

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ РЕАКЦИИ S-АДЕНОЗИЛ-L-МЕТИОНИНА: СИНТЕЗ И ПРЕВРАЩЕНИЯ

© 2025 г.

А. Ю. РУДЕНКО^{1,2}, С. С. МАРЬЯСИНА^{1,2,3},
Р. М. ОЖИГАНОВ¹, П. В. СЕРГИЕВ^{1,3}, В. И. ПОЛЬШАКОВ^{2*}

¹Институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского
МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²МГУ имени М.В.Ломоносова, Факультет Фундаментальной Медицины, Москва, Россия

³МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

I. Введение. II. Разнообразие превращений с участием SAM. III. Методы синтеза SAM. IV. SAM – ключевой участник реакций трансалкилирования. V. SAM – источник строительных блоков. VI. SAM – источник не только метильных групп. VII. SAM в роли нерасходуемого кофактора. VIII. Биоортогональные системы с аналогами SAM. IX. Примеры практического применения аналогов SAM. X. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Ферменты способны катализировать реакции образования сложных молекул в мягких условиях. Использование ферментов позволяет проводить реакции препаративно, с высокими выходами, применяя экологически безопасные реагенты и растворители. Ферментативные подходы все чаще используются в промышленности, в таких областях как агрохимия, фармацевтика, тонкий органический синтез и переработка материалов. Таким образом, препаративный биокатализ играет важную роль в создании инновационных продуктов и разработке новых технологий производства.

Ферментативные реакции обладают рядом преимуществ, таких как химическая, регио- и стереоселективность, высокая эффективность, протекание в мягких условиях в водных средах. Однако, они имеют существенный недостаток, ограничивающий их повсеместное применение для решения задач химической промышленности: большинство природных ферментов принимают лишь узкий диапазон субстратов. Для преодоления этого ограничения в последнее время разработаны надежные стратегии белковой инженерии, с помощью которых были созданы ферменты, катализирующие реакции с неприродными субстратами с высокой эффективностью.

Значительный интерес для биоинженерии представляют трансферазы (EC. 2). Эти ферменты катализируют перенос атомов или функциональных групп между молекулами. Трансферазы различных классов способны переносить широкий спектр фрагментов, например, ацильные, amino- и фосфатные, формильные, карбоксильные группы, а также группы, содержащие атомы серы, селена и галогенов.

*Адрес для корреспонденции: vpolsha@mail.ru

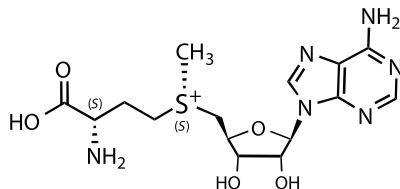
Среди трансфераз важное место занимает группа ферментов, использующих в качестве кофактора *S*-аденозил-*L*-метионин (SAM). Эта молекула может использоваться для переноса на субстрат метильной-, аденозилной-, 2-аминопропионильной и некоторых других групп. Наиболее распространены SAM-зависимые метилтрансферазы (МТазы) – ферменты, переносящие метильную группу от молекулы SAM на субстраты различной природы (ДНК, РНК, белки или малые молекулы).

На данный момент около 3 миллионов белковых последовательностей аннотированы как SAM-зависимые МТазы, согласно данным из InterPro [1]. Однако не все SAM-зависимые ферменты используют SAM в качестве источника функциональных групп. Благодаря положительному заряду на атоме серы этот фрагмент молекулы SAM может выступать в качестве простетической группы, стабилизируя промежуточные продукты реакций. Кроме того, в некоторых случаях SAM помогает поддерживать целостность фермента и его активного центра.

Изучение SAM-зависимых трансфераз и аналогов их кофактора, SAM, является актуальной задачей. Это подтверждается неуклонным ростом количества научных работ в данной области.

II. РАЗНООБРАЗИЕ ПРЕВРАЩЕНИЙ С УЧАСТИЕМ SAM

S-аденозил-*L*-метионин (SAM, AdoMet, Рис. 1) присутствует во всех живых организмах и является вторым после АТФ наиболее распространённым в природе кофактором ферментативных реакций [2, 3]. Эта молекула играет центральную роль в различных биологических реакциях и путях внутриклеточной регуляции [4].



S-аденозил-*L*-метионин
(SAM или AdoMet)

Рис. 1. Строение *S*-аденозил-*L*-метионина.

Ключевой функцией SAM является участие этого соединения в качестве кофактора для МТаз [5–7] (Рис. 2). Эта молекула служит источником метильных групп для ковалентной модификации различных субстратов – от простых ионов, таких как, например, ион мышьяка, хлорид, бромид или йодид [8, 9], до сложных макромолекул: ДНК, РНК и белков [10]. Так, например, SAM используется в роли донора метильной группы при биосинтезе холина, карнитина, креатина, некоторых нейромедиаторов, антибиотиков и фосфолипидов (Рис. 2). Реакция SAM-зависимого метилирования играет важную роль в регуляции экспрессии генов и стабилизации ДНК [11]. С помощью метилирования происходит детоксикация некоторых низкомолекулярных веществ и метаболизм многих лекарственных препаратов [10, 12–15].

SAM используется в качестве донора функциональных групп и в ряде других метаболических реакций [4, 16–18] (Рис. 3). Во-первых, декарбоксилированный аналог SAM выступает источником аминопропионильной группы в синтезе полиаминов: спермидина и спермина. Эти метаболиты необходимы для клеточного роста и деления. Во-вторых,

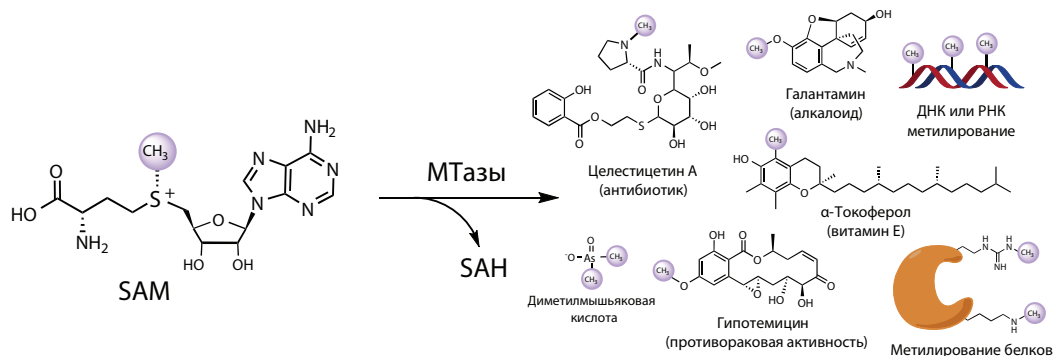


Рис. 2. Примеры продуктов метилирования МТазы.

SAM является участником биосинтеза глутатиона (GSH) – антиоксиданта, контролирующего окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды. В-третьих, SAM служит основным источником 5-дезоксадеозильного радикала, который, в свою очередь, участвует во многих биологических процессах, включая биосинтез предшественников нуклеотидов, биодеградацию и репарацию ДНК, а также модификацию тРНК [4, 16].

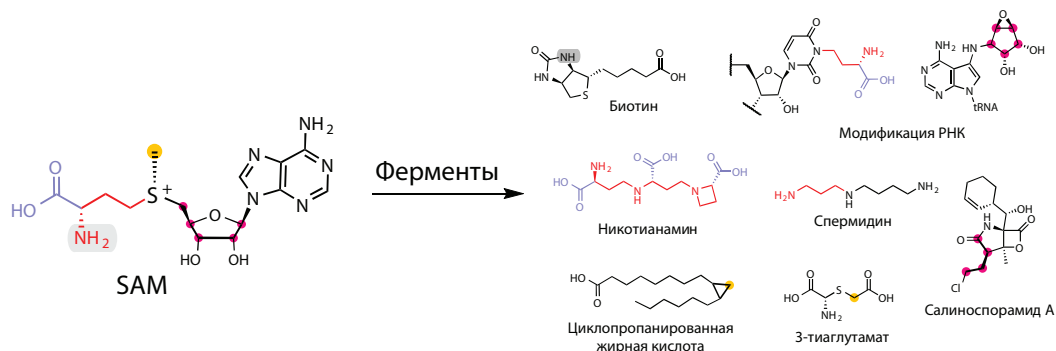


Рис. 3. Примеры продуктов реакций, в которых SAM выступает в качестве донора функциональных групп.

Разнообразие биологических процессов, центральная роль в которых отведена молекуле SAM, потрясает воображение. Значимость этого соединения нашла отражение в попытках его применения в клинической практике. SAM впервые был описан как «АТФ-активированная форма метионина» в 1952 году итальянским биохимиком Джулио Кантони в ходе изучения метаболизма метионина [19]. С тех пор было проведено множество клинических испытаний, которые показали, что SAM может уменьшить боли и воспаления в суставах при остеоартрите [20, 21], а также поддержать функцию печени при ее хронических заболеваниях [22]. SAM пробовали использовать для лечения депрессии и тревожных расстройств, однако достоверных доказательств в пользу его эффективности при таком применении обнаружено не было [23, 24]. Вместе тем, SAM широко используется в качестве биологически активной добавки.

III. МЕТОДЫ СИНТЕЗА SAM

Для получения SAM используются три ключевых подхода: биотехнологический, предполагающий получение SAM в живых клетках с последующим выделением; химический синтез и ферментативные реакции. Методы получения SAM можно обобщить следующим образом (Рис. 4).

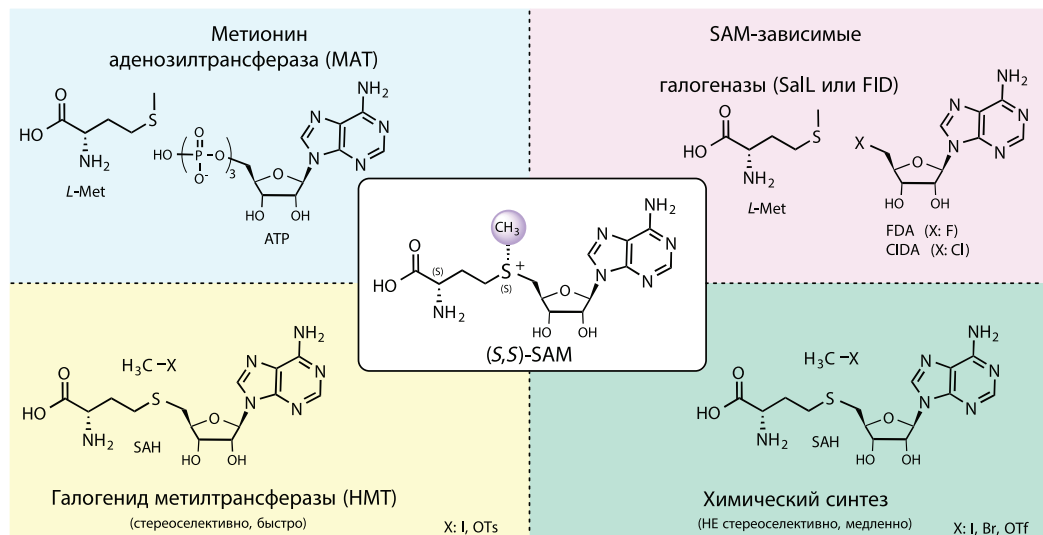


Рис. 4. Варианты синтеза SAM.

В большинстве живых организмов молекула SAM синтезируется из *L*-метионина (*L*-Met) и аденозинтрифосфата (АТФ, АТФ) под действием метиониновых аденозилтрансфераз (MAT, EC 2.5.1.6, Рис. 5).

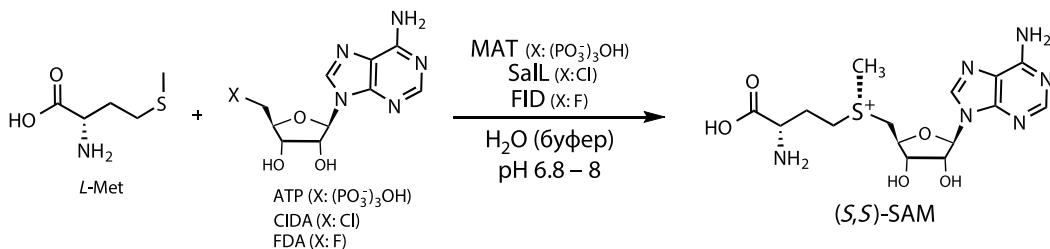


Рис. 5. Получение SAM с использованием различных ферментов.

Этим путем SAM образуется в цитоплазме клеток бактерий и дрожжей, а также в тканях многоклеточных организмов. У млекопитающих большая часть SAM производится в клетках печени [25, 26]. В результате действия MAT происходит перенос аденозилной группы от АТФ на *L*-Met с образованием SAM, пиррофосфата (PP_i) и неорганического фосфата (P_i). Эта реакция стереоселективна: образующийся эпимер имеет конфигурацию (*S*_S,*S*_C)-SAM (Рис. 1), где первая *S*-конфигурация соответствует стереохимии сульфогруппы, а вторая – α-углеродного атома остатка метионина [27–29]. Большинство SAM-зависимых ферментов используют только природный (*S*,*S*)-эпимер [28, 30–32]. В противоположность этому, (*R*_S,*S*_C)-эпимер, как правило, связывается с ферментами, но

из-за неблагоприятной геометрии сульфониевого центра не вступает в реакции метилирования. В результате он проявляет сильные ингибирующие свойства для МТаз, «застывая» в центре связывания и конкурируя с природным (*S,S*)-эпимером [30, 32–35].

В ходе реакции метилирования из молекулы SAM образуется *S*-аденозил-*L*-гомоцистеин (SAH) – продукт отщепления метильной группы от атома серы. Из-за высокого структурного сходства с молекулой SAM, для большинства МТаз SAH является мощным конкурентным ингибитором [36].

Биотехнологический метод получения SAM с использованием генетически модифицированных бактерий и дрожжей стал основным промышленным способом производства этого соединения. Его преимущества включают высокий уровень накопления SAM в живых клетках, экологическую безопасность процесса и возможность выделения продукта высокой чистоты непосредственно из ферментационной среды [37]. Современные биотехнологические компании активно работают над оптимизацией условий биотехнологического процесса, таких как температура, pH и концентрации питательных веществ, что позволяет увеличить выход продукта и снизить производственные затраты [38–40]. Методы геной инженерии в основном направлены на повышение уровня биосинтеза SAM и минимизацию его потребления клеткой [41–43].

SAM также можно получить химическим методом, однако его использование ограничено из-за необходимости поддержания требуемых условий реакции, низкой производительности и сложности очистки полученного кофактора. SAM получают из SAH по реакции метилирования (Рис. 6). Предшественником SAM выступает определенный диастереомер SAH. Он может быть получен химическими методами [44, 45]. Однако непосредственно реакция алкилирования атома серы SAH с использованием алкилтрифлатов или алкилгалогенидов происходит нестереоселективно, с образованием смеси (*S,S*)-SAM и (*R,S*)-SAM эпимеров [28, 46] (Рис. 6). Сульфониевый ион представляет собой хиральный центр, оба образовавшихся (*R*)- и (*S*)-эпимера оптически стабильны и могут быть разделены хроматографически. Однако, отсутствие стереоспецифичности реакции и сложность выделения ограничивают применение химического подхода для получения SAM.

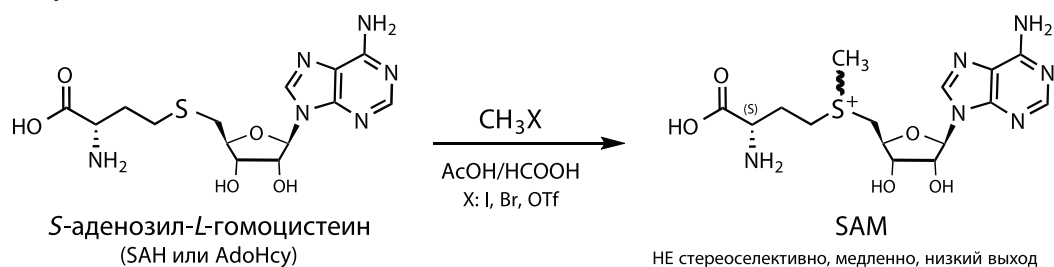


Рис. 6. Получение SAM химическими методами.

Третий подход к производству SAM – ферментативный. В отличие от химического, ферментативный метод имеет преимущества в чистоте получаемого продукта и возможности простой очистки [47, 48].

Для ферментативного получения SAM используется три альтернативных реакции (Рис. 5). В первом случае проводят аденилрибозилирование метионина с помощью АТФ под действием МАТ. Основной проблемой этого метода является высокая трудоемкость получения его предшественника АТФ.

Второй ферментативный вариант синтеза SAM основан на использовании SAM-зависимых галогеназ (Рис. 5). Эти ферменты катализируют нуклеофильную атаку галогенид-ионов на C5' SAM с образованием 5'-хлоро-5'-дезоксаденозина (CIDA) или 5'-фторо-5'-дезоксаденозина (FDA) и *L*-Met. Однако хлориназы (SalL) или фториназы (FIA) могут быть использованы в обратной реакции для получения SAM из *L*-Met и CIDA или FDA [49–51]. К сожалению, данный подход ограничен из-за неблагоприятной кинетики и необходимости использования труднодоступных прекурсоров (CIDA или FDA, Рис. 5).

Третий вариант ферментативного подхода разработан Cangsong Liao и Florian P. Seebeck. Он заключается в синтезе SAM из SAH под действием галогенид метилтрансферазы (HMT) и метилиодида в качестве источника метильной группы [52] (Рис. 7). В природе HMT встречаются во множестве организмов, включая морские водоросли, грибы и галофитные растения. В этих организмах под действием SAM происходит метилирование галогенид-ионов с образованием метилгалогенидов [53–57]. Также HMT называют анионными МТзами или галогенид/тиол МТазами (HTMT), поскольку некоторые члены семейства способны метилировать SCN^- и HS^- [56, 58]. Возможно, это их основная функция, а алкилирование галогенидов – лишь «метаболическая случайность» [59, 60]. В живых организмах равновесие в реакции, катализируемой HMT, смещено в сторону образования метилгалогенидов из-за их летучести и ферментативного расщепления SAH, однако обратная реакция термодинамически выгоднее. При соответствующих условиях *in vitro* HMT способен переносить метильные группы от метилиодида к SAH, обеспечивая простой стереоселективный синтез (*S,S*)-SAM, в отличие от нестереоселективного химического подхода (Рис. 7).

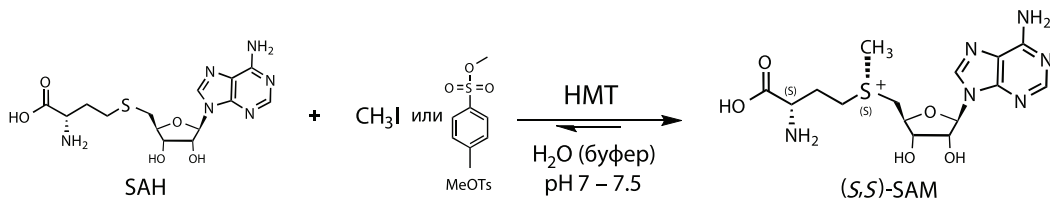


Рис. 7. Синтез SAM под действием галогенид метилтрансферазы (HMT)

IV. SAM – КЛЮЧЕВОЙ УЧАСТНИК РЕАКЦИЙ ТРАНСАЛКИЛИРОВАНИЯ

Реакция алкилирования, широко применяемая на финальных этапах синтеза разнообразных соединений, способна значительно изменить их биологические и физические свойства. Так, введение метильной группы в молекулу лекарственного препарата может в десятки раз повысить фармакологическую активность. Такая модификация изменяет растворимость, конформацию и метаболическую устойчивость вещества [10, 61, 62]. Данное явление часто называют эффектом «магического метила» [63]. Биологически активные соединения и, в частности, лекарственные препараты, часто содержат нуклеофильные фрагменты, например, аминогруппу, гетероциклы и незащищенные полярные группы. Для повышения стабильности эти группы необходимо селективно алкилировать, поэтому разработка методологии создания эффективных ферментативных систем, катализирующих реакции алкилирования, и кофакторов для таких ферментов является приоритетной задачей.

Несмотря на множество успешных примеров биоалкилирования, существует ряд проблем в разработке и применении этих методов [5, 64]. Ключевые проблемы – это необходимость использования стехиометрических количеств дорогостоящего алкилирующего агента, его низкая стабильность, а также субстратная специфичность МТаз. Далее мы подробнее обсудим эти проблемы, а также имеющиеся пути к их решению.

4.1. СПОСОБЫ РЕГЕНЕРАЦИИ SAM И ЕГО АНАЛОГОВ

Первая проблема при создании платформы для биокаталитического метилирования связана с необходимостью использования стехиометрических количеств дорогостоящего кофактора SAM или его аналогов. Это делает крупномасштабные реакции чрезмерно дорогими и затратными [6, 36, 65–67].

