

Martyna Wesserling^{1*}

¹Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Biochemii Klinicznej, Zakład Medycyny Molekularnej

Wpłynęło w maju 2014 r.

1. Wstęp. 2. Sposoby regulacji ekspresji genów systemów R-M typu II. 2.1. Kontrola ekspresji genów systemu R-M poprzez metylotransferazę. 2.2. Gen endonukleazy restrykcyjnej położony za genem metylotransferazy. 2.3. Regulacja ekspresji genów poprzez antysensowne RNA. 3. Białka kontrolujące C. 4. Struktura miejsc DNA do których wiąże się białko C (operator). 5. Mechanizm regulacji transkrypcji przez białko C. 6. Podsumowanie

Regulation of bacterial type II restriction-modification (R-M) systems

Abstract: Type II restriction-modification (R-M) systems encode two separate enzymes: a restriction endonuclease (R) and a DNA methyltransferase (M). The action of the DNA sequence-specific methyltransferase protects the host DNA from cleavage by an associated restriction enzyme. The function of type II restriction-modification system regulation is generally assumed to be prevention of bacterial cell auto-restriction. The R and M genes must be regulated in such a way that the cell's own DNA is fully protected before restriction endonuclease activity appears. There a variety of control mechanisms that ensure the correct temporal expression of R-M genes. Unfortunately, the regulation mechanisms have not been well explored thus far. The understanding of the expression regulation of R-M genes is important and may influence the direction of research on new therapeutic methods.

1. Introduction. 2. Regulation of type II R-M gene expression systems. 2.1. Control of R-M gene expression by methyltransferase. 2.2. Restriction endonuclease gene located downstream of the methyltransferase gene. 2.3. Regulation of gene expression by antisense RNA. 3. Controller proteins. 4. The structure of C protein binding sites. 5. The mechanism of transcription regulation by C protein. 6. Summary

Słowa kluczowe: białko C, regulacja ekspresji, systemy restrykcyjno-modyfikacyjne
Key words: C protein, restriction-modification systems, regulation of expression

1. Wstęp

Systemy restrykcyjno-modyfikacyjne (R-M) typu II składają się z enzymów, które oddziałują ze specyficznymi sekwencjami DNA. Systemy te obejmują dwie aktywności enzymatyczne: endonukleolityczną i modyfikacyjną (metylującą).

Endonukleazy restrykcyjne klasy II hydrolizują dwuniciowy DNA w obrębie rozpoznawanej przez nie sekwencji lub w jej pobliżu. Sekwencja ta zazwyczaj ma postać palindromu i liczy od 4 do 8 par zasad. Metylotransferazy są kodowane przez odrębne geny systemu R-M, katalizują reakcję kowalencyjnego przyłączenia grup metylowych do zasad azotowych nukleotydów. Oba enzymy rozpoznają i modyfikują te same sekwencje DNA. DNA metylowany w takiej sekwencji jest odporny na działanie pokrewnej endonukleazy, co w warunkach *in vivo* chroni genom bakterii przed endogennym enzymem restrykcyjnym. Systemy R-M często porównuje się do systemów toksyna – antytoksyna. W systemach tych toksyną jest endonukleaza restrykcyjna, której wysoki poziom ekspresji zapewnia komórce bakterii ochronę przed wirusami poprzez specyficzne cięcie obcego DNA. Jednakże zbyt duże stężenie tego enzymu prowadzi do uszkodzeń materiału genetycznego bakterii i może skut-

kować śmiercią gospodarza, jeśli poziom metylotransferazy – antytoksyny, zapewniającej ochronną metylację genomu nie jest wystarczający.

Geny niektórych systemów R-M niesione są na ruchomych elementach genetycznych takich jak plazmidy, transpozony. Bardzo często podlegają wymianie pomiędzy gatunkami na drodze horyzontalnego transferu genów [13, 26, 36].

2. Sposoby regulacji ekspresji genów systemów R-M typu II

Analizy porównawcze wykazały różnice w organizacji genów systemów R-M typu II, a także odmienne mechanizmy molekularne, które kontrolują ekspresję genów metylotransferazy i endonukleazy w tych systemach.

