

УДК 577.164.11

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

Статья поступила 11 октября 2021 г.

## БИОСИНТЕЗ ТИАМИНА

Тиамин (витамин  $B_1$ ) необходим для жизнедеятельности всех известных организмов, выполняя в форме тиаминдифосфата (ТДФ) каталитические функции в реакциях центрального и вторичного метаболизма. В клетках животных тиамин не образуется и поэтому должен постоянно поступать с пищей. Большинство эубактерий, архей, грибов и растений способны осуществлять биосинтез тиаминдезаокси-тиамина *de novo* либо использовать продукты его деградации. Биосинтез пиримидинового (в виде 4-амино-5-гидроксиметил-2-метилпиримидин дифосфата, НМР-РР) и тиазолового (в виде 2-карбокситиазол-4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазол фосфата, НЕТ-Р) колец молекулы витамина  $B_1$  протекает раздельно с их последующей конденсацией в тиаминмонофосфат (ТМФ). У бактерий и архей ТМФ превращается в ТДФ под действием тиаминфосфат-киназы (ThiL), а в клетках эукариот подвергается гидролизу до тиаминдезаокси-тиамина, который фосфорилируется до ТДФ тиаминпирофосфокиназой. Бактерии синтезируют НЕТ-Р из 2-аминоацетата, 1-дезоксид-ксилозулозо-5-фосфата и ThiS-тиокарбоксилата при помощи по крайней мере 7 белков (Dxs, ThiS, ThiF, ThiO, NifS, ThiG и TenI – у *B. subtilis*), тогда как в образовании НМР-РР (из 5-аминоимидазолиботида (AIR)) вовлечены только два белка – ThiC и ThiD. У грибов НЕТ-Р образуется из NAD и глицина, при этом источником серы служит остаток Cys активного центра белка THI4 – суцидного фермента, осуществляющего лишь один каталитический цикл. В синтезе НМР-РР в клетках грибов задействован еще один суцидный фермент – THI5, включающий атом азота остатка Hys своего активного центра в пиримидиновое кольцо пиримидилксаль-5-фосфата в реакции образования НМР-Р, который затем фосфорилируется белком THI20 до НМР-РР. В растениях образование НЕТ-Р протекает, как и у грибов, под действием белка THI1 (THI4), тогда как НМР-РР синтезируется по бактериальному пути из AIR с участием белков THIC и THI. Археи синтезируют тиазоловый гетероцикл молекулы тиаминдезаокси-тиамина по эукариотному THI4-механизму, а пиримидиновый – по бактериальному/растительному пути. Регуляция биосинтеза тиаминдезаокси-тиамина у разных видов организмов осуществляется благодаря наличию ТДФ-рибосвитчей и под контролем транскрипционных факторов.

**Ключевые слова:** тиамин, биосинтез, регуляция, бактерии, археи, дрожжи, растения.

**МАКАРЧИКОВ Alexander F.**, Doctor of Biol. Sc. Habil., Associate Professor  
Head of Department of Chemistry  
Grodno State Agrarian University,  
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

## BIOSYNTHESIS OF THIAMINE

Thiamine (vitamin  $B_1$ ) is essential compound for all living things performing, in the form of thiamine di-

phosphate (ThDP), catalytic functions in the reactions of central and secondary metabolic pathways. There is no thiamine synthesis in animal cells, and therefore it must be continuously supplied with food. Most eubacteria, archaea, fungi, and plants are capable of synthesizing thiamine *de novo* or salvaging the products of its degradation. Biosynthesis of pyrimidine (as 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine diphosphate, HMP-PP) and thiazole (as 2-carboxy-4-methyl-5- $\beta$ -hydroxyethylthiazole phosphate, HET-P) rings of the vitamin B<sub>1</sub> molecule proceeds separately with their condensation into thiamine monophosphate (ThMP). In bacteria and archaea, ThMP is converted to ThDP by thiamine phosphate kinase (ThiL) while in eukaryotic cells it undergoes hydrolysis to thiamine, which is then phosphorylated to ThDP by thiamine pyrophosphokinase. Bacteria synthesize HET-P from 2-iminoacetate, 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate and ThiS-thiocarboxylate using at least 7 proteins (Dxs, ThiS, ThiF, ThiO, NifS, ThiG, and TenI in *B. subtilis*), while only two proteins, ThiC and ThiD, are involved in the formation of HMP-PP (from 5-aminoimidazol ribotide (AIR)). In fungi, HET-P is formed from NAD and glycine, the source of sulfur being the Cys residue of the active site of the THI4 protein, a suicidal enzyme that carries out only one catalytic cycle. Another suicidal enzyme, THI5, is involved in the synthesis of HMP-PP in fungal cells. This enzyme incorporate a nitrogen atom of the Hys residue of its active site into the pyridine ring of pyridylxal-5-phosphate when forming HMP-P, which is then phosphorylated by the THI20 protein to HMP-PP. In plants, like in fungi, the formation of HET-P proceeds under the action of the THI1 (THI4) protein, while HMP-PP is synthesized via the bacterial pathway from AIR with the participation of THIC and THI proteins. Archaea synthesize the thiazole moiety of the thiamine molecule by the eukaryotic THI4 mechanism, and the pyrimidine, by the bacterial/plant pathway. Depending on species thiamine biosynthesis is regulated by ThDP riboswitches or by transcription factors.

**Keywords:** thiamine, biosynthesis, regulation, bacteria, archaea, yeasts, plants.

Тиамин (витамин В<sub>1</sub>) необходим для жизни всех известных организмов, выполняя в форме ТДФ каталитические функции в реакциях центрального и вторичного метаболизма. Геномами человека и животных кодируются 5 ТДФ-зависимых ферментов энергетического, углеводного, аминокислотного и липидного обмена – пируватдегидрогеназа (КФ 1.2.4.1), оксоглутаратдегидрогеназа (КФ 1.2.4.2), транскетолаза (КФ 2.2.1.1), 3-метил-2-оксобутаноатдегидрогеназа (ЕС 1.2.4.4) и 2-гидроксиацил-СоА-лиаза (КФ 4.1.2.63) [1]. Всего же список ферментов ПУВМВ насчитывает 32 ТДФ-зависимых белка [2], большинство из которых – это белки микробного происхождения, участвующие в специализированных метаболических путях. Наряду с тиамином и ТДФ в клетках организмов различных филогенетических линий присутствуют ТМФ и ТТФ [3]; кроме того, в объектах живой природы обнаружен тиаминный нуклеотид – АТТФ [4]. Роль этих соединений в процессах жизнедеятельности неизвестна. Результаты исследований, проведенных на кишечной палочке (*Escherichia coli*) и резуховидке Таля (*Arabidopsis thaliana*), указывают на возможные сигнальные или регуляторные функции ТТФ и АТТФ [3, 5, 6]. Было

установлено, что у *E. coli* ТТФ синтезируется из ТДФ и неорганического фосфата (P<sub>i</sub>) по хемиосмотическому механизму с участием АТФ-синтазы (КФ 7.1.2.2) [7]. В клетках бактерий ТДФ также может служить субстратом ТДФ–аденилтрансферазы (КФ 2.7.7.В3), катализирующей реакцию ТДФ + АДФ(АТФ) = АТТФ + P<sub>i</sub>(PP<sub>i</sub>) [8]. Сведения, которыми мы сегодня располагаем, о механизме биосинтеза ТТФ у эукариот достаточно противоречивы [1, 9]. Не исключено, что в головном мозге крысы, как и в бактериях, ТТФ синтезируется митохондриальной АТФ-синтазой, хотя подобный механизм не обнаружен в печени [9, 10]. В скелетных мышцах в процесс образования ТТФ, возможно, вовлечена цитозольная изоформа аденилаткиназы (АК1, КФ 2.7.4.3) [11]. О ферментах биосинтеза АТТФ в эукариотных клетках в настоящее время ничего не известно.

Структурные формулы В<sub>1</sub>-витамеров представлены на рисунке 1. Тиамин состоит из замещенных пиримидинового (4-амино-2-метилпиримидин) и тиазолового (4-метил-5- $\beta$ -гидроксиэтилтиазол) колец, которые соединены метиленовым мостиком. В клетках животных тиамин не синтезируется и поэтому должен постоянно поступать в организм с

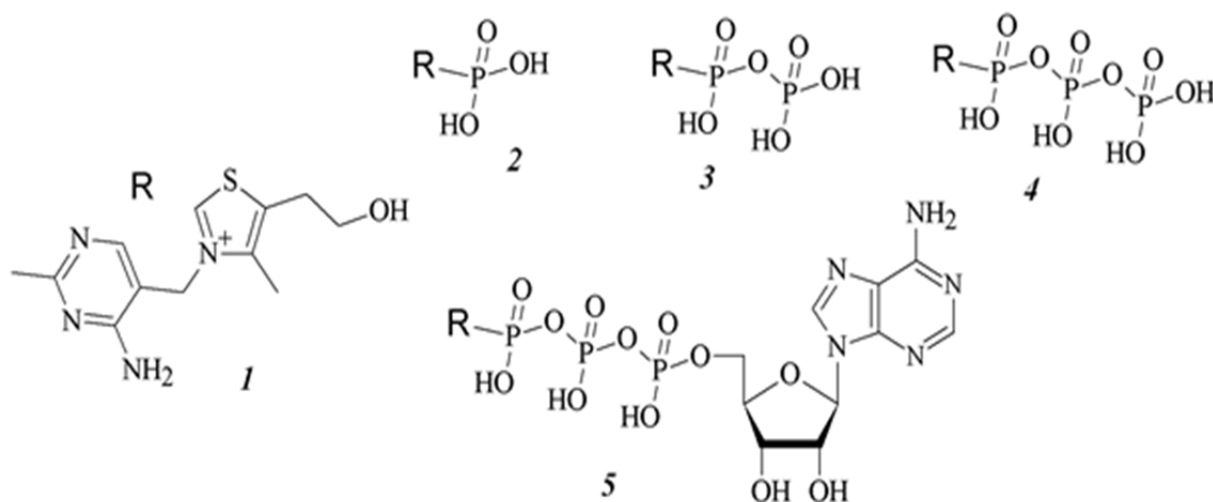
пищей. После попадания в клетку посредством специфических транспортеров ThTR1 и ThTR2 [12] молекула тиамин фосфорилируется до ТДФ по действием ТПК (КФ 2.7.6.2) [1]. У всех организмов, способных синтезировать витамин В<sub>1</sub> *de novo* (бактерии, археи, простейшие, растения и грибы), образование гетероциклических компонентов его молекулы осуществляется отдельно с последующей их конденсацией в ТМФ. У животных ТМФ образуется исключительно в результате гидролиза ТДФ, являясь продуктом его катаболизма.

За последние 20 лет в англоязычной научной литературе опубликовано несколько обзорных статей, посвященных биосинтезу тиамин у разных видов организмов [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]; на русском языке подобных публикаций нет. Цель данного обзора – кратко изложить современные представления о путях биосинтеза тиамин и их регуляции в трех доменах жизни – Bacteria,

Archaea и Eukaryota.

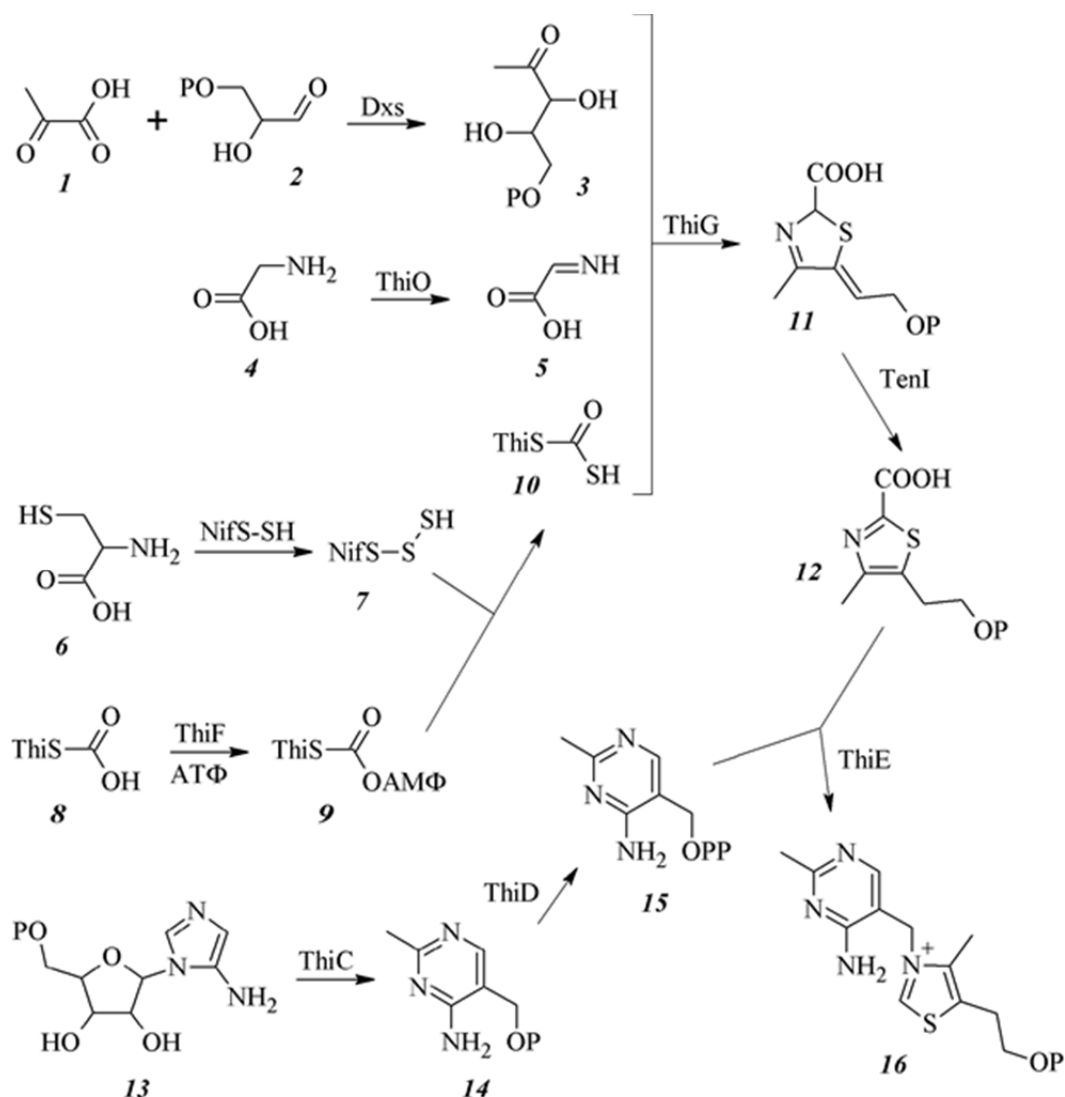
#### Биосинтез тиамин у бактерий

Наиболее детально синтез тиамин изучен у бактерий *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*. У этих видов тиазоловое кольцо формируется в результате совместного действия 7 белков, являющихся продуктами генных локусов Dxs, ThiS, ThiF, ThiH, IscS, ThiI и ThiG (у *E. coli*), Dxs, ThiS, ThiF, ThiO, NifS, ThiG и TenI (у *B. subtilis*), тогда как в образование пиримидинового компонента витамина В<sub>1</sub> вовлечены только два белка – ThiC и ThiD [21]. В настоящее время все гены, участвующие в биосинтезе тиамин в бактериальных клетках, идентифицированы и клонированы, кодируемые ими ферменты сверхэкспрессированы, структурно охарактеризованы, а последовательность реакций воспроизведена *in vitro* с помощью очищенных ферментных препаратов [17]. Схема биосинтеза тиамин В<sub>1</sub> у *B. subtilis* представлена на рисунке 2.



1 – тиамин, 2 – тиаминмонофосфат, 3 – тиаминдифосфат, 4 – тиаминтрифосфат, 5 – аденозин-тиаминтрифосфат; R – тиаминовая часть молекулы

Рисунок 1. – Химическая структура витамин В<sub>1</sub>



1 – пируват, 2 – глицеральдегид-3-фосфат, 3 – 1-деокси-D-ксилулозо-5-фосфат, 4 – глицин, 5 – 2-иминоацетат, 6 – цистеин, 7 – цистеин-десульфуреза, 8 – белок-переносчик серы, 9 – аденилированный белок-переносчик серы, 10 – ThiS-тиокарбоксилат, 11 – таутомер 2-карбокси-4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазол фосфата, 12 – 2-карбокси-4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазол фосфат, 13 – 5-аминоимдазолриботид, 14 – 4-амино-5-гидроксиметил-2-метилпиримидин фосфат, 15 – 4-амино-5-гидроксиметил-2-метилпиримидин дифосфат, 16 – ТМФ

Рисунок 2. – Биосинтез витамина B<sub>1</sub> у бактерий (*B. subtilis*)

На пути биосинтеза тиазолового гетероцикла 2-иминоацетат 5 подвергается конденсации с 1-деокси-D-ксилулозо-5-фосфатом 3 и ThiS-тиокарбоксилатом 10 под действием тиазол-синтазы (ThiG, КФ 2.8.1.10) с образованием таутомера тиазолфосфат-карбоксилата 11, который ароматизируется тиазол-таутомеразой (TenI, КФ 5.3.99.10) – последним из идентифицированных белков, участвующих в биосинтезе витамина B<sub>1</sub> у *B. subtilis* [22], – в тиазолфосфат-карбоксилат

12. Есть некоторые различия в путях биосинтеза тиазола у *B. subtilis* и *E. coli*. В аэробной клетке *B. subtilis* 2-иминоацетат 2 образуется при окислении глицина 1 флаavin-зависимой глицин-оксидазой (ThiO, КФ 1.4.3.19), тогда как у факультативно-анаэробных бактерий (*E. coli*, *Salmonella enterica*) источником 2-иминоацетата служит катализируемое 2-иминоацетат-синтазой (ThiH, КФ 4.1.99.19) расщепление тирозина [23]; в бактериальных клетках ThiH находится в виде αβ-

гетеродимера с ThiG [24]. Кроме того, у *E. coli* и *S. enterica* перенос серы с персульфида 7 (с десульфуразы IscS–S–SH) на аденилированный белок ThiS 9 с образованием ThiS-тиокарбоксилата 10 в норме опосредован белком ThiI (КФ 2.8.1.4) [25], хотя в определенных условиях возможен и ThiI-независимый трафик [26]. Стадии мобилизации атома серы с цистеина 6 цистеин-десульфуразой (NifS, IscS (КФ 2.8.1.7), активации С-концевой карбоксильной группы ThiS 8, катализируемой аденилилтрансферазой (ThiF, КФ 2.7.7.73), синтеза 1-дезоксид-ксилоулозо-5-фосфата 3 из пирувата 1 и глицеральдегид-3-фосфата 2 под действием ТДФ-зависимой дезокси-Д-ксилоулозо-5-фосфат-синтазы (Dxs, КФ 2.2.1.7), а также конденсации 11 у эубактерий одинаковы.

У бактерий пиримидиновый компонент витамина В<sub>1</sub> образуется из AIR 13 – интермедиата пуринового метаболизма – в результате катализируемой фосфометилпиримидин-синтазой (ThiC, КФ 4.1.99.17) перестройки его молекулы в НМР-Р 14, который затем фосфорилируется до дифосфата 15 фосфометилпиримидин-киназой (ThiD, КФ 2.7.4.7). Белок ThiD, не отличаясь высокой специфичностью, также способен фосфорилировать НМР до НМР-Р [27] при реутилизации тиамин (см. далее), что важно для экономии энергетических и пластических ресурсов клетки. Вместе с тем, субстратами данного белка могут служить различные производные НМР, в т. ч. природный антибиотик бациметрин [28], который превращается ThiD в 2'-метоксианалог НМР-РР и далее ферментами тиаминного пути (ThiE и ThiL) – в 2'-метокси-ТДФ, ингибирующий активность ТДФ-зависимых ферментов. Некоторые виды бактерий проявляют устойчивость к бациметрину благодаря наличию гена *thiD2* (вместо канонического *ThiD*). Белки ThiD2 представляют собой монофункциональные НМР-Р-киназы (не фосфорилируют НМР) [29].

На завершающем этапе тиаминфосфат-синтаза (ThiE, КФ 2.5.1.3) соединяет тиазолфосфат-карбоксилат 12 и НМР-РР 15 в молекулу ТМФ 16. Интересно отметить, что очень низкая тиаминфосфат-синтазная активность также характерна для белков семейства YjbQ, в норме, по-видимому, не имеющих никакого отношения к биосинтезу тиамин [30].

Большинство видов бактерий, в т. ч. *E.*

*coli* и *Salmonella typhimurium* [31, 32], осуществляют непосредственное фосфорилирование ТМФ до коферментной формы витамина В<sub>1</sub> – ТДФ – с помощью белка ThiL (тиаминфосфат-киназа, КФ 2.7.4.16). Вместе с тем у некоторых видов, например, у *Paracoccus denitrificans* и *Staphylococcus aureus* [33, 34, 35], синтезированный *de novo* ТМФ сначала подвергается гидролизу до тиамин, превращение которого в ТДФ катализирует ТПК (белок ThiN). В гидролизе ТМФ у бактерий, по-видимому, могут участвовать неспецифичные фосфатазы [35] и фосфатазы из суперсемейства НАД (галоацидные дегалогеназы) [36].

Достигнутый на сегодня прогресс в изучении биосинтеза тиамин у прокариот открывает новые горизонты поиска потенциальных мишеней среди бактериальных ферментов с целью разработки средств антимикробной терапии [18, 37]. В частности, в недавнем исследовании была показана перспективность такого подхода (ингибирование белка ThiL) в отношении *Pseudomonas aeruginosa* – патогена, вызывающего хронические инфекции мочевыделительного тракта, кожи и респираторной системы [38].

#### Биосинтез тиамин у грибов

Пути биосинтеза пиримидинового и тиазолового колец витамина В<sub>1</sub> в дрожжах кардинально отличаются от бактериальных [17, 21]. У *Saccharomyces cerevisiae* тиазол образуется из НАД 1 и глицина 2 в реакции, катализируемой белком THI4 (тиазол-киназа, КФ 2.8.1.10) (рисунок 3). Дрожжевая тиазол-киназа – суицидный фермент [39], предоставляющий в процессе катализа атом серы Cys-205 3 для формирования АДФ-аддукта НЕТ 4, который после гидролиза NUDIX-гидролазой превращается в тиазолфосфат-карбоксилат 5. Наряду с биосинтезом тиамин THI4 также участвует в репарации митохондриальной ДНК [40]. У filamentного гриба *Acremonium chrysogenum* образование интермедиата 4 катализирует суицидный белок ActhiS, инкорпорирующий в тиазоловый цикл свой атом серы Cys-217 [41]. Гомологом THI4 у *Neurospora crassa* является CyPBP37 [42]. Природа фермента, ответственного за гидролиз ADTZ, в настоящее время не известна.

Для биосинтеза пиримидинового цикла дрожжи используют в качестве исходных

субстратов гистидин **6** и пиридоксаль-5-фосфат **7**. В двухэтапном процессе, катализируемом белками THI5 (фосфометилпиримидин-синтаза, КФ 4.1.99.17) и THI20 (гидроксиметилпиримидин/ фосфометилпиримидин-киназа, КФ 2.7.1.49/КФ 2.7.4.7), образующийся на первой стадии НМР-Р **8** далее подвергается фосфорилированию до дифосфата **9** [17, 21]. Геном *S. cerevisiae* кодирует четыре паралога семейства белков THI5 (THI5/11/12/13) [43] и два паралога НМР-Р киназы – THI20 (преобладающая изоформа) и THI21 [44]. В экспериментах с рекомбинантным белком THI5 *Candida albicans* были получены данные, свидетельствующие о том, что источником гистидина в формировании пиримидинового цикла у дрожжей служит *His-66*, т. е. THI5, как и THI4 является суицидным ферментом, совершающим лишь один каталитический цикл [45].

Заключительная реакция тиаминового пути у грибов – конденсация **5** и **9** в молекулу ТМФ **10** – осуществляется белком THI6 (тиаминфосфат-синтаза, КФ 2.5.1.3) – бифункциональным ферментом, который также способен фосфорилировать НЕТ (КФ 2.5.1.3)

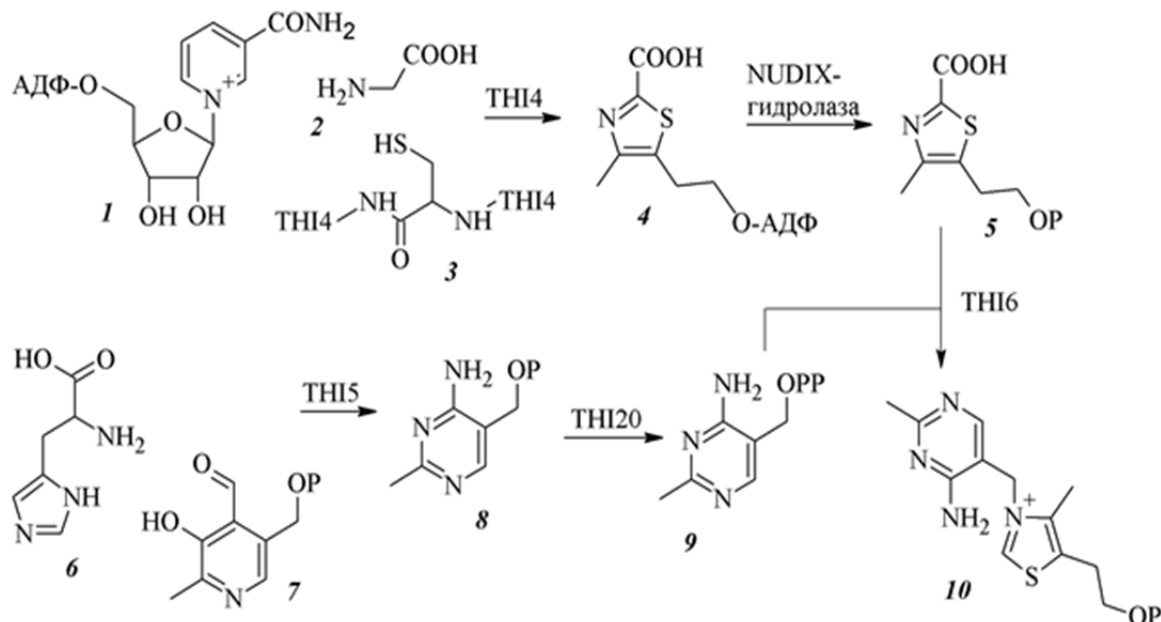
[46]

Следует отметить, что THI5-зависимый путь биосинтеза НМР-Р обнаружен и у некоторых видов бактерий. В частности, по такому пути НМР-Р образуется в клетках *Legionella pneumophila*, экспрессирующих белок LpTHI5 [47].

Геномы грибов не кодируют белки-ортологи бактериального фермента (ThiL), осуществляющего фосфорилирование ТМФ до ТДФ. Вместо этого грибами используется двухстадийный механизм. Сначала ТМФ подвергается гидролизу до свободного тиаминина под действием кислой фосфатазы (КФ 3.3.2). На втором этапе протекает реакция  $\text{ТМФ} + \text{АТФ} = \text{ТДФ} + \text{АМФ}$ , катализируемая белком Thi80 (ТПК) [48, 49].

### Биосинтез тиаминина у растений

Среди растительных организмов биосинтез тиаминина наиболее полно изучен у *Arabidopsis thaliana*. В клетках растений образование тиазолового кольца протекает по дрожжевому пути под действием белка THI1 – гомолога THI4 *S. cerevisiae*, тогда как НМР-РР синтезируется, как и в бактериях, из AIR с участием белков THIC и THI1 [19, 50].



1 – NAD, 2 – глицин, 3 – Cys-205 в THI4, 4 – аденозиндифосфат-5-β-гидроксиэтил-2- карбокси-4-метилтиазол, 5 – 2-карбокси-4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазол фосфат, 6 – гистидин, 7 – пиридоксаль-5-фосфат, 8 – 4-амино-5-гидроксиметил-2-метилпиримидин фосфат, 9 – 4-амино-5-гидроксиметил-2-метилпиримидин дифосфат, 10 – ТМФ

Рисунок 3. – Биосинтез витамина В<sub>1</sub> в дрожжах (*S. cerevisiae*)

Белок TH1 (TH3 у *Zea mays*) – бифункциональный фермент; его N-концевой домен катализирует фосфорилирование HMP-P до HMP-PP (и, кроме того, HMP до HMP-P), а C-концевой – конденсацию HMP-PP и HET-P с образованием ТМФ [51, 52]. Интересно отметить, что в геномах многих видов растений имеется по 2 и более ортологов TH3 и TH1 [53]. В растительных клетках местом синтеза ТМФ являются пластиды [19, 54]. У растений, как и у грибов, ТДФ может образоваться только в результате переноса пирофосфатной группы с молекулы АТФ на тиамин под действием цитозольной ТПК (Thi80). Поэтому ТМФ должен подвергнуться гидролизу, прежде чем вступить в реакцию, катализируемую Thi80. Селективная фосфатаза была идентифицирована у *A. thaliana* как продукт генного локуса TH2 (At5g32470), содержащий два домена – NAD, с которым ассоциирована ТМФазная активность, и TenA [55]. Получены данные, указывающие на возможность двойной субклеточной локализации белка TenA-NAD – в цитозоле и митохондриях [55, 56]. Ортологами TH2 у *Z. mays* являются гены GRMZM2G148896 и GRMZM2G078283, у *Oryza sativa* – *OsPALE1* [57].

У высших растений существует определенное «разделение труда» между органами и тканями в отношении биосинтеза тиамин. Высокий уровень экспрессии белков TH1, TH3 и TH1 отмечен в тканях, где интенсивно протекает фотосинтез (листья, околоцветники). Вместе с тем, в нефотосинтезирующих органах (пыльца, меристема верхушечных побегов, кончики корней, эмбрионы, эндосперм) наблюдается отсутствие или низкая экспрессия ферментов одной/обеих из ветвей тиаминного пути, что подразумевает зависимость этих органов от транспорта витамина либо его предшественников (HMP, HET) из других частей растения [19, 53, 58].

Синтез витамина В<sub>1</sub> растительными клетками представляет собой высоко затратный процесс. Как и тиазол-киназа *S. cerevisiae*, белок TH1 (его также обозначают TH4 или TH1/TH4) растений – суицидный фермент [59], для которого характерна необычно высокая скорость оборота [60, 61]. Кроме того, «почти» суицидным является TH3, способный осуществлять лишь несколько каталитических циклов [62]. По некоторым оценкам

деградация, синтез и транспорт TH1 и TH3 в пластиды обходится организму затратами от 2 до 13 % энергии, расходуемой на поддержание процессов жизнедеятельности [63]. В связи с этим метаболическая инженерия пути биосинтеза тиамин в настоящее время рассматривается в качестве перспективы повышения урожайности сельскохозяйственных культур [63, 64]. Данный подход также лежит в основе исследований, направленных на биофортификацию витамина В<sub>1</sub> – увеличение его содержания в продукции растениеводства [64, 65, 66, 67]. Интересно, что наряду с TH1 геномами некоторых злаковых (пшеница, ячмень, овес) кодируется паралог TH1, не содержащий в активном центре остаток Cys. Этот многоциклический фермент функционирует только в формирующихся зернах [59].

#### Биосинтез тиамин у архей

В наименьшей степени биосинтез тиамин изучен у представителей домена Archaea [13]. Сравнительный геномный анализ выявил наличие у архей генов, кодирующих белки, гомологичные ThiC, ThiD и ThiL, тогда как гомологи бактериальных белков тиазолового пути (и у большинства видов гомологи тиаминофосфат-синтазы (ThiE)) не обнаружены [68, 69]. В тех случаях, когда ThiE отсутствует, белки ThiD архей содержат дополнительный C-концевой домен ThiN [68, 70]. Показано, что ThiN-домен белка ThiDN *Pyrobaculum calidifontis*, экспрессированный в *E. coli*, обладает тиаминофосфат-синтазной активностью, являясь функциональным аналогом ThiE, а сам ThiDN, как и белок TH1 *A. thaliana* [51], катализирует фосфорилирование HMP-P до HMP-PP и конденсацию HMP-PP и HET-P с образованием ТМФ [71]. Геномами некоторых видов археобактерий кодируются оба фермента – ThiE и ThiDN [70]. О том, что биосинтез HMP-PP у архей протекает по бактериальному/растительному пути также свидетельствуют результаты исследований с мечеными атомами, согласно которым у *Halobacterium salinarum* в пиримидиновое кольцо тиамин включаются атомы <sup>15</sup>N-, 1-<sup>13</sup>C- и 2-<sup>13</sup>C-глицина, служащего предшественником AIR [72].

Тиазоловое кольцо молекулы тиамин у архей образуется, как и в эукариотных организмах, из глицина и NAD [73, 74]. Имеются

данные, указывающие на то, что отдельные группы архей (галофильные, аммоний-окисляющие, некоторые метаногены) эксплуатируют TH14-механизм включения серы в тиазоловый цикл [75]. Этот механизм, очевидно, не универсален, поскольку у большинства представителей домена Archaea ортологи TH14 содержат вместо Cys-164 (соответствующего Cys-205 в активном центре TH14 дрожжей) остаток гистидина [75]. Такой белок MjThi4 из *Methanococcus jannaschii*, использующий в качестве субстратов для синтеза ADTZ глицин, НАД и свободный сульфид, в отличие от TH14 не является суицидным ферментом, хотя его каталитическая эффективность крайне низка – всего 5 оборотов за 2 ч [73, 76]. Недавно ортологи не суицидальных TH14 были также обнаружены в геномах некоторых видов эубактерий, а их активность продемонстрирована в экспериментах по функциональной комплементации штамма *E. coli* *AthiG* [77, 78].

Как и в клетках эубактерий, у архей ТДФ синтезируется из ТМФ под действием тиаминфосфат-киназы (ThiL) [79].

#### **Реутилизация тиамин и продуктов его распада**

Помимо описанного выше синтеза *de novo*, бактерии могут использовать экзогенный тиамин либо продукты его деградации – N-формил-5-АМР, 5-АМР, НМР и НЕТ – с помощью ферментов YlmB (формиламинопиримидин-деформилаза, КФ 3.5.1.-), TenA (аминопиримидин-аминогидролаза, КФ 3.5.99.2), ThiD и ThiM (гидроксиэтилтиазолкиназа, КФ 2.7.1.50) [21]. Образующийся при разрушении витамина В<sub>1</sub> N-формил-5-АМР, попадая в клетку, подвергается деформилированию до 5-АМР белком YlmB [80]. Белок TenA катализирует гидролиз 5-АМР до НМР [80], который затем фосфорилируется ThiD до НМР-Р и НМР-РР; ThiM осуществляет перенос фосфатной группы АТФ на НЕТ с образованием НЕТ-Р [81, 82]. Системами реутилизации тиамин располагают и другие виды организмов. Так, у дрожжей в этот процесс вовлечены белки TH16, С-концевой домен которого гомологичен ThiM, и TH120 – трифункциональный фермент, способный катализировать реакцию гидролиза 5-АМР до НМР (TenA-домен) с последующим его поэтапным превращением в НМР-Р и НМР-РР

(ThiD-домен) [83]. Белки-ортологи TenA и ThiM также кодируются геномами растений и архей [84, 85, 86]. Транспортируемый в клетку экзогенный тиамин у бактерий может быть фосфорилирован до ТМФ тиаминкиназой (ThiK, КФ 2.7.1.89), а у некоторых видов непосредственно до ТДФ с помощью ТПК [33, 87]; в клетках эукариотных организмов, как уже говорилось выше, протекает только вторая из этих реакций. В домене Archaea ортологи ThiK и ТПК не обнаружены [68]. Следует отметить, что существуют таксономические группы ауксотрофных по тиамину про- и эукариотных организмов, у которых имеются «неполные» пути его биосинтеза. К числу подобных организмов, например, относится малярийный паразит *Plasmodium falciparum*, обладающий белками ThiM, ThiD и ThiE [88], а также многочисленные виды микроорганизмов, которые формируют бактерио- и фитопланктон морей и океанов [89, 90, 91]. Для жизнедеятельности таких видов достаточно наличия в окружающей среде недостающего компонента.

Некоторые организмы способны расщеплять витамин В<sub>1</sub> на тиазоловый и пиримидиновый компоненты с помощью тиаминаз. В зависимости от природы нуклеофильного агента, участвующего в разрыве С–N связи между гетероциклами молекулы тиамин, различают 2 класса таких ферментов – тиаминазы I и тиаминазы II [21]. Тиаминазы II (КФ 3.5.99.2), встречающаяся у бактерий, грибов и растений, использует исключительно воду для гидролиза тиамин до НМР и НЕТ. Есть основания полагать, что биологическая роль этого фермента заключается в реутилизации тиамин (белки TenA и TH120 являются тиаминазами II) [92, 93]. Тиаминазы I (КФ 2.5.1.2) объединяет группу ферментов, которые в качестве второго субстрата могут использовать различные сульфгидрильные соединения, ароматические и гетероциклические амины. Тиаминазы I обнаружена у отдельных видов прокариотных (роды *Bacillus*, *Clostridium*) и эукариотных организмов – простейших, папоротников, насекомых и рыб [94, 95]. В клетках растений также синтезируются разнообразные «анти тиаминовые» факторы неферментативной природы, среди которых наиболее активны О-дигидрокси фенольные соединения, разрушающие тиамин до двух основных продук-



тов – тиаминдисульфида и 5-AMP [19].

### Регуляция биосинтеза тиамин

Биосинтез витамина В<sub>1</sub> у разных видов организмов строго контролируется на уровне генов, РНК и белков [20, 70, 96, 97]. Важную роль играет регуляция по механизму отрицательной обратной связи с участием ТДФ-рибосвитча (ТН1-box) – сегмента мРНК, обнаруженного во всех трех доменах жизни. В клетках бактерий снижение экспрессии большинства генов тиаминного пути осуществляется при связывании ТДФ с ТН1-box в 5'-UTR мРНК, кодирующей регулируемый оперон (у *B. subtilis* – *tenA-tenI-thiOSGFD*), при этом индуцируется формирование Rho-независимого терминатора транскрипции либо маскируется последовательность Шайна-Дальгарно, необходимая для инициации трансляции [98]. У эукариотных организмов взаимодействие ТДФ с рибосвитчем пре-мРНК регулирует альтернативный сплайсинг, вызывая трансляцию нефункциональной открытой рамки считывания, раннюю терминацию транскрипции или образование нестабильного транскрипта [99]. Все исследованные виды растений имеют ТН1-box в 3'-UTR гена *THIC*; кроме того, у древних таксонов ТДФ-рибосвитч присутствует в 3'-UTR гена *THI1* [100, 101]. Экспрессия обоих генов – *THIC* и *THI4* – также регулируется у зеленых водорослей *Chlamydomonas reinhardtii* и *Volvox carterii*, при этом ТДФ-рибосвитч локализован в интроне 5'-UTR *THI4* и внутреннем интроне *THIC* [102]. Аналогичным образом, у мицелиальных грибов ТДФ-аптамер может являться частью интрона в 5'-UTR и контролировать экспрессию генов *THI4* и *NMT1* (ортолог *THI5*) либо находиться во внутреннем интроне; в дрожжах *Saccharomyces* и *Schizosaccharomyces* ТДФ-рибосвитчи не выявлены [103, 104, 105, 106, 107].

Широкая распространенность ТДФ-рибосвитча среди болезнетворных микроорганизмов делает его многообещающей мишенью для разработки антибиотиков нового поколения [108].

Недавно методами компьютерного анализа в РНК некоторых видов бактерий выявлен структурный мотив (“*ThiS*-мотив”), преимущественно связанный с генами биосинтеза НЕТ-Р – *ThiS*, *ThiE*, *ThiF*, *ThiH*, *ThiG*, *ThiM*, *tenI* [109, 110]. Часто (~ в 20 % случаев) этот

генетический элемент располагается непосредственно за ТДФ-рибосвитчем. Имеющиеся на сегодня экспериментальные данные указывают на то, что *ThiS*-мотив представляет собой новый класс участвующих в регуляции синтеза тиамин аптамеров, которые узнают НЕТ-РР (НЕТ-РР-рибосвитч) [110].

У многих представителей домена Archaea, в котором встречаемость ТДФ-рибосвитчей, вероятно, ограничена порядком *Thermoplasmatales*, контроль биосинтеза тиамин осуществляется семейством регуляторов транскрипции ThiR. Структура ThiR построена из N-концевого ДНК-связывающего домена и C-концевого лиганд-связывающего домена, напоминающего тиаминфосфатсинтазу (ThiN), который служит сенсором тиаминных метаболитов. При достаточном уровне тиамин в клетке TIR-белки подавляют экспрессию *thi4* и *thiC*. Кроме биосинтетических генов репрессорами ThiR регулируется транскрипция транспортеров тиамин и его предшественников [70, 111]. Транскрипционные факторы вовлечены в контроль за биосинтезом витамина В<sub>1</sub> и у других видов организмов, лишенных ТДФ-рибосвитча. Так, например, в дрожжах *S. cerevisiae* идентифицированы три белка (Thi2p, Thi3p и Pdc2p), которые координируют индукцию *THI*-генов в ответ на дефицит тиамин [112, 113].

**Заключение.** В настоящее время пути и механизмы регуляции биосинтеза витамина В<sub>1</sub> достаточно глубоко изучены у бактерий, дрожжей, растений и в меньшей степени – у представителей домена Archaea. К перспективным направлениям практического использования полученных знаний относятся разработка антибиотиков нового поколения и метаболическая инженерия путей биосинтеза тиамин в целях увеличения его содержания в продукции растениеводства (биофортификация) и повышения урожайности сельскохозяйственных культур.

### Список обозначений

АТТФ – аденозин-тиаминтрифосфат, ТДФ – тиаминдифосфат, ТМФ – тиаминмонофосфат, ТПК – тиаминпирофосфокиназа, ТТФ – тиаминтрифосфат, ADTZ – аденозиндифосфат-5-β-гидроксиэтил-2-карбокситиазол, AIR – 5-аминоимидазолриботид, 5-AMP – 4-амино-5-

аминометил-2-метилпиримидин, НМР – 4-амино-5-гидроksиметил-2-метилпиримидин, НМР-Р – 4-амино-5-гидроksиметил-2-метилпиримидин фосфат, НМР-РР – 4-амино-5-гидроksиметил-2-метилпиримидин дифосфат, НЕТ – 2-карбокci-4-метил-5-β-гидроksиэтилтиазол, 4-метил-5-β-гидроksиэтилтиазол, НЕТ-Р – 2-карбокci-4-метил-5-β-гидроksиэтилтиазол фосфат, 4-метил-5-β-гидроksиэтилтиазол фосфат, N-формил-5-АМР – N-формил-4-амино-5-аминометил-2-метилпиримидин

### Список литературы

1. Makarchikov, A. F. Vitamin B<sub>1</sub>: metabolism and functions / A. F. Makarchikov // Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomed. Chem. – 2009. – Vol. 3. – P. 116–128.
2. ExplorEnz – The Enzyme Database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.enzyme-database.org>. – Дата доступа: 22.11.2021.
3. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / A.F. Makarchikov [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477–1488.
4. Discovery of a natural thiamine adenine nucleotide / L. Bettendorff [et al.] // Nat. Chem. Biol. – 2007. – Vol. 3. – P. 211–212.
5. Thiamine triphosphate, a new signal required for optimal growth of *Escherichia coli* during amino acid starvation / B. Lakaye [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 17142–17147.
6. Adenosine thiamine triphosphate accumulates in *Escherichia coli* cells in response to specific conditions of metabolic stress / T. Gigliobianco [et al.] // BMC Microbiol. – 2010. – Vol. 10: 148.
7. An alternative role of FoF<sub>1</sub>-ATP synthase in *Escherichia coli*: synthesis of thiamine triphosphate / T. Gigliobianco [et al.] // Sci. Rep. – 2013. – Vol.3: 1071.
8. Makarchikov, A. F. Thiamine diphosphate adenylyl transferase from *E. coli*: functional characterization of the enzyme synthesizing adenosine thiamine triphosphate / A. F. Makarchikov, A. Brans, L. Bettendorff // BMC Biochem. – 2007. – Vol. 8:17.
9. Thiamine triphosphate: a ubiquitous molecule in search of a physiological role // L. Bettendorff [et al.] // Metab. Brain Dis. – 2014. – Vol. 29. – P. 1069–1082.
10. Thiamine triphosphate synthesis in rat brain occurs in mitochondria and is coupled to the respiratory chain / M. Gangolf [et al.] // J. Biol. Chem. – 2010. – Vol. 285. – P. 583–594.
11. Evidence for *in vivo* synthesis of thiamine triphosphate by cytosolic adenylate kinase in chicken skeletal muscle / K. Miyoshi [et al.] // J. Biochem. – 1990. – Vol. 108. – P. 267–270.
12. 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.
13. Maupin-Furlow, J.A. Vitamin B<sub>1</sub> (thiamine) metabolism and regulation in Archaea / J.A. Maupin-Furlow // B Group Vitamins-Current Uses and Perspectives / J.G. LeBlanc, G.S. De Giori, eds. – InTech, 2018. – P. 9–31.
14. Nosaka, K. Recent progress in understanding thiamine biosynthesis and its genetic regulation in *Saccharomyces cerevisiae* / K. Nosaka // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – Vol. 72. – P. 30–40.
15. Settembre, E. Structural biology of enzymes of the thiamin biosynthesis pathway / E. Settembre, T.P. Begley, S.E. Ealick // Curr. Opin. Struct. Biol. – 2003. – Vol. 13. – P. 739–747.
16. Fitzpatrick, T.B. Complex behavior: from cannibalism to suicide in the vitamin B<sub>1</sub> biosynthesis world / T.B. Fitzpatrick, S. Thore // Curr. Opin. Struct. Biol. – 2014. – Vol. 29. – P. 34–43.
17. Begley T. P. Thiamin biosynthesis – still yielding fascinating biological chemistry / T. P. Begley, S. E. Ealick, F. W. McLafferty // Biochem. Soc. Trans. – 2012. – Vol. 40. – P. 555–560.
18. Du, Q. Thiamin (vitamin B<sub>1</sub>) biosynthesis and regulation: a rich source of antimicrobial drug targets? / Q. Du, H. Wang, J. Xie // Int. J. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 7. – P. 41–52.
19. Goyer, A. Thiamine in plants: aspects of its metabolism and functions / A. Goyer // Phytochemistry. – 2010. – Vol. 71. – P. 1615–1624.
20. Kowalska, E. The genes and enzymes involved in the biosynthesis of thiamin and thiamin diphosphate in yeasts / E. Kowalska, A. Kozik // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2008. – Vol.

13. – P. 271–282.
21. Jurgenson, C. T. The structural and biochemical foundations of thiamin biosynthesis / C. T. Jurgenson, T. P. Begley, S.E. Ealick // *Annu. Rev. Biochem.* – 2009. – Vol. 78. – P. 569–603.
22. A missing enzyme in thiamin thiazole biosynthesis: identification of TenI as a thiazole tautomerase // A.B. Hazra [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2011. – Vol. 133. – P. 9311–9319.
23. Challand, M. R. Catalytic activity of the anaerobic tyrosine lyase required for thiamine biosynthesis in *Escherichia coli* / M.R. Challand, F.T. Martins, P.L. Roach // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285. – P. 5240–5248.
24. Thiamine biosynthesis in *Escherichia coli*: isolation and initial characterisation of the ThiGH complex / R. Leonardi [et al.] // *FEBS Lett.* – 2003. – Vol. 539. – P. 95–99.
25. Evidence that ThiI, an enzyme shared between thiamin and 4-thiouridine biosynthesis, may be a sulfurtransferase that proceeds through a persulfide intermediate / Palenchar P.M. [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 8283–8286.
26. Palmer L.D. The cysteine desulfhydrase CdsH is conditionally required for sulfur mobilization to the thiamine thiazole in *Salmonella enterica* / L.D. Palmer, M.H. Leung, D.M. Downs // *J. Bacteriol.* – 2014. – Vol. 196. – P. 3964–3970.
27. Cloning and characterization of the thiD/J gene of *Escherichia coli* encoding a thiamin-synthesizing bifunctional enzyme, hydroxymethylpyrimidine kinase/phosphomethylpyrimidine kinase / T. Mizote [et al.] // *Microbiology.* – 1999. – Vol. 145. – P. 495–501.
28. The mechanism of action of bacimethrin, a naturally occurring thiamin antimetabolite / J.J. Reddick [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2001. – Vol. 11. – P. 2245–2248.
29. A strictly monofunctional bacterial hydroxymethylpyrimidine phosphate kinase precludes damaging errors in thiamin biosynthesis / A.M. Thamm [et al.] // *Biochem J.* – 2017. – Vol. 474. – P. 2887–2895.
30. Sensitive genome-wide screen for low secondary enzymatic activities: the YjbQ family shows thiamin phosphate synthase activity / E. Morett [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 376. – P. 839–853.
31. Nakayama H. Biosynthesis of thiamine pyrophosphate in *Escherichia coli* / H. Nakayama, R. Hayashi // *J. Bacteriol.* – 1972. – Vol. 109. – P. 936–938.
32. Webb, E. Characterization of *thiL*, encoding thiamin-monophosphate kinase, in *Salmonella typhimurium* / E. Webb, D. Downs // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272. – P. 15702–15707.
33. Sanemori, H. Pathway of thiamine pyrophosphate synthesis in *Micrococcus denitrificans* / H. Sanemori, Y. Egi, T. Kawasaki // *J. Bacteriol.* – 1976. – Vol. 126. – P. 1030–1036.
34. Sanemori, H. Purification and properties of thiamine pyrophosphokinase in *Paracoccus denitrificans* / H. Sanemori, T. Kawasaki // *J. Biochem.* – 1980. – Vol. 88. – P. 223–230.
35. The vitamin B<sub>1</sub> metabolism of *Staphylococcus aureus* is controlled at enzymatic and transcriptional levels / I.B. Müller [et al.] // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4(11): e7656.
36. Bacterial and plant HAD enzymes catalyse a missing phosphatase step in thiamin diphosphate biosynthesis / G. Hasnain [et al.] // *Biochem. J.* – 2016. – Vol. 473. – P. 157–166.
37. Essential metabolic routes as a way to ESKAPE from antibiotic resistance / Barra A.L.C. [et al.] // *Front. Public Health.* – 2020. – Vol. 8: 26.
38. The ThiL enzyme is a valid antibacterial target essential for both thiamine biosynthesis and salvage pathways in *Pseudomonas aeruginosa* / H.J. Kim [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2020. – Vol. 295. – P. 10081–10091.
39. *Saccharomyces cerevisiae* THI4p is a suicidal thiamin thiazole synthase / A. Chatterjee [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 478. – P. 542–546.
40. Dual role for the yeast THI4 gene in thiamine biosynthesis and DNA damage tolerance / C.R. Machado [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1997. – Vol. 273. – P. 114–121.
41. Expression, purification, and activity of Ac-thiS, a thiazole biosynthesis enzyme from *Acremonium chrysogenum* / Z. Song [et al.] // *Biochemistry (Mosc).* – 2017. – Vol. 82. – P. 852–860.
42. Faou, P. *Neurospora crassa* CyPBP37: a cytosolic stress protein that is able to replace yeast Thi4p function in the synthesis of vitamin B<sub>1</sub> / P. Faou, M. Tropschug // *J. Mol. Bi-*

- ol. – 2004. – Vol. 344. – P. 1147–1157.
43. Wightman R. The *THI5* gene family of *Saccharomyces cerevisiae*: distribution of homologues among the hemiascomycetes and functional redundancy in the aerobic biosynthesis of thiamin from pyridoxine / R. Wightman, P.A. Meacock // *Microbiology*. – 2003. – Vol. 149. – P. 1447–1460.
  44. Llorente, B. Genetic redundancy and gene fusion in the genome of the Baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*: functional characterization of a three-member gene family involved in the thiamine biosynthetic pathway / B. Llorente, C. Fairhead, B. Dujon // *Mol. Microbiol.* – 1999. – Vol. 32. – P. 1140–1152.
  45. Thiamin pyrimidine biosynthesis in *Candida albicans*: a remarkable reaction between histidine and pyridoxal phosphate / R.-Y. Lai [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – Vol. 134. – P. 9157–9159.
  46. Kawasaki, Y. Copurification of hydroxyethylthiazole kinase and thiamine-phosphate pyrophosphorylase of *Saccharomyces cerevisiae*: characterization of hydroxyethylthiazole kinase as a bifunctional enzyme in the thiamine biosynthetic pathway / Y. Kawasaki // *J. Bacteriol.* – 1993. – Vol. 175. – P. 5153–5158.
  47. Paxhia, M.D. Functional characterization of the HMP-P synthase of *Legionella pneumophila* (Lpg1565) / M.D. Paxhia, M.S. Swanson, D.M. Downs // *Mol. Microbiol.* – 2021. – Vol. 115. – P. 539–553.
  48. Isolation and characterization of a thiamine pyrophosphokinase gene, THI80, from *Saccharomyces cerevisiae* / K. Nosaka [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 17440–17447.
  49. *Schizosaccharomyces pombe* thiamine pyrophosphokinase is encoded by gene *tnr3* and is a regulator of thiamine metabolism, phosphate metabolism, mating, and growth / H. Fankhauser [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270. – P. 28457–28462.
  50. High-resolution crystal structure of the eukaryotic HMP-P synthase (THIC) from *Arabidopsis thaliana* / S. Coquille [et al.] // *J. Struct. Biol.* – 2013. – Vol. 184. – P. 438–444.
  51. Ajjawi, I. Determination of the genetic, molecular, and biochemical basis of the *Arabidopsis thaliana* thiamin auxotroph *th1* / I. Ajjawi, Y. Tsegaye, D. Shintani // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2007. – Vol. 459. – P. 107–114.
  52. Molecular characterization of the *thi3* gene involved in thiamine biosynthesis in *Zea mays*: cDNA sequence and enzymatic and structural properties of the recombinant bifunctional protein with 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine (phosphate) kinase and thiamine monophosphate synthase activities / M. Rapala-Kozik [et al.] // *Biochem. J.* – 2007. – Vol. 408. – P. 149–159.
  53. Vitamin B<sub>1</sub> diversity and characterization of biosynthesis genes in cassava / N. Mangel [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2017. – Vol. 68. – P. 3351–3363.
  54. Plant vitamin B pathways and their compartmentations: a guide for the perplexed / S. Gerdes [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2012. – Vol. 63. – P. 5379–5395.
  55. *Arabidopsis TH2* encodes the orphan enzyme thiamin monophosphate phosphatase / M. Mimura [et al.] // *Plant Cell.* – 2016. – Vol. 28. – P. 2683–2696.
  56. The *Arabidopsis* thiamin-deficient mutant *pale green1* lacks thiamin monophosphate phosphatase of the vitamin B(1) biosynthesis pathway / W.Y. Hsieh [et al.] // *Plant J.* – 2017. – Vol. 91. – P. 145–157.
  57. The rice PALE1 homolog is involved in the biosynthesis of vitamin B1 / P.H. Hsieh [et al.] // *Plant Biotechnol. J.* – 2021. – Vol. 19. – P. 218–220.
  58. Divisions of labor in the thiamin biosynthetic pathway among organs of maize / J.-C. Guan [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2014. – Vol. 5: 370.
  59. Bioinformatic and experimental evidence for suicidal and catalytic plant THI4s / J. Joshi [et al.] // *Biochem. J.* – 2020. – Vol. 477. – P. 2055–2069.
  60. Proteins with high turnover rate in barley leaves estimated by proteome analysis combined with in planta isotope labeling / C.J. Nelson [et al.] // *Plant Physiol.* – 2014. – Vol. 166. – P. 91–108.
  61. Protein degradation rate in *Arabidopsis thaliana* leaf growth and development / L. Li [et al.] // *Plant Cell.* – 2017. – Vol. 29. – P. 207–228.
  62. Palmer, L.D. The thiamine biosynthetic enzyme ThiC catalyzes multiple turnovers and

- is inhibited by *S*-adenosylmethionine (AdoMet) metabolites / L.D. Palmer, D.M. Downs // *J. Biol. Chem.* – 2013. – Vol. 288. – P. 30693–30699.
63. Redesigning thiamin synthesis: Prospects and potential payoffs / A.D. Hanson [et al.] // *Plant Sci.* – 2018. – Vol. 273. – P. 92–99.
64. Fitzpatrick, T.B. The importance of thiamine (vitamin B<sub>1</sub>) in plant health: From crop yield to biofortification / T.B. Fitzpatrick, L.M. Chapman // *J. Biol. Chem.* – 2020. – Vol. 295. – P. 12002–112013.
65. Goyer, A. Thiamin biofortification of crops / A. Goyer // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2017. – Vol. 44. – P. 1–7.
66. Minhas A.P. Pathway editing targets for thiamine biofortification in rice grains / A.P. Minhas, R. Tuli, S. Puri // *Front. Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9: 975.
67. Metabolic engineering of rice endosperm towards higher vitamin B1 accumulation / S. Strobbe [et al.] // *Plant Biotechnol. J.* – 2021. – Vol. 19. – P. 1253–1267.
68. Comparative genomics of thiamin biosynthesis in prokaryotes. New genes and regulatory mechanisms / D.A. Rodionov [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 48949–48959.
69. Systematic discovery of analogous enzymes in thiamin biosynthesis / E. Morett [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 790–795.
70. ThiN as a versatile domain of transcriptional repressors and catalytic enzymes of thiamine biosynthesis / S. Hwang [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2017. – Vol. 199(4): e00743-16.
71. Enzymatic and structural characterization of an archaeal thiamin phosphate synthase / M. Hayashi [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1844. – P. 803–809.
72. The biosynthesis of the pyrimidine moiety of thiamin in *Halobacterium salinarum* / Y. Kijima [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo).* – 2016. – Vol. 62. – P. 130–133.
73. From suicide enzyme to catalyst: the iron-dependent sulfide transfer in *Methanococcus jannaschii* thiamin thiazole biosynthesis / B.E. Eser [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2016. – Vol. 138. P. 3639–3642.
74. The biosynthesis of the thiazole moiety of thiamin in the archaeon *Halobacterium salinarum* / M. Hayashi [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo).* – 2015. – Vol. 61. – P. 270–274.
75. Conserved active site cysteine residue of archaeal THI4 homolog is essential for thiamine biosynthesis in *Haloferax volcanii* / S. Hwang [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2014. – Vol. 14(1): 260.
76. Structural basis for iron-mediated sulfur transfer in archaeal and yeast thiazole synthases / X. Zhang [et al.] // *Biochemistry.* – 2016. – Vol. 55. – P. 1826–1838.
77. Parts-prospecting for a high-efficiency thiamin thiazole biosynthesis pathway / J. Sun [et al.] // *Plant Physiology.* – 2019. – Vol. 179. – P. 958–968.
78. Structure and function of aerotolerant, multiple-turnover THI4 thiazole synthases / J. Joshi [et al.] // *Biochem J.* – 2021. – Vol. 478. – P. 3265–3279.
79. Hayashi, M. Characterization of thiamin phosphate kinase in the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum calidifontis* / M. Hayashi, K. Nosaka // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo).* – 2015. – Vol. 61. – P. 369–374.
80. A new thiamin salvage pathway / A.H. Jenkins [et al.] // *Nat. Chem. Biol.* – 2007. – Vol. 3. – P. 492–497.
81. Mizote, T. The *thiM* locus and its relation to phosphorylation of hydroxyethylthiazole in *Escherichia coli* / T. Mizote, H. Nakayama // *J. Bacteriol.* – 1989. – Vol. 171. – P. 3228–3232.
82. Tani, Y. Purification and properties of 4-methyl-5-hydroxyethylthiazole kinase from *Escherichia coli* / Y. Tani, K. Kimura, H. Mihara // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2016, vol. 80, pp. 514–517.
83. French, J.B. Structure of trifunctional THI20 from yeast // J.B. French, T.P. Begley, S.E. Ealick // *Acta Cryst.* – 2011. – Vol. D67. – P. 784–791.
84. The 2.35 Å structure of the TenA homolog from *Pyrococcus furiosus* supports an enzymatic function in thiamine metabolism / J. Benach [et al.] // *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* – 2005. – Vol. 61. – P. 589–598.
85. Identification of the thiamin salvage enzyme thiazole kinase in Arabidopsis and maize / M. Yazdani [et al.] // *Phytochemistry.* – 2013. – Vol. 94. – P. 68–73.
86. Salvage of the thiamin pyrimidine moiety by plant TenA proteins lacking an active-site cysteine / R. Zallot [et al.] // *Biochem. J.* –

2014. – Vol. 463. – P. 145–155.
87. Identification of the two missing bacterial genes involved in thiamine salvage: thiamine pyrophosphokinase and thiamine kinase / J. Melnick [et al.] // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186. – P. 3660–3662.
88. Vitamin B<sub>1</sub> *de novo* synthesis in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* depends on external provision of 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine / C. Wrenger [et al.] // Biol. Chem. – 2006. – Vol. 387. – P. 41–51.
89. Discovery of a SAR11 growth requirement for thiamin's pyrimidine precursor and its distribution in the Sargasso Sea / P. Carini [et al.] // ISME J. – 2014. – P. 1–12.
90. Carboxythiazole is a key microbial nutrient currency and critical component of thiamin biosynthesis / R.W. Paerl [et al.] // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8: 5940.
91. Alternatives to vitamin B<sub>1</sub> uptake revealed with discovery of riboswitches in multiple marine eukaryotic lineages / D. McRose [et al.] // ISME J. – 2014. – Vol. 8. – P. 2517–2529.
92. Structural characterization of the regulatory proteins TenA and TenI from *Bacillus subtilis* and identification of TenA as a thiaminase II / A.V. Toms [et al.] // Biochemistry. – 2005. – Vol. 44. – P. 2319–2329.
93. Involvement of thiaminase II encoded by the THI20 gene in thiamin salvage of *Saccharomyces cerevisiae* / M. Onozuka [et al.] // FEMS Yeast Res. – 2008. – Vol. 8. – P. 266–275.
94. Structure of a eukaryotic thiaminase I / C.A. Kreinbring [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2014. – Vol. 111. – P. 137–142.
95. Kraft, C.E. A rapid method for assaying thiaminase I activity in diverse biological samples / C.E. Kraft, E.R.L. Gordon, E.R. Angert // PLoS ONE – 2014. – Vol. 9(3): e92688.
96. The vitamin B<sub>1</sub> metabolism of *Staphylococcus aureus* is controlled at enzymatic and transcriptional levels / I. B. Müller [et al.] // PLoS ONE. – 2009. – Vol. 4(11): e7656.
97. Thiamine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* is regulated by the NAD<sup>+</sup>-dependent histone deacetylase Hst1 / M. Li [et al.] // Mol. Cell. Biol. – 2010. – Vol. 30. – P. 3329–3341.
98. Miranda-Rios, J. The THI-box riboswitch, or how RNA binds thiamin pyrophosphate / J. Miranda-Rios // Structure. – 2007. – Vol. 15. – P. 259–265.
99. Wachter, A. Riboswitch-mediated control of gene expression in eukaryotes / A. Wachter // RNA Biol. – 2010. – Vol. 7. – P. 67–76.
100. Bocobza, S.E. Small molecules that interact with RNA: riboswitch-based gene control and its involvement in metabolic regulation in plants and algae / S.E. Bocobza, A. Aharoni // Plant J. – 2014. – Vol. 79. – P. 693–703.
101. Riboswitch-dependent gene regulation and its evolution in the plant kingdom / S. Bocobza [et al.] // Genes Dev. – 2007. – Vol. 21. – P. 2874–2879.
102. Thiamine biosynthesis in algae is regulated by riboswitches / Croft M. T. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol. 104. – P. 20770–20775.
103. Moldovan, M. A. Comparative genomic analysis of fungal TPP-riboswitches / M. A. Moldovan, S. A. Petrova, M. S. Gelfand // Fungal Genet. Biol. – 2018. – Vol. 114. – P. 31–41.
104. Control of alternative RNA splicing and gene expression by eukaryotic riboswitches / M.T. Cheah [et al.] // Nature. – 2007. – Vol. 447. – P. 497–500.
105. Phylogenomic and comparative analysis of the distribution and regulatory patterns of TPP riboswitches in fungi / Mukherjee S. // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8: 5563.
106. Sudarsan, N. Metabolite-binding RNA domains are present in the genes of eukaryotes / N. Sudarsan, J.E. Barrick, R.R. Breaker // RNA. – 2003. – Vol. 9. – P. 644–647.
107. Thiamine-regulated gene expression of *Aspergillus oryzae* thiA requires splicing of the intron containing a riboswitch-like domain in the 5'-UTR / T. Kubodera [et al.] // FEBS Lett. – 2003. – Vol. 555. – P. 516–520.
108. Panchal, V. Riboswitches as drug targets for antibiotics / V. Panchal, R. Brenk // Antibiotics (Basel). – 2021. – Vol. 10(1): 45.
109. Genome-wide discovery of structured noncoding RNAs in bacteria / S. Stav [et al.] // BMC Microbiol. – 2019. – Vol. 19: 66.
110. A bacterial riboswitch class for the thiamin precursor HMP-PP employs a terminator-embedded aptamer / R.M. Atilho [et al.] // Elife. – 2019. – Vol. 8: e45210.
111. A novel transcriptional regulator related to thiamine phosphate synthase controls thia-

mine metabolism genes in *Archaea* / D.A. Rodionov [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2017. – Vol. 199(4): e00743-16.

112. Nosaka, K. Recent progress in understanding thiamine biosynthesis and its genetic regulation in *Saccharomyces cerevisiae* / K. Nosaka // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 72. – P. 30–40.
113. Facilitated recruitment of Pdc2p, a yeast transcriptional activator, in response to thiamine starvation / K. Nosaka [et al.] // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2012. – Vol. 330. – P. 140–147.

## References

1. Makarchikov A.F. Vitamin B<sub>1</sub>: metabolism and functions. *Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomed. Chem.*, 2009, vol. 3. pp. 116–128.
2. ExplorEnz – The Enzyme Database. Available at: <https://www.enzyme-database.org>. (accessed: 22.11.2021).
3. Makarchikov A.F., Lakaye B., Gulyai I.E., Czerniecki J., Coumans B., Wins P., Crisar T., Bettendorff L. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2003, vol. 60, pp. 1477–1488.
4. Bettendorff L., Witzersfeld B., Makarchikov A.F., Mazzucchelli G., Frédéric M., Gigliobianco T., Gandolf M., De Pauw E., Angelot L., Wins P. Discovery of a natural thiamine adenine nucleotide. *Nat. Chem. Biol.*, 2007, vol. 3, pp. 211–212.
5. Lakaye B., Witzersfeld B., Wins P., Crisar T., Bettendorff L. Thiamine triphosphate, a new signal required for optimal growth of *Escherichia coli* during amino acid starvation. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, pp. 17142–17147.
6. Gigliobianco T., Lakaye B., Wins P., El Moulaj B., Zorzi W., Bettendorff L. Adenosine thiamine triphosphate accumulates in *Escherichia coli* cells in response to specific conditions of metabolic stress. *BMC Microbiol.*, 2010, vol. 10: 148.
7. Gigliobianco T., Gangolf M., Lakaye B., Pirson B., von Ballmoos C., Wins P., Bettendorff L. An alternative role of FoF1-ATP synthase in *Escherichia coli*: synthesis of thiamine triphosphate. *Sci. Rep.*, 2013, vol. 3: 1071.
8. Makarchikov A.F., Brans A., Bettendorff L. Thiamine diphosphate adenylyl transferase from *E. coli*: functional characterization of the enzyme synthesizing adenosine thiamine triphosphate. *BMC Biochem.*, 2007, vol. 8:17.
9. Bettendorff L., Lakaye B., Kohn G., Wins P. Thiamine triphosphate: a ubiquitous molecule in search of a physiological role. *Metab. Brain Dis.*, 2014, vol. 29, pp. 1069–1082.
10. Gangolf M., Wins P., Thiry M., El Moulaj B., Bettendorff L. Thiamine triphosphate synthesis in rat brain occurs in mitochondria and is coupled to the respiratory chain. *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, pp. 583–594.
11. Miyoshi K., Egi Y., Shioda T., Kawasaki T. Evidence for *in vivo* synthesis of thiamin triphosphate by cytosolic adenylyl kinase in chicken skeletal muscle. *J. Biochem.*, 1990, vol. 108, pp. 267–270.
12. 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.
13. Maupin-Furlow, J.A. Vitamin B1 (thiamine) metabolism and regulation in Archaea. *B Group Vitamins-Current Uses and Perspectives*, InTech, 2018, pp. 9–31.
14. Nosaka K. Recent progress in understanding thiamine biosynthesis and its genetic regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 72, pp. 30–40.
15. Settembre E., Begley T.P., Ealick S.E. Structural biology of enzymes of the thiamin biosynthesis pathway. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2003, vol. 13, pp. 739–747.
16. Fitzpatrick T.B., Thore S. Complex behavior: from cannibalism to suicide in the vitamin B1 biosynthesis world. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2014, vol. 29, pp. 34–43.
17. Begley T.P., Ealick S.E., McLafferty F.W. Thiamin biosynthesis – still yielding fascinating biological chemistry. *Biochem. Soc. Trans.*, 2012, vol. 40, pp. 555–560.
18. Du Q., Wang H., Xie J. Thiamin (vitamin B1) biosynthesis and regulation: a rich source of anti-microbial drug targets? *Int. J. Biol. Sci.*, 2011, vol. 7, pp. 41–52.
19. Goyer A. Thiamine in plants: aspects of its metabolism and functions. *Phytochemistry*, 2010, vol. 71, pp. 1615–1624.
20. Kowalska E., Kozik A. The genes and enzymes involved in the biosynthesis of thia-

- min and thiamin diphosphate in yeasts. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 2008, vol. 13, pp. 271–282.
21. Jurgenson C.T., Begley T.P., Ealick S.E. The structural and biochemical foundations of thiamin biosynthesis. *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, vol. 78, pp. 569–603.
  22. Hazra A.B., Han Y., Chatterjee A., Zhang Y., Lai R.-Y., Ealick S.E., Begley T.P. A missing enzyme in thiamin thiazole biosynthesis: identification of TenI as a thiazole tautomerase. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, vol. 133, pp. 9311–9319.
  23. Challand M.R., Martins F.T., Roach P.L. Catalytic activity of the anaerobic tyrosine lyase required for thiamine biosynthesis in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, pp. 5240–5248.
  24. Leonardi R., Fairhurst S.A., Kriek M., Lowe D.J., Roach P.L. Thiamine biosynthesis in *Escherichia coli*: isolation and initial characterisation of the ThiGH complex. *FEBS Lett.*, 2003, vol. 539, pp. 95–99.
  25. Palenchar P.M., Buck C.J., Cheng H., Larson T.J., Mueller E.G. Evidence that ThiI, an enzyme shared between thiamin and 4-thiouridine biosynthesis, may be a sulfurtransferase that proceeds through a persulfide intermediate. *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, pp. 8283–8286.
  26. Palmer L.D., Leung M.H., Downs D.M. The cysteine desulfhydrase CdsH is conditionally required for sulfur mobilization to the thiamine thiazole in *Salmonella enteric*. *J. Bacteriol.*, 2014, vol. 196, pp. 3964–3970.
  27. Mizote T., Tsuda M., Smith D.D.S., Nakayama H., Nakazawa, T. Cloning and characterization of the thiD/J gene of *Escherichia coli* encoding a thiamin-synthesizing bifunctional enzyme, hydroxymethylpyrimidine kinase/phosphomethylpyrimidine kinase. *Microbiology*, 1999, vol. 145, pp. 495–501.
  28. Reddick J.J., Saha S., Lee J.-m., Melnick J.S., Perkins J., Begley T.P. The mechanism of action of bacimethrin, a naturally occurring thiamin antimetabolite. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001, vol. 11, pp. 2245–2248.
  29. Thamm A.M., Li G., Taja-Moreno M., Gerdes S.Y., de Crécy-Lagard V., Bruner S.D., Hanson A.D. A strictly monofunctional bacterial hydroxymethylpyrimidine phosphate kinase precludes damaging errors in thiamin biosynthesis. *Biochem J.*, 2017, vol. 474, pp. 2887–2895.
  30. Morett E., Saab-Rincón G., Olvera L., Olvera M., Flores H., Grande R. Sensitive genome-wide screen for low secondary enzymatic activities: the YjbQ family shows thiamin phosphate synthase activity. *J. Mol. Biol.*, 2008, vol. 376, pp. 839–853.
  31. Nakayama H., Hayashi R. Biosynthesis of thