili tedavilerin gerçekleştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Antibiyotikler ve ağır metaller, bakteri hücrelerinin stres yanıtı mekanizmaları üzerinde benzer etkilere sahiptir. Bu nedenle bir stres faktörüne karşı direnç kazanmanın, diğer stres faktörlerine karşı duyarlılığı artırabileceği veya azaltabileceği bilinmektedir (Baker-Austin vd., 2006). Çalışmada ampisiline adapte edilen suşların gümüş, kobalt, bakır, mangan, nikel ve çinko metallerine karşı duyarlılık seviyesindeki değişim incelenmiş ve gümüş ve mangan dışındaki metallerde bir değişim gözlenmemiştir. Hem *E. coli* W3110-10 suşunda hem de *E. coli* W3110-95 suşunda gümüş duyarlılığı artmıştır. *E. coli* suşlarında gümüş direnci genellikle bakır dışı atım sistemleri, biyofilm ya da gümüş direnç genlerini taşıyan plazmitler aracılığıyla olmaktadır (Terzioğlu vd., 2022). Dolayısıyla direnç seviyesinin azalması için bu direnç mekanizmalarının etkisini kaybetmesi gerekmektedir. Çalışmalarda kullandığımız *E. coli* W3110 suşunun plazmit taşımaması ve biyofilm özelliklerinde bir değişim olmaması bu yolla direnç kazanmadığını göstermektedir. Yapılan diğer metal testlerinde bakır duyarlılığında bir değişim görülmemesi meydana gelen duyarlılığın bakır dışı atım mekanizmalarıyla da bir ilişkisi olmadığını göstermiştir. Ampisilin direnç gelişimi ile birlikte gümüş duyarlılığının arttığını gösteren bulgular, iki antimikrobiyal ile ilişkili ortak süreçlerin olduğunu göstermektedir. Ancak bu etkileşim, ampisilinin gümüş duyarlılığına doğrudan neden olduğu anlamına gelmez, aksine bakterinin stres yanıt mekanizmalarının karmaşıklığını yansıtmaktadır. Ampisilin dirençli suşlarda gümüş duyarlılığının artması, ampisilin dirençli

suşlarla savaşmak için gümüşün önemli bir ajan olabileceğini göstermektedir. Antibiyotik dirençli suşların duyarlılığının değiştiği diğer ağır metal ise mangandır. Bu metale karşı direnç net bir şekilde meydana gelmese de disk etrafındaki zonda bozulmalar meydana gelmiştir. Elde ettiğimiz bulgularla uyumlu bir şekilde, endüstriyel atık sudan izole edilmiş bir *S. aureus* suşunun ampisilin, tetrasiklin ve mangana dirençli iken bakıra dirençli olmadığı tespit edilmiştir (Zhang vd., 2016). Bu sonuçlar ampisilin ve metal direnci arasında bir ilişkinin olduğunu gösterse de bu ilişkinin mekanizması henüz net bir şekilde aydınlatılamamıştır.

6. SONUÇ

Antibiyotik direnci küresel sağlık çözümleri gerektiren bir problem haline gelmiştir. Bakteriler neredeyse mevcut tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir ve direncin ortaya çıkmasını engelleyen farklı stratejiler uygulanmadıkça bakterilerin yeni ilaçlara bu şekilde silahlanması kaçınılmaz bir gerçektir. Direnç gelişimini önlemek için tarım ve hayvancılıkta antibiyotik kullanımının yasaklanması hayvan sağlığı, refahı ve artan gıda ihtiyacı talepleriyle birbirine uymamaktadır. Ayrıca antibiyotik kullanımının sınırlanması politikası yeterli değildir. Metal, pestisit ve dezenfektan gibi çevreyi kirleten kimyasal maddelerin de kontrol altına alınması gereklidir. Bu kimyasal maddelerin kontrolsüz bir şekilde doğaya salınmasıyla birlikte hem yatay gen transferi ile antibiyotik direncinin transferi artmakta hem de spontan mutasyonlar ile antibiyotik dirençli bakteriler ortaya çıkabilmektedir.

Direnç mekanizmalarının anlaşılması ve direnç oluşumunun engellenmesi uzun yıllardır çalışılan konulardan birisidir. Yeni antibiyotik keşfinin sınırlı olduğu düşünüldüğünde mevcut antibiyotiklerin ömrünü uzatmak amacıyla bu alanda daha fazla çalışılması gerektiği görülmektedir. Farklı yöntemler ve bakış açıları antibiyotik bağımlı direnç gelişiminin incelenmesinde kullanılmaktadır. Yatay gen transferinin laboratuvar ortamında izlenmesinin zor olması nedeniyle direncin ortaya çıkışı ve mekanizmalarının aydınlatılmasında adaptif direnç deneyleri sıklıkla kullanılmaktadır. Dizileme teknolojilerinin gelişmesi ile birlikte antibiyotiklere karşı direnç kazanan bakterilerdeki genomik ve transkriptomik değişimler hızlı ve kolay bir şekilde tespit edilebilir hale gelmiştir. Böylece direnç gelişiminden sorumlu olan genler yada pozisyonlar tespit edilerek direnç gelişiminin engellenmesi için hedeflenmektedir. Ayrıca, antibiyotik direnç kazanım süreci ve mekanizması, antibiyotiklere ve bakterilere göre değişkenlik göstermektedir. Bu nedenle farklı antibiyotikler ve bakterilerde direnç gelişiminin ortaya konması, varsa ortak mekanizmaların belirlenmesi gereklidir. Gelişen teknoloji ile birlikte, farklı organizmalara ve antibiyotiklere yönelik elde edilen verilerin artması sonucunda anahtar moleküller belirlenerek direnç kazanımının engellenmesinde kullanılabilir.

Bu tez çalışmasında, *E. coli* W3110 suşu ampisilin antibiyotiğine adapte edilerek direnç kazandırılmıştır. Adaptasyon süreci sonucunda farklı direnç seviyelerine sahip 3 suş (dirençsiz, 10 kat dirençli ve 95 kat dirençli) belirlenmiş ve bu suşlar genomik ve transkriptomik yöntemler kullanılarak karşılaştırılmıştır. İncelediğimiz farklı direnç seviyesine ait suşlarda genomik açıdan önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. 10 kat ve 95 kat dirençli suşlarda tespit edilen mutasyonlardan *ftsI*, *marAR*, *rpoC* mutasyonlarının düşük direnç seviyesi (10 kat) üzerinde kombinasyonel bir etkisinin olduğu düşünülmüştür. *E. coli* W3110-95 numaralı

pasajda bulunan farklı iki mutasyon ile birlikte direnç seviyesi 95 kata ulaşmıştır. Bu iki mutasyondan direnç üzerinde etkili olduğu düşünülen değişim *ampC* promotorunda meydana gelmiş ve gen ifadesini yaklaşık olarak 50-90 kat arttırmıştır.

Rekombinant plazmit kullanılarak, *ampC* promotorunda meydana gelen -16_-15insG mutasyonunun direnç üzerindeki rolü tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu mutasyonun bireysel olarak ampisilin direnç seviyesini önemli derecede arttırdığını göstermiştir. Buna ek olarak bu mutasyon ile birlikte *ftsI*, *marAR*, *gutQ*, *rpoC* ve *dcuA* mutasyonlarını içeren bir suşta ise direnç seviyesinin sadece -16_-15insG mutasyonunu içeren suşlara kıyasla 2 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, direnç kazandıran mutasyonlarının bir araya gelerek sinerjistik bir etki ile bireysel etkilerinden çok daha şiddetli bir etki ortaya koyabileceklerini göstermiştir. Bu çalışmada *ampC* promotor mutasyonu ile birlikte sinerjistik etki gösteren mutasyonlar ilk defa tanımlanmış ve ortaya konmuştur

Farklı direnç seviyesine sahip suşlarda transkriptom verileri arasındaki fark, genomik veriler kadar net değildir. Hem 10 kat dirençli suşta hem de 95 kat dirençli suşta benzer transkriptomik yanıtlar indüklenmiştir. 95 kat dirençli olan suşlarda 10 kat dirençli olan suşlara kıyasla aynı yolağa ait DEG sayısının arttığı tespit edilmiştir. Bu da direnç seviyesinin artışı ile birlikte daha güçlü bir transkriptomik yanıt verildiğini göstermektedir. Bunların yanı sıra antibiyotik dirençli suşlarda ampisilin varlığında karbon metabolizması ile ilişkili yollardaki gen ifadelerinin anlamlı bir şekilde değiştiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla karbon metabolizmasındaki değişikliklerin antibiyotik direncine katkıda bulunduğu düşünülmüştür.

Mutasyonların ortaya çıkması doğada her zaman ve her daim olacaktır. Bunun engellenmesi mümkün değildir. Zengin besiyerinde bir kimyasal mevcut değilken bile mutasyonlar meydana gelmektedir. Dezenfektanlar, metaller yada antibiyotikler mutasyon oranını arttırmakla birlikte dirençli bakterilerin seçiminde birer araçtır. Hayat devam ettiği sürece genomik değişimler de devam edecektir. Bakteriler zaman içerisinde onlara karşı kullanılmak üzere geliştirilen her silaha karşı savunma özellikleri kazanacaktır. Ancak bu süreci yavaşlatmak ve mümkün olduğu kadar zaman kazanmak insanoğlunun elindedir. Bu amaçla yapılan çalışmalar ile elimizdeki silahları daha uzun süre kullanabilir ya da daha uzun süre kullanabileceğimiz silahlar geliştirebiliriz.

KAYNAKÇA

- Abat, C. vd.** (2018). Extremely and Pandrug-Resistant Bacteria Extra-Deaths: Myth or Reality? *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 37(9), 1687–1697.
- Abraham, E. P. & Chain, E.** (1940). An Enzyme From Bacteria Able to Destroy Penicillin. *Nature* 146, 837–837.
- Adedeji, W. A.** (2016). The Treasure Called Antibiotics. *Ann Ib Postgrad Med* 14(2), 56-57.
- Adler, M. vd.** (2013). Influence of Acquired B-Lactamases on The Evolution of Spontaneous Carbapenem Resistance in *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 68(1), 51–59.
- Ahmad, A. Majaz, S., & Nouroz, F.** (2019). Two-Component Systems Regulate ABC Transporters in Antimicrobial Peptide Production, immunity and Resistance. *Microbiology* 166(1), 4–20.
- Alav, I. vd.** (2021). Structure, Assembly, and Function of Tripartite Efflux and Type 1 Secretion Systems in Gram-Negative Bacteria. *Chem Rev* 121(9), 5479–5596.
- Alfsnes, K. vd.** (2018). A Genomic View of Experimental Intraspecies and Interspecies Transformation of A Rifampicin-Resistance Allele Into *Neisseria meningitidis*. *Microb Genom* 4(11), e000222.
- Aminov, R.** (2017). History of Antimicrobial Drug Fiscovery: Major Classes and Health Impact. *Biochem Pharmacol* 133, 4–19.
- Aminov, R. I.** (2010). A Brief History of The Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges For The Future. *Front Microbiol* 1, 134.
- Anders, S., Pyl, P. T., & Huber, W.** (2015). HTSeq—a Python Framework to Work With High-Throughput Sequencing Data. *Bioinformatics* 31(2), 166–169.
- Anderson, M. vd.** (2019). Health Systems and Policy Analysis - Averting the AMR Crisis : What are the Avenues for Policy. *Eur Obs Heal Syst Policies*, 1–38.
- Ansorge, W. J.** (2009). Next-Generation DNA Sequencing Techniques. *N Biotechnol* 25(4), 195–203.
- Appelbaum, P. C.** (2006). The Emergence Of Vancomycin-Intermediate And Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection* 12(S1), 16–23.

- Ashburner, M., vd.** (2000). Gene Ontology: Tool for the Unification of Biology. *Nat Genet* 25(1), 25-29.
- Baker-Austin, C. vd.** (2006). Co-Selection of Antibiotic and Metal Resistance. *Trends Microbiol* 14(4), 176–182.
- Baquero, F., & Levin, B. R.** (2020). Proximate and Ultimate Causes of the Bactericidal Action of Antibiotics. *Nat Rev Microbiol* 19(2), 123–132.
- Barber, M.** (1961). Methicillin-Resistant Staphylococci. *J Clin Pathol* 14(4), 385–393.
- Barlam, T. F. vd.** (2016). Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clinical Infectious Diseases* 62(10), 51–77.
- Baym, M. vd.** (2016). Spatiotemporal Microbial Evolution on Antibiotic Landscapes. *Science (1979)* 353(6304), 1147–1151.
- Benveniste, R., & Davies, J.** (1973). Aminoglycoside Antibiotic-Inactivating Enzymes in *Actinomycetes* Similar to Those Present in Clinical Isolates of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 70(8), 2276–2280.
- Bermingham, A., & Derrick, J. P.** (2002). The Folic Acid Biosynthesis Pathway in Bacteria: Evaluation Of Potential For Antibacterial Drug Discovery. *BioEssays* 24(7), 637–648.
- Bhujbalrao, R., & Anand, R.** (2019). Deciphering Determinants in Ribosomal Methyltransferases That Confer Antimicrobial Resistance. *J Am Chem Soc* 141(4), 1425–1429.
- Bhullar, K. vd.** (2012). Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. *PLoS One* 7(4), 1–11.
- Bikandi, J. vd.** (2004). In Silico Analysis of Complete Bacterial Genomes: PCR, AFLP-PCR and Endonuclease Restriction. *Bioinformatics* 20(5), 798–799.
- Blair, J. M. vd.** (2015). Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Nat Rev Microbiol* 13(1), 42–51.
- Bordeleau, E. vd.** (2021). ApmA is a Unique Aminoglycoside Antibiotic Acetyltransferase That Inactivates Apramycin. *mBio* 12(1), 1–11.
- Bore, E. vd.** (2007). Adapted Tolerance to Benzalkonium Chloride in *Escherichia coli* K-12 Studied by Transcriptome and Proteome Analyses. *Microbiology (NY)* 153(4), 935–946.

- Bratkovič, T. vd.** (2008). Peptide Inhibitors of MurD and MurE, Essential Enzymes of Bacterial Cell Wall Biosynthesis. *J Basic Microbiol* 48(3), 202–206.
- Bratzler, D. W. vd.** (2013). Clinical Practice Guidelines for Antimicrobial Prophylaxis in Surgery. *American Journal of Health-System Pharmacy* 70(3), 195–283.
- Brochmann, P. R. vd.** (2018). Transcriptome Analysis of Extended-Spectrum β -lactamase-Producing *Escherichia coli* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Exposed to Cefotaxime. *Sci Rep* 8, 1–11.
- Browne, A. J. vd.** (2021). Global Antibiotic Consumption and Usage in Humans, 2000–18: a Spatial Modelling Study. *Lancet Planet Health* 5(12), e893–e904.
- Bruckbauer, S. T. vd.** (2019). Experimental Evolution of Extreme Resistance to Ionizing Radiation in *Escherichia coli* After 50 Cycles of Selection. *J Bacteriol* 201(8), 784–802.
- Burnham, J. P., Olsen, M. A., & Kollef, M. H.** (2019). Re-Estimating Annual Deaths due to Multidrug-Resistant Organism Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* 40(1), 112–113.
- Bush, K.** (2010). Alarming β -lactamase-Mediated Resistance in Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Curr Opin Microbiol* 13(5), 558–564.
- Bush, N. G., vd.** (2020). Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules* 25(23), 5662.
- Caroff, N. vd.** (1999). Mutations in the *ampC* Promoter of *Escherichia coli* Isolates Resistant to Oxyiminocephalosporins Without Extended Spectrum Beta-Lactamase Production. *FEMS Microbiol Lett* 173(2), 459–465.
- Castanheira, M. vd.** (2019). Combination of MexAB-OprM Overexpression and Mutations in Efflux Regulators, Pbps and Chaperone Proteins is Responsible for Ceftazidime/Avibactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates From US Hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 74(9), 2588–2595.
- Castanié-Cornet, M.P. vd.** (2010). Acid Stress Response in *Escherichia coli*: Mechanism of Regulation of *gadA* Transcription by RcsB and GadE. *Nucleic Acids Res* 38(11), 3546–3554.
- Çetin Kılıçaslan, G. vd.** (2021). Investigation of the Role of *cyaA/crp* Genes of *Escherichia coli* in Metal Stress. *Adıyaman University Journal of Science* 11(1), 1–22.
- Chain, E. vd.** (2005). The Classic: Penicillin as a Chemotherapeutic Agent. 1940. *Clin Orthop Relat Res* 439, 23–26.

- Chambers, H. F., & DeLeo, F. R.** (2009). Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nat Rev Microbiol.* 7(9), 629–641.
- Chang, Y., Almeida, A., & Nazarov, P. A.** (2022). MDR Pumps as Crossroads of Resistance: Antibiotics and Bacteriophages. *Antibiotics* 11(6), 734.
- Chatterjee, S. vd.** (2016). Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* and Other *Acinetobacter* spp. Causing Neonatal Sepsis: Focus on NDM-1 and Its Linkage to ISAbal25. *Front Microbiol* 7, 1126.
- Chaudhary, A. S.** (2016). A Review of Global Initiatives to Fight Antibiotic Resistance and Recent Antibiotics' Discovery. *Acta Pharm Sin B* 6(6), 552–556.
- Chen, J., Darst, S. A., & Thirumalai, D.** (2010). Promoter Melting Triggered by Bacterial RNA Polymerase Occurs in Three Steps. *Proc Natl Acad Sci USA* . 107(28), 12523–12528.
- Chen, S. vd.** (2019). Could Dampening Expression of The *Neisseria Gonorrhoeae* MtrCDE-Encoded Efflux Pump Be A Strategy To Preserve Currently or Resurrect Formerly Used Antibiotics To Treat Gonorrhea? *mBio* 10(4), 1–10.
- Chen, Y. vd.** (2020). Reverse Engineering of Fatty Acid-Tolerant *Escherichia coli* Identifies Design Strategies for Robust Microbial Cell Factories. *Metab Eng* 61, 120–130.
- Chevalier, S. vd.** (2017). Structure, Function and Regulation of *Pseudomonas aeruginosa* Porins. *FEMS Microbiol Rev* 41(5), 698–722.
- Chokshi, A. vd.** (2019). Global Contributors to Antibiotic Resistance. *J Glob Infect Dis* 11(1), 36–42.
- Chollet, R. vd.** (2002). *mar* Operon Involved in Multidrug Resistance of *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 46(4), 1097.
- Cingolani, P. vd.** (2012). A Program For Annotating and Predicting The Effects of Single Nucleotide Polymorphisms, Snpeff: Snps In The Genome of *Drosophila Melanogaster* Strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly (Austin)* 6(2), 80–92.
- CLSI.** (2018). Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. 11th Edition. Wayne,PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI.** (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Cohen, Y., & Hershberg, R.** (2022). Rapid Adaptation Often Occurs through Mutations to the Most Highly Conserved Positions of the RNA Polymerase Core Enzyme. *Genome Biol Evol* 14(9), 105.
- Colomer-Lluch, M., Jofre, J., & Muniesa, M.** (2011). Antibiotic Resistance Genes in the Bacteriophage DNA Fraction of Environmental Samples. *PLoS One* 6(3), 1–11.
- Conde-Agudelo, A. vd.** (2020). Management of Clinical Chorioamnionitis: an Evidence-Based Approach. *Am J Obstet Gynecol* 223(6), 848–869.
- Conesa, A. vd.** (2005). Blast2GO: A Universal Tool for Annotation, Visualization and Analysis in Functional Genomics Research. *Bioinformatics* 21(18), 3674–3676.
- Corvec, S. vd.** (2002). -11 Mutation in the *ampC* Promoter Increasing Resistance to β -lactams in a Clinical *Escherichia coli* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 46(10), 3265–3267.
- Corvec, S. vd.** (2007). Most *Escherichia coli* Strains Overproducing Chromosomal AmpC β -Lactamase Belong to Phylogenetic Group A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60(4), 872–876.
- Cox, G. vd.** (2012). Ribosome Clearance by FusB-Type Proteins Mediates Resistance to the Antibiotic Fusidic Acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(6), 2102–2107.
- Crowe-McAuliffe, C. vd.** (2021). Structural Basis of ABCF-Mediated Resistance to Pleuromutilin, Lincosamide, and Streptogramin A Antibiotics in Gram-Positive Pathogens. *Nat Commun* 12(1), 1–14.
- Cully, M.** (2014). Public Health: The Politics of Antibiotics. *Nature* 2014 509(7498), 16–17.
- Dadgostar, P.** (2019). Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect Drug Resist* 12, 3903–3910.
- Dam, S., Pagès, J. M., & Masi, M.** (2017). Dual Regulation of the Small RNA MicC and the Quiescent Porin OmpN in Response to Antibiotic Stress in *Escherichia coli*. *Antibiotics* 6(4), 33.
- Damrosch, D. S.** (1946). Chemoprophylaxis and Sulfonamide Resistant Streptococci. *J Am Med Assoc* 130, 124–128.
- Darby, E. M. vd.** (2023). Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance Revisited. *Nat Rev Microbiol* 21(5), 280–295.

- Darcan, C., Kaygusuz, Ö., & Aydın, E.** (2018). Metaller ve pH Stresine Karşı *Escherichia coli*'de RpoS'nin Rolünün Araştırılması. *Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology* 7(2), 105–121.
- Darcan, C., & Yılmaz, H.** (2018). The Role of EnvZ, RpoS, H-NS, AcP and Synthesis of OmpC-OmpF Porin Proteins of *Escherichia coli* Under Effect of Some Chemicals. *Erzincan University Journal of Science and Technology* 11(2), 285–299.
- Datta, N., & Hedges, R. W.** (1971). Compatibility Groups Among ϕ -R Factors. *Nature* 234(5326), 222–223.
- Davies, J., & Davies, D.** (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74(3), 417–433.
- Dcosta, V. M. vd.** (2011). Antibiotic Resistance is Ancient. *Nature* 477(7365), 457–461.
- Degen, D. vd.** (2014). Transcription Inhibition by the Depsipeptide Antibiotic Salinamide A. *Elife* 3, 2451.
- Dellit, T. H. vd.** (2007). Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clinical Infectious Diseases* 44(2), 159–177.
- Deter, H. S., Hossain, T., & Butzin, N. C.** (2021). Antibiotic Tolerance is Associated With a Broad and Complex Transcriptional Response in *E. coli*. *Sci Rep* 11(1), 1–15.
- Doranga, S. & Conway, T.** (2023). OmpC-Dependent Bile Tolerance Contributes to *E. coli* Colonization of the Mammalian Intestine. *Microbiology Spectrum* 11(3), e0524122.
- Doucette, C. D. vd.** (2011). Alpha-Ketoglutarate Coordinates Carbon and Nitrogen Utilization via Enzyme I Inhibition. *Nat Chem Biol* 7(12), 894–901.
- Dowson, C. G. vd.** (1989). Horizontal Transfer of Penicillin-Binding Protein Genes in Penicillin-Resistant Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(22), 8842–8846.
- Dragosits, M. & Mattanovich, D.** (2013). Adaptive Laboratory Evolution - Principles and Applications for Biotechnology. *Microbial Cell Factories* 12(1), 1-17
- Du, B. vd.** (2020). Adaptive Laboratory Evolution of *Escherichia coli* Under Acid Stress. *Microbiology (N Y)* 166(2), 141–148.

- Du, D. vd.** (2018). Multidrug Efflux Pumps: Structure, Function and Regulation. *Nat Rev Microbiol* 16(9), 523–539.
- Durand, G. A., Raoult, D., & Dubourg, G.** (2019). Antibiotic Discovery: History, Methods and Perspectives. *Int J Antimicrob Agents* 53(4), 371–382.
- Ebbensgaard, A. E., Løbner-Olesen, A., & Frimodt-Møller, J.** (2020). The Role of Efflux Pumps in the Transition from Low-Level to Clinical Antibiotic Resistance. *Antibiotics* 9(12), 855.
- ECDC.** (2015). *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015*. [Erişim: 29.10.2023, <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2015>]
- Eiamphungporn, W. vd.** (2018). Tackling the Antibiotic Resistance Caused by Class A β -Lactamases through the Use of β -Lactamase Inhibitory Protein. *International Journal of Molecular Sciences* 19(8), 2222.
- Elias, R., Duarte, A., & Perdigão, J.** (2021). A Molecular Perspective on Colistin and *Klebsiella pneumoniae*: Mode of Action, Resistance Genetics, and Phenotypic Susceptibility. *Diagnostics* 11(7), 1165.
- Enne, V. I. vd.** (2001). Persistence of Sulphonamide Resistance in *Escherichia coli* in the UK Despite National Prescribing Restriction. *Lancet* 357(9265), 1325–1328.
- Eren, E. vd.** (2012). Substrate Specificity Within a Family of Outer Membrane Carboxylate Channels. *PLoS Biol* 10(1), e1001242.
- Erickson, K. E., Otoupal, P. B., & Chatterjee, A.** (2015). Gene Expression Variability Underlies Adaptive Resistance in Phenotypically Heterogeneous Bacterial Populations. *ACS Infect Dis* 1(11), 555–567.
- Erickson, K. E., Otoupal, P. B., & Chatterjee, A.** (2017). Transcriptome-Level Signatures in Gene Expression and Gene Expression Variability during Bacterial Adaptive Evolution. *mSphere* 2(1), 1–17.
- Espinosa, M. I. vd.** (2020). Adaptive Laboratory Evolution of Native Methanol Assimilation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Commun* 11(1), 1–12.
- Fang, L. X. vd.** (2020). Emerging High-Level Tigecycline Resistance: Novel Tetracycline Destructases Spread via the Mobile Tet(X). *BioEssays* 42(8), 1–10.

- Feng, J. vd.** (2018). A Rapid Growth-Independent Antibiotic Resistance Detection Test by SYBR Green/Propidium Iodide Viability Assay. *Front Med (Lausanne)* 5, 127.
- Fernández, L., & Hancock, R. E. W.** (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clin Microbiol Rev* 25(4), 661–681.
- Flanagan, J. N., & Steck, T. R.** (2018). Use of Antibiotic Disks to Evolve Drug-Resistant Bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 111(9), 1719–1722.
- Forsberg, K. J. vd.** (2015). The Tetracycline Destructases: A Novel Family of Tetracycline-Inactivating Enzymes. *Chem Biol* 22(7), 888–897.
- Founou, R. C., Founou, L. L., & Essack, S. Y.** (2017). Clinical and Economic Impact of Antibiotic Resistance in Developing Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 12(12), 1–18.
- Friedman, D. I. vd.** (1984). Synergistic Effect of *himA* and *gyrB* Mutations: Evidence That *him* Functions Control Expression of *ilv* and *xyl* Genes. *J Bacteriol* 157(2), 484–489.
- Friedmann, H. C.** (2006). Escherich and *Escherichia*. *Adv Appl Microbiol* 60(1), 133–196.
- Gagneux, S. vd.** (2006). The Competitive Cost of Antibiotic Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science (1979)* 312(5782), 1944–1946.
- Garau, J. vd.** (1999). Emergence and Dissemination of Quinolone-Resistant *Escherichia coli* in the Community. *Antimicrob Agents Chemother* 43(11), 2736–2741.
- Gardete, S., & Tomasz, A.** (2014). Mechanisms of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 124(7), 2836–2840.
- Gasparrini, A. J. vd.** (2020). Tetracycline-Inactivating Enzymes from Environmental, Human Commensal, and Pathogenic Bacteria Cause Broad-Spectrum Tetracycline Resistance. *Commun Biol* 3, 1–12.
- Gerson, S. vd.** (2018). Diversity of Mutations in Regulatory Genes of Resistance-Nodulation-cell Division Efflux Pumps in Association With Tigecycline Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73(6), 1501–1508.
- Gibson, B. vd.** (2018). The Distribution of Bacterial Doubling Times in the Wild. *Proceedings of the Royal Society B* 285(1880), 1–9.

- Golby, P. vd.** (1998). Transcriptional Regulation and Organization of the *dcuA* and *dcuB* Genes, Encoding Homologous Anaerobic C4-Dicarboxylate Transporters in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 180(24), 6596.
- Goldsmith, M. vd.** (2007). Avoiding and Controlling Double Transformation Artifacts. *Protein Engineering, Design and Selection* 20(7), 315–318.
- Goldstein, B. P.** (2014). Resistance to Rifampicin: A Review. *The Journal of Antibiotics* 67(9), 625–630.
- Gonzalez, A., & Bell, G.** (2013). Evolutionary Rescue and Adaptation to Abrupt Environmental Change Depends Upon the History of Stress. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 368(1610), 1–6.
- Goodale, W. T., & Schwab, L.** (1944). Factors in The Resistance Of Gonorrhea To Sulfonamides. *J Clin Invest* 23(2), 217–223.
- Gould, K.** (2016). Antibiotics: From Prehistory to the Present Day. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71(3), 572–575.
- Gresham, D., & Dunham, M. J.** (2014). The Enduring Utility of Continuous Culturing in Experimental Evolution. *Genomics* 104(6), 399–405.
- Grimsey, E. M., vd.** (2020). Overexpression of RamA, Which Regulates Production of the Multidrug Resistance Efflux Pump AcrAB-TolC, Increases Mutation Rate and Influences Drug Resistance Phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 64(4), e02460-19.
- Grinnage-Pulley, T., & Zhang, Q.** (2015). Genetic Basis and Functional Consequences of Differential Expression of the CmeABC Efflux Pump in *Campylobacter jejuni* Isolates. *PLoS One* 10(7), e0131534.
- Gude, M. J., vd.** (2012). Evaluation of Four Phenotypic Methods to Detect Plasmid-Mediated AmpC β -lactamases in Clinical Isolates. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* 31(8), 2037–2043.
- Guo, Y., Winkler, J., & Kao, K. C.** (2017). Insights on Osmotic Tolerance Mechanisms in *Escherichia coli* Gained from an *rpoC* Mutation. *Bioengineering* 4(3), 2–19.
- Gutierrez, A. vd.** (2013). β -lactam Antibiotics Promote Bacterial Mutagenesis via an RpoS-Mediated Reduction in Replication Fidelity. *Nat Commun* 4, 1–9.

- Haas, B. J. vd.** (2012). How Deep is Deep Enough for RNA-Seq Profiling of Bacterial Transcriptomes? *BMC Genomics* 13, 1–11.
- Hadley, P.** (1927). Microbic Dissociation: The Instability of Bacterial Species with Special Reference to Active Dissociation and Transmissible Autolysis. *J Infect Dis* 40, 1–312.
- Händel, N. vd.** (2014). Interaction Between Mutations and Regulation of Gene Expression During Development of De Novo Antibiotic Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 58(8), 4379.
- Hanson, N. D.** (2003). AmpC β -lactamases: What Do We Need to Know for the Future? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52(1), 2–4.
- Hao, H. vd.** (2014). Benefits and Risks of Antimicrobial Use in Food-Producing Animals. *Front Microbiol* 5, 1–11.
- Harden, M. M. vd.** (2015). Acid-Adapted Strains of *Escherichia coli* K-12 Obtained by Experimental Evolution. *Appl Environ Microbiol* 81(6), 1932–1941.
- Hardison, R. C.** (2003). Comparative Genomics. *PLoS Biol* 1(2), 1–5.
- Harris, M. A. vd.** (2004). The Gene Ontology (GO) Database and Informatics Resource. *Nucleic Acids Res* 32, 258-261.
- He, T. vd.** (2019). Emergence of Plasmid-Mediated High-Level Tigecycline Resistance Genes in Animals and Humans. *Nat Microbiol* 4(9), 1450–1456.
- Heberle, H. vd.** (2015). InteractiVenn: A Web-Based Tool for The Analysis of Sets Through Venn Diagrams. *BMC Bioinformatics* 16(1), 1–7.
- Hedges, R. W., & Jacob, A. E.** (1974). Transposition of Ampicillin Resistance From RP4 to Other Replicons. *Molecular & general genetics* 132(1), 31–40.
- Heintz, B. H., Halilovic, J., & Christensen, C. L.** (2010). Vancomycin-Resistant Enterococcal Urinary Tract Infections. *Pharmacotherapy* 30(11), 1136–1149.
- Héritier, C., Poirel, L., & Nordmann, P.** (2006). Cephalosporinase Over-Expression Resulting From Insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection* 12(2), 123–130.
- Hinshelwood, C. N.** (1946). The chemical kinetics of the bacterial cell. Oxford: Clarendon Press.

- Hirasawa, T., & Maeda, T.** (2023). Adaptive Laboratory Evolution of Microorganisms: Methodology and Application for Bioproduction. *Microorganisms* 11(1), 1–21.
- Hoeksema, M. vd.** (2019). Effects of a Previously Selected Antibiotic Resistance on Mutations Acquired During Development of A Second Resistance in *Escherichia coli*. *BMC Genomics* 20, 1–14.
- Hotchkiss, R. D.** (1951). Transfer of Penicillin Resistance in Pneumococci by the Desoxyribonucleate Derived from Resistant Cultures. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 16, 457–461.
- Huang, Y. S. vd.** (2017). Treatment of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia in HIV-Infected Patients: A Review. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 15(9), 837-892.
- Hui, A. vd.** (1984). Mutagenesis of the Three Bases Preceding the Start Codon of the Beta-Galactosidase mRNA and its Effect on Translation in *Escherichia coli*. *EMBO J* 3(3), 623–629.
- Huovinen, P., vd.** (1995). Trimethoprim and Sulfonamide Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 39(2), 289.
- Hutchings, M., Truman, A., & Wilkinson, B.** (2019). Antibiotics: Past, Present and Future. *Curr Opin Microbiol* 51, 72–80.
- Jacoby, G. A.** (2009). AmpC B-Lactamases. *Clin Microbiol Rev* 22(1), 161–182.
- Jacoby, G. A.** (2017). History of Drug-Resistant Microbes, , D. Mayers, J. Sobel, M. Ouellette, K. Kaye, ve D. Marchaim (Ed.), *Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance*, Springer Nature
- Jaurin, B., Grundström, T., & Normark, S.** (1982). Sequence Elements Determining *ampC* Promoter Strength in *E. coli*. *EMBO J* 1(7), 875–881.
- Jevons, M. P.** (1961). “Celbenin” - Resistant Staphylococci. *Br Med J* 1(5219), 124–125.
- Jo, I. vd.** (2017). Stoichiometry and Mechanistic Implications of the MacAB-TolC Tripartite Efflux Pump. *Biochem Biophys Res Commun* 494(3-4), 668–673.
- Jonas, B. M., Murray, B. E., & Weinstock, G. M.** (2001). Characterization of *emeA*, a *norA* Homolog and Multidrug Resistance Efflux Pump, in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 45(12), 3574–3579.
- Kamenšek, S., & Žgur-Bertok, D.** (2013). Global Transcriptional Responses to the Bacteriocin Colicin M in *Escherichia coli*. *BMC Microbiol* 13, 13.

- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T.** (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2(2), 123–140.
- Karaiskos, I., & Giamarellou, H.** (2020). Carbapenem-Sparing Strategies for ESBL Producers: When and How. *Antibiotics* 9(2), 61.
- Karve, S., & Wagner, A.** (2022). Multiple Novel Traits without Immediate Benefits Originate in Bacteria Evolving on Single Antibiotics. *Mol Biol Evol* 39(1), 1–13.
- Kato, H. vd.** (2022). Comparison between Ceftriaxone and Sulbactam-Ampicillin as Initial Treatment of Community-Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics* 11(10), 1291.
- Kaushik, D. vd.** (2014). Ampicillin: Rise Fall and Resurgence. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8(5), 1–3.
- Kaygusuz, Ö. vd.** (2020). The Reactions of Hexachlorocyclotriphosphazene with Piperidine, N-(1-Naphthyl)Ethylenediamine and 2-(2-Hydroxyethylamino)Ethanol. Antimicrobial Activities of Iminodiethoxy-Substituted Cyclotriphosphazene Derivatives. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem* 196(2), 95–105.
- Kettles, R. A. vd.** (2019). The *Escherichia coli* MarA Protein Regulates the *ycgZ-ymgABC* Operon to Inhibit Biofilm Formation. *Mol Microbiol* 112(5), 1609–1625.
- Khaledi, A. vd.** (2016). Transcriptome Profiling of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 60(8), 4722-4733.
- Kim, Y. J. vd.** (2019). Guideline for the Antibiotic Use in Acute Gastroenteritis. *Infect Chemother* 51(2), 217-243.
- Kirby, W. M. M.** (1944). Extraction Of A Highly Potent Penicillin Inactivator From Penicillin Resistant Staphylococci. *Science* 99(2579), 452–453.
- Klein, C. A. vd.** (2021). The Bacterial Promoter Spacer Modulates Promoter Strength and Timing by Length, TG-Motifs and DNA Supercoiling Sensitivity. *Scientific Reports*, 11(1), 24399.
- Klugman, K. P.** (1990). Pneumococcal Resistance to Antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 3(2), 171–196.
- Knöppel, A., Näsvall, J., & Andersson, D. I.** (2017). Evolution of Antibiotic Resistance Without Antibiotic Exposure. *Antimicrob Agents Chemother* 61(11), 1–5.