2.1. Kontrola ekspresji genów systemu R-M poprzez metylotransferazę

Działanie systemów R-M opiera się na założeniu, że ekspresja genu endonukleazy restrykcyjnej powinna być w pewien sposób zależna od aktywności lub

* Autor korespondencyjny: Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Biochemii Klinicznej, Zakład Medycyny Molekularnej, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk; tel. 784 517 548; e-mail: m.wesserling@gumed.edu.pl

stężenia metylotransferazy w komórce gospodarza (*biofeed-back*). Kontrola ekspresji genów systemu R-M poprzez metylazę związana jest z aktywnością enzymu, jak i z jego powinowactwem do sekwencji operatorowych niezwiązanych z miejscami metylacji DNA. Kiedy metylotransferaza zwiąże się z operatorem, stanowi przeszkodę dla polimerazy RNA i uniemożliwia jej przyłączenie się do promotora. W obydwu przypadkach obniżony poziom transkrypcji enzymu modyfikującego prowadzi do wydajnej transkrypcji genu kodującego endonukleazę restrykcyjną [25].

W niektórych poznanych systemach R-M metylaza pełni rolę regulatora transkrypcji swojego genu oraz aktywacji promotora dla endonukleazy. Przykładem może być system R-M CfrBI z *Citrobacter freundii* [5]. Geny tego systemu są ułożone w odwrotnej orientacji wobec siebie (Rys. 1). Kodony startu transkrypcji dla *cfrBIR* i *cfrBIM* oddzielone są odcinkiem o długości 76 p.z. W systemie tym promotor *cfrBIM* jest znacznie silniejszy niż *cfrBIR*. Dzięki temu po przejściu systemu do nowego gospodarza najpierw syntetyzowana jest metylaza. Wzrost stężenia metylazy w komórce obniża poziom transkrypcji *cfrBIM* i jednocześnie wpływa na podwyższenie ekspresji *cfrBIR*. Efekt ten zależy od metylacji sekwencji w regionie promotorowym CfrBI [5]. Kontrola transkrypcji zależy od kowalencyjnych modyfikacji grup metylowych w specyficznej sekwencji DNA w obrębie silnego promotora *cfrBIM*, wprowadzanych poprzez metylotransferazę, która transkrybowana jest z tego promotora.

Podobne mechanizmy kontrolujące zostały poznane w systemie R-M LlaDII z *Lactococcus lactis*, który po-

siada geny zorganizowane w tandem, *llaDIIM* i *llaDIIR*, które posiadają swoje własne, odrębne promotory (Rys. 1). Pomiędzy tymi genami znajduje się terminator transkrypcji. Eksperymenty z użyciem plazmidu, w którym gen reporterowy pozostawał pod kontrolą promotora *llaDIIM* pokazały, że aktywność tego promotora była obniżona w przypadku stale produkowanej metylotransferazy [7]. Wydaje się, że metylacja w obrębie miejsca -35 promotora obniża efektywność transkrypcji z promotora *llaDIIM* podobnie jak w przypadku systemu CfrBI.

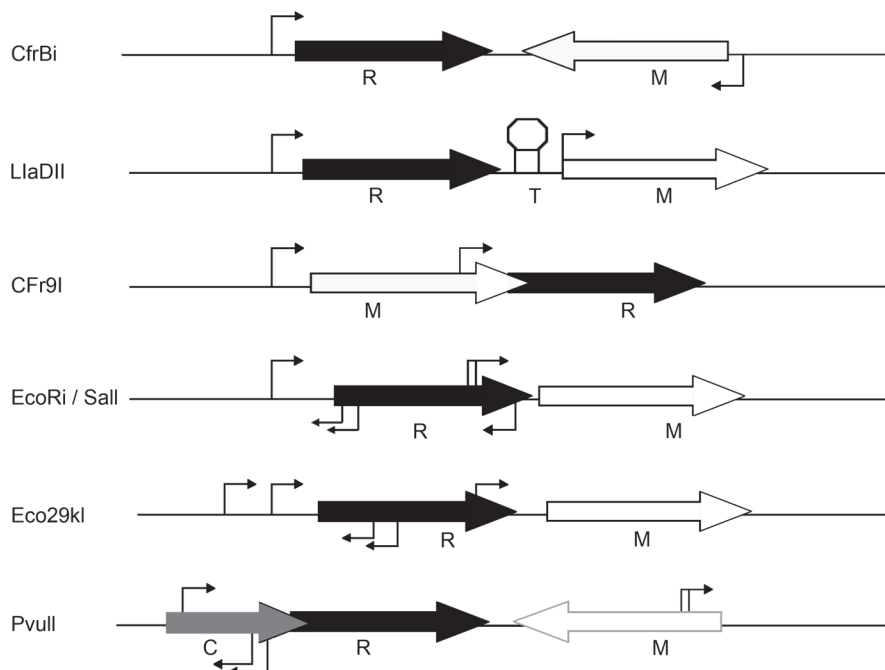
2.2. Gen endonukleazy restrykcyjnej położony za genem metylotransferazy