В природе метаболическая регенерация SAM из SAH является многоступенчатым процессом [68, 69]. На его основе Jennifer N. Andexer с коллегами разработали стратегию регенерации кофактора SAM с помощью каскада из пяти ферментов *in vitro* (Рис. 8А). Этот процесс начинается с гидролиза SAH до аденозина и гомоцистеина ферментом SAH-гидролазой (SAHH). Затем происходит три последовательных фосфорилирования аденозина с образованием АТФ, катализируемые аденозинкиназой (ADK), полифосфаткиназой 2-I (PPK2-I) и полифосфаткиназой 2-II (PPK2-II, Рис. 8А). Полученный АТФ используется МАТ для превращения метионина в SAM. Данная система также может генерировать *S*-аденозил-*L*-этионин (SAE), если использовать *L*-этионин вместо метионина [70]. Данная работа показала, что регенерация SAM возможна, однако система перестает работать уже через 11 циклов из-за её сложности, что приводит к низкому выходу продукта алкилирования (Рис. 8А). Также предложенная система зависит от метионина и его аналогов в качестве доноров алкильной группы, получение которых трудозатратно. Недостатком предложенного метода является и образование гомоцистеина в качестве побочного продукта реакции.

Следующим этапом повышения эффективности каскада биокаталитического метилирования стало добавление цикла для утилизации гомоцистеина с помощью *L*-гомоцистеин-*S*-МТазы (HSMT) и донора метильной группы *S*-метил-*L*-метионина (SMM, Рис. 8В) [71]. Это исключило проблему образования побочных продуктов, что положительно повлияло на систему регенерации SAM, увеличив количество оборотов до 200 циклов. Была продемонстрирована возможность регенерации аналогов SAM, содержащих различные пуриновые и пиримидиновые нуклеиновые основания, что в будущем может послужить основой создания систем биоортогонального алкилирования. Также показано, что в некоторых случаях нет необходимости выделять ферменты в чистом виде: для катализа можно использовать клеточные лизаты, что упрощает масштабирование биокаталитической системы [71].

SAM используется не только МТазами, но и другими белками, включая радикальные SAM-зависимые ферменты и аминокислотпропилтрансферазы (ACPT). В ходе реакций с этими белками образуются SAH, 5'-метилтиоаденозин (МТА) или 5'-дезоксиаденозин (DOA, Рис. 9), которые являются неспецифическими конкурентными ингибиторами для большинства SAM-зависимых ферментов [72–74]. Исследователями из Фрайбурга (Германия) предложено дополнение к системе регенерации SAM и его аналогов, включающее два ключевых фермента: МТА/SAH-нуклеозидазу (MTAN), которая расщепляет нуклеозидную связь с образованием аденина [74], и аденинфосфорибозилтрансферазу (APRT), которая из аденина (Ade) и 5-фосфорибозил-1-пирофосфата

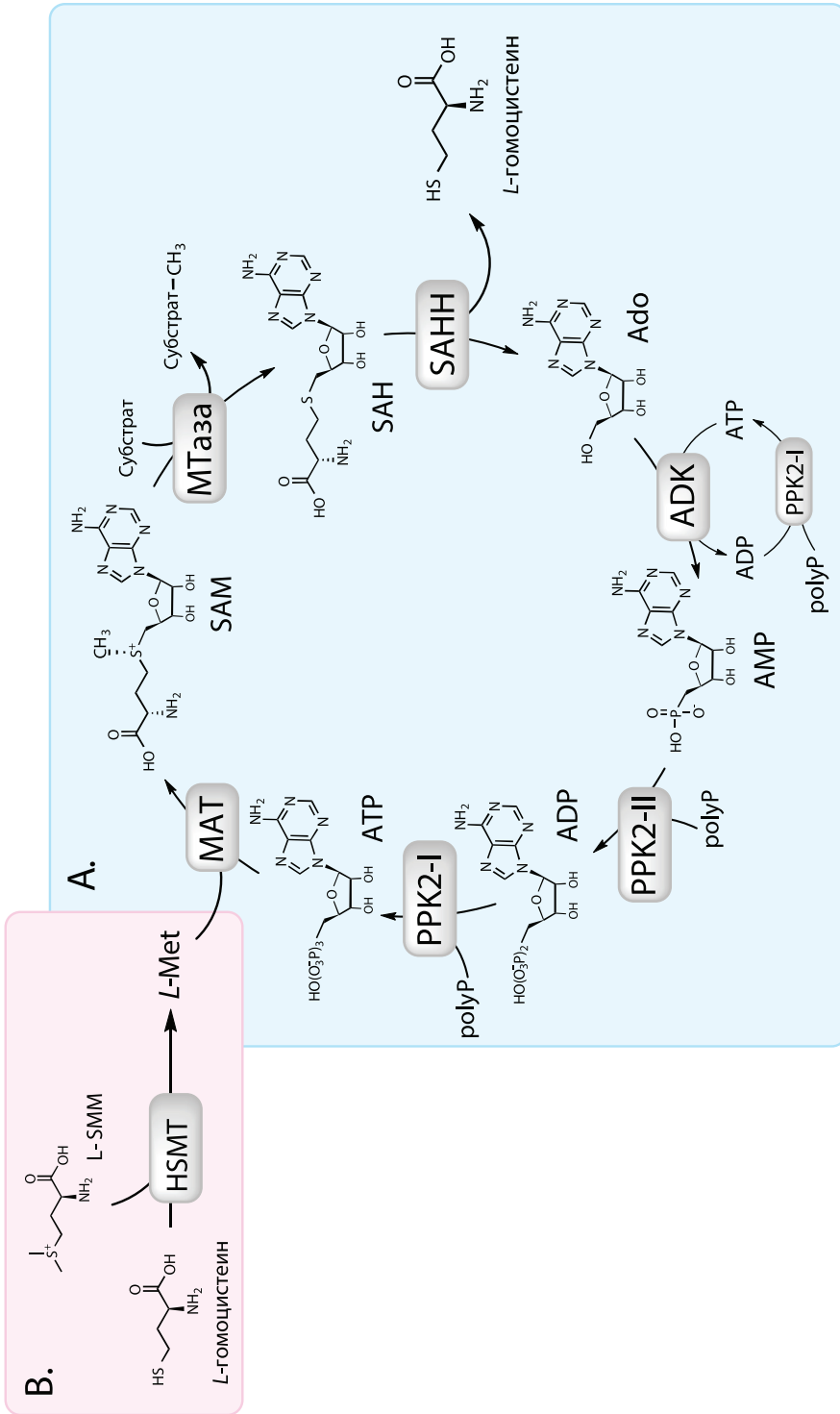


Рис. 8. Регенерация кофактора SAM с помощью каскада ферментов.

ADK – аденозинкиназа; HSMT – L-гомоцистеин-S-МТаз; MAT – метиониновая аденозилтрансфераза; PPK2-I – полифосфаткиназа 2-I; PPK2-II – полифосфаткиназа 2-II; SANH – SAH-гидролаза.

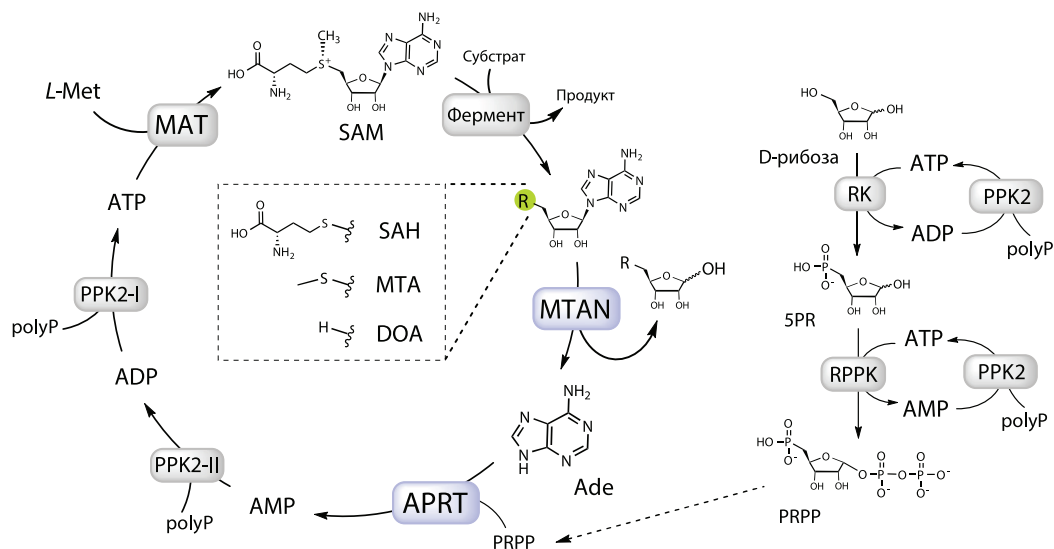


Рис. 9. Регенерация SAH, MTA и DOA в SAM с помощью каскада ферментов.

APRT – аденинфосфорилтрансфераза; MTAN – MTA/SAH-нуклеозидаза; RK – рибокиназа; RPPK – D-рибозо-5-фосфат пиррофосфокиназа.

(PRPP) синтезирует аденозин-5'-монофосфат (AMP, Рис. 9). Данная система позволяет регенерировать SAM и его аналоги, содержащие различные алкильные заместители у атома серы. Следует отметить, что большое число ферментов в предложенной каталитической системе усложняет масштабирование и оптимизацию для препаративных применений.

Более простой вариант регенерации SAM из SAH возможен при помощи метилиодида и HMT (Рис. 10). На основе этой реакции можно создавать биокаталитические циклы алкилирования. В таких каскадах метилиодид выступает источником метильной группы, а SAH необходим в каталитическом количестве и может рециркулировать до 580 раз. При этом единственным побочным продуктом реакции является иодид ион [52].

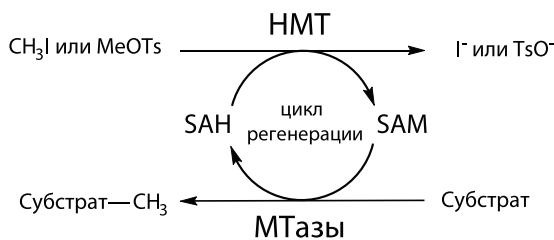


Рис. 10. Схема регенерации SAM из SAH с помощью HMT.

Метилиодид из-за своей летучести, нестабильности и токсичности может представлять проблему для масштабирования процесса биометилирования. В 2022 году группа Florian P. Seebeck дополнительно усовершенствовала каскадный подход, предложив в качестве источника метильной группы менее токсичные и более экономичные доноры на основе эфиров сульфокислот, в частности, метилтолуолсульфонат (MeOTs, Рис. 7)

[75]. Stephan C. Hammer и его коллеги показали возможность использования MeOTs в препаративном метилировании [76].

Chun-Yu Gao и другие разработали стратегию расчетной белковой инженерии под названием «DCCNA» [77]. С помощью нее они обнаружили перспективные участки для сайт-направленного мутагенеза в HMT из *Paraburkholderia xenovorans* (BxHMT), чтобы увеличить каталитическую активность фермента по отношению к MeOTs. Полученный ими мутант BxHMT с четырьмя аминокислотными заменами (V55T/C125S/L127T/L129P) имел удельную активность 4,08 ед./мг по отношению к MeOTs, что в 82-раза превышает активность фермента дикого типа [78].

Многие MТазы способны переносить на свой субстрат алкильные заместители, отличные от метильной группы, поэтому разработка методов биоалкилирования разнообразными группами представляет интерес. Химический синтез таких аналогов SAM не эффективен из-за образования смеси диастереомеров [46]. Методичный поиск и анализ свойств HMT из различных организмов [55] показал, что эти ферменты не обладают строгой стереоспецифичностью по отношению к алкильному фрагменту, и могут принимать различные алкилиодиды и алкилбромиды (Рис. 11). Stephan C. Hammer и его группа [77] провели синтез аналогов SAM, содержащих этильную, пропильную, аллильную и другие группы вместо метила, и показали, что такие аналоги могут участвовать в каскадных реакциях. Однако конверсия субстрата оказалась низкой, поскольку реакция, катализируемая HMT, протекает с невысоким выходом. Благодаря белковой инженерии HMT это ограничение удастся преодолеть. Uwe T. Bornscheuer и его коллеги разработали высокочувствительный метод обнаружения продукта ферментативной реакции – иодид иона [79], что позволило им провести высокопроизводительный направленный мутагенез HMT. Таким образом они получили модифицированный вариант HMT^{V140T} из *Arabidopsis thaliana* [80]. Данный фермент способен использовать этил-, пропил- и аллилиодид и стереоселективно синтезировать соответствующие аналоги SAM с высоким выходом. Полученные аналоги образовывались и расходовались в замкнутых каскадных циклах HMT^{V140T} и O-MТаз, что приводило к региоселективному этилированию лютеолина или аллилированию 3,4-дигидроксибензальдегида (3,4-DHBA) со средними выходами [80] (Рис. 11).

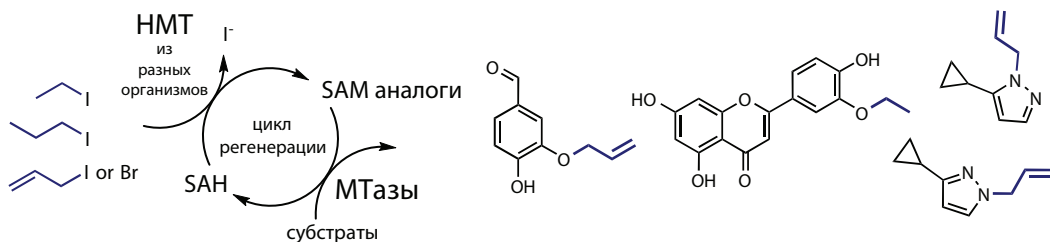


Рис. 11. Перенос алкила на субстрат с использованием каскадного цикла с участием HMT и MТазы.

Путем одновременной мутации нескольких гидрофобных и конформационно мобильных аминокислот, Stephan C. Hammer и коллеги получили панель оптимизированных HMT, обладающих высокой активностью по отношению к алкилиодидам. Полученные ферменты катализировали стереоселективное (>99% *de*) с высоким выходом *S*-алкилирование SAH иодоалканами, в том числе содержащими циклопропильные или ароматические фрагменты [81], с высоким выходом (Рис. 12).

К сожалению, время синтеза увеличивается в десятки раз при увеличении объема заместителя. Таким образом, методы генной инженерии позволяют оптимизировать ферменты каталитического каскада для получения необходимого аналога SAM, а также масштабировать реакции для применения в промышленности.

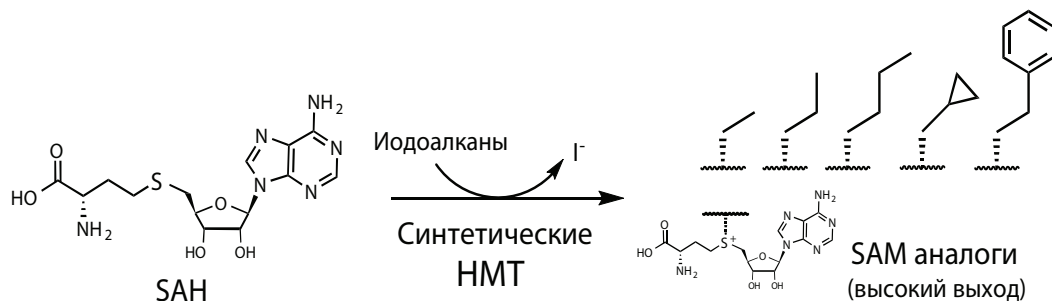


Рис. 12. Синтез SAM под действием НМТ с аминокислотными заменами.

Примером такого применения служит реакция получения ванилина. Ванилин – одна из самых распространенных пищевых добавок. Он применяется в качестве ароматизатора, а также является важным промежуточным соединением в химической и фармацевтической отраслях, используется для производства гербицидов, пеногасителей и лекарств. Природный ванилин выделяют из тропической ванильной орхидеи (*Vanilla planifolia*), но в промышленности его в основном получают химическими методами. Однако рассматриваются варианты экологически безопасного производства ванилина с использованием дрожжей или *E. coli*, содержащих мутантные варианты катехол-О-МТазы (COMT) [82, 83], которая использует SAM в качестве донора метильной группы.

Этилванилин – ароматизатор, превосходящий ванилин в 3–4 раза по яркости запаха. Он используется в пищевой и парфюмерной промышленности. В последнее время большое количество работ посвящено методам биосинтеза этилванилина. Например, МТазы COMT способна катализировать образование этилванилина из 3,4-DHBAI и *S*-аденозил-*L*-этионина (SAE), однако данная реакция протекает с образованием побочных продуктов из-за низкой региоселективности фермента. На основе рациональных методов биоинженерии Jason Micklefield и др. получили мутантную форму COMT Y200L из *Rattus norvegicus* (RnCOMT^{Y200L}) с улучшенной региоселективностью [84]. Источником этильной группы служил SAE, получаемый из *L*-этионина и АТФ под действием человеческой hMAT2A^{I322V} (Рис. 13) [85, 86]. Синтез этилванилина в каскадном процессе из 3,4-DHBAI, *L*-этионина и АТФ в присутствии RnCOMT^{Y200L} и hMAT2A^{I322V} приводил к 58% выходу продукта.

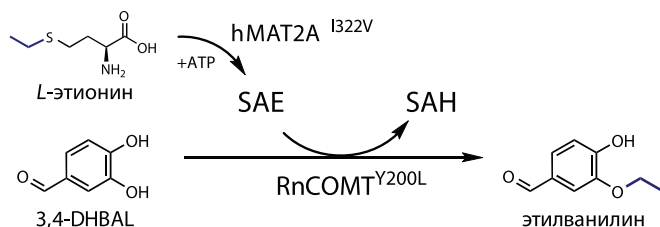


Рис. 13. Тандемная реакция МАТ-МТазы, в ходе которой образуется этилванилин.

Gui-Ying Yang и др. использовали циклический каскадный ферментативный *one pot* синтез этилванилина из этилиодида, SAH и 3,4-DHBAL в присутствии AcHMT (W27F/P8L/V265W) и RnCOMT^{Y200L} (Рис. 14). Поскольку HMT может катализировать регенерацию SAE, потребовалось всего 0,2 эквивалента SAH и 2 эквивалента этилиодида для образования продукта с выходом 79,2% [87].

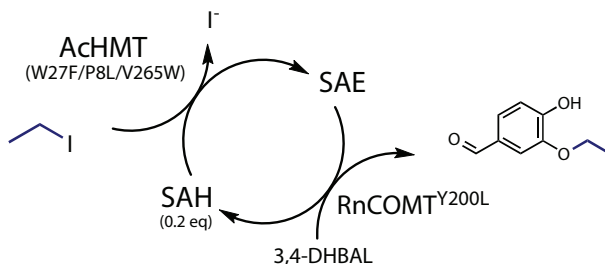


Рис. 14. Циклическая каскадная реакция с участием HMT и МТазы, в ходе которой образуется этилванилин.

Замкнутые каталитические циклы можно использовать в препаративных масштабах [88] (Рис. 15). С помощью С3-индолметилтрансферазы PsmD из *Streptomyces griseofuscus* и HMT из *Chloracidobacterium thermophilum* (CtHMT) удалось провести энантио-селективный синтез различных пирролоиндолинов [89, 90].

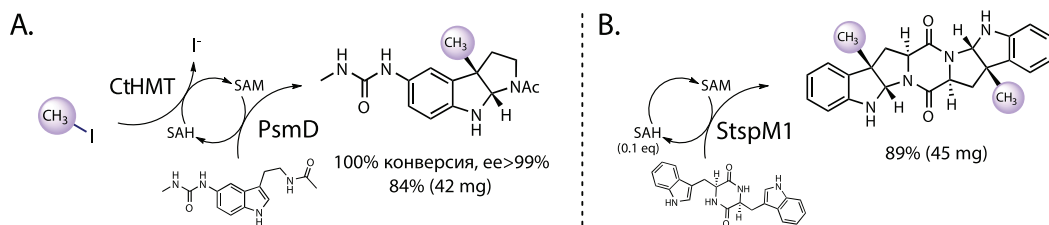


Рис. 15. Препаративное ферментативное метилирование МТазы PsmD и StspM1 с циклами регенерации SAM из SAH под действием HMT.

Также имеются примеры объединения нескольких ферментативных циклов для получения сложных молекул. Sangsong Liao и Florian P. Seebeck разработали одnoreакторный процесс, состоящий из двух ортогональных реакционных циклов для стереоселективного получения *L*- или *D*-β-Ме-α-аминокислот (Рис. 16). В этом процессе участвует три фермента (трансаминаза α-аминокислот (ТА), МТазы α-кетокислот и HMT) и 2 кофактора (пиридоксаль-5'-фосфат (PLP) и SAM) [91].

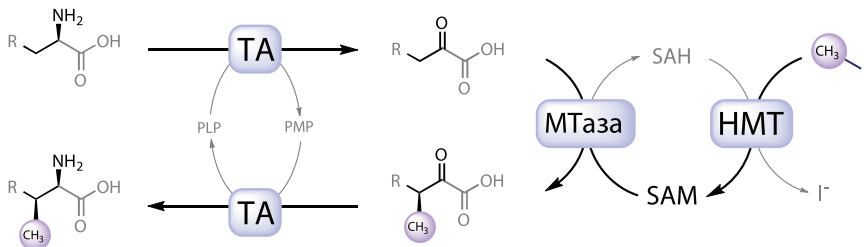


Рис. 16. Одnoreакторный процесс получения *L*- или *D*-β-Ме-α-аминокислот.

4.2 СТАБИЛЬНОСТЬ SAM И ЕГО АНАЛОГОВ

Серьезная проблема для эффективного использования описанных выше процессов состоит в низкой стабильности кофактора SAM. В физиологических условиях молекула подвергается самопроизвольному разложению. Деградация происходит по трем основным путям (Рис. 17): (1) внутримолекулярная циклизация с образованием 5'-дезокси-5'-(метилтио)аденозина (МТА) и *L*-гомосерин лактона, (2) депуринизация с образованием аденина (Ade) и *S*-рибозилметионина и (3) рацемизация сульфониевого центра с образованием неактивного (*R,S*) диастереомера [92–98].

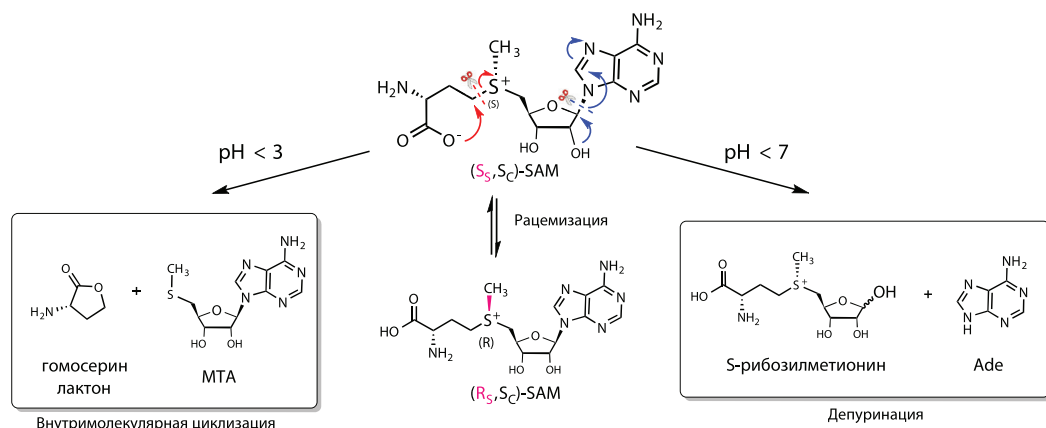


Рис. 17. Пути разложения кофактора SAM: (1) внутримолекулярная циклизация, (2) депуринизация с образованием аденина, (3) рацемизация сульфоневого центра.

Для решения этой проблемы предложены различные аналоги SAM, которые обладают большей стабильностью, но при этом распознаются МТазми [99, 100]. Например, замена карбоксильной группы на её биоизостерический аналог, фосфониевую или третраэольную группу, привела к получению SAM-P_H [101, 102] и SA^tM [103], соответственно (Рис. 18). Данные миметики не подвергаются внутримолекулярной циклизации и проявляют стабильность в 5 раз более высокую, чем у SAM. Синтез указанных аналогов SAM проводят сочетанием химических и ферментативных реакций.

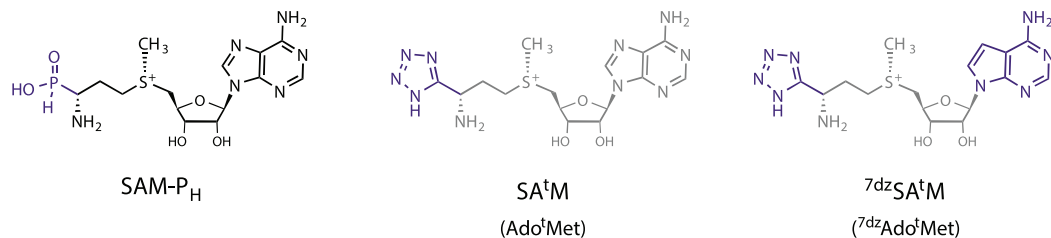


Рис. 18. Миметики SAM, обладающие повышенной стабильностью.

Биоизостерическая замена атома водорода на фтор – одна из важных стратегий медицинской химии, широко используемая для улучшения фармакологических свойств потенциальных лекарственных препаратов [90]. Один из подходов к получению таких соединений – алкилирование фторсодержащими агентами, однако традиционные синтетические методы зачастую не имеют надежной регио-, хемо- и стереоселективности.

Биоалкилирование при катализе МТазами в перспективе может решить эту проблему, однако получаемые фторсодержащие аналоги SAM обладают низкой стабильностью.

В 2021 году Florian P. Seebeck и команда показали возможность синтеза, фторированного аналога SAM (*S*-аденозил-*S*-(фторметил)-*L*-гомоцистеина, F-SAM) из SAH и фторметилюда (FCH₂I) в присутствии HMT из *Burkholderia xenovorans* (BxHMT, Рис. 19) [104]. Продукт реакции невозможно выделить из-за низкой стабильности. При этом образующийся F-SAM может выступать источником фторметильной группы в каскадных реакциях HMT и МТаз. Однако, если образование F-SAM опережает его деалкилирование МТазой, то F-SAM может накапливаться и путь его деградации (Рис. 19) становится доминирующим процессом. Поэтому только пять из восьми МТаз, проверенных авторами этой работы, смогли использовать F-SAM в качестве субстрата и перенести фторметильные группы на малые молекулы. Карбоксилатные МТазы метилируют гидроксильный кислород карбоновых кислот [105]. На основе этих ферментов при использовании F-SAM разработан метод фторметилирования карбоксильной группы. Данная модификация активирует карбоксильные группы в различных субстратах для конъюгации с тиолами, гидразином, гидроксиламином или аминами, а также может использоваться для сайт-специфической модификации белков [106].

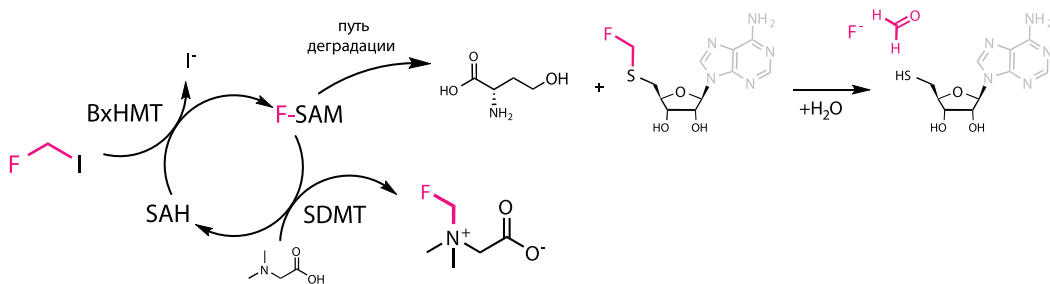


Рис. 19. Реакция фторметилирования с использованием каскада HMT-МТазы и путь деградации F-SAM.

Для преодоления проблемы невысокой стабильности F-SAM были синтезированы его аналоги. Squire J. Booker и коллектив авторов под его руководством получили *Te*-аденозил-*L*-(фторметил)гомотеллууроцистеин (FMeTeSAM, Рис. 20), аналог SAM, в котором атом серы заменён на теллур, а метильная группа на фторметильную. Этот аналог SAM достаточно стабилен и может быть выделен. FMeTeSAM может быть источником фторметильной группы для SAM-зависимых МТаз, однако замена серы на теллур приводит к снижению скорости некоторых реакций алкилирования [107]. Особенно интересно, что две МТазы, OxaC и DnrK, активны во фторметилировании двух сложных природных структур, мелеагрина и карминомицина, с образованием фтороксалина и фтордаунорубина, соответственно (Рис. 20).

Min Dong и другие предложили использовать фторметильное производное декарбоксилированного SAM (F-dcSAM, Рис. 21) в качестве стабильного аналога F-SAM [108]. F-dcSAM может быть синтезирован химически или ферментативным путём с помощью HMT из *Aspergillus fungus* (Ac/HMT), исходя из декарбоксилированного *S*-аденозил-*L*-гомоцистеина (dcSAH) и FCH₂I, в том числе в каскадных реакциях с рециркуляцией кофактора (Рис. 21). Данный аналог является аналогичным или даже лучшим в сравнении с SAM субстратом для некоторых МТаз, включая COMT из *Nicotiana tabacum* (NtCOMT) и DnrK.

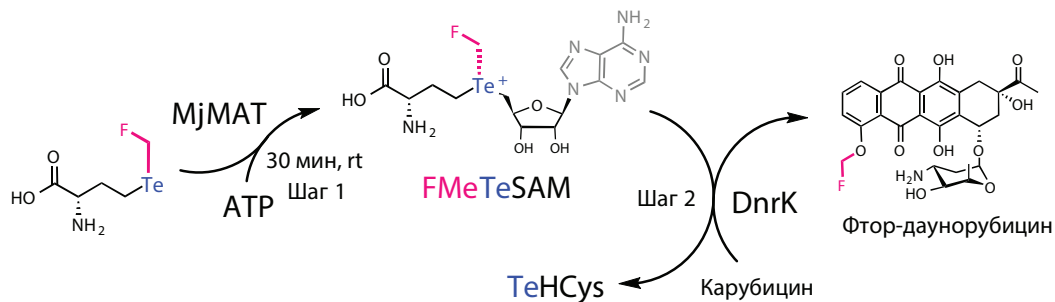


Рис. 20. Схема синтеза FMeTeSAM и его участие в реакции фторметилирования МТазой DnrK.

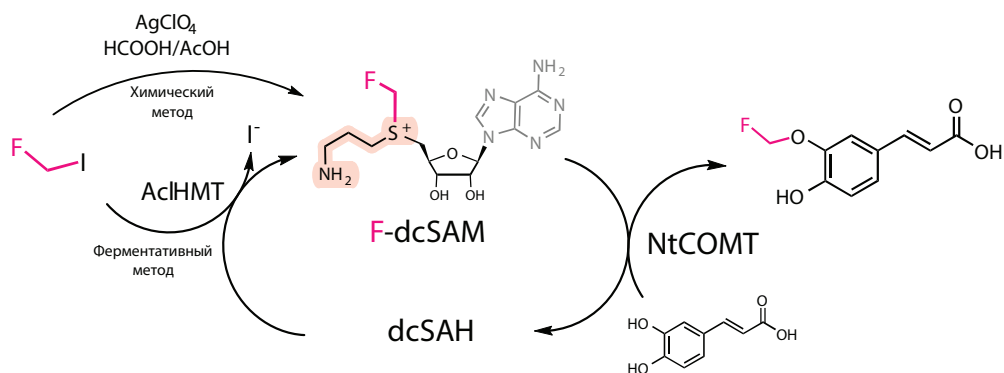


Рис. 21. Синтез F-dcSAM и его участие в каскаде HMT-МТазы.

Этой же группе учёных удалось синтезировать стабильный фторэтил *Se*-аденозил-*L*-селенометионин (F_{Et}-SeAM, Рис. 22). F_{Et}-SeAM способен переносить фторэтильный фрагмент на широкий круг субстратов, участвуя в ферментативных каскадах HMT и МТаз [109].

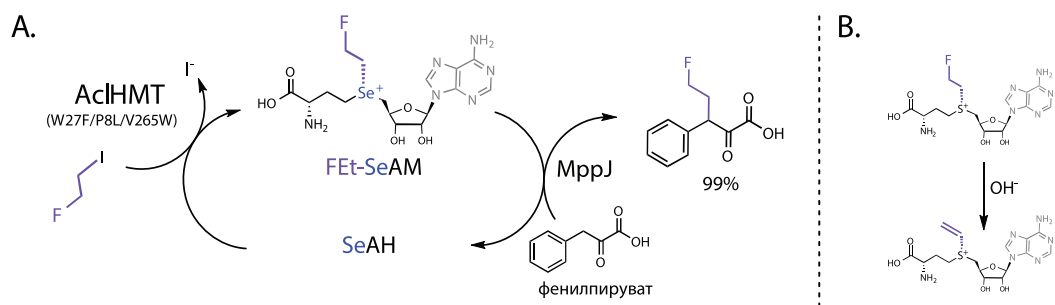


Рис. 22. А. Синтез F_{Et}-SeAM и его участие в каскаде HMT-МТазы В. Путь разложения F_{Et}-SeAM.

Другим вариантом решения проблемы стабильности аналогов SAM стала разработка тандемных ферментативных реакций. В этих реакциях кофактор синтезируется *in situ*, непосредственно в реакционной смеси, после чего сразу происходит метилирование, осуществляемое МТазой [35, 49, 50, 104, 110–114].

Например, Wenping Ding и коллеги выяснили что hMAT2A^{I322A}, способна узнавать аналоги метионина, в которых вместо метила содержится 3,3-дифтораллильная или

фторсодержащая бензильная группа [115]. В ходе тандемной реакции hMAT2A^{I322A} и *N*-МТазы MtfA в молекулу гликопептидного антибиотика ванкомицина удалось ввести различные фторсодержащие заместители с конверсией до 99 %.

Helen C. Hailes и другие продемонстрировали полную функциональность каскада MAT – МТазы – НМТ с различными субстратами (Рис. 23). Суть цикла заключается в получении SAM *in situ* из АТФ и *L*-метионина в присутствии MAT из *Escherichia coli* (EcMAT), который расходуется МТазой RnCOMT с образованием SAH. Затем происходит регенерация SAM из SAH под действием НМТ и MeOTs, что замыкает цикл регенерации кофермента. Этот процесс является удачной заменой прямого добавления дорогостоящего SAM или SAH к НМТ [116].

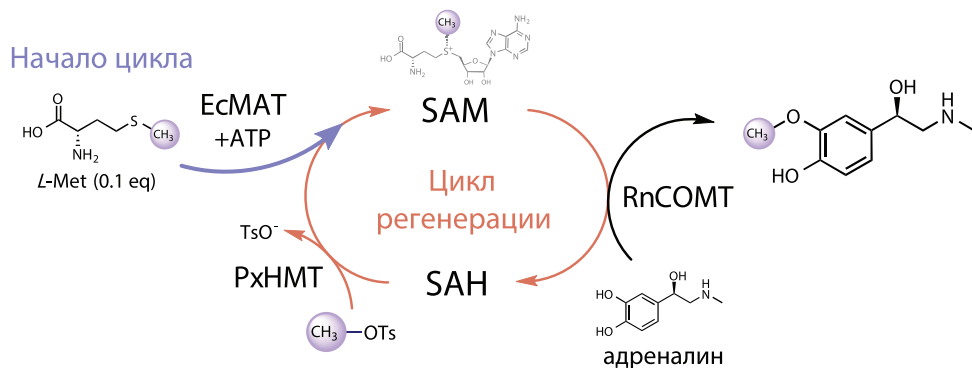


Рис. 23. Каскадный процесс с участием MAT, МТазы и НМТ с регенерацией SAM, в ходе которого происходит перенос метильной группы с MeOTs на адреналин.

Было проведено сравнение двух подходов генерации SAM и его аналогов в каскадных (тандемных) реакциях с использованием НМТ или MAT для селективного алкилирования 8-деметилновобиоковой кислоты, катализируемого 8-метилтрансферазой (NovO) [117]. Выяснилось, что система НМТ из *Aspergillus clavatus* и NovO показала высокую степень сохранения атомов в реакции, из-за возможности регенерации каталитического количества SAM. Но эффективность алкилирования была низкой из-за несогласованности в каталитической активности НМТ и NovO. Оказалось, что каталитическая концентрация SAM значительно ниже оптимальной для работы МТазы NovO. В отличие от этого, каскад, состоящий из мутантной MAT из *Methanocaldococcus jannaschii* с мутациями L147A/I351A (PC-MjMAT) и NovO, обеспечил высокие конверсии для различных типов алкилирования, поскольку аналоги SAM генерируются в стехиометрических количествах, что повышает эффективность реакции. Поэтому требуется разработка МТаз с повышенной активностью для проведения эффективных каскадных реакций. В том числе, требуется дизайн новых НМТ и MAT способных эффективно и быстро синтезировать стабильные аналоги SAM с заместителями различного объема.

4.3 СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ МТАЗ К АНАЛОГАМ SAM

Серьезной проблемой, затрудняющей широкое применение реакций биоалкилирования, является низкая эффективность некоторых МТаз, в особенности в реакциях с участием синтетических кофакторов – аналогов SAM. Так, даже замена метильной группы на этильную или пропильную в кофакторе SAM значительно замедляет скорость реакции

трансалкилирования [118, 119]. Это обусловлено стерическими и электронными эффектами более объемных заместителей.

В то же время, разработано множество подходов и методов изучения МТаз, связанных с использованием производных кофактора SAM и основанных на регуляции активности МТаз или поиске их субстратов [6, 99, 120–123]. Значительный вклад в поиск субстратов МТаз делают аналоги (Рис. 24), содержащие изотопно-меченные метильные группы или функциональные группы, которые могут быть перенесены на субстрат [124–131].

Перенос дважды-активированной функциональной группы (methyltransferase-directed transfer of activated groups, mTAG) – метод, где на субстрат под действием беспорядочных МТаз переносится активная группа, которая может быть лигирована с более сложными фрагментами (красители, биотиновые производные и другие) [99, 132].

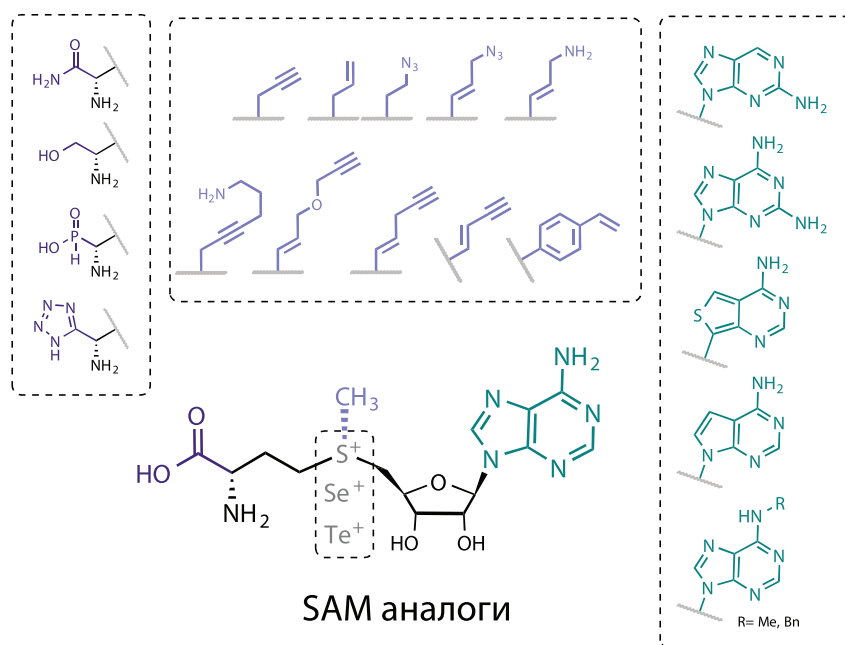


Рис. 24. Аналоги SAM с различными функциональными группами, в том числе используемые для mTAG.

В качестве таких групп могут выступать пропаргильные производные. К сожалению, данная группа может присоединять молекулу воды в физиологических условиях, что приводит к быстрой деградации аналога SAM [133]. Поэтому разрабатываются новые аналоги SAM обладающие повышенной стабильностью или методы их синтеза для каскадных процессов *in vitro*. Например, введение атома селена вместо серы значительно увеличивает стабильность пропаргильной группы к гидролизу (Рис. 31), однако увеличивается скорость разложения аналога по пути образования гомосеринлактона, примерно в 10 раз быстрее, чем SAM [133].

Аналоги SAM с крупными функциональными группами часто имеют низкую активность при использовании нативных форм МТаз, однако эту проблему часто можно решить, создав модифицированные формы ферментов [84, 115, 134–136]. По мере увеличения

размера углеродной цепи, способность МТаз переносить алкильные фрагменты резко снижается из-за ограничений, налагаемых строением каталитического центра МТаз. Для преодоления этого препятствия вносят аминокислотные замены в SAM-связывающий карман ферментов, изменяющий спектр субстратной специфичности. Например, аргинин-МТаз (PRMT1) дикого типа не переносит функциональную группу на субстрат с аналога SAM, содержащего 4-пропаргилоксибут-2-енильный радикал (Pob-SAM). Однако если в этот фермент внести двойную замену Y39F/M48G, то модифицированный фермент эффективно катализирует перенос заместителя с Pob-SAM на гистон H4 [85, 137].

С помощью направленного мутагенеза МТаз удаётся получить ферменты, способные осуществлять контролируемое региоселективное алкилирование молекул с двумя или более гетероатомами со схожей реакционной способностью. Региоселективное алкилирование пиразолов и триазолов часто необходимо для синтеза биологически активных соединений, поэтому поиски новых подходов к решению этой задачи остаются важной проблемой в органическом синтезе. Для ряда соединений эту задачу удалось решить группе Stephan C. Hammer с помощью белковой инженерии МТаз. Во-первых, путем введения точечных мутаций в активный сайт никотинамид N-МТазы (NNMT) им удалось расширить субстратную специфичность фермента [138, 139]. Во-вторых, с помощью модифицированных NNMT удалось осуществить региоселективное алкилирование атомов азота со схожей реакционной способностью в несимметричных пиразолах. И, в-третьих, используя модифицированные аналоги SAM в ферментативной реакции, удалось перенести на пиразол этильную или пропильную группу.

Uwe T. Bornscheuer и коллеги улучшили региоселективность O-МТазы ZgOMT из *Zooshikella ganhwensis* путём введения аминокислотных замен N41K/S174R, что позволило эффективно получать гесперетин дигидрохалкон – натуральный подсластитель [140]. Yang Yang и коллеги с помощью белковой инженерии расширили субстратную специфичность МТазы SgvM [119, 141]. Это позволило энантиоселективно метилировать, этилировать, аллилировать и пропаргилировать ряд α -кетокислот. Также исследователи показали высокую эффективность НМТ из *P. aeruginosa* (PaНМТ) в замкнутом каскаде регенерации SAM (до 7700 циклов).