- Kohanski, M. A., DePristo, M. A., & Collins, J. J. (2010).** Sublethal Antibiotic Treatment Leads to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. *Mol Cell* 37(3), 311–320.
- Kourtesi, C. vd. (2013).** Microbial efflux systems and inhibitors: approaches to drug discovery and the challenge of clinical implementation. *Open Microbiol J* 7, 34–52.
- Lalchhandama, K. (2021)** History of Penicillin. *WikiJournal of Medicine* 8(1), 3.
- Kumar, M. vd. (2021).** Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review. *Front Microbiol* 12, 609459.
- Kurenbach, B. vd. (2018).** Agrichemicals and Antibiotics in Combination Increase Antibiotic Resistance Evolution. *PeerJ* 6, e5801.
- Lamrabet, O. vd. (2019).** Changes in Intrinsic Antibiotic Susceptibility During A Long-Term Evolution Experiment With *Escherichia coli*. *mBio* 10(2), 1–12.
- Laubacher, M. E., & Ades, S. E. (2008).** The Rcs Phosphorelay is A Cell Envelope Stress Response Activated By Peptidoglycan Stress and Contributes to Intrinsic Antibiotic Resistance. *J Bacteriol* 190(6), 2065–2074.
- Lázár, V. vd. (2013).** Bacterial Evolution of Antibiotic Hypersensitivity. *Mol Syst Biol* 9, 700.
- Leclercq, R., vd. (1988).** Plasmid-Mediated Resistance to Vancomycin and Teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 319(3), 157–161.
- Lederberg, J., & Lederberg, E. M. (1952).** Replica Plating and Indirect Selection of Bacterial Mutants. *J Bacteriol* 63(3), 399-406.
- Leimbach, A., Hacker, J., & Dobrindt, U. (2013).** *E. coli* as an All-Rounder: The Thin Line Between Commensalism and Pathogenicity. *Curr Top Microbiol Immunol* 358, 3–32.
- Lekagul, A., Tangcharoensathien, V., & Yeung, S. (2019).** Patterns of Antibiotic Use in Global Pig Production: A Systematic Review. *Vet Anim Sci* 7, 1–12.
- Levin-Reisman, I. vd. (2017).** Antibiotic Tolerance Facilitates The Evolution of Resistance. *Science* 355(6327), 826–830.
- Lewis, J. A. vd. (2016).** Multi-Locus Sequence Typing of *Escherichia coli* Isolates With Acquired *ampC* Genes and *ampC* Promoter Mutations. *Diagn Microbiol Infect Dis* 86(3), 265–267.
- Li, H., & Durbin, R. (2009).** Fast and Accurate Short Read Alignment With Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* 25(14), 1754–1760.

- Li, H. vd.** (2009). The Sequence Alignment/Map Format and SAMtools. *Bioinformatics* 25(16), 2078–2079.
- Li, M. vd.** (2019). The Resistance Mechanism of *Escherichia coli* Induced by Ampicillin in Laboratory. *Infect Drug Resist* 12, 2853–2863.
- Lim, S.,vd.** (2010). A Mutation in *tdcA* Attenuates the Virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Molecules and Cells* 29(5), 509–517.
- Lima, L. M. vd.** (2020). β -lactam Antibiotics: An Overview From a Medicinal Chemistry Perspective. *Eur J Med Chem* 208, 112829.
- Lindsey, H. A. vd.** (2013). Evolutionary Rescue From Extinction is Contingent on A Lower Rate Of Environmental Change. *Nature* 494(7438), 463–467.
- Liu, L. vd.** (2012). Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. *J Biomed Biotechnol* 2012, 1–12.
- Llor, C., & Bjerrum, L.** (2014). Antimicrobial Resistance: Risk Associated With Antibiotic Overuse and initiatives to Reduce The Problem. *Ther Adv Drug Saf* 5(6), 229–241.
- Lou, H. vd.** (2011). Altered Antibiotic Transport in OmpC Mutants Isolated from a Series of Clinical Strains of Multi-Drug Resistant *E. coli*. *PLoS One* 6(10), e25825.
- Lowy, F. D.** (2003). Antimicrobial Resistance: the Example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 111(9), 1265–1273.
- Lu, J. vd.** (2018). Non-Antibiotic Antimicrobial Triclosan Induces Multiple Antibiotic Resistance Through Genetic Mutation. *Environ Int* 118, 257–265.
- Lu, J. vd.** (2020). Triclosan at Environmental Concentrations Can Enhance The Spread of Extracellular Antibiotic Resistance Genes Through Transformation. *Science of The Total Environment* 713, 136621.
- Luthra, S., Rominski, A., & Sander, P.** (2018). The Role of Antibiotic-Target-Modifying and Antibiotic-Modifying Enzymes in *Mycobacterium abscessus* Drug Resistance. *Front Microbiol* 9, 1–13.
- MacDougall, C.** (2011). Beyond Susceptible and Resistant, Part I: Treatment of Infections Due to Gram-Negative Organisms With Inducible β -Lactamases. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics* 16(1), 23–30.

- Machuca, J. vd.** (2017). Cellular Response to Ciprofloxacin in Low-Level Quinolone-Resistant *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 8, 1370.
- MacLeod, C. M.** (1940). The Inhibition of The Bacteriostatic Action of Sulfonamide Drugs By Substances of Animal and Bacterial Origin. *J Exp Med* 72(3), 217–232.
- Mans, R., Daran, J. M. G., & Pronk, J. T.** (2018). Under Pressure: Evolutionary Engineering of Yeast Strains for improved Performance in Fuels and Chemicals Production. *Curr Opin Biotechnol* 50, 47–56.
- Marshall, C. G., vd.** (1997). D-Ala-D-Ala Ligases From Glycopeptide Antibiotic-Producing Organisms are Highly Homologous to The Enterococcal Vancomycin-Resistance Ligases VanA and VanB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(12), 6480–6483.
- Marti, E., Variatza, E., & Balcázar, J. L.** (2014). Bacteriophages as a Reservoir of Extended-Spectrum β -lactamase and Fluoroquinolone Resistance Genes in the Environment. *Clinical Microbiology and Infection* 20, 456–459.
- Martin, R. G. vd.** (1996). Autoactivation of the *marRAB* Multiple Antibiotic Resistance Operon by the MarA Transcriptional Activator in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 178(8), 2216–2223.
- Martin, R. G., & Rosner, J. L.** (2002). Genomics of the *marA/soxS/rob* Regulon of *Escherichia coli*: Identification of Directly Activated Promoters by Application of Molecular Genetics and Informatics to Microarray Data. *Mol Microbiol* 44(6), 1611–1624.
- McCann, T. vd.** (2022). Intravenous Drug Use: a Significant Risk Factor for *Serratia* Bacteremia: *Ther Adv Infect Dis* 21, 1–9.
- McEwen, S. A., & Fedorka-Cray, P. J.** (2002). Antimicrobial Use and Resistance in Animals. *Clinical Infectious Diseases* 34(S3), 93–106.
- Medeiros, A. A.** (1997). Evolution and Dissemination of Beta-Lactamases Accelerated by Generations of Beta-Lactam Antibiotics. *Clinical infectious diseases* 24(S1), 19–45.
- Meletis, G.** (2016). Carbapenem Resistance: Overview of the Problem and Future Perspectives. *Ther Adv Infect Dis* 3(1), 15-21.
- Mellbye, B. L. vd.** (2010). Cationic Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers Efficiently Prevent Growth of *Escherichia coli* in Vitro and in Vivo. *J Antimicrob Chemother* 65(1), 98–106.

- Melnyk, A. H., Wong, A., & Kassen, R.** (2015). The Fitness Costs of Antibiotic Resistance Mutations. *Evol Appl* 8(3), 273–283.
- Melo-Cristino, J. vd.** (2013). First Case of Infection with Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *The Lancet* 382(9888), 205.
- Meredith, T. C., & Woodard, R. W.** (2005). Identification of GutQ From *Escherichia coli* as a d-Arabinose 5-Phosphate Isomerase. *J Bacteriol* 187(20), 6936–6942.
- Meyers, J. A. vd.** (1976). Simple Agarose Gel Electrophoretic Method for the Identification and Characterization of Plasmid Deoxyribonucleic Acid. *J Bacteriol* 127(3), 1537.
- Michael, C. A., Dominey-Howes, D., & Labbate, M.** (2014). The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management. *Front Public Health* 2, 145.
- Michaud, C. vd.** (1990). Over-Production, Purification and Properties of the Uridine-Diphosphate-N-Acetylmuramoyl-L-Alanyl-D-Glutamate:Meso-2,6-Diaminopimelate Ligase from *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 194, 853–861.
- Miller, M., Oakley, A. J., & Lewis P. J.** (2021) RNA Polymerases From Low G+C Gram-Positive Bacteria. *Transcription* 12(4), 92-102.
- Miller, W. R., Munita, J. M., & Arias, C. A.** (2014). Mechanisms of Antibiotic Resistance in Enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther* 12(10), 1221–1236.
- Mishra, N. N. vd.** (2012). Daptomycin Resistance in Enterococci Is Associated with Distinct Alterations of Cell Membrane Phospholipid Content. *PLoS One* 7(8), e43958.
- Monaghan, K. N., Labato, M. A., & Papich, M. G.** (2021). Ampicillin Pharmacokinetics in Azotemic and Healthy Dogs. *J Vet Intern Med* 35(2), 987–992.
- Moriya, Y. vd.** (2007). KAAS: An Automatic Genome Annotation and Pathway Reconstruction Server. *Nucleic Acids Res* 35, 182–185.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016).** Mechanisms of Antibiotic Resistance, I. T. Kudva, N. A. Cornick, P. J. Plummer, Q. Zhang, T. L. Nicholson, J. B. Bannantine (Ed.). *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens* John Wiley & Sons, Ltd, 464–472.
- Murina, V. vd.** (2018). Antibiotic Resistance ABCF Proteins Reset the Peptidyl Transferase Centre of the Ribosome to Counter Translational Arrest. *Nucleic Acids Res* 46(7), 3753–3763.
- Naas, T. vd.** (2017). Beta-Lactamase Database (BLDB)–Structure and Function. *J Enzyme Inhib Med Chem* 32(1), 917–919.

- Nadeem, M. S. vd.** (2020). LC-MS/MS-Based Metabolic Profiling of *Escherichia coli* Under Heterologous Gene Expression Stress. *J Cell Biochem* 121(1), 125–134.
- Nawrocki, K. L., Crispell, E. K., & McBride, S. M.** (2014). Antimicrobial Peptide Resistance Mechanisms of Gram-Positive Bacteria. *Antibiotics* 3(4), 461–492.
- Naylor, N. R. vd.** (2018). Estimating the Burden of Antimicrobial Resistance: A Systematic Literature Review. *Antimicrob Resist Infect Control* 7, 58.
- Nelson, E. C., & Gay Elisha, B.** (1999). Molecular Basis of AmpC Hyperproduction in Clinical Isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 43(4), 957–959.
- Ng, T. W. vd.** (2018). Differential Gene Expression in *Escherichia coli* During Aerosolization from Liquid Suspension. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102(7), 6257- 6267.
- Nikaido, H.** (1996). Multidrug Efflux Pumps of Gram-Negative Bacteria. *J Bacteriol* 178(20), 5853–5859.
- OECD** (2023), Embracing a One Health Framework to Fight Antimicrobial Resistance, OECD Health Policy Studies, OECD Publishing, Paris, [Erişim: 20.12.2023, <https://doi.org/10.1787/ce44c755-en>].
- OmicsBox.** (2019) Bioinformatics Made Easy. BioBam Bioinformatics. [Erişim: 29.10.2023, <https://www.biobam.com/omicsbox>].
- Owczarzy, R. vd.** (2008). IDT SciTools: a Suite for Analysis and Design of Nucleic Acid Oligomers. *Nucleic Acids Res* 36, 163–169.
- Parsley, L. C. vd.** (2010). Identification of Diverse Antimicrobial Resistance Determinants Carried on Bacterial, Plasmid, or Viral Metagenomes from an Activated Sludge Microbial Assemblage. *Appl Environ Microbiol* 76(11), 3757.
- Pereira., B. M. P., Wang, X., & Tagkopoulos, I.** (2021). Biocide-Induced Emergence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 12, 335.
- Pereira, R. vd.** (2019). Adaptive Laboratory Evolution of Tolerance to Dicarboxylic Acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab Eng* 56, 130–141.
- Periasamy, H. vd.** (2020). High Prevalence of *Escherichia coli* Clinical Isolates in India Harbouring Four Amino Acid Inserts in PBP3 Adversely Impacting Activity of Aztreonam/Avibactam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 75(6), 1650–1651.

- Perry, J., Waglechner, N., & Wright, G.** (2016) The Prehistory of Antibiotic Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6(6), a025197.
- Pfaffl, M. W.** (2001). A New Mathematical Model for Relative Quantification in Real-Time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 29(9), 1–6.
- Powers, J. H.** (2004). Antimicrobial Drug Development – the Past, the Present, and the Future. *Clinical Microbiology and Infection* 10(S4), 23–31.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A.** (2015). Antimicrobial Resistance: a Global Multifaceted Phenomenon. *Pathog Glob Health* 109(7), 309–318.
- Puchta, M., Boczkowska, M., & Groszyk, J.** (2020). Low RIN Value for RNA-Seq Library Construction from Long-Term Stored Seeds: A Case Study of Barley Seeds. *Genes (Basel)* 11(10), 1–15.
- Queenan, A. M., & Bush, K.** (2007). Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20(3), 440–458.
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E.** (2010). Aminoglycoside Modifying Enzymes. *Drug Resistance Updates* 13(6), 151–171.
- Rammelkamp, C. H., & Maxon, T.** (1942). Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 51(3), 386–389.
- Randall, L. P., & Woodward, M. J.** (2002). The Multiple Antibiotic Resistance (mar) Locus and Its Significance. *Res Vet Sci* 72(2), 87–93.
- Reyes-Fernández, E. Z., & Schuldiner, S.** (2020). Acidification of Cytoplasm in *Escherichia coli* Provides a Strategy to Cope with Stress and Facilitates Development of Antibiotic Resistance. *Sci Rep* 10(1), 1–13.
- Reygaert, W. C.** (2018). An Overview of the Antimicrobial Resistance Mechanisms of Bacteria. *AIMS Microbiol* 4(3), 482–501.
- Reynolds, M. G.** (2000). Compensatory Evolution in Rifampin-Resistant *Escherichia coli*. *Genetics* 156(4), 1471–1481.
- Robinson, M. D., McCarthy, D. J., & Smyth, G. K.** (2010). edgeR: a Bioconductor Package For Differential Expression Analysis of Digital Gene Expression Data. *Bioinformatics* 26(1), 139–140.

- Rojas-Lopez, M. vd.** (2018). Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Insights for Vaccine Development. *Front Microbiol* 9, 440.
- Rolinson, G. N.** (1998). Forty Years of Beta-Lactam Research. *J Antimicrob Chemother* 41(6), 589–603.
- Ruiz, J.** (2019). Transferable Mechanisms of Quinolone Resistance From 1998 Onward. *Clin Microbiol Rev* 32(4), 1–59.
- Sabnis, A. vd.** (2021). Colistin Kills Bacteria by Targeting Lipopolysaccharide in the Cytoplasmic Membrane. *Elife* 10, 1–26.
- Sadeghi, M.** (2019). Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolates in Azerbaijan Hospitals. *Microb Drug Resist.* 25(9), 1287–1296.
- Saga, T., & Yamaguchi, K.** (2009). History of Antimicrobial Agents and Resistant Bacteria. *JMAJ* 52, 103–108.
- Salehi, B. vd.** (2021). Characteristics and Diversity of Mutations in Regulatory Genes of Resistance-Nodulation-Cell Division Efflux Pumps in Association With Drug-Resistant Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Resist Infect Control* 10(1), 1–12.
- Sandberg, T. E. vd.** (2014). Evolution of *Escherichia coli* to 42 °C and Subsequent Genetic Engineering Reveals Adaptive Mechanisms and Novel Mutations. *Mol Biol Evol* 31(10), 2647–2662.
- Sandberg, T. E. vd.** (2019). The Emergence of Adaptive Laboratory Evolution as an Efficient Tool for Biological Discovery and Industrial Biotechnology. *Metab Eng* 56, 1–16.
- Sandegren, L.** (2019). Low Sub-Minimal Inhibitory Concentrations of Antibiotics Generate New Types of Resistance. *Sustain Chem Pharm* 11, 46–48.
- Sandle, T.** (2016). Specified and Objectionable Microorganisms. *Pharmaceutical Microbiology*, 93–101.
- Sauvage, E. vd.** (2014). Crystal Structure of Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) from *Escherichia coli*. *PLoS One* 9(5), 98042.
- Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K.** (2020). Molecular Diversity of Extended-Spectrum β -Lactamases and Carbapenemases, and Antimicrobial Resistance. *J Intensive Care* 8, 1–13.
- Schaenzer, A. J., & Wright, G. D.** (2020). Antibiotic Resistance by Enzymatic Modification of Antibiotic Targets. *Trends Mol Med* 26(8), 768–782.

- Schubert, C. vd.** (2021). L-Aspartate as a High-Quality Nitrogen Source in *Escherichia coli*: Regulation of L-Aspartase By The Nitrogen Regulatory System and Interaction of L-Aspartase with GlnB. *Mol Microbiol* 115(4), 526–538.
- Selinger, D. W. vd.** (2003). Global RNA Half-Life Analysis in *Escherichia coli* Reveals Positional Patterns of Transcript Degradation. *Genome Res* 13(2), 216–223.
- Seoane, A. S. vd.** (1995). Identification of New Genes Regulated by the marRAB Operon in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 177(3), 530–535.
- Seppälä, H. vd.** (1997). The Effect of Changes in the Consumption of Macrolide Antibiotics on Erythromycin Resistance in Group A streptococci in Finland. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. *N Engl J Med* 337, 441–446.
- Shaw, K. J. vd.** (2003). Comparison of the Changes in Global Gene Expression of *Escherichia coli* Induced by Four Bactericidal Agents. *Microb Physiol* 5(2), 105–122.
- Sheikh, S. W. vd.** (2021). Insights into Emergence of Antibiotic Resistance in Acid-Adapted Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Antibiotics* 10(5), 522.
- Shrestha, P. vd.** (2018). Enumerating the Economic Cost of Antimicrobial Resistance Per Antibiotic Consumed to Inform The Evaluation of Interventions Affecting Their Use. *Antimicrob Resist Infect Control* 7, 1–9.
- Sievert, D. M. vd.** (2008). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002-2006. *Clinical Infectious Diseases* 46(5), 668–674.
- Singh, T., Das, S., & Ramachandran, V. G.** (2020). Effect of Mutation on AmpC Promoter in Multidrug Resistant Isolates of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Children. *International Journal of Infectious Diseases* 101(S1), 67.
- Singh, T. vd.** (2019). Transcriptome Analysis of Beta-Lactamase Genes in Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Sci Rep* 9(1), 1–11.
- Siu, L. K. vd.** (2003). High-Level Expression of AmpC β -Lactamase Due to Insertion of Nucleotides Between -10 and -35 Promoter Sequences in *Escherichia coli* Clinical Isolates: Cases Not Responsive to Extended-Spectrum-Cephalosporin Treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 47(7), 2138–2144.

- Six, S. vd.** (1994). *Escherichia coli* Possesses Two Homologous Anaerobic C4-Dicarboxylate Membrane Transporters (DcuA and DcuB) Distinct From the Aerobic Dicarboxylate Transport System (Dct). *J Bacteriol* 176(21), 6470–6478.
- Sköld, O.** (2000). Sulfonamide Resistance: Mechanisms and Trends. *Drug Resistance Updates* 3(3), 155–160.
- Spellberg, B., Srinivasan, A., & Chambers, H. F.** (2016). New Societal Approaches to Empowering Antibiotic Stewardship. *JAMA* 315(12), 1229–1230.
- Spratt, B. G. vd.** (1989). Recruitment of a Penicillin-Binding Protein Gene From *Neisseria flavescens* During the Emergence of Penicillin Resistance in *Neisseria meningitidis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(22), 8988–8992.
- Stanhope, M. J. vd.** (2005). Molecular Evolution Perspectives on Intraspecific Lateral DNA Transfer of Topoisomerase and Gyrase loci in *Streptococcus pneumoniae*, with Implications for Fluoroquinolone Resistance Development and Spread. *Antimicrob Agents Chemother* 49(10), 4315–4326.
- Stokes, H. W., & Hall, R. M.** (1989). A Novel Family of Potentially Mobile DNA Elements Encoding Site-Specific Gene-Integration Functions: Integrons. *Mol Microbiol* 3(12), 1669–1683.
- Strecker, A. vd.** (2018). DcuA of Aerobically Grown *Escherichia coli* Serves as a Nitrogen Shuttle (L-aspartate/fumarate) for Nitrogen Uptake. *Mol Microbiol* 109(6), 801–811.
- Su, W. vd.** (2018). Ribosome Protection by Antibiotic Resistance ATP-Binding Cassette Protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115(20), 5157–5162.
- Sun, J. vd.** (2019). Plasmid-Encoded tet(X) Genes That Confer High-Level Tigecycline Resistance in *Escherichia coli*. *Nat Microbiol* 4(9), 1457–1464.
- Szychowski, J. vd.** (2011). Inhibition of Aminoglycoside-Deactivating Enzymes APH(3')-IIIa and AAC(6')-II by Amphiphilic Paromomycin O2''-Ether Analogues. *ChemMedChem* 6(11), 1961–1966.
- Tamma, P. D. vd.** (2022). Infectious Diseases Society of America 2022 Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β -lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance (DTR-P. aeruginosa). *Clin Infect Dis* 75(2), 187-212.

- Tanabe, M. vd.** (2009). The Multidrug Resistance Efflux Complex, EmrAB from *Escherichia coli* Forms a Dimer in Vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 380(2), 338–342.
- Ter Kuile, B. H., Kraupner, N., & Brul, S.** (2016). The Risk of Low Concentrations of Antibiotics in Agriculture for Resistance in Human Health Care. *FEMS Microbiol Lett* 363(19), 210.
- Terzioğlu, E. vd.** (2022). Microbial Silver Resistance Mechanisms: Recent Developments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 38(9), 1–17.
- Tierrafría, V. H. vd.** (2022). RegulonDB 11.0: Comprehensive High-Throughput Datasets on Transcriptional Regulation in *Escherichia coli* K-12. *Microb Genom* 8(5), 1–17.
- Toleman, M. A., Bennett, P. M., & Walsh, T. R.** (2006). ISCR Elements: Novel Gene-Capturing Systems of the 21st Century? *Microbiology and molecular biology reviews* 70(2), 296–316.
- Tomoiaga, D. vd.** (2022). High Rates of Plasmid Cotransformation in *E. coli* Overturn the Clonality Myth and Reveal Colony Development. *Sci Rep* 12, 1–15.
- Tolomelli, A. vd** (2020). Ampicillin Sodium: Isolation, Identification and Synthesis of the Last Unknown Impurity After 60 Years of Clinical Use. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 191, 113584.
- Tooke, C. L. vd.** (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol* 431(18), 3472–3500.
- Toprak, E. vd.** (2012). Evolutionary Paths to Antibiotic Resistance Under Dynamically Sustained Drug Selection. *Nat Genet* 44(1), 101–105.
- Toprak, E. vd.** (2013). Building a Morbidostat: An Automated Continuous-Culture Device for Studying Bacterial Drug Resistance Under Dynamically Sustained Drug Inhibition. *Nat Protoc* 8(3), 555–567.
- Tracz, D. M. vd.** (2005). Increase in *ampC* Promoter Strength Due to Mutations and Deletion of the Attenuator in a Clinical Isolate of Cefoxitin-Resistant *Escherichia coli* as Determined by RT-PCR. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55(5), 768–772.
- Tracz, D. M. vd.** (2007). *ampC* Gene Expression in Promoter Mutants of Cefoxitin-Resistant *Escherichia Coli* clinical Isolates. *FEMS Microbiol Lett* 270(2), 265–271.

- Truong-Bolduc, Q. C. vd.** (2005). MgrA Is a Multiple Regulator of Two New Efflux Pumps in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 187(7), 2405.
- Tyulenev, A.V. vd.** (2022). Study of the Early Response of *Escherichia coli* *lpcA* and *ompF* Mutants To Ciprofloxacin. *Research in Microbiology* 173(6-7), 103954.
- UAMDSS.** (2016). Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2016 Yıllık Raporu. Ankara [Erişim: 20.10.2023, <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/surveyanslar/uamdss.html>].
- Ude, J. vd.** (2021). Outer Membrane Permeability: Antimicrobials and diverse Nutrients Bypass Porins in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118(31), e2107644118.
- Van Boeckel, T. P. vd.** (2015). Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(18), 5649–5654.
- Vanaja, S. K., Bergholz, T. M., & Whittam, T. S.** (2009). Characterization of the *Escherichia coli* O157:H7 Sakai GadE regulon. *J Bacteriol* 191(6), 1868–1877.
- Vázquez-Laslop, N., & Mankin, A. S.** (2018). How Macrolide Antibiotics Work. *Trends Biochem Sci* 43(9), 668–684.
- Veal, W. L., Nicholas, R. A., & Shafer, W. M.** (2002). Overexpression of the MtrC-MtrD-MtrE Efflux Pump Due to An *mtrR* Mutation is Required for Chromosomally Mediated Penicillin Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* 184(20), 5619–5624.
- Versporten, A. vd.** (2014). Antibiotic Use in Eastern Europe: a Cross-National Database Study in Coordination With the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis* 14(5), 381–387.
- Wang, L. vd.** (2020). Novel Plasmid-Mediated *tet(X5)* Gene Conferring Resistance to Tigecycline, Eravacycline, and Omadacycline in a Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 64, 1–5.
- Wang, L. vd.** (2010). Divergence Involving Global Regulatory Gene Mutations in an *Escherichia coli* Population Evolving under Phosphate Limitation. *Genome Biol Evol* 2, 478–487.
- Watanabe, T.** (1963). Infective Heredity Of Multiple Drug Resistance In Bacteria. *Bacteriol Rev* 27, 115.
- Watanabe, T.** (1966). Infectious drug resistance in enteric bacteria. *N Engl J Med* 275, 888–894.

- Whittle, E. E., vd.** (2021). Efflux Impacts Intracellular Accumulation Only in Actively Growing Bacterial Cells. *mBio* 12, 1–13.
- WHO.** (2014). Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. [Erişim: 29.10.2023, <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v>].
- WHO.** (2023). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data. Stockholm. [Erişim: 29.10.2023, <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data>].
- Wong, J. L. C. vd.** (2019). OmpK36-mediated Carbapenem resistance attenuates ST258 *Klebsiella pneumoniae* in vivo. *Nat Commun* 10, 1–10.
- Woods, D. D.** (1940). The Relation of p-aminobenzoic Acid to the Mechanism of the Action of Sulphanilamide. *Br J Exp Pathol* 21, 90.
- World Bank.** (2017). “Drug-Resistant Infections: A Threat to Our Economic Future. Washington DC. [Erişim: 29.10.2023, <https://www.worldbank.org/en/topic/health/publication/drug-resistant-infections-a-threat-to-our-economic-future>].
- Wright, J. vd.** (2011). Batch and continuous culture-based selection strategies for acetic acid tolerance in xylose-fermenting *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res* 11, 299–306.
- Xing, Y., Wu, S., & Men, Y.** (2020). Exposure to Environmental Levels of Pesticides Stimulates and Diversifies Evolution in *Escherichia coli* toward Higher Antibiotic Resistance. *Environ Sci Technol* 54(14), 8770–8778.
- Yakhnina, A. A., Mcmanus, H. R., & Bernhardt, T. G.** (2015). The Cell Wall Amidase AmiB is Essential for *Pseudomonas aeruginosa* Cell Division, Drug Resistance and Viability. *Mol Microbiol* 97(5), 957–973.
- Yamazaki, Y., Niki, H., & Kato, J. I.** (2007). Profiling of *Escherichia coli* Chromosome Database. *Methods in Molecular Biology* 416, 385–389.
- Yan, D., Lenz, P., & Hwa, T.** (2011). Overcoming Fluctuation and Leakage Problems in the Quantification of Intracellular 2-Oxoglutarate Levels in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 77(19), 6763–6771.
- Yoshida, T., vd.** (2006). Transcription Regulation of *ompF* and *ompC* by a Single Transcription Factor, OmpR. *Journal of Biological Chemistry* 281(25), 17114–17123.

- Young, B. A., Gruber, T. H., & Gross, C. A.** (2004). Minimal Machinery of RNA Polymerase Holoenzyme Sufficient for Promoter Melting. *Science* 303(5662), 1382–1384.
- Yu, W. vd.** (2009). AmpC Promoter and Attenuator Mutations Affect Function of Three *Escherichia coli* Strains. *Curr Microbiol.* 59(3), 244–247.
- Zaffiri, L., Gardner, J., & Toledo-Pereyra, L. H.** (2012). History of Antibiotics. From Salvarsan to Cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, 25(2), 67–77.
- Zeng, J. vd.** (2021). Gain-Of-Function Mutations in Acid Stress Response (evgs) Protect *Escherichia coli* From Killing By Gallium Nitrate, An Antimicrobial Candidate. *Antimicrob Agents Chemother* 65(3), 1–11.
- Zgurskaya, H. I., & Rybenkov, V. V.** (2020). Permeability Barriers of Gram-negative Pathogens. *Ann N Y Acad Sci* 1459(1), 5-18.
- Zhanel, G. G. vd.** (2019). 42936 Pathogens From Canadian Hospitals: 10 Years of Results (2007–16) From the CANWARD Surveillance Study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 74(S4), 5–21.
- Zhang, H. vd.** (2016). Multidrug Resistance Operon *emrAB* Contributes for Chromate and Ampicillin Co-Resistance in a *Staphylococcus* Strain Isolated From Refinery Polluted River Bank. *Springerplus* 5(1), 1–12.
- Zhang, Q. vd.** (2011). Acceleration of Emergence of Bacterial Antibiotic Resistance in Connected Microenvironments. *Science* 333(6050), 1764–1767.
- Zhang, Y. vd.** (2011). The Multidrug Efflux Pump MdtEF Protects Against Nitrosative Damage During the Anaerobic Respiration in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* 286(30), 26576–26584.
- Zhao, R. vd.** (2021). Responses of Microbial Community and Antibiotic Resistance Genes to the Selection Pressures of Ampicillin, Cephalexin and Chloramphenicol in Activated Sludge Reactors. *Science of The Total Environment* 755, 1–15.
- Zuroff, T. R. vd.** (2010). Robustness Analysis of Culturing Perturbations on *Escherichia coli* Colony Biofilm Beta-Lactam and Aminoglycoside Antibiotic Tolerance. *BMC Microbiol* 10, 1–10.

EKLER

EK Tablo 1. *E. coli* W3110-10 Suşunda Tespit Edilen DEG'ler

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
1	Artış	gene:BAA15156	130.77	0.0000	7.03	0.0000	<i>gadC</i>
2	Artış	gene:BAA15163	114.93	0.0000	6.84	0.0000	<i>gadB</i>
3	Artış	gene:BAE77777	82.07	0.0000	6.36	0.0000	<i>gadA</i>
4	Artış	gene:BAB96644	57.81	0.0037	5.85	0.0009	<i>leuL</i>
5	Artış	gene:BAE77782	46.73	0.0000	5.55	0.0000	<i>gadE</i>
6	Artış	gene:BAA15251	37.34	0.0317	5.22	0.0101	<i>stfQ</i>
7	Artış	gene:BAE76078	37.29	0.0347	5.22	0.0112	<i>ykgK</i>
8	Artış	gene:BAE76504	33.47	0.0446	5.06	0.0151	<i>ydiN</i>
9	Artış	gene:BAA15222	33.29	0.0000	5.06	0.0000	<i>marB</i>
10	Artış	gene:BAA14791	28.93	0.0000	4.85	0.0000	<i>yciG</i>
11	Artış	gene:BAE76387	28.13	0.0000	4.81	0.0000	<i>ymgB</i>
12	Artış	gene:BAA35925	22.98	0.0000	4.52	0.0000	<i>ycfJ</i>
13	Artış	gene:BAE76458	22.71	0.0000	4.51	0.0000	<i>lsrG</i>
14	Artış	gene:BAA15221	20.59	0.0000	4.36	0.0000	<i>marA</i>
15	Artış	gene:BAE77781	20.43	0.0000	4.35	0.0000	<i>mdtE</i>
16	Artış	gene:BAA15220	18.80	0.0000	4.23	0.0000	<i>marR</i>
17	Artış	gene:BAE76069	18.22	0.0002	4.19	0.0000	<i>yagS</i>
18	Artış	gene:BAE77780	17.88	0.0000	4.16	0.0000	<i>mdtF</i>
19	Artış	gene:BAA35737	17.26	0.0000	4.11	0.0000	<i>hyaA</i>
20	Artış	gene:BAA14798	16.93	0.0000	4.08	0.0000	<i>trpD</i>
21	Artış	gene:BAE76265	16.70	0.0000	4.06	0.0000	<i>ybaT</i>
22	Artış	gene:BAA35415	15.61	0.0000	3.96	0.0000	<i>ybgS</i>
23	Artış	gene:BAA35738	15.48	0.0000	3.95	0.0000	<i>hyaB</i>
24	Artış	gene:BAE77199	14.91	0.0000	3.90	0.0000	<i>yhbO</i>
25	Artış	gene:BAE76264	14.77	0.0000	3.88	0.0000	<i>ybaS</i>
26	Artış	gene:BAE78188	14.41	0.0000	3.85	0.0000	<i>aidB</i>
27	Artış	gene:BAA35740	14.24	0.0000	3.83	0.0000	<i>hyaD</i>
28	Artış	gene:BAE77035	13.66	0.0000	3.77	0.0000	<i>yghK</i>
29	Artış	gene:BAA15202	13.18	0.0000	3.72	0.0000	<i>lsrD</i>
30	Artış	gene:BAA35265	12.94	0.0000	3.69	0.0000	<i>crcA</i>
31	Artış	gene:BAE76457	12.48	0.0000	3.64	0.0000	<i>lsrF</i>
32	Artış	gene:BAA15226	12.17	0.0000	3.61	0.0000	<i>ydel</i>
33	Artış	gene:BAE77062	11.70	0.0000	3.55	0.0000	<i>yghA</i>
34	Artış	gene:BAE76881	11.56	0.0000	3.53	0.0000	<i>ygdI</i>
35	Artış	gene:BAE76581	11.44	0.0000	3.52	0.0000	<i>yegP</i>
36	Artış	gene:BAE76453	11.40	0.0000	3.51	0.0000	<i>bdm</i>
37	Artış	gene:BAE77783	11.13	0.0000	3.48	0.0000	<i>hdeD</i>
38	Artış	gene:BAE76456	11.09	0.0000	3.47	0.0000	<i>lsrB</i>
39	Artış	gene:BAE76235	10.55	0.0000	3.40	0.0000	<i>ybaA</i>
40	Artış	gene:BAA15200	10.36	0.0000	3.37	0.0000	<i>ego</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
41	Artış	gene:BAE77036	10.35	0.0000	3.37	0.0000	<i>glcB</i>
42	Artış	gene:BAE77784	10.25	0.0000	3.36	0.0000	<i>hdeA</i>
43	Artış	gene:BAE77803	10.21	0.0000	3.35	0.0000	<i>yhiM</i>
44	Artış	gene:BAA35889	10.14	0.0029	3.34	0.0007	<i>flgI</i>
45	Artış	gene:BAE78070	10.11	0.0000	3.34	0.0000	<i>yjcH</i>
46	Artış	gene:BAA77888	10.04	0.0331	3.33	0.0106	<i>yafF</i>
47	Artış	gene:BAA15201	9.98	0.0000	3.32	0.0000	<i>lsrc</i>
48	Artış	gene:BAA16525	9.96	0.0000	3.32	0.0000	<i>gabT</i>
49	Artış	gene:BAE76839	9.83	0.0000	3.30	0.0000	<i>cysH</i>
50	Artış	gene:BAE76160	9.69	0.0000	3.28	0.0000	<i>yaiY</i>
51	Artış	gene:BAA16340	9.60	0.0000	3.26	0.0000	<i>tktB</i>
52	Artış	gene:BAA16275	9.20	0.0402	3.20	0.0134	<i>xapA</i>
53	Artış	gene:BAA35711	9.09	0.0000	3.18	0.0000	<i>rmf</i>
54	Artış	gene:BAE77786	9.04	0.0000	3.18	0.0000	<i>yhiD</i>
55	Artış	gene:BAE76709	8.94	0.0000	3.16	0.0000	<i>ypeC</i>
56	Artış	gene:BAE77788	8.48	0.0000	3.08	0.0000	<i>slp</i>
57	Artış	gene:BAE76068	8.35	0.0000	3.06	0.0000	<i>yagR</i>
58	Artış	gene:BAA35739	8.31	0.0103	3.05	0.0028	<i>hyaC</i>
59	Artış	gene:BAA35743	8.17	0.0000	3.03	0.0000	<i>appC</i>
60	Artış	gene:BAA15191	8.08	0.0000	3.01	0.0000	<i>ydeV</i>
61	Artış	gene:BAA16421	8.06	0.0000	3.01	0.0000	<i>hscB</i>
62	Artış	gene:BAA35238	8.03	0.0000	3.00	0.0000	<i>ybdR</i>
63	Artış	gene:BAA35448	7.99	0.0000	3.00	0.0000	<i>ybhO</i>
64	Artış	gene:BAE77785	7.90	0.0000	2.98	0.0000	<i>hdeB</i>
65	Artış	gene:BAE77037	7.75	0.0000	2.95	0.0000	<i>glcG</i>
66	Artış	gene:BAA14828	7.49	0.0000	2.90	0.0000	<i>acnA</i>
67	Artış	gene:BAA15982	7.44	0.0000	2.90	0.0000	<i>yeiR</i>
68	Artış	gene:BAE77778	7.41	0.0000	2.89	0.0000	<i>gadX</i>
69	Artış	gene:BAA15513	7.33	0.0000	2.87	0.0000	<i>katE</i>
70	Artış	gene:BAE77787	7.30	0.0000	2.87	0.0000	<i>yhiF</i>
71	Artış	gene:BAE76721	7.14	0.0000	2.84	0.0000	<i>ypfG</i>
72	Artış	gene:BAE76489	7.13	0.0000	2.83	0.0000	<i>sodC</i>
73	Artış	gene:BAE77039	7.03	0.0000	2.81	0.0000	<i>glcE</i>
74	Artış	gene:BAE76339	6.87	0.0000	2.78	0.0000	<i>appY</i>
75	Artış	gene:BAA14790	6.79	0.0000	2.76	0.0000	<i>yciF</i>
76	Artış	gene:BAE78047	6.76	0.0000	2.76	0.0000	<i>yjbJ</i>
77	Artış	gene:BAE78109	6.72	0.0000	2.75	0.0000	<i>phnB</i>
78	Artış	gene:BAA15899	6.69	0.0003	2.74	0.0001	<i>wzxC</i>
79	Artış	gene:BAA77891	6.46	0.0000	2.69	0.0000	<i>fadE</i>
80	Artış	gene:BAE78364	6.41	0.0000	2.68	0.0000	<i>osmY</i>
81	Artış	gene:BAE77006	6.32	0.0000	2.66	0.0000	<i>galP</i>
82	Artış	gene:BAE76576	6.27	0.0001	2.65	0.0000	<i>wza</i>
83	Artış	gene:BAA77933	6.26	0.0001	2.65	0.0000	<i>yagA</i>
84	Artış	gene:BAA16524	6.21	0.0000	2.63	0.0000	<i>gabD</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
85	Artış	gene:BAA35772	6.20	0.0000	2.63	0.0000	<i>ymdF</i>
86	Artış	gene:BAE76584	6.11	0.0000	2.61	0.0000	<i>fbab</i>
87	Artış	gene:BAE78293	5.95	0.0007	2.57	0.0001	<i>sgcA</i>
88	Artış	gene:BAA15227	5.90	0.0000	2.56	0.0000	<i>ydeJ</i>
89	Artış	gene:BAA36006	5.81	0.0000	2.54	0.0000	<i>ymgG</i>
90	Artış	gene:BAA15105	5.79	0.0000	2.53	0.0000	<i>narZ</i>
91	Artış	gene:BAE77705	5.79	0.0000	2.53	0.0000	<i>aldB</i>
92	Artış	gene:BAE76516	5.78	0.0000	2.53	0.0000	<i>astB</i>
93	Artış	gene:BAA35562	5.75	0.0000	2.52	0.0000	<i>nfsA</i>
94	Artış	gene:BAE76115	5.75	0.0196	2.52	0.0058	<i>prpC</i>
95	Artış	gene:BAA15794	5.71	0.0000	2.51	0.0000	<i>hchA</i>
96	Artış	gene:BAA15103	5.69	0.0007	2.51	0.0001	<i>narW</i>
97	Artış	gene:BAA16526	5.68	0.0000	2.51	0.0000	<i>gabP</i>
98	Artış	gene:BAA15995	5.62	0.0000	2.49	0.0000	<i>alkB</i>
99	Artış	gene:BAA14837	5.62	0.0000	2.49	0.0000	<i>osmB</i>
100	Artış	gene:BAE78365	5.62	0.0000	2.49	0.0000	<i>ytjA</i>
101	Artış	gene:BAE76612	5.61	0.0000	2.49	0.0000	<i>yohC</i>
102	Artış	gene:BAE77206	5.59	0.0000	2.48	0.0000	<i>yhbW</i>
103	Artış	gene:BAA35742	5.54	0.0000	2.47	0.0000	<i>hyaF</i>
104	Artış	gene:BAA16423	5.49	0.0000	2.46	0.0000	<i>iscU</i>
105	Artış	gene:BAA35585	5.46	0.0000	2.45	0.0000	<i>poxB</i>
106	Artış	gene:BAA15457	5.44	0.0000	2.44	0.0000	<i>sufS</i>
107	Artış	gene:BAE76772	5.43	0.0345	2.44	0.0111	<i>yfjT</i>
108	Artış	gene:BAA16521	5.40	0.0000	2.43	0.0000	<i>ygaF</i>
109	Artış	gene:BAA16424	5.39	0.0000	2.43	0.0000	<i>iscS</i>
110	Artış	gene:BAE76067	5.37	0.0003	2.43	0.0001	<i>yagQ</i>
111	Artış	gene:BAE78094	5.37	0.0000	2.43	0.0000	<i>yjdP</i>
112	Artış	gene:BAE78017	5.29	0.0000	2.40	0.0000	<i>aceA</i>
113	Artış	gene:BAE77847	5.21	0.0000	2.38	0.0000	<i>yrhB</i>
114	Artış	gene:BAA15717	5.19	0.0000	2.38	0.0000	<i>otsA</i>
115	Artış	gene:BAA14876	5.14	0.0259	2.36	0.0080	<i>pspD</i>
116	Artış	gene:BAA15250	5.13	0.0447	2.36	0.0151	<i>tfaQ</i>
117	Artış	gene:BAE76298	5.12	0.0173	2.36	0.0050	<i>ybcF</i>
118	Artış	gene:BAA15400	5.10	0.0000	2.35	0.0000	<i>ydhA</i>
119	Artış	gene:BAE76779	5.08	0.0000	2.34	0.0000	<i>ygaT</i>
120	Artış	gene:BAE76840	5.05	0.0000	2.34	0.0000	<i>cysl</i>
121	Artış	gene:BAE78071	4.98	0.0000	2.32	0.0000	<i>acs</i>
122	Artış	gene:BAE78028	4.96	0.0000	2.31	0.0000	<i>yjbE</i>
123	Artış	gene:BAA14789	4.96	0.0000	2.31	0.0000	<i>yciE</i>
124	Artış	gene:BAE77560	4.90	0.0000	2.29	0.0000	<i>pstS</i>
125	Artış	gene:BAE77779	4.89	0.0000	2.29	0.0000	<i>gadW</i>
126	Artış	gene:BAE77458	4.89	0.0000	2.29	0.0000	<i>fadA</i>
127	Artış	gene:BAE77069	4.88	0.0000	2.29	0.0000	<i>dkgA</i>
128	Artış	gene:BAA15906	4.88	0.0136	2.29	0.0038	<i>wcaI</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
129	Artış	gene:BAA15718	4.87	0.0000	2.29	0.0000	<i>otsB</i>
130	Artış	gene:BAE76517	4.87	0.0000	2.28	0.0000	<i>astA</i>
131	Artış	gene:BAE77472	4.85	0.0000	2.28	0.0000	<i>metE</i>
132	Artış	gene:BAE78357	4.83	0.0000	2.27	0.0000	<i>fhuF</i>
133	Artış	gene:BAA15905	4.80	0.0025	2.26	0.0006	<i>cpsB</i>
134	Artış	gene:BAA36142	4.79	0.0000	2.26	0.0000	<i>cbpA</i>
135	Artış	gene:BAA15456	4.76	0.0000	2.25	0.0000	<i>sufD</i>
136	Artış	gene:BAA15908	4.75	0.0006	2.25	0.0001	<i>fcl</i>
137	Artış	gene:BAE76827	4.73	0.0000	2.24	0.0000	<i>cysC</i>
138	Artış	gene:BAE76501	4.70	0.0000	2.23	0.0000	<i>ydiH</i>
139	Artış	gene:BAA35358	4.70	0.0000	2.23	0.0000	<i>ybfA</i>
140	Artış	gene:BAE77038	4.67	0.0000	2.22	0.0000	<i>glcF</i>
141	Artış	gene:BAA15192	4.67	0.0000	2.22	0.0000	<i>ydeW</i>
142	Artış	gene:BAA16339	4.61	0.0000	2.21	0.0000	<i>talA</i>
143	Artış	gene:BAE76109	4.54	0.0126	2.18	0.0035	<i>yahL</i>
144	Artış	gene:BAA35744	4.54	0.0000	2.18	0.0000	<i>appB</i>
145	Artış	gene:BAE78367	4.50	0.0000	2.17	0.0000	<i>yjjV</i>
146	Artış	gene:BAE77627	4.46	0.0000	2.16	0.0000	<i>uhpT</i>
147	Artış	gene:BAA16296	4.46	0.0002	2.16	0.0000	<i>cysA</i>
148	Artış	gene:BAE78018	4.44	0.0000	2.15	0.0000	<i>aceK</i>
149	Artış	gene:BAA14956	4.43	0.0000	2.15	0.0000	<i>sieB</i>
150	Artış	gene:BAE76484	4.42	0.0000	2.14	0.0000	<i>ydgT</i>
151	Artış	gene:BAA15104	4.38	0.0000	2.13	0.0000	<i>narY</i>
152	Artış	gene:BAA16506	4.37	0.0000	2.13	0.0000	<i>yfjU</i>
153	Artış	gene:BAA15454	4.31	0.0000	2.11	0.0000	<i>sufB</i>
154	Artış	gene:BAE77775	4.31	0.0000	2.11	0.0000	<i>treF</i>
155	Artış	gene:BAA36141	4.30	0.0000	2.10	0.0000	<i>cbpM</i>
156	Artış	gene:BAA15455	4.30	0.0000	2.10	0.0000	<i>sufC</i>
157	Artış	gene:BAA14875	4.29	0.0000	2.10	0.0000	<i>pspC</i>
158	Artış	gene:BAA15939	4.25	0.0000	2.09	0.0000	<i>yegS</i>
159	Artış	gene:BAE96614	4.24	0.0000	2.08	0.0000	<i>kefF</i>
160	Artış	gene:BAA15538	4.24	0.0000	2.08	0.0000	<i>astD</i>
161	Artış	gene:BAE78069	4.17	0.0000	2.06	0.0000	<i>actP</i>
162	Artış	gene:BAA14984	4.14	0.0000	2.05	0.0000	<i>hslJ</i>
163	Artış	gene:BAE76123	4.14	0.0202	2.05	0.0060	<i>cynX</i>
164	Artış	gene:BAA35360	4.11	0.0058	2.04	0.0015	<i>ybfB</i>
165	Artış	gene:BAA35486	4.03	0.0000	2.01	0.0000	<i>ompX</i>
166	Artış	gene:BAE76233	4.03	0.0000	2.01	0.0000	<i>ybaY</i>
167	Artış	gene:BAE76555	4.00	0.0000	2.00	0.0000	<i>yedP</i>
168	Artış	gene:BAE76864	3.99	0.0000	2.00	0.0000	<i>yqcC</i>
169	Artış	gene:BAE77695	3.98	0.0224	1.99	0.0067	<i>yibl</i>
170	Artış	gene:BAE78151	3.97	0.0000	1.99	0.0000	<i>ecnB</i>
171	Artış	gene:BAA15126	3.97	0.0000	1.99	0.0000	<i>adhP</i>
172	Artış	gene:BAE76055	3.97	0.0000	1.99	0.0000	<i>yagH</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
173	Artış	gene:BAA16207	3.92	0.0000	1.97	0.0000	<i>yfdC</i>
174	Artış	gene:BAE78306	3.92	0.0000	1.97	0.0000	<i>fimE</i>
175	Artış	gene:BAA35449	3.90	0.0000	1.96	0.0000	<i>ybhP</i>
176	Artış	gene:BAE77123	3.87	0.0000	1.95	0.0000	<i>ygjG</i>
177	Artış	gene:BAA15840	3.87	0.0000	1.95	0.0000	<i>yeeD</i>
178	Artış	gene:BAA15128	3.84	0.0000	1.94	0.0000	<i>osmC</i>
179	Artış	gene:BAA35745	3.82	0.0000	1.93	0.0000	<i>appA</i>
180	Artış	gene:BAA35540	3.82	0.0000	1.93	0.0000	<i>ylil</i>
181	Artış	gene:BAE76595	3.79	0.0064	1.92	0.0016	<i>yehL</i>
182	Artış	gene:BAE76054	3.79	0.0014	1.92	0.0003	<i>yagG</i>
183	Artış	gene:BAA15978	3.78	0.0000	1.92	0.0000	<i>fruB</i>
184	Artış	gene:BAE77251	3.77	0.0000	1.91	0.0000	<i>yrbL</i>
185	Artış	gene:BAA77897	3.74	0.0000	1.90	0.0000	<i>yafL</i>
186	Artış	gene:BAE76515	3.73	0.0000	1.90	0.0000	<i>astE</i>
187	Artış	gene:BAE77352	3.72	0.0000	1.89	0.0000	<i>argB</i>
188	Artış	gene:BAA36140	3.71	0.0288	1.89	0.0091	<i>torD</i>
189	Artış	gene:BAE76094	3.70	0.0000	1.89	0.0000	<i>betA</i>
190	Artış	gene:BAE76603	3.68	0.0000	1.88	0.0000	<i>mlrA</i>
191	Artış	gene:BAE78096	3.67	0.0007	1.88	0.0001	<i>phnO</i>
192	Artış	gene:BAE78311	3.64	0.0000	1.86	0.0000	<i>fimF</i>
193	Artış	gene:BAA16321	3.62	0.0214	1.86	0.0064	<i>yffl</i>
194	Artış	gene:BAE76381	3.61	0.0013	1.85	0.0003	<i>ymfS</i>
195	Artış	gene:BAE76557	3.58	0.0003	1.84	0.0001	<i>yedR</i>
196	Artış	gene:BAE76541	3.58	0.0000	1.84	0.0000	<i>yebV</i>
197	Artış	gene:BAE76223	3.58	0.0000	1.84	0.0000	<i>ybaW</i>
198	Artış	gene:BAA35801	3.58	0.0000	1.84	0.0000	<i>phoH</i>
199	Artış	gene:BAE78292	3.58	0.0159	1.84	0.0045	<i>sgcE</i>
200	Artış	gene:BAA35715	3.54	0.0000	1.82	0.0000	<i>ompA</i>
201	Artış	gene:BAA35561	3.52	0.0000	1.82	0.0000	<i>ybjC</i>
202	Artış	gene:BAE78283	3.52	0.0120	1.82	0.0033	<i>fecR</i>
203	Artış	gene:BAE76433	3.49	0.0183	1.80	0.0053	<i>mokB</i>
204	Artış	gene:BAE77747	3.47	0.0000	1.79	0.0000	<i>yhjY</i>
205	Artış	gene:BAA15913	3.45	0.0003	1.79	0.0001	<i>wzc</i>
206	Artış	gene:BAA35359	3.44	0.0000	1.78	0.0000	<i>rhcC</i>
207	Artış	gene:BAA16056	3.44	0.0000	1.78	0.0000	<i>inaA</i>
208	Artış	gene:BAE78200	3.42	0.0000	1.77	0.0000	<i>yjfY</i>
209	Artış	gene:BAA16425	3.40	0.0000	1.76	0.0000	<i>iscR</i>
210	Artış	gene:BAE77696	3.39	0.0002	1.76	0.0000	<i>yibH</i>
211	Artış	gene:BAE77473	3.37	0.0000	1.75	0.0000	<i>metR</i>
212	Artış	gene:BAA35836	3.37	0.0000	1.75	0.0000	<i>ymdC</i>
213	Artış	gene:BAE78059	3.36	0.0000	1.75	0.0000	<i>yjbR</i>
214	Artış	gene:BAA15622	3.35	0.0000	1.75	0.0000	<i>yoaD</i>
215	Artış	gene:BAE78062	3.35	0.0005	1.74	0.0001	<i>yjcB</i>
216	Artış	gene:BAE76263	3.33	0.0000	1.73	0.0000	<i>copA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
217	Artış	gene:BAA15453	3.32	0.0000	1.73	0.0000	<i>sufA</i>
218	Artış	gene:BAA35366	3.29	0.0000	1.72	0.0000	<i>ybgA</i>
219	Artış	gene:BAE76452	3.29	0.0000	1.72	0.0000	<i>sra</i>
220	Artış	gene:BAE76070	3.28	0.0452	1.72	0.0153	<i>yagT</i>
221	Artış	gene:BAE76179	3.27	0.0000	1.71	0.0000	<i>phoB</i>
222	Artış	gene:BAE76783	3.26	0.0114	1.70	0.0031	<i>ygaX</i>
223	Artış	gene:BAE78312	3.25	0.0000	1.70	0.0000	<i>fimG</i>
224	Artış	gene:BAE77005	3.25	0.0000	1.70	0.0000	<i>metK</i>
225	Artış	gene:BAB96641	3.23	0.0006	1.69	0.0001	<i>leuC</i>
226	Artış	gene:BAA15909	3.23	0.0011	1.69	0.0002	<i>gmd</i>
227	Artış	gene:BAE76531	3.23	0.0000	1.69	0.0000	<i>yeaQ</i>
228	Artış	gene:BAE76446	3.22	0.0000	1.69	0.0000	<i>yncG</i>
229	Artış	gene:BAE76614	3.22	0.0000	1.69	0.0000	<i>yohF</i>
230	Artış	gene:BAA14950	3.19	0.0106	1.67	0.0029	<i>recE</i>
231	Artış	gene:BAA14793	3.16	0.0000	1.66	0.0000	<i>trpB</i>
232	Artış	gene:BAE78366	3.15	0.0000	1.65	0.0000	<i>yjjU</i>
233	Artış	gene:BAA16139	3.13	0.0000	1.65	0.0000	<i>yfcG</i>
234	Artış	gene:BAE76673	3.12	0.0000	1.64	0.0000	<i>yfbH</i>
235	Artış	gene:BAE76500	3.11	0.0000	1.64	0.0000	<i>sufE</i>
236	Artış	gene:BAE77009	3.10	0.0000	1.63	0.0000	<i>yggJ</i>
237	Artış	gene:BAA15102	3.09	0.0007	1.63	0.0001	<i>narV</i>
238	Artış	gene:BAA15580	3.08	0.0000	1.62	0.0000	<i>yeaG</i>
239	Artış	gene:BAE77080	3.06	0.0000	1.61	0.0000	<i>ygiW</i>
240	Artış	gene:BAE76095	3.05	0.0000	1.61	0.0000	<i>betB</i>
241	Artış	gene:BAE78329	3.05	0.0000	1.61	0.0000	<i>yjiN</i>
242	Artış	gene:BAE76144	3.05	0.0024	1.61	0.0005	<i>yaiP</i>
243	Artış	gene:BAA35470	3.03	0.0362	1.60	0.0118	<i>ybiX</i>
244	Artış	gene:BAE76559	3.01	0.0000	1.59	0.0000	<i>yedY</i>
245	Artış	gene:BAA35472	3.01	0.0000	1.59	0.0000	<i>ybiM</i>
246	Artış	gene:BAA15475	3.01	0.0000	1.59	0.0000	<i>ydiU</i>
247	Artış	gene:BAE78032	3.00	0.0000	1.58	0.0000	<i>yjbA</i>
248	Artış	gene:BAA35447	3.00	0.0001	1.58	0.0000	<i>ybhN</i>
249	Artış	gene:BAE76428	3.00	0.0000	1.58	0.0000	<i>paaK</i>
250	Artış	gene:BAA35353	2.99	0.0011	1.58	0.0002	<i>kdpC</i>
251	Artış	gene:BAA16527	2.98	0.0000	1.58	0.0000	<i>csiR</i>
252	Artış	gene:BAE76386	2.97	0.0033	1.57	0.0008	<i>ymgA</i>
253	Artış	gene:BAA16422	2.97	0.0000	1.57	0.0000	<i>iscA</i>
254	Artış	gene:BAE78310	2.97	0.0000	1.57	0.0000	<i>fimD</i>
255	Artış	gene:BAE78266	2.96	0.0000	1.57	0.0000	<i>yjgB</i>
256	Artış	gene:BAA77927	2.96	0.0002	1.56	0.0000	<i>ykfC</i>
257	Artış	gene:BAE77457	2.95	0.0000	1.56	0.0000	<i>fadB</i>
258	Artış	gene:BAB96727	2.95	0.0041	1.56	0.0010	<i>fhuC</i>
259	Artış	gene:BAA15688	2.95	0.0053	1.56	0.0013	<i>flhA</i>
260	Artış	gene:BAA35850	2.94	0.0000	1.56	0.0000	<i>msyB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
261	Artış	gene:BAA35851	2.93	0.0000	1.55	0.0000	<i>mdtG</i>
262	Artış	gene:BAA15044	2.92	0.0005	1.55	0.0001	<i>trg</i>
263	Artış	gene:BAA14946	2.90	0.0000	1.54	0.0000	<i>dbpA</i>
264	Artış	gene:BAA15977	2.90	0.0000	1.54	0.0000	<i>fruK</i>
265	Artış	gene:BAA15776	2.90	0.0000	1.53	0.0000	<i>rcaA</i>
266	Artış	gene:BAA16320	2.89	0.0064	1.53	0.0016	<i>yfeG</i>
267	Artış	gene:BAA35468	2.89	0.0000	1.53	0.0000	<i>ybiJ</i>
268	Artış	gene:BAE78187	2.88	0.0278	1.53	0.0087	<i>yjfC</i>
269	Artış	gene:BAA15933	2.88	0.0015	1.53	0.0003	<i>mdtD</i>
270	Artış	gene:BAA35835	2.85	0.0000	1.51	0.0000	<i>ymdB</i>
271	Artış	gene:BAA35639	2.84	0.0000	1.51	0.0000	<i>focA</i>
272	Artış	gene:BAE77740	2.84	0.0000	1.51	0.0000	<i>yiaG</i>
273	Artış	gene:BAA14839	2.84	0.0000	1.50	0.0000	<i>gmr</i>
274	Artış	gene:BAE78228	2.83	0.0000	1.50	0.0000	<i>ytfQ</i>
275	Artış	gene:BAA15087	2.83	0.0127	1.50	0.0035	<i>rhsE</i>
276	Artış	gene:BAA15154	2.81	0.0001	1.49	0.0000	<i>dos</i>
277	Artış	gene:BAE77562	2.81	0.0021	1.49	0.0005	<i>pstA</i>
278	Artış	gene:BAE76347	2.80	0.0027	1.49	0.0006	<i>fepB</i>
279	Artış	gene:BAE77198	2.80	0.0093	1.49	0.0025	<i>yraR</i>
280	Artış	gene:BAE76266	2.80	0.0000	1.49	0.0000	<i>cueR</i>
281	Artış	gene:BAE77471	2.80	0.0000	1.48	0.0000	<i>ysgA</i>
282	Artış	gene:BAE77800	2.80	0.0145	1.48	0.0041	<i>yhiO</i>
283	Artış	gene:BAA35201	2.80	0.0006	1.48	0.0001	<i>ybcH</i>
284	Artış	gene:BAE76560	2.79	0.0007	1.48	0.0001	<i>yedZ</i>
285	Artış	gene:BAA36005	2.78	0.0000	1.48	0.0000	<i>ymgD</i>
286	Artış	gene:BAA16420	2.78	0.0000	1.48	0.0000	<i>hscA</i>
287	Artış	gene:BAA35455	2.77	0.0000	1.47	0.0000	<i>ybhG</i>
288	Artış	gene:BAE78260	2.76	0.0000	1.47	0.0000	<i>yjgR</i>
289	Artış	gene:BAA15142	2.76	0.0007	1.47	0.0001	<i>ddpA</i>
290	Artış	gene:BAA77901	2.75	0.0000	1.46	0.0000	<i>dinB</i>
291	Artış	gene:BAA16536	2.74	0.0000	1.45	0.0000	<i>ygaC</i>
292	Artış	gene:BAE76149	2.72	0.0472	1.45	0.0162	<i>tauD</i>
293	Artış	gene:BAA36135	2.71	0.0006	1.44	0.0001	<i>torS</i>
294	Artış	gene:BAE76385	2.70	0.0028	1.43	0.0007	<i>ycgZ</i>
295	Artış	gene:BAE77426	2.69	0.0464	1.43	0.0159	<i>yihV</i>
296	Artış	gene:BAA77890	2.68	0.0000	1.42	0.0000	<i>ivy</i>
297	Artış	gene:BAE77845	2.68	0.0000	1.42	0.0000	<i>yhhA</i>
298	Artış	gene:BAE76165	2.67	0.0000	1.41	0.0000	<i>psiF</i>
299	Artış	gene:BAE77955	2.66	0.0000	1.41	0.0000	<i>bfr</i>
300	Artış	gene:BAE76275	2.66	0.0000	1.41	0.0000	<i>ybbP</i>
301	Artış	gene:BAA35269	2.65	0.0496	1.41	0.0173	<i>ybeM</i>
302	Artış	gene:BAE77729	2.65	0.0023	1.40	0.0005	<i>xylB</i>
303	Artış	gene:BAA35629	2.64	0.0000	1.40	0.0000	<i>ycaC</i>
304	Artış	gene:BAE78052	2.63	0.0003	1.40	0.0001	<i>yjbO</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
305	Artış	gene:BAA35830	2.63	0.0006	1.39	0.0001	<i>csgD</i>
306	Artış	gene:BAA16092	2.62	0.0000	1.39	0.0000	<i>menF</i>
307	Artış	gene:BAE77151	2.62	0.0027	1.39	0.0006	<i>yqjF</i>
308	Artış	gene:BAA35474	2.62	0.0000	1.39	0.0000	<i>ybiO</i>
309	Artış	gene:BAA35849	2.62	0.0132	1.39	0.0037	<i>yceK</i>
310	Artış	gene:BAA36043	2.61	0.0003	1.39	0.0001	<i>ycgB</i>
311	Artış	gene:BAE77929	2.61	0.0001	1.38	0.0000	<i>fic</i>
312	Artış	gene:BAA14902	2.61	0.0001	1.38	0.0000	<i>ycjX</i>
313	Artış	gene:BAE76849	2.61	0.0331	1.38	0.0107	<i>ygcU</i>
314	Artış	gene:BAE76287	2.60	0.0459	1.38	0.0156	<i>glxR</i>
315	Artış	gene:BAA15118	2.60	0.0000	1.38	0.0000	<i>narU</i>
316	Artış	gene:BAA77934	2.60	0.0001	1.38	0.0000	<i>yagE</i>
317	Artış	gene:BAA35834	2.60	0.0421	1.38	0.0141	<i>ymdA</i>
318	Artış	gene:BAE76731	2.60	0.0299	1.38	0.0094	<i>yphG</i>
319	Artış	gene:BAE77131	2.59	0.0000	1.37	0.0000	<i>fadH</i>
320	Artış	gene:BAE77150	2.58	0.0000	1.37	0.0000	<i>yqjK</i>
321	Artış	gene:BAA16429	2.58	0.0000	1.37	0.0000	<i>csiE</i>
322	Artış	gene:BAA35377	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>ybgL</i>
323	Artış	gene:BAA15539	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>astC</i>
324	Artış	gene:BAA16414	2.56	0.0004	1.36	0.0001	<i>yfhJ</i>
325	Artış	gene:BAA15374	2.56	0.0000	1.35	0.0000	<i>add</i>
326	Artış	gene:BAE77617	2.55	0.0001	1.35	0.0000	<i>yidH</i>
327	Artış	gene:BAE76183	2.55	0.0001	1.35	0.0000	<i>malZ</i>
328	Artış	gene:BAA36075	2.54	0.0000	1.35	0.0000	<i>chaB</i>
329	Artış	gene:BAA35367	2.54	0.0000	1.34	0.0000	<i>phr</i>
330	Artış	gene:BAA15081	2.54	0.0000	1.34	0.0000	<i>yncB</i>
331	Artış	gene:BAA14792	2.53	0.0000	1.34	0.0000	<i>trpA</i>
332	Artış	gene:BAA15848	2.53	0.0003	1.34	0.0001	<i>yeeY</i>
333	Artış	gene:BAB96589	2.52	0.0000	1.34	0.0000	<i>dnaK</i>
334	Artış	gene:BAE78284	2.52	0.0103	1.33	0.0028	<i>fecl</i>
335	Artış	gene:BAA35891	2.51	0.0054	1.33	0.0013	<i>flgK</i>
336	Artış	gene:BAA14794	2.51	0.0000	1.33	0.0000	<i>trpC</i>
337	Artış	gene:BAA16297	2.51	0.0314	1.33	0.0100	<i>cysW</i>
338	Artış	gene:BAA36067	2.50	0.0000	1.32	0.0000	<i>lolB</i>
339	Artış	gene:BAA77861	2.50	0.0000	1.32	0.0000	<i>ldcC</i>
340	Artış	gene:BAA15738	2.50	0.0008	1.32	0.0002	<i>yecS</i>
341	Artış	gene:BAB96703	2.47	0.0000	1.31	0.0000	<i>yadG</i>
342	Artış	gene:BAE77764	2.46	0.0000	1.30	0.0000	<i>bcsC</i>
343	Artış	gene:BAA35581	2.46	0.0000	1.30	0.0000	<i>ybjR</i>
344	Artış	gene:BAB96732	2.45	0.0000	1.29	0.0000	<i>clcA</i>
345	Artış	gene:BAA16528	2.45	0.0000	1.29	0.0000	<i>ygaU</i>
346	Artış	gene:BAB96617	2.45	0.0000	1.29	0.0000	<i>apaH</i>
347	Artış	gene:BAA35221	2.43	0.0000	1.28	0.0000	<i>ybdK</i>
348	Artış	gene:BAA15531	2.43	0.0000	1.28	0.0000	<i>spy</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
349	Artış	gene:BAA15210	2.43	0.0021	1.28	0.0005	<i>ydeA</i>
350	Artış	gene:BAA16577	2.42	0.0129	1.28	0.0036	<i>glgS</i>
351	Artış	gene:BAE76605	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>yehW</i>
352	Artış	gene:BAA15755	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>amyA</i>
353	Artış	gene:BAE76554	2.40	0.0001	1.27	0.0000	<i>yodD</i>
354	Artış	gene:BAE76135	2.40	0.0183	1.27	0.0053	<i>mhpT</i>
355	Artış	gene:BAA36088	2.40	0.0001	1.26	0.0000	<i>ychP</i>
356	Artış	gene:BAE77369	2.39	0.0140	1.26	0.0039	<i>metF</i>
357	Artış	gene:BAA15901	2.39	0.0123	1.26	0.0034	<i>cpsG</i>
358	Artış	gene:BAE76590	2.39	0.0000	1.26	0.0000	<i>yehE</i>
359	Artış	gene:BAA35484	2.38	0.0000	1.25	0.0000	<i>dps</i>
360	Artış	gene:BAE76192	2.37	0.0000	1.25	0.0000	<i>yajl</i>
361	Artış	gene:BAA36076	2.37	0.0000	1.24	0.0000	<i>chaC</i>
362	Artış	gene:BAA35685	2.36	0.0445	1.24	0.0151	<i>ssuB</i>
363	Artış	gene:BAE77846	2.36	0.0000	1.24	0.0000	<i>ggt</i>
364	Artış	gene:BAA14924	2.35	0.0474	1.24	0.0163	<i>insH</i>
365	Artış	gene:BAA16537	2.35	0.0000	1.23	0.0000	<i>ygaM</i>
366	Artış	gene:BAE76880	2.35	0.0000	1.23	0.0000	<i>gcvA</i>
367	Artış	gene:BAE76483	2.35	0.0000	1.23	0.0000	<i>blr</i>
368	Artış	gene:BAE77561	2.34	0.0056	1.23	0.0014	<i>pstC</i>
369	Artış	gene:BAA15428	2.34	0.0000	1.23	0.0000	<i>cfa</i>
370	Artış	gene:BAA35274	2.33	0.0000	1.22	0.0000	<i>ybeD</i>
371	Artış	gene:BAE76648	2.33	0.0000	1.22	0.0000	<i>rsuA</i>
372	Artış	gene:BAA16539	2.32	0.0305	1.21	0.0097	<i>nrdE</i>
373	Artış	gene:BAE76863	2.30	0.0278	1.20	0.0087	<i>yqcB</i>
374	Artış	gene:BAE78145	2.30	0.0000	1.20	0.0000	<i>groL</i>
375	Artış	gene:BAE76551	2.30	0.0071	1.20	0.0019	<i>yedK</i>
376	Artış	gene:BAA15585	2.30	0.0000	1.20	0.0000	<i>yeaH</i>
377	Artış	gene:BAE77677	2.30	0.0101	1.20	0.0027	<i>yibD</i>
378	Artış	gene:BAE77149	2.30	0.0000	1.20	0.0000	<i>yqjE</i>
379	Artış	gene:BAA15996	2.29	0.0003	1.20	0.0001	<i>ada</i>
380	Artış	gene:BAE77050	2.29	0.0000	1.20	0.0000	<i>yghU</i>
381	Artış	gene:BAE76987	2.29	0.0006	1.19	0.0001	<i>argO</i>
382	Artış	gene:BAA35255	2.28	0.0004	1.19	0.0001	<i>citA</i>
383	Artış	gene:BAE78313	2.28	0.0000	1.19	0.0000	<i>fimH</i>
384	Artış	gene:BAA35595	2.27	0.0000	1.18	0.0000	<i>ybjX</i>
385	Artış	gene:BAE76053	2.27	0.0000	1.18	0.0000	<i>yagF</i>
386	Artış	gene:BAA14845	2.26	0.0062	1.18	0.0016	<i>sapC</i>
387	Artış	gene:BAA16396	2.26	0.0002	1.18	0.0000	<i>xseA</i>
388	Artış	gene:BAE76096	2.26	0.0000	1.18	0.0000	<i>betI</i>
389	Artış	gene:BAE96590	2.25	0.0001	1.17	0.0000	<i>dnaJ</i>
390	Artış	gene:BAE77122	2.25	0.0002	1.17	0.0000	<i>aer</i>
391	Artış	gene:BAA16446	2.24	0.0000	1.17	0.0000	<i>yphA</i>
392	Artış	gene:BAE78324	2.24	0.0002	1.16	0.0000	<i>kptA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
393	Artış	gene:BAE78229	2.24	0.0042	1.16	0.0010	<i>ytfR</i>
394	Artış	gene:BAE78372	2.23	0.0000	1.16	0.0000	<i>deoB</i>
395	Artış	gene:BAE78345	2.23	0.0040	1.16	0.0010	<i>tsr</i>
396	Artış	gene:BAA35314	2.23	0.0000	1.16	0.0000	<i>ybeY</i>
397	Artış	gene:BAE78031	2.23	0.0013	1.16	0.0003	<i>yjbH</i>
398	Artış	gene:BAE78026	2.22	0.0000	1.15	0.0000	<i>lysC</i>
399	Artış	gene:BAE78362	2.22	0.0015	1.15	0.0003	<i>yjjG</i>
400	Artış	gene:BAA15649	2.22	0.0005	1.15	0.0001	<i>pphA</i>
401	Artış	gene:BAE77266	2.21	0.0002	1.15	0.0000	<i>nanE</i>
402	Artış	gene:BAE77148	2.21	0.0000	1.14	0.0000	<i>yqjD</i>
403	Artış	gene:BAE78240	2.21	0.0001	1.14	0.0000	<i>treR</i>
404	Artış	gene:BAE78058	2.20	0.0001	1.14	0.0000	<i>yjbQ</i>
405	Artış	gene:BAA15155	2.20	0.0009	1.14	0.0002	<i>yddV</i>
406	Artış	gene:BAA16563	2.20	0.0120	1.14	0.0033	<i>mltB</i>
407	Artış	gene:BAA35315	2.19	0.0000	1.13	0.0000	<i>ybeZ</i>
408	Artış	gene:BAE76828	2.19	0.0070	1.13	0.0018	<i>cysN</i>
409	Artış	gene:BAE76607	2.18	0.0045	1.12	0.0011	<i>yehY</i>
410	Artış	gene:BAA15431	2.17	0.0000	1.12	0.0000	<i>ydhQ</i>
411	Artış	gene:BAA35348	2.17	0.0374	1.12	0.0123	<i>potE</i>
412	Artış	gene:BAA35467	2.17	0.0000	1.12	0.0000	<i>ybiC</i>
413	Artış	gene:BAA35872	2.17	0.0000	1.12	0.0000	<i>grxB</i>
414	Artış	gene:BAE76786	2.17	0.0189	1.12	0.0056	<i>norR</i>
415	Artış	gene:BAA77928	2.17	0.0317	1.12	0.0101	<i>mmuP</i>
416	Artış	gene:BAE76391	2.17	0.0080	1.11	0.0021	<i>ycgY</i>
417	Artış	gene:BAE77733	2.17	0.0001	1.11	0.0000	<i>ysaB</i>
418	Artış	gene:BAA16295	2.16	0.0057	1.11	0.0014	<i>cysM</i>
419	Artış	gene:BAA15467	2.15	0.0473	1.11	0.0163	<i>ydiR</i>
420	Artış	gene:BAA15739	2.15	0.0002	1.11	0.0000	<i>yedO</i>
421	Artış	gene:BAA16242	2.15	0.0430	1.10	0.0145	<i>yfdE</i>
422	Artış	gene:BAA35569	2.15	0.0004	1.10	0.0001	<i>ybjO</i>
423	Artış	gene:BAE78095	2.14	0.0163	1.10	0.0046	<i>phnP</i>
424	Artış	gene:BAE76204	2.14	0.0000	1.10	0.0000	<i>yajL</i>
425	Artış	gene:BAA35907	2.14	0.0001	1.10	0.0000	<i>ycfH</i>
426	Artış	gene:BAA15073	2.14	0.0002	1.09	0.0000	<i>ydcW</i>
427	Artış	gene:BAE77954	2.14	0.0396	1.09	0.0132	<i>bfd</i>
428	Artış	gene:BAA15458	2.13	0.0001	1.09	0.0000	<i>ynhG</i>
429	Artış	gene:BAA77882	2.13	0.0000	1.09	0.0000	<i>mltD</i>
430	Artış	gene:BAE77119	2.13	0.0000	1.09	0.0000	<i>ygjF</i>
431	Artış	gene:BAE78014	2.12	0.0041	1.09	0.0010	<i>yjaB</i>
432	Artış	gene:BAA35731	2.11	0.0001	1.08	0.0000	<i>yccV</i>
433	Artış	gene:BAE76261	2.11	0.0010	1.07	0.0002	<i>ybaP</i>
434	Artış	gene:BAE76274	2.10	0.0058	1.07	0.0015	<i>ybbA</i>
435	Artış	gene:BAA36053	2.09	0.0370	1.07	0.0122	<i>ymgE</i>
436	Artış	gene:BAA15500	2.09	0.0000	1.07	0.0000	<i>pfkB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
437	Artış	gene:BAE76045	2.09	0.0002	1.06	0.0000	<i>glnD</i>
438	Artış	gene:BAA35352	2.09	0.0003	1.06	0.0001	<i>kdpD</i>
439	Artış	gene:BAE76460	2.08	0.0008	1.06	0.0002	<i>yneE</i>
440	Artış	gene:BAA35727	2.08	0.0000	1.06	0.0000	<i>helD</i>
441	Artış	gene:BAA77926	2.08	0.0010	1.06	0.0002	<i>insO</i>
442	Artış	gene:BAE78016	2.08	0.0000	1.06	0.0000	<i>aceB</i>
443	Artış	gene:BAA15473	2.08	0.0003	1.05	0.0001	<i>aroH</i>
444	Artış	gene:BAA15652	2.07	0.0001	1.05	0.0000	<i>yebE</i>
445	Artış	gene:BAA35230	2.07	0.0013	1.05	0.0003	<i>ybdL</i>
446	Artış	gene:BAE76988	2.07	0.0000	1.05	0.0000	<i>mscS</i>
447	Artış	gene:BAA15926	2.07	0.0016	1.05	0.0003	<i>alkA</i>
448	Artış	gene:BAE76267	2.07	0.0005	1.05	0.0001	<i>ybbJ</i>
449	Artış	gene:BAE76613	2.06	0.0000	1.05	0.0000	<i>yohD</i>
450	Artış	gene:BAA36050	2.06	0.0026	1.04	0.0006	<i>ldcA</i>
451	Artış	gene:BAE76184	2.06	0.0024	1.04	0.0005	<i>yajB</i>
452	Artış	gene:BAE77443	2.06	0.0001	1.04	0.0000	<i>yihI</i>
453	Artış	gene:BAE78220	2.05	0.0000	1.03	0.0000	<i>msrA</i>
454	Artış	gene:BAA77880	2.04	0.0000	1.03	0.0000	<i>yafD</i>
455	Artış	gene:BAE78153	2.03	0.0001	1.02	0.0000	<i>blc</i>
456	Artış	gene:BAE78215	2.03	0.0001	1.02	0.0000	<i>cysQ</i>
457	Artış	gene:BAA16384	2.03	0.0001	1.02	0.0000	<i>hda</i>
458	Artış	gene:BAA16287	2.03	0.0002	1.02	0.0000	<i>cysZ</i>
459	Artış	gene:BAA14982	2.02	0.0000	1.02	0.0000	<i>ydbK</i>
460	Artış	gene:BAA15934	2.02	0.0313	1.01	0.0099	<i>baeS</i>
461	Artış	gene:BAA14923	2.02	0.0002	1.01	0.0000	<i>ynal</i>
462	Artış	gene:BAE76841	2.02	0.0249	1.01	0.0076	<i>cysJ</i>
463	Artış	gene:BAE77323	2.02	0.0051	1.01	0.0013	<i>nudC</i>
464	Artış	gene:BAE77819	2.02	0.0038	1.01	0.0009	<i>yhhT</i>
465	Artış	gene:BAE77872	2.02	0.0097	1.01	0.0026	<i>rtcA</i>
466	Artış	gene:BAE77152	2.01	0.0000	1.01	0.0000	<i>yqjG</i>
467	Artış	gene:BAA36054	2.01	0.0003	1.01	0.0000	<i>treA</i>
468	Artış	gene:BAE78309	2.01	0.0002	1.01	0.0000	<i>fimC</i>
469	Artış	gene:BAA16076	2.01	0.0003	1.01	0.0001	<i>yfbE</i>
470	Artış	gene:BAA35729	2.00	0.0048	1.00	0.0012	<i>yccT</i>
471	Azalış	gene:BAE77767	-2.00	0.0000	-1.00	0.0000	<i>yhjJ</i>
472	Azalış	gene:BAE77942	-2.00	0.0000	-1.00	0.0000	<i>slyD</i>
473	Azalış	gene:BAE76749	-2.00	0.0001	-1.00	0.0000	<i>rpoE</i>
474	Azalış	gene:BAE76388	-2.01	0.0027	-1.01	0.0006	<i>ymgF</i>
475	Azalış	gene:BAE77085	-2.01	0.0001	-1.01	0.0000	<i>ygiN</i>
476	Azalış	gene:BAE77583	-2.01	0.0001	-1.01	0.0000	<i>tnaB</i>
477	Azalış	gene:BAE76658	-2.01	0.0225	-1.01	0.0068	<i>ccmG</i>
478	Azalış	gene:BAA35968	-2.02	0.0001	-1.01	0.0000	<i>lit</i>
479	Azalış	gene:BAA35388	-2.02	0.0000	-1.02	0.0000	<i>sdhC</i>
480	Azalış	gene:BAA15735	-2.02	0.0016	-1.02	0.0004	<i>yecF</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
481	Azalış	gene:BAA15625	-2.02	0.0004	-1.02	0.0001	<i>manY</i>
482	Azalış	gene:BAA16209	-2.03	0.0001	-1.02	0.0000	<i>yfdG</i>
483	Azalış	gene:BAE77446	-2.04	0.0025	-1.03	0.0006	<i>yihG</i>
484	Azalış	gene:BAE78173	-2.04	0.0000	-1.03	0.0000	<i>hfq</i>
485	Azalış	gene:BAA35216	-2.04	0.0051	-1.03	0.0013	<i>pheP</i>
486	Azalış	gene:BAE77340	-2.05	0.0000	-1.03	0.0000	<i>tufB</i>
487	Azalış	gene:BAE77064	-2.05	0.0071	-1.04	0.0018	<i>exbB</i>
488	Azalış	gene:BAA36008	-2.05	0.0000	-1.04	0.0000	<i>minE</i>
489	Azalış	gene:BAA35307	-2.05	0.0000	-1.04	0.0000	<i>gtI</i>
490	Azalış	gene:BAA15204	-2.06	0.0012	-1.04	0.0003	<i>uxaB</i>
491	Azalış	gene:BAA35528	-2.06	0.0173	-1.04	0.0050	<i>yliE</i>
492	Azalış	gene:BAA15877	-2.06	0.0001	-1.04	0.0000	<i>wbbH</i>
493	Azalış	gene:BAA15805	-2.06	0.0006	-1.05	0.0001	<i>cbl</i>
494	Azalış	gene:BAA16210	-2.06	0.0003	-1.05	0.0000	<i>yfdH</i>
495	Azalış	gene:BAE76497	-2.08	0.0185	-1.05	0.0054	<i>ydhW</i>
496	Azalış	gene:BAE77931	-2.08	0.0042	-1.05	0.0010	<i>argD</i>
497	Azalış	gene:BAA35270	-2.08	0.0000	-1.06	0.0000	<i>tatE</i>
498	Azalış	gene:BAE76110	-2.09	0.0405	-1.06	0.0135	<i>yahM</i>
499	Azalış	gene:BAA15803	-2.09	0.0000	-1.06	0.0000	<i>yeeN</i>
500	Azalış	gene:BAE77551	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>atpE</i>
501	Azalış	gene:BAE77004	-2.10	0.0317	-1.07	0.0101	<i>yqgD</i>
502	Azalış	gene:BAA14906	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>tpx</i>
503	Azalış	gene:BAB96737	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>dgt</i>
504	Azalış	gene:BAE77548	-2.10	0.0001	-1.07	0.0000	<i>gidB</i>
505	Azalış	gene:BAA15624	-2.11	0.0000	-1.07	0.0000	<i>manX</i>
506	Azalış	gene:BAA16385	-2.11	0.0109	-1.07	0.0030	<i>uraA</i>
507	Azalış	gene:BAA15662	-2.11	0.0000	-1.08	0.0000	<i>pykA</i>
508	Azalış	gene:BAA15631	-2.11	0.0000	-1.08	0.0000	<i>manZ</i>
509	Azalış	gene:BAE76704	-2.12	0.0033	-1.08	0.0008	<i>torI</i>
510	Azalış	gene:BAA15634	-2.13	0.0000	-1.09	0.0000	<i>cspC</i>
511	Azalış	gene:BAA35602	-2.13	0.0001	-1.09	0.0000	<i>infA</i>
512	Azalış	gene:BAA35321	-2.13	0.0000	-1.09	0.0000	<i>nagB</i>
513	Azalış	gene:BAE78157	-2.13	0.0049	-1.09	0.0012	<i>frdB</i>
514	Azalış	gene:BAE76980	-2.13	0.0001	-1.09	0.0000	<i>argP</i>
515	Azalış	gene:BAA35626	-2.13	0.0001	-1.09	0.0000	<i>dmsA</i>
516	Azalış	gene:BAA16159	-2.13	0.0000	-1.09	0.0000	<i>cvpA</i>
517	Azalış	gene:BAA16241	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>evgS</i>
518	Azalış	gene:BAE77337	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>rplK</i>
519	Azalış	gene:BAA16494	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>rpsP</i>
520	Azalış	gene:BAE77824	-2.15	0.0000	-1.10	0.0000	<i>zntA</i>
521	Azalış	gene:BAA16063	-2.15	0.0008	-1.10	0.0002	<i>yfaD</i>
522	Azalış	gene:BAE76712	-2.15	0.0000	-1.10	0.0000	<i>yfeY</i>
523	Azalış	gene:BAE77982	-2.15	0.0000	-1.10	0.0000	<i>rplX</i>
524	Azalış	gene:BAA16054	-2.15	0.0000	-1.11	0.0000	<i>nrdB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
525	Azalış	gene:BAA14806	-2.15	0.0000	-1.11	0.0000	<i>rluB</i>
526	Azalış	gene:BAA16155	-2.15	0.0000	-1.11	0.0000	<i>hisJ</i>
527	Azalış	gene:BAE78160	-2.16	0.0030	-1.11	0.0007	<i>yjeM</i>
528	Azalış	gene:BAA15256	-2.16	0.0224	-1.11	0.0067	<i>cspB</i>
529	Azalış	gene:BAA16484	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>pheA</i>
530	Azalış	gene:BAA15343	-2.17	0.0027	-1.12	0.0006	<i>ydgl</i>
531	Azalış	gene:BAE77022	-2.17	0.0000	-1.12	0.0000	<i>yggL</i>
532	Azalış	gene:BAA16123	-2.18	0.0000	-1.12	0.0000	<i>nuoA</i>
533	Azalış	gene:BAA15654	-2.18	0.0001	-1.12	0.0000	<i>yebG</i>
534	Azalış	gene:BAA16000	-2.18	0.0000	-1.13	0.0000	<i>rcsB</i>
535	Azalış	gene:BAA16053	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>nrdA</i>
536	Azalış	gene:BAE77382	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>yiiU</i>
537	Azalış	gene:BAA35304	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>gltL</i>
538	Azalış	gene:BAE76302	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>ppiB</i>
539	Azalış	gene:BAA15757	-2.19	0.0002	-1.13	0.0000	<i>yedE</i>
540	Azalış	gene:BAE77741	-2.20	0.0000	-1.13	0.0000	<i>yiaF</i>
541	Azalış	gene:BAE77581	-2.20	0.0000	-1.14	0.0000	<i>tnaB</i>
542	Azalış	gene:BAE77302	-2.21	0.0002	-1.14	0.0000	<i>fis</i>
543	Azalış	gene:BAE77799	-2.21	0.0008	-1.15	0.0002	<i>uspA</i>
544	Azalış	gene:BAA35945	-2.22	0.0029	-1.15	0.0007	<i>potB</i>
545	Azalış	gene:BAA16568	-2.25	0.0004	-1.17	0.0001	<i>srlR</i>
546	Azalış	gene:BAE76659	-2.25	0.0010	-1.17	0.0002	<i>ccmF</i>
547	Azalış	gene:BAA35915	-2.25	0.0000	-1.17	0.0000	<i>ycfP</i>
548	Azalış	gene:BAE76057	-2.25	0.0050	-1.17	0.0012	<i>argF</i>
549	Azalış	gene:BAE76683	-2.25	0.0051	-1.17	0.0013	<i>yfbP</i>
550	Azalış	gene:BAA35700	-2.26	0.0015	-1.17	0.0003	<i>pyrD</i>
551	Azalış	gene:BAE77521	-2.26	0.0000	-1.17	0.0000	<i>yjfO</i>
552	Azalış	gene:BAE76660	-2.26	0.0060	-1.18	0.0015	<i>ccmE</i>
553	Azalış	gene:BAA15860	-2.27	0.0000	-1.18	0.0000	<i>ugd</i>
554	Azalış	gene:BAE77230	-2.27	0.0000	-1.18	0.0000	<i>rplU</i>
555	Azalış	gene:BAE76525	-2.27	0.0047	-1.18	0.0011	<i>yeaC</i>
556	Azalış	gene:BAA15369	-2.27	0.0000	-1.18	0.0000	<i>uidR</i>
557	Azalış	gene:BAE76877	-2.27	0.0000	-1.19	0.0000	<i>fucR</i>
558	Azalış	gene:BAA16432	-2.28	0.0000	-1.19	0.0000	<i>hcaR</i>
559	Azalış	gene:BAE76857	-2.28	0.0059	-1.19	0.0015	<i>chpR</i>
560	Azalış	gene:BAA35487	-2.28	0.0011	-1.19	0.0002	<i>ybiP</i>
561	Azalış	gene:BAE78140	-2.29	0.0000	-1.19	0.0000	<i>dcuA</i>
562	Azalış	gene:BAA35548	-2.29	0.0001	-1.20	0.0000	<i>ybjI</i>
563	Azalış	gene:BAA77910	-2.30	0.0288	-1.20	0.0090	<i>phoE</i>
564	Azalış	gene:BAE76785	-2.31	0.0004	-1.21	0.0001	<i>gutQ</i>
565	Azalış	gene:BAE77029	-2.31	0.0000	-1.21	0.0000	<i>yqgA</i>
566	Azalış	gene:BAE76238	-2.31	0.0001	-1.21	0.0000	<i>maa</i>
567	Azalış	gene:BAE77061	-2.31	0.0000	-1.21	0.0000	<i>yqhA</i>
568	Azalış	gene:BAA16502	-2.31	0.0000	-1.21	0.0000	<i>smpA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
569	Azalış	gene:BAA35317	-2.32	0.0000	-1.21	0.0000	<i>asnB</i>
570	Azalış	gene:BAE77056	-2.32	0.0001	-1.21	0.0000	<i>hybB</i>
571	Azalış	gene:BAA14838	-2.33	0.0000	-1.22	0.0000	<i>yciT</i>
572	Azalış	gene:BAE76216	-2.33	0.0000	-1.22	0.0000	<i>tig</i>
573	Azalış	gene:BAE77591	-2.33	0.0000	-1.22	0.0000	<i>rpmH</i>
574	Azalış	gene:BAA35803	-2.34	0.0245	-1.23	0.0075	<i>ycdQ</i>
575	Azalış	gene:BAE77812	-2.35	0.0056	-1.23	0.0014	<i>nikR</i>
576	Azalış	gene:BAE77620	-2.35	0.0004	-1.24	0.0001	<i>emrD</i>
577	Azalış	gene:BAE76806	-2.36	0.0000	-1.24	0.0000	<i>hypD</i>
578	Azalış	gene:BAA14922	-2.36	0.0000	-1.24	0.0000	<i>mppA</i>
579	Azalış	gene:BAE77060	-2.37	0.0000	-1.24	0.0000	<i>yghZ</i>
580	Azalış	gene:BAE77647	-2.37	0.0016	-1.25	0.0004	<i>yicG</i>
581	Azalış	gene:BAE78354	-2.38	0.0012	-1.25	0.0003	<i>yjjP</i>
582	Azalış	gene:BAE77654	-2.38	0.0000	-1.25	0.0000	<i>yicR</i>
583	Azalış	gene:BAA35897	-2.38	0.0000	-1.25	0.0000	<i>rpmF</i>
584	Azalış	gene:BAE76047	-2.38	0.0058	-1.25	0.0014	<i>yafN</i>
585	Azalış	gene:BAA16248	-2.40	0.0000	-1.26	0.0000	<i>ddg</i>
586	Azalış	gene:BAE76466	-2.41	0.0080	-1.27	0.0021	<i>ydfO</i>
587	Azalış	gene:BAB96683	-2.42	0.0000	-1.27	0.0000	<i>pdhR</i>
588	Azalış	gene:BAE77469	-2.42	0.0000	-1.27	0.0000	<i>rmuC</i>
589	Azalış	gene:BAE77318	-2.42	0.0004	-1.28	0.0001	<i>yjaH</i>
590	Azalış	gene:BAE76760	-2.43	0.0123	-1.28	0.0034	<i>yfjI</i>
591	Azalış	gene:BAE76807	-2.43	0.0000	-1.28	0.0000	<i>hypE</i>
592	Azalış	gene:BAA15955	-2.44	0.0000	-1.29	0.0000	<i>gatC</i>
593	Azalış	gene:BAE76871	-2.44	0.0028	-1.29	0.0006	<i>fucO</i>
594	Azalış	gene:BAA15421	-2.45	0.0000	-1.29	0.0000	<i>ydhO</i>
595	Azalış	gene:BAE78315	-2.45	0.0000	-1.29	0.0000	<i>uxuA</i>
596	Azalış	gene:BAE77336	-2.45	0.0000	-1.29	0.0000	<i>rplA</i>
597	Azalış	gene:BAE77727	-2.45	0.0008	-1.29	0.0002	<i>xylF</i>
598	Azalış	gene:BAA35417	-2.46	0.0000	-1.30	0.0000	<i>gpmA</i>
599	Azalış	gene:BAE76545	-2.46	0.0000	-1.30	0.0000	<i>yobA</i>
600	Azalış	gene:BAE77447	-2.46	0.0008	-1.30	0.0002	<i>yihF</i>
601	Azalış	gene:BAE78040	-2.48	0.0134	-1.31	0.0037	<i>yjbl</i>
602	Azalış	gene:BAE77663	-2.48	0.0000	-1.31	0.0000	<i>rfaS</i>
603	Azalış	gene:BAE76781	-2.49	0.0003	-1.31	0.0001	<i>ygaW</i>
604	Azalış	gene:BAE77573	-2.50	0.0000	-1.32	0.0000	<i>yieH</i>
605	Azalış	gene:BAA14788	-2.50	0.0000	-1.32	0.0000	<i>ompW</i>
606	Azalış	gene:BAE76705	-2.51	0.0123	-1.33	0.0034	<i>yfdX</i>
607	Azalış	gene:BAE77057	-2.51	0.0000	-1.33	0.0000	<i>hybA</i>
608	Azalış	gene:BAA15422	-2.51	0.0001	-1.33	0.0000	<i>sodB</i>
609	Azalış	gene:BAE76212	-2.52	0.0000	-1.33	0.0000	<i>cyoA</i>
610	Azalış	gene:BAA77909	-2.52	0.0000	-1.33	0.0000	<i>crl</i>
611	Azalış	gene:BAE77273	-2.52	0.0000	-1.33	0.0000	<i>rpsI</i>
612	Azalış	gene:BAE78147	-2.52	0.0032	-1.34	0.0007	<i>yjeJ</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
613	Azalış	gene:BAE77666	-2.53	0.0000	-1.34	0.0000	<i>rfaJ</i>
614	Azalış	gene:BAA15956	-2.53	0.0000	-1.34	0.0000	<i>gatB</i>
615	Azalış	gene:BAE78131	-2.53	0.0003	-1.34	0.0001	<i>yjdO</i>
616	Azalış	gene:BAE76190	-2.54	0.0000	-1.34	0.0000	<i>yajD</i>
617	Azalış	gene:BAE76472	-2.54	0.0156	-1.34	0.0044	<i>flxA</i>
618	Azalış	gene:BAA77883	-2.55	0.0000	-1.35	0.0000	<i>gloB</i>
619	Azalış	gene:BAE77159	-2.55	0.0002	-1.35	0.0000	<i>yhaO</i>
620	Azalış	gene:BAE76625	-2.56	0.0048	-1.35	0.0012	<i>mgIC</i>
621	Azalış	gene:BAE77128	-2.56	0.0155	-1.36	0.0044	<i>ygjI</i>
622	Azalış	gene:BAE78316	-2.56	0.0000	-1.36	0.0000	<i>uxuB</i>
623	Azalış	gene:BAE76663	-2.57	0.0000	-1.36	0.0000	<i>ccmB</i>
624	Azalış	gene:BAE77142	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>uxaC</i>
625	Azalış	gene:BAE76519	-2.58	0.0011	-1.37	0.0002	<i>ydjZ</i>
626	Azalış	gene:BAA15519	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>chbB</i>
627	Azalış	gene:BAB96744	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>rpsB</i>
628	Azalış	gene:BAA16229	-2.58	0.0002	-1.37	0.0000	<i>dsdA</i>
629	Azalış	gene:BAE78156	-2.59	0.0000	-1.37	0.0000	<i>frdC</i>
630	Azalış	gene:BAE77470	-2.60	0.0000	-1.38	0.0000	<i>udp</i>
631	Azalış	gene:BAA35805	-2.60	0.0003	-1.38	0.0001	<i>ycdR</i>
632	Azalış	gene:BAA16345	-2.60	0.0000	-1.38	0.0000	<i>yffB</i>
633	Azalış	gene:BAE77933	-2.60	0.0000	-1.38	0.0000	<i>crp</i>
634	Azalış	gene:BAA16313	-2.61	0.0011	-1.38	0.0002	<i>murP</i>
635	Azalış	gene:BAE77539	-2.61	0.0000	-1.39	0.0000	<i>rbsA</i>
636	Azalış	gene:BAE77324	-2.62	0.0000	-1.39	0.0000	<i>rsd</i>
637	Azalış	gene:BAA35714	-2.63	0.0000	-1.39	0.0000	<i>ycbG</i>
638	Azalış	gene:BAE78214	-2.63	0.0000	-1.39	0.0000	<i>cpdB</i>
639	Azalış	gene:BAE77274	-2.64	0.0000	-1.40	0.0000	<i>rplM</i>
640	Azalış	gene:BAA15726	-2.64	0.0000	-1.40	0.0000	<i>yecl</i>
641	Azalış	gene:BAE77655	-2.64	0.0000	-1.40	0.0000	<i>rpmB</i>
642	Azalış	gene:BAA15618	-2.65	0.0000	-1.40	0.0000	<i>yoaB</i>
643	Azalış	gene:BAE76853	-2.65	0.0000	-1.41	0.0000	<i>eno</i>
644	Azalış	gene:BAE77609	-2.66	0.0000	-1.41	0.0000	<i>yidE</i>
645	Azalış	gene:BAE78155	-2.66	0.0000	-1.41	0.0000	<i>frdD</i>
646	Azalış	gene:BAE76520	-2.66	0.0001	-1.41	0.0000	<i>ynjA</i>
647	Azalış	gene:BAE77102	-2.67	0.0002	-1.42	0.0000	<i>yqiJ</i>
648	Azalış	gene:BAA15957	-2.67	0.0000	-1.42	0.0000	<i>gatA</i>
649	Azalış	gene:BAA16314	-2.68	0.0000	-1.42	0.0000	<i>yfeW</i>
650	Azalış	gene:BAA35758	-2.68	0.0178	-1.42	0.0052	<i>gnsA</i>
651	Azalış	gene:BAA15484	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>rpml</i>
652	Azalış	gene:BAA15040	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>ydcA</i>
653	Azalış	gene:BAA16198	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>yfcZ</i>
654	Azalış	gene:BAE77392	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>cdh</i>
655	Azalış	gene:BAE77203	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>yhbT</i>
656	Azalış	gene:BAE76521	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>ynjB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
657	Azalış	gene:BAE76139	-2.71	0.0004	-1.44	0.0001	<i>frmR</i>
658	Azalış	gene:BAE77419	-2.71	0.0001	-1.44	0.0000	<i>yiiF</i>
659	Azalış	gene:BAA16156	-2.71	0.0000	-1.44	0.0000	<i>argT</i>
660	Azalış	gene:BAE78249	-2.74	0.0000	-1.46	0.0000	<i>yjgK</i>
661	Azalış	gene:BAA16491	-2.75	0.0000	-1.46	0.0000	<i>rplS</i>
662	Azalış	gene:BAE77667	-2.76	0.0000	-1.46	0.0000	<i>rfaY</i>
663	Azalış	gene:BAA35998	-2.76	0.0000	-1.46	0.0000	<i>ycgF</i>
664	Azalış	gene:BAE77533	-2.76	0.0000	-1.46	0.0000	<i>yieP</i>
665	Azalış	gene:BAE78134	-2.76	0.0000	-1.47	0.0000	<i>cadA</i>
666	Azalış	gene:BAA16498	-2.76	0.0000	-1.47	0.0000	<i>grpE</i>
667	Azalış	gene:BAE76699	-2.77	0.0273	-1.47	0.0085	<i>yfdQ</i>
668	Azalış	gene:BAE77341	-2.77	0.0000	-1.47	0.0000	<i>coaA</i>
669	Azalış	gene:BAE77540	-2.77	0.0000	-1.47	0.0000	<i>rbsD</i>
670	Azalış	gene:BAE78336	-2.77	0.0000	-1.47	0.0000	<i>mcrB</i>
671	Azalış	gene:BAE76628	-2.78	0.0003	-1.47	0.0001	<i>galS</i>
672	Azalış	gene:BAA15465	-2.78	0.0000	-1.48	0.0000	<i>ydiP</i>
673	Azalış	gene:BAE77536	-2.78	0.0000	-1.48	0.0000	<i>rbsK</i>
674	Azalış	gene:BAA15879	-2.79	0.0000	-1.48	0.0000	<i>rfbX</i>
675	Azalış	gene:BAA15575	-2.79	0.0000	-1.48	0.0000	<i>yeaA</i>
676	Azalış	gene:BAE77053	-2.80	0.0000	-1.49	0.0000	<i>hybE</i>
677	Azalış	gene:BAE78328	-2.81	0.0001	-1.49	0.0000	<i>yjiM</i>
678	Azalış	gene:BAE76562	-2.82	0.0000	-1.49	0.0000	<i>yeel</i>
679	Azalış	gene:BAE76422	-2.82	0.0000	-1.49	0.0000	<i>feaR</i>
680	Azalış	gene:BAE78368	-2.83	0.0000	-1.50	0.0000	<i>yjiW</i>
681	Azalış	gene:BAA77853	-2.84	0.0000	-1.51	0.0000	<i>hlpA</i>
682	Azalış	gene:BAA15964	-2.84	0.0000	-1.51	0.0000	<i>gatA</i>
683	Azalış	gene:BAA36095	-2.84	0.0000	-1.51	0.0000	<i>narH</i>
684	Azalış	gene:BAE78120	-2.85	0.0049	-1.51	0.0012	<i>melR</i>
685	Azalış	gene:BAA35450	-2.87	0.0000	-1.52	0.0000	<i>ybhQ</i>
686	Azalış	gene:BAE77176	-2.88	0.0000	-1.53	0.0000	<i>sohA</i>
687	Azalış	gene:BAE77335	-2.88	0.0000	-1.53	0.0000	<i>rplJ</i>
688	Azalış	gene:BAE78205	-2.90	0.0038	-1.54	0.0009	<i>yjfZ</i>
689	Azalış	gene:BAE77537	-2.92	0.0000	-1.55	0.0000	<i>rbsB</i>
690	Azalış	gene:BAE78130	-2.92	0.0000	-1.55	0.0000	<i>yjdK</i>
691	Azalış	gene:BAA15483	-2.93	0.0000	-1.55	0.0000	<i>rplT</i>
692	Azalış	gene:BAA16312	-2.93	0.0000	-1.55	0.0000	<i>yfeU</i>
693	Azalış	gene:BAA15516	-2.95	0.0000	-1.56	0.0000	<i>chbR</i>
694	Azalış	gene:BAE77924	-2.95	0.0067	-1.56	0.0017	<i>nirD</i>
695	Azalış	gene:BAA35303	-2.96	0.0000	-1.57	0.0000	<i>rihA</i>
696	Azalış	gene:BAE77661	-2.96	0.0000	-1.57	0.0000	<i>rfaG</i>
697	Azalış	gene:BAE76942	-2.98	0.0000	-1.58	0.0000	<i>yqeC</i>
698	Azalış	gene:BAB96722	-3.00	0.0000	-1.58	0.0000	<i>dksA</i>
699	Azalış	gene:BAE77058	-3.00	0.0000	-1.58	0.0000	<i>hybO</i>
700	Azalış	gene:BAE78189	-3.00	0.0007	-1.59	0.0001	<i>yjfN</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
701	Azalış	gene:BAA16546	-3.01	0.0000	-1.59	0.0000	<i>mprA</i>
702	Azalış	gene:BAE77576	-3.01	0.0000	-1.59	0.0000	<i>yeE</i>
703	Azalış	gene:BAA16508	-3.01	0.0099	-1.59	0.0027	<i>yjv</i>
704	Azalış	gene:BAA16240	-3.01	0.0000	-1.59	0.0000	<i>evgA</i>
705	Azalış	gene:BAA16567	-3.02	0.0196	-1.59	0.0058	<i>gutM</i>
706	Azalış	gene:BAA35330	-3.03	0.0003	-1.60	0.0001	<i>ybfN</i>
707	Azalış	gene:BAE77664	-3.03	0.0000	-1.60	0.0000	<i>rfaB</i>
708	Azalış	gene:BAE77979	-3.03	0.0004	-1.60	0.0001	<i>rpmC</i>
709	Azalış	gene:BAE76124	-3.03	0.0018	-1.60	0.0004	<i>lacA</i>
710	Azalış	gene:BAE76626	-3.03	0.0000	-1.60	0.0000	<i>mglA</i>
711	Azalış	gene:BAE76111	-3.04	0.0001	-1.60	0.0000	<i>yahN</i>
712	Azalış	gene:BAE77334	-3.05	0.0000	-1.61	0.0000	<i>rplL</i>
713	Azalış	gene:BAE77111	-3.06	0.0349	-1.61	0.0113	<i>ygiP</i>
714	Azalış	gene:BAA15333	-3.06	0.0060	-1.61	0.0015	<i>mdtI</i>
715	Azalış	gene:BAE77393	-3.06	0.0000	-1.61	0.0000	<i>sbp</i>
716	Azalış	gene:BAA35564	-3.06	0.0000	-1.62	0.0000	<i>ybjN</i>
717	Azalış	gene:BAA15574	-3.06	0.0462	-1.62	0.0157	<i>ydjL</i>
718	Azalış	gene:BAE77669	-3.07	0.0000	-1.62	0.0000	<i>rfaK</i>
719	Azalış	gene:BAE76662	-3.08	0.0000	-1.62	0.0000	<i>ccmC</i>
720	Azalış	gene:BAA16074	-3.10	0.0000	-1.63	0.0000	<i>yfaO</i>
721	Azalış	gene:BAA35728	-3.11	0.0000	-1.64	0.0000	<i>mgsA</i>
722	Azalış	gene:BAA35636	-3.11	0.0012	-1.64	0.0002	<i>ycaK</i>
723	Azalış	gene:BAA15825	-3.11	0.0000	-1.64	0.0000	<i>flu</i>
724	Azalış	gene:BAE77656	-3.14	0.0000	-1.65	0.0000	<i>rpmG</i>
725	Azalış	gene:BAE76804	-3.14	0.0000	-1.65	0.0000	<i>hypB</i>
726	Azalış	gene:BAE76376	-3.15	0.0000	-1.66	0.0000	<i>ymfE</i>
727	Azalış	gene:BAE77181	-3.15	0.0024	-1.66	0.0005	<i>agaA</i>
728	Azalış	gene:BAE77668	-3.15	0.0000	-1.66	0.0000	<i>rfaZ</i>
729	Azalış	gene:BAA15429	-3.15	0.0000	-1.66	0.0000	<i>ribC</i>
730	Azalış	gene:BAA15981	-3.16	0.0000	-1.66	0.0000	<i>yeiQ</i>
731	Azalış	gene:BAA15517	-3.16	0.0000	-1.66	0.0000	<i>chbA</i>
732	Azalış	gene:BAA35329	-3.17	0.0000	-1.66	0.0000	<i>ybfM</i>
733	Azalış	gene:BAA15937	-3.17	0.0001	-1.67	0.0000	<i>ogrK</i>
734	Azalış	gene:BAE78369	-3.18	0.0000	-1.67	0.0000	<i>yjI</i>
735	Azalış	gene:BAA16572	-3.19	0.0000	-1.67	0.0000	<i>gudD</i>
736	Azalış	gene:BAE77815	-3.19	0.0000	-1.68	0.0000	<i>nikC</i>
737	Azalış	gene:BAE96584	-3.20	0.0000	-1.68	0.0000	<i>yaaA</i>
738	Azalış	gene:BAE78290	-3.22	0.0130	-1.69	0.0036	<i>yjH</i>
739	Azalış	gene:BAA16208	-3.23	0.0000	-1.69	0.0000	<i>intS</i>
740	Azalış	gene:BAA77925	-3.24	0.0103	-1.69	0.0028	<i>insN</i>
741	Azalış	gene:BAE76969	-3.24	0.0000	-1.69	0.0000	<i>gcvH</i>
742	Azalış	gene:BAE77586	-3.24	0.0000	-1.69	0.0000	<i>tnaC</i>
743	Azalış	gene:BAA16271	-3.24	0.0000	-1.70	0.0000	<i>yfeD</i>
744	Azalış	gene:BAA15548	-3.24	0.0000	-1.70	0.0000	<i>ynjE</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
745	Azalış	gene:BAE78125	-3.27	0.0000	-1.71	0.0000	<i>dcuB</i>
746	Azalış	gene:BAE77158	-3.27	0.0006	-1.71	0.0001	<i>yhaM</i>
747	Azalış	gene:BAA15059	-3.27	0.0000	-1.71	0.0000	<i>tehB</i>
748	Azalış	gene:BAB96601	-3.27	0.0000	-1.71	0.0000	<i>carA</i>
749	Azalış	gene:BAE76842	-3.28	0.0000	-1.71	0.0000	<i>ygcM</i>
750	Azalış	gene:BAA15975	-3.28	0.0003	-1.72	0.0001	<i>yehB</i>
751	Azalış	gene:BAE77179	-3.29	0.0033	-1.72	0.0008	<i>kbaZ</i>
752	Azalış	gene:BAE77141	-3.29	0.0000	-1.72	0.0000	<i>uxaA</i>
753	Azalış	gene:BAA35587	-3.30	0.0001	-1.72	0.0000	<i>hcp</i>
754	Azalış	gene:BAA15728	-3.30	0.0000	-1.72	0.0000	<i>ftn</i>
755	Azalış	gene:BAA15876	-3.32	0.0000	-1.73	0.0000	<i>wbbl</i>
756	Azalış	gene:BAA35379	-3.32	0.0000	-1.73	0.0000	<i>abrB</i>
757	Azalış	gene:BAE76563	-3.33	0.0000	-1.74	0.0000	<i>yeeR</i>
758	Azalış	gene:BAA36096	-3.34	0.0000	-1.74	0.0000	<i>narJ</i>
759	Azalış	gene:BAA16079	-3.35	0.0000	-1.75	0.0000	<i>pmrD</i>
760	Azalış	gene:BAA15954	-3.37	0.0000	-1.75	0.0000	<i>gatD</i>
761	Azalış	gene:BAE77127	-3.37	0.0001	-1.75	0.0000	<i>ebgC</i>
762	Azalış	gene:BAE77384	-3.38	0.0000	-1.76	0.0000	<i>glpK</i>
763	Azalış	gene:BAE77450	-3.41	0.0000	-1.77	0.0000	<i>yihD</i>
764	Azalış	gene:BAE78338	-3.41	0.0000	-1.77	0.0000	<i>hsdS</i>
765	Azalış	gene:BAE77883	-3.42	0.0068	-1.77	0.0017	<i>feoA</i>
766	Azalış	gene:BAE78305	-3.44	0.0000	-1.78	0.0000	<i>fimB</i>
767	Azalış	gene:BAE77437	-3.45	0.0052	-1.79	0.0013	<i>yihL</i>
768	Azalış	gene:BAE77204	-3.45	0.0000	-1.79	0.0000	<i>yhbU</i>
769	Azalış	gene:BAE77766	-3.45	0.0000	-1.79	0.0000	<i>dctA</i>
770	Azalış	gene:BAE77944	-3.47	0.0000	-1.80	0.0000	<i>fkpA</i>
771	Azalış	gene:BAA15880	-3.51	0.0000	-1.81	0.0000	<i>rfbC</i>
772	Azalış	gene:BAE78239	-3.52	0.0000	-1.82	0.0000	<i>treB</i>
773	Azalış	gene:BAA35529	-3.53	0.0000	-1.82	0.0000	<i>yliF</i>
774	Azalış	gene:BAE76646	-3.54	0.0000	-1.82	0.0000	<i>yejG</i>
775	Azalış	gene:BAA15039	-3.58	0.0000	-1.84	0.0000	<i>cybB</i>
776	Azalış	gene:BAE77229	-3.58	0.0000	-1.84	0.0000	<i>rpmA</i>
777	Azalış	gene:BAE77385	-3.62	0.0000	-1.86	0.0000	<i>glpX</i>
778	Azalış	gene:BAA36097	-3.65	0.0000	-1.87	0.0000	<i>narI</i>
779	Azalış	gene:BAE77347	-3.68	0.0000	-1.88	0.0000	<i>yijD</i>
780	Azalış	gene:BAE76492	-3.69	0.0089	-1.89	0.0024	<i>ydhM</i>
781	Azalış	gene:BAA16269	-3.71	0.0000	-1.89	0.0000	<i>yfeC</i>
782	Azalış	gene:BAE78242	-3.72	0.0000	-1.89	0.0000	<i>yjgF</i>
783	Azalış	gene:BAE76650	-3.72	0.0000	-1.89	0.0000	<i>rplY</i>
784	Azalış	gene:BAA16294	-3.72	0.0000	-1.90	0.0000	<i>yfeS</i>
785	Azalış	gene:BAA15869	-3.74	0.0000	-1.90	0.0000	<i>gnd</i>
786	Azalış	gene:BAE76498	-3.75	0.0000	-1.90	0.0000	<i>ydhV</i>
787	Azalış	gene:BAE78141	-3.77	0.0000	-1.92	0.0000	<i>aspA</i>
788	Azalış	gene:BAE77160	-3.77	0.0000	-1.92	0.0000	<i>tdcG</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
789	Azalış	gene:BAA15561	-3.79	0.0000	-1.92	0.0000	<i>ydjF</i>
790	Azalış	gene:BAE77776	-3.82	0.0000	-1.93	0.0000	<i>yhjA</i>
791	Azalış	gene:BAE77002	-3.85	0.0000	-1.95	0.0000	<i>yqgB</i>
792	Azalış	gene:BAA77887	-3.87	0.0000	-1.95	0.0000	<i>yafT</i>
793	Azalış	gene:BAA15124	-3.90	0.0000	-1.96	0.0000	<i>fdnH</i>
794	Azalış	gene:BAA15683	-3.92	0.0046	-1.97	0.0011	<i>torY</i>
795	Azalış	gene:BAE77316	-3.93	0.0000	-1.97	0.0000	<i>zraS</i>
796	Azalış	gene:BAA35574	-3.94	0.0000	-1.98	0.0000	<i>artJ</i>
797	Azalış	gene:BAA16293	-3.95	0.0000	-1.98	0.0000	<i>yfeK</i>
798	Azalış	gene:BAE76843	-3.97	0.0000	-1.99	0.0000	<i>ygcN</i>
799	Azalış	gene:BAE77662	-3.99	0.0000	-2.00	0.0000	<i>rfaP</i>
800	Azalış	gene:BAA16060	-3.99	0.0020	-2.00	0.0004	<i>glpA</i>
801	Azalış	gene:BAE78057	-4.01	0.0000	-2.01	0.0000	<i>aphA</i>
802	Azalış	gene:BAA16465	-4.04	0.0000	-2.01	0.0000	<i>yfiD</i>
803	Azalış	gene:BAA16460	-4.10	0.0000	-2.04	0.0000	<i>hmp</i>
804	Azalış	gene:BAA15875	-4.13	0.0000	-2.05	0.0000	<i>wbbJ</i>
805	Azalış	gene:BAA35263	-4.13	0.0000	-2.05	0.0000	<i>dcuC</i>
806	Azalış	gene:BAE77211	-4.13	0.0000	-2.05	0.0000	<i>rpsO</i>
807	Azalış	gene:BAA15883	-4.14	0.0000	-2.05	0.0000	<i>rfbB</i>
808	Azalış	gene:BAA35634	-4.14	0.0000	-2.05	0.0000	<i>ycaM</i>
809	Azalış	gene:BAE76627	-4.15	0.0000	-2.05	0.0000	<i>mglB</i>
810	Azalış	gene:BAE76680	-4.16	0.0000	-2.05	0.0000	<i>yfbM</i>
811	Azalış	gene:BAE77704	-4.19	0.0468	-2.07	0.0160	<i>yiaY</i>
812	Azalış	gene:BAA35755	-4.19	0.0496	-2.07	0.0173	<i>cspH</i>
813	Azalış	gene:BAA16075	-4.20	0.0000	-2.07	0.0000	<i>ais</i>
814	Azalış	gene:BAB96746	-4.21	0.0000	-2.07	0.0000	<i>tsf</i>
815	Azalış	gene:BAE77683	-4.22	0.0000	-2.08	0.0000	<i>secB</i>
816	Azalış	gene:BAA15444	-4.23	0.0000	-2.08	0.0000	<i>ydhY</i>
817	Azalış	gene:BAE78091	-4.26	0.0004	-2.09	0.0001	<i>alsB</i>
818	Azalış	gene:BAE76618	-4.28	0.0000	-2.10	0.0000	<i>yohJ</i>
819	Azalış	gene:BAE76118	-4.29	0.0056	-2.10	0.0014	<i>codB</i>
820	Azalış	gene:BAE76375	-4.34	0.0000	-2.12	0.0000	<i>ymfD</i>
821	Azalış	gene:BAE77544	-4.34	0.0000	-2.12	0.0000	<i>asnA</i>
822	Azalış	gene:BAE77157	-4.34	0.0000	-2.12	0.0000	<i>yhaL</i>
823	Azalış	gene:BAA35756	-4.36	0.0000	-2.12	0.0000	<i>cspG</i>
824	Azalış	gene:BAE77648	-4.38	0.0000	-2.13	0.0000	<i>dinD</i>
825	Azalış	gene:BAA16565	-4.47	0.0000	-2.16	0.0000	<i>srlB</i>
826	Azalış	gene:BAA16386	-4.47	0.0000	-2.16	0.0000	<i>upp</i>
827	Azalış	gene:BAE77205	-4.53	0.0000	-2.18	0.0000	<i>yhbV</i>
828	Azalış	gene:BAA16566	-4.54	0.0000	-2.18	0.0000	<i>srlD</i>
829	Azalış	gene:BAE78304	-4.55	0.0000	-2.19	0.0000	<i>yjhA</i>
830	Azalış	gene:BAA16309	-4.55	0.0000	-2.19	0.0000	<i>ucpA</i>
831	Azalış	gene:BAA16564	-4.57	0.0000	-2.19	0.0000	<i>srlE</i>
832	Azalış	gene:BAE77027	-4.64	0.0000	-2.21	0.0000	<i>nupG</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
833	Azalış	gene:BAE78238	-4.71	0.0000	-2.23	0.0000	<i>treC</i>
834	Azalış	gene:BAA15871	-4.71	0.0000	-2.24	0.0000	<i>insH</i>
835	Azalış	gene:BAE78076	-4.75	0.0000	-2.25	0.0000	<i>nrfE</i>
836	Azalış	gene:BAE76845	-4.81	0.0000	-2.26	0.0000	<i>ycgP</i>
837	Azalış	gene:BAE76860	-4.87	0.0000	-2.28	0.0000	<i>gudX</i>
838	Azalış	gene:BAE76237	-4.87	0.0000	-2.28	0.0000	<i>ylaC</i>
839	Azalış	gene:BAE78150	-4.88	0.0390	-2.29	0.0129	<i>ecnA</i>
840	Azalış	gene:BAE77435	-4.91	0.0000	-2.30	0.0000	<i>yihN</i>
841	Azalış	gene:BAE77816	-5.00	0.0000	-2.32	0.0000	<i>nikB</i>
842	Azalış	gene:BAA15874	-5.05	0.0000	-2.34	0.0000	<i>wbbK</i>
843	Azalış	gene:BAE77921	-5.06	0.0002	-2.34	0.0000	<i>yhfL</i>
844	Azalış	gene:BAA36134	-5.07	0.0000	-2.34	0.0000	<i>yccM</i>
845	Azalış	gene:BAA15974	-5.07	0.0000	-2.34	0.0000	<i>yehA</i>
846	Azalış	gene:BAA35199	-5.09	0.0000	-2.35	0.0000	<i>ompT</i>
847	Azalış	gene:BAA16124	-5.10	0.0000	-2.35	0.0000	<i>lrhA</i>
848	Azalış	gene:BAE76664	-5.13	0.0000	-2.36	0.0000	<i>ccmA</i>
849	Azalış	gene:BAB96599	-5.15	0.0000	-2.36	0.0000	<i>rihC</i>
850	Azalış	gene:BAA15572	-5.17	0.0365	-2.37	0.0119	<i>ydjJ</i>
851	Azalış	gene:BAA15842	-5.18	0.0000	-2.37	0.0000	<i>yeeF</i>
852	Azalış	gene:BAE77177	-5.22	0.0000	-2.38	0.0000	<i>yhaV</i>
853	Azalış	gene:BAE76220	-5.28	0.0000	-2.40	0.0000	<i>hupB</i>
854	Azalış	gene:BAE76328	-5.29	0.0000	-2.40	0.0000	<i>insH</i>
855	Azalış	gene:BAE78347	-5.33	0.0005	-2.41	0.0001	<i>yjjM</i>
856	Azalış	gene:BAA15881	-5.36	0.0000	-2.42	0.0000	<i>rfbA</i>
857	Azalış	gene:BAE77076	-5.44	0.0000	-2.44	0.0000	<i>ygiS</i>
858	Azalış	gene:BAE78023	-5.45	0.0000	-2.45	0.0000	<i>pepE</i>
859	Azalış	gene:BAB96739	-5.47	0.0000	-2.45	0.0000	<i>cdaR</i>
860	Azalış	gene:BAA15882	-5.49	0.0000	-2.46	0.0000	<i>rfbD</i>
861	Azalış	gene:BAE77736	-5.54	0.0003	-2.47	0.0001	<i>insK</i>
862	Azalış	gene:BAA18886	-5.58	0.0000	-2.48	0.0000	<i>srlA</i>
863	Azalış	gene:BAE76589	-5.62	0.0000	-2.49	0.0000	<i>yehD</i>
864	Azalış	gene:BAA35757	-5.66	0.0006	-2.50	0.0001	<i>ymcE</i>
865	Azalış	gene:BAE77813	-5.66	0.0000	-2.50	0.0000	<i>nikE</i>
866	Azalış	gene:BAE77099	-5.71	0.0000	-2.51	0.0000	<i>ygiL</i>
867	Azalış	gene:BAA15125	-5.74	0.0000	-2.52	0.0000	<i>fdnI</i>
868	Azalış	gene:BAA35327	-5.79	0.0000	-2.53	0.0000	<i>nagE</i>
869	Azalış	gene:BAA35264	-5.90	0.0000	-2.56	0.0000	<i>dcuC</i>
870	Azalış	gene:BAE76091	-5.94	0.0000	-2.57	0.0000	<i>ykgF</i>
871	Azalış	gene:BAA14877	-5.97	0.0000	-2.58	0.0000	<i>pspE</i>
872	Azalış	gene:BAE78124	-6.03	0.0000	-2.59	0.0000	<i>fumB</i>
873	Azalış	gene:BAE77374	-6.18	0.0000	-2.63	0.0000	<i>rpmE</i>
874	Azalış	gene:BAE76643	-6.28	0.0009	-2.65	0.0002	<i>yeiC</i>
875	Azalış	gene:BAE78035	-6.50	0.0000	-2.70	0.0000	<i>malF</i>
876	Azalış	gene:BAE77436	-6.53	0.0000	-2.71	0.0000	<i>yihM</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
877	Azalış	gene:BAE78036	-6.55	0.0000	-2.71	0.0000	<i>malE</i>
878	Azalış	gene:BAE77032	-6.67	0.0103	-2.74	0.0028	<i>yghG</i>
879	Azalış	gene:BAA16137	-6.79	0.0000	-2.76	0.0000	<i>yfcC</i>
880	Azalış	gene:BAE77172	-6.79	0.0000	-2.76	0.0000	<i>garR</i>
881	Azalış	gene:BAE77167	-6.80	0.0000	-2.76	0.0000	<i>tdcA</i>
882	Azalış	gene:BAA15257	-6.86	0.0000	-2.78	0.0000	<i>cspF</i>
883	Azalış	gene:BAE77319	-6.87	0.0000	-2.78	0.0000	<i>hupA</i>
884	Azalış	gene:BAE77739	-7.06	0.0000	-2.82	0.0000	<i>cspA</i>
885	Azalış	gene:BAE78037	-7.17	0.0000	-2.84	0.0000	<i>malk</i>
886	Azalış	gene:BAE76665	-7.37	0.0000	-2.88	0.0000	<i>napC</i>
887	Azalış	gene:BAA15989	-7.38	0.0000	-2.88	0.0000	<i>napA</i>
888	Azalış	gene:BAE77957	-7.48	0.0182	-2.90	0.0053	<i>gspM</i>
889	Azalış	gene:BAE76935	-7.57	0.0000	-2.92	0.0000	<i>ygeV</i>
890	Azalış	gene:BAE77161	-7.64	0.0000	-2.93	0.0000	<i>tdcF</i>
891	Azalış	gene:BAE76667	-7.65	0.0000	-2.94	0.0000	<i>napH</i>
892	Azalış	gene:BAE78210	-7.72	0.0000	-2.95	0.0000	<i>ytfE</i>
893	Azalış	gene:BAE78251	-7.82	0.0000	-2.97	0.0000	<i>argI</i>
894	Azalış	gene:BAA15169	-7.89	0.0000	-2.98	0.0000	<i>ydeN</i>
895	Azalış	gene:BAE76092	-7.99	0.0000	-3.00	0.0000	<i>ykgG</i>
896	Azalış	gene:BAE77817	-8.09	0.0000	-3.02	0.0000	<i>nikA</i>
897	Azalış	gene:BAE78078	-8.45	0.0000	-3.08	0.0000	<i>nrfG</i>
898	Azalış	gene:BAE76191	-8.76	0.0000	-3.13	0.0000	<i>tsx</i>
899	Azalış	gene:BAE76398	-8.78	0.0039	-3.13	0.0009	<i>ycjN</i>
900	Azalış	gene:BAE78075	-8.86	0.0000	-3.15	0.0000	<i>nrfD</i>
901	Azalış	gene:BAE77258	-9.51	0.0000	-3.25	0.0000	<i>gltF</i>
902	Azalış	gene:BAA15769	-9.60	0.0346	-3.26	0.0112	<i>fliL</i>
903	Azalış	gene:BAA15758	-9.60	0.0000	-3.26	0.0000	<i>yedF</i>
904	Azalış	gene:BAE78073	-9.62	0.0000	-3.27	0.0000	<i>nrfB</i>
905	Azalış	gene:BAE76668	-9.77	0.0000	-3.29	0.0000	<i>napG</i>
906	Azalış	gene:BAE77720	-10.09	0.0000	-3.34	0.0000	<i>yial</i>
907	Azalış	gene:BAE76090	-10.36	0.0000	-3.37	0.0000	<i>ykgE</i>
908	Azalış	gene:BAE76873	-10.74	0.0007	-3.42	0.0001	<i>fucP</i>
909	Azalış	gene:BAA15168	-10.82	0.0000	-3.44	0.0000	<i>ydeM</i>
910	Azalış	gene:BAE78034	-11.18	0.0000	-3.48	0.0000	<i>malG</i>
911	Azalış	gene:BAE77171	-11.56	0.0000	-3.53	0.0000	<i>garK</i>
912	Azalış	gene:BAE78118	-11.74	0.0000	-3.55	0.0000	<i>adiY</i>
913	Azalış	gene:BAE77020	-11.75	0.0000	-3.55	0.0000	<i>ansB</i>
914	Azalış	gene:BAE78039	-12.25	0.0000	-3.61	0.0000	<i>malM</i>
915	Azalış	gene:BAE77162	-12.43	0.0000	-3.64	0.0000	<i>tdcE</i>
916	Azalış	gene:BAE78074	-12.79	0.0000	-3.68	0.0000	<i>nrfC</i>
917	Azalış	gene:BAE78334	-13.16	0.0000	-3.72	0.0000	<i>yjiT</i>
918	Azalış	gene:BAE78038	-13.42	0.0000	-3.75	0.0000	<i>lamB</i>
919	Azalış	gene:BAA16059	-13.92	0.0000	-3.80	0.0000	<i>glpT</i>
920	Azalış	gene:BAA16061	-14.33	0.0000	-3.84	0.0000	<i>glpB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
921	Azalış	gene:BAA16058	-15.02	0.0000	-3.91	0.0000	<i>glpQ</i>
922	Azalış	gene:BAE77175	-15.95	0.0000	-4.00	0.0000	<i>garD</i>
923	Azalış	gene:BAE78072	-16.35	0.0000	-4.03	0.0000	<i>nrfA</i>
924	Azalış	gene:BAA35675	-16.67	0.0000	-4.06	0.0000	<i>ompF</i>
925	Azalış	gene:BAE76333	-17.22	0.0000	-4.11	0.0000	<i>borD</i>
926	Azalış	gene:BAE76666	-19.71	0.0000	-4.30	0.0000	<i>napB</i>
927	Azalış	gene:BAE78077	-21.28	0.0001	-4.41	0.0000	<i>nrfF</i>
928	Azalış	gene:BAE76518	-22.63	0.0000	-4.50	0.0000	<i>ydjY</i>
929	Azalış	gene:BAE76861	-22.73	0.0000	-4.51	0.0000	<i>gudP</i>
930	Azalış	gene:BAE77173	-28.49	0.0000	-4.83	0.0000	<i>garL</i>
931	Azalış	gene:BAE77168	-32.60	0.0389	-5.03	0.0129	<i>tdcR</i>
932	Azalış	gene:BAE77164	-37.27	0.0000	-5.22	0.0000	<i>tdcD</i>
933	Azalış	gene:BAE77165	-37.65	0.0000	-5.23	0.0000	<i>tdcC</i>
934	Azalış	gene:BAE77317	-41.73	0.0111	-5.38	0.0030	<i>zraP</i>
935	Azalış	gene:BAA16062	-49.36	0.0000	-5.63	0.0000	<i>glpC</i>
936	Azalış	gene:BAE77174	-51.98	0.0000	-5.70	0.0000	<i>garP</i>
937	Azalış	gene:BAE76588	-58.03	0.0000	-5.86	0.0000	<i>yehC</i>
938	Azalış	gene:BAE77166	-61.43	0.0000	-5.94	0.0000	<i>tdcB</i>

EK Tablo 2. *E. coli* W3110-95 Suşunda Tespit Edilen DEG'ler

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
1	Artış	gene:BAE78030	246.51	0.0000	7.95	0.0000	<i>yjbG</i>
2	Artış	gene:BAA15911	132.72	0.0000	7.05	0.0000	<i>wcaB</i>
3	Artış	gene:BAE78029	108.62	0.0000	6.76	0.0000	<i>yjbF</i>
4	Artış	gene:BAE76504	83.83	0.0002	6.39	0.0001	<i>ydiN</i>
5	Artış	gene:BAE78028	79.42	0.0000	6.31	0.0000	<i>yjbE</i>
6	Artış	gene:BAE76078	78.09	0.0009	6.29	0.0002	<i>ykgK</i>
7	Artış	gene:BAE76576	71.51	0.0000	6.16	0.0000	<i>wza</i>
8	Artış	gene:BAA15000	61.65	0.0021	5.95	0.0005	<i>paaG</i>
9	Artış	gene:BAE76069	59.92	0.0000	5.90	0.0000	<i>yagS</i>
10	Artış	gene:BAA35292	58.56	0.0022	5.87	0.0006	<i>ybeR</i>
11	Artış	gene:BAE78154	52.98	0.0000	5.73	0.0000	<i>ampC</i>
12	Artış	gene:BAA15909	41.53	0.0000	5.38	0.0000	<i>gmd</i>
13	Artış	gene:BAE76114	41.08	0.0000	5.36	0.0000	<i>prpB</i>
14	Artış	gene:BAA14958	39.36	0.0133	5.30	0.0044	<i>ydaV</i>
15	Artış	gene:BAA15220	37.24	0.0000	5.22	0.0000	<i>marR</i>
16	Artış	gene:BAE78062	36.66	0.0000	5.20	0.0000	<i>yjcB</i>
17	Artış	gene:BAA15905	36.30	0.0000	5.18	0.0000	<i>cpsB</i>
18	Artış	gene:BAA15908	35.73	0.0000	5.16	0.0000	<i>fcl</i>
19	Artış	gene:BAA15281	35.62	0.0218	5.15	0.0079	<i>ydfE</i>
20	Artış	gene:BAA15906	34.64	0.0000	5.11	0.0000	<i>wcaI</i>
21	Artış	gene:BAA15222	34.46	0.0000	5.11	0.0000	<i>marB</i>
22	Artış	gene:BAE77897	32.96	0.0442	5.04	0.0183	<i>yrfC</i>
23	Artış	gene:BAE76325	32.83	0.0391	5.04	0.0158	<i>rusA</i>
24	Artış	gene:BAE78355	32.45	0.0000	5.02	0.0000	<i>yjjQ</i>
25	Artış	gene:BAA15910	32.38	0.0000	5.02	0.0000	<i>wcaF</i>
26	Artış	gene:BAA35977	31.88	0.0343	4.99	0.0135	<i>ymfO</i>
27	Artış	gene:BAE78105	31.60	0.0355	4.98	0.0141	<i>phnF</i>
28	Artış	gene:BAA15163	30.03	0.0000	4.91	0.0000	<i>gadB</i>
29	Artış	gene:BAA15913	27.66	0.0000	4.79	0.0000	<i>wzc</i>
30	Artış	gene:BAA15156	24.66	0.0000	4.62	0.0000	<i>gadC</i>
31	Artış	gene:BAA35925	24.01	0.0000	4.59	0.0000	<i>ycfJ</i>
32	Artış	gene:BAE76426	23.81	0.0001	4.57	0.0000	<i>paaD</i>
33	Artış	gene:BAE76572	23.70	0.0000	4.57	0.0000	<i>wcaE</i>
34	Artış	gene:BAE76574	23.56	0.0000	4.56	0.0000	<i>wcaC</i>
35	Artış	gene:BAE76387	23.26	0.0000	4.54	0.0000	<i>ymgB</i>
36	Artış	gene:BAE77199	22.18	0.0000	4.47	0.0000	<i>yhbO</i>
37	Artış	gene:BAE76349	21.94	0.0001	4.46	0.0000	<i>entE</i>
38	Artış	gene:BAA15912	21.85	0.0000	4.45	0.0000	<i>wcaA</i>
39	Artış	gene:BAE76160	21.03	0.0000	4.39	0.0000	<i>yaiY</i>
40	Artış	gene:BAA15776	20.93	0.0000	4.39	0.0000	<i>rcaA</i>
41	Artış	gene:BAE76575	20.09	0.0000	4.33	0.0000	<i>wzb</i>
42	Artış	gene:BAE76573	19.60	0.0000	4.29	0.0000	<i>wcaD</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
43	Artış	gene:BAE77777	18.77	0.0000	4.23	0.0000	<i>gadA</i>
44	Artış	gene:BAA15899	18.73	0.0000	4.23	0.0000	<i>wzxC</i>
45	Artış	gene:BAA14791	18.20	0.0000	4.19	0.0000	<i>yciG</i>
46	Artış	gene:BAA35238	17.91	0.0000	4.16	0.0000	<i>ybdR</i>
47	Artış	gene:BAE77782	17.82	0.0000	4.16	0.0000	<i>gadE</i>
48	Artış	gene:BAE78070	17.75	0.0000	4.15	0.0000	<i>yjcH</i>
49	Artış	gene:BAA15221	16.90	0.0000	4.08	0.0000	<i>marA</i>
50	Artış	gene:BAE76453	16.56	0.0000	4.05	0.0000	<i>bdm</i>
51	Artış	gene:BAA15907	16.43	0.0000	4.04	0.0000	<i>nudD</i>
52	Artış	gene:BAE76571	14.48	0.0000	3.86	0.0000	<i>wcaK</i>
53	Artış	gene:BAA35265	13.97	0.0000	3.80	0.0000	<i>crcA</i>
54	Artış	gene:BAE76467	13.96	0.0000	3.80	0.0000	<i>ynfN</i>
55	Artış	gene:BAE77781	13.07	0.0000	3.71	0.0000	<i>mdtE</i>
56	Artış	gene:BAE76423	12.82	0.0000	3.68	0.0000	<i>paaA</i>
57	Artış	gene:BAE76068	12.71	0.0000	3.67	0.0000	<i>yagR</i>
58	Artış	gene:BAE77035	12.32	0.0000	3.62	0.0000	<i>yghK</i>
59	Artış	gene:BAA15226	12.25	0.0000	3.61	0.0000	<i>ydel</i>
60	Artış	gene:BAA36006	12.22	0.0000	3.61	0.0000	<i>ymgG</i>
61	Artış	gene:BAE77062	11.77	0.0000	3.56	0.0000	<i>yghA</i>
62	Artış	gene:BAE76264	11.63	0.0000	3.54	0.0000	<i>ybaS</i>
63	Artış	gene:BAE76709	11.55	0.0000	3.53	0.0000	<i>ypeC</i>
64	Artış	gene:BAA15901	11.43	0.0000	3.52	0.0000	<i>cpsG</i>
65	Artış	gene:BAA14790	11.23	0.0000	3.49	0.0000	<i>yciF</i>
66	Artış	gene:BAE76265	11.01	0.0000	3.46	0.0000	<i>ybaT</i>
67	Artış	gene:BAE76109	10.95	0.0000	3.45	0.0000	<i>yahL</i>
68	Artış	gene:BAB96605	10.77	0.0100	3.43	0.0032	<i>caiD</i>
69	Artış	gene:BAE76516	10.73	0.0000	3.42	0.0000	<i>astB</i>
70	Artış	gene:BAA16275	10.70	0.0154	3.42	0.0053	<i>xapA</i>
71	Artış	gene:BAE78094	10.32	0.0000	3.37	0.0000	<i>yjdP</i>
72	Artış	gene:BAE77006	10.21	0.0000	3.35	0.0000	<i>galP</i>
73	Artış	gene:BAE78364	10.20	0.0000	3.35	0.0000	<i>osmY</i>
74	Artış	gene:BAE76774	9.68	0.0019	3.27	0.0005	<i>ypjF</i>
75	Artış	gene:BAA15513	9.58	0.0000	3.26	0.0000	<i>katE</i>
76	Artış	gene:BAA14837	9.51	0.0000	3.25	0.0000	<i>osmB</i>
77	Artış	gene:BAE76070	9.43	0.0000	3.24	0.0000	<i>yagT</i>
78	Artış	gene:BAB96678	9.38	0.0263	3.23	0.0098	<i>ppdD</i>
79	Artış	gene:BAE78069	9.10	0.0000	3.19	0.0000	<i>actP</i>
80	Artış	gene:BAA14999	8.95	0.0005	3.16	0.0001	<i>paaF</i>
81	Artış	gene:BAE77769	8.74	0.0417	3.13	0.0170	<i>yhjH</i>
82	Artış	gene:BAA16525	8.67	0.0000	3.12	0.0000	<i>gabT</i>
83	Artış	gene:BAE76348	8.60	0.0004	3.10	0.0001	<i>entC</i>
84	Artış	gene:BAE77695	8.45	0.0000	3.08	0.0000	<i>yibl</i>
85	Artış	gene:BAE76235	8.44	0.0000	3.08	0.0000	<i>ybaA</i>
86	Artış	gene:BAE76067	8.36	0.0000	3.06	0.0000	<i>yagQ</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
87	Artış	gene:BAA15900	8.30	0.0000	3.05	0.0000	<i>wcaI</i>
88	Artış	gene:BAE78109	8.11	0.0000	3.02	0.0000	<i>phnB</i>
89	Artış	gene:BAE78188	8.06	0.0000	3.01	0.0000	<i>aidB</i>
90	Artış	gene:BAE76029	8.05	0.0080	3.01	0.0024	<i>yaal</i>
91	Artış	gene:BAE76584	7.98	0.0000	3.00	0.0000	<i>fbaB</i>
92	Artış	gene:BAE76515	7.89	0.0000	2.98	0.0000	<i>astE</i>
93	Artış	gene:BAE78047	7.85	0.0000	2.97	0.0000	<i>yjbJ</i>
94	Artış	gene:BAE76721	7.78	0.0000	2.96	0.0000	<i>ypfG</i>
95	Artış	gene:BAA15227	7.76	0.0000	2.96	0.0000	<i>ydeI</i>
96	Artış	gene:BAE78031	7.51	0.0000	2.91	0.0000	<i>yjbH</i>
97	Artış	gene:BAE76339	7.37	0.0000	2.88	0.0000	<i>appY</i>
98	Artış	gene:BAB96582	7.33	0.0000	2.87	0.0000	<i>yaaX</i>
99	Artış	gene:BAA35415	7.32	0.0000	2.87	0.0000	<i>ybgS</i>
100	Artış	gene:BAE76304	7.30	0.0000	2.87	0.0000	<i>ybcI</i>
101	Artış	gene:BAA35820	7.29	0.0112	2.87	0.0036	<i>csgE</i>
102	Artış	gene:BAE76223	7.29	0.0000	2.87	0.0000	<i>ybaW</i>
103	Artış	gene:BAE77608	7.27	0.0000	2.86	0.0000	<i>ibpB</i>
104	Artış	gene:BAE77036	7.18	0.0000	2.84	0.0000	<i>glcB</i>
105	Artış	gene:BAE77458	7.11	0.0000	2.83	0.0000	<i>fadA</i>
106	Artış	gene:BAE76103	7.06	0.0076	2.82	0.0023	<i>yahF</i>
107	Artış	gene:BAA35222	7.00	0.0234	2.81	0.0085	<i>hokE</i>
108	Artış	gene:BAA15982	6.95	0.0000	2.80	0.0000	<i>yeiR</i>
109	Artış	gene:BAA35269	6.95	0.0000	2.80	0.0000	<i>ybeM</i>
110	Artış	gene:BAA16521	6.83	0.0000	2.77	0.0000	<i>ygaF</i>
111	Artış	gene:BAA16524	6.78	0.0000	2.76	0.0000	<i>gabD</i>
112	Artış	gene:BAE77305	6.76	0.0229	2.76	0.0083	<i>envR</i>
113	Artış	gene:BAE77677	6.72	0.0000	2.75	0.0000	<i>yibD</i>
114	Artış	gene:BAA16526	6.64	0.0000	2.73	0.0000	<i>gabP</i>
115	Artış	gene:BAB96609	6.63	0.0015	2.73	0.0004	<i>caiT</i>
116	Artış	gene:BAE76192	6.58	0.0000	2.72	0.0000	<i>yajI</i>
117	Artış	gene:BAB96614	6.42	0.0000	2.68	0.0000	<i>kefF</i>
118	Artış	gene:BAA35295	6.39	0.0000	2.68	0.0000	<i>ybeU</i>
119	Artış	gene:BAA77891	6.37	0.0000	2.67	0.0000	<i>fadE</i>
120	Artış	gene:BAA15538	6.34	0.0000	2.66	0.0000	<i>astD</i>
121	Artış	gene:BAE76425	6.26	0.0000	2.65	0.0000	<i>paaC</i>
122	Artış	gene:BAE76458	6.25	0.0010	2.64	0.0003	<i>lsrG</i>
123	Artış	gene:BAE78302	6.20	0.0000	2.63	0.0000	<i>yjhS</i>
124	Artış	gene:BAE78018	6.18	0.0000	2.63	0.0000	<i>aceK</i>
125	Artış	gene:BAA35889	6.13	0.0343	2.62	0.0134	<i>flgI</i>
126	Artış	gene:BAE78306	6.11	0.0000	2.61	0.0000	<i>fimE</i>
127	Artış	gene:BAE77560	6.09	0.0000	2.61	0.0000	<i>pstS</i>
128	Artış	gene:BAE77206	6.06	0.0000	2.60	0.0000	<i>yhbW</i>
129	Artış	gene:BAE78365	6.04	0.0000	2.59	0.0000	<i>ytjA</i>
130	Artış	gene:BAA14789	6.02	0.0000	2.59	0.0000	<i>yciE</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
131	Artış	gene:BAE76779	6.00	0.0000	2.58	0.0000	<i>ygaT</i>
132	Artış	gene:BAA16256	5.96	0.0349	2.58	0.0138	<i>ypdG</i>
133	Artış	gene:BAE76457	5.95	0.0000	2.57	0.0000	<i>lsrF</i>
134	Artış	gene:BAE76501	5.95	0.0000	2.57	0.0000	<i>ydiH</i>
135	Artış	gene:BAE77780	5.86	0.0000	2.55	0.0000	<i>mdtF</i>
136	Artış	gene:BAA77933	5.86	0.0001	2.55	0.0000	<i>yagA</i>
137	Artış	gene:BAE78017	5.84	0.0000	2.55	0.0000	<i>aceA</i>
138	Artış	gene:BAE78246	5.81	0.0000	2.54	0.0000	<i>yjgH</i>
139	Artış	gene:BAE76772	5.77	0.0160	2.53	0.0055	<i>yfjT</i>
140	Artış	gene:BAE77786	5.75	0.0000	2.52	0.0000	<i>yhiD</i>
141	Artış	gene:BAA15649	5.68	0.0000	2.51	0.0000	<i>pphA</i>
142	Artış	gene:BAE76783	5.64	0.0000	2.50	0.0000	<i>ygaX</i>
143	Artış	gene:BAE77787	5.63	0.0000	2.49	0.0000	<i>yhiF</i>
144	Artış	gene:BAE78322	5.60	0.0484	2.49	0.0204	<i>yjiG</i>
145	Artış	gene:BAE76115	5.59	0.0121	2.48	0.0040	<i>prpC</i>
146	Artış	gene:BAE76295	5.56	0.0468	2.48	0.0196	<i>allD</i>
147	Artış	gene:BAE78357	5.49	0.0000	2.46	0.0000	<i>fhuF</i>
148	Artış	gene:BAE77730	5.46	0.0261	2.45	0.0097	<i>yiaB</i>
149	Artış	gene:BAA15939	5.42	0.0000	2.44	0.0000	<i>yegS</i>
150	Artış	gene:BAE78279	5.42	0.0062	2.44	0.0018	<i>fecD</i>
151	Artış	gene:BAE76489	5.36	0.0000	2.42	0.0000	<i>sodC</i>
152	Artış	gene:BAE77037	5.35	0.0000	2.42	0.0000	<i>glcG</i>
153	Artış	gene:BAA14984	5.35	0.0000	2.42	0.0000	<i>hslJ</i>
154	Artış	gene:BAB96610	5.33	0.0084	2.41	0.0026	<i>fixA</i>
155	Artış	gene:BAE76447	5.29	0.0053	2.40	0.0015	<i>ynchH</i>
156	Artış	gene:BAA35562	5.27	0.0000	2.40	0.0000	<i>nfsA</i>
157	Artış	gene:BAE78071	5.26	0.0000	2.39	0.0000	<i>acs</i>
158	Artış	gene:BAA16190	5.19	0.0290	2.38	0.0110	<i>yfcS</i>
159	Artış	gene:BAB96589	5.18	0.0000	2.37	0.0000	<i>dnaK</i>
160	Artış	gene:BAA16340	5.18	0.0000	2.37	0.0000	<i>tktB</i>
161	Artış	gene:BAE78145	5.17	0.0000	2.37	0.0000	<i>groL</i>
162	Artış	gene:BAA35975	5.16	0.0307	2.37	0.0118	<i>ymfN</i>
163	Artış	gene:BAE76347	5.15	0.0000	2.36	0.0000	<i>fepB</i>
164	Artış	gene:BAA14998	5.14	0.0001	2.36	0.0000	<i>paaE</i>
165	Artış	gene:BAE78260	5.10	0.0000	2.35	0.0000	<i>yjgR</i>
166	Artış	gene:BAE76233	5.00	0.0000	2.32	0.0000	<i>ybaY</i>
167	Artış	gene:BAE76144	4.97	0.0000	2.31	0.0000	<i>yaiP</i>
168	Artış	gene:BAA15201	4.95	0.0000	2.31	0.0000	<i>lsrC</i>
169	Artış	gene:BAA14871	4.93	0.0135	2.30	0.0045	<i>puuE</i>
170	Artış	gene:BAE78361	4.90	0.0000	2.29	0.0000	<i>rimI</i>
171	Artış	gene:BAA35448	4.88	0.0000	2.29	0.0000	<i>ybhO</i>
172	Artış	gene:BAE76462	4.88	0.0081	2.29	0.0025	<i>yneK</i>
173	Artış	gene:BAE76183	4.85	0.0000	2.28	0.0000	<i>malZ</i>
174	Artış	gene:BAA15118	4.85	0.0000	2.28	0.0000	<i>narU</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
175	Artış	gene:BAA15001	4.84	0.0017	2.28	0.0004	<i>paaH</i>
176	Artış	gene:BAE77778	4.84	0.0000	2.28	0.0000	<i>gadX</i>
177	Artış	gene:BAE76428	4.81	0.0000	2.26	0.0000	<i>paaK</i>
178	Artış	gene:BAE76517	4.80	0.0000	2.26	0.0000	<i>astA</i>
179	Artış	gene:BAA15400	4.80	0.0000	2.26	0.0000	<i>ydhA</i>
180	Artış	gene:BAA35233	4.77	0.0000	2.25	0.0000	<i>ybdO</i>
181	Artış	gene:BAA15254	4.77	0.0000	2.25	0.0000	<i>cspl</i>
182	Artış	gene:BAA35293	4.73	0.0052	2.24	0.0015	<i>djlB</i>
183	Artış	gene:BAA16077	4.69	0.0000	2.23	0.0000	<i>yfbF</i>
184	Artış	gene:BAA15105	4.66	0.0000	2.22	0.0000	<i>narZ</i>
185	Artış	gene:BAA15898	4.65	0.0000	2.22	0.0000	<i>wcaL</i>
186	Artış	gene:BAB96703	4.64	0.0000	2.21	0.0000	<i>yadG</i>
187	Artış	gene:BAE77696	4.61	0.0000	2.20	0.0000	<i>yibH</i>
188	Artış	gene:BAE76881	4.60	0.0000	2.20	0.0000	<i>ygdI</i>
189	Artış	gene:BAE77568	4.59	0.0028	2.20	0.0007	<i>bgIH</i>
190	Artış	gene:BAE78266	4.52	0.0000	2.18	0.0000	<i>yjgB</i>
191	Artış	gene:BAA35930	4.48	0.0001	2.16	0.0000	<i>ycfT</i>
192	Artış	gene:BAE77743	4.39	0.0000	2.13	0.0000	<i>yiaD</i>
193	Artış	gene:BAE76456	4.38	0.0000	2.13	0.0000	<i>lsrB</i>
194	Artış	gene:BAE78228	4.38	0.0000	2.13	0.0000	<i>ytfQ</i>
195	Artış	gene:BAE78292	4.31	0.0015	2.11	0.0004	<i>sgcE</i>
196	Artış	gene:BAA35221	4.29	0.0000	2.10	0.0000	<i>ybdK</i>
197	Artış	gene:BAE76179	4.29	0.0000	2.10	0.0000	<i>phoB</i>
198	Artış	gene:BAE76055	4.28	0.0000	2.10	0.0000	<i>yagH</i>
199	Artış	gene:BAA36005	4.28	0.0000	2.10	0.0000	<i>ymgD</i>
200	Artış	gene:BAE76149	4.27	0.0006	2.09	0.0002	<i>tauD</i>
201	Artış	gene:BAB96717	4.25	0.0424	2.09	0.0174	<i>yadN</i>
202	Artış	gene:BAE76389	4.23	0.0370	2.08	0.0148	<i>ymgH</i>
203	Artış	gene:BAA15249	4.23	0.0000	2.08	0.0000	<i>pinQ</i>
204	Artış	gene:BAB96641	4.20	0.0000	2.07	0.0000	<i>leuC</i>
205	Artış	gene:BAE77151	4.19	0.0000	2.07	0.0000	<i>yqjF</i>
206	Artış	gene:BAB96632	4.17	0.0017	2.06	0.0004	<i>araB</i>
207	Artış	gene:BAA14997	4.14	0.0259	2.05	0.0096	<i>maoC</i>
208	Artış	gene:BAE76123	4.07	0.0132	2.02	0.0044	<i>cynX</i>
209	Artış	gene:BAA35502	4.07	0.0000	2.02	0.0000	<i>ybiU</i>
210	Artış	gene:BAE76612	4.07	0.0000	2.02	0.0000	<i>yohC</i>
211	Artış	gene:BAE78289	4.06	0.0004	2.02	0.0001	<i>yjhH</i>
212	Artış	gene:BAE76286	4.05	0.0355	2.02	0.0141	<i>hyi</i>
213	Artış	gene:BAE76129	4.05	0.0046	2.02	0.0013	<i>mhpA</i>
214	Artış	gene:BAE78245	3.99	0.0000	2.00	0.0000	<i>pyrL</i>
215	Artış	gene:BAA35232	3.98	0.0013	1.99	0.0003	<i>ybdN</i>
216	Artış	gene:BAE76386	3.98	0.0000	1.99	0.0000	<i>ymgA</i>
217	Artış	gene:BAE78240	3.96	0.0000	1.99	0.0000	<i>treR</i>
218	Artış	gene:BAE76579	3.95	0.0301	1.98	0.0115	<i>yegK</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
219	Artış	gene:BAA15126	3.93	0.0000	1.98	0.0000	<i>adhP</i>
220	Artış	gene:BAE76541	3.92	0.0000	1.97	0.0000	<i>yebV</i>
221	Artış	gene:BAE77401	3.90	0.0000	1.96	0.0000	<i>sodA</i>
222	Artış	gene:BAB96590	3.90	0.0000	1.96	0.0000	<i>dnaI</i>
223	Artış	gene:BAE77775	3.90	0.0000	1.96	0.0000	<i>treF</i>
224	Artış	gene:BAA15104	3.88	0.0000	1.96	0.0000	<i>narY</i>
225	Artış	gene:BAE77779	3.87	0.0000	1.95	0.0000	<i>gadW</i>
226	Artış	gene:BAE77783	3.85	0.0000	1.95	0.0000	<i>hdeD</i>
227	Artış	gene:BAA14828	3.84	0.0000	1.94	0.0000	<i>acnA</i>
228	Artış	gene:BAE76093	3.80	0.0000	1.93	0.0000	<i>ykgH</i>
229	Artış	gene:BAB96617	3.79	0.0000	1.92	0.0000	<i>apaH</i>
230	Artış	gene:BAE78358	3.77	0.0044	1.92	0.0013	<i>yjzZ</i>
231	Artış	gene:BAE76291	3.76	0.0153	1.91	0.0052	<i>ybbY</i>
232	Artış	gene:BAA15475	3.75	0.0000	1.91	0.0000	<i>ydiU</i>
233	Artış	gene:BAE76248	3.75	0.0000	1.91	0.0000	<i>apt</i>
234	Artış	gene:BAA16056	3.74	0.0000	1.90	0.0000	<i>inaA</i>
235	Artış	gene:BAE78324	3.72	0.0000	1.89	0.0000	<i>kptA</i>
236	Artış	gene:BAE78200	3.71	0.0000	1.89	0.0000	<i>yjfY</i>
237	Artış	gene:BAA15200	3.69	0.0000	1.88	0.0000	<i>ego</i>
238	Artış	gene:BAE78219	3.68	0.0000	1.88	0.0000	<i>ytfl</i>
239	Artış	gene:BAE78293	3.68	0.0189	1.88	0.0067	<i>sgcA</i>
240	Artış	gene:BAE77607	3.67	0.0000	1.88	0.0000	<i>ibpA</i>
241	Artış	gene:BAE78096	3.63	0.0007	1.86	0.0002	<i>phnO</i>
242	Artış	gene:BAA15044	3.63	0.0000	1.86	0.0000	<i>trg</i>
243	Artış	gene:BAE78362	3.62	0.0000	1.85	0.0000	<i>yjgG</i>
244	Artış	gene:BAA77861	3.62	0.0000	1.85	0.0000	<i>ldcC</i>
245	Artış	gene:BAE78372	3.61	0.0000	1.85	0.0000	<i>deoB</i>
246	Artış	gene:BAA16207	3.60	0.0000	1.85	0.0000	<i>yfdC</i>
247	Artış	gene:BAB96727	3.59	0.0003	1.84	0.0001	<i>fhuC</i>
248	Artış	gene:BAA35585	3.58	0.0000	1.84	0.0000	<i>poxB</i>
249	Artış	gene:BAE76786	3.58	0.0000	1.84	0.0000	<i>norR</i>
250	Artış	gene:BAE76730	3.57	0.0077	1.84	0.0023	<i>yphB</i>
251	Artış	gene:BAE78329	3.57	0.0000	1.84	0.0000	<i>yjiN</i>
252	Artış	gene:BAA15256	3.56	0.0001	1.83	0.0000	<i>cspB</i>
253	Artış	gene:BAE78151	3.56	0.0000	1.83	0.0000	<i>ecnB</i>
254	Artış	gene:BAE76184	3.53	0.0000	1.82	0.0000	<i>yajB</i>
255	Artış	gene:BAE76171	3.52	0.0000	1.81	0.0000	<i>aroM</i>
256	Artış	gene:BAA16076	3.50	0.0000	1.81	0.0000	<i>yfbE</i>
257	Artış	gene:BAE76252	3.49	0.0000	1.80	0.0000	<i>htpG</i>
258	Artış	gene:BAE76484	3.46	0.0000	1.79	0.0000	<i>ydgT</i>
259	Artış	gene:BAE76385	3.46	0.0000	1.79	0.0000	<i>ycgZ</i>
260	Artış	gene:BAE76307	3.44	0.0021	1.78	0.0006	<i>sfmA</i>
261	Artış	gene:BAB96705	3.43	0.0000	1.78	0.0000	<i>yadH</i>
262	Artış	gene:BAA15248	3.42	0.0014	1.78	0.0003	<i>ydfJ</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
263	Artış	gene:BAA35757	3.40	0.0002	1.77	0.0000	<i>ymcE</i>
264	Artış	gene:BAA16536	3.40	0.0000	1.77	0.0000	<i>ygaC</i>
265	Artış	gene:BAA15717	3.38	0.0000	1.76	0.0000	<i>otsA</i>
266	Artış	gene:BAA16539	3.36	0.0004	1.75	0.0001	<i>nrdE</i>
267	Artış	gene:BAE76278	3.34	0.0403	1.74	0.0164	<i>ylbH</i>
268	Artış	gene:BAE78116	3.33	0.0000	1.73	0.0000	<i>eptA</i>
269	Artış	gene:BAE76581	3.32	0.0000	1.73	0.0000	<i>yegP</i>
270	Artış	gene:BAE78187	3.32	0.0044	1.73	0.0012	<i>yjfc</i>
271	Artış	gene:BAE76798	3.32	0.0488	1.73	0.0206	<i>hycE</i>
272	Artış	gene:BAE76150	3.31	0.0000	1.73	0.0000	<i>hemB</i>
273	Artış	gene:BAE76246	3.31	0.0000	1.73	0.0000	<i>priC</i>
274	Artış	gene:BAA36099	3.30	0.0021	1.72	0.0006	<i>tpr</i>
275	Artış	gene:BAE76201	3.29	0.0000	1.72	0.0000	<i>ispA</i>
276	Artış	gene:BAB96689	3.28	0.0001	1.72	0.0000	<i>yachH</i>
277	Artış	gene:BAA15718	3.28	0.0000	1.71	0.0000	<i>otsB</i>
278	Artış	gene:BAE77083	3.26	0.0179	1.71	0.0063	<i>ygiZ</i>
279	Artış	gene:BAE76154	3.26	0.0021	1.71	0.0006	<i>insE</i>
280	Artış	gene:BAB96642	3.25	0.0002	1.70	0.0000	<i>leuB</i>
281	Artış	gene:BAE78095	3.25	0.0000	1.70	0.0000	<i>phnP</i>
282	Artış	gene:BAA14839	3.24	0.0000	1.69	0.0000	<i>gmr</i>
283	Artış	gene:BAE78085	3.22	0.0252	1.69	0.0093	<i>yjcS</i>
284	Artış	gene:BAE76309	3.22	0.0010	1.69	0.0002	<i>sfmD</i>
285	Artış	gene:BAE77705	3.20	0.0000	1.68	0.0000	<i>aldB</i>
286	Artış	gene:BAE78283	3.20	0.0132	1.68	0.0043	<i>fecR</i>
287	Artış	gene:BAE77562	3.20	0.0002	1.68	0.0000	<i>pstA</i>
288	Artış	gene:BAE76849	3.20	0.0055	1.68	0.0016	<i>ygcU</i>
289	Artış	gene:BAA35849	3.19	0.0011	1.67	0.0003	<i>yceK</i>
290	Artış	gene:BAB96692	3.19	0.0000	1.67	0.0000	<i>acnB</i>
291	Artış	gene:BAE78068	3.19	0.0001	1.67	0.0000	<i>yjcF</i>
292	Artış	gene:BAE76045	3.19	0.0000	1.67	0.0000	<i>glnD</i>
293	Artış	gene:BAE77689	3.18	0.0000	1.67	0.0000	<i>lldP</i>
294	Artış	gene:BAE76816	3.18	0.0226	1.67	0.0082	<i>ygbM</i>
295	Artış	gene:BAE78144	3.18	0.0000	1.67	0.0000	<i>groS</i>
296	Artış	gene:BAA35999	3.17	0.0001	1.66	0.0000	<i>ymgC</i>
297	Artış	gene:BAE78310	3.17	0.0000	1.66	0.0000	<i>fimD</i>
298	Artış	gene:BAA15140	3.16	0.0203	1.66	0.0072	<i>ddpC</i>
299	Artış	gene:BAB96651	3.15	0.0000	1.66	0.0000	<i>ftsL</i>
300	Artış	gene:BAA35449	3.14	0.0000	1.65	0.0000	<i>ybhP</i>
301	Artış	gene:BAA15202	3.12	0.0279	1.64	0.0105	<i>lsrD</i>
302	Artış	gene:BAA35748	3.12	0.0492	1.64	0.0208	<i>yccZ</i>
303	Artış	gene:BAA16339	3.12	0.0000	1.64	0.0000	<i>talA</i>
304	Artış	gene:BAE78351	3.12	0.0000	1.64	0.0000	<i>dnaC</i>
305	Artış	gene:BAA35226	3.11	0.0265	1.64	0.0099	<i>fes</i>
306	Artış	gene:BAE78366	3.10	0.0000	1.63	0.0000	<i>yjjU</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
307	Artış	gene:BAA77871	3.07	0.0000	1.62	0.0000	<i>yaeB</i>
308	Artış	gene:BAA15191	3.07	0.0000	1.62	0.0000	<i>ydeV</i>
309	Artış	gene:BAE76341	3.07	0.0000	1.62	0.0000	<i>entF</i>
310	Artış	gene:BAE76346	3.07	0.0127	1.62	0.0042	<i>ybdA</i>
311	Artış	gene:BAE77069	3.07	0.0000	1.62	0.0000	<i>dkgA</i>
312	Artış	gene:BAE77784	3.05	0.0000	1.61	0.0000	<i>hdeA</i>
313	Artış	gene:BAA15755	3.03	0.0000	1.60	0.0000	<i>amyA</i>
314	Artış	gene:BAE76166	3.03	0.0005	1.60	0.0001	<i>yaiC</i>
315	Artış	gene:BAE77846	3.02	0.0000	1.59	0.0000	<i>ggt</i>
316	Artış	gene:BAE76464	3.02	0.0000	1.59	0.0000	<i>ydfK</i>
317	Artış	gene:BAB96633	3.02	0.0000	1.59	0.0000	<i>araC</i>
318	Artış	gene:BAE78232	3.00	0.0000	1.59	0.0000	<i>fbp</i>
319	Artış	gene:BAA35447	3.00	0.0001	1.58	0.0000	<i>ybhN</i>
320	Artış	gene:BAE78026	3.00	0.0000	1.58	0.0000	<i>lysC</i>
321	Artış	gene:BAB96640	2.99	0.0000	1.58	0.0000	<i>leuD</i>
322	Artış	gene:BAE78123	2.98	0.0164	1.58	0.0057	<i>yjdB</i>
323	Artış	gene:BAE76247	2.98	0.0009	1.57	0.0002	<i>ybaN</i>
324	Artış	gene:BAE78137	2.98	0.0000	1.57	0.0000	<i>yjdB</i>
325	Artış	gene:BAE78352	2.98	0.0000	1.57	0.0000	<i>dnaT</i>
326	Artış	gene:BAE76446	2.97	0.0000	1.57	0.0000	<i>yncG</i>
327	Artış	gene:BAE77561	2.94	0.0001	1.56	0.0000	<i>pstC</i>
328	Artış	gene:BAA35255	2.94	0.0000	1.56	0.0000	<i>citA</i>
329	Artış	gene:BAE76094	2.94	0.0000	1.56	0.0000	<i>betA</i>
330	Artış	gene:BAE76089	2.94	0.0009	1.56	0.0002	<i>ykgD</i>
331	Artış	gene:BAA35218	2.93	0.0000	1.55	0.0000	<i>nfnB</i>
332	Artış	gene:BAB96713	2.93	0.0341	1.55	0.0133	<i>yadK</i>
333	Artış	gene:BAA35285	2.93	0.0006	1.55	0.0001	<i>cobC</i>
334	Artış	gene:BAE76208	2.92	0.0000	1.55	0.0000	<i>cyoE</i>
335	Artış	gene:BAE78229	2.92	0.0000	1.55	0.0000	<i>ytfr</i>
336	Artış	gene:BAE76251	2.92	0.0000	1.55	0.0000	<i>recR</i>
337	Artış	gene:BAE78050	2.92	0.0249	1.54	0.0092	<i>yjbM</i>
338	Artış	gene:BAE76241	2.91	0.0000	1.54	0.0000	<i>acrB</i>
339	Artış	gene:BAE78216	2.91	0.0000	1.54	0.0000	<i>ytfl</i>
340	Artış	gene:BAE78014	2.91	0.0000	1.54	0.0000	<i>yjaB</i>
341	Artış	gene:BAE78052	2.90	0.0000	1.54	0.0000	<i>yjbO</i>
342	Artış	gene:BAA77857	2.90	0.0000	1.54	0.0000	<i>lpxB</i>
343	Artış	gene:BAA16501	2.90	0.0000	1.53	0.0000	<i>recN</i>
344	Artış	gene:BAE78268	2.89	0.0282	1.53	0.0106	<i>insC</i>
345	Artış	gene:BAE76108	2.89	0.0000	1.53	0.0000	<i>yahK</i>
346	Artış	gene:BAE77039	2.89	0.0000	1.53	0.0000	<i>glcE</i>
347	Artış	gene:BAE78311	2.87	0.0000	1.52	0.0000	<i>fimF</i>
348	Artış	gene:BAE76232	2.87	0.0000	1.52	0.0000	<i>tesB</i>
349	Artış	gene:BAE77038	2.87	0.0000	1.52	0.0000	<i>glcF</i>
350	Artış	gene:BAE76077	2.84	0.0003	1.51	0.0001	<i>yagZ</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
351	Artış	gene:BAA35201	2.84	0.0004	1.51	0.0001	<i>ybcH</i>
352	Artış	gene:BAB96588	2.83	0.0000	1.50	0.0000	<i>yaaH</i>
353	Artış	gene:BAA35468	2.83	0.0000	1.50	0.0000	<i>ybiJ</i>
354	Artış	gene:BAB96699	2.83	0.0000	1.50	0.0000	<i>gcd</i>
355	Artış	gene:BAB96598	2.83	0.0000	1.50	0.0000	<i>ispH</i>
356	Artış	gene:BAE78168	2.82	0.0000	1.49	0.0000	<i>yjeF</i>
357	Artış	gene:BAE76327	2.81	0.0029	1.49	0.0008	<i>ybcQ</i>
358	Artış	gene:BAA14979	2.81	0.0000	1.49	0.0000	<i>pinR</i>
359	Artış	gene:BAA35225	2.81	0.0047	1.49	0.0013	<i>fepA</i>
360	Artış	gene:BAE76275	2.80	0.0000	1.49	0.0000	<i>ybbP</i>
361	Artış	gene:BAA35291	2.77	0.0054	1.47	0.0016	<i>ybeQ</i>
362	Artış	gene:BAE77426	2.76	0.0279	1.47	0.0105	<i>yihV</i>
363	Artış	gene:BAE78309	2.76	0.0000	1.47	0.0000	<i>fimC</i>
364	Artış	gene:BAA77867	2.76	0.0006	1.46	0.0001	<i>yaeI</i>
365	Artış	gene:BAE76345	2.75	0.0033	1.46	0.0009	<i>fepD</i>
366	Artış	gene:BAE76595	2.75	0.0396	1.46	0.0160	<i>yehL</i>
367	Artış	gene:BAE76483	2.75	0.0000	1.46	0.0000	<i>blr</i>
368	Artış	gene:BAE78256	2.75	0.0000	1.46	0.0000	<i>holC</i>
369	Artış	gene:BAB96627	2.75	0.0000	1.46	0.0000	<i>hepA</i>
370	Artış	gene:BAA15531	2.74	0.0000	1.45	0.0000	<i>spy</i>
371	Artış	gene:BAE78218	2.74	0.0000	1.45	0.0000	<i>ytfK</i>
372	Artış	gene:BAA15622	2.73	0.0000	1.45	0.0000	<i>yoaD</i>
373	Artış	gene:BAA35351	2.72	0.0177	1.45	0.0062	<i>kdpE</i>
374	Artış	gene:BAE78308	2.72	0.0000	1.45	0.0000	<i>fimI</i>
375	Artış	gene:BAA35850	2.71	0.0000	1.44	0.0000	<i>msyB</i>
376	Artış	gene:BAE77785	2.71	0.0000	1.44	0.0000	<i>hdeB</i>
377	Artış	gene:BAB96732	2.70	0.0000	1.44	0.0000	<i>clcA</i>
378	Artış	gene:BAE78345	2.70	0.0002	1.44	0.0000	<i>tsr</i>
379	Artış	gene:BAA15087	2.70	0.0183	1.44	0.0064	<i>rhsE</i>
380	Artış	gene:BAE78016	2.70	0.0000	1.43	0.0000	<i>aceB</i>
381	Artış	gene:BAB96597	2.70	0.0000	1.43	0.0000	<i>fkpB</i>
382	Artış	gene:BAE76482	2.70	0.0352	1.43	0.0139	<i>uidC</i>
383	Artış	gene:BAE78032	2.70	0.0001	1.43	0.0000	<i>yjbA</i>
384	Artış	gene:BAA35290	2.70	0.0000	1.43	0.0000	<i>ybeL</i>
385	Artış	gene:BAA15794	2.69	0.0000	1.43	0.0000	<i>hchA</i>
386	Artış	gene:BAA14869	2.69	0.0156	1.43	0.0053	<i>puuC</i>
387	Artış	gene:BAA35256	2.68	0.0007	1.42	0.0002	<i>citB</i>
388	Artış	gene:BAE78284	2.68	0.0039	1.42	0.0011	<i>fecl</i>
389	Artış	gene:BAB96698	2.67	0.0000	1.42	0.0000	<i>cueO</i>
390	Artış	gene:BAA15082	2.67	0.0000	1.41	0.0000	<i>yncC</i>
391	Artış	gene:BAE76113	2.66	0.0002	1.41	0.0000	<i>prpR</i>
392	Artış	gene:BAE76035	2.66	0.0001	1.41	0.0000	<i>yaaY</i>
393	Artış	gene:BAE78247	2.66	0.0133	1.41	0.0044	<i>yjgI</i>
394	Artış	gene:BAE78371	2.65	0.0000	1.41	0.0000	<i>deoA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
395	Artış	gene:BAA77890	2.65	0.0000	1.41	0.0000	<i>ivy</i>
396	Artış	gene:BAA15154	2.65	0.0002	1.41	0.0000	<i>dos</i>
397	Artış	gene:BAB96725	2.65	0.0000	1.40	0.0000	<i>mrcB</i>
398	Artış	gene:BAB96726	2.64	0.0000	1.40	0.0000	<i>fhuA</i>
399	Artış	gene:BAE76170	2.63	0.0000	1.40	0.0000	<i>yaiA</i>
400	Artış	gene:BAE76096	2.63	0.0000	1.39	0.0000	<i>betI</i>
401	Artış	gene:BAE78220	2.63	0.0000	1.39	0.0000	<i>msrA</i>
402	Artış	gene:BAA15138	2.61	0.0054	1.38	0.0016	<i>ddpF</i>
403	Artış	gene:BAB96663	2.61	0.0000	1.38	0.0000	<i>ftsZ</i>
404	Artış	gene:BAE76072	2.60	0.0062	1.38	0.0018	<i>ykgJ</i>
405	Artış	gene:BAE76167	2.59	0.0000	1.37	0.0000	<i>proC</i>
406	Artış	gene:BAE77747	2.59	0.0000	1.37	0.0000	<i>yhjY</i>
407	Artış	gene:BAA35274	2.59	0.0000	1.37	0.0000	<i>ybeD</i>
408	Artış	gene:BAA15992	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>eco</i>
409	Artış	gene:BAA16543	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>proW</i>
410	Artış	gene:BAE76210	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>cyoC</i>
411	Artış	gene:BAE76242	2.57	0.0000	1.36	0.0000	<i>acrA</i>
412	Artış	gene:BAE76107	2.57	0.0001	1.36	0.0000	<i>yahJ</i>
413	Artış	gene:BAE76228	2.56	0.0000	1.36	0.0000	<i>mdlA</i>
414	Artış	gene:BAE77803	2.56	0.0002	1.35	0.0000	<i>yhiM</i>
415	Artış	gene:BAE78087	2.55	0.0336	1.35	0.0131	<i>alsK</i>
416	Artış	gene:BAA35772	2.55	0.0000	1.35	0.0000	<i>ymdF</i>
417	Artış	gene:BAE76054	2.54	0.0313	1.35	0.0120	<i>yagG</i>
418	Artış	gene:BAE76555	2.54	0.0000	1.34	0.0000	<i>yedP</i>
419	Artış	gene:BAA77863	2.54	0.0000	1.34	0.0000	<i>tilS</i>
420	Artış	gene:BAE78217	2.53	0.0000	1.34	0.0000	<i>ytfJ</i>
421	Artış	gene:BAB96664	2.53	0.0000	1.34	0.0000	<i>lpxC</i>
422	Artış	gene:BAA77928	2.52	0.0049	1.33	0.0014	<i>mmuP</i>
423	Artış	gene:BAA15972	2.52	0.0165	1.33	0.0057	<i>thiM</i>
424	Artış	gene:BAE76095	2.52	0.0000	1.33	0.0000	<i>betB</i>
425	Artış	gene:BAA35561	2.52	0.0011	1.33	0.0003	<i>ybjC</i>
426	Artış	gene:BAE78287	2.51	0.0260	1.33	0.0096	<i>yjhF</i>
427	Artış	gene:BAE76321	2.51	0.0000	1.33	0.0000	<i>ybcM</i>
428	Artış	gene:BAA35217	2.51	0.0000	1.33	0.0000	<i>ybdG</i>
429	Artış	gene:BAA35715	2.50	0.0000	1.32	0.0000	<i>ompA</i>
430	Artış	gene:BAA15102	2.50	0.0072	1.32	0.0022	<i>narV</i>
431	Artış	gene:BAA35353	2.50	0.0070	1.32	0.0021	<i>kdpC</i>
432	Artış	gene:BAE78059	2.48	0.0000	1.31	0.0000	<i>yjbR</i>
433	Artış	gene:BAE76540	2.48	0.0000	1.31	0.0000	<i>yobH</i>
434	Artış	gene:BAE78058	2.48	0.0000	1.31	0.0000	<i>yjbQ</i>
435	Artış	gene:BAA15192	2.48	0.0003	1.31	0.0001	<i>ydeW</i>
436	Artış	gene:BAE77024	2.48	0.0000	1.31	0.0000	<i>mutY</i>
437	Artış	gene:BAA14946	2.47	0.0000	1.31	0.0000	<i>dbpA</i>
438	Artış	gene:BAA35289	2.46	0.0000	1.30	0.0000	<i>leuS</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
439	Artış	gene:BAA35229	2.46	0.0000	1.30	0.0000	<i>ybdH</i>
440	Artış	gene:BAA15142	2.45	0.0029	1.29	0.0008	<i>ddpA</i>
441	Artış	gene:BAA35830	2.44	0.0014	1.29	0.0003	<i>csgD</i>
442	Artış	gene:BAA15688	2.44	0.0282	1.29	0.0106	<i>flhA</i>
443	Artış	gene:BAE76227	2.44	0.0000	1.29	0.0000	<i>ybaO</i>
444	Artış	gene:BAE78294	2.44	0.0162	1.29	0.0056	<i>sgcQ</i>
445	Artış	gene:BAE78303	2.44	0.0000	1.29	0.0000	<i>yjhT</i>
446	Artış	gene:BAE76152	2.44	0.0001	1.29	0.0000	<i>yaiT</i>
447	Artış	gene:BAE78330	2.43	0.0001	1.28	0.0000	<i>yjiO</i>
448	Artış	gene:BAE76290	2.43	0.0079	1.28	0.0024	<i>allB</i>
449	Artış	gene:BAA35234	2.43	0.0000	1.28	0.0000	<i>dsbG</i>
450	Artış	gene:BAA35286	2.43	0.0004	1.28	0.0001	<i>nadD</i>
451	Artış	gene:BAE76731	2.42	0.0393	1.28	0.0159	<i>yphG</i>
452	Artış	gene:BAE76165	2.42	0.0000	1.27	0.0000	<i>psiF</i>
453	Artış	gene:BAA35743	2.41	0.0206	1.27	0.0074	<i>appC</i>
454	Artış	gene:BAE77788	2.41	0.0003	1.27	0.0001	<i>slp</i>
455	Artış	gene:BAE76135	2.41	0.0152	1.27	0.0052	<i>mhpT</i>
456	Artış	gene:BAE77084	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>mdaB</i>
457	Artış	gene:BAA15860	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>ugd</i>
458	Artış	gene:BAA35204	2.41	0.0002	1.27	0.0000	<i>cusS</i>
459	Artış	gene:BAE76098	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>yahA</i>
460	Artış	gene:BAA35200	2.41	0.0391	1.27	0.0158	<i>envY</i>
461	Artış	gene:BAA35836	2.41	0.0000	1.27	0.0000	<i>ymdC</i>
462	Artış	gene:BAE78212	2.41	0.0009	1.27	0.0002	<i>ytfG</i>
463	Artış	gene:BAE77710	2.40	0.0474	1.26	0.0199	<i>sgbE</i>
464	Artış	gene:BAB96645	2.40	0.0000	1.26	0.0000	<i>leuO</i>
465	Artış	gene:BAE76075	2.39	0.0140	1.26	0.0047	<i>yagX</i>
466	Artış	gene:BAE76864	2.38	0.0166	1.25	0.0058	<i>yqcC</i>
467	Artış	gene:BAE78019	2.38	0.0004	1.25	0.0001	<i>arpA</i>
468	Artış	gene:BAE77471	2.38	0.0000	1.25	0.0000	<i>ysgA</i>
469	Artış	gene:BAB96712	2.38	0.0008	1.25	0.0002	<i>yadC</i>
470	Artış	gene:BAE76830	2.38	0.0001	1.25	0.0000	<i>iap</i>
471	Artış	gene:BAE76818	2.38	0.0000	1.25	0.0000	<i>rpoS</i>
472	Artış	gene:BAA15995	2.37	0.0359	1.24	0.0142	<i>alkB</i>
473	Artış	gene:BAA16527	2.37	0.0001	1.24	0.0000	<i>csiR</i>
474	Artış	gene:BAB96741	2.36	0.0469	1.24	0.0196	<i>yael</i>
475	Artış	gene:BAE77236	2.36	0.0000	1.24	0.0000	<i>yrbC</i>
476	Artış	gene:BAA16242	2.36	0.0139	1.24	0.0046	<i>yfdE</i>
477	Artış	gene:BAB96636	2.36	0.0432	1.24	0.0178	<i>thiP</i>
478	Artış	gene:BAB96735	2.35	0.0034	1.24	0.0009	<i>btuF</i>
479	Artış	gene:BAA36067	2.35	0.0001	1.23	0.0000	<i>lolB</i>
480	Artış	gene:BAB96624	2.35	0.0000	1.23	0.0000	<i>yabP</i>
481	Artış	gene:BAA15697	2.35	0.0148	1.23	0.0050	<i>cheZ</i>
482	Artış	gene:BAE78063	2.34	0.0000	1.23	0.0000	<i>yjcC</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
483	Artış	gene:BAE78064	2.34	0.0000	1.23	0.0000	<i>soxS</i>
484	Artış	gene:BAE76419	2.34	0.0000	1.23	0.0000	<i>ynaE</i>
485	Artış	gene:BAA77934	2.34	0.0004	1.22	0.0001	<i>yagE</i>
486	Artış	gene:BAE78363	2.34	0.0000	1.22	0.0000	<i>prfC</i>
487	Artış	gene:BAA15128	2.33	0.0000	1.22	0.0000	<i>osmC</i>
488	Artış	gene:BAE78384	2.33	0.0000	1.22	0.0000	<i>ytjC</i>
489	Artış	gene:BAA77848	2.32	0.0000	1.22	0.0000	<i>dxr</i>
490	Artış	gene:BAA14875	2.32	0.0234	1.21	0.0085	<i>pspC</i>
491	Artış	gene:BAE77687	2.32	0.0000	1.21	0.0000	<i>lldD</i>
492	Artış	gene:BAA35202	2.31	0.0001	1.21	0.0000	<i>nfrA</i>
493	Artış	gene:BAA35500	2.31	0.0000	1.21	0.0000	<i>ybiS</i>
494	Artış	gene:BAE76645	2.31	0.0000	1.21	0.0000	<i>yeiU</i>
495	Artış	gene:BAE76034	2.30	0.0103	1.20	0.0033	<i>insA</i>
496	Artış	gene:BAE77457	2.30	0.0001	1.20	0.0000	<i>fadB</i>
497	Artış	gene:BAE76337	2.30	0.0002	1.20	0.0001	<i>ybcY</i>
498	Artış	gene:BAA15431	2.29	0.0000	1.20	0.0000	<i>ydhQ</i>
499	Artış	gene:BAE77847	2.29	0.0078	1.20	0.0024	<i>yrhB</i>
500	Artış	gene:BAA15081	2.29	0.0002	1.19	0.0000	<i>yncB</i>
501	Artış	gene:BAE78224	2.29	0.0045	1.19	0.0013	<i>yzfA</i>
502	Artış	gene:BAE78275	2.28	0.0000	1.19	0.0000	<i>insN</i>
503	Artış	gene:BAE96615	2.28	0.0000	1.19	0.0000	<i>kefC</i>
504	Artış	gene:BAE77323	2.27	0.0006	1.18	0.0001	<i>nudC</i>
505	Artış	gene:BAA15619	2.26	0.0016	1.18	0.0004	<i>pabB</i>
506	Artış	gene:BAA15539	2.25	0.0000	1.17	0.0000	<i>astC</i>
507	Artış	gene:BAE77729	2.25	0.0137	1.17	0.0046	<i>xyiB</i>
508	Artış	gene:BAE96747	2.24	0.0000	1.16	0.0000	<i>pyrH</i>
509	Artış	gene:BAE76263	2.24	0.0000	1.16	0.0000	<i>copA</i>
510	Artış	gene:BAE76819	2.23	0.0000	1.16	0.0000	<i>nlpD</i>
511	Artış	gene:BAE76319	2.23	0.0194	1.16	0.0069	<i>ybcK</i>
512	Artış	gene:BAA15428	2.22	0.0000	1.15	0.0000	<i>cfa</i>
513	Artış	gene:BAA15472	2.22	0.0000	1.15	0.0000	<i>ydiA</i>
514	Artış	gene:BAE78380	2.22	0.0000	1.15	0.0000	<i>yjjK</i>
515	Artış	gene:BAE78065	2.21	0.0029	1.15	0.0008	<i>soxR</i>
516	Artış	gene:BAE76603	2.21	0.0000	1.14	0.0000	<i>mlrA</i>
517	Artış	gene:BAA16563	2.21	0.0096	1.14	0.0030	<i>mltB</i>
518	Artış	gene:BAA15738	2.21	0.0044	1.14	0.0012	<i>yecS</i>
519	Artış	gene:BAE77118	2.20	0.0000	1.14	0.0000	<i>rpoD</i>
520	Artış	gene:BAE96719	2.20	0.0348	1.14	0.0137	<i>folk</i>
521	Artış	gene:BAE78370	2.20	0.0000	1.14	0.0000	<i>deoC</i>
522	Artış	gene:BAE76063	2.20	0.0080	1.14	0.0024	<i>yagM</i>
523	Artış	gene:BAE76229	2.20	0.0000	1.14	0.0000	<i>mdlB</i>
524	Artış	gene:BAE96731	2.20	0.0000	1.14	0.0000	<i>hemL</i>
525	Artış	gene:BAE78215	2.19	0.0000	1.13	0.0000	<i>cysQ</i>
526	Artış	gene:BAE78254	2.19	0.0326	1.13	0.0127	<i>yjgN</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
527	Artış	gene:BAE78313	2.19	0.0000	1.13	0.0000	<i>fimH</i>
528	Artış	gene:BAB96728	2.18	0.0165	1.13	0.0057	<i>fhuD</i>
529	Artış	gene:BAA15209	2.18	0.0058	1.13	0.0017	<i>yneJ</i>
530	Artış	gene:BAA16287	2.18	0.0000	1.13	0.0000	<i>cysZ</i>
531	Artış	gene:BAA15384	2.17	0.0277	1.12	0.0104	<i>rsxC</i>
532	Artış	gene:BAE77123	2.17	0.0000	1.12	0.0000	<i>ygjG</i>
533	Artış	gene:BAE77472	2.17	0.0024	1.12	0.0006	<i>metE</i>
534	Artış	gene:BAA35354	2.16	0.0479	1.11	0.0201	<i>kdpB</i>
535	Artış	gene:BAA15477	2.16	0.0002	1.11	0.0000	<i>btuD</i>
536	Artış	gene:BAB96631	2.15	0.0080	1.11	0.0024	<i>araA</i>
537	Artış	gene:BAB96596	2.15	0.0000	1.10	0.0000	<i>lspA</i>
538	Artış	gene:BAE78159	2.15	0.0001	1.10	0.0000	<i>poxA</i>
539	Artış	gene:BAA35817	2.15	0.0283	1.10	0.0107	<i>ycdZ</i>
540	Artış	gene:BAE76038	2.15	0.0000	1.10	0.0000	<i>ksgA</i>
541	Artış	gene:BAE76587	2.14	0.0000	1.10	0.0000	<i>yohN</i>
542	Artış	gene:BAE76254	2.14	0.0000	1.10	0.0000	<i>hemH</i>
543	Artış	gene:BAE76197	2.14	0.0023	1.10	0.0006	<i>thiL</i>
544	Artış	gene:BAE77005	2.13	0.0000	1.09	0.0000	<i>metK</i>
545	Artış	gene:BAA77927	2.13	0.0170	1.09	0.0059	<i>ykfC</i>
546	Artış	gene:BAE76486	2.12	0.0008	1.09	0.0002	<i>rsxA</i>
547	Artış	gene:BAE76673	2.12	0.0101	1.08	0.0032	<i>yfbH</i>
548	Artış	gene:BAE76266	2.12	0.0000	1.08	0.0000	<i>cueR</i>
549	Artış	gene:BAA15977	2.11	0.0063	1.08	0.0019	<i>fruK</i>
550	Artış	gene:BAE77352	2.11	0.0059	1.08	0.0017	<i>argB</i>
551	Artış	gene:BAA77859	2.10	0.0000	1.07	0.0000	<i>dnaE</i>
552	Artış	gene:BAE76496	2.10	0.0001	1.07	0.0000	<i>ydhS</i>
553	Artış	gene:BAE76271	2.10	0.0005	1.07	0.0001	<i>ybbN</i>
554	Artış	gene:BAE78346	2.10	0.0031	1.07	0.0008	<i>yjiZ</i>
555	Artış	gene:BAE76073	2.10	0.0030	1.07	0.0008	<i>yagV</i>
556	Artış	gene:BAE78132	2.10	0.0000	1.07	0.0000	<i>lysU</i>
557	Artış	gene:BAE78312	2.10	0.0077	1.07	0.0023	<i>fimG</i>
558	Artış	gene:BAB96628	2.09	0.0001	1.07	0.0000	<i>polB</i>
559	Artış	gene:BAE78381	2.09	0.0000	1.07	0.0000	<i>slt</i>
560	Artış	gene:BAE76180	2.09	0.0007	1.06	0.0002	<i>phoR</i>
561	Artış	gene:BAA77868	2.08	0.0000	1.06	0.0000	<i>nlpE</i>
562	Artış	gene:BAE78153	2.07	0.0001	1.05	0.0000	<i>blc</i>
563	Artış	gene:BAE76250	2.07	0.0001	1.05	0.0000	<i>ybaB</i>
564	Artış	gene:BAE78053	2.07	0.0000	1.05	0.0000	<i>qor</i>
565	Artış	gene:BAE78235	2.07	0.0000	1.05	0.0000	<i>pmbA</i>
566	Artış	gene:BAE76209	2.06	0.0015	1.05	0.0004	<i>cyoD</i>
567	Artış	gene:BAA77860	2.06	0.0000	1.05	0.0000	<i>accA</i>
568	Artış	gene:BAB96655	2.06	0.0001	1.05	0.0000	<i>mraY</i>
569	Artış	gene:BAE77819	2.06	0.0023	1.04	0.0006	<i>yhhT</i>
570	Artış	gene:BAA35569	2.05	0.0008	1.04	0.0002	<i>ybjO</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
571	Artış	gene:BAE76674	2.05	0.0036	1.04	0.0010	<i>arnT</i>
572	Artış	gene:BAB96654	2.05	0.0000	1.04	0.0000	<i>murF</i>
573	Artış	gene:BAE77592	2.05	0.0000	1.04	0.0000	<i>dnaA</i>
574	Artış	gene:BAE77009	2.05	0.0002	1.04	0.0000	<i>yggJ</i>
575	Artış	gene:BAE77587	2.05	0.0007	1.04	0.0002	<i>trmE</i>
576	Artış	gene:BAE76218	2.05	0.0000	1.03	0.0000	<i>clpX</i>
577	Artış	gene:BAA15374	2.05	0.0001	1.03	0.0000	<i>add</i>
578	Artış	gene:BAA35287	2.05	0.0003	1.03	0.0001	<i>holA</i>
579	Artış	gene:BAA35629	2.04	0.0001	1.03	0.0000	<i>ycaC</i>
580	Artış	gene:BAE76839	2.04	0.0175	1.03	0.0061	<i>cysH</i>
581	Artış	gene:BAB96643	2.04	0.0055	1.03	0.0016	<i>leuA</i>
582	Artış	gene:BAE76560	2.04	0.0260	1.03	0.0096	<i>yedZ</i>
583	Artış	gene:BAE76787	2.04	0.0062	1.03	0.0018	<i>norV</i>
584	Artış	gene:BAA35283	2.03	0.0067	1.02	0.0020	<i>ybeA</i>
585	Artış	gene:BAE78148	2.03	0.0001	1.02	0.0000	<i>yjeK</i>
586	Artış	gene:BAE76306	2.03	0.0004	1.02	0.0001	<i>fold</i>
587	Artış	gene:BAE76120	2.03	0.0266	1.02	0.0099	<i>cynR</i>
588	Artış	gene:BAA15155	2.03	0.0025	1.02	0.0007	<i>yddV</i>
589	Artış	gene:BAA36142	2.02	0.0001	1.02	0.0000	<i>cbpA</i>
590	Artış	gene:BAA77876	2.02	0.0012	1.02	0.0003	<i>metN</i>
591	Artış	gene:BAB96685	2.02	0.0000	1.01	0.0000	<i>aceF</i>
592	Artış	gene:BAE78027	2.02	0.0000	1.01	0.0000	<i>pgi</i>
593	Artış	gene:BAE77131	2.02	0.0003	1.01	0.0001	<i>fadH</i>
594	Artış	gene:BAE78367	2.01	0.0003	1.01	0.0001	<i>yjjV</i>
595	Artış	gene:BAB96659	2.01	0.0000	1.01	0.0000	<i>murC</i>
596	Artış	gene:BAE77235	2.01	0.0003	1.01	0.0001	<i>yrbB</i>
597	Artış	gene:BAE78360	2.00	0.0017	1.00	0.0004	<i>hold</i>
598	Azalış	gene:BAA15841	-2.00	0.0013	-1.00	0.0003	<i>yeeE</i>
599	Azalış	gene:BAE76602	-2.00	0.0010	-1.00	0.0002	<i>yehU</i>
600	Azalış	gene:BAE76622	-2.01	0.0156	-1.01	0.0054	<i>yeiS</i>
601	Azalış	gene:BAE77623	-2.01	0.0375	-1.01	0.0150	<i>ilvN</i>
602	Azalış	gene:BAE77353	-2.01	0.0055	-1.01	0.0016	<i>argC</i>
603	Azalış	gene:BAA15842	-2.01	0.0022	-1.01	0.0006	<i>yeeF</i>
604	Azalış	gene:BAE77081	-2.01	0.0019	-1.01	0.0005	<i>qseB</i>
605	Azalış	gene:BAE76650	-2.02	0.0001	-1.01	0.0000	<i>rply</i>
606	Azalış	gene:BAE77021	-2.02	0.0021	-1.01	0.0005	<i>yggN</i>
607	Azalış	gene:BAA15735	-2.02	0.0014	-1.01	0.0004	<i>yecF</i>
608	Azalış	gene:BAE76586	-2.02	0.0049	-1.01	0.0014	<i>yohL</i>
609	Azalış	gene:BAE76243	-2.02	0.0001	-1.02	0.0000	<i>acrR</i>
610	Azalış	gene:BAE76867	-2.02	0.0001	-1.02	0.0000	<i>ygdH</i>
611	Azalış	gene:BAE76738	-2.02	0.0016	-1.02	0.0004	<i>yfhL</i>
612	Azalış	gene:BAA16016	-2.02	0.0091	-1.02	0.0028	<i>atoC</i>
613	Azalış	gene:BAA35949	-2.02	0.0000	-1.02	0.0000	<i>pepT</i>
614	Azalış	gene:BAE77033	-2.02	0.0213	-1.02	0.0076	<i>pppA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
615	Azalış	gene:BAA15589	-2.03	0.0186	-1.02	0.0066	<i>yeaN</i>
616	Azalış	gene:BAE77446	-2.03	0.0021	-1.02	0.0005	<i>yihG</i>
617	Azalış	gene:BAA35702	-2.04	0.0004	-1.03	0.0001	<i>ycbX</i>
618	Azalış	gene:BAA16054	-2.04	0.0000	-1.03	0.0000	<i>nrdB</i>
619	Azalış	gene:BAA35770	-2.04	0.0002	-1.03	0.0000	<i>yccI</i>
620	Azalış	gene:BAA16353	-2.04	0.0003	-1.03	0.0001	<i>purC</i>
621	Azalış	gene:BAA15937	-2.05	0.0122	-1.03	0.0040	<i>ogrK</i>
622	Azalış	gene:BAE77074	-2.05	0.0001	-1.04	0.0000	<i>plsC</i>
623	Azalış	gene:BAA35734	-2.06	0.0000	-1.04	0.0000	<i>yccK</i>
624	Azalış	gene:BAE77639	-2.06	0.0144	-1.04	0.0049	<i>yicE</i>
625	Azalış	gene:BAA35805	-2.06	0.0062	-1.04	0.0018	<i>ycdR</i>
626	Azalış	gene:BAE77663	-2.07	0.0000	-1.05	0.0000	<i>rfaS</i>
627	Azalış	gene:BAE76302	-2.07	0.0000	-1.05	0.0000	<i>ppiB</i>
628	Azalış	gene:BAA15045	-2.07	0.0000	-1.05	0.0000	<i>ydcl</i>
629	Azalış	gene:BAA15452	-2.07	0.0226	-1.05	0.0082	<i>ydil</i>
630	Azalış	gene:BAE76853	-2.07	0.0000	-1.05	0.0000	<i>eno</i>
631	Azalış	gene:BAE76124	-2.08	0.0311	-1.06	0.0119	<i>lacA</i>
632	Azalış	gene:BAE76601	-2.09	0.0007	-1.06	0.0002	<i>yehT</i>
633	Azalış	gene:BAA15983	-2.09	0.0001	-1.06	0.0000	<i>spr</i>
634	Azalış	gene:BAE77724	-2.09	0.0014	-1.07	0.0003	<i>xyIR</i>
635	Azalış	gene:BAE77096	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>ygiE</i>
636	Azalış	gene:BAE76890	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>ptr</i>
637	Azalış	gene:BAE77942	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>slyD</i>
638	Azalış	gene:BAA15729	-2.10	0.0009	-1.07	0.0002	<i>yechH</i>
639	Azalış	gene:BAE76190	-2.10	0.0000	-1.07	0.0000	<i>yajD</i>
640	Azalış	gene:BAE76505	-2.11	0.0000	-1.07	0.0000	<i>ydiV</i>
641	Azalış	gene:BAE76525	-2.11	0.0098	-1.08	0.0031	<i>yeaC</i>
642	Azalış	gene:BAE77388	-2.11	0.0001	-1.08	0.0000	<i>yiiS</i>
643	Azalış	gene:BAA77883	-2.11	0.0000	-1.08	0.0000	<i>gloB</i>
644	Azalış	gene:BAA35642	-2.12	0.0000	-1.08	0.0000	<i>serC</i>
645	Azalış	gene:BAE76733	-2.12	0.0004	-1.08	0.0001	<i>purL</i>
646	Azalış	gene:BAE77581	-2.12	0.0000	-1.08	0.0000	<i>tnaB</i>
647	Azalış	gene:BAE77313	-2.12	0.0028	-1.08	0.0007	<i>purH</i>
648	Azalış	gene:BAE76794	-2.12	0.0005	-1.08	0.0001	<i>hycl</i>
649	Azalış	gene:BAE78238	-2.12	0.0000	-1.09	0.0000	<i>treC</i>
650	Azalış	gene:BAE76871	-2.13	0.0097	-1.09	0.0031	<i>fucO</i>
651	Azalış	gene:BAA16157	-2.13	0.0014	-1.09	0.0004	<i>ubiX</i>
652	Azalış	gene:BAE76704	-2.13	0.0027	-1.09	0.0007	<i>torI</i>
653	Azalış	gene:BAE77646	-2.13	0.0144	-1.09	0.0049	<i>ligB</i>
654	Azalış	gene:BAE76356	-2.13	0.0103	-1.09	0.0033	<i>insH</i>
655	Azalış	gene:BAE76831	-2.13	0.0078	-1.09	0.0024	<i>ygbF</i>
656	Azalış	gene:BAE76394	-2.13	0.0061	-1.09	0.0018	<i>ldrC</i>
657	Azalış	gene:BAA15451	-2.13	0.0001	-1.09	0.0000	<i>ydiJ</i>
658	Azalış	gene:BAA15732	-2.13	0.0000	-1.09	0.0000	<i>pgsA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
659	Azalış	gene:BAA35548	-2.14	0.0003	-1.10	0.0001	<i>ybjI</i>
660	Azalış	gene:BAE77873	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>malT</i>
661	Azalış	gene:BAA35874	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>rimJ</i>
662	Azalış	gene:BAE76891	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>recC</i>
663	Azalış	gene:BAE76977	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>serA</i>
664	Azalış	gene:BAE77460	-2.14	0.0000	-1.10	0.0000	<i>ubiD</i>
665	Azalış	gene:BAE76161	-2.14	0.0020	-1.10	0.0005	<i>yaiZ</i>
666	Azalış	gene:BAE76388	-2.15	0.0008	-1.11	0.0002	<i>ymgF</i>
667	Azalış	gene:BAE77571	-2.16	0.0017	-1.11	0.0004	<i>cbrC</i>
668	Azalış	gene:BAE76600	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>yehS</i>
669	Azalış	gene:BAA35331	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>fur</i>
670	Azalış	gene:BAA35307	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>gltI</i>
671	Azalış	gene:BAE77619	-2.16	0.0037	-1.11	0.0010	<i>yidF</i>
672	Azalış	gene:BAE77387	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>yiiT</i>
673	Azalış	gene:BAE78368	-2.16	0.0009	-1.11	0.0002	<i>yjjW</i>
674	Azalış	gene:BAA15875	-2.16	0.0000	-1.11	0.0000	<i>wbbJ</i>
675	Azalış	gene:BAA15661	-2.17	0.0001	-1.12	0.0000	<i>yebK</i>
676	Azalış	gene:BAA16142	-2.17	0.0003	-1.12	0.0001	<i>yfcl</i>
677	Azalış	gene:BAE78236	-2.17	0.0005	-1.12	0.0001	<i>nrdG</i>
678	Azalış	gene:BAE77034	-2.17	0.0000	-1.12	0.0000	<i>yghJ</i>
679	Azalış	gene:BAA15954	-2.17	0.0000	-1.12	0.0000	<i>gatD</i>
680	Azalış	gene:BAA35405	-2.17	0.0000	-1.12	0.0000	<i>tolA</i>
681	Azalış	gene:BAE77470	-2.18	0.0000	-1.12	0.0000	<i>udp</i>
682	Azalış	gene:BAA15061	-2.18	0.0316	-1.13	0.0122	<i>ydcO</i>
683	Azalış	gene:BAA15965	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>gatZ</i>
684	Azalış	gene:BAA15315	-2.19	0.0001	-1.13	0.0000	<i>dmsD</i>
685	Azalış	gene:BAA36016	-2.19	0.0003	-1.13	0.0001	<i>hlyE</i>
686	Azalış	gene:BAE76530	-2.19	0.0000	-1.13	0.0000	<i>yoaF</i>
687	Azalış	gene:BAA16123	-2.20	0.0000	-1.14	0.0000	<i>nuoA</i>
688	Azalış	gene:BAE77559	-2.21	0.0000	-1.14	0.0000	<i>gImS</i>
689	Azalış	gene:BAE77650	-2.21	0.0286	-1.14	0.0108	<i>pyrE</i>
690	Azalış	gene:BAA14810	-2.21	0.0000	-1.15	0.0000	<i>yciN</i>
691	Azalış	gene:BAA15420	-2.21	0.0000	-1.15	0.0000	<i>ydhD</i>
692	Azalış	gene:BAE77276	-2.21	0.0000	-1.15	0.0000	<i>yhcB</i>
693	Azalış	gene:BAE77142	-2.22	0.0001	-1.15	0.0000	<i>uxaC</i>
694	Azalış	gene:BAE77019	-2.22	0.0022	-1.15	0.0006	<i>yggM</i>
695	Azalış	gene:BAE77320	-2.22	0.0000	-1.15	0.0000	<i>yjaG</i>
696	Azalış	gene:BAA15632	-2.23	0.0017	-1.16	0.0004	<i>yebN</i>
697	Azalış	gene:BAA14827	-2.23	0.0000	-1.16	0.0000	<i>cysB</i>
698	Azalış	gene:BAE77574	-2.24	0.0002	-1.16	0.0000	<i>yieG</i>
699	Azalış	gene:BAE77597	-2.24	0.0000	-1.16	0.0000	<i>yidA</i>
700	Azalış	gene:BAA15734	-2.24	0.0000	-1.16	0.0000	<i>uvrY</i>
701	Azalış	gene:BAE76685	-2.24	0.0000	-1.17	0.0000	<i>yfbU</i>
702	Azalış	gene:BAE77875	-2.25	0.0000	-1.17	0.0000	<i>malQ</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
703	Azalış	gene:BAE77661	-2.25	0.0000	-1.17	0.0000	<i>rfaG</i>
704	Azalış	gene:BAA15662	-2.25	0.0000	-1.17	0.0000	<i>pykA</i>
705	Azalış	gene:BAE78131	-2.25	0.0012	-1.17	0.0003	<i>yjdO</i>
706	Azalış	gene:BAE76747	-2.25	0.0000	-1.17	0.0000	<i>rseB</i>
707	Azalış	gene:BAA15684	-2.26	0.0000	-1.17	0.0000	<i>cutC</i>
708	Azalış	gene:BAE78007	-2.26	0.0000	-1.17	0.0000	<i>smg</i>
709	Azalış	gene:BAA15369	-2.27	0.0000	-1.18	0.0000	<i>uidR</i>
710	Azalış	gene:BAA15624	-2.27	0.0000	-1.18	0.0000	<i>manX</i>
711	Azalış	gene:BAA35656	-2.28	0.0000	-1.19	0.0000	<i>ihfB</i>
712	Azalış	gene:BAA16484	-2.28	0.0000	-1.19	0.0000	<i>pheA</i>
713	Azalış	gene:BAA35227	-2.28	0.0000	-1.19	0.0000	<i>cstA</i>
714	Azalış	gene:BAE77529	-2.29	0.0063	-1.19	0.0019	<i>ilvL</i>
715	Azalış	gene:BAE77542	-2.29	0.0000	-1.19	0.0000	<i>yeiN</i>
716	Azalış	gene:BAE77539	-2.30	0.0000	-1.20	0.0000	<i>rbsA</i>
717	Azalış	gene:BAE77662	-2.31	0.0001	-1.20	0.0000	<i>rfaP</i>
718	Azalış	gene:BAA36008	-2.31	0.0000	-1.21	0.0000	<i>minE</i>
719	Azalış	gene:BAE77060	-2.31	0.0000	-1.21	0.0000	<i>yghZ</i>
720	Azalış	gene:BAA77887	-2.31	0.0037	-1.21	0.0010	<i>yafT</i>
721	Azalış	gene:BAA15515	-2.31	0.0359	-1.21	0.0143	<i>chbF</i>
722	Azalış	gene:BAA15788	-2.32	0.0000	-1.22	0.0000	<i>dcm</i>
723	Azalış	gene:BAA16469	-2.33	0.0000	-1.22	0.0000	<i>trxC</i>
724	Azalış	gene:BAA77884	-2.33	0.0000	-1.22	0.0000	<i>yafS</i>
725	Azalış	gene:BAE77392	-2.33	0.0001	-1.22	0.0000	<i>cdh</i>
726	Azalış	gene:BAE77521	-2.34	0.0000	-1.22	0.0000	<i>yifO</i>
727	Azalış	gene:BAA36032	-2.34	0.0000	-1.22	0.0000	<i>dsbB</i>
728	Azalış	gene:BAE76944	-2.34	0.0076	-1.23	0.0023	<i>ygfK</i>
729	Azalış	gene:BAA15879	-2.34	0.0000	-1.23	0.0000	<i>rfbX</i>
730	Azalış	gene:BAE77025	-2.35	0.0000	-1.23	0.0000	<i>yggX</i>
731	Azalış	gene:BAA35802	-2.35	0.0295	-1.23	0.0112	<i>ycdP</i>
732	Azalış	gene:BAE76624	-2.35	0.0001	-1.23	0.0000	<i>yeiA</i>
733	Azalış	gene:BAE77314	-2.35	0.0012	-1.23	0.0003	<i>purD</i>
734	Azalış	gene:BAE78251	-2.35	0.0328	-1.23	0.0127	<i>argI</i>
735	Azalış	gene:BAA35597	-2.36	0.0000	-1.24	0.0000	<i>macA</i>
736	Azalış	gene:BAE78327	-2.36	0.0157	-1.24	0.0054	<i>yjiL</i>
737	Azalış	gene:BAE77921	-2.36	0.0347	-1.24	0.0137	<i>yhfL</i>
738	Azalış	gene:BAE78158	-2.36	0.0000	-1.24	0.0000	<i>frdA</i>
739	Azalış	gene:BAE76222	-2.36	0.0001	-1.24	0.0000	<i>ybaV</i>
740	Azalış	gene:BAA14858	-2.36	0.0235	-1.24	0.0086	<i>puuD</i>
741	Azalış	gene:BAE77531	-2.37	0.0000	-1.24	0.0000	<i>yifE</i>
742	Azalış	gene:BAA15180	-2.37	0.0168	-1.25	0.0058	<i>hipB</i>
743	Azalış	gene:BAE76857	-2.37	0.0024	-1.25	0.0006	<i>chpR</i>
744	Azalış	gene:BAE76378	-2.38	0.0000	-1.25	0.0000	<i>ymfI</i>
745	Azalış	gene:BAE77549	-2.39	0.0000	-1.26	0.0000	<i>atpI</i>
746	Azalış	gene:BAE77465	-2.39	0.0000	-1.26	0.0000	<i>tatA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
747	Azalış	gene:BAE77247	-2.39	0.0000	-1.26	0.0000	<i>yhbH</i>
748	Azalış	gene:BAA16159	-2.41	0.0000	-1.27	0.0000	<i>cvpA</i>
749	Azalış	gene:BAA16461	-2.41	0.0000	-1.27	0.0000	<i>glnB</i>
750	Azalış	gene:BAE76036	-2.41	0.0000	-1.27	0.0000	<i>caiF</i>
751	Azalış	gene:BAE77367	-2.42	0.0005	-1.28	0.0001	<i>yijE</i>
752	Azalış	gene:BAE78249	-2.42	0.0000	-1.28	0.0000	<i>yjgK</i>
753	Azalış	gene:BAE78141	-2.43	0.0000	-1.28	0.0000	<i>aspA</i>
754	Azalış	gene:BAA35388	-2.43	0.0000	-1.28	0.0000	<i>sdhC</i>
755	Azalış	gene:BAE77664	-2.43	0.0000	-1.28	0.0000	<i>rfaB</i>
756	Azalış	gene:BAA15657	-2.44	0.0326	-1.29	0.0126	<i>purT</i>
757	Azalış	gene:BAE76804	-2.44	0.0003	-1.29	0.0001	<i>hypB</i>
758	Azalış	gene:BAE76759	-2.44	0.0285	-1.29	0.0108	<i>alpA</i>
759	Azalış	gene:BAA16194	-2.44	0.0000	-1.29	0.0000	<i>sixA</i>
760	Azalış	gene:BAE77798	-2.44	0.0000	-1.29	0.0000	<i>yhiP</i>
761	Azalış	gene:BAE77654	-2.44	0.0000	-1.29	0.0000	<i>yicR</i>
762	Azalış	gene:BAE77648	-2.44	0.0005	-1.29	0.0001	<i>dinD</i>
763	Azalış	gene:BAA15966	-2.45	0.0000	-1.30	0.0000	<i>gatY</i>
764	Azalış	gene:BAA35564	-2.46	0.0000	-1.30	0.0000	<i>ybjN</i>
765	Azalış	gene:BAA15516	-2.46	0.0000	-1.30	0.0000	<i>chbR</i>
766	Azalış	gene:BAB96601	-2.46	0.0001	-1.30	0.0000	<i>carA</i>
767	Azalış	gene:BAA35396	-2.46	0.0000	-1.30	0.0000	<i>mngR</i>
768	Azalış	gene:BAA15880	-2.47	0.0000	-1.30	0.0000	<i>rfbC</i>
769	Azalış	gene:BAE76091	-2.47	0.0000	-1.31	0.0000	<i>ykgF</i>
770	Azalış	gene:BAE77799	-2.48	0.0001	-1.31	0.0000	<i>uspA</i>
771	Azalış	gene:BAA15204	-2.49	0.0000	-1.31	0.0000	<i>uxaB</i>
772	Azalış	gene:BAE76545	-2.50	0.0000	-1.32	0.0000	<i>yobA</i>
773	Azalış	gene:BAA15654	-2.51	0.0000	-1.33	0.0000	<i>yebG</i>
774	Azalış	gene:BAE76712	-2.51	0.0000	-1.33	0.0000	<i>yfeY</i>
775	Azalış	gene:BAA15665	-2.51	0.0000	-1.33	0.0000	<i>znuA</i>
776	Azalış	gene:BAA15975	-2.51	0.0027	-1.33	0.0007	<i>yehB</i>
777	Azalış	gene:BAA35635	-2.51	0.0021	-1.33	0.0006	<i>ycaN</i>
778	Azalış	gene:BAA16577	-2.52	0.0081	-1.33	0.0025	<i>glgS</i>
779	Azalış	gene:BAA35516	-2.52	0.0000	-1.33	0.0000	<i>iaaA</i>
780	Azalış	gene:BAE77102	-2.52	0.0003	-1.33	0.0001	<i>yqiJ</i>
781	Azalış	gene:BAA15519	-2.53	0.0000	-1.34	0.0000	<i>chbB</i>
782	Azalış	gene:BAA15501	-2.53	0.0000	-1.34	0.0000	<i>yniA</i>
783	Azalış	gene:BAE76111	-2.53	0.0008	-1.34	0.0002	<i>yahN</i>
784	Azalış	gene:BAE77052	-2.54	0.0135	-1.34	0.0045	<i>hybF</i>
785	Azalış	gene:BAE77029	-2.54	0.0000	-1.34	0.0000	<i>yqgA</i>
786	Azalış	gene:BAE77099	-2.54	0.0027	-1.35	0.0007	<i>ygiL</i>
787	Azalış	gene:BAE77041	-2.55	0.0000	-1.35	0.0000	<i>glcC</i>
788	Azalış	gene:BAA35614	-2.56	0.0000	-1.35	0.0000	<i>lrp</i>
789	Azalış	gene:BAE77158	-2.56	0.0054	-1.36	0.0016	<i>yhaM</i>
790	Azalış	gene:BAE76941	-2.57	0.0001	-1.36	0.0000	<i>yqeB</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
791	Azalış	gene:BAE76781	-2.57	0.0002	-1.36	0.0000	<i>ygaW</i>
792	Azalış	gene:BAA15874	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>wbbK</i>
793	Azalış	gene:BAE76529	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>yeaO</i>
794	Azalış	gene:BAE77537	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>rbsB</i>
795	Azalış	gene:BAA35417	-2.58	0.0000	-1.37	0.0000	<i>gpmA</i>
796	Azalış	gene:BAA35404	-2.59	0.0004	-1.37	0.0001	<i>tolR</i>
797	Azalış	gene:BAE77202	-2.59	0.0000	-1.37	0.0000	<i>yhbS</i>
798	Azalış	gene:BAE76862	-2.60	0.0000	-1.38	0.0000	<i>yqcA</i>
799	Azalış	gene:BAA15882	-2.60	0.0000	-1.38	0.0000	<i>rfbD</i>
800	Azalış	gene:BAE77141	-2.61	0.0000	-1.38	0.0000	<i>uxaA</i>
801	Azalış	gene:BAE77022	-2.61	0.0000	-1.39	0.0000	<i>yggL</i>
802	Azalış	gene:BAA36096	-2.62	0.0000	-1.39	0.0000	<i>narJ</i>
803	Azalış	gene:BAE77459	-2.63	0.0000	-1.39	0.0000	<i>fre</i>
804	Azalış	gene:BAA14783	-2.63	0.0000	-1.40	0.0000	<i>ycil</i>
805	Azalış	gene:BAE77469	-2.63	0.0000	-1.40	0.0000	<i>rmuC</i>
806	Azalış	gene:BAE77304	-2.63	0.0000	-1.40	0.0000	<i>yhdU</i>
807	Azalış	gene:BAA15313	-2.63	0.0094	-1.40	0.0029	<i>ynfG</i>
808	Azalış	gene:BAE77941	-2.64	0.0017	-1.40	0.0004	<i>yheV</i>
809	Azalış	gene:BAE77817	-2.64	0.0000	-1.40	0.0000	<i>nikA</i>
810	Azalış	gene:BAA14980	-2.64	0.0136	-1.40	0.0045	<i>uspF</i>
811	Azalış	gene:BAE76970	-2.64	0.0000	-1.40	0.0000	<i>gcvT</i>
812	Azalış	gene:BAE76562	-2.65	0.0000	-1.40	0.0000	<i>yeel</i>
813	Azalış	gene:BAE77137	-2.65	0.0000	-1.41	0.0000	<i>ygjR</i>
814	Azalış	gene:BAA15787	-2.65	0.0044	-1.41	0.0012	<i>vsr</i>
815	Azalış	gene:BAA36013	-2.65	0.0000	-1.41	0.0000	<i>ycgL</i>
816	Azalış	gene:BAA14794	-2.66	0.0002	-1.41	0.0001	<i>trpC</i>
817	Azalış	gene:BAA35400	-2.66	0.0001	-1.41	0.0000	<i>cydB</i>
818	Azalış	gene:BAA16198	-2.67	0.0000	-1.42	0.0000	<i>yfcZ</i>
819	Azalış	gene:BAA16208	-2.67	0.0000	-1.42	0.0000	<i>intS</i>
820	Azalış	gene:BAA15039	-2.68	0.0000	-1.42	0.0000	<i>cybB</i>
821	Azalış	gene:BAA15634	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>cspC</i>
822	Azalış	gene:BAB96599	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>rihC</i>
823	Azalış	gene:BAA36117	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>hns</i>
824	Azalış	gene:BAA16426	-2.69	0.0000	-1.43	0.0000	<i>yfhQ</i>
825	Azalış	gene:BAE77055	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>hybC</i>
826	Azalış	gene:BAA35529	-2.70	0.0002	-1.43	0.0001	<i>yliF</i>
827	Azalış	gene:BAA35264	-2.70	0.0000	-1.43	0.0000	<i>dcuC</i>
828	Azalış	gene:BAE77437	-2.71	0.0199	-1.44	0.0071	<i>yihL</i>
829	Azalış	gene:BAE76942	-2.72	0.0001	-1.44	0.0000	<i>yqeC</i>
830	Azalış	gene:BAE76520	-2.73	0.0000	-1.45	0.0000	<i>ynjA</i>
831	Azalış	gene:BAA16568	-2.73	0.0000	-1.45	0.0000	<i>srlR</i>
832	Azalış	gene:BAE76807	-2.73	0.0000	-1.45	0.0000	<i>hypE</i>
833	Azalış	gene:BAE77812	-2.73	0.0007	-1.45	0.0002	<i>nikR</i>
834	Azalış	gene:BAE78130	-2.73	0.0000	-1.45	0.0000	<i>yjdK</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
835	Azalış	gene:BAA15509	-2.73	0.0000	-1.45	0.0000	<i>ydjN</i>
836	Azalış	gene:BAA35945	-2.74	0.0001	-1.45	0.0000	<i>potB</i>
837	Azalış	gene:BAE77909	-2.74	0.0347	-1.45	0.0137	<i>yhfY</i>
838	Azalış	gene:BAE77606	-2.74	0.0000	-1.45	0.0000	<i>yidQ</i>
839	Azalış	gene:BAE77211	-2.75	0.0000	-1.46	0.0000	<i>rpsO</i>
840	Azalış	gene:BAE77176	-2.76	0.0000	-1.46	0.0000	<i>sohA</i>
841	Azalış	gene:BAA35758	-2.76	0.0152	-1.46	0.0051	<i>gnsA</i>
842	Azalış	gene:BAE76619	-2.76	0.0000	-1.47	0.0000	<i>yohK</i>
843	Azalış	gene:BAE76623	-2.76	0.0000	-1.47	0.0000	<i>yeiT</i>
844	Azalış	gene:BAA14922	-2.78	0.0000	-1.48	0.0000	<i>mppA</i>
845	Azalış	gene:BAA35995	-2.78	0.0000	-1.48	0.0000	<i>mcrA</i>
846	Azalış	gene:BAE77382	-2.79	0.0000	-1.48	0.0000	<i>yiiU</i>
847	Azalış	gene:BAA15618	-2.80	0.0000	-1.48	0.0000	<i>yoaB</i>
848	Azalış	gene:BAA15422	-2.80	0.0000	-1.49	0.0000	<i>sodB</i>
849	Azalış	gene:BAE77933	-2.81	0.0000	-1.49	0.0000	<i>crp</i>
850	Azalış	gene:BAA35700	-2.81	0.0000	-1.49	0.0000	<i>pyrD</i>
851	Azalış	gene:BAA36014	-2.81	0.0000	-1.49	0.0000	<i>ycgM</i>
852	Azalış	gene:BAA15429	-2.83	0.0000	-1.50	0.0000	<i>ribC</i>
853	Azalış	gene:BAE76877	-2.84	0.0000	-1.51	0.0000	<i>fucR</i>
854	Azalış	gene:BAE77127	-2.85	0.0009	-1.51	0.0002	<i>ebgC</i>
855	Azalış	gene:BAA15981	-2.86	0.0000	-1.51	0.0000	<i>yeiQ</i>
856	Azalış	gene:BAA35712	-2.86	0.0000	-1.52	0.0000	<i>fabA</i>
857	Azalış	gene:BAA15956	-2.87	0.0000	-1.52	0.0000	<i>gatB</i>
858	Azalış	gene:BAE77144	-2.88	0.0000	-1.53	0.0000	<i>exuR</i>
859	Azalış	gene:BAA15957	-2.89	0.0000	-1.53	0.0000	<i>gatA</i>
860	Azalış	gene:BAE76962	-2.89	0.0000	-1.53	0.0000	<i>ygfY</i>
861	Azalış	gene:BAA16314	-2.89	0.0000	-1.53	0.0000	<i>yfeW</i>
862	Azalış	gene:BAE77381	-2.89	0.0000	-1.53	0.0000	<i>rraA</i>
863	Azalış	gene:BAA35304	-2.90	0.0000	-1.53	0.0000	<i>gltL</i>
864	Azalış	gene:BAA15059	-2.91	0.0000	-1.54	0.0000	<i>tehB</i>
865	Azalış	gene:BAE77573	-2.91	0.0000	-1.54	0.0000	<i>yieH</i>
866	Azalış	gene:BAA15465	-2.92	0.0000	-1.54	0.0000	<i>ydiP</i>
867	Azalış	gene:BAE76806	-2.92	0.0000	-1.54	0.0000	<i>hypD</i>
868	Azalış	gene:BAA77898	-2.92	0.0000	-1.55	0.0000	<i>yafM</i>
869	Azalış	gene:BAE76748	-2.93	0.0000	-1.55	0.0000	<i>rseA</i>
870	Azalış	gene:BAE77051	-2.95	0.0000	-1.56	0.0000	<i>hybG</i>
871	Azalış	gene:BAA15517	-2.95	0.0001	-1.56	0.0000	<i>chbA</i>
872	Azalış	gene:BAE77111	-2.96	0.0339	-1.57	0.0132	<i>ygiP</i>
873	Azalış	gene:BAE76375	-2.96	0.0000	-1.57	0.0000	<i>ymfD</i>
874	Azalış	gene:BAE76906	-2.97	0.0000	-1.57	0.0000	<i>galR</i>
875	Azalış	gene:BAA16288	-2.98	0.0000	-1.58	0.0000	<i>cysK</i>
876	Azalış	gene:BAE77621	-2.98	0.0000	-1.58	0.0000	<i>ivbL</i>
877	Azalış	gene:BAE77944	-2.99	0.0000	-1.58	0.0000	<i>fkpA</i>
878	Azalış	gene:BAA15955	-2.99	0.0000	-1.58	0.0000	<i>gatC</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
879	Azalış	gene:BAA16502	-2.99	0.0000	-1.58	0.0000	<i>smpA</i>
880	Azalış	gene:BAE77609	-3.00	0.0000	-1.59	0.0000	<i>yidE</i>
881	Azalış	gene:BAA35531	-3.00	0.0001	-1.59	0.0000	<i>yliH</i>
882	Azalış	gene:BAA36063	-3.00	0.0213	-1.59	0.0077	<i>ychH</i>
883	Azalış	gene:BAA14806	-3.01	0.0000	-1.59	0.0000	<i>rluB</i>
884	Azalış	gene:BAA15964	-3.01	0.0000	-1.59	0.0000	<i>gatA</i>
885	Azalış	gene:BAE76643	-3.01	0.0262	-1.59	0.0097	<i>yeiC</i>
886	Azalış	gene:BAA15547	-3.02	0.0002	-1.59	0.0000	<i>ynjD</i>
887	Azalış	gene:BAE77204	-3.02	0.0000	-1.60	0.0000	<i>yhbU</i>
888	Azalış	gene:BAE77576	-3.03	0.0000	-1.60	0.0000	<i>yeiE</i>
889	Azalış	gene:BAA16545	-3.04	0.0000	-1.61	0.0000	<i>ygaH</i>
890	Azalış	gene:BAA35458	-3.08	0.0015	-1.62	0.0004	<i>ybiA</i>
891	Azalış	gene:BAA35791	-3.09	0.0000	-1.63	0.0000	<i>putA</i>
892	Azalış	gene:BAE77749	-3.10	0.0000	-1.63	0.0000	<i>eptB</i>
893	Azalış	gene:BAA15610	-3.10	0.0000	-1.63	0.0000	<i>yeaY</i>
894	Azalış	gene:BAE77159	-3.11	0.0000	-1.64	0.0000	<i>yhaO</i>
895	Azalış	gene:BAA16241	-3.12	0.0000	-1.64	0.0000	<i>evgS</i>
896	Azalış	gene:BAE77533	-3.13	0.0000	-1.65	0.0000	<i>yeiP</i>
897	Azalış	gene:BAA15726	-3.15	0.0000	-1.66	0.0000	<i>yecl</i>
898	Azalış	gene:BAE77816	-3.16	0.0000	-1.66	0.0000	<i>nikB</i>
899	Azalış	gene:BAA14838	-3.17	0.0000	-1.66	0.0000	<i>yciT</i>
900	Azalış	gene:BAE78124	-3.17	0.0009	-1.66	0.0002	<i>fumB</i>
901	Azalış	gene:BAE77815	-3.18	0.0000	-1.67	0.0000	<i>nikC</i>
902	Azalış	gene:BAE76841	-3.19	0.0002	-1.67	0.0000	<i>cysJ</i>
903	Azalış	gene:BAA35897	-3.19	0.0000	-1.68	0.0000	<i>rpmF</i>
904	Azalış	gene:BAE76968	-3.22	0.0000	-1.69	0.0000	<i>gcvP</i>
905	Azalış	gene:BAE78157	-3.23	0.0000	-1.69	0.0000	<i>frdB</i>
906	Azalış	gene:BAA35263	-3.23	0.0000	-1.69	0.0000	<i>dcuC</i>
907	Azalış	gene:BAA36087	-3.23	0.0000	-1.69	0.0000	<i>ychN</i>
908	Azalış	gene:BAA15828	-3.23	0.0000	-1.69	0.0000	<i>yeeX</i>
909	Azalış	gene:BAA15561	-3.24	0.0000	-1.70	0.0000	<i>ydjF</i>
910	Azalış	gene:BAE76936	-3.25	0.0006	-1.70	0.0001	<i>ygeW</i>
911	Azalış	gene:BAE77205	-3.26	0.0000	-1.70	0.0000	<i>yhbV</i>
912	Azalış	gene:BAE77767	-3.26	0.0000	-1.71	0.0000	<i>yhjJ</i>
913	Azalış	gene:BAE76980	-3.26	0.0000	-1.71	0.0000	<i>argP</i>
914	Azalış	gene:BAA15881	-3.30	0.0000	-1.72	0.0000	<i>rfaA</i>
915	Azalış	gene:BAE77633	-3.31	0.0000	-1.73	0.0000	<i>nlpA</i>
916	Azalış	gene:BAA16386	-3.31	0.0000	-1.73	0.0000	<i>upp</i>
917	Azalış	gene:BAE78023	-3.32	0.0000	-1.73	0.0000	<i>pepE</i>
918	Azalış	gene:BAE76092	-3.34	0.0000	-1.74	0.0000	<i>ykgG</i>
919	Azalış	gene:BAA15666	-3.35	0.0000	-1.74	0.0000	<i>znuC</i>
920	Azalış	gene:BAE78035	-3.37	0.0000	-1.75	0.0000	<i>malF</i>
921	Azalış	gene:BAA16345	-3.38	0.0000	-1.76	0.0000	<i>yffB</i>
922	Azalış	gene:BAA15716	-3.39	0.0000	-1.76	0.0000	<i>yecG</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
923	Azalış	gene:BAA35915	-3.40	0.0000	-1.76	0.0000	<i>ycfP</i>
924	Azalış	gene:BAA16432	-3.40	0.0000	-1.76	0.0000	<i>hcaR</i>
925	Azalış	gene:BAE77383	-3.41	0.0002	-1.77	0.0000	<i>glpF</i>
926	Azalış	gene:BAE76090	-3.42	0.0000	-1.78	0.0000	<i>ykgE</i>
927	Azalış	gene:BAE76860	-3.45	0.0000	-1.79	0.0000	<i>gudX</i>
928	Azalış	gene:BAA15575	-3.47	0.0000	-1.79	0.0000	<i>yeaA</i>
929	Azalış	gene:BAE77365	-3.48	0.0000	-1.80	0.0000	<i>gldA</i>
930	Azalış	gene:BAE77384	-3.48	0.0000	-1.80	0.0000	<i>glpK</i>
931	Azalış	gene:BAE77374	-3.49	0.0000	-1.80	0.0000	<i>rpmE</i>
932	Azalış	gene:BAE76376	-3.51	0.0000	-1.81	0.0000	<i>ymfE</i>
933	Azalış	gene:BAE76521	-3.52	0.0000	-1.82	0.0000	<i>ynjB</i>
934	Azalış	gene:BAB96739	-3.53	0.0000	-1.82	0.0000	<i>cdaR</i>
935	Azalış	gene:BAA35793	-3.56	0.0000	-1.83	0.0000	<i>putP</i>
936	Azalış	gene:BAE76842	-3.58	0.0000	-1.84	0.0000	<i>ygcM</i>
937	Azalış	gene:BAA15169	-3.59	0.0000	-1.85	0.0000	<i>ydeN</i>
938	Azalış	gene:BAE77203	-3.60	0.0000	-1.85	0.0000	<i>yhbT</i>
939	Azalış	gene:BAA35574	-3.61	0.0000	-1.85	0.0000	<i>artJ</i>
940	Azalış	gene:BAE77177	-3.62	0.0000	-1.86	0.0000	<i>yhaV</i>
941	Azalış	gene:BAE77544	-3.64	0.0000	-1.86	0.0000	<i>asnA</i>
942	Azalış	gene:BAA77909	-3.65	0.0000	-1.87	0.0000	<i>crl</i>
943	Azalış	gene:BAE76646	-3.67	0.0000	-1.88	0.0000	<i>yejG</i>
944	Azalış	gene:BAE78076	-3.67	0.0000	-1.88	0.0000	<i>nrfE</i>
945	Azalış	gene:BAA15047	-3.68	0.0306	-1.88	0.0117	<i>ydchH</i>
946	Azalış	gene:BAE78037	-3.68	0.0000	-1.88	0.0000	<i>malkK</i>
947	Azalış	gene:BAA16128	-3.69	0.0000	-1.88	0.0000	<i>yfbS</i>
948	Azalış	gene:BAE77032	-3.70	0.0495	-1.89	0.0209	<i>yghG</i>
949	Azalış	gene:BAE76519	-3.71	0.0000	-1.89	0.0000	<i>ydjZ</i>
950	Azalış	gene:BAE77368	-3.71	0.0000	-1.89	0.0000	<i>katG</i>
951	Azalış	gene:BAE77085	-3.72	0.0000	-1.89	0.0000	<i>ygiN</i>
952	Azalış	gene:BAE77324	-3.72	0.0000	-1.89	0.0000	<i>rsd</i>
953	Azalış	gene:BAE78135	-3.72	0.0000	-1.89	0.0000	<i>cadB</i>
954	Azalış	gene:BAE76466	-3.72	0.0001	-1.89	0.0000	<i>ydfO</i>
955	Azalış	gene:BAE77436	-3.72	0.0000	-1.90	0.0000	<i>yihM</i>
956	Azalış	gene:BAE77435	-3.73	0.0000	-1.90	0.0000	<i>yihN</i>
957	Azalış	gene:BAE77385	-3.74	0.0000	-1.90	0.0000	<i>glpX</i>
958	Azalış	gene:BAE76749	-3.78	0.0000	-1.92	0.0000	<i>rpoE</i>
959	Azalış	gene:BAA15974	-3.79	0.0000	-1.92	0.0000	<i>yehA</i>
960	Azalış	gene:BAA35327	-3.81	0.0000	-1.93	0.0000	<i>nagE</i>
961	Azalış	gene:BAA15805	-3.84	0.0000	-1.94	0.0000	<i>cbl</i>
962	Azalış	gene:BAE77056	-3.85	0.0000	-1.95	0.0000	<i>hybB</i>
963	Azalış	gene:BAA15443	-3.86	0.0001	-1.95	0.0000	<i>ydhX</i>
964	Azalış	gene:BAE77341	-3.87	0.0000	-1.95	0.0000	<i>coaA</i>
965	Azalış	gene:BAE77316	-3.87	0.0000	-1.95	0.0000	<i>zraS</i>
966	Azalış	gene:BAA16465	-3.88	0.0000	-1.95	0.0000	<i>yfiD</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
967	Azalış	gene:BAA15683	-3.89	0.0044	-1.96	0.0012	<i>torY</i>
968	Azalış	gene:BAA16156	-3.94	0.0000	-1.98	0.0000	<i>argT</i>
969	Azalış	gene:BAE77766	-3.94	0.0000	-1.98	0.0000	<i>dctA</i>
970	Azalış	gene:BAE77207	-3.98	0.0277	-1.99	0.0104	<i>mtr</i>
971	Azalış	gene:BAE77813	-3.98	0.0000	-1.99	0.0000	<i>nikE</i>
972	Azalış	gene:BAA16508	-3.99	0.0015	-2.00	0.0004	<i>yfjV</i>
973	Azalış	gene:BAE76081	-4.00	0.0002	-2.00	0.0000	<i>ykgM</i>
974	Azalış	gene:BAE77058	-4.02	0.0000	-2.01	0.0000	<i>hybO</i>
975	Azalış	gene:BAA16572	-4.03	0.0000	-2.01	0.0000	<i>gudD</i>
976	Azalış	gene:BAA36097	-4.03	0.0000	-2.01	0.0000	<i>narI</i>
977	Azalış	gene:BAE77419	-4.10	0.0000	-2.04	0.0000	<i>yiiF</i>
978	Azalış	gene:BAA16074	-4.12	0.0000	-2.04	0.0000	<i>yfaO</i>
979	Azalış	gene:BAA35317	-4.14	0.0000	-2.05	0.0000	<i>asnB</i>
980	Azalış	gene:BAE77683	-4.15	0.0000	-2.05	0.0000	<i>secB</i>
981	Azalış	gene:BAA35330	-4.17	0.0000	-2.06	0.0000	<i>ybfN</i>
982	Azalış	gene:BAE76657	-4.18	0.0000	-2.06	0.0000	<i>ccmH</i>
983	Azalış	gene:BAA35379	-4.25	0.0000	-2.09	0.0000	<i>abrB</i>
984	Azalış	gene:BAE77160	-4.28	0.0000	-2.10	0.0000	<i>tdcG</i>
985	Azalış	gene:BAA16240	-4.28	0.0000	-2.10	0.0000	<i>evgA</i>
986	Azalış	gene:BAA35714	-4.29	0.0000	-2.10	0.0000	<i>ycbG</i>
987	Azalış	gene:BAE76755	-4.31	0.0474	-2.11	0.0199	<i>pheL</i>
988	Azalış	gene:BAE77054	-4.31	0.0000	-2.11	0.0000	<i>hybD</i>
989	Azalış	gene:BAE76396	-4.32	0.0000	-2.11	0.0000	<i>yciW</i>
990	Azalış	gene:BAE77347	-4.36	0.0000	-2.13	0.0000	<i>yijD</i>
991	Azalış	gene:BAA16137	-4.44	0.0000	-2.15	0.0000	<i>yfcC</i>
992	Azalış	gene:BAE76785	-4.45	0.0000	-2.15	0.0000	<i>gutQ</i>
993	Azalış	gene:BAE76618	-4.45	0.0000	-2.15	0.0000	<i>yohJ</i>
994	Azalış	gene:BAE76658	-4.52	0.0000	-2.18	0.0000	<i>ccmG</i>
995	Azalış	gene:BAE77157	-4.52	0.0000	-2.18	0.0000	<i>yhaL</i>
996	Azalış	gene:BAE76843	-4.57	0.0000	-2.19	0.0000	<i>ygcN</i>
997	Azalış	gene:BAA15548	-4.59	0.0000	-2.20	0.0000	<i>ynjE</i>
998	Azalış	gene:BAE76660	-4.62	0.0000	-2.21	0.0000	<i>ccmE</i>
999	Azalış	gene:BAE78156	-4.71	0.0000	-2.24	0.0000	<i>frdC</i>
1000	Azalış	gene:BAE76893	-4.75	0.0420	-2.25	0.0172	<i>ygdB</i>
1001	Azalış	gene:BAE76497	-4.77	0.0000	-2.25	0.0000	<i>ydhW</i>
1002	Azalış	gene:BAA35329	-4.81	0.0000	-2.27	0.0000	<i>ybfM</i>
1003	Azalış	gene:BAA15728	-4.82	0.0000	-2.27	0.0000	<i>ftn</i>
1004	Azalış	gene:BAA15444	-4.83	0.0000	-2.27	0.0000	<i>ydhY</i>
1005	Azalış	gene:BAE78034	-4.85	0.0000	-2.28	0.0000	<i>malG</i>
1006	Azalış	gene:BAA16294	-4.86	0.0000	-2.28	0.0000	<i>yfeS</i>
1007	Azalış	gene:BAE77924	-4.86	0.0001	-2.28	0.0000	<i>nirD</i>
1008	Azalış	gene:BAA15312	-4.89	0.0000	-2.29	0.0000	<i>ynfF</i>
1009	Azalış	gene:BAA16309	-4.89	0.0000	-2.29	0.0000	<i>ucpA</i>
1010	Azalış	gene:BAE76422	-4.96	0.0000	-2.31	0.0000	<i>feaR</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
1011	Azalış	gene:BAA16124	-5.10	0.0000	-2.35	0.0000	<i>IrhA</i>
1012	Azalış	gene:BAE77057	-5.11	0.0000	-2.35	0.0000	<i>hybA</i>
1013	Azalış	gene:BAE78036	-5.16	0.0000	-2.37	0.0000	<i>malE</i>
1014	Azalış	gene:BAE76680	-5.19	0.0000	-2.38	0.0000	<i>yfbM</i>
1015	Azalış	gene:BAA16079	-5.22	0.0000	-2.38	0.0000	<i>pmrD</i>
1016	Azalış	gene:BAE78334	-5.24	0.0000	-2.39	0.0000	<i>yjiT</i>
1017	Azalış	gene:BAE77076	-5.32	0.0000	-2.41	0.0000	<i>ygiS</i>
1018	Azalış	gene:BAA16293	-5.33	0.0000	-2.42	0.0000	<i>yfeK</i>
1019	Azalış	gene:BAE76663	-5.39	0.0000	-2.43	0.0000	<i>ccmB</i>
1020	Azalış	gene:BAE77319	-5.41	0.0000	-2.44	0.0000	<i>hupA</i>
1021	Azalış	gene:BAA16269	-5.48	0.0000	-2.45	0.0000	<i>yfeC</i>
1022	Azalış	gene:BAE76662	-5.51	0.0000	-2.46	0.0000	<i>ccmC</i>
1023	Azalış	gene:BAA35634	-5.51	0.0000	-2.46	0.0000	<i>ycaM</i>
1024	Azalış	gene:BAE76498	-5.59	0.0000	-2.48	0.0000	<i>ydhV</i>
1025	Azalış	gene:BAE76664	-5.63	0.0000	-2.49	0.0000	<i>ccmA</i>
1026	Azalış	gene:BAA14877	-5.64	0.0000	-2.49	0.0000	<i>pspE</i>
1027	Azalış	gene:BAA36012	-5.65	0.0000	-2.50	0.0000	<i>ycgK</i>
1028	Azalış	gene:BAA35626	-5.67	0.0000	-2.50	0.0000	<i>dmsA</i>
1029	Azalış	gene:BAE76333	-5.70	0.0000	-2.51	0.0000	<i>borD</i>
1030	Azalış	gene:BAE77776	-5.70	0.0000	-2.51	0.0000	<i>yhjA</i>
1031	Azalış	gene:BAE76935	-5.86	0.0000	-2.55	0.0000	<i>ygeV</i>
1032	Azalış	gene:BAE76845	-5.88	0.0000	-2.56	0.0000	<i>ygcP</i>
1033	Azalış	gene:BAE76659	-5.88	0.0000	-2.56	0.0000	<i>ccmF</i>
1034	Azalış	gene:BAA16481	-5.94	0.0000	-2.57	0.0000	<i>yfiA</i>
1035	Azalış	gene:BAE77814	-5.96	0.0000	-2.58	0.0000	<i>nikD</i>
1036	Azalış	gene:BAA16271	-6.05	0.0000	-2.60	0.0000	<i>yfeD</i>
1037	Azalış	gene:BAE77361	-6.08	0.0350	-2.60	0.0138	<i>frwB</i>
1038	Azalış	gene:BAA14788	-6.15	0.0000	-2.62	0.0000	<i>ompW</i>
1039	Azalış	gene:BAE77450	-6.23	0.0000	-2.64	0.0000	<i>yihD</i>
1040	Azalış	gene:BAA35728	-6.31	0.0000	-2.66	0.0000	<i>mgsA</i>
1041	Azalış	gene:BAE78078	-6.36	0.0000	-2.67	0.0000	<i>nrfG</i>
1042	Azalış	gene:BAE77053	-6.39	0.0000	-2.68	0.0000	<i>hybE</i>
1043	Azalış	gene:BAE78039	-6.45	0.0000	-2.69	0.0000	<i>malM</i>
1044	Azalış	gene:BAE76588	-6.53	0.0000	-2.71	0.0000	<i>yehC</i>
1045	Azalış	gene:BAA15989	-6.68	0.0000	-2.74	0.0000	<i>napA</i>
1046	Azalış	gene:BAE76873	-6.68	0.0046	-2.74	0.0013	<i>fucP</i>
1047	Azalış	gene:BAA15168	-6.74	0.0000	-2.75	0.0000	<i>ydeM</i>
1048	Azalış	gene:BAE77167	-6.78	0.0000	-2.76	0.0000	<i>tdcA</i>
1049	Azalış	gene:BAA16299	-6.81	0.0000	-2.77	0.0000	<i>cysP</i>
1050	Azalış	gene:BAE77393	-7.03	0.0000	-2.81	0.0000	<i>sbp</i>
1051	Azalış	gene:BAA35450	-7.18	0.0000	-2.84	0.0000	<i>ybhQ</i>
1052	Azalış	gene:BAE76518	-7.18	0.0000	-2.84	0.0000	<i>ydjY</i>
1053	Azalış	gene:BAE76561	-7.24	0.0000	-2.86	0.0000	<i>yodA</i>
1054	Azalış	gene:BAA16060	-7.35	0.0000	-2.88	0.0000	<i>glpA</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
1055	Azalış	gene:BAE78134	-7.38	0.0000	-2.88	0.0000	<i>cadA</i>
1056	Azalış	gene:BAE78118	-7.55	0.0000	-2.92	0.0000	<i>adiY</i>
1057	Azalış	gene:BAA35628	-7.68	0.0000	-2.94	0.0000	<i>dmsC</i>
1058	Azalış	gene:BAE76667	-7.78	0.0000	-2.96	0.0000	<i>napH</i>
1059	Azalış	gene:BAA15311	-7.85	0.0000	-2.97	0.0000	<i>ynfE</i>
1060	Azalış	gene:BAA35627	-7.97	0.0000	-2.99	0.0000	<i>dmsB</i>
1061	Azalış	gene:BAE78038	-8.09	0.0000	-3.02	0.0000	<i>lamB</i>
1062	Azalış	gene:BAE77720	-8.32	0.0000	-3.06	0.0000	<i>yial</i>
1063	Azalış	gene:BAE76665	-8.67	0.0000	-3.12	0.0000	<i>napC</i>
1064	Azalış	gene:BAA15758	-8.86	0.0000	-3.15	0.0000	<i>yedF</i>
1065	Azalış	gene:BAE78077	-8.93	0.0010	-3.16	0.0002	<i>nrfF</i>
1066	Azalış	gene:BAE76809	-9.34	0.0144	-3.22	0.0049	<i>ygbA</i>
1067	Azalış	gene:BAE78155	-9.42	0.0000	-3.24	0.0000	<i>frdD</i>
1068	Azalış	gene:BAE78074	-9.77	0.0000	-3.29	0.0000	<i>nrfC</i>
1069	Azalış	gene:BAE78072	-9.86	0.0000	-3.30	0.0000	<i>nrfA</i>
1070	Azalış	gene:BAE76668	-9.87	0.0000	-3.30	0.0000	<i>napG</i>
1071	Azalış	gene:BAA36134	-9.87	0.0000	-3.30	0.0000	<i>yccM</i>
1072	Azalış	gene:BAE76463	-10.07	0.0000	-3.33	0.0000	<i>ydfZ</i>
1073	Azalış	gene:BAE76829	-10.29	0.0000	-3.36	0.0000	<i>cysD</i>
1074	Azalış	gene:BAE78075	-10.78	0.0000	-3.43	0.0000	<i>nrfD</i>
1075	Azalış	gene:BAE77172	-10.79	0.0000	-3.43	0.0000	<i>garR</i>
1076	Azalış	gene:BAE76589	-11.64	0.0000	-3.54	0.0000	<i>yehD</i>
1077	Azalış	gene:BAA16567	-11.81	0.0000	-3.56	0.0000	<i>gutM</i>
1078	Azalış	gene:BAE76969	-11.83	0.0000	-3.56	0.0000	<i>gcvH</i>
1079	Azalış	gene:BAA16061	-12.28	0.0000	-3.62	0.0000	<i>glpB</i>
1080	Azalış	gene:BAE78073	-12.53	0.0000	-3.65	0.0000	<i>nrfB</i>
1081	Azalış	gene:BAE77171	-12.84	0.0000	-3.68	0.0000	<i>garK</i>
1082	Azalış	gene:BAA77905	-12.97	0.0098	-3.70	0.0031	<i>prfH</i>
1083	Azalış	gene:BAE77162	-13.09	0.0000	-3.71	0.0000	<i>tdcE</i>
1084	Azalış	gene:BAE77175	-13.54	0.0000	-3.76	0.0000	<i>garD</i>
1085	Azalış	gene:BAE76861	-14.52	0.0000	-3.86	0.0000	<i>gudP</i>
1086	Azalış	gene:BAA16058	-15.00	0.0000	-3.91	0.0000	<i>glpQ</i>
1087	Azalış	gene:BAE77020	-15.27	0.0000	-3.93	0.0000	<i>ansB</i>
1088	Azalış	gene:BAA35675	-15.50	0.0000	-3.95	0.0000	<i>ompF</i>
1089	Azalış	gene:BAE76666	-16.40	0.0000	-4.04	0.0000	<i>napB</i>
1090	Azalış	gene:BAE78210	-16.95	0.0000	-4.08	0.0000	<i>ytfE</i>
1091	Azalış	gene:BAE77173	-17.86	0.0000	-4.16	0.0000	<i>garL</i>
1092	Azalış	gene:BAA16062	-19.14	0.0000	-4.26	0.0000	<i>glpC</i>
1093	Azalış	gene:BAA16059	-20.77	0.0000	-4.38	0.0000	<i>glpT</i>
1094	Azalış	gene:BAA16460	-21.34	0.0000	-4.42	0.0000	<i>hmp</i>
1095	Azalış	gene:BAE77317	-21.35	0.0283	-4.42	0.0107	<i>zraP</i>
1096	Azalış	gene:BAA16566	-22.14	0.0000	-4.47	0.0000	<i>srID</i>
1097	Azalış	gene:BAE77161	-22.34	0.0000	-4.48	0.0000	<i>tdcF</i>
1098	Azalış	gene:BAA16564	-22.66	0.0000	-4.50	0.0000	<i>srIE</i>

#	İfade	Gen ID	FC	FDR	logFC	P Değeri	Gen
1099	Azalış	gene:BAE77174	-22.83	0.0000	-4.51	0.0000	<i>garP</i>
1100	Azalış	gene:BAE77165	-23.52	0.0000	-4.56	0.0000	<i>tdcC</i>
1101	Azalış	gene:BAE77164	-27.65	0.0000	-4.79	0.0000	<i>tdcD</i>
1102	Azalış	gene:BAE77166	-37.36	0.0000	-5.22	0.0000	<i>tdcB</i>
1103	Azalış	gene:BAA15990	-42.28	0.0152	-5.40	0.0052	<i>napD</i>
1104	Azalış	gene:BAA35587	-42.37	0.0000	-5.41	0.0000	<i>hcp</i>
1105	Azalış	gene:BAA18886	-59.77	0.0000	-5.90	0.0000	<i>srIA</i>
1106	Azalış	gene:BAA35586	-113.74	0.0000	-6.83	0.0000	<i>hcr</i>
1107	Azalış	gene:BAA16565	-121.11	0.0000	-6.92	0.0000	<i>srIB</i>