W systemie R-M Cfr9I geny zorganizowane są w ten sposób, że ostatni kodon dla metylotransferazy nakłada się z kodonem startu dla genu endonukleazy (ATGA) (*translational coupling*), (Rys. 1). Ponadto sekwencja nukleotydowa komplementarna do przypuszczalnej sekwencji Shine-Delgarno poprzedza *cfr9IR* i leży wewnątrz *cfr9IM*.

Takie ułożenie genów systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego może wpływać na wydajność transkrypcji genu endonukleazy [13, 14].

2.3. Regulacja ekspresji genów poprzez antysensowne RNA

Sposób regulacji ekspresji genów poprzez antysensowne RNA został opisany na przykładzie systemów EcoRI, Sall i Eco29kI.



Rys. 1. Schemat organizacji i regulacji genów systemów R-M
Gen endonukleazy restrykcyjnej (R) oznaczono kolorem czarnym, metylotransferazy (M) oznaczono kolorem białym.

W systemie R-M EcoRI, gdzie gen endonukleazy położony jest powyżej genu metylotransferazy, a oba geny znajdują się w tej samej orientacji, zidentyfikowano promotory na dolnej nici, które wpływają na poziom ekspresji obu genów [21], (Rys. 1). Mechanizm regulacji przez antysensowne RNA jest biologicznie istotny dla bakterii w kontrolowaniu ekspresji genu *ecoRIR*.

Po wnikięciu systemu R-M do nowego gospodarza dominuje transkrypcja z promotora genu metylotransferazy. Akumulacja odpowiedniej ilości M.EcoRI w komórce powoduje rozpoczęcie transkrypcji z odwrotnego promotora i zahamowanie aktywności genu *ecoRIM* [21]. Analogiczny sposób regulacji zaobserwowano w systemie R-M Eco29kI (Rys. 1). Oba geny tworzą jeden operon, w którym *eco29kIR* poprzedza *eco29kIM*. Wykazano, że odrębny promotor znajdujący się w genie dla endonukleazy wystarcza aby syntetyzować tyle enzymu modyfikującego, by całkowicie ochronić DNA gospodarza. Ponadto w systemie tym poziom transkryptu *eco29kIR* ściśle zależy od dwóch antysensownych promotorów leżących w obrębie tego genu [22]. Te antysensowne transkrypty uniemożliwiają inicjację translacji bicistronowego *eco29kIR-eco29kIM* mRNA poprzez jego degradację. Zarówno *eco29kIM*, jak i antysensowne promotory są niezbędne do tego, aby system mógł się stabilnie utrzymać w komórce bakteryjnej [22]. W operonie *Sall*, gen kodujący enzym odpowiedzialny za restrykcję znajduje się powyżej genu kodującego enzym metylujący (Rys. 1). Oba geny są głównie transkrybowane z promotora zlokalizowanego bezpośrednio powyżej *sallR*.

W operonie tym znajduje się również inny promotor w obrębie 3' końca kodującego *sallR*, co pozwala na ekspresję genu *sallM* w przypadku braku aktywności promotora pierwszego. Drugi promotor może być zaangażowany we wcześniejszą ekspresję genu metylującego, chroniącego DNA przed działaniem endonukleazy restrykcyjnej, po tym jak system R-M zostanie przekazany do nowego gospodarza [2].

3. Białka kontrolujące C

Szczegółowe prace nad analizą sekwencji nukleotydowych systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych BamHI oraz PvuII wykazały obecność dodatkowej ramki odczytu genu (ORF), znajdującej się najczęściej tuż przed genem endonukleazy restrykcyjnej, poza genem metylotransferazy [1, 31, 21]. Zaobserwowano, że mutacje w obrębie tej dodatkowej ramki odczytu skutkują brakiem właściwości restrykcyjnych systemu, nawet jeśli gen endonukleazy pozostaje niezmutowany.