VI. SAM – ИСТОЧНИК НЕ ТОЛЬКО МЕТИЛЬНЫХ ГРУПП

Кофактор SAM участвует не только в реакциях биоалкилирования, но также является источником других молекулярных фрагментов в синтезе биомолекул (Рис. 3). В литературе имеется несколько обзоров, которые подробно описывают различные ферментативные реакции с участием SAM [4, 16, 17]. В данном разделе будут кратко описаны функции SAM в роли донора фрагментов, отличных от алкильной группы: аминокарбоксипропильной, аминопропильной, карбоксиметильной, аминогруппы, метиленовой и аденозильной группы.

Для некоторых ферментов молекула SAM служит источником 3-амино-3-карбоксипропильной группы (АСР, Рис. 25), но эти реакции встречаются реже, чем трансметилирование. АСР-трансферазы переносят АСР на разнообразные акцепторные группы и в качестве уходящей группы при этом образуется МТА (Рис. 25). Примерами переноса АСР на атом кислорода служат биосинтез бактериального бетаинового липида [142, 143] и синтез изокардицина С, антибиотика β -лактамного типа [144, 145] (Рис. 25). Кроме того, АСР необходим для биосинтеза ряда природных молекул: дискоденина [146–148], 2-(3-амино-3-карбоксипропил)-изоксазолин-5-она [148], никотианамина [149, 150] и стафилопина [151]. Также он участвует в биосинтезе нуклеозидных антибиотиков [152].

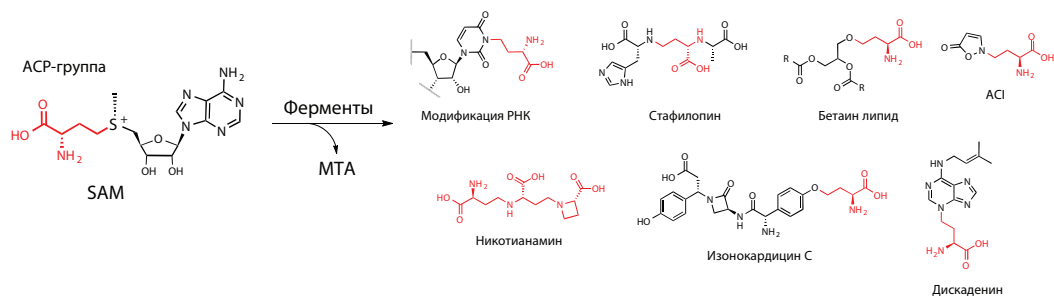


Рис. 25. Примеры молекул, содержащих АСР-группу, источником которой служит SAM.

Модификация АСР-группой встречается в тРНК и рРНК [153–157]. Эта модификация играют важную роль в стабильности и функциях тРНК (Рис. 25) [158–160]. Посттрансляционная модификация фактора элонгации трансляции 2 (EF2) заключается в переносе АСР на углеродный атом во втором положении имидазольного кольца гистидина (С-алкилирование), последующем исчерпывающем метилировании аминогруппы и образовании амида, что приводит к дифтамиду – необычной аминокислоте [161, 162].

Донором аминопропильной группы в биосинтезе полиаминов, в том числе спермидина, служит декарбоксилированный SAM (dc-SAM), возникающий из SAM [163] (Рис. 26). Перенос аминопропильной группы катализируется аминопропилтрансферазами [164–168]. Кинетические исследования спермидинсинтазы выявили пинг-понговый механизм, предполагающий образование промежуточного пропиламинированного фермента. На первом этапе декарбокси-SAM связывается с ферментом и подвергается нуклеофильной атаке, что приводит к освобождению МТА. Затем путресцин атакует промежуточный продукт, что и приводит к образованию спермидина [169].

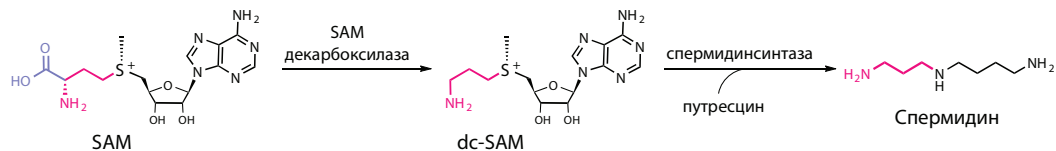


Рис. 26. Ферментативный синтез спермидина.

SAM участвует в превращении 7-кето-8-аминопеларгоновой кислоты (КАРА) в 7,8-диаминопеларгоновую кислоту (DAPA) на одном из начальных этапов биосинтеза биотина. Этот процесс катализируется пиридоксаль-5'-фосфат (PLP) зависимой BioA-синтазой (Рис. 27А), которая использует SAM в качестве донора аминогруппы в реакции трансаминирования [170–172]. Также SAM участвует в синтезе родохинона из убихинона – замещение метоксигруппы на аминогруппу под действием фермента RquA [173–175] (Рис. 27В). Несмотря на структурное сходство с МТАзами, RquA – это марганец-зависимый фермент, который катализирует перенос α -аминогруппы.

Ещё одна реакция, в которой участвует SAM, это образование замещённых циклопропанов из соответствующих олефинов (Рис. 28) [176]. Циклопропановые жирные кислоты (СФА) обнаруживаются в фосфолипидах эубактерий и некоторых эукариот и регулируют проницаемость фосфолипидного бислоя [177]. Они образуются

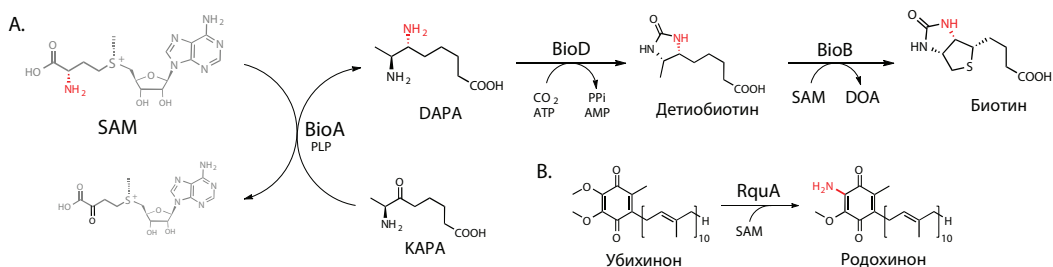


Рис. 27. А. Часть схемы биосинтеза биотина В. Схема превращения убикинона в родохинон.

в результате метилирования двойной связи ненасыщенных жирных кислот. Эта реакция катализируется CFA-синтазой, которая использует метильную группу SAM в качестве предшественника метиленовой группы циклопропана, что было подтверждено экспериментами с использованием [метил-¹⁴C]-SAM [178, 179]. Последующее изучение механизма реакции показало, что SAM отдаёт метильный катион богатой электронами π-системе (двойной связи) предшественника CFA, а затем происходит депротонирование с помощью бикарбонат аниона [180] (Рис. 28). SAM также участвует в биосинтезе терпенов, алкалоидов и других молекул, катализируя карбокатионные перегруппировки путём присоединения метильной группы к π-системе под действием соответствующих ферментов [181–191].

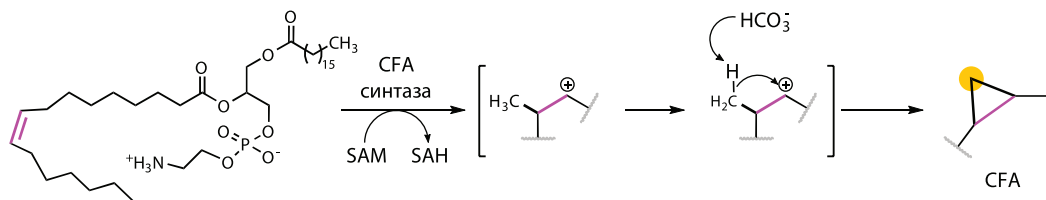


Рис. 28. Каскадный процесс синтеза циклопропан жирных кислот.

Ферменты СмоА и СмоВ используют метильную группу SAM для введения карбоксиметильной группы в урацил тРНК (Рис. 29). Такая модификация важна для обеспечения точности трансляции генетической информации и расширяет распознавание вырожденных кодонов в процессе биосинтеза белка [192–194]. СмоА катализирует карбоксилирование SAM в карбокси-SAM (Сх-SAM) [195, 196]. Далее СмоВ использует Сх-SAM в качестве донора карбоксиметильного остатка для преобразования 5-гид-

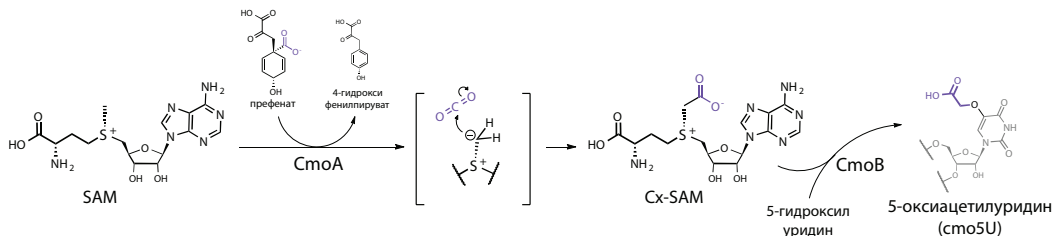


Рис. 29. Ферментативный синтез Сх-SAM из SAM, катализируемый СмоА, и участие полученного продукта в карбоксилировании 5-гидроксиуридина.

роксиуридина в 5-карбоксиметилоксиуридин (сто5U, Рис. 29). Эта модификация встречается у нескольких тРНК в участке, отвечающим за образование Wobble-пары при декодировании [195]. СтоВ также может переносить метильную группу с SAM, однако не так эффективно, как карбоксиметильную с Сх-SAM из-за особенностей строения каталитического центра [197]. Кроме того, Сх-SAM участвует в ряде других реакций в качестве кофактора карбоксиметилирования [198, 199].

Молекула SAM может также служить источником аденозильной группы. Например, в реакции, катализируемой фториназой (FIA) – единственным известным на сегодняшний день в природе ферментом, способным катализировать образование связи C–F из неорганического фторида [200, 201]. Этот фермент использует SAM и фторид ион для синтеза 5'-FDA и L-Met [202–205]. Аналогичным образом хлориназа SalL генерирует 5'-CIDA из SAM и хлорид-иона. Последующий метаболизм 5'-FDA и 5'-CIDA приводит к галогенированным природным соединениям: фторацетальдегиду, фторуксусной кислоте, фтортреонину и салиноспирамиду А (Рис. 3) [90, 206, 207].

SAM-зависимая гидроксиаденозилтрансфераза (НАТаза) синтезирует аденозин, однако функция этих ферментов ещё не до конца выяснена [93, 201]. Alessandra S. Eustáquio и коллеги показали, что НАТаза DUF62 из актиномицетной бактерии *Salinispora tropica* селективно расщепляет неактивный эпимер (R,S)-SAM, который может ингибировать МТазы [208]. Возможно, эта группа ферментов регулирует количество неактивного диастереомера SAM.

Суперсемейство радикальных SAM-зависимых ферментов – крупнейшее суперсемейство с более чем 200 000 членов, обнаруженное во всех доменах жизни. Эти ферменты используют железосерный кластер Fe₄S₄ для связывания SAM и его последующего расщепления с образованием радикала 5'-дезоксиаденозила (5'-dAdo) [209–211]. Радикал 5'-dAdo инициирует разнообразные реакции путем отщепления атома водорода от широкого спектра субстратов с образованием нового радикала, который впоследствии претерпевает дальнейшие превращения [212, 213]. Эти реакции участвуют в модификации нуклеиновых кислот и белков, биосинтезе витаминов, включая биотин, коферментов, образовании кластеров металлопротеинов, радикально-опосредованном метилировании инертных субстратов по таким атомам, как углерод или фосфор и множестве других процессов [214–225].

VII. SAM В РОЛИ НЕРАСХОДУЕМОГО КОФАКТОРА

Помимо описанных выше реакций, в которых SAM участвует в роли донора каких-либо фрагментов, SAM может выступать в роли простетической группы для ряда белков. Простетическая группа – это небелковая молекула, которая прочно связывается с белком, обычно ковалентно, и играет важную роль в его функции. Она является необходимым компонентом для проявления активности фермента. Простетические группы включают в себя металлы, органические молекулы или витамины. Например, гем в гемоглобине и цитохромах помогает связывать и транспортировать кислород или опосредует протекание окислительно-восстановительных реакций. SAM и SAH также могут служить простетической группой для многих ферментов. Эти ферменты часто ошибочно аннотируются как МТазы. Зачастую молекула SAM, связанная с ферментом, напрямую участвует в катализе за счет положительного заряда на атоме серы [16, 226–229], тогда как SAH может ингибировать активность такого фермента [226]. SAM и SAH могут служить для поддержания структурной целостности белка [230–232].

Также молекула SAM играет важную роль в некоторых рибопереклочателях, представляющих собой консервативные элементы РНК, локализованные в 5'-нетранслируемой области (5'-UTR) мРНК. Они регулируют экспрессию генов за счет изменения структуры при связывании с соответствующими лигандами [233]. SAM-зависимые рибопереклочатели являются наиболее распространёнными и характеризуются высокой аффинностью и селективностью к SAM. Они выступают в качестве регуляторных модулей в метаболических путях. В настоящее время известно семь классов рибопереклочателей, специфичных к SAM, а также один рибопереклочатель SAM/SAH и один рибопереклочатель SAH. Каждое семейство SAM-рибопереклочателей имеет уникальную третичную структуру, поддерживающую специфический карман для связывания кофактора [234–238].

VIII. БИООРТОГОНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ С АНАЛОГАМИ SAM

Биоортогональными называют реакции (обычно проводимые искусственно), которые протекают внутри живых систем, не мешая естественным биохимическим процессам [239]. В литературе описан ряд примеров биоортогональных реакций, основанных на аналогах SAM. В них участвуют модифицированные МТазы, созданные методами белковой инженерии. Такие МТазы используют аналоги SAM для переноса функциональных групп на определенные субстраты [122, 240]. В основном они применяются для изучения субстратов МТаз [85, 111, 122, 125, 241–243].

Ключевой задачей биоортогонального подхода является создание эффективно взаимодействующих пар фермент-кофактор, таких, чтобы модифицированный фермент мог узнавать только целевой аналог SAM и переносить функциональную группу с него на свой субстрат. Это нужно для формирования параллельного каскада алкилирования, который может работать в живых клетках или клеточных лизатах, одновременно с естественными процессами метилирования, необходимыми для нормального функционирования клеток.

Основными компонентами биоортогональной системы является аналог SAM, содержащий функциональную группу с меткой, и МТазы, способная эту группу переносить. Также система может включать регенерирующие аналоги SAM белки, необходимые для создания каталитического каскада. При разработке биоортогональных систем, как правило, приходится модифицировать МТазы и/или генерирующие SAM ферменты. Это нужно, во-первых, для того, чтобы объёмные заместители с меткой могли узнаваться белками, а во-вторых, для достижения селективности реакции к целевому субстрату в присутствии других клеточных МТаз. Далее мы рассмотрим некоторые примеры.

Первый подход к созданию биоортогональных систем с аналогами SAM основан на разработке биоинженерных МТаз с мутациями консервативных остатков, а также остатков в близлежащих гидрофобных полостях [134].

Например, была получена система с азидопроизводным Ab-SAM, способная работать в сложных клеточных смесях. При помощи этой системы, а также методов климатологии и масс-спектрометрии [244], были идентифицированы многочисленные ранее неизвестные мишени онкогенной N-МТазы лизина 9 в гистоне 3 (H3K9) – EuHMT1/2 [134, 245]. Метод был усовершенствован для работы в живых клетках, что позволило изучать процессы метилирования в естественных условиях [246, 247].

Вторая стратегия для создания биоортогональных систем фокусируется на модификации ферментов, генерирующих аналоги SAM. Модифицированные ферменты позво-

ляют получать в условиях *in situ* стабильные аналоги SAM, содержащие различные функциональные группы, включая фоторасщепляемые или содержащие фрагменты, используемые в клик-химии, которые затем сразу используются SAM-зависимыми ферментами [248]. Недавние достижения в этой области включают разработку бензильных аналогов SAM, синтез которых катализирует фермент PC-MjMAT [126, 249]. Такие бензильные аналоги SAM обеспечивают эффективный перенос норборненов в нуклеиновые кислоты, облегчая быстрое лигирование тетразина для ортогональной маркировки биомолекул [250–252]. В другом примере этим методом осуществили перенос фоточувствительных бензильных групп на ДНК-субстрат [249].

С помощью PC-MjMAT можно синтезировать широкий ряд производных SAM из аналогов АТФ с объёмными заместителями при атоме N⁶ остатка аденина и производных L-метионина с S-бензильным или S-пропаргильным фрагментом (Рис. 24). Использование данного фермента в каскадных реакциях открывает широкие возможности в биортогональном алкилировании *in vivo* [253].

Третья стратегия в создании биоортогональных меток заключается в одновременной модификации фермента, генерирующего аналог SAM, а также целевой МТазы. Saulius Klimašauskas и его коллеги разработали биоинженерные варианты MAT2A (с заменами I117A, Q113N/I117A или S114A/I117A), которые позволяют эффективно синтезировать аналог SAM из S-(6-азидогекс-2-инил)-L-гомоцистеина (N₃-Met) и АТФ (Рис. 30). Также они модифицировали ДНК МТазу (DNMT1^{N1580A}), чтобы она смогла переносить функциональный заместитель на субстрат. Внесение генов этих мутантных белков в геном позволило получить экспрессируемый каскад MAT2A-DNMT1 в клетках млекопитающих, который позволяет *in vivo* исследовать метилом МТазы DNMT1, в нативных или стрессовых условиях [136, 254, 255].

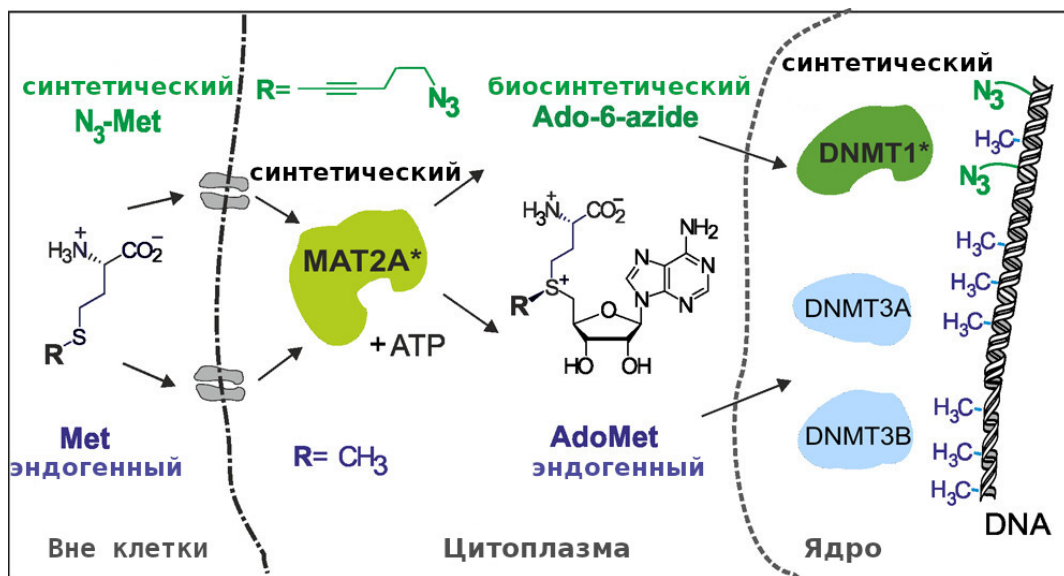


Рис. 30/ Каскад MAT2A-DNMT1, который позволяет *in vivo* исследовать метилом МТазы DNMT1. Изображение используется с разрешения автора [254].

SAM-зависимое метилирование может происходить не только под действием белков, но и с помощью рибозимов – каталитических молекул РНК [112, 128, 256–258]. Команда Claudia Höbartner разработала SAM-зависимый рибозим, катализирующий сайтспецифическое пропаргилирование определенных молекул РНК. Этот рибозим получил название «SAMURI» [259, 260]. В качестве аналога кофактора он использует модифицированный пропаргил-Se-2,6-диаминопуринрибозил-селенометионинамид (ProSeDMA, Рис. 31), в котором карбоксильная группа заменена на амидную для повышения стабильности, а аденин SAM заменен на 2,6-диаминопурин, чтобы избежать узнавания ProSeDMA другими SAM-зависимыми ферментами. Исследователи продемонстрировали, что SAMURI эффективен при введении меток в РНК *in vitro* и данный процесс происходит селективно, без включения метки в другие биомолекулы, что является ярким примером биортогональности.

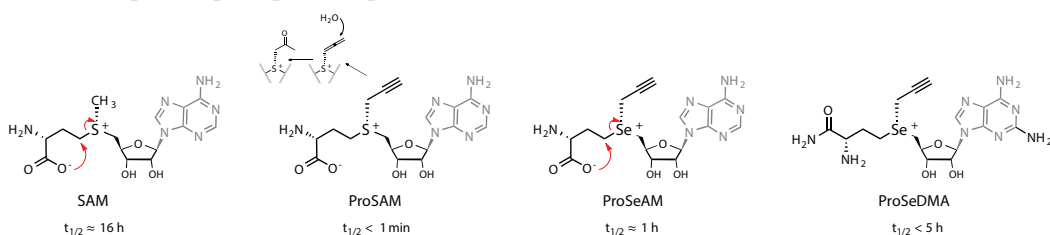


Рис. 31. Устойчивость аналогов SAM, содержащих пропаргильную группу.

