

УДК 577.164.11

А.Ф. МАКАРЧИКОВ, докт. биол. наук, доцент,
заведующий кафедрой химии¹,
ведущий научный сотрудник
РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений» НАН Беларуси,
научный консультант ЧНИУП «Алникор»,
г. Гродно, Республика Беларусь

И.К. КОЛОС, канд. биол. наук,
доцент кафедры химии¹
¹Гродненский государственный аграрный университет,
г. Гродно, Республика Беларусь

Статья поступила 31 марта 2023 г.

ТРАНСПОРТ ВИТАМИНА В₁ У ЖИВОТНЫХ, РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ

Витамин В₁ в форме кофермента тиаминдифосфата (ТДФ) необходим для жизнедеятельности практически всех видов организмов. Растения, дрожжи и многие бактерии синтезируют витамин В₁ de novo, тогда как клетки животных лишены такой способности и поэтому постоянно должны поглощать тиамин с помощью специализированных транспортных систем. Белки-переносчики экспрессируются не только клетками ауксотрофных по тиамину организмов, но тех, которые способны осуществлять его биосинтез. В ходе биологической эволюции произошла значительная дивергенция механизмов транспорта витамин В₁. Прокариоты осуществляют его активный транспорт с помощью АТФ-зависимых транспортеров АВС-типа или используя энергонезависимый механизм облегченной диффузии через транспортер РnuТ. В клетки дрожжей и животных тиамин переносится по механизму вторичного активного транспорта белками-транспортерами из семейств NCS1 и SLC19 соответственно. Синтезируемый в цитозоле клеток эукариот ТДФ импортируется в матрикс митохондрий транспортерами, принадлежащими семейству MCF.

Ключевые слова: тиамин, транспортеры тиамина, транспортеры тиаминдифосфата, бактерии, дрожжи, растения, животные.

МАКАРЧИКОВ Alexander F., Doctor of Biol. Sc., DSci, Associate Professor,
Head of Department of Chemistry¹,
Leading Researcher of Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds
of National Academy of Sciences of Belarus,
Scientific Consultant of Scientific Enterprise "Alnikor",
Grodno, Republic of Belarus

KOLAS Iryna K., PhD in Biol. Sc.
Associate Professor of Department of Chemistry¹
¹Grodno State Agrarian University, Republic of Belarus

TRANSPORT OF VITAMIN B₁ IN ANIMALS, PLANTS AND MICROORGANISMS

Vitamin B₁, in the form of coenzyme thiamine diphosphate (ThDP), is indispensable for the life of almost all types of organisms. Plants, yeast, and many bacteria synthesize vitamin B₁ de novo, while animal cells lack this ability and therefore must absorb thiamine constantly through specialized transport systems. Carrier proteins are expressed not only by cells of thiamine auxotrophic organisms, but also by organisms capable of its biosynthesis. During the biological evolution, there has been a significant divergence

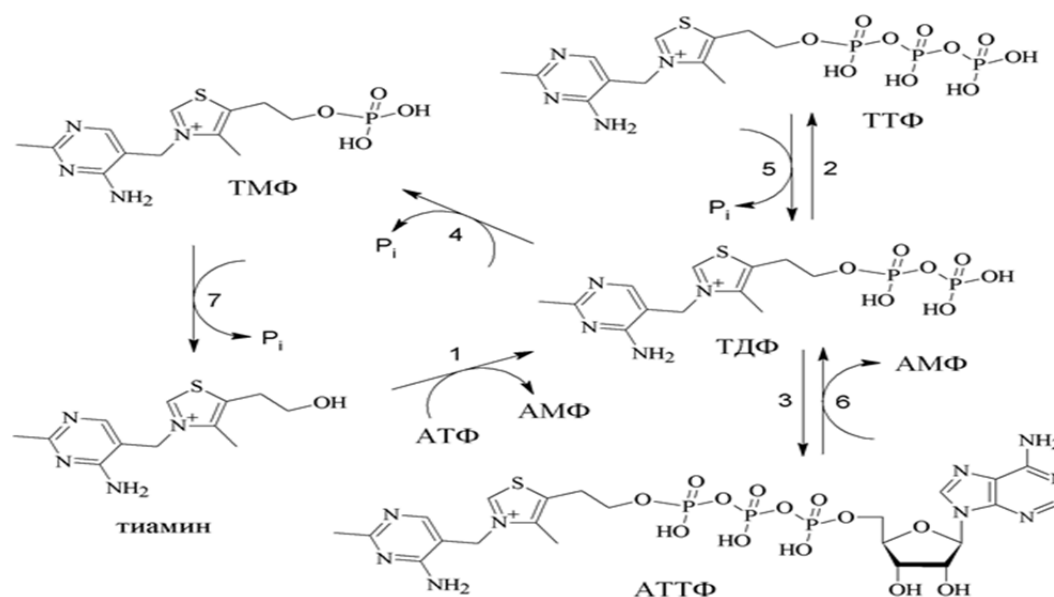
in the mechanisms of vitamin B₁ transport. Prokaryotes carry out its uptake through ATP-dependent ABC-type transporters or using energy uncoupled facilitated diffusion mechanism through the PnuT transporter. Yeast and animal cells uptake thiamine by the mechanism of secondary active transport by proteins from the NCS1 and SLC19 families, respectively. ThDP synthesized in the cytosol of eukaryotic cells is imported into the mitochondrial matrix through transporters belonging to the MCF family.

Keywords: thiamine, thiamine transporters, thiamine diphosphate transporters, bacteria, archaea, yeasts, plants

Витамин В₁ (тиамин) необходим для внутриклеточного метаболизма практически всем биологическим видам. В клетках живых организмов, как правило, присутствует несколько витамеров В₁ – нефосфорилированный тиамин, ТМФ, ТДФ и ТТФ; кроме того, в объектах живой природы обнаружен тиаминный нуклеотид – АТТФ [1]. Химическая структура витамеров В₁ и их ферментативные превращения в «типичной» животной клетке (гепатоцит крысы) представлены на рисунке 1.

В настоящее время биохимическая роль установлена только для ТДФ, выполняющего у большинства организмов каталитические функции в реакциях центральных путей обмена углеводов, аминокислот и энергии. Единственный известный вид, для жизнедея-

тельности которого ТДФ, вероятно, не нужен, – это спирохета *Borrelia burgdorferi* (возбудитель болезни Лайма) [2]. Геномами животных и растений кодируются 5 ТДФ-зависимых ферментов: пируватдегидрогеназа (КФ 1.2.4.1), 3-метил-2-оксобутаноатдегидрогеназа (КФ 1.2.4.4), оксоглутаратдегидрогеназа (КФ 1.2.4.2) – структурные компоненты митохондриальных дегидрогеназных комплексов, цитозольная транскетолаза (ТК, КФ 2.2.1.1) и 2-гидроксиацил-КоА-лиаза (КФ 4.1.2.63) пероксисом; у многих видов микроорганизмов есть также специализированные биосинтетические или катаболические пути, включающие ТДФ-зависимые реакции [3].



1 – ТПК (КФ 2.7.6.2), 2 – ТДФ-киназа (не идентифицирована), 3 – ТДФ-аденилилтрансфераза (не идентифицирована), 4 – мембранно-связанная ТДФаза (не идентифицирована) или нуклеозиддифосфатаза (КФ 3.6.1.6), 5 – растворимая ТТФаза (КФ 3.6.1.28), 6 – мембранно-связанная АТТФ-гидролаза (не идентифицирована), 7 – низкомолекулярная кислая фосфатаза/фосфотирозин-протеинфосфатаза (КФ 3.1.3.2/КФ 3.1.3.48)

Рисунок 1. – Структура и схема метаболических превращений витамеров В₁ в печени крысы

Значение ТМФ, ТТФ и АТТФ для жизнедеятельности клетки неизвестно; предполагается, что данные производные тиамин могут участвовать в процессах, связанных с краткосрочной адаптацией и регуляцией метаболизма [1].

Клетки животных не способны к биосинтезу тиамин и поэтому должны постоянно получать его извне; для этих целей они располагают специальными системами транспорта. [4]. Большинство бактерий, растения и грибы синтезируют витамин В₁ *de novo*, тем не менее, при наличии экзогенного тиамин и продуктов его деградации микроорганизмы могут осуществлять их реутилизацию, активно поглощая с помощью транспортных систем [5].

Цель настоящего обзора состояла в обобщении имеющихся в научной литературе данных о механизмах транспорта тиамин В₁ у представителей разных эволюционных линий живых организмов.

