

بیان ژن *gyrI* در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین در *E. coli* پس از تیمار با سیپروفلوکسازین

The expression of *gyrI* in ciprofloxacin resistant mutant of *E. coli* following treatment with ciprofloxacin

عارفه شاه‌محمدی بنی^۱، راضیه پوراحمد^{۱*}، محمدرضا محزونیه^۲

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد،
ایران

۲- استاد میکروبیولوژی دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

Shahmohammadi beni A¹, Pourahmad R^{*1}, Mahzoonieh MR²

1- MSc Student, Associate Professor Department of Genetics, Faculty of Science,
Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- Professor of Veterinary Microbiology, Department of Pathbiology, Faculty of
Veterinary, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Razieh_Jaktaji@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۰۰/۰۲/۱۹)

چکیده

گسترش مقاومت در باکتری‌های گرم‌منفی به‌خصوص سویه‌های بیماری‌زا اشریشیا کلی، موجب کاهش اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سیپروفلوکسازین در درمان بیماری‌های عفونی شده‌است. هدف مهم این آنتی‌بیوتیک در باکتری اشریشیا کلی، DNA جیراز است. یکی از مهارکننده‌های DNA جیراز پروتئین Gyri است که با اتصال به DNA جیراز مانع از اتصال سیپروفلوکسازین به این آنزیم می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی بیان ژن *gyrI* در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین در باکتری اشریشیا کلی بود. برای بررسی بیان ژن ابتدا RNA سلول در مرحله‌ی نمایی رشد استخراج شد و پس از سنتز cDNA میزان بیان این ژن در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین در مقایسه با سویه‌ی تیپ وحشی با روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از Real Time PCR نشان داد که ژن *gyrI* در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین در فاز نمایی رشد افزایش بیان دارد. افزایش بیان ژن *gyrI* در حضور و عدم حضور سیپروفلوکسازین نسبت به بیان این ژن در سویه تیپ وحشی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). افزایش بیان این ژن در عدم حضور و در حضور سیپروفلوکسازین در موتان مقاوم تقریباً به‌ترتیب ۸ و ۶۳ برابر مقدار بیان شده در سویه تیپ وحشی بود. در نتیجه به‌نظر می‌رسد که در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین بیش‌بیلی پروتئین Gyri در فاز نمایی رشد مخصوصاً در حضور سیپروفلوکسازین عامل مهمی در مهار آنزیم DNA جیراز و مقاومت به سیپروفلوکسازین باشد.

واژه‌های کلیدی

اشریشیا کلی
سیپروفلوکسازین
DNA جیراز
Gyri
Real Time PCR

Nakanishi et al. 2002; Chatterji et al. 2003; Tran et al.)
 GyrI اتصال (2005; Jacoby and Hooper 2005). به هولوآنزیم
 DNA جیراز و زیر واحدهای آن موجب کاهش اتصال
 DNA جیراز با DNA می شود و تعداد آنزیم های فعال را کاهش
 می دهد (Tran et al. 2005; Nagaraja 2002).

افزایش مقاومت، نه تنها ناشی از استفاده ی گسترده از
 آنتی بیوتیک ها است (Manges et al. 2015; Mobley and Alteri)
 (2015; Reis et al. 2016)، بلکه زمینه ی ژنتیکی باکتری ها نظیر *E. coli*
 بر آن تأثیر می گذارد (Hiasa and Shea 2000). عوامل ایجاد
 مقاومت در *E. coli* ناشی از جهش در ژن های رمزکننده ی زیر
 واحدهای DNA جیراز (*gyrA* و *gyrB*)، افزایش فعالیت پمپ
 غشایی AcrAB-TolC و القای SOS است (Pourahmad Jaktaji)
 (and Mohiti 2010; Pourahmad Jaktaji and Pasand 2016).
 طبق گزارش های قبلی *gyrI* ژن رگولون SOS است که بیان آن
 به دنبال آسیب به DNA و همچنین ورود سلول ها به فاز ایستایی
 ایجاد می شود (Baquero et al. 1995) و در مطالعات دیگری
 مشاهده شد که تیمار با غلظت های بالای سیپروفلوکسازین باعث
 افزایش بیان ژن های *gyrA* و *gyrB* در موتان های *E. coli* با
 مقاومت بالا به سیپروفلوکسازین می شود (Pourahmad Jaktaji et)
 (al. 2020). انتظار می رود سلول راهکاری برای کنترل بیان این ژن ها
 به دنبال تیمار با سیپروفلوکسازین در فاز نمایی رشد هم داشته
 باشد. همان طوری که در بالا ذکر شد یک راه مهار افزایش بیان
 ژن های *gyrA* و *gyrB*، بیان مهارکننده ی DNA جیراز یعنی *GyrI*
 است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی بیان *gyrI* در موتان با
 مقاومت بالای سیپروفلوکسازین در فاز نمایی رشد بود.

در این پژوهش از سویه های باکتری *E. coli* تیپ وحشی
 (MG1655) و موتان PM1 استفاده شد. این سویه ها در تحقیقات
 پیشین مورد استفاده قرار گرفته بودند (Pourahmad Jaktaji and)
 (Pasand 2016). به طور خلاصه موتان PM1 دارای موتاسیون در
 ژنهای *gyrA* و *marR* و به همین سبب دارای مقاومت بالا به
 سیپروفلوکسازین می باشد (جدول ۱). طراحی آغازگرهای ژن *gyrI*
 (ID: 946546)، به صورت برخط با استفاده از نرم افزار OLIGO⁴ و

باکتری *Escherchia coli* (*E. coli*) یک باکتری هوازی، میله ای
 شکل و گرم منفی (Lim et al. 2010)، از خانواده ی
 انتروباکتریاسه^۱ است (Jang et al. 2017). بیش تر سویه های *E. coli*
 در دستگاه گوارش انسان و حیوان به عنوان یک فلور طبیعی
 بی ضرر هستند، اما برخی از سویه های *E. Coli* بیماری زا هستند
 (Lim et al. 2010). درمان عفونت های ناشی از *E. coli* معمولاً
 شامل یک دوره مصرف داروهای ضد میکروبی چون
 سیپروفلوکسازین^۲ (یک آنتی بیوتیک مصنوعی) است (Manges)
 (et al. 2015; Mobley and Alteri 2015; Reis et al. 2016).
 سیپروفلوکسازین متعلق به فلوروکینولون های نسل دوم بوده و
 بیش ترین تأثیر را ضد باکتری های گرم منفی دارد (Drlica and)
 (Malik 2003). هدف این دارو در *E. coli* آنزیم DNA جیراز^۳
 است (Shelton and Greenwood 1987). DNA جیراز یک آنزیم
 ضروری برای حیات باکتری است و به صورت تترامر A_2B_2 از دو
 زیر واحد *GyrA* و *GyrB* تشکیل شده است (Von Wright and)
 (Bridges 1981; Khil and Camerini-Otero 2002; Nakanishi
 et al. 2002; Pang et al. 2005)، که به ترتیب محصول ژن های
gyrA و *gyrB* هستند (Oram et al. 1992; Drlica and)
 (and Zhao 1997). DNA جیراز تنها توپوایزومراز نوع دو است که
 قادر به ایجاد سوپرکویل های منفی در DNA است (Johnsen et al.)
 (2010; Hooper and Jacoby 2015). و سوپرکویل های مثبت
 جلوی چنگال همانندسازی DNA در حال رشد را برمی دارد
 (Nakanishi et al. 1998). هنگامی که سیپروفلوکسازین به
 DNA جیراز متصل شود مانع از ادامه فعالیت آن شده و در نهایت
 منجر به مرگ سلول می شود (Romanowski et al. 2002).

علاوه بر سیپروفلوکسازین DNA جیراز هدف مهارکننده های
 طبیعی و مصنوعی مختلفی است (Chatterji et al. 2003). برخی
 مهارکننده های DNA جیراز اثر محافظتی بر سلول دارند؛ مانند
 پروتئین *GyrI* که ژن سازنده ی آن (*gyrI*) روی کروموزوم باکتری
E. coli قرار دارد (Sengupta and Nagaraja 2008). *GyrI* اثر
 مهارکننده های دیگر DNA جیراز را که مانند کینولون ها با تثبیت
 کمپلکس کوالان DNA جیراز-DNA عمل می کنند را مهار می کند

¹ Enterobactericea

² Ciprofloxacin

³ DNA Gyrase

⁴ <https://www.oligo.net/>

PCR مطابق شرایط ذکر شده در بالا و همچنین ژل الکتروفورز انجام شد. بیان ژن *gyrI* در سویه‌های تیپ وحشی و جهش یافته به وسیله تکنیک Real Time PCR (سه بار و هر بار دو نمونه برای هریک از سویه‌ها) اندازه‌گیری شد. به منظور تکثیر نمونه‌ها از کیت سایبرگرین SYBR Green qPCR master mix (YT2551) شرکت یکتا تجهیز، چین) مطابق با راهنمای کیت استفاده شد. شرایط دمایی در جدول ۳ ذکر شده است. برای بررسی بیان نسبی ژن از روش فافل^۵ مطابق با فرمول‌های زیر استفاده شد (Kozera and Rapacz 2013).

فرمول ۱: $\Delta Ct(gapA) = Ct - Ct$ (نه تیمار شده) - (نمونه کنترل)
فرمول ۲: $E = \frac{E(target)^{\Delta Ct(target)}}{E(gapA)^{\Delta Ct(gapA)}}$ بیان نسبی

Ct تعداد چرخه‌های مورد نیاز برای رسیدن به آستانه و E کارایی واکنش را نشان می‌دهد. در نهایت نتایج به دست آمده برای بیان ژن‌ها با استفاده از آزمون تی جفت^۶ و با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد بررسی قرار گرفت. بیان بیش از ۲ بیش بیان و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. بعد از انجام ژل الکتروفورز محصول PCR نمونه‌های RNA استخراج شده، هیچ بانندی رویت نشد که حاکی از عدم آلودگی نمونه‌ها به DNA ژنومی است (شکل ۱). جذب و غلظت RNA استخراج شده به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر UV/Visible در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کیفیت RNA استخراج شده برای تمام نمونه‌ها مطلوب و نسبت A_{260}/A_{280} مناسب و از ۱/۸ به بالا (معمولاً^۲ و بالاتر) بود. نتیجه‌ی ژل الکتروفورز برای بررسی محصول PCR نمونه‌ی cDNA با آغازگر اختصاصی *gapA* روی ژل آگارز باند ۱۷۱bp را نشان داد (شکل ۲). بعد از انجام ژل الکتروفورز محصول PCR نمونه‌های RNA استخراج شده، هیچ بانندی رویت نشد که حاکی از عدم آلودگی نمونه‌ها به DNA ژنومی است (شکل ۱).

سایت NCBI^۱ انجام شد (جدول ۲). همچنین از ژن خانه‌دار (ID: 947676) *gapA* در این پژوهش استفاده شد. آغازگرهای آن از قبل طراحی شده بود (Pourahmad Jaktaji and Pasand 2016). جهت استخراج RNA از کشت تازه سویه‌ها به محیط LB^۲ مایع (شرکت مرک، آلمان) بدون سیپروفلوکسازین (شرکت سیگما، آمریکا) و دارای ۶ $\mu\text{g/ml}$ سیپروفلوکسازین تلقیح انجام شد. کشت‌ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با دور ۱۸۰rpm قرار گرفتند. در فواصل زمانی متعدد، OD^۳ نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر UV/Visible (شرکت بیوکروم انگلستان) اندازه‌گیری شد و نمونه‌ها با جذب نوری ۰/۶ برای استخراج RNA جدا شدند. سلول باکتریایی یا محلول محافظ RNA^۴ (شرکت کیاژن آمریکا) برای جلوگیری از تخریب سریع RNA طبق راهنمای کیت تیمار شد. سپس استخراج RNA طبق دستورالعمل کیت RNeasy[®] Plus MiniKit (شرکت کیاژن آمریکا) انجام شد. جهت حذف DNA از نمونه‌ها از آنزیم DNase I (فاقد RNase) شرکت فرمتاز (سوئد) به میزان گفته شده در راهنما کیت استفاده شد. به منظور بررسی کیفیت و کمیت RNA استخراجی و کسب اطمینان از این که نمونه‌ها فاقد DNA می‌باشند، برای هریک از نمونه‌ها (۶ نمونه) یک واکنش PCR برای ژن *gapA* مطابق جدول ۳ به غیر از مرحله ذوب انجام شد. دمای اتصال آغازگر ۵۱ درجه سانتی‌گراد بود. سپس ژل الکتروفورز نمونه‌ها انجام شد. بعد از اطمینان از عدم آلودگی نمونه‌های RNA با DNA، جذب و غلظت RNA و میزان خلوص آن در هریک از نمونه‌ها با دستگاه اسپکتوفتومتر UV/Visible (شرکت بیوکروم انگلستان) در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت سنتز cDNA از کیت (M-MLV reverse transcriptase YT4502 شرکت یکتا تجهیز چین) استفاده شد و تمام مراحل کار طبق بروشور کیت انجام گرفت. غلظت ۱۰۰ نانوگرم از RNA برای تهیه‌ی cDNA استفاده شد. بعد از سنتز کتابخانه‌ی cDNA با استفاده از آغازگرهای تصادفی (YT4550) شرکت یکتا تجهیز چین)، برای اطمینان از سنتز cDNA واکنش

^۱ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

^۲ Luria-Bertani

^۳ Optical Density

^۴ RNA protect bacteria reagent

^۵ Pfaffl
^۶ T student

جدول ۱- مشخصات سویه‌ها.

نام سویه	خصوصیات ژنتیکی- فنوتیپی	میزان MIC ($\mu\text{g/ml}$)
MG1655	تیپ وحشی، حساس به سیپروفلوکسازین	۰/۰۳۵
PM1	<i>gyrA</i> (Ser ₈₃ →Leu), <i>marOR</i> (20 bp duplication), <i>acrAB</i> بیش بیان و مقاوم به سیپروفلوکسازین	۱۰۰

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه.

نوع آغازگر	ترتیب توالی	طول توالی (جفت‌باز)	اندازه محصول (جفت‌باز)	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
<i>gyrI</i> F	5'-AAG CGT AAA GTA ACC CGG CA-3'	۲۰		
<i>gyrI</i> R	5'-CCG TGG GAA CAG ACG GTA AA-3'	۲۰	۱۷۱	۵۵
<i>gapA</i> F	5'-ACTTACGAGCAGATCAAAGC-3'	۲۰	۱۷۱	۵۱
<i>gapA</i> R	-AGTTTCACGAAGTTGTCGTT-3'5	۲۰		

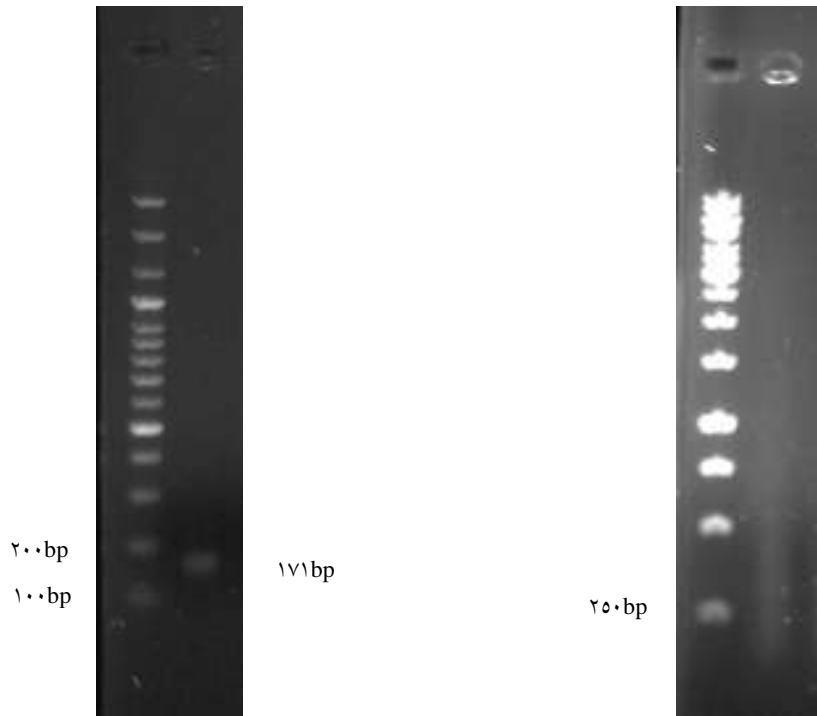
جدول ۳- شرایط دمایی واکنش Real Time PCR.

مرحله	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مدت زمان (دقیقه، ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشتگی اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱ سیکل
واسرشتگی	۹۵	۱۰ ثانیه	
اتصال پرایمر	۵۱ و ۵۵	۱۵ ثانیه	۴۰ سیکل
تکثیر	۷۲	۲۰ ثانیه	-
ذوب	۶۵-۹۷	هر سیکل ۵ ثانیه	-

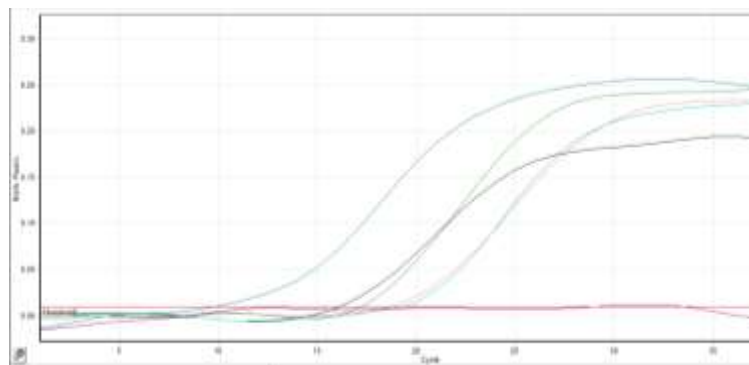
آلودگی به DNA ژنومی است. نقطه‌ی ذوب این ژن ۸۴/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بود (شکل ۴). شیب منحنی استاندارد، بین ۳- تا ۳/۲- در محدوده‌ی متداول بررسی بیان بود. منحنی تکثیر و ذوب به‌دست آمده برای ژن *gapA* در سویه‌های تیپ وحشی و موتان *gapA*، نیز تکثیر اختصاصی این ژن را تایید نمود. میزان بیان ژن‌ها در سویه‌ها (میانگین سه‌بار تکرار آزمایش با میزان خطای کمتر از ۱۰٪ و کارایی هر واکنش بین ۰/۹ تا ۱/۱ بود (جدول ۴)). مقایسه‌ی میزان بیان ژن *gyrI* در سویه موتان نسبت به میزان بیان آن در سویه تیپ وحشی در حضور و عدم حضور سیپروفلوکسازین با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

جذب و غلظت RNA استخراج شده به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتوفتومتر UV/Visible در طول‌موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کیفیت RNA استخراج شده برای تمام نمونه‌ها مطلوب و نسبت A_{260}/A_{280} مناسب و از ۱/۸ به بالا (معمولاً ۲ و بالاتر) بود. نتیجه‌ی ژل الکتروفورز برای بررسی محصول PCR نمونه‌ی cDNA با آغازگر اختصاصی *gapA* روی ژل آگارز باند ۱۷۱bp را نشان داد (شکل ۲).

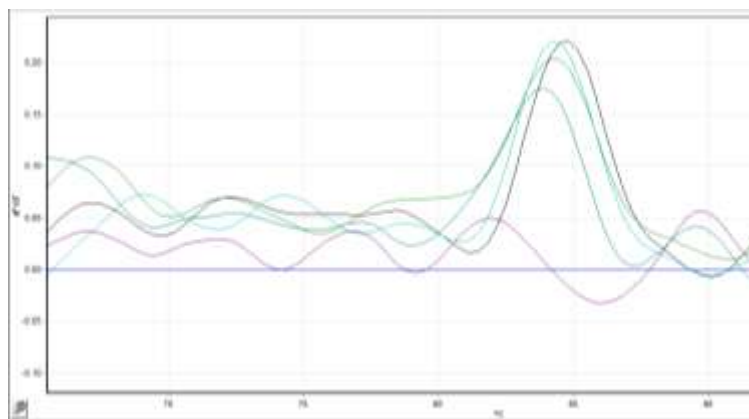
بعد از انجام واکنش Real Time PCR منحنی تکثیر ژن *gyrI* در سویه‌های تیپ وحشی و موتان که افزایش سیگنال‌های فلورسنس ساطع شده از رنگ سایبرگرین را حین پیشروی سیکل‌های واکنش مشخص می‌کند توسط نرم‌افزار دستگاه ترسیم شد. سیکل آستانه محل تقاطع خط آستانه و نمودار است (شکل ۳). در واکنش Real Time PCR برای ژن *gyrI* تنها یک قله‌ی شاخص ایجاد شد که نشان‌دهنده‌ی تکثیر اختصاصی ژن مورد نظر و عدم



شکل ۱- ژل الکتروفورز بررسی عدم آلودگی RNA استخراج شده به DNA با مارکر ۱Kb شکل ۲- آنالیز cDNA سنتز شده با مارکر ۱۰۰bp



شکل ۳- منحنی تکثیر ژن *gyrI*



شکل ۴- منحنی ذوب ژن *gyrI*

جدول ۴- بیان نسبی ژن *gyrI* در فاز نمایی.

مقدار P	بیان نسبی	سویه
-	۱	MG1655
۰/۰۰۲	۷/۹۶	PM1
۰/۰۰۲	۶۳/۰۷	PM1(cip)*

*نمونه تیمار شده با سیپروفلوکسازین

سیپروفلوکسازین نشان داد (Pourahmad Jaktaji and Pasand 2016). هم‌چنین گزارش شده در شرایط عادی فعالیت پروموتور ژن *gyrA*، که کدکننده‌ی زیر واحد DNA Gyrase است، در اواسط فازنمایی رشد افزایش می‌یابد (Pourahmad Jaktaji et al. 2020). احتمال دارد که بیان *gyrI* نیز به دنبال افزایش بیان ژن‌های سازنده زیر واحدهای DNA Gyrase افزایش بیان یابد. یافته‌های تحقیق نشان داد که بیان ژن *gyrI* در موتان مقاوم به سیپروفلوکسازین در حضور و عدم حضور سیپروفلوکسازین در فاز نمایی رشد به‌طور معنی‌داری افزایش بیان داشت ($P < 0.05$). هم‌چنین GyrI هم در پروکاریوت‌ها و هم در یوکاریوت‌ها وجود دارد، که این نشان می‌دهد GyrI یک پروتئین حفاظت شده است و نقش مهمی در میزبان خود از لحاظ محافظت سلول در برابر سموم و بازدارنده‌ها دارد (Yuan et al. 2017). بنابراین به‌نظر می‌رسد در شرایط استرسی مانند تیمار با سیپروفلوکسازین، GyrI می‌تواند یکی از عوامل تنظیم‌کننده‌ی فعالیت DNA Gyrase باشد.

ظهور سویه‌های مقاوم باکتری‌ها یک تهدید جدی برای سلامت در سراسر جهان است و با توجه به این‌که زمینه‌ی ژنتیکی باکتری‌ها بر نحوه‌ی مقاومت تاثیر می‌گذارد مطالعه‌ی سیستم‌های مقاومت ضرورت می‌یابد. GyrI یک بازدارنده‌ی طبیعی است که فعالیت مهارکننده‌های DNA Gyrase را که با تثبیت کمپلکس کوالان DNA Gyrase عمل می‌کنند را مهار می‌کند. بنابراین، GyrI سلول‌ها را در برابر این مهارکننده‌ها محافظت می‌کند (Nakanishi et al. 2002; Chatterji et al. 2003; Tran et al. 2005). ژن *gyrI* متعلق به رگولون SOS است این رگولون توسط پروتئین بازدارنده *lexA* مهار می‌شود و به کمک پروتئین *RecA* این بازدارنده شکسته و غیر فعال می‌شود. به دنبال آسیب به DNA و تحت شرایط استرسی ژن *recA* سازنده پروتئین *RecA* افزایش بیان می‌یابد (Oh et al. 2001; Romanowski et al. 2002; Chatterji and Nagaraja 2002). یافته‌های تحقیق قبلی افزایش بیان ژن *recA* را در موتان‌های مقاوم به سیپروفلوکسازین پس از تیمار با

منابع

Baquero M, Bouzon M, Varea J, Moreno F (1995) *sbmC*, a stationary phase induced SOS *Escherichia coli* gene, whose product protects cells from the DNA replication inhibitor microcin B17. *Molecular Microbiology* 18:301-311.
Chatterji M, Nagaraja V (2002) GyrI: a counter-defensive strategy against proteinaceous inhibitors of DNA gyrase. *EMBO Reports* 3:261-267.
Chatterji M, Sengupta S, and Nagaraja V (2003) Chromosomally encoded gyrase inhibitor GyrI protects *Escherichia coli* against DNA-damaging agents. *Archives of Microbiology* 180:339-346.
Drlica K, Malik M (2003) Fluoroquinolones: action and resistance. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 3:249-282.

Drlica K, Zhao X (1997) DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61:377-392.
Hiasa H, Shea M E (2000) DNA gyrase-mediated wrapping of the DNA strand is required for the replication fork arrest by the DNA gyrase-quinolone-DNA ternary complex. *Journal of Biological Chemistry* 275:34780-34786.
Hooper DC, Jacoby GA (2015) Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York academy of sciences* 1354:12-31.
Jang J, Hur H-G, Sadowsky MJ, Byappanahalli M, Yan T and Ishii S (2017) Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology* 123:570-581.

- Johnsen L, Weigel C, von Kries J, Møller M and Skarstad K (2010) A novel DNA gyrase inhibitor rescues *Escherichia coli dnaA cos* mutant cells from lethal hyperinitiation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65:924-930.
- Khil PP and Camerini-Otero RD (2002) Over 1000 genes are involved in the DNA damage response of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology* 44:89-105.
- Kozera B and Rapacz M (2013) Reference genes in real-time PCR. *Journal of Applied Genetics* 54:391-406.
- Lim J, Yoon JW, Hovde CJ (2010) A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20:5-14.
- Manges, AR, Tabor H, Tellis P, Vincent C and Tellier PP (2008) Endemic and epidemic lineages of *Escherichia coli* that cause urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases* 14:1575-1583.
- Mobley H, Alteri C (2015) Development of a vaccine against *Escherichia coli* urinary tract infections. *Pathogens* 5:1-8.
- Nakanishi A, Oshida T, Matsushita T, Imajoh-Ohmi S and Ohnuki T (1998) Identification of DNA Gyrase Inhibitor (GyrI) in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* 273:1933-1938.
- Nakanishi A, Imajoh-Ohmi S and Hanaoka F (2002) Characterization of the interaction between DNA gyrase inhibitor and DNA gyrase of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* 277:8949-8954.
- Oh TJ, Jung IL, Kim IG (2001) The *Escherichia coli* SOS gene *sbmC* is regulated by H-NS and RpoS during the SOS induction and stationary growth phase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288:1052-1058.
- Oram M, Kuroda R and Fisher LM (1992) *Escherichia coli* DNA gyrase: Genetic analysis of *gyr A* and *gyr B* mutations responsible for thermosensitive enzyme activity. *FEBS Letters* 312:61-65.
- Pang Z, Chen R, Manna D and Higgins NP (2005) A gyrase mutant with low activity disrupts supercoiling at the replication terminus. *Journal of Bacteriology* 187:7773-7783.
- Pourahmad Jaktaji R, Lesani S M, Akhavan H, Tanhaei M (2020) The role of some transcription factors in expression of GyrA and GyrB following exposure to ciprofloxacin. *Jundishapur Journal of Microbiology* 13:2008-4161.
- Pourahmad Jaktaji R, Mohiti E (2010) "Study of mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli* . *Iranian Journal of Pharmaceutical Research IJPR* 9:43-48.
- Pourahmad Jaktaji R, Pasand S (2016) Overexpression of SOS genes in ciprofloxacin resistant *Escherichia coli* mutants *Gene (ELS)* 576:115-118.
- Reis ACC, Santos SRS, Souza SC, Saldanha MG, Pitanga TN and Oliveira RR (2016) Ciprofloxacin resistance pattern among bacteria isolated from patients with community-acquired urinary tract infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 58.
- Romanowski MJ, Gibney SA and Burley SK (2002) Crystal structure of the *Escherichia coli* SbmC protein that protects cells from the DNA replication inhibitor microcin B17. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 47:403-407.
- Sengupta S, Nagaraja V (2008) YacG from *Escherichia coli* is a specific endogenous inhibitor of DNA gyrase. *Nucleic Acids Research* 36:4310-4316.
- Tran JH, Jacoby GA, Hooper DC (2005) Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49:118-125.
- Von Wright A, Bridges BA (1981) Effect of *gyrB*-mediated changes in chromosome structure on killing of *Escherichia coli* by ultraviolet light: experiments with strains differing in deoxy ribonucleic acid repair capacity. *Journal of Bacteriology* 146:18-23.
- Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, Nakamura S (1990) Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34:1271-1272.
- Yuan H, Zhang J, Cai Y, Wu S, Yang K, Chan HS, Huang W, Jin W-B, Li Y, and Yin Y (2017) GyrI-like proteins catalyze cyclopropanoid hydrolysis to confer cellular protection. *Nature Communications* 8:1485-1493.