IX. ПРИМЕРЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНАЛОГОВ SAM

Ферментативное метилирование, катализируемое МТазы, оказывает значительное влияние на многие биохимические и эпигенетические процессы в организме животных и человека. Дисбаланс экспрессии МТаз или мутации в каталитически-важных участках приводят к различным расстройствам, таким как рак, нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания и множество других. Например, не модифицированная молекула SAM используется в медицинской практике в качестве гепатопротектора [261].

Для управления активностью МТаз разрабатываются различные аналоги SAM, обладающие способностью селективного ингибирования биологически-значимых МТаз. В число МТаз, имеющих фармакологическую значимость в качестве биомешиней, входят альфа-N-МТазы (NTMT1) [262–264], белковые аргинин-МТазы (PRMT) [265, 266], МТазы лизина (PKMT) [267] и некоторые другие [10, 99, 103, 268–271].

Молекула SAM может быть частью репортерной системы. Так, Jonathan J. Silberg и команда разработали систему, состоящую из гена *hmt*, разделённого на два нефункциональных фрагмента [272]. Отдельно эти фрагменты не производили активную форму НМТ при транскрипции в *Escherichia coli*. Однако при их совместной транскрипции образовывался репортерный белок НМТ, который мог выполнять каталитическую функцию и генерировать метилбромид из SAM и бромид иона. Поскольку метилбромид является летучим веществом, то его можно зафиксировать газоанализатором. В результате оказывается возможным мониторинг поведения микроорганизмов в почвах, средах труднодоступных для визуализации. Когда клетки, содержащие один фрагмент *hmt*, смешивались в почве с клетками, содержащими второй фрагмент *hmt*, происходил обмен генетическим материалом. Об этом свидетельствовало 16-кратное увеличение концентрации метилгалогенидов. Таким образом стал возможен мониторинг влияния почвенных условий на перенос генов [273, 274].

Х. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разнообразие реакций, в которых SAM принимает непосредственное участие, очень велико. Помимо реакций метилирования в их число входит множество других ферментативных процессов, включая перенос отличных от метила функциональных групп SAM на различные субстраты, а также участие в других ферментативных реакциях.

Зачастую по наличию SAM-связывающего домена белковую последовательность аннотируют как предположительную МТазу. Однако, принимая во внимание разнообразие задач, выполняемых SAM, стоит иметь в виду, что не все белки, аннотированные как МТазы, действительно переносят метильную группу на какие-либо субстраты. Поэтому при решении задачи определения функции нового SAM связывающего белка проверке подлежит множество разных вариантов ферментативной активности.

Многие реакции транс-алкилирования с использованием SAM и его аналогов нашли применение в синтетической практике. С другой стороны, реакции, в которых SAM является донором других групп, применяются гораздо реже. Весьма перспективной представляется разработка этих подходов для биосинтеза широкого круга разнообразных молекул.

Использование биоортогональной системы с участием аналогов SAM представляется очень перспективным, поскольку позволяет проводить или отслеживать строго определённые реакции на фоне естественных процессов, протекающих в клетке. Все биоортогональные системы с участием аналогов SAM, описанные на данный момент в литературе, нацелены на проведение селективной реакции алкилирования. Вероятно, в будущем эти подходы могут быть расширены за счёт использования других SAM-зависимых ферментов.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Blum, M., Chang, H.-Y., Chuguransky, S., Grego, T., Kandasaamy, S., Mitchell, A., ... Finn, R. D. (2021) The InterPro protein families and domains database: 20 years on, *Nucleic Acids Research*, **49**(D1), D344–D354. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa977>.
2. Cantoni, G. L. (1975) Biological Methylation: Selected Aspects, *Annual Review of Biochemistry*, **44**(1), 435–451. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.44.070175.002251>.
3. Lu, S. C. (2000) S-adenosylmethionine, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **32**(4), 391–395. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(99\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(99)00139-9).
4. Fontecave, M., Atta, M., & Mulliez, E. (2004) S-adenosylmethionine: Nothing goes to waste, *Trends in Biochemical Sciences*, **29**(5), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2004.03.007>.
5. Zhang, C., Sultan, S. A., Rehka, T., & Chen, X. (2021) Biotechnological applications of S-adenosyl-methionine-dependent methyltransferases for natural products biosynthesis and diversification, *Bioresources and Bioprocessing*, **8**(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00425-y>.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 24-74-00052).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

6. Zhang, J., & Zheng, Y. G. (2016) SAM/SAH Analogs as Versatile Tools for SAM-Dependent Methyltransferases, *ACS Chemical Biology*, **11**(3), 583–597. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00812>.
7. Bennett, M. R., Shepherd, S. A., Cronin, V. A., & Micklefield, J. (2017) Recent advances in methyltransferase biocatalysis, *Current Opinion in Chemical Biology*, **37**, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.01.020>.
8. Thomas, D. (2004) Elucidating the pathway for arsenic methylation, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **198**(3), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.020>.
9. Saxena, D., Aouad, S., Attieh, J., & Saini, H. S. (1998) Biochemical Characterization of Chloromethane Emission from the Wood-Rotting Fungus *Phellinus pomaceus*, *Applied and Environmental Microbiology*, **64**(8), 2831–2835. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.8.2831-2835.1998>.
10. Abdelraheem, E., Thair, B., Varela, R. F., Jockmann, E., Popadić, D., Hailes, H. C., ... Hanefeld, U. (2022) Methyltransferases: Functions and Applications, *ChemBioChem*, **23**(18). <https://doi.org/10.1002/cbic.202200212>.
11. Joncquel-Chevalier Curt, M., Voicu, P.-M., Fontaine, M., Dessein, A.-F., Porchet, N., Mention-Mulliez, K., ... Vamecq, J. (2015) Creatine biosynthesis and transport in health and disease, *Biochimie*, **119**, 146–165. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.022>.
12. Loenen, W. A. M. (2006) S-adenosylmethionine: jack of all trades and master of everything?, *Biochemical Society Transactions*, **34**(2), 330–333. <https://doi.org/10.1042/BST0340330>.
13. Richter, M. (2013) Functional diversity of organic molecule enzyme cofactors, *Natural Product Reports*, **30**(10), 1324. <https://doi.org/10.1039/c3np70045c>.
14. Su, H., Jiang, M., Senevirathne, C., Aluri, S., Zhang, T., Guo, H., ... Zhao, X. (2021) Methylation of dual-specificity phosphatase 4 controls cell differentiation, *Cell Reports*, **36**(4), 109421. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109421>.
15. Seminotti, B., Roginski, A. C., Zanatta, Â., Amaral, A. U., Fernandes, T., Spannenberger, K. P., ... Wajner, M. (2021) S-adenosylmethionine induces mitochondrial dysfunction, permeability transition pore opening and redox imbalance in subcellular preparations of rat liver, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, **53**(5), 525–539. <https://doi.org/10.1007/s10863-021-09914-3>.
16. Lee, Y.-H., Ren, D., Jeon, B., & Liu, H. (2023) S-adenosylmethionine: more than just a methyl donor, *Natural Product Reports*, **40**(9), 1521–1549. <https://doi.org/10.1039/D2NP00086E>.
17. Sun, Q., Huang, M., & Wei, Y. (2021) Diversity of the reaction mechanisms of SAM-dependent enzymes, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **11**(3), 632–650. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.08.011>.
18. Roje, S. (2006) S-adenosyl-L-methionine: Beyond the universal methyl group donor, *Phytochemistry*, **67**(15), 1686–1698. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.04.019>.
19. Cantoni, G. L. (1952) the nature of the active methyl donor formed enzymatically from L-methionine and adenosinetriphosphate, *Journal of the American Chemical Society*, **74**(11), 2942–2943. <https://doi.org/10.1021/ja01131a519>.
20. Rutjes, A. W., Nüesch, E., Reichenbach, S., & Jüni, P. (2008) S-adenosylmethionine for osteoarthritis of the knee or hip, In A. W. Rutjes (Ed.), *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007321>.
21. De Silva, V., El-Metwally, A., Ernst, E., Lewith, G., & Macfarlane, G. J. (2011) Evidence for the efficacy of complementary and alternative medicines in the management of osteoarthritis: a systematic review, *Rheumatology*, **50**(5), 911–920. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq379>.
22. Rambaldi, A., & Glud, C. (2001) S-adenosyl-L-methionine for alcoholic liver diseases, In A. Rambaldi (Ed.), *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002235>.

23. Galizia, I., Oldani, L., Macritchie, K., Amari, E., Dougall, D., Jones, T. N., ... Young, A. H. (2016) S-adenosyl methionine (SAME) for depression in adults, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **2016**(10). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011286.pub2>.
24. Limveerapajak, N., Nakhawatchana, S., Visukamol, A., Siripakkaphant, C., Suttajit, S., & Srisurapanont, M. (2024) Efficacy and acceptability of S-adenosyl-L-methionine (SAME) for depressed patients: A systematic review and meta-analysis, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **132**, 110985. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2024.110985>.
25. Cantoni, G. L. (1953) S-adenosylmethionine; a new intermediate formed enzymatically from l-methionine and adenosinetriphosphate, *Journal of Biological Chemistry*, **204**(1), 403–416. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)66148-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)66148-4).
26. Grillo, M. A., & Colombatto, S. (2008) S-adenosylmethionine and its products, *Amino Acids*, **34**(2), 187–193. <https://doi.org/10.1007/s00726-007-0500-9>.
27. Cornforth, J. W., Reichard, S. A., Talalay, P., Carrell, H. L., & Glusker, J. P. (1977) Determination of the absolute configuration at the sulfonium center of S-adenosylmethionine. Correlation with the absolute configuration of the diastereomeric S-carboxymethyl-(S)-methionine salts, *Journal of the American Chemical Society*, **99**(22), 7292–7300. <https://doi.org/10.1021/ja00464a032>.
28. de La Haba, G., Jamieson, G. A., Mudd, S. H., & Richards, H. H. (1959) S-Adenosylmethionine: The Relation of Configuration at the Sulfonium Center to Enzymatic Reactivity, *Journal of the American Chemical Society*, **81**(15), 3975–3980. <https://doi.org/10.1021/ja01524a039>.
29. Zhang, J., & Klinman, J. P. (2015) High-performance liquid chromatography separation of the (S,S)- and (R,S)-forms of S-adenosyl-l-methionine, *Analytical Biochemistry*, **476**, 81–83. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.02.004>.
30. Borchardt, R. T., & Wu, Y. S. (1976) Potential Inhibitors of S-Adenosylmethionine-Dependent Methyltransferases. 5. Role of the Asymmetric Sulfonium Pole in the Enzymatic Binding of S-Adenosyl-L-methionine, *Journal of Medicinal Chemistry*, **19**(9), 1099–1103. <https://doi.org/10.1021/jm00231a004>.
31. Cannon, L. M., Butler, F. N., Wan, W., & Sunny Zhou, Z. (2002) A stereospecific colorimetric assay for (S,S)-adenosylmethionine quantification based on thiopurine methyltransferase-catalyzed thiol methylation, *Analytical Biochemistry*, **308**(2), 358–363. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00267-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00267-1).
32. Stecher, H., Tengg, M., Ueberbacher, B. J., Remler, P., Schwab, H., Griengl, H., & Gruber-Khadjawi, M. (2009) Biocatalytic Friedel–Crafts Alkylation Using Non-natural Cofactors, *Angewandte Chemie International Edition*, **48**(50), 9546–9548. <https://doi.org/10.1002/anie.200905095>.
33. Goyvaerts, V., Van Snick, S., D’Huys, L., Vitale, R., Helmer Lauer, M., Wang, S., ... Hofkens, J. (2020) Fluorescent SAM analogues for methyltransferase based DNA labeling, *Chemical Communications*, **56**(22), 3317–3320. <https://doi.org/10.1039/c9cc08938a>.
34. Dalhoff, C., Lukinavičius, G., Klimašauskas, S., & Weinhold, E. (2006) Synthesis of S-adenosyl-L-methionine analogs and their use for sequence-specific transalkylation of DNA by methyltransferases, *Nature Protocols*, **1**(4), 1879–1886. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.253>.
35. Singh, S., Zhang, J., Huber, T. D., Sunkara, M., Hurley, K., Goff, R. D., ... Thorson, J. S. (2014) Facile chemoenzymatic strategies for the synthesis and utilization of S-adenosyl-L-methionine analogues, *Angewandte Chemie – International Edition*, **53**(15), 3965–3969. <https://doi.org/10.1002/anie.201308272>.
36. Coward, J. K., D’Urso-Scott, M., & Sweet, W. D. (1972) Inhibition of catechol-O-methyltransferase by S-adenosylhomocysteine and S-adenosylhomocysteine sulfoxide, a potential

- transition-state analog, *Biochemical Pharmacology*, **21**(8), 1200–1203. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(72\)90114-1](https://doi.org/10.1016/0006-2952(72)90114-1).
37. Chen, H., Wang, Z., Cai, H., & Zhou, C. (2016) Progress in the microbial production of S-adenosyl-L-methionine, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **32**(9), 153. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2102-8>.
38. Chu, J., Qian, J., Zhuang, Y., Zhang, S., & Li, Y. (2013) Progress in the research of S-adenosyl-L-methionine production, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **97**(1), 41–49. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4536-8>.
39. Hu, Z.-C., Tao, Y.-C., Pan, J.-C., Zheng, C.-M., Wang, Y.-S., Xue, Y.-P., ... Zheng, Y.-G. (2023) Breeding of *Saccharomyces cerevisiae* with a High-Throughput Screening Strategy for Improvement of S-Adenosyl-L-Methionine Production, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04622-7>.
40. Wei-jun, Z., Lei, H., & Zhi-nan, X. (2017) Research Progress on the Synthesis of S-adenosyl-L-methionine in Microorganism, *Biotechnology Bulletin*, **33**(1), 99. <https://doi.org/10.13560/J.CNKI.BIOTECH.BULL.1985.2017.01.010>.
41. Lv, Y., Chang, J., Zhang, W., Dong, H., Chen, S., Wang, X., ... Xu, P. (2024) Improving Microbial Cell Factory Performance by Engineering SAM Availability, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **72**(8), 3846–3871. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c09561>.
42. Zhang, J.-G., Wang, X.-D., Zhang, J.-N., & Wei, D.-Z. (2008) Oxygen vectors used for S-adenosylmethionine production in recombinant *Pichia pastoris* with sorbitol as supplemental carbon source, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **105**(4), 335–340. <https://doi.org/10.1263/jbb.105.335>.
43. Wang, Y., Wang, D., Wei, G., & Wang, C. (2013) Improved co-production of S-adenosylmethionine and glutathione using citrate as an auxiliary energy substrate, *Bioresource Technology*, **131**, 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.168>.
44. Holý, A., & Rosenberg, I. (1985) An improved synthesis of S-adenosyl-L-homocysteine and related compounds, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **50**(7), 1514–1518. <https://doi.org/10.1135/cccc19851514>.
45. Serafinowski, P. (1985) A Convenient Preparation of S-Adenosylhomocysteine and its Analogues, *Synthesis*, **1985**(10), 926–928. <https://doi.org/10.1055/s-1985-31385>.
46. Dalhoff, C., Lukinavičius, G., Klimašauskas, S., & Weinhold, E. (2006) Direct transfer of extended groups from synthetic cofactors by DNA methyltransferases, *Nature Chemical Biology*, **2**(1), 31–32. <https://doi.org/10.1038/nchembio754>.
47. Park, J., Tai, J., Roessner, C. A., & Scott, A. I. (1996) Enzymatic synthesis of S-adenosyl-L-methionine on the preparative scale, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **4**(12), 2179–2185. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(96\)00228-3](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(96)00228-3).
48. Hu, X.-Q., Chu, J., Zhang, S.-L., Zhuang, Y.-P., Wang, Y.-H., Zhu, S., ... Yuan, Z.-Y. (2007) A novel feeding strategy during the production phase for enhancing the enzymatic synthesis of S-adenosyl-L-methionine by methylotrophic *Pichia pastoris*, *Enzyme and Microbial Technology*, **40**(4), 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.05.024>.
49. Lipson, J. M., Thomsen, M., Moore, B. S., Clausen, R. P., La Clair, J. J., & Burkart, M. D. (2013) A Tandem Chemoenzymatic Methylation by S-Adenosyl-L-methionine, *ChemBioChem*, **14**(8), 950–953. <https://doi.org/10.1002/cbic.201300221>.
50. Thomsen, M., Vogensen, S. B., Buchardt, J., Burkart, M. D., & Clausen, R. P. (2013) Chemoenzymatic synthesis and in situ application of S-adenosyl-l-methionine analogs, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **11**(43), 7606. <https://doi.org/10.1039/c3ob41702f>.
51. McKean, I. J. W., Sadler, J. C., Cuertos, A., Frese, A., Humphreys, L. D., Grogan, G., ... Burley, G. A. (2019) S-Adenosyl Methionine Cofactor Modifications Enhance the Biocatalytic

- Repertoire of Small Molecule C-Alkylation, *Angewandte Chemie – International Edition*, **58**(49), 17583–17588. <https://doi.org/10.1002/anie.201908681>.
52. Liao, C., & Seebeck, F. P. (2019) S-adenosylhomocysteine as a methyl transfer catalyst in biocatalytic methylation reactions, *Nature Catalysis*, **2**(8), 696–701. <https://doi.org/10.1038/s41929-019-0300-0>.
53. Schmidberger, J. W., James, A. B., Edwards, R., Naismith, J. H., & O'Hagan, D. (2010) Halomethane Biosynthesis: Structure of a SAM-Dependent Halide Methyltransferase from *Arabidopsis thaliana*, *Angewandte Chemie*, **122**(21), 3728–3730. <https://doi.org/10.1002/ange.201000119>.
54. Wuosmaa, A. M., & Hager, L. P. (1990) Methyl Chloride Transferase: a Carbocation Route for Biosynthesis of Halometabolites, *Science*, **249**(4965), 160–162. <https://doi.org/10.1126/science.2371563>.
55. Bayer, T. S., Widmaier, D. M., Temme, K., Mirsky, E. A., Santi, D. V., & Voigt, C. A. (2009) Synthesis of Methyl Halides from Biomass Using Engineered Microbes, *Journal of the American Chemical Society*, **131**(18), 6508–6515. <https://doi.org/10.1021/ja809461u>.
56. Saini, H. S., Attieh, J. M., & Hanson, A. D. (1995) Biosynthesis of halomethanes and methanethiol by higher plants via a novel methyltransferase reaction, *Plant, Cell & Environment*, **18**(9), 1027–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00613.x>.
57. Ohsawa, N., Tsujita, M., Morikawa, S., & Itoh, N. (2001) Purification and Characterization of a Monohalomethane-producing Enzyme S-adenosyl-L-methionine: Halide Ion Methyltransferase from a Marine Microalga, *Pavlova pinguis*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **65**(11), 2397–2404. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2397>.
58. Itoh, N., Toda, H., Matsuda, M., Negishi, T., Taniguchi, T., & Ohsawa, N. (2009) Involvement of S-adenosylmethionine-dependent halide/thiol methyltransferase (HTMT) in methyl halide emissions from agricultural plants: isolation and characterization of an HTMT-coding gene from *Raphanus sativus* (daikon radish), *BMC Plant Biology*, **9**(1), 116. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-116>.
59. Manley, S. L. (2002) Phyto-genesis of halomethanes: A product of selection or a metabolic accident?, *Biogeochemistry*, **60**(2), 163–180. <https://doi.org/10.1023/A:1019859922489>.
60. Tang, Q., Pavlidis, I. V., Badenhorst, C. P. S., & Bornscheuer, U. T. (2021) From Natural Methylation to Versatile Alkylations Using Halide Methyltransferases, *ChemBioChem*, **22**(16), 2584–2590. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100153>.
61. Pinheiro, P. de S. M., Franco, L. S., & Fraga, C. A. M. (2023) The Magic Methyl and Its Tricks in Drug Discovery and Development, *Pharmaceuticals*, **16**(8), 1157. <https://doi.org/10.3390/ph16081157>.
62. Andexer, J. N., & Rentmeister, A. (2020) Challenging nature's preference for methylation, *Nature Chemistry*, **12**(9), 791–792. <https://doi.org/10.1038/s41557-020-0533-1>.
63. Schönherr, H., & Cernak, T. (2013) Profound Methyl Effects in Drug Discovery and a Call for New C-H Methylation Reactions, *Angewandte Chemie International Edition*, **52**(47), 12256–12267. <https://doi.org/10.1002/anie.201303207>.
64. Mohr, M. K. F., Saleem-Batcha, R., Cornelissen, N. V., & Andexer, J. N. (2023) Enzymatic Synthesis of L-Methionine Analogues and Application in a Methyltransferase Catalysed Alkylation Cascade, *Chemistry – A European Journal*, **29**(46), e202301503. <https://doi.org/10.1002/chem.202301503>.
65. Baudry, M., Chast, F., & Schwartz, J. -C. (1973) STUDIES ON S-Adenosylhomocysteine inhibition of histamine transmethylation in brain, *Journal of Neurochemistry*, **20**(1), 13–21. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1973.tb12099.x>.

66. Alissandratos, A. (2020) In vitro multi-enzymatic cascades using recombinant lysates of *E. coli*: an emerging biocatalysis platform, *Biophysical Reviews*, **12**(1), 175–182. <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00618-3>.
67. Mordhorst, S., & Andexer, J. N. (2020) Round, round we go – strategies for enzymatic cofactor regeneration, *Natural Product Reports*, **37**(10), 1316–1333. <https://doi.org/10.1039/D0NP00004C>.
68. Al-Sadeq, D. W., & Nasrallah, G. K. (2020) The Spectrum of Mutations of Homocystinuria in the MENA Region, *Genes*, **11**(3), 330. <https://doi.org/10.3390/genes11030330>.
69. Vaccaro, J. A., & Naser, S. A. (2021) The Role of Methyl Donors of the Methionine Cycle in Gastrointestinal Infection and Inflammation, *Healthcare*, **10**(1), 61. <https://doi.org/10.3390/healthcare10010061>.
70. Mordhorst, S., Siegrist, J., Müller, M., Richter, M., & Andexer, J. N. (2017) Catalytic Alkylation Using a Cyclic S-Adenosylmethionine Regeneration System, *Angewandte Chemie International Edition*, **56**(14), 4037–4041. <https://doi.org/10.1002/anie.201611038>.
71. Popadić, D., Mhaindarkar, D., Dang Thai, M. H. N., Hailes, H. C., Mordhorst, S., & Andexer, J. N. (2021) A bicyclic: S-adenosylmethionine regeneration system applicable with different nucleosides or nucleotides as cofactor building blocks, *RSC Chemical Biology*, **2**(3), 883–891. <https://doi.org/10.1039/d1cb00033k>.
72. Deguchi, T., & Barchas, J. (1971) Inhibition of Transmethylations of Biogenic Amines by S-Adenosylhomocysteine, *Journal of Biological Chemistry*, **246**(10), 3175–3181. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)62211-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)62211-2).
73. Challand, M. R., Ziegert, T., Douglas, P., Wood, R. J., Kriek, M., Shaw, N. M., & Roach, P. L. (2009) Product inhibition in the radical S-adenosylmethionine family, *FEBS Letters*, **583**(8), 1358–1362. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.03.044>.
74. Pajula, R. L. (1983) Kinetic properties of spermine synthase from bovine brain, *Biochemical Journal*, **215**(3), 669–676. <https://doi.org/10.1042/bj2150669>.
75. Wen, X., Leisinger, F., Leopold, V., & Seebeck, F. P. (2022) Synthetic Reagents for Enzyme-Catalyzed Methylation, *Angewandte Chemie International Edition*, **61**(41), e202208746. <https://doi.org/10.1002/anie.202208746>.
76. Ospina, F., Schülke, K. H., Soler, J., Klein, A., Prosenc, B., Garcia-Borràs, M., & Hammer, S. C. (2022) Selective Biocatalytic N-Methylation of Unsaturated Heterocycles, *Angewandte Chemie*, **134**(48). <https://doi.org/10.1002/ange.202213056>.
77. Schülke, K. H., Ospina, F., Hörnschemeyer, K., Gergel, S., & Hammer, S. C. (2022) Substrate Profiling of Anion Methyltransferases for Promiscuous Synthesis of S-Adenosylmethionine Analogs from Haloalkanes, *ChemBioChem*, **23**(4), e202100632. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100632>.
78. Gao, C., Yang, G., Ding, X., Xu, J., Cheng, X., Zheng, G., & Chen, Q. (2024) Engineering of Halide Methyltransferase BxHMT through Dynamic Cross-Correlation Network Analysis, *Angewandte Chemie*, **136**(25). <https://doi.org/10.1002/ange.202401235>.
79. Tang, Q., Aslan-Üzel, A. S., Schuiten, E. D., Badendorst, C. P. S., Pavlidis, I. V., & Bornscheuer, U. T. (2022) Enzymatic Photometric Assays for the Selective Detection of Halides, (pp. 361–375). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2269-8_22.
80. Tang, Q., Grathwol, C. W., Aslan-Üzel, A. S., Wu, S., Link, A., Pavlidis, I. V., ... Bornscheuer, U. T. (2021) Directed Evolution of a Halide Methyltransferase Enables Biocatalytic Synthesis of Diverse SAM Analogs, *Angewandte Chemie International Edition*, **60**(3), 1524–1527. <https://doi.org/10.1002/anie.202013871>.
81. Schülke, K. H., Fröse, J. S., Klein, A., Garcia-Borràs, M., & Hammer, S. C. (2024) Efficient Transferase Engineering for SAM Analog Synthesis from Iodoalkanes, *ChemBioChem*. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400079>.

82. Li, K., & Frost, J. W. (1998) Synthesis of Vanillin from Glucose, *Journal of the American Chemical Society*, **120**(40), 10545–10546. <https://doi.org/10.1021/ja9817747>.
83. Hansen, E. H., Møller, B. L., Kock, G. R., Büchner, C. M., Kristensen, C., Jensen, O. R., ... Hansen, J. (2009) De Novo Biosynthesis of Vanillin in Fission Yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) and Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(9), 2765–2774. <https://doi.org/10.1128/AEM.02681-08>.
84. Law, B. J. C., Bennett, M. R., Thompson, M. L., Levy, C., Shepherd, S. A., Leys, D., & Micklefield, J. (2016) Effects of Active-Site Modification and Quaternary Structure on the Regioselectivity of Catechol-O-Methyltransferase, *Angewandte Chemie International Edition*, **55**(8), 2683–2687. <https://doi.org/10.1002/anie.201508287>.
85. Wang, R., Islam, K., Liu, Y., Zheng, W., Tang, H., Lallier, N., ... Luo, M. (2013) Profiling genome-wide chromatin methylation with engineered posttranslation apparatus within living cells, *Journal of the American Chemical Society*, **135**(3), 1048–1056. <https://doi.org/10.1021/ja309412s>.
86. Law, B. J. C., Struck, A.-W., Bennett, M. R., Wilkinson, B., & Micklefield, J. (2015) Site-specific bioalkylation of rapamycin by the RapM 16-O-methyltransferase, *Chemical Science*, **6**(5), 2885–2892. <https://doi.org/10.1039/C5SC00164A>.
87. Yang, G.-Y., Zheng, G.-W., Zeng, B.-B., Xu, J.-H., & Chen, Q. (2023) Engineering of halide methyltransferases for synthesis of SAE and its application in biosynthesis of ethyl vanillin, *Molecular Catalysis*, **550**, 113533. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2023.113533>.
88. Haase, M., David, B., Paschold, B., Classen, T., Schneider, P., Pozhydaieva, N., ... Pietruszka, J. (2024) Application of the C3-Methyltransferase StspM1 for the Synthesis of the Natural Pyrroloindole Motif, *ACS Catalysis*, **14**(1), 227–236. <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c04952>.
89. Schneider, P., Henßen, B., Paschold, B., Chapple, B. P., Schatton, M., Seebeck, F. P., ... Pietruszka, J. (2021) Biocatalytic C3-Indole Methylation—A Useful Tool for the Natural-Product-Inspired Stereoselective Synthesis of Pyrroloindoles, *Angewandte Chemie International Edition*, **60**(43), 23412–23418. <https://doi.org/10.1002/anie.202107619>.
90. Agarwal, V., Miles, Z. D., Winter, J. M., Eustáquio, A. S., El Gamal, A. A., & Moore, B. S. (2017) Enzymatic Halogenation and Dehalogenation Reactions: Pervasive and Mechanistically Diverse, *Chemical Reviews*, **117**(8), 5619–5674. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00571>.
91. Liao, C., & Seebeck, F. P. (2020) Asymmetric β -Methylation of L- and D- α -Amino Acids by a Self-Contained Enzyme Cascade, *Angewandte Chemie International Edition*, **59**(18), 7184–7187. <https://doi.org/10.1002/anie.201916025>.
92. Iwig, D. F., & Booker, S. J. (2004) Insight into the Polar Reactivity of the Onium Chalcogen Analogues of S-Adenosyl-L-methionine, . <https://doi.org/10.1021/bi048693+>.
93. Eustáquio, A. S., Härle, J., Noel, J. P., & Moore, B. S. (2008) S-Adenosyl-L-Methionine Hydrolase (Adenosine-Forming), a Conserved Bacterial and Archeal Protein Related to SAM-Dependent Halogenases, *ChemBioChem*, **9**(14), 2215–2219. <https://doi.org/10.1002/cbic.200800341>.
94. Hoffman, J. L. (1986) Chromatographic analysis of the chiral and covalent instability of S-adenosyl-L-methionine, *Biochemistry*, **25**(15), 4444–4449. <https://doi.org/10.1021/bi00363a041>.
95. Wu, S. E., Huskey, W. P., Borchardt, R. T., & Schowen, R. L. (1983) Chiral instability at sulfur of S-adenosylmethionine, *Biochemistry*, **22**(12), 2828–2832. <https://doi.org/10.1021/bi00281a009>.
96. Borchardt, R. T. (1979) Mechanism of alkaline hydrolysis of S-adenosyl-L-methionine and related sulfonium nucleosides, *Journal of the American Chemical Society*, **101**(2), 458–463. <https://doi.org/10.1021/ja00496a032>.

97. Parks, L. W., & Schlenk, F. (1958) Formation of α -amino- γ -butyrolactone from s-adenosylmethionine, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **75**(1), 291–292. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(58\)90419-3](https://doi.org/10.1016/0003-9861(58)90419-3).
98. Parks, L. W., & Schlenk, F. (1958) The stability and hydrolysis of S-adenosyl-methionine; isolation of S-ribosylmethionine, *Journal of Biological Chemistry*, **230**(1), 295–305. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)70564-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)70564-4).
99. Rudenko, A. Yu., Mariasina, S. S., Sergiev, P. V., & Polshakov, V. I. (2022) Analogs of S-Adenosyl-L-Methionine in Studies of Methyltransferases, *Molecular Biology*, **56**(2), 229–250. <https://doi.org/10.1134/S002689332202011X>.
100. Huber, T. D., Clinger, J. A., Liu, Y., Xu, W., Miller, M. D., Phillips, G. N., & Thorson, J. S. (2020) Methionine Adenosyltransferase Engineering to Enable Bioorthogonal Platforms for AdoMet-Utilizing Enzymes, *ACS Chemical Biology*, **15**(3), 695–705. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00943>.
101. Rudenko, A. Y., Mariasina, S. S., Bolikhova, A. K., Nikulin, M. V., Ozhiganov, R. M., Vasil'ev, V. G., ... Polshakov, V. I. (2024) Organophosphorus S-adenosyl-L-methionine mimetics: synthesis, stability, and substrate properties, *Frontiers in Chemistry*, **12**. <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1448747>.
102. Filonov, V. L., Khomutov, M. A., Sergeev, A. V., Khandazhinskaya, A. L., Kochetkov, S. N., Gromova, E. S., & Khomutov, A. R. (2023) Interaction of DNA Methyltransferase Dnmt3a with Phosphorus Analogs of S-Adenosylmethionine and S-Adenosylhomocysteine, *Molecular Biology*, **57**(4), 747–754. <https://doi.org/10.1134/S0026893323040064>.
103. Huber, T. D., Wang, F., Singh, S., Johnson, B. R., Zhang, J., Sunkara, M., ... Thorson, J. S. (2016) Functional AdoMet Isosteres Resistant to Classical AdoMet Degradation Pathways, *ACS Chemical Biology*, **11**(9), 2484–2491. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.6b00348>.
104. Peng, J., Liao, C., Bauer, C., & Seebeck, F. P. (2021) Fluorinated S-Adenosylmethionine as a Reagent for Enzyme-Catalyzed Fluoromethylation, *Angewandte Chemie International Edition*, **60**(52), 27178–27183. <https://doi.org/10.1002/anie.202108802>.
105. Ward, L. C., McCue, H. V., & Carnell, A. J. (2021) Carboxyl Methyltransferases: Natural Functions and Potential Applications in Industrial Biotechnology, *ChemCatChem*, **13**(1), 121–128. <https://doi.org/10.1002/cctc.202001316>.
106. Peng, J., Hughes, G. R., Müller, M. M., & Seebeck, F. P. (2024) Enzymatic Fluoromethylation as a Tool for ATP-Independent Ligation, *Angewandte Chemie International Edition*, **63**(1). <https://doi.org/10.1002/anie.202312104>.
107. Neti, S. S., Wang, B., Iwig, D. F., Onderko, E. L., & Booker, S. J. (2023) Enzymatic Fluoromethylation Enabled by the S-Adenosylmethionine Analog Te-Adenosyl-L-(fluoromethyl) homotellurocysteine, *ACS Central Science*, **9**(5), 905–914. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.2c01385>.
108. Wang, W., Zhao, H., Yu, N., Chen, F., & Dong, M. (2023) Stable S-Adenosylmethionine Analogue for Enzymatic Fluoromethylation, *ACS Catalysis*, **13**(20), 13729–13734. <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c03313>.
109. Yu, N., Zhao, H., Wang, W., & Dong, M. (2024) Enzymatic Fluoroethylation by a Fluoroethyl Selenium Analogue of S-Adenosylmethionine, *ACS Catalysis*, **14**(8), 6211–6216. <https://doi.org/10.1021/acscatal.4c01112>.
110. Vranken, C., Fin, A., Tufar, P., Hofkens, J., Burkart, M. D., & Tor, Y. (2016) Chemoenzymatic synthesis and utilization of a SAM analog with an isomorphous nucleobase, *Organic and Biomolecular Chemistry*, **14**(26), 6189–6192. <https://doi.org/10.1039/c6ob00844e>.
111. Cornelissen, N. V., Michailidou, F., Muttach, F., Rau, K., & Rentmeister, A. (2020) Nucleoside-modified AdoMet analogues for differential methyltransferase targeting, *Chemical Communications*, **56**(14), 2115–2118. <https://doi.org/10.1039/c9cc07807j>.

112. Hartstock, K., Nilges, B. S., Ovcharenko, A., Cornelissen, N. V., Püllen, N., Lawrence-Dörner, A., ... Rentmeister, A. (2018) Enzymatic or In Vivo Installation of Propargyl Groups in Combination with Click Chemistry for the Enrichment and Detection of Methyltransferase Target Sites in RNA, *Angewandte Chemie International Edition*, **57**(21), 6342–6346. <https://doi.org/10.1002/anie.201800188>.
113. Sadler, J. C., Humphreys, L. D., Snajdrova, R., & Burley, G. A. (2017) A Tandem Enzymatic sp²-C-Methylation Process: Coupling in Situ S-Adenosyl-L-Methionine Formation with Methyl Transfer, *ChemBioChem*, **18**(11), 992–995. <https://doi.org/10.1002/cbic.201700115>.
114. Michailidou, F., & Rentmeister, A. (2021) Harnessing methylation and AdoMet-utilising enzymes for selective modification in cascade reactions, *Organic and Biomolecular Chemistry*, **19**(17), 3756–3762. <https://doi.org/10.1039/d1ob00354b>.
115. Ding, W., Zhou, M., Li, H., Li, M., Qiu, Y., Yin, Y., ... Liu, W. (2023) Biocatalytic Fluoroalkylation Using Fluorinated S-Adenosyl-L-methionine Cofactors, *Organic Letters*, **25**(30), 5650–5655. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c02028>.
116. Salinger, M. T., Castellano Garrido, D., Lamming, E. D., Ward, J. M., Moody, T. S., Jeffries, J. W. E., & Hailes, H. C. (2024) An Alternative Cascade for the Selective Methylation of Catechols and Tetrahydroisoquinolines by O-Methyltransferases, *ChemCatChem*. <https://doi.org/10.1002/cctc.202400492>.
117. Hoffmann, A., Schülke, K. H., Hammer, S. C., Rentmeister, A., & Cornelissen, N. V. (2023) Comparative S-adenosyl-l-methionine analogue generation for selective biocatalytic Friedel-Crafts alkylation, *Chemical Communications*, **59**(36), 5463–5466. <https://doi.org/10.1039/D3CC01036H>.
118. Schlenk, F., & Dainko, J. L. (1975) The S-n-propyl analogue of S-adenosylmethionine, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, **385**(2), 312–323. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(75\)90359-1](https://doi.org/10.1016/0304-4165(75)90359-1).
119. Sommer-Kamann, C., Fries, A., Mordhorst, S., Andexer, J. N., & Müller, M. (2017) Asymmetric C-Alkylation by the S-Adenosylmethionine-Dependent Methyltransferase SgvM, *Angewandte Chemie International Edition*, **56**(14), 4033–4036. <https://doi.org/10.1002/anie.201609375>.
120. Cornelissen, N. V., Hoffmann, A., & Rentmeister, A. (2023) DNA-Methyltransferasen und AdoMet-Analoga als Werkzeuge für die Molekularbiologie und Biotechnologie, *Chemie Ingenieur Technik*, **95**(4), 518–530. <https://doi.org/10.1002/cite.202200174>.
121. Deen, J., Vranken, C., Leen, V., Neely, R. K., Janssen, K. P. F., & Hofkens, J. (2017) Methyltransferase-Directed Labeling of Biomolecules and its Applications, *Angewandte Chemie – International Edition*, **56**(19), 5182–5200. <https://doi.org/10.1002/anie.201608625>.
122. Jalali, E., & Thorson, J. S. (2021) Enzyme-mediated bioorthogonal technologies: catalysts, chemoselective reactions and recent methyltransferase applications, *Current Opinion in Biotechnology*, **69**, 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.02.010>.
123. Huber, T. D., Johnson, B. R., Zhang, J., & Thorson, J. S. (2016) AdoMet analog synthesis and utilization: current state of the art, *Current Opinion in Biotechnology*, **42**, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.07.005>.
124. Bollu, A., Schepers, H., Klöcker, N., Erguven, M., Lawrence-Dörner, A., & Rentmeister, A. (2024) Visible Light Activates Coumarin-Caged mRNA for Cytoplasmic Cap Methylation in Cells, *Chemistry – A European Journal*, **30**(2). <https://doi.org/10.1002/chem.202303174>.
125. Arora, S., Horne, W. S., & Islam, K. (2019) Engineering Methyllysine Writers and Readers for Allele-Specific Regulation of Protein–Protein Interactions, *Journal of the American Chemical Society*, **141**(39), 15466–15470. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b05725>.

126. Cornelissen, N. V., Mineikaitė, R., Erguven, M., Muthmann, N., Peters, A., Bartels, A., & Rentmeister, A. (2023) Post-synthetic benzylation of the mRNA 5' cap via enzymatic cascade reactions, *Chemical Science*, **14**(39), 10962–10970. <https://doi.org/10.1039/D3SC03822J>.
127. Trainor, N., Whitwell, H. J., Jiménez, B., Addison, K., Leonidou, E., DiMaggio, P. A., & Fuchter, M. J. (2024) Tracking DOT1L methyltransferase activity by stable isotope labelling using a selective synthetic co-factor, *Communications Chemistry*, **7**(1), 145. <https://doi.org/10.1038/s42004-024-01227-x>.
128. Sohtome, Y., Shimazu, T., Shinkai, Y., & Sodeoka, M. (2021) Propargylic Se-adenosyl-L-selenomethionine: A Chemical Tool for Methylome Analysis, *Accounts of Chemical Research*, **54**(20), 3818–3827. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00395>.
129. Matsuura-Suzuki, E., Shimazu, T., Takahashi, M., Kotoshiba, K., Suzuki, T., Kashiwagi, K., ... Iwasaki, S. (2022) METTL18-mediated histidine methylation of RPL3 modulates translation elongation for proteostasis maintenance, *eLife*, **11**. <https://doi.org/10.7554/eLife.72780>.
130. Hymbaugh, S. J., Pecor, L. M., Tracy, C. M., & Comstock, L. R. (2019) Protein Arginine Methyltransferase 1-Dependent Labeling and Isolation of Histone H4 through N-Mustard Analogues of S-Adenosyl-l-methionine, *ChemBioChem*, **20**(3), 379–384. <https://doi.org/10.1002/cbic.201800477>.
131. Sirasunthorn, N., Roseto, I., Pecor, L., & Comstock, L. R. (2024) Irreversible Inhibition of DNMT3A by an N-Mustard Analog of S-Adenosyl-L-methionine, *ChemBioChem*. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400477>.
132. Tomkuvienė, M., Kriukienė, E., & Klimašauskas, S. (2016) DNA Labeling Using DNA Methyltransferases, (pp. 511–535). https://doi.org/10.1007/978-3-319-43624-1_19.
133. Bothwell, I. R., Islam, K., Chen, Y., Zheng, W., Blum, G., Deng, H., & Luo, M. (2012) Se-adenosyl-L-selenomethionine cofactor analogue as a reporter of protein methylation, *Journal of the American Chemical Society*, **134**(36), 14905–14912. <https://doi.org/10.1021/ja304782r>.
134. Islam, K., Bothwell, I., Chen, Y., Sengelau, C., Wang, R., Deng, H., & Luo, M. (2012) Bioorthogonal profiling of protein methylation using azido derivative of S-adenosyl-l-methionine, *Journal of the American Chemical Society*, **134**(13), 5909–5915. <https://doi.org/10.1021/ja2118333>.
135. Islam, K., Zheng, W., Yu, H., Deng, H., & Luo, M. (2011) Expanding cofactor repertoire of protein lysine methyltransferase for substrate labeling, *ACS Chemical Biology*, **6**(7), 679–684. <https://doi.org/10.1021/cb2000567>.
136. Vilkaitis, G., Masevičius, V., Kriukienė, E., & Klimašauskas, S. (2023) Chemical Expansion of the Methyltransferase Reaction: Tools for DNA Labeling and Epigenome Analysis, *Accounts of Chemical Research*, **56**(22), 3188–3197. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00471>.
137. Wang, R., Zheng, W., Yu, H., Deng, H., & Luo, M. (2011) Labeling substrates of protein arginine methyltransferase with engineered enzymes and matched S-adenosyl-l-methionine analogues, *Journal of the American Chemical Society*, **133**(20), 7648–7651. <https://doi.org/10.1021/ja2006719>.
138. Bengel, L. L., Aberle, B., Egler-Kemmerer, A., Kienzle, S., Hauer, B., & Hammer, S. C. (2021) Engineered Enzymes Enable Selective N-Alkylation of Pyrazoles With Simple Haloalkanes, *Angewandte Chemie International Edition*, **60**(10), 5554–5560. <https://doi.org/10.1002/anie.202014239>.
139. Ospina, F., Schülke, K. H., Soler, J., Klein, A., Prosenc, B., Garcia-Borràs, M., & Hammer, S. C. (2022) Selective Biocatalytic N-Methylation of Unsaturated Heterocycles, *Angewandte Chemie International Edition*, **61**(48), e202213056. <https://doi.org/10.1002/anie.202213056>.