Efekt ten zostaje zniesiony w układzie *in trans* przez dodanie do bakterii plazmidu niosącego kopię ORF typu dzikiego. Białka kodowane przez te dodat-

kowe ramki odczytu zostały nazwane białkami C (*controller*). Regulacja systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych poprzez białko C po raz pierwszy została opisana w systemie PvuII [32]. Zaobserwowano, że gen kodujący białko regulatorowe i gen endonukleazy *pvuIIR* nakładają się na siebie i mają tę samą orientację (Rys. 1). Okazało się, że ekspresja genu endonukleazy zachodzi efektywnie dopiero po nagromadzeniu się odpowiedniej ilości białka C w komórce, które działa jak pozytywny regulator ekspresji, opóźniając jednocześnie pojawienie się aktywności toksycznej endonukleazy. Natomiast drugi enzym metylotransferaza produkowana jest niezależnie od syntezy białka C. Jest to dodatkowy mechanizm, który chroni bakterię przed zbyt wczesnym pojawieniem się aktywności endonukleazy restrykcyjnej [20, 32]. Stwierdzono również, że białka C mają zdolność ograniczenia ekspresji genu metylotransferazy, w przypadku gdy cały DNA komórkowy został zmodyfikowany [17, 33, 34].

Ustalono struktury krystaliczne białek C, C.AdhI [16], C.BcII [26], a także C.Csp231 [30]. Białka te mają formę dimeru, a struktura każdego z monomerów jest analogiczna do domeny wiążącej DNA represora faga λ . Zazwyczaj gen kodujący białko C znajduje się powyżej genu endonukleazy i częściowo się z nim pokrywa [23].

4. Struktura miejsc DNA do których wiąże się białko C (operator)

Geny kodujące białka C znajdują się zazwyczaj przed genem endonukleazy, bądź częściowo pokrywają się z tym genem tworząc jeden operon. W obrębie sekwencji promotorowej można wyodrębnić dwa miejsca wiązania się dla białka C. Kiedy dimer białkowy wiąże się ze specyficzną sekwencją w obrębie promotora rozpoczyna się transkrypcja, wzrasta wydajność ekspresji genu endonukleazy. Aktywacja zależna od białka kontrolującego C może obejmować oddziaływanie białko-białko między C a podjednostką σ polimerazy RNA, która rozpoznaje sekwencje -35 i -10 promotora.

Na podstawie analizy sekwencji tych białek wykazano obecność wysoce konserwowanego regionu przypominającego strukturę helisa-skręt-helisa (*helix-turn-helix*), charakterystycznego dla licznych białek regulatorowych wiążących DNA.

Duża różnorodność wśród systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych wskazuje na przypuszczalne różnice w budowie sekwencji miejsc DNA wiążących białka C.

Na podstawie badań bioinformatycznych miejsca wiązania się tych białek z DNA wyodrębniono 9 grup [28]. Wszystkie operatory mają podobną długość: 35 par zasad, podobną budowę, na którą składają się trzy pierwsze zasady na zewnątrz danego motywu. Te trzy zasady nukleotydowe są z reguły komplementarne.

Typowe miejsce C (*C-box*) składa się z dwóch kopii takiej samej, palindromowej sekwencji.

Są one oddzielone ściśle konserwowaną, niesymetryczną sekwencją GTG. Na podstawie podobieństwa sekwencji i specyficzności występowania nukleotydów, miejsca wiązania zostały sklasyfikowane w grupy, które nazwano: C.PvuII, C.EcoRV i C.EcoO109I [20, 18, 12]. Miejsca C.PvuII mają strukturę dwóch krótkich palindromów, przedzielonych ściśle konserwowaną cztero-nukleotydową sekwencją. Dwa ramiona palindromowe stanowią miejsce wiązania dla monomerów białka C. W przeciwieństwie do C.PvuII, miejsca wiązania C.EcoRV i C.EcoO109I są pojedynczymi palindromami.

Wyróżnia się również motywy wśród sekwencji nukleotydowych, do których przyłącza się białko C. Typową budowę takiego motywu można przedstawić jako Z-X-N-X*-GTG-x-n-x*-Z*, gdzie X oznacza wewnętrzne palindromy, N wewnętrzne nie palindromowe sekwencje w operatorach, Z wskazuje zewnętrzne trójnukleotydowe obszary, gwiazdki oznaczają miejsca komplementarne. Duże litery oznaczają wysoko konserwowane nukleotydy lub sekwencje wiążące białko C, a małe, te o niższej powtarzalności wśród badanych systemów [28].

5. Mechanizm regulacji transkrypcji przez białko C

Białka C przyłączają się do DNA w postaci dimerów [29], dlatego poznane miejsca wiązania mają strukturę palindromu. W systemie EcoRV wykazano obecność dwóch miejsc wiązania się tych białek w obrębie sekwencji regulatorowej genu kodującego białko C. Region znajdujący się przed miejscem startu transkrypcji ma wyższe powinowactwo do wiązania się dimerów C, co wpływa efektywnie na wzrost stężenia białka w komórce. Natomiast wiązanie się białka C z obszarem poniżej miejsca startu transkrypcji skutkuje obniżeniem poziomu transkrypcji genu [27, 33]. W systemach R-M, które posiadają gen C często nie obserwuje się własnego promotora dla genu enzymu restrykcyjnego. Otwarte ramki odczytu dla obydwu genów zachodzą na siebie i transkrypcja genu toksycznej dla komórki endonukleazy zależna jest od regulatorowego białka C [36]. Po przejściu systemu R-M do komórki bakteryjnej istotna rola białka C polega więc na opóźnieniu transkrypcji genu endonukleazy po to, aby umożliwić metylotransferazie ochronę DNA nowego gospodarza [19].

Również ekspresja genu metylazy podlega kontroli poprzez białko C. W systemie EcoRV, gdzie geny metylazy i białka C oraz endonukleazy restrykcyjnej położone są w przeciwnej orientacji, wiązanie się białka C z jedną z sekwencji palindromowych urucha-

mia transkrypcję genu enzymu endonukleolitycznego, ale hamuje produkcję metylotransferazy, ponieważ istnieje współzawodnictwo pomiędzy związaniem się białka C z typowym miejscem C i aktywacją promotora dla endonukleazy, a pokrywającym się z tym regionem promotorem dla metylazy [27].

W przypadku systemu Esp13961, gen metylotransferazy zlokalizowany jest w znacznej odległości od operonu białka C i endonukleazy [4, 6]. Jednak miejsce promotorowe genu enzymu metylującego zawiera sekwencje wiążące białko C. Wiążąc się do tego miejsca, białko C uniemożliwia polimerazie RNA rozpoczęcie transkrypcji. W ten sposób białko C wpływa na poziom ekspresji genów enzymów. W systemie Kpn2I gen metylazy i białka C są zorganizowane w przeciwnych kierunkach, białko C stymuluje transkrypcję własnego genu i jednocześnie redukuje stężenie enzymu metylującego w komórce [15]. W obu przypadkach kontrola transkrypcji genów umożliwia obniżenie początkowo wysokiego stężenia w komórce metylotransferazy i włączenie aktywności endonukleolitycznej systemu.

6. Podsumowanie

Lokalizacja systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych na ruchomych elementach genetycznych i ich powszechność w komórkach bakteryjnych wskazuje, że odgrywają one ważną rolę w przepływie informacji genetycznej między bakteriami a także w regulacji genów kodujących czynniki wirulencji patogenów [9–11]. Obecność systemów R-M w komórce związana jest również ze stopniem adaptacji bakterii do życia w środowisku. W przypadku gatunków jak *Helicobacter pylori* geny kodujące systemy R-M wpływają na możliwość bytowania bakterii w kwaśnym środowisku żołądka [3]. Wykazano także ważną rolę endonukleazy restrykcyjnej w procesie horyzontalnego przepływu genów wśród metycylinoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* [8]. Szczepy z ograniczoną aktywnością tego enzymu były szczególnie podatne na przepływ informacji genetycznej od innych gatunków takich jak *Escherichia coli* i z łatwością nabywały gen oporności na wankomycynę od enterokoków [8].

Regulacja ekspresji genów systemów R-M nie jest jeszcze dobrze poznana, choć pewne elementy kontroli zostały zidentyfikowane i podlegają intensywnym badaniom. Pojawianie się kolejnych szczepów opornych na większość dostępnych antybiotyków stanowi obecnie poważny problem epidemiologiczny na całym świecie. Szczegółowa analiza bakteryjnych systemów R-M zaangażowanych w horyzontalny przepływ genów i poznanie sposobu ich regulacji może wyznaczyć nowe trendy w poszukiwaniu terapii chorób wywoływanych przez szczepy wielooporne.

Praca napisana na podstawie pracy magisterskiej pod kierunkiem dr hab. Iwony Mruk z Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Gdańskiego.

Piśmiennictwo

- Adams G.M., Blumenthal R.M.: Gene *pvuIIW*: a possible modulator of PvuII endonuclease subunit association. *Gene*, **157**, 193–199 (1999)
- Alvarez M., Chater K.: Complex transcription of fan operon encoding the Sall restriction-modification system of *Streptomyces albus*. *G. Mol. Microbiol.* **8**, 243–252 (1993)
- Banerjee A., Rao D.: Functional analysis of an acid adaptive DNA adenine methyltransferase from *Helicobacter pylori* 26695. *PLoS One* **6**, DOI: 10.1371/journal.pone.0016810 (2011)
- Ball N.J., McGeehan J.E., Streeter S.D., Thresh S.J., Kneale G.G.: The structural basis of differential DNA sequence recognition by restriction-modification controller proteins. *Nucleic Acids Res.* **40**, 10532–10542 (2012)
- Beletskaya I., Zakharova M.: Methylation at the CfrBI site is involved in expression control in the CfrBI restriction-modification system. *Nucleic Acids Res.* **28**, 3817–3822 (2000)
- Cesnavecienė E., Mitkaite G., Stankevicius K.: *Esp1396I* Restriction-Modification System: Structural Organization and Mode of Regulation. *Nucleic Acids Res.* **31**, 743–749 (2003)
- Christensen L., Josephsen J.: The methyltransferase from the LlaDII restriction-modification system influences the level of expression of its own gene. *J. Bacteriol.* **186**, 287–295 (2004)
- Corvaglia A., Francois P., Hernandez D., Perron K., Linder P., Schrenzel J.: A type-III like restriction endonuclease functions as a major barrier to horizontal gene transfer in clinical *Staphylococcus aureus* strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 11954–11958 (2010)
- Donahue J., Israel D., Torres V., Necheva A., Miller G.: Inactivation of a *Helicobacter pylori* DNA methyltransferase alters *dnaK* operon expression following host-cell adherence. *FEMS Microbiol. Lett.* **208**, 295–301 (2002)
- Humbert O., Salama N.: The *Helicobacter pylori* HpyAXII restriction-modification system limits exogenous DNA uptake by targeting GTAC sites but shows asymmetric conservation of the DNA methyltransferase and restriction endonuclease components. *Nucleic Acids Res.* **36**, 6893–6906 (2008)
- Johnston C., Polard P., Claverys J.P.: The DpnI/DpnII pneumococcal system, defense against foreign attack without compromising genetic exchange. *Mob. Genet. Elements*, **3**, DOI: 10.4161/mge.25582 (2013)
- Kita K., Tsuda J., Kato T.: Evidence of horizontal transfer of the EcoO109I restriction-modification gene to *Escherichia coli* chromosomal DNA. *J. Bacteriol.* **18**, 6822–6827 (1999)
- Lisser S., Margalit H.: Complication of *E. coli* mRNA promoter sequences. *Nucleic Acids Res.* **21**, 1507–1516 (1993)
- Lubys A., Menkevicius S.: Cloning and analysis of translation control for genes encoding the Cfr9I restriction-modification system. *Gene*, **141**, 85–89 (1994)
- Lubys A., Jurenaite S., Janulaitis A.: Structural organization and regulation of plasmid-borne type II restriction-modification system Kpn2I from *Klebsiella pneumoniae* RFL2. *Nucleic Acids Res.* **27**, 4228–4234 (1999)
- McGeehan J.E., Streeter S., Cooper J.B., Mohammed F.: Crystallization and preliminary X-ray analysis of the controller protein C.AhdI from *Aeromonas hydrophila*. *Acta Cryst. D*, **60**, 323–325 (2004)
- McGeehan J.E., Streeter S.D., Thresh J.E.: Structural analysis of Novel Class of R-M controller proteins: C.Csp231I from *Citrobacter* sp. RFL231. *J. Mol. Biol.* **409**, 177–188 (2011)
- Mruk I., Rajesh P., Blumenthal R.M.: Regulatory circuit based on autogenous activation-repression: roles of C-boxes and spacer sequences in control of the PvuII restriction-modification system. *Nucleic Acids Res.* **35**, 6935–6952 (2007)
- Mruk I., Blumenthal R.: Real-time kinetics of restriction-modification gene expression after entry into a new host cell. *Nucleic Acids Res.* **36**, 2581–2593 (2008)
- Mruk I., Blumenthal R.: Tuning the relative affinities for activating and repressing operators of a temporally regulated restriction-modification system. *Nucleic Acids Res.* **37**, 983–998 (2009)
- Mruk I., Liu Y., Kobayashi I.: Antisense RNA associated with biological regulation of restriction-modification system. *Nucleic Acids Res.* **13**, 5622–5632 (2011)
- Nagornykh M., Zakharova M.: Regulation of gene expression in restriction-modification system Eco29kI. *Nucleic Acids Res.* **39**, 4653–4663 (2011)
- Nagornykh M., Bogdanova E.: Regulation of gene expression in a type II restriction-modification system. *Russ. J. Genet.* **44**, 523–532 (2008)
- Rimselienė R., Vaisvila R., Janulatis A.: The *eco72IC* gene specifies a trans-acting factor which influences expression of both DNA methyltransferase and endonuclease from the Eco72I restriction-modification system. *Gene*, **157**, 217–219 (1995)
- Rocha E.P., Danchin A., Viari A.: Evolutionary role of restriction/modification systems as revealed by comparative genome analysis. *Genome Res.* **11**, 946–958 (2001)
- Sawaya M.R., Zhu Z., Mersha F., Chan S.H., Dabur R.: Crystal structure of the restriction-modification system control element C.BclI and mapping of its binding site. *Structure*, **13**, 1837–1847 (2005)
- Semenova E., Minakhin L., Bogdanova E., Nagornykh M.: Transcription regulation of the EcoRV restriction modification system. *Nucleic Acids Res.* **33**, 6942–6951 (2005)
- Sorokin V., Severinov K., Gelfand M.: Systematic prediction of control proteins and their DNA binding sites. *Nucleic Acids Res.* **34**, 441–451 (2009)
- Streeter S.D., Papapanagiotou I., McGeehan J.E., Kneale G.G.: DNA footprinting and biophysical characterization of the controller protein C.AhdI suggests the basis of a genetic switch. *Nucleic Acids Res.* **32**, 6445–6453 (2004)
- Streeter S., McGeehan J., Kneale G.: Overexpression, purification and preliminary X-ray diffraction analysis of the controller protein C.Csp231I from *Citrobacter* sp. RFL231. *Acta Cryst.* **65**, 898–901 (2009)
- Tao T., Bourne J., Blumenthal R.: A family of regulatory genes associated with type II restriction-modification systems. *J. Bacteriol.* **173**, 1367–1375 (1991)
- Tao T., Blumenthal R.: Sequence and characterization of *pvuIIR*, the PvuII endonuclease gene, and of *pvuIIC*, its regulatory gene. *J. Bacteriol.* **10**, 3395–3398 (1992)
- Williams K., Savageau M., Blumenthal R.: A bistable hysteretic switch in an activator-repressor regulated restriction-modification system. *Nucleic Acids Res.* **41**, 6045–6057 (2013)
- Wilson G.G., Murray N.E.: Restriction-modification systems. *Annu. Rev. Genet.* **25**, 585–627 (1991)
- Vasu K., Nagamalleswari E., Nagaraja V.: Promiscuous restriction is a cellular defense strategy that confers fitness advantage to bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1287–1293 (2012)
- Vijesurier R.M., Carlock L., Blumenthal R.: Role and mechanism of action of C. PvuII, a regulatory protein conserved among restriction-modification systems. *J. Bacteriol.* **182**, 477–487 (2000)