Тиаминовые транспортеры клеток животных.

Поглощение тиамин клетками животных осуществляется по механизму Н⁺-антипорта благодаря работе специфических белков-переносчиков. Функциональные свойства системы транспорта тиамин охарактеризованы в эритроцитах [6], мембранных везикулах из тканей млекопитающих – печени [7], тонкого кишечника [8, 9], коркового слоя почек [10], а также в клеточных линиях [11, 12]. При физиологических концентрациях тиамин процесс его абсорбции мембранными везикулами подчиняется кинетике Михаэлиса-Ментен, при этом наблюдается высокое кажущееся сродство к субстрату. Так, кинетические параметры движимого градиентом Н⁺ (рН 5,5_{in}/рН 7,5_{out}) транспорта в препаратах везикул щеточной каемки из тонкой кишки человека составляли: $K_m = 0,61$ мкМ, $V_{max} = 0,1$ пмоль/с/мг белка [9], а в везикулах базолатеральной мембраны – соответственно 0,76 мкМ и 0,14 пмоль/с/мг белка [8]. Для транспорта тиамин в мембранных везикулах из тонкого кишечника крысы получены значения K_m 0,8-6,2 мкМ, при этом максимальная скорость находилась в пределах 0,09-2,48 пмоль/с/мг белка в зависимости от наличия градиента рН (рН 5,0_{in}/рН 7,5_{out}) [13]. Столь же высокой аффинностью к тиамину

отличается транспортная система щеточной каемки почек, для которой в отсутствие рН-градиента величины K_m и V_{max} равны 0,29 мкМ и 1,17 пмоль/с/мг белка, а при его наличии (рН 6,0_{in}/рН 7,5_{out}) – 3,68 мкМ и 14,11 пмоль/с/мг белка [14]. Кинетика абсорбции тиамин везикулами базолатеральной мембраны печени крысы также описывается гиперболической кривой с параметрами $K_m = 28,6$ мкМ и $V_{max} = 7,3$ пмоль/с/мг белка (рН 5,9_{in}/рН 7,9_{out}) [7]. В экспериментах на крысах *in vivo* было продемонстрировано, что тиамин и ТМФ проникают в различные отделы головного мозга через гематоэнцефалический барьер посредством транспортного процесса, механизм которого включает насыщаемый компонент с $K_m = 1,95-2,75$ мкМ и $V_{max} = 6-9$ нмоль/ч/г ткани – для тиамин, $K_m = 2,6-4,8$ мкМ и $V_{max} = 27-39$ пмоль/мин/г ткани – для ТМФ [15, 16]. В исследовании J. Greenwood с соавт. [17] кинетические параметры процесса транспорта составили $K_m = 0,24-0,61$ мкМ, $V_{max} = 16,5-18,6$ пмоль/мин/г ткани. Несколько меньшие величины K_m (75-130 нМ) были получены при исследовании транспорта тиамин в отделы мозга крыс методом перфузии *in situ* [18]. После переноса в клетку молекула тиамин быстро фосфорилируется до ТДФ ТПК (КФ 2.7.6.2), что, вероятно, служит движущей силой всего процесса.

У млекопитающих на молекулярном уровне идентифицированы два специфических переносчика тиамин – ThTr1 и ThTr2, которые являются продуктами генов SLC19A2 и SLC19A3 из семейства фолатного транспортера [19, 20]. кДНК hThTr1 и hThTr2 человека кодируют белки с $M_r \sim 55$ кДа, построенные соответственно из 497 и 496 аа и предположительно содержащие 12 трансмембранных доменов [19, 20] (рисунок 2). Тиаминовые транспортеры заметно различаются аффинностью к субстрату: величина кажущейся K_m ThTr1 для тиамин находится в микромолярной области, составляя $\sim 2,5$ мкМ [19], ThTr2 присуще более высокое сродство к субстрату – $K_m = 27$ нМ [21]. Оба гена функционально активны в различных органах и тканях. У человека самый высокий уровень мРНК hThTr1 наблюдался в скелетных мышцах [19]. В клетках эпителия тонкого кишечника hThTr1 и hThTr2 экспрессируются практически в одинаковой степени. При

этом имеет место равномерное распределение hThTr1 между базальной и латеральной мембранами энтероцитов, тогда как hThTr2 по большей части локализован в апикальной мембране, обеспечивая абсорбцию тиамина, содержащегося в перевариваемой пище [21]. Совместную экспрессию ThTr1 и ThTr2 можно выявить кинетически при исследовании транспорта тиамина в широком концентрационном интервале: в таком случае обнаруживаются два насыщаемых компонента с K_m в наномолярной (соответствует ThTr2) и микромолярной (соответствует ThTr1) области [11, 12]. Недавние исследования, проведенные на линии 266-6 ацинарных клеток поджелудочной железы мыши, показали, что экспрессия ThTr1 и поглощение тиамина может регулироваться посттранскрипционно под действием микро РНК [22].

Мутации SLC19A2 служат причиной редкого аутосомального рецессивного заболевания – тиаминчувствительной мегалобластической анемии (TRMA, синдром Роджерса) с сахарным диабетом и глухотой [23]. С мутациями гена SLC19A3 связан синдром дисфункции метаболизма тиамина 2 (THMD2), известный также под названием биотинчувствительная болезнь базальных ганглиев (BBGD), который сопровождается подострой энцефалопатией, атаксией, припадками и дистонией [24]. Кроме того, дефектами ThTr2 обусловлены летальная энцефалопатия раннего детского возраста [25] и верникеподобная энцефалопатия [26].

Белки-переносчики ThTr1 и ThTr2 не проявляют абсолютной специфичности; помимо тиамина они способны транспортировать метформин и другие катионные соединения (1-метил-4-фенилпиридиний, фамотидин,

цердулатиниб, федратиниб, триметоприм) [27]. Недавно было установлено, что субстратом тиаминных транспортеров человека может служить пиридоксин (витамин B₆) [28]. В экспериментах с экспрессией hThTr1 и hThTr2 в клетках MDCKII кинетика процесса при pH 5,5 описывалась гиперболической кривой с $K_m = 37,8$ мкМ и 18,5 мкМ соответственно для SLC19A2 и SLC19A3. Интересно, что пиридоксин-транспортная функция не обнаружена у SLC19A3 мыши и крысы [29]. Результаты исследований с использованием сайт-направленного мутагена свидетельствуют о том, что межвидовые различия обусловлены спецификой аминокислотных остатков в позициях Gln86, Gly87, Ile91, Thr93, Trp94, Ser168 и Asn173, большинство из которых консервативны у ортологов, обладающих способностью транспортировать пиридоксин (SLC19A3 обезьяны, собаки, свиньи, кролика, морской свинки и лягушки) [30]. Полагают, что наряду с тиамином абсорбция пиридоксина из просвета кишечника является физиологической функцией SLC19A3.

Помимо транспорта нефосфорилированного тиамина существует альтернативный путь переноса витамин B₁ через плазматическую мембрану клеток млекопитающих в форме ТМФ.

В экспериментах с культурами клеток лейкемии мыши было продемонстрировано, что транспорт ТМФ опосредован переносчиком восстановленного фолата RFC1 – продуктом гена SLC19A1 [31].

Экспрессия RFC1, работающего по механизму анионного обмена, осуществляется во всех исследованных органах и тканях человека и мыши [4].

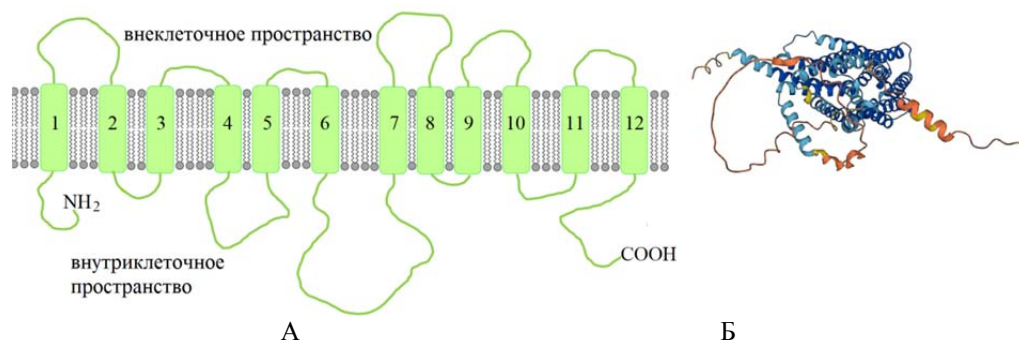


Рисунок 2. – Топологическая модель тиаминового транспортера ThTr1 в плазматической мембране (А) и компьютерная модель hThTr1; (AlphaFold Protein Structure Database, <https://alphafold.ebi.ac.uk>) (Б)

Имеются данные, указывающие на то, что в абсорбции тиамин в тонком кишечнике вместе с ThTr1 и ThTr2 могут участвовать транспортеры из семейства OCT (Organic Cation Transporter) [32]. В опытах на мышах и культуре клеток НЕК293 L. Chen с соавт. [33] показали, что тиамин является эндогенным субстратом транспортера OCT1 (SLC22A1) в печени, возможная физиологическая роль которого связана с абсорбцией избытка витамина, поступающего в организм. Этот транспортер обладает низким кажущимся сродством к тиамину, но высокой пропускной способностью. Кинетика транспорта тиамин клетками НЕК293, экспрессирующими hOCT1 человека, описывается параметрами $K_M = 0,78$ мМ и $V_{\max} = 2,77$ нмоль/мин/мг белка. Активностью mOCT1, вероятно, обусловлен низкоаффинный компонент тиаминного транспорта, выявляемый в препаратах базолатеральной мембраны печени крысы [7]. По данным К. Kato с соавт. [34] OCT1 вовлечен в общий плазменный клиренс и секрецию тиамин с молоком. Не исключено, что транспортеры OCT1 и OCT2 могут также участвовать в секреции тиамин в почечных канальцах.

Транспорт тиамин у прокариот.

Системы транспорта предшественников и производных тиамин имеются у всех бактерий как ауксотрофных, так и осуществляющих его биосинтез *de novo* [35]. У протеобактерий, например *E. coli* и *Salmonella typhimurium*, активная транслокация тиамин и тиаминфосфатов в клетку через внутреннюю мембрану осуществляется АТФ-связывающим кассетным транспортером (ABC-транспортер) [36, 37]. Этот трехкомпонентный комплекс, кодируемый *thiBPQ*-опероном у *Salmonella typhimurium* (*sfuABC* у *E. coli*), состоит из растворимого периплазматического тиаминсвязывающего белка ThiV (TbrA) с M_r 34,205 кДа [38], двух трансмембранных доменов, формирующих канал, и двух цитозольных доменов АТФазы (рисунок 3А). Перенос тиамин в клетки *E. coli*, опосредованный ABC-транспортером, подчиняется кинетике Михаэлиса-Ментен со значениями K_M и V_{\max} соответственно 15 нМ и 46 пмоль/мин/мг белка [36]. Тиаминный ABC-транспортер входит в набор молекул, обеспечивающих возможность существования ми-

нимальной синтетической клетки JCVI-syn3A [39].

У спирохеты *Treponema denticola*, ауксотрофной по ТДФ, экзогенный кофермент импортируется с помощью ABC-транспортера, кодируемого опероном *tbpABCTd*, экспрессию которого регулирует рибосвитч [40].

Многие прокариоты поглощают тиамин и другие витамины благодаря наличию ECF (Energy Coupling Factor)-транспортеров, образующих отдельный подкласс импортеров ABC-типа. В отличие от канонических ABC-транспортных систем в составе ECF-транспортеров отсутствует экстрацитоплазматический субстрат-связывающий белок; эта роль в них отведена трансмембранному белку (S-компонент), который распознает и захватывает переносимую молекулу [41], являясь во многих случаях «сменным» подвижным модулем (ECF-транспортеры II группы; рисунок 3Б). На сегодня структурно охарактеризованы (с разрешением 1,9-2,0 Å) S-компоненты тиаминных транспортеров YkoEDC из *Bacillus subtilis* и ThiT (YuaJ) из *Lactococcus lactis*, относящихся соответственно к ECF-транспортным системам группы I (с постоянным S-компонентом) и II (со сменным S-компонентом) [42, 43]. ThiT и YkoE представляют собой мономерные белки с $M_r = 20,3-22,7$ кДа, обладающие высоким сродством к тиамину ($K_d = 0,12-0,5$ нМ и 4,5 нМ соответственно) [42, 44]. В одном из исследований Т. Eitinger с соавт. [45] методами биоинформатики выявили ортологи транспортера YkoCDE в 3 из 42 геномов архей и в 39 из 342 бактериальных геномов; ортологи ThiT были обнаружены у 33 видов бактерий.

Многие виды бактерий способны осуществлять импорт тиамин по энергонезависимому механизму облегченной диффузии через транспортер PnuT [46]. В экспериментах с рекомбинантным белком PnuT_{sw} бактерии *Shewanella woodyi*, реконструированном в липосомах, М. Jaehme с соавт. [47] показали, что направление транспорта определяется только электрохимическим градиентом тиамин. В системе *in vitro* белок PnuT_{sw} может связывать и транспортировать тиамин, пири-тиамин и окситиамин, но не распознает ТМФ и ТДФ. Транспорт тиамин характеризуется значениями K_M и V_{\max} соответственно 14 мкМ и 5,0 пмоль/пмоль белка; величина K_d оцени-

ваецца в 12 мкМ [47]. Аналагічны механізм транспарта задейсаван у бактэрыі *Helicobacter pylori*, пры гэтым напярэненнасць працэса паддэржываецца благарадзя эфектыўнаму фосфарылраванію тяміна ТПК, ген каторой, *Thi80*, транскрыбіруецца совмесна с геном *pnuT*. Велічыны K_m і V_{max} белка PnuT *Helicobacter pylori* саставляюць 28 мкМ і 4,2 пмоль/10⁸ клетак/мін [48]. У эукарыот гомологі Pnu-транспартерав не встрычаюцца [46].

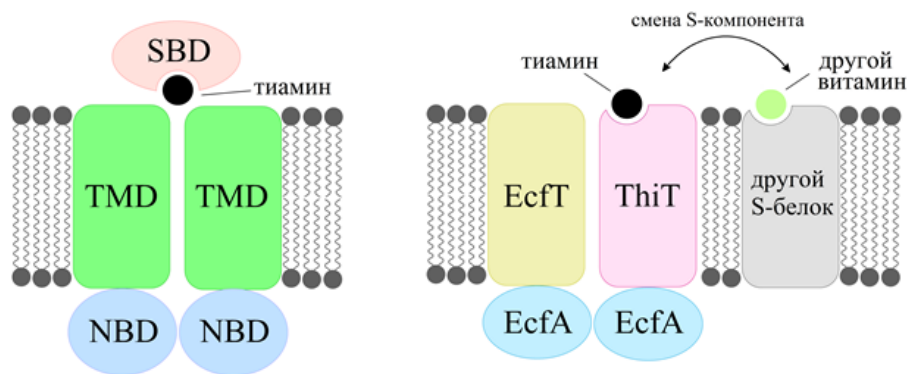
У аддэльных відаў бактэрыі, напрымер *Thermus thermophilus*, в паглотчэнні тяміна клеткай можа таксама ўдзельнічаць белок NiaP, асновная функцыя каторага, вераоятна, заклучаецца в транспарце прывадных нікотынавой кіслаты [49]. Белок NiaP – втрычны транспартер із суперсемеіства MFS (Major Facilitator Superfamily).

До настаящага врэмені белкі, каторыя асудществляюць транспарт тяміна в клеткі архебактэрыі, эксперыментальна не ісследовалісь. Однако налічце такіх транспартерав у архей прадсказано ісходзя із гомологіі с бактэрыальнымі транспартнымі сістэмамі ілі ідентыфікацыі прадполагаемых генав-транспартерав, нахадяцца в сінтэніі с генамі біосінтэза тяміна ілі располажэных пасле мотывав, характэрных для ТДФ-

связывающага рібосвітча (ТНІ-вох) [35, 45].

Транспарт тяміна в клеткі грібав.

В наувной літэратуре імеецца лішь нескілько публікацыі, касаюцца транспарта тяміна у прадставітэлей царства грібав. Ізвестно, что клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* паглотчаюць тямін прадсудством сістэмы актывнаго транспарта с рН-оптывмумом 4,5 і K_m 0,18 мкМ [50]. Ген тямінавого транспартера *THI10* локалізаван в ХІІ хромосоме і сoderжнт ОРС із 1794 пар нуклеотывдов, кодыврующаю белок с *m* 66,903 кДа. Экспрессія данного белка-переносчыка ругульруецца на урвнє транскрыпцыі мРНК в завасымосці от ввутрыклеточной концен-трацыі ТДФ і концен-трацыі тяміна во ввнешней среде [51]. В дрожжах *Schizosaccharomyces pombe* тямінавоый транспартер кодывруецца геном *thi9⁺*, не являющымся ортологом *THI10* [52]. Переносчык Thi9 работає по механізму протонного сымпорта с K_m 0,4 мкМ. Дрожжы таксама спосабы ассывіліроватыв із ввнешней среды ТДФ і ТМФ. Прадполагаецца, что в працэссе задейсавана тямін-рєпрєссывруємая кіслая фосфатаза – прудукт генав *PHO3* і *PHO4* соотвєтствєнно у *Saccharomyces cerevisiae* і *Schizosaccharomyces pombe* [53].



А

Б

А – АВС-транспартер: SBD – субстрат(тямін)-связывающы белок, TMD – трансмембранные домены, формыврующыя пору, NBD – нуклеотывд-связывающы домены (АТФазные субьєдывнцы, образующы дывмер). Б – ЕСФ-транспартер ІІ грывпы: EcfT – трансмембранный белок (Т-компонент), EcfA – АТФазные субьєдывнцы (А-компоненты), ThiT – трансмембранный подвывжный тямін-связывающы белок, с каторым могуць конкыврывровать другые S-белкы

Рывсунк 3. – Архывтура АВС і ЕСФ тямінавоых транспартерав прокарыот

Этот гликопротеин, обладающий высоким сродством к тиаминфосфатам ($K_m = 1,6$ мкМ для ТМФ, $K_m = 1,7$ мкМ для ТДФ), осуществляет их гидролиз до тиамин в периплазматическом пространстве клетки [54]. Тиаминные транспортеры дрожжей относятся к семейству NCS1 (nucleobase:cation symporter-1) суперсемейства MFS [52].

Транспорт тиамин в растений.

Растения способны извлекать тиамин из внешней среды с помощью корневой системы и усваивать экзогенный витамин (тиамин, ТМФ и ТДФ [55]), sprayed на листья. Биосинтез тиамин (в виде ТМФ) *de novo* в растениях преимущественно осуществляется в пластидах зеленых тканей [5], откуда он должен быть доставлен по сосудистой системе к другим местам использования. В настоящее время сведения о транспорте витаминов B_1 у растений весьма ограничены. Имеются данные, свидетельствующие о том, что в переносе витамина B_1 на большие расстояния по флоэме у *Arabidopsis thaliana* участвует протонный симпортер PUT3 [56]. Функционально экспрессированный в дрожжах, PUT3 способен с одинаковой скоростью транспортировать тиамин и ТДФ, проявляя практически одинаковое сродство к обоим витаминам ($K_m = 43,3 \pm 7,7$ мкМ для тиамин, $K_m = 34,2 \pm 8,6$ мкМ для ТДФ). Кроме того, в тесте на дрожжах субстратами PUT3 могут служить ТМФ, пиритиамин и полиамины.

Транспортеры тиаминдифосфата.

Долгое время считалось, что импорт ТДФ не играет какой-либо заметной роли в гомеостазе витамина B_1 у эукариотических организмов, поскольку способность к абсорбции этого кофермента не была выявлена в опытах с гепатоцитами крысы и дрожжами [57, 58]. Однако в начале текущего столетия появились свидетельства того, что клетки, по крайней мере отдельных видов животных, располагают системами транспорта ТДФ в плазматической мембране. В 2004 г. L. de Jong с соавт. [59] показали, что фенотип и физиологические функции особей нематоды *Caenorhabditis elegans* с мутацией гена ТПК *tpk-1* восстанавливаются под действием экзогенного ТДФ, но не тиамин. Кроме того, нормальной физиологией и фенотипом обладали трансгенные линии червей с геном *tpk-1* «дикого» типа, введенным не во все ткани, а

только только в мышцы глотки или кожно-мускульного мешка. Сравнительно недавно периферический ТДФ-транспортер hTPPT – продукт гена *SLC44A4* – идентифицирован в колоноцитах человека [60]. При экспрессии в клетках эпителия толстой кишки NCM460, hTPPT-1 представляет собой гликопротеин с $M_r \sim 110$ кДа, масса белкового ядра которого, рассчитанная по аминокислотной последовательности, кодируемой OPC *SLC44A4*, равна 79,254 кДа. Транспорт ТДФ в трансфицированных эпителиальных клетках ретины ARPE19 описывается кинетикой Михаэлиса-Ментен ($K_m = 0,17$ мкМ, $V_{\max} = 0,30$ пмоль/с/мг белка). Было показано, что при экспрессии в поляризованных клетках ARPE19, hTPPT преимущественно локализован в апикальной плазматической мембране. Предполагается, что hTPPT, может участвовать в абсорбции ТДФ, синтезируемого микробиотой толстого кишечника, внося тем самым определенный вклад в гомеостаз витамина B_1 в организме в целом и локально – в колоноцитах. Следует, однако, отметить, что высокий уровень экспрессии мРНК hTPPT имеет место не только в эпителии толстой кишки, но и в трахее, простате и легких; гораздо меньшие количества выявлены в желудке, двенадцатиперстной кишке, почках и некоторых других органах [60].

В клетках эукариот метаболические реакции, катализируемые ТДФ-зависимыми ферментами, компартментализованы в митохондриях, хлоропластах, пероксисомах и цитозоле. Поэтому кофермент, синтез которого осуществляется цитозольной ТПК, должен доставляться в органеллы.

По данным M. Varile с соавт. [61], митохондрии из печени крысы поглощают ТДФ в обмен на тиамин, при этом кинетически процесс характеризуется параметрами $K_m = 20$ мкМ, $V_{\max} = 700$ пмоль/мин/мг белка. В другом исследовании [62] на митохондриях из печени мыши для транспорта ^3H -ТДФ были получены значения $K_m = 6,79$ мкМ и $V_{\max} = 114,3$ пмоль/2 мин/мг белка. В экспериментах с митохондриями, выделенными из культур различных клеток человека, кинетика поглощения ТДФ описывалась двухфазной кривой насыщения с K_m высоко- и низкоаффинного компонентов, соответственно, 0,20-0,41 мкМ и 20-115 мкМ [63]. На молекулярном уровне

система внутриклеточного транспорта ТДФ была впервые идентифицирована в митохондриях *Saccharomyces cerevisiae* [64]. Транспортёр дрожжей – Trc1p, – кодируемый геном YGR096w, представляет собой белок внутренней мембраны с M_r 35,5 кДа, который способен осуществлять транспорт ТДФ, ТМФ и (дезокси)рибонуклеотидов, работая как по механизму унипорта, так и путем обмена. Гомологом Trc1p у *Aspergillus fumigatus* является белок TrtA (степень идентичности аминокислотных последовательностей – 28,61 %) [65]. У человека митохондриальный переносчик ТДФ (МТРПТ) является продуктом гена SLC25A19, мутация которого (G177A) служит причиной летальной амиш-микроцефалии – аутосомно-рецессивного заболевания, характеризующегося пороками развития центральной нервной системы и α -кетоглутарат ацидурией [66]. Этот белок осуществляет обменный перенос (антипорт) ТДФ, ТМФ и (дезокси)рибонуклеотидов. В настоящее время известно еще несколько клинически значимых мутаций SLC25A19, приводящих к развитию полинейропатии и билатерального склероза стриатума [67]. У *Drosophila melanogaster* ТДФ-транспортёр DmTrc1p кодируется геном CG6608 [68]. Экспрессированный в *E. coli* рекомбинантный белок DmTrc1p (M_r ~39 кДа) после встраивания в липосомы осуществлял перенос ТДФ и с меньшей скоростью неорганического пирофосфата и различных (дезокси)рибонуклеотидов в обмен на dАТФ; считается, что биологическая роль DmTrc1p состоит в импорте ТДФ митохондриями по механизму антипорта с АТФ(АДФ). По аминокислотной последовательности МТРПТ на 33 % идентичен DmTrc1p и на 28 % – Trc1p; все они принадлежат семейству митохондриальных переносчиков (mitochondrial carrier family, MCF) [68].

В геноме растений *Arabidopsis thaliana* и *Zea mays* выявлено по два гена (соответственно At5g48970, At3g21390 и GRMZM2G118515, GRMZM2G124911), которые кодируют митохондриальные ТДФ-транспортёры, гомологичные МТРПТ, Trc1p и DmTrc1p [69]. Белки-переносчики, осуществляющие транспорт ТДФ в пластиды растительных клеток, в настоящее время не идентифицированы.

В пероксисомах животных и растительных клеток локализована 2-гидроксиацил-КоА-

лиаза (НАСЛ1) – ТДФ-зависимый фермент, участвующий в α -окислении КоА-эфиров фитановой кислоты и 2-гидрокси-жирных кислот с неразветвленной цепью. По некоторым оценкам содержание ТДФ во фракции пероксисом, выделенных из печени крысы, находится на уровне 177 пмоль/мг белка, что эквивалентно 2-3 % от общего содержания витамина В₁ в печени [70]. Каким образом ТДФ попадает в эти органеллы пока неясно, однако имеющиеся экспериментальные данные указывают на отсутствие в пероксисомальной мембране специального белка, транспортирующего кофермент; скорее всего, ТДФ переносится в пероксисомы в уже связанном с НАСЛ1 виде.

Заключение. Системы транспорта экзогенного тиамин и тиаминфосфатов присутствуют у представителей трех доменов жизни – Bacteria, Archaea и Eukarya – у всех исследованных видов организмов, как аукоотрофных по тиамину, так и осуществляющих его биосинтез *de novo*. В процессе биологической эволюции имела место значительная дивергенция транспортных механизмов, посредством которых клетки способны поглощать витамин В₁. Большинство прокариот осуществляют его активный транспорт с помощью АТФ-зависимых транспортёров ABC-типа; многими бактериями может также использоваться энергонезависимый механизм облегченной диффузии через транспортёр PnuT. В клетки дрожжей тиамин переносится по механизму вторичного активного транспорта протонными симпортёрами из семейства NCS1, а в клетки животных – белками ThTr1 и ThTr2 семейства SLC19. У эукариот ТДФ, синтезированный в цитозоле ТПК, импортируется в матрикс митохондрий транспортёрами, принадлежащими семейству MCF.

Список обозначений

АТТФ – аденозин-тиаминтрифосфат, ТДФ – тиаминдифосфат, ТМФ – тиаминмонофосфат, ОРС – открытая рамка считывания, ТПК – тиаминпирофосфокиназа, ТТФ – тиаминтрифосфат, МТРПТ – митохондриальный переносчик тиаминдифосфата, ОСТ – транспортёр органических катионов.

Список литературы

1. Макариков, А. Ф. Витамин В₁: метаболизм и функции / А. Ф. Макариков //

- Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, вып. 3. – С. 278–297.
2. Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi* does not require thiamin / K. Zhang [et al.] // Nat. Microbiol. – 2016. – Vol. 2: 16213.
 3. ExplorEnz – The Enzyme Database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.enzyme-database.org>. – Дата доступа: 17.03.2023.
 4. Zhao, R. Folate and thiamine transporters mediated by facilitative carriers (SLC19A1-3 and SLC46A1) and folate receptors / R. Zhao, D.I. Goldman // Mol. Aspects Med. – 2013. – Vol. 34 – P. 373–385.
 5. Макарович, А.Ф. Биосинтез тиамин / А.Ф. Макарович // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. – 2021, №2. – С. 34–53.
 6. Thiamin transport by human erythrocytes and ghosts / D. Casirola [et al.] // J. Membr. Biol. – 1990. – Vol. 118. – P. 11–18.
 7. Thiamine transport by basolateral rat liver plasma membrane vesicles / R.H. Moseley [et al.] // Gastroenterology. – 1992. – Vol. 103. – P. 1056–1065.
 8. Evidence for a carrier-mediated mechanism for thiamine transport to human jejunal basolateral membrane vesicles / P.K. Dudeja [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 2003. – Vol. 48. – P. 109–115.
 9. Mechanism of thiamine uptake by human jejunal brush-border membrane vesicles / P.K. Dudeja [et al.] // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2001. – Vol. 281. – P. C786–C792.
 10. Transport of thiamine in rat renal brush-border membrane vesicles / G. Gastaldi [et al.] // Kidney Int. – 2000. – Vol. 57. – P. 2043–2054.
 11. Pancreatic beta cells and islets take up thiamin by a regulated carrier-mediated process: studies using mice and human pancreatic preparations / L. Mee [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2009. – Vol. 297. – P. G197–206.
 12. Vitamin B1 (thiamine) uptake by human retinal pigment epithelial (ARPE-19) cells: mechanism and regulation / V.S. Subramanian [et al.] // J. Physiol. – 2007. – Vol. 582(Pt 1). – P. 73–85.
 13. Laforenza, U. A thiamine/H⁺ antiport mechanism for thiamine entry into brush border membrane vesicles from rat small intestine / U. Laforenza, M.N. Orsenigo, G. Rindi // J. Membr. Biol. – 1998. – Vol. 161. – P. 151–161.
 14. Transport of thiamine in rat renal brush-border membrane vesicles / G. Gastaldi [et al.] // Kidney Int. – 2000. – Vol. 57. – P. 2043–2054.
 15. Blood-brain transport of thiamine monophosphate in the rat: a kinetic study in vivo / C. Patrini [et al.] // J. Neurochem. – 1988. – Vol. 50. – P. 90–93.
 16. Reggiani, C. Nervous tissue metabolism in vivo. I. Transport of thiamine and thiamine monophosphate from plasma to different brain regions of the rat / C. Reggiani, C. Patrini, G. Ringi // Brain Res. – 1984. – Vol. 293. – P. 319–327.
 17. Greenwood, J. Kinetics of thiamine transport across the blood-brain barrier in the rat / J. Greenwood, E.R. Love, O.E. Pratt // J. Physiol. – 1982. – Vol. 327. – P. 95–103.
 18. Lockman, P.R. Evaluation of blood-brain barrier thiamine efflux using the in situ rat brain perfusion method / P.R. Lockman, R.J. Mumper, D.D. Allen // J. Neurochem. – 2003. – Vol. 86. – P. 627–634.
 19. Cloning of the human thiamine transporter, a member of the folate transporter family / B. Dutta [et al.] // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274. – P. 31925–31929.
 20. Identification and characterization of the human and mouse SLC19A3 gene: a novel member of the reduced folate family of micronutrient transporter genes / J.D. Eudy [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 2000. – Vol. 71. – P. 581–590.
 21. Expression and functional contribution of hTHTR-2 in thiamin absorption in human intestine / H.M. Said [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2004. – Vol. 286. – P. G491–G498.
 22. Posttranscriptional regulation of thiamin transporter-1 expression by microRNA-200a-3p in pancreatic acinar cells / K. Ramamoorthy [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2020. – Vol. 319. – P. G323–G332.
 23. Mutations in SLC19A2 cause thiamine-responsive megaloblastic anaemia associated with diabetes mellitus and deafness / V. Labay [et al.] // Nat. Genet. – 1999. – Vol. 22.

- P. 300–304.
24. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SLC19A3 / W.Q. Zeng [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2005. – Vol. 77. – P. 16–26.
25. Exome sequencing reveals mutated SLC19A3 in patients with an early-infantile, lethal encephalopathy / S.H. Kevelam [et al.] // *Brain.* – 2013. – Vol. 136. – P. 1534–1543.
26. Mutations in a thiamine-transporter gene and Wernicke’s-like encephalopathy / S. Kono [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 1792–1794.
27. Interaction of 2,4-diaminopyrimidine-containing drugs including fedratinib and trimethoprim with thiamine transporters / M.M. Giacomini [et al.] // *Drug Metab. Dispos.* – 2017. – Vol. 45. – P. 76–85.
28. pH-dependent pyridoxine transport by SLC19A2 and SLC19A3: Implications for absorption in acidic microclimates / T. Yamashiro [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2020. – Vol. 295. – P. 16998–17008.
29. Yamashiro, T. Animal species differences in the pyridoxine transport function of SLC19A3: Absence of Slc19a3-mediated pyridoxine uptake in the rat small intestine / T. Yamashiro, T. Yasujima, H. Yuasa // *Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2022. – Vol. 44:100456.
30. Identification of the amino acid residues involved in the species-dependent differences in the pyridoxine transport function of SLC19A3 / K. Miyake [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2022. – Vol. 298: 102161.
31. Zhao, R. Reduced folate carrier transports thiamine monophosphate: an alternative route for thiamine delivery into mammalian cells / R. Zhao, F. Gao, I.D. Goldman // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P. C1512–1517.
32. Thiamine is a substrate of organic cation transporters in Caco-2 cells / C. Lemos [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 682. – P. 37–42.
33. OCT1 is a high-capacity thiamine transporter that regulates hepatic steatosis and is a target of metformin / L. Chen [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111. – P. 9983–9988.
34. Involvement of organic cation transporters in the clearance and milk secretion of thiamine in mice / K. Kato [et al.] // *Pharm. Res.* – 2015. – Vol. 32. – P. 2192–2204.
35. Jaehme, M. Diversity of membrane transport proteins for vitamins in bacteria and archaea / M. Jaehme, D.J. Slotboom // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1850. – P. 565–576.
36. Hollenbach, A.D. Thiamine transport in *Escherichia coli*: the mechanism of inhibition by the sulfhydryl-specific modifier N-ethylmaleimide / A.D. Hollenbach, K.A. Dickson, M.W. Washabaugh // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – Vol. 1564. – P. 421–428.
37. Webb, E. ThiBPQ encodes an ABC transporter required for transport of thiamine and thiamine pyrophosphate in *Salmonella typhimurium* / E. Webb, K. Claas, D. Downs // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 8946–8950.
38. Hollenbach, A.D. Overexpression, purification, and characterization of the periplasmic space thiamin-binding protein of the thiamin traffic ATPase in *Escherichia coli* / A.D. Hollenbach, K.A. Dickson, M.W. Washabaugh // *Protein. Expr. Purif.* – 2002. – Vol. 25. – P. 508–518.
39. Goodsell, D.S. Integrative illustration of a JCVI-syn3A minimal cell / D.S. Goodsell // *J. Integr. Bioinform.* – 2022. – Vol. 19(2): 20220013.
40. The riboswitch regulates a thiamine pyrophosphate ABC transporter of the oral spirochete *Treponema denticola* / J. Bian [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2011. – Vol. 193. – P. 3912–3922.
41. A novel class of modular transporters for vitamins in prokaryotes / D.A. Rodionov [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2009. – Vol. 191. – P. 42–51.
42. Crystal structure of a group I energy coupling factor vitamin transporter S component in complex with its cognate substrate / I. Josts [et al.] // *Cell Chem. Biol.* – 2016. – Vol. 23. – P. 827–836.
43. The structural basis of modularity in ECF-type ABC transporters / G.B. Erkens [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 18. – P. 755–760.
44. Erkens, G.B. Biochemical characterization of ThiT from *Lactococcus lactis*: a thiamin transporter with picomolar substrate binding affinity / G.B. Erkens, D.J. Slotboom // *Biochemistry.* – 2010. – Vol. 49. – P. 3203–

- 3212.
45. Canonical and ECF-type ATP-binding cassette importers in prokaryotes: diversity in modular organization and cellular functions / T. Eitinger [et al.] // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2011. – Vol. 35. – P. 3–67.
46. Jaehme, M. Structure, function, evolution, and application of bacterial Pnu-type vitamin transporters / M. Jaehme, D.J. Slotboom // *Biol. Chem.* – 2015. – Vol. 396. – P. 955–966.
47. PnuT uses a facilitated diffusion mechanism for thiamine uptake / M. Jaehme [et al.] // *J. Gen. Physiol.* – 2018. – Vol. 150. – P. 41–50.
48. Thiamin transport in *Helicobacter pylori* lacking the *de novo* synthesis of thiamin / K. Nosaka [et al.] // *Microbiology.* – 2019. – Vol. 165. – P. 224–232.
49. Comparative genomics and functional analysis of the NiaP family uncover nicotinate transporters from bacteria, plants, and mammals / L. Jeanguenin [et al.] // *Funct. Integr. Genom.* – 2012. – Vol. 12. – P. 25–34.
50. Iwashima, A. Carrier-mediated transport of thiamine in baker's yeast / A. Iwashima, H. Nishino, Y. Nose // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1973. – Vol. 330. – P. 222–234.
51. Isolation and characterization of a thiamin transport gene, THI10, from *Saccharomyces cerevisiae* / F. Enjo [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272. – P. 19165–19170.
52. Characterization of Thi9, a novel thiamine (Vitamin B₁) transporter from *Schizosaccharomyces pombe* / C. Vogl [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – P. 7379–7389.
53. Identification and characterization of thiamin repressible acid phosphatase in yeast / M.E. Schweingruber [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1986. – Vol. 261. – P. 15877–15882.
54. Nosaka, K. High affinity of acid phosphatase encoded by *PHO3* gene in *Saccharomyces cerevisiae* for thiamin phosphates / K. Nosaka // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1990. – Vol. 1037. – P. 147–154.
55. Ahn, I.P. Vitamin B₁ functions as an activator of plant disease resistance / I.P. Ahn, S. Kim, Y.H. Lee // *Plant Physiol.* – 2005. – Vol. 138. – P. 1505–1515.
56. Long-distance transport of thiamine (vitamin B₁) is concomitant with that of polyamines / J. Martinis [et al.] // *Plant Physiol.* – 2016. – Vol. 171. – P. 542–553.
57. Inability of thiamine phosphates transport in isolated rat hepatocyte / K. Yoshioka [et al.] // *Experientia.* – 1983. – Vol. 39. – P. 505–507.
58. Nosaka, K. Identity of soluble thiamine-binding protein with thiamine repressible acid phosphatase in *Saccharomyces cerevisiae* / K. Nosaka, H. Nishimura, A. Iwashima // *Yeast.* – 1989. – Vol. 5(Spec No). – S447–451.
59. Thiamine pyrophosphate biosynthesis and transport in the nematode *Caenorhabditis elegans* / L. De Jong [et al.] // *Genetics.* – 2004. – Vol. 168. – P. 845–854.
60. Molecular identification and functional characterization of the human colonic thiamine pyrophosphate transporter/ S.M. Nabokina [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289. – P. 4405–4416.
61. Barile, M. Thiamine pyrophosphate uptake into isolated rat liver mitochondria / M. Barile, S. Passarella, E. Quagliariello // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1990. – Vol. 280. – P. 352–357.
62. Mitochondrial uptake of thiamin pyrophosphate: physiological and cell biological aspects / V.S. Subramanian [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8(8): e73503.
63. Song, Q. Mitochondria from cultured cells derived from normal and thiamine-responsive megaloblastic anemia individuals efficiently import thiamine diphosphate / Q. Song, C.K. Singleton // *BMC Biochem.* – 2002. – Vol. 3: 8.
64. Identification and reconstitution of the yeast mitochondrial transporter for thiamine pyrophosphate / C.M. Marobbio [et al.] // *EMBO J.* – 2002. – Vol. 21. – P. 5653–5661.
65. The mitochondrial thiamine pyrophosphate transporter TptA promotes adaptation to low iron conditions and virulence in fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* / J. Huang [et al.] // *Virulence.* – 2019. – Vol. 10. – P. 234–247.
66. Mutant deoxynucleotide carrier is associated with congenital microcephaly / M.J. Rosenberg [et al.] // *Nat. Genet.* – 2002. – Vol. 32. – P. 175–179.
67. Identification and functional analysis of novel SLC25A19 variants causing thiamine metabolism dysfunction syndrome 4 / Y. Chen [et al.] // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2021. – Vol. 16: 403.
68. The biochemical properties of the mitochondrial thiamine pyrophosphate carrier from

Drosophila melanogaster / D. Iacopetta [et al.] // FEBS J. – 2010. – Vol. 277. – P. 1172–1181.

69. Identification of mitochondrial thiamin diphosphate carriers from Arabidopsis and maize / O. Frelin [et al.] // *Funct. Integr. Genomics*. – 2012. – Vol. 12. – P. 317–326.
70. Presence of thiamine pyrophosphate in mammalian peroxisomes / P. Fraccascia [et al.] // *BMC Biochem*. – 2007. – Vol. 8:10.

References

1. Makarchikov A.F. Vitamin B₁: metabolism and functions. *Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomed. Chem.*, 2009, vol. 3, pp. 116–128.
2. Zhang K., Bian J., Deng Y., Smith A., Nunez R.E., Li M.B., Pal U., Yu A.-M., Qiu W., Ealick S.E., Li C. Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi* does not require thiamin. *Nat. Microbiol.* 2016, vol. 2: 16213.
3. ExplorEnz – The Enzyme Database. Available at: <https://www.enzyme-database.org>. (accessed: 09.09.2022).
4. Zhao R., Goldman D.I. Folate and thiamine transporters mediated by facilitative carriers (SLC19A1-3 and SLC46A1) and folate receptors. *Mol. Aspects Med.*, 2013, vol. 34, pp. 373–385.
5. Makarchikov A.F. Biosintez tiamina. *Vesnik Paleskaga dzjarzhaunaga universiteta. Serija pryrodazhauchyh navuk*, 2021, №2, pp. 34–53.
6. Casirola D., Patrini C., Ferrari G., Rindi G. Thiamin transport by human erythrocytes and ghosts. *J. Membr. Biol.*, 1990, vol. 118, pp. 11–18.
7. Moseley R.H., Vashi P.G., Jarose S.M., Dickinson C.J., Permod P.A. Thiamine transport by basolateral rat liver plasma membrane vesicles. *Gastroenterology*, 1992, vol. 103, pp. 1056–1065.
8. Dudeja P.K., Tyagi S., Gill R., Said H.M. Evidence for a carrier-mediated mechanism for thiamine transport to human jejunal basolateral membrane vesicles. *Dig. Dis. Sci.*, 2003, vol. 48, pp. 109–115.
9. Laforenza U., Orsenigo M.N., Rindi G. A thiamine/H⁺ antiport mechanism for thiamine entry into brush border membrane vesicles from rat small intestine. *J. Membr. Biol.*, 1998, vol. 161, pp. 151–161.
10. Dudeja P.K., Tyagi S., Kavilaveetil R.J., Gill R., Said H.M. Mechanism of thiamine uptake by human jejunal brush-border membrane vesicles. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2001, vol. 281, pp. C786–C792.
11. Gastaldi G., Cova E., Verri A., Laforenza U., Faelli A., Rindi G. Transport of thiamin in rat renal brush-border membrane vesicles. *Kidney Int.*, 2000, vol. 57, pp. 2043–2054.
12. Mee L., Nabokina S.M., Sekar V.T., Subramanian V.S., Maedler K., Said H.M. Pancreatic beta cells and islets take up thiamin by a regulated carrier-mediated process: studies using mice and human pancreatic preparations. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2009, vol. 297, pp. G197–206.
13. Subramanian V.S., Mohammed Z.M., Molina A., Marchant J.S., Vaziri N.D., Said H.M. Vitamin B1 (thiamine) uptake by human retinal pigment epithelial (ARPE-19) cells: mechanism and regulation. *J. Physiol.*, 2007, vol. 582(Pt 1), pp. 73–85.
14. Patrini C., Reggiani C., Laforenza U., Rindi G. Blood-brain transport of thiamine monophosphate in the rat: a kinetic study in vivo. *J. Neurochem.*, 1988, vol. 50, pp. 90–93.
15. Reggiani C., Patrini C., Rindi G. Nervous tissue metabolism in vivo. I. Transport of thiamine and thiamine monophosphate from plasma to different brain regions of the rat. *Brain Res.*, 1984, vol. 293, pp. 319–327.
16. Greenwood J., Love E.R., Pratt O.E. Kinetics of thiamine transport across the blood-brain barrier in the rat. *J. Physiol.*, 1982, vol. 327, pp. 95–103.
17. Lockman P.R., Mumper R.J., Allen D.D. Evaluation of blood-brain barrier thiamine efflux using the in situ rat brain perfusion method. *J. Neurochem.*, 2003, vol. 86, pp. 627–634.
18. Dutta B., Huang W., Molero M., Kekuda R., Leibach F.H., Devoe L.D., Ganapathy V., Prasad P.D. Cloning of the human thiamine transporter, a member of the folate transporter family. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, pp. 31925–31929.
19. Eudy J.D., Spiegelstein O., Barber R.C., Wlodarczyk B.J., Talbot J., Finnell R.H. Identification and characterization of the human and mouse SLC19A3 gene: a novel member of the reduced folate family of micronutrient transporter genes. *Mol. Genet. Metab.*, 2000, vol. 71, pp. 581–590.
20. Said H.M., Balamurugan K., Subramanian

- V.S., Marchant J.S. Expression and functional contribution of hTHTR-2 in thiamin absorption in human intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2004, vol. 286, pp. G491–G498.
21. Boulware M.J., Subramanian V.S., Said H.M., Marchant J.S. Polarized expression of members of the solute carrier SLC19A gene family of water-soluble multivitamin transporters: implications for physiological function. *Biochem. J.*, 2003, vol. 376, pp. 43–48.
22. Ramamoorthy K., Anandam K.Y., Yasujima T., Srinivasan P., Said H.M. Posttranscriptional regulation of thiamin transporter-1 expression by microRNA-200a-3p in pancreatic acinar cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2020, vol. 319, pp. G323–G332.
23. Labay V., Raz T., Baron D., Mandel H., Williams H., Barrett T., Szargel R., McDonald L., Shalata A., Nosaka K., Gregory S., Cohen N. Mutations in SLC19A2 cause thiamine-responsive megaloblastic anaemia associated with diabetes mellitus and deafness. *Nat. Genet.*, 1999, vol. 22, pp. 300–304.
24. Zeng W.Q., Al-Yamani E., Acierno Jr. J.S., Slangenaupt S., Gillis T., MacDonald M.E., Ozand P.T., Gusella J.F. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SLC19A3. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005, vol. 77, pp. 16–26.
25. Kevelam S.H., Bugiani M., Salomons G.S., Feigenbaum A., Blaser S., Prasad C., Häberle J., Baric I., Bakker I.M.C., Postma N.L., Kanhai W.A., Wolf N.I., Abbink T.E.M., Waisfisz Q., Heutink P., Van der Knaap M.S. Exome sequencing reveals mutated SLC19A3 in patients with an early-infantile, lethal encephalopathy. *Brain*, 2013, vol. 136, pp. 1534–1543.
26. Kono S., Miyajima H., Yoshida K., Togawa A., Shirakawa K., Suzuki H. Mutations in a thiamine-transporter gene and Wernicke's-like encephalopathy. *N. Engl. J. Med.*, 2009, vol. 360, pp. 1792–1794.
27. Giacomini M.M., Hao J., Liang X., Chandrasekhar J., Twelves J., Whitney J.A., Lepist E.-I., Ray A.S. Interaction of 2,4-diaminopyrimidine-containing drugs including fedratinib and trimethoprim with thiamine transporters. *Drug Metab. Dispos.*, 2017, vol. 45, pp. 76–85.
28. Yamashiro T., Yasujima T., Said H.M., Yuasa H. pH-dependent pyridoxine transport by SLC19A2 and SLC19A3: Implications for absorption in acidic microclimates. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, pp. 16998–17008.
29. Yamashiro T., Yasujima T., Yuasa H. Animal species differences in the pyridoxine transport function of SLC19A3: Absence of Slc19a3-mediated pyridoxine uptake in the rat small intestine. *Drug Metab. Pharmacokin.*, 2022, vol. 44:100456.
30. Miyake K., Yasujima T., Takahashi S., Yamashiro T., Yuasa H. Identification of the amino acid residues involved in the species-dependent differences in the pyridoxine transport function of SLC19A3. *J. Biol. Chem.*, 2022, vol. 298: 102161.
31. Zhao R., Gao F., Goldman I.D. Reduced folate carrier transports thiamine monophosphate: an alternative route for thiamine delivery into mammalian cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2002, vol. 282, pp. C1512–1517.
32. Lemos C., Faria A., Meireles M., Martel F., Monteiro R., Calhau C. Thiamine is a substrate of organic cation transporters in Caco-2 cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 2012, vol. 682, pp. 37–42.
33. Chen L., Shua Y., Lianga X., Chena E.C., Yeea S.W., Zura A.A., Lia S., Xua L., Kesharic K.R., Lina M.J., Chiena H.-C., Zhanga Y., Morrissey K.M., Liud J., Ostreme J., Youngere N.S., Kurhanewicz J., Shokate K.M., Ashrafid K., Giacomini K.M. OCT1 is a high-capacity thiamine transporter that regulates hepatic steatosis and is a target of metformin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, pp. 9983–9988.
34. Kato K., Moriyama C., Ito N., Zhang X., Hachiuma K., Hagima N., Iwata K., Yamaguchi J.-i., Maeda K., Ito K., Suzuki H., Sugiyama Y., Kusuhara H. Involvement of organic cation transporters in the clearance and milk secretion of thiamine in mice. *Pharm. Res.*, 2015, vol. 32, pp. 2192–2204.
35. Jaehme M., Slotboom D.J. Diversity of membrane transport proteins for vitamins in bacteria and archaea. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2014, vol. 1850, pp. 565–576.
36. Hollenbach A.D., Dickson K.A., Washbaugh M.W. Thiamine transport in *Escherichia coli*: the mechanism of inhibition by the sulfhydryl-specific modifier N-ethylmaleimide. *Biochim. Biophys. Acta.*

- 2002, vol. 1564, pp. 421–428.
37. Webb E., Claas K., Downs D. ThiBPQ encodes an ABC transporter required for transport of thiamine and thiamine pyrophosphate in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, pp. 8946–8950.
38. Hollenbach A.D., Dickson K.A., Washbaugh M.W. Overexpression, purification, and characterization of the periplasmic space thiamin-binding protein of the thiamin traffic ATPase in *Escherichia coli*. *Protein. Expr. Purif.*, 2002, vol. 25, pp. 508–518.
39. Goodsell D.S. Integrative illustration of a JCVI-syn3A minimal cell. *J. Integr. Bioinform.*, 2022, vol. 19(2): 20220013.
40. Bian J., Shen H., Tu Y., Yu A., Lu C. The riboswitch regulates a thiamine pyrophosphate ABC transporter of the oral spirochete *Treponema denticola*. *J. Bacteriol.*, 2011, vol. 193, pp. 3912–3922.
41. Rodionov D.A., Hebbeln P., Eudes A., ter Beek J., Rodionova I.A., Erkens G.B., Slotboom D.J., Gelfand M.S., Osterman A.L., Hanson A.D., Eitinger T. A novel class of modular transporters for vitamins in prokaryotes. *J. Bacteriol.* 2009, vol. 191, pp. 42–51.
42. Josts I., Hernandez Y.A., Andreeva A., Tidow H. Crystal structure of a group I energy coupling factor vitamin transporter S component in complex with its cognate substrate. *Cell Chem. Biol.*, 2016, vol. 23, pp. 827–836.
43. Erkens G.B., Berntsson R.P.-A., Fulyani F., Majsnerowska M., Vujičić-Žagar A., ter Beek J., Poolman B., Slotboom D.J. The structural basis of modularity in ECF-type ABC transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2011, vol. 18, pp. 755–760.
44. Erkens G.B., Slotboom D.J. Biochemical characterization of ThiT from *Lactococcus lactis*: a thiamin transporter with picomolar substrate binding affinity. *Biochemistry*, 2010, vol. 49, pp. 3203–3212.
45. Eitinger T., Rodionov D.A., Grote A., Schneider E. Canonical and ECF-type ATP-binding cassette importers in prokaryotes: diversity in modular organization and cellular functions. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2011, vol. 35, pp. 3–67.
46. Jaehme M., Slotboom, D.J. Structure, function, evolution, and application of bacterial Pnu-type vitamin transporters. *Biol. Chem.*, 2015, vol. 396, pp. 955–966.
47. Jaehme M., Singh R., Garaeva A.A., Duurkens R.H., Slotboom D.J. PnuT uses a facilitated diffusion mechanism for thiamine uptake. *J. Gen. Physiol.*, 2018, vol. 150, pp. 41–50.
48. Nosaka K., Uchiyama R., Tadano K., Endo Y., Hayashi M., Konno H., Mimuro H. Thiamin transport in *Helicobacter pylori* lacking the *de novo* synthesis of thiamin. *Microbiology*, 2019, vol. 165, pp. 224–232.
49. Jeanguenin L., Lara-Núñez A., Rodionov D.A., Osterman A.L., Komarova N.Y., Rentsch D., Gregory J.F. 3rd, Hanson A.D. Comparative genomics and functional analysis of the NiaP family uncover nicotinate transporters from bacteria, plants, and mammals. *Funct. Integr. Genom.*, 2012, vol. 12, pp. 25–34.
50. Iwashima A., Nishino H., Nose Y. Carrier-mediated transport of thiamine in baker's yeast. *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, vol. 330, pp. 222–234.
51. Enjo F., Nosaka K., Ogata M., Iwashima A., Nishimura H. Isolation and characterization of a thiamin transport gene, THI10, from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, 1997, Vol. 272, pp. 19165–19170.
52. Vogl C., Klein C.M., Batke A.F., Schweingruber M.E., Stolz J. Characterization of Thi9, a novel thiamine (Vitamin B₁) transporter from *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, pp. 7379–7389.
53. Schweingruber M.E., Fluris R., Maundrelly K., Schweingruber A.-M., Dumermuth E. Identification and characterization of thiamin repressible acid phosphatase in yeast. *J. Biol. Chem.*, 1986, vol. 261, pp. 15877–15882.
54. Nosaka K. High affinity of acid phosphatase encoded by *PHO3* gene in *Saccharomyces cerevisiae* for thiamin phosphates. *Biochim. Biophys. Acta*, 1990, vol. 1037, pp. 147–154.
55. Ahn I.P., Kim S., Lee Y.H. Vitamin B₁ functions as an activator of plant disease resistance, *Plant Physiol.*, 2005, vol. 138, pp. 1505–1515.
56. Martinis J., Gas-Pascual E., Szydłowski N., Crèvecoeur M., Gisler A., Bürkle L., Fitzpatrick T.B. Long-distance transport of thiamine (vitamin B₁) is concomitant with that of polyamines. *Plant Physiol.*, 2016, vol. 171, pp. 542–553.
57. Yoshioka K., Nishimura H., Sempuku K.,

- Iwashima A. Inability of thiamine phosphates transport in isolated rat hepatocyte. *Experientia*, 1983, vol. 39, pp. 505–507.
58. Nosaka K., Nishimura H., Iwashima A. Identity of soluble thiamine-binding protein with thiamine repressible acid phosphatase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1989, vol. 5(Spec No), pp. S447–451.
59. de Jong L., Meng Y., Dent J., Hekimi S. Thiamine pyrophosphate biosynthesis and transport in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 2004, vol. 168, pp. 845–854.
60. Nabokina S.M., Inoue K., Subramanian V.S., Valle J.E., Yuasa H., Said H.M. Molecular identification and functional characterization of the human colonic thiamine pyrophosphate transporter. *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, pp. 4405–4416.
61. Barile M., Passarella S., Quagliariello E. Thiamine pyrophosphate uptake into isolated rat liver mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1990, vol. 280, pp. 352–357.
62. Subramanian V.S. Nabokina S.M., Lin-Moshier Y., Marchant J.S., Said H.M. Mitochondrial uptake of thiamin pyrophosphate: physiological and cell biological aspects. *PLoS One*, 2013, vol. 8(8): e73503.
63. Song, Q., Singleton C.K. Mitochondria from cultured cells derived from normal and thiamine-responsive megaloblastic anemia individuals efficiently import thiamine diphosphate. *BMC Biochem.*, 2002, vol. 3: 8.
64. Marobbio C.M., Vozza A., Harding M., Bisaccia F., Palmieri F., Walker J.E. Identification and reconstitution of the yeast mitochondrial transporter for thiamine pyrophosphate. *EMBO J*, 2002, vol. 21, pp. 5653–5661.
65. The mitochondrial thiamine pyrophosphate transporter TptA promotes adaptation to low iron conditions and virulence in fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* / Huang J., Ma Z., Zhong G., Sheppard D.C., Lu L., Zhang S. *Virulence*, 2019, vol. 10, pp. 234–247.
66. Rosenberg M.J., Agarwala R., Bouffard G., Davis J., Fiermonte G., Hilliard M.S., Koch T., Kalikin L.M., Makalowska I., Morton D.H., Petty E.M., Weber J.L., Palmieri F., Kelley R.I., Schäffer A.A., Biesecker L.G. Mutant deoxynucleotide carrier is associated with congenital microcephaly. *Nat. Genet.*, 2002, vol. 32, pp. 175–179.
67. Chen Y., Fang B., Hu X., Guo R., Guo J., Fang K., Ni J., Li W., Qian S., Hao C. Identification and functional analysis of novel SLC25A19 variants causing thiamine metabolism dysfunction syndrome 4. *Orphanet J. Rare Dis.*, 2021, vol. 16: 403.
68. Iacopetta D., Carrisi C., De Filippis G., Calcagnile V.M., Cappello A.R., Chimento A., Curcio R., Santoro A., Vozza A., Dolce V., Palmieri F., Capobianco L. The biochemical properties of the mitochondrial thiamine pyrophosphate carrier from *Drosophila melanogaster*. *FEBS J.*, 2010, vol. 277. pp. 1172–1181.
69. Frelin O., Agrimi G., Laera V.L., Castegna A., Richardson L.G.L., Mullen R.T., Lerma-Ortiz C., Palmieri F., Hanson A.D. Identification of mitochondrial thiamin diphosphate carriers from Arabidopsis and maize. *Funct. Integr. Genomics*, 2012, vol. 12, pp. 317–326.
70. Fraccascia P., Sniekers M., Casteels M., Van Veldhoven P.P. Presence of thiamine pyrophosphate in mammalian peroxisomes. *BMC Biochem.*, 2007, vol. 8:1.

Received 31 March 2023