140. Kunzendorf, A., Zirpel, B., Milke, L., Ley, J. P., & Bornscheuer, U. T. (2023) Engineering an O-methyltransferase for the Regioselective Biosynthesis of Hesperetin Dihydrochalcone, *ChemCatChem*, **15**(22). <https://doi.org/10.1002/cctc.202300951>.
141. Ju, S., Kuzelka, K. P., Guo, R., Krohn-Hansen, B., Wu, J., Nair, S. K., & Yang, Y. (2023) A biocatalytic platform for asymmetric alkylation of α -keto acids by mining and engineering of methyltransferases, *Nature Communications*, **14**(1), 5704. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40980-w>.
142. Klug, R. M., & Benning, C. (2001) Two enzymes of diacylglyceryl- O-4'-(N,N,N-trimethyl) homoserine biosynthesis are encoded by btaA and btaB in the purple bacterium *Rhodobacter sphaeroides*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**(10), 5910–5915. <https://doi.org/10.1073/pnas.101037998>.
143. Riekhof, W. R., Andre, C., & Benning, C. (2005) Two enzymes, BtaA and BtaB, are sufficient for betaine lipid biosynthesis in bacteria, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **441**(1), 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.07.001>.
144. Reeve, A. M., Breazeale, S. D., & Townsend, C. A. (1998) Purification, Characterization, and Cloning of an S-Adenosylmethionine-dependent 3-Amino-3-carboxypropyltransferase in Nocardicin Biosynthesis, *Journal of Biological Chemistry*, **273**(46), 30695–30703. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.46.30695>.
145. Wilson, B. A., Bantia, Shanta., Salituro, G. M., Reeve, A. M., & Townsend, C. A. (1988) Cell-free biosynthesis of nocardicin A from nocardicin E and S-adenosylmethionine, *Journal of the American Chemical Society*, **110**(24), 8238–8239. <https://doi.org/10.1021/ja00232a047>.
146. Taya, Y., Tanaka, Y., & Nishimura, S. (1978) Cell-free biosynthesis of discadenine, a spore germination inhibitor of *Dictyostelium discoideum*, *FEBS Letters*, **89**(2), 326–328. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(78\)80247-6](https://doi.org/10.1016/0014-5793(78)80247-6).
147. Ihara, M., Tanaka, Y., Yanagisawa, K., Taya, Y., & Nishimura, S. (1986) Purification and some properties of discadenine synthase from *Dictyostelium discoideum*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, **881**(1), 135–140. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(86\)90106-6](https://doi.org/10.1016/0304-4165(86)90106-6).
148. Ikegami, F., Sakai, R., Ishikawa, T., Kuo, Y.-H., Lambein, F., & Murakoshi, I. (1993) Biosynthesis in vitro of 2-(3-amino-3-carboxypropyl)-isoxazolin-5-one, the neurotoxic amino acid in *Lathyrus odoratus*., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **16**(7), 732–734. <https://doi.org/10.1248/bpb.16.732>.
149. von Wirén, N., Klair, S., Bansal, S., Briat, J.-F., Khodr, H., Shioiri, T., ... Hider, R. C. (1999) Nicotianamine Chelates Both FeIII and FeII. Implications for Metal Transport in Plants1, *Plant Physiology*, **119**(3), 1107–1114. <https://doi.org/10.1104/pp.119.3.1107>.
150. Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., ... Mari, S. (2009) Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters, *Annals of Botany*, **103**(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn207>.
151. Ghssein, G., Brutesco, C., Ouerdane, L., Fojcik, C., Izaute, A., Wang, S., ... Arnoux, P. (2016) Biosynthesis of a broad-spectrum nicotianamine-like metallophore in *Staphylococcus aureus*, *Science*, **352**(6289), 1105–1109. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1018>.
152. Cui, Z., Overbay, J., Wang, X., Liu, X., Zhang, Y., Bhardwaj, M., ... Van Lanen, S. G. (2020) Pyridoxal-5'-phosphate-dependent alkyl transfer in nucleoside antibiotic biosynthesis, *Nature Chemical Biology*, **16**(8), 904–911. <https://doi.org/10.1038/s41589-020-0548-3>.
153. Lin, H. (2011) S-Adenosylmethionine-dependent alkylation reactions: When are radical reactions used?, *Bioorganic Chemistry*, **39**(5–6), 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.06.001>.

154. Noma, A., Kirino, Y., Ikeuchi, Y., & Suzuki, T. (2006) Biosynthesis of wybutosine, a hypermodified nucleoside in eukaryotic phenylalanine tRNA, *The EMBO Journal*, **25**(10), 2142–2154. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601105>.
155. Sloan, K. E., Warda, A. S., Sharma, S., Entian, K.-D., Lafontaine, D. L. J., & Bohnsack, M. T. (2017) Tuning the ribosome: The influence of rRNA modification on eukaryotic ribosome biogenesis and function, *RNA Biology*, **14**(9), 1138–1152. <https://doi.org/10.1080/15476286.2016.1259781>.
156. Ohashi, Z., Maeda, M., McCloskey, J. A., & Nishimura, S. (1974) 3-(3-Amino-3-carboxypropyl)uridine. Novel modified nucleoside isolated from *Escherichia coli* phenylalanine transfer ribonucleic acid, *Biochemistry*, **13**(12), 2620–2625. <https://doi.org/10.1021/bi00709a023>.
157. Kowalak, J. A., Bruenger, E., Crain, P. F., & McCloskey, J. A. (2000) Identities and Phylogenetic Comparisons of Posttranscriptional Modifications in 16 S Ribosomal RNA from *Haloferax volcanii*, *Journal of Biological Chemistry*, **275**(32), 24484–24489. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002153200>.
158. Takakura, M., Ishiguro, K., Akichika, S., Miyauchi, K., & Suzuki, T. (2019) Biogenesis and functions of aminocarboxypropyluridine in tRNA, *Nature Communications*, **10**(1), 5542. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13525-3>.
159. Liang, X., Liu, Q., & Fournier, M. J. (2009) Loss of rRNA modifications in the decoding center of the ribosome impairs translation and strongly delays pre-rRNA processing, *RNA*, **15**(9), 1716–1728. <https://doi.org/10.1261/rna.1724409>.
160. Meyer, B., Immer, C., Kaiser, S., Sharma, S., Yang, J., Watzinger, P., ... Wöhnert, J. (2020) Identification of the 3-amino-3-carboxypropyl (acp) transferase enzyme responsible for acp3U formation at position 47 in *Escherichia coli* tRNAs, *Nucleic Acids Research*, **48**(3), 1435–1450. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1191>.
161. Zhu, X., Dzikovski, B., Su, X., Torelli, A. T., Zhang, Y., Ealick, S. E., ... Lin, H. (2011) Mechanistic understanding of *Pyrococcus horikoshii* Dph2, a [4Fe–4S] enzyme required for diphthamide biosynthesis, *Mol. BioSyst.*, **7**(1), 74–81. <https://doi.org/10.1039/C0MB00076K>.
162. Zhang, Y., Zhu, X., Torelli, A. T., Lee, M., Dzikovski, B., Koralewski, R. M., ... Lin, H. (2010) Diphthamide biosynthesis requires an organic radical generated by an iron–sulphur enzyme, *Nature*, **465**(7300), 891–896. <https://doi.org/10.1038/nature09138>.
163. Tabor, C. W., & Tabor, H. (1984) POLYAMINES, *Annual Review of Biochemistry*, **53**(1), 749–790. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.53.070184.003533>.
164. Meister, A. (Ed.) (1972) *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (Vol. 36). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470122815>.
165. Ikeguchi, Y., Bewley, M. C., & Pegg, A. E. (2006) Aminopropyltransferases: Function, Structure and Genetics, *The Journal of Biochemistry*, **139**(1), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jb/mvj019>.
166. Pegg, A. E., & Michael, A. J. (2010) Spermine synthase, *Cellular and Molecular Life Sciences*, **67**(1), 113–121. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0165-5>.
167. Khomutov, M. A., Mikhura, I. V., Kochetkov, S. N., & Khomutov, A. R. (2019) C-Methylated Analogs of Spermine and Spermidine: Synthesis and Biological Activity, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, **45**(6), 463–487. <https://doi.org/10.1134/S1068162019060207>.
168. Bowman, W. H., Tabor, C. W., & Tabor, H. (1973) Spermidine Biosynthesis, *Journal of Biological Chemistry*, **248**(7), 2480–2486. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)44133-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)44133-1).
169. Zappia, V., Cacciapuoti, G., Pontoni, G., & Oliva, A. (1980) Mechanism of propylamine-transfer reactions. Kinetic and inhibition studies on spermidine synthase from *Escherichia coli*, *Journal of Biological Chemistry*, **255**(15), 7276–7280. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)79698-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)79698-5).

170. Mann, S., & Ploux, O. (2011) Pyridoxal-5'-phosphate-dependent enzymes involved in biotin biosynthesis: Structure, reaction mechanism and inhibition, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, **1814**(11), 1459–1466. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.12.004>.
171. Stoner, G., & Eisenberg, M. (1975) Purification and properties of 7, 8-diaminopelargonic acid aminotransferase, *Journal of Biological Chemistry*, **250**(11), 4029–4036. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)41381-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)41381-1).
172. Sirithanakorn, C., & Cronan, J. E. (2021) Biotin, a universal and essential cofactor: synthesis, ligation and regulation, *FEMS Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab003>.
173. Neupane, T., Chambers, L. R., Godfrey, A. J., Monlux, M. M., Jacobs, E. J., Whitworth, S., ... Langelaan, D. N. (2022) Microbial rhodoquinone biosynthesis proceeds via an atypical RquA-catalyzed amino transfer from S-adenosyl-L-methionine to ubiquinone, *Communications Chemistry*, **5**(1), 89. <https://doi.org/10.1038/s42004-022-00711-6>.
174. Bernert, A. C., Jacobs, E. J., Reinl, S. R., Choi, C. C. Y., Roberts Buceta, P. M., Culver, J. C., ... Shepherd, J. N. (2019) Recombinant RquA catalyzes the in vivo conversion of ubiquinone to rhodoquinone in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1864**(9), 1226–1234. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2019.05.007>.
175. Lonjers, Z. T., Dickson, E. L., Chu, T.-P. T., Kreutz, J. E., Neacsu, F. A., Anders, K. R., & Shepherd, J. N. (2012) Identification of a New Gene Required for the Biosynthesis of Rhodoquinone in *Rhodospirillum rubrum*, *Journal of Bacteriology*, **194**(5), 965–971. <https://doi.org/10.1128/JB.06319-11>.
176. Tengg, M., Stecher, H., Offner, L., Plasch, K., Anderl, F., Weber, H., ... Gruber-Khadjawi, M. (2016) Methyltransferases: Green Catalysts for Friedel–Crafts Alkylations, *ChemCatChem*, **8**(7), 1354–1360. <https://doi.org/10.1002/cctc.201501306>.
177. Cronan, J. E., & Luk, T. (2022) Advances in the Structural Biology, Mechanism, and Physiology of Cyclopropane Fatty Acid Modifications of Bacterial Membranes, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **86**(2). <https://doi.org/10.1128/mmbr.00013-22>.
178. Grogan, D. W., & Cronan, J. E. (1997) Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**(4), 429–441. <https://doi.org/10.1128/mmbr.61.4.429-441.1997>.
179. Taylor, F. R., & Cronan, J. E. (1979) Cyclopropane fatty acid synthase of *Escherichia coli*. Stabilization, purification, and interaction with phospholipid vesicles, *Biochemistry*, **18**(15), 3292–3300. <https://doi.org/10.1021/bi00582a015>.
180. Iwig, D. F., Uchida, A., Stromberg, J. A., & Booker, S. J. (2005) The Activity of *Escherichia coli* Cyclopropane Fatty Acid Synthase Depends on the Presence of Bicarbonate, *Journal of the American Chemical Society*, **127**(33), 11612–11613. <https://doi.org/10.1021/ja053899z>.
181. Kai, M., Crespo, E., Cristescu, S. M., Harren, F. J. M., Francke, W., & Piechulla, B. (2010) *Serratia odorifera*: analysis of volatile emission and biological impact of volatile compounds on *Arabidopsis thaliana*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **88**(4), 965–976. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2810-1>.
182. Schmidt, R., Jager, V. de, Zühlke, D., Wolff, C., Bernhardt, J., Cankar, K., ... Garbeva, P. (2017) Fungal volatile compounds induce production of the secondary metabolite Sodorifen in *Serratia plymuthica* PRI-2C, *Scientific Reports*, **7**(1), 862. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00893-3>.
183. von Reuss, S., Domik, D., Lemfack, M. C., Magnus, N., Kai, M., Weise, T., & Piechulla, B. (2018) Sodorifen Biosynthesis in the Rhizobacterium *Serratia plymuthica* Involves Methylation and Cyclization of MEP-Derived Farnesyl Pyrophosphate by a SAM-Dependent C-Me-

- thyltransferase, *Journal of the American Chemical Society*, **140**(37), 11855–11862. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b08510>.
184. Lemfack, M. C., Brandt, W., Krüger, K., Gurowietz, A., Djifack, J., Jung, J.-P., ... Piechulla, B. (2021) Reaction mechanism of the farnesyl pyrophosphate C-methyltransferase towards the biosynthesis of pre-sodorifen pyrophosphate by *Serratia plymuthica* 4Rx13, *Scientific Reports*, **11**(1), 3182. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82521-9>.
185. Duell, E. R., D'Agostino, P. M., Shapiro, N., Woyke, T., Fuchs, T. M., & Gulder, T. A. M. (2019) Direct pathway cloning of the sodorifen biosynthetic gene cluster and recombinant generation of its product in *E. coli*, *Microbial Cell Factories*, **18**(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1080-6>.
186. Rudolf, J. D., & Chang, C.-Y. (2020) Terpene synthases in disguise: enzymology, structure, and opportunities of non-canonical terpene synthases, *Natural Product Reports*, **37**(3), 425–463. <https://doi.org/10.1039/C9NP00051H>.
187. Li, H., Qiu, Y., Guo, C., Han, M., Zhou, Y., Feng, Y., ... Zhu, S. (2019) Pyrroloindoline cyclization in tryptophan-containing cyclodipeptides mediated by an unprecedented indole C3 methyltransferase from *Streptomyces* sp. HPH0547, *Chemical Communications*, **55**(58), 8390–8393. <https://doi.org/10.1039/C9CC03745D>.
188. Watanabe, K., Hotta, K., Praseuth, A. P., Koketsu, K., Migita, A., Boddy, C. N., ... Oikawa, H. (2006) Total biosynthesis of antitumor nonribosomal peptides in *Escherichia coli*, *Nature Chemical Biology*, **2**(8), 423–428. <https://doi.org/10.1038/nchembio803>.
189. Liu, J., Ng, T., Rui, Z., Ad, O., & Zhang, W. (2014) Unusual Acetylation-Dependent Reaction Cascade in the Biosynthesis of the Pyrroloindole Drug Physostigmine, *Angewandte Chemie International Edition*, **53**(1), 136–139. <https://doi.org/10.1002/anie.201308069>.
190. Sun, C., Tian, W., Lin, Z., & Qu, X. (2022) Biosynthesis of pyrroloindoline-containing natural products, *Natural Product Reports*, **39**(9), 1721–1765. <https://doi.org/10.1039/D2NP00030J>.
191. Zhang, Q., van der Donk, W. A., & Liu, W. (2012) Radical-Mediated Enzymatic Methylation: A Tale of Two SAMS, *Accounts of Chemical Research*, **45**(4), 555–564. <https://doi.org/10.1021/ar200202c>.
192. Edwards, A. M., Addo, M. A., & Dos Santos, P. C. (2020) Extracurricular Functions of tRNA Modifications in Microorganisms, *Genes*, **11**(8), 907. <https://doi.org/10.3390/genes11080907>.
193. Weixlbaumer, A., Murphy, F. V., Dziergowska, A., Malkiewicz, A., Vendeix, F. A. P., Agris, P. F., & Ramakrishnan, V. (2007) Mechanism for expanding the decoding capacity of transfer RNAs by modification of uridines, *Nature Structural & Molecular Biology*, **14**(6), 498–502. <https://doi.org/10.1038/nsmb1242>.
194. Agris, P. F., Vendeix, F. A. P., & Graham, W. D. (2007) tRNA's Wobble Decoding of the Genome: 40 Years of Modification, *Journal of Molecular Biology*, **366**(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.11.046>.
195. Kim, J., Xiao, H., Bonanno, J. B., Kalyanaraman, C., Brown, S., Tang, X., ... Almo, S. C. (2013) Structure-guided discovery of the metabolite carboxy-SAM that modulates tRNA function, *Nature*, **498**(7452), 123–126. <https://doi.org/10.1038/nature12180>.
196. Kim, J., Xiao, H., Koh, J., Wang, Y., Bonanno, J. B., Thomas, K., ... Almo, S. C. (2015) Determinants of the CmoB carboxymethyl transferase utilized for selective tRNA wobble modification, *Nucleic Acids Research*, **43**(9), 4602–4613. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv206>.
197. Jeong, S., & Kim, J. (2021) Structural snapshots of CmoB in various states during wobble uridine modification of tRNA, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **534**, 604–609. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.11.033>.
198. Serebryakova, M., Tsubulskaya, D., Mokina, O., Kulikovskiy, A., Nautiyal, M., Van Aerschot, A., ... Dubiley, S. (2016) A Trojan-Horse Peptide-Carboxymethyl-Cytidine Antibiotic from

- Bacillus amyloliquefaciens*, *Journal of the American Chemical Society*, **138**(48), 15690–15698. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b09853>.
199. Ting, C. P., Funk, M. A., Halaby, S. L., Zhang, Z., Gonen, T., & van der Donk, W. A. (2019) Use of a scaffold peptide in the biosynthesis of amino acid–derived natural products, *Science*, **365**(6450), 280–284. <https://doi.org/10.1126/science.aau6232>.
200. Jiang, Y., Yao, M., Niu, H., Wang, W., He, J., Qiao, B., ... Yuan, Y. (2024) Enzyme Engineering Renders Chlorinase the Activity of Fluorinase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **72**(2), 1203–1212. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c08185>.
201. Jiang, Y., Yao, M., Feng, J., Niu, H., Qiao, B., Li, B., ... Yuan, Y. (2024) Molecular Insights into Converting Hydroxide Adenosyltransferase into Halogenase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **72**(22), 12685–12695. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c02581>.
202. Ma, L., Liu, T., Lu, Y., Dong, Y., Zhao, X., & Man, S. (2022) A natural halogenated fluoride adenosine analog 5'-fluorodeoxy adenosine induced anticancer activity in vivo and in vitro, *Environmental Toxicology*, **37**(10), 2493–2502. <https://doi.org/10.1002/tox.23612>.
203. Reid, K. A., Bowden, R. D., Dasaradhi, L., Amin, M. R., & Harper, D. B. (1995) Biosynthesis of fluorinated secondary metabolites by *Streptomyces cattleya*, *Microbiology*, **141**(6), 1385–1393. <https://doi.org/10.1099/13500872-141-6-1385>.
204. Dong, C., Huang, F., Deng, H., Schaffrath, C., Spencer, J. B., O'Hagan, D., & Naismith, J. H. (2004) Crystal structure and mechanism of a bacterial fluorinating enzyme, *Nature*, **427**(6974), 561–565. <https://doi.org/10.1038/nature02280>.
205. Zhu, X., Robinson, D. A., McEwan, A. R., O'Hagan, D., & Naismith, J. H. (2007) Mechanism of Enzymatic Fluorination in *Streptomyces cattleya*, *Journal of the American Chemical Society*, **129**(47), 14597–14604. <https://doi.org/10.1021/ja0731569>.
206. Eustáquio, A. S., Pojer, F., Noel, J. P., & Moore, B. S. (2008) Discovery and characterization of a marine bacterial SAM-dependent chlorinase, *Nature Chemical Biology*, **4**(1), 69–74. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.56>.
207. Harper, D. B., & O'Hagan, D. (1994) The fluorinated natural products, *Natural Product Reports*, **11**, 123. <https://doi.org/10.1039/np9941100123>.
208. Kornfuehrer, T., Romanowski, S., de Crécy-Lagard, V., Hanson, A. D., & Eustáquio, A. S. (2020) An Enzyme Containing the Conserved Domain of Unknown Function DUF62 Acts as a Stereoselective (R_s,S_c)-S-Adenosylmethionine Hydrolase, *ChemBioChem*, **21**(24), 3495–3499. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000349>.
209. Bridwell-Rabb, J., Grell, T. A. J., & Drennan, C. L. (2018) A Rich Man, Poor Man Story of S-Adenosylmethionine and Cobalamin Revisited, *Annual Review of Biochemistry*, **87**(1), 555–584. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012500>.
210. Yang, H., McDaniel, E. C., Impano, S., Byer, A. S., Jodts, R. J., Yokoyama, K., ... Hoffman, B. M. (2019) The Elusive 5'-Deoxyadenosyl Radical: Captured and Characterized by Electron Paramagnetic Resonance and Electron Nuclear Double Resonance Spectroscopies, *Journal of the American Chemical Society*, **141**(30), 12139–12146. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b05926>.
211. Matthews, R. G., Koutmos, M., & Datta, S. (2008) Cobalamin-dependent and cobamide-dependent methyltransferases, *Current Opinion in Structural Biology*, **18**(6), 658–666. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2008.11.005>.
212. Lundahl, M. N., Sarkisian, R., Yang, H., Jodts, R. J., Pagnier, A., Smith, D. F., ... Broderick, J. B. (2022) Mechanism of Radical S-Adenosyl-L-methionine Adenylation: Radical Intermediates and the Catalytic Competence of the 5'-Deoxyadenosyl Radical, *Journal of the American Chemical Society*, **144**(11), 5087–5098. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c13706>.

213. Lundahl, M. N., Yang, H., Broderick, W. E., Hoffman, B. M., & Broderick, J. B. (2023) Pyruvate formate-lyase activating enzyme: The catalytically active 5'-deoxyadenosyl radical caught in the act of H-atom abstraction, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **120**(47). <https://doi.org/10.1073/pnas.2314696120>.
214. Dinis, P., Wiecekowski, B. M., & Roach, P. L. (2016) Metallocofactor assembly for [FeFe]-hydrogenases, *Current Opinion in Structural Biology*, **41**, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.06.004>.
215. Berteau, O., & Benjdia, A. (2017) DNA Repair by the Radical SAM Enzyme Spore Photoproduct Lyase: From Biochemistry to Structural Investigations, *Photochemistry and Photobiology*, **93**(1), 67–77. <https://doi.org/10.1111/php.12702>.
216. Mehta, A. P., Abdelwahed, S. H., Mahanta, N., Fedoseyenko, D., Philmus, B., Cooper, L. E., ... Begley, T. P. (2015) Radical S-Adenosylmethionine (SAM) Enzymes in Cofactor Biosynthesis: A Treasure Trove of Complex Organic Radical Rearrangement Reactions, *Journal of Biological Chemistry*, **290**(7), 3980–3986. <https://doi.org/10.1074/jbc.R114.623793>.
217. Wiig, J. A., Hu, Y., Lee, C. C., & Ribbe, M. W. (2012) Radical SAM-Dependent Carbon Insertion into the Nitrogenase M-Cluster, *Science*, **337**(6102), 1672–1675. <https://doi.org/10.1126/science.1224603>.
218. Ouchane, S., Steunou, A.-S., Picaud, M., & Astier, C. (2004) Aerobic and Anaerobic Mg-Protoporphyrin Monomethyl Ester Cyclases in Purple Bacteria, *Journal of Biological Chemistry*, **279**(8), 6385–6394. <https://doi.org/10.1074/jbc.M309851200>.
219. Ji, X., Mandalapu, D., Cheng, J., Ding, W., & Zhang, Q. (2018) Expanding the Chemistry of the Class C Radical SAM Methyltransferase NosN by Using an Allyl Analogue of SAM, *Angewandte Chemie International Edition*, **57**(22), 6601–6604. <https://doi.org/10.1002/anie.201712224>.
220. Ji, X., Li, Y., Xie, L., Lu, H., Ding, W., & Zhang, Q. (2016) Expanding Radical SAM Chemistry by Using Radical Addition Reactions and SAM Analogues, *Angewandte Chemie International Edition*, **55**(39), 11845–11848. <https://doi.org/10.1002/anie.201605917>.
221. Impano, S., Yang, H., Shepard, E. M., Swimley, R., Pagnier, A., Broderick, W. E., ... Broderick, J. B. (2021) S-Adenosyl-L-methionine is a Catalytically Competent Analog of S-Adenosyl-L-methionine (SAM) in the Radical SAM Enzyme HydG, *Angewandte Chemie International Edition*, **60**(9), 4666–4672. <https://doi.org/10.1002/anie.202014337>.
222. Gruber, K., Puffer, B., & Kräutler, B. (2011) Vitamin B12-derivatives—enzyme cofactors and ligands of proteins and nucleic acids, *Chemical Society Reviews*, **40**(8), 4346. <https://doi.org/10.1039/c1cs15118e>.
223. Jacoby, C., Krull, J., Andexer, J., Jehmlich, N., von Bergen, M., Bröls, T., & Boll, M. (2020) Channeling C1 Metabolism toward S-Adenosylmethionine-Dependent Conversion of Estrogens to Androgens in Estrogen-Degrading Bacteria, *mBio*, **11**(4). <https://doi.org/10.1128/mBio.01259-20>.
224. Wang, Y., Schnell, B., Baumann, S., Müller, R., & Begley, T. P. (2017) Biosynthesis of Branched Alkoxy Groups: Iterative Methyl Group Alkylation by a Cobalamin-Dependent Radical SAM Enzyme, *Journal of the American Chemical Society*, **139**(5), 1742–1745. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b10901>.
225. Ulrich, E. C., & Drennan, C. L. (2022) The Atypical Cobalamin-Dependent S-Adenosyl-L-Methionine Nonradical Methylase TsrM and Its Radical Counterparts, *Journal of the American Chemical Society*, **144**(13), 5673–5684. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c12064>.
226. Ohashi, M., Liu, F., Hai, Y., Chen, M., Tang, M., Yang, Z., ... Tang, Y. (2017) SAM-dependent enzyme-catalysed pericyclic reactions in natural product biosynthesis, *Nature*, **549**(7673), 502–506. <https://doi.org/10.1038/nature23882>.

227. Jiang, C., Qi, Z., Kang, Q., Liu, J., Jiang, M., & Bai, L. (2015) Formation of the $\Delta 18,19$ Double Bond and Bis(spiroacetal) in Salinomycin Is Atypically Catalyzed by SlnM, a Methyltransferase-like Enzyme, *Angewandte Chemie International Edition*, **54**(31), 9097–9100. <https://doi.org/10.1002/anie.201503561>.
228. Jansson, A., Koskiniemi, H., Erola, A., Wang, J., Mäntsälä, P., Schneider, G., & Niemi, J. (2005) Aclacinomycin 10-Hydroxylase Is a Novel Substrate-assisted Hydroxylase Requiring S-Adenosyl-L-methionine as Cofactor, *Journal of Biological Chemistry*, **280**(5), 3636–3644. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412095200>.
229. Yan, D., & Matsuda, Y. (2022) Biosynthetic Elucidation and Structural Revision of Breivone E: Characterization of the Key Dioxygenase for Pathway Branching from Setosusin Biosynthesis, *Angewandte Chemie International Edition*, **61**(48). <https://doi.org/10.1002/anie.202210938>.
230. Jansson, A., Koskiniemi, H., Mäntsälä, P., Niemi, J., & Schneider, G. (2004) Crystal Structure of a Ternary Complex of DnrK, a Methyltransferase in Daunorubicin Biosynthesis, with Bound Products, *Journal of Biological Chemistry*, **279**(39), 41149–41156. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407081200>.
231. Zhang, Z., Jamieson, C. S., Zhao, Y.-L., Li, D., Ohashi, M., Houk, K. N., & Tang, Y. (2019) Enzyme-Catalyzed Inverse-Electron Demand Diels–Alder Reaction in the Biosynthesis of Antifungal Ilicicolin H, *Journal of the American Chemical Society*, **141**(14), 5659–5663. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b02204>.
232. Ohashi, M., Jamieson, C. S., Cai, Y., Tan, D., Kanayama, D., Tang, M.-C., ... Tang, Y. (2020) An enzymatic Alder-ene reaction, *Nature*, **586**(7827), 64–69. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2743-5>.
233. Serganov, A., & Nudler, E. (2013) A Decade of Riboswitches, *Cell*, **152**(1–2), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.024>.
234. Zheng, L., Song, Q., Xu, X., Shen, X., Li, C., Li, H., ... Ren, A. (2023) Structure-based insights into recognition and regulation of SAM-sensing riboswitches, *Science China Life Sciences*, **66**(1), 31–50. <https://doi.org/10.1007/s11427-022-2188-7>.
235. Weickhmann, A. K., Keller, H., Wurm, J. P., Strebiter, E., Juen, M. A., Kremser, J., ... Wöhnert, J. (2019) The structure of the SAM/SAH-binding riboswitch, *Nucleic Acids Research*, **47**(5), 2654–2665. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1283>.
236. Weinberg, Z., Regulski, E. E., Hammond, M. C., Barrick, J. E., Yao, Z., Ruzzo, W. L., & Breaker, R. R. (2008) The aptamer core of SAM-IV riboswitches mimics the ligand-binding site of SAM-I riboswitches, *RNA*, **14**(5), 822–828. <https://doi.org/10.1261/rna.988608>.
237. Sun, A., Gasser, C., Li, F., Chen, H., Mair, S., Krasheninina, O., ... Ren, A. (2019) SAM-VI riboswitch structure and signature for ligand discrimination, *Nature Communications*, **10**(1), 5728. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13600-9>.
238. Xue, Y., Li, J., Chen, D., Zhao, X., Hong, L., & Liu, Y. (2023) Observation of structural switch in nascent SAM-VI riboswitch during transcription at single-nucleotide and single-molecule resolution, *Nature Communications*, **14**(1), 2320. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38042-2>.
239. Prescher, J. A., & Bertozzi, C. R. (2005) Chemistry in living systems, *Nature Chemical Biology*, **1**(1), 13–21. <https://doi.org/10.1038/nchembio0605-13>.
240. Braun, A. C., Gutmann, M., Lühmann, T., & Meinel, L. (2018) Bioorthogonal strategies for site-directed decoration of biomaterials with therapeutic proteins, *Journal of Controlled Release*, **273**, 68–85. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.01.018>.
241. Peters, W., Willnow, S., Duisken, M., Kleine, H., Macherey, T., Duncan, K. E., ... Weinhold, E. (2010) Enzymatic site-specific functionalization of protein methyltransferase substrates

- with alkynes for click labeling, *Angewandte Chemie – International Edition*, **49**(30), 5170–5173. <https://doi.org/10.1002/anie.201001240>.
242. Guo, H., Wang, R., Zheng, W., Chen, Y., Blum, G., Deng, H., & Luo, M. (2014) Profiling Substrates of Protein Arginine N-Methyltransferase 3 with S-Adenosyl-L-methionine Analogues, *ACS Chemical Biology*, **9**(2), 476–484. <https://doi.org/10.1021/cb4008259>.
243. Shimazu, T., Barjau, J., Sohtome, Y., Sodeoka, M., & Shinkai, Y. (2014) Selenium-Based S-Adenosylmethionine Analog Reveals the Mammalian Seven-Beta-Strand Methyltransferase METTL10 to Be an EF1A1 Lysine Methyltransferase, *PLoS ONE*, **9**(8), e105394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105394>.
244. Blum, G., Islam, K., & Luo, M. (2013) Bioorthogonal Profiling of Protein Methylation (BPPM) Using an Azido Analog of S-Adenosyl-L-Methionine, *Current Protocols in Chemical Biology*, **5**(1), 45–66. <https://doi.org/10.1002/9780470559277.ch120240>.
245. Islam, K., Chen, Y., Wu, H., Bothwell, I. R., Blum, G. J., Zeng, H., ... Luo, M. (2013) Defining efficient enzyme–cofactor pairs for bioorthogonal profiling of protein methylation, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110**(42), 16778–16783. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216365110>.
246. Weiss, N., Seneviranthe, C., Jiang, M., Wang, K., & Luo, M. (2021) Profiling and Validation of Live-Cell Protein Methylation with Engineered Enzymes and Methionine Analogues, *Current Protocols*, **1**(8). <https://doi.org/10.1002/cpz1.213>.
247. Doll, F., Steimbach, R. R., & Zumbusch, A. (2019) Direct Imaging of Protein-Specific Methylation in Mammalian Cells, *ChemBioChem*, **20**(10), 1315–1325. <https://doi.org/10.1002/cbic.201800787>.
248. Ovcharenko, A., Weissenboeck, F. P., & Rentmeister, A. (2021) Tag-Free Internal RNA Labeling and Photocaging Based on mRNA Methyltransferases, *Angewandte Chemie – International Edition*, **60**(8), 4098–4103. <https://doi.org/10.1002/anie.202013936>.
249. Michailidou, F., Klöcker, N., Cornelissen, N. V., Singh, R. K., Peters, A., Ovcharenko, A., ... Rentmeister, A. (2021) Engineered SAM Synthetases for Enzymatic Generation of AdoMet Analogues with Photocaging Groups and Reversible DNA Modification in Cascade Reactions, *Angewandte Chemie – International Edition*, **60**(1), 480–485. <https://doi.org/10.1002/anie.202012623>.
250. Muttach, F., Mäsing, F., Studer, A., & Rentmeister, A. (2017) New AdoMet Analogues as Tools for Enzymatic Transfer of Photo-Cross-Linkers and Capturing RNA–Protein Interactions, *Chemistry – A European Journal*, **23**(25), 5988–5993. <https://doi.org/10.1002/chem.201605663>.
251. Muttach, F., Muthmann, N., Reichert, D., Anhäuser, L., & Rentmeister, A. (2017) A benzylic linker promotes methyltransferase catalyzed norbornene transfer for rapid bioorthogonal tetrazine ligation, *Chemical Science*, **8**(12), 7947–7953. <https://doi.org/10.1039/c7sc03631k>.
252. Muttach, F., Muthmann, N., & Rentmeister, A. (2017) Chemo-enzymatic modification of eukaryotic mRNA, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **15**(2), 278–284. <https://doi.org/10.1039/C6OB02144A>.
253. Erguven, M., Cornelissen, N. V., Peters, A., Karaca, E., & Rentmeister, A. (2022) Enzymatic Generation of Double-Modified AdoMet Analogues and Their Application in Cascade Reactions with Different Methyltransferases, *ChemBioChem*, **23**(24), e202200511. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200511>.
254. Gasiulė, L., Stankevičius, V., Kvederavičiūtė, K., Rimšelis, J. M., Klimkevičius, V., Petraitytė, G., ... Klimašauskas, S. (2024) Engineered Methionine Adenosyltransferase Cascades for Metabolic Labeling of Individual DNA Methylomes in Live Cells, *Journal of the American Chemical Society*, **146**(27), 18722–18729. <https://doi.org/10.1021/jacs.4c06529>.

255. Lukinavičius, G., Lapinaite, A., Urbanavičiute, G., Gerasimaite, R., & Klimašauskas, S. (2012) Engineering the DNA cytosine-5 methyltransferase reaction for sequence-specific labeling of DNA, *Nucleic Acids Research*, **40**(22), 11594–11602. <https://doi.org/10.1093/nar/gks914>.
256. Tomkuvienė, M., Clouet-d'Orval, B., Černiauskas, I., Weinhold, E., & Klimašauskas, S. (2012) Programmable sequence-specific click-labeling of RNA using archaeal box C/D RNP methyltransferases, *Nucleic Acids Research*, **40**(14), 6765–6773. <https://doi.org/10.1093/nar/gks381>.
257. Hartstock, K., Kueck, N. A., Spacek, P., Ovcharenko, A., Hüwel, S., Cornelissen, N. V., ... Rentmeister, A. (2023) MePMe-seq: antibody-free simultaneous m6A and m5C mapping in mRNA by metabolic propargyl labeling and sequencing, *Nature Communications*, **14**(1), 7154. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42832-z>.
258. Jiang, H., Gao, Y., Zhang, L., Chen, D., Gan, J., & Murchie, A. I. H. (2021) The identification and characterization of a selected SAM-dependent methyltransferase ribozyme that is present in natural sequences, *Nature Catalysis*, **4**(10), 872–881. <https://doi.org/10.1038/s41929-021-00685-z>.
259. Okuda, T., Lenz, A.-K., Seitz, F., Vogel, J., & Höbartner, C. (2023) A SAM analogue-utilizing ribozyme for site-specific RNA alkylation in living cells, *Nature Chemistry*, **15**(11), 1523–1531. <https://doi.org/10.1038/s41557-023-01320-z>.
260. Cornelissen, N. V., & Rentmeister, A. (2023) Ribozyme for stabilized SAM analogue modifies RNA in cells, *Nature Chemistry*, **15**(11), 1486–1487. <https://doi.org/10.1038/s41557-023-01354-3>.
261. Mora, S. I., García-Román, J., Gómez-Ñañez, I., & García-Román, R. (2018) Chronic liver diseases and the potential use of S-adenosyl-L-methionine as a hepatoprotector, *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, **30**(8), 893–900. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000001141>.
262. Huang, R. (2019) Chemical Biology of Protein N-Terminal Methyltransferases, *ChemBioChem*, **20**(8), 976–984. <https://doi.org/10.1002/cbic.201800615>.
263. Iyamu, I. D., Vilseck, J. Z., Yadav, R., Noinaj, N., & Huang, R. (2022) Exploring Unconventional SAM Analogues To Build Cell-Potent Bisubstrate Inhibitors for Nicotinamide N-Methyltransferase, *Angewandte Chemie International Edition*, **61**(16). <https://doi.org/10.1002/anie.202114813>.
264. Policarpo, R. L., Decultot, L., May, E., Kuzmič, P., Carlson, S., Huang, D., ... Shair, M. D. (2019) High-Affinity Alkynyl Bisubstrate Inhibitors of Nicotinamide N-Methyltransferase (NNMT), *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**(21), 9837–9873. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01238>.
265. Xiao, W., Chen, X., Liu, L., Shu, Y., Zhang, M., & Zhong, Y. (2019) Role of protein arginine methyltransferase 5 in human cancers, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **114**, 108790. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108790>.
266. Mahmoodi, N., Harijan, R. K., & Schramm, V. L. (2020) Transition-State Analogues of Phenylethanolamine N-Methyltransferase, *Journal of the American Chemical Society*, **142**(33), 14222–14233. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c05446>.
267. Talukdar, A., Mukherjee, A., & Bhattacharya, D. (2022) Fascinating Transformation of SAM-Competitive Protein Methyltransferase Inhibitors from Nucleoside Analogues to Non-Nucleoside Analogues, *Journal of Medicinal Chemistry*, **65**(3), 1662–1684. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01208>.
268. Li, J., Sun, C., Cai, W., Li, J., Rosen, B. P., & Chen, J. (2021) Insights into S-adenosyl-L-methionine (SAM)-dependent methyltransferase related diseases and genetic polymorphisms,

- Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, **788**, 108396. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108396>.
269. Bobiļeva, O., Bobrovs, R., Kaņepe, I., Patetko, L., Kalniņš, G., Šišovs, M., ... Jaudzems, K. (2021) Potent SARS-CoV-2 mRNA Cap Methyltransferase Inhibitors by Bioisosteric Replacement of Methionine in SAM Cosubstrate, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **12**(7), 1102–1107. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00140>.
270. Taylor, A. P., Swewczyk, M., Kennedy, S., Trush, V. V., Wu, H., Zeng, H., ... Owen, D. R. (2019) Selective, Small-Molecule Co-Factor Binding Site Inhibition of a Su(var)3–9, Enhancer of Zeste, Trithorax Domain Containing Lysine Methyltransferase, *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**(17), 7669–7683. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00112>.
271. Quiroz, R. V., Reutershan, M. H., Schneider, S. E., Sloman, D., Lacey, B. M., Swalm, B. M., ... Machacek, M. R. (2021) The Discovery of Two Novel Classes of 5,5-Bicyclic Nucleoside-Derived PRMT5 Inhibitors for the Treatment of Cancer, *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**(7), 3911–3939. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c02083>.
272. Fulk, E. M., Huh, D., Atkinson, J. T., Lie, M., Masiello, C. A., & Silberg, J. J. (2020) A Split Methyl Halide Transferase AND Gate That Reports by Synthesizing an Indicator Gas, *ACS Synthetic Biology*, **9**(11), 3104–3113. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.0c00355>.
273. Selinidis, M. A., Corliss, A. C., Chappell, J., & Silberg, J. J. (2024) Ribozyme-Mediated Gene-Fragment Complementation for Nondestructive Reporting of DNA Transfer within Soil, *ACS Synthetic Biology*. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.4c00264>.
274. Fulk, E. M., Gao, X., Lu, L. C., Redeker, K. R., Masiello, C. A., & Silberg, J. J. (2022) Non-destructive Chemical Sensing within Bulk Soil Using 1000 Biosensors Per Gram of Matrix, *ACS Synthetic Biology*, **11**(7), 2372–2383. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.2c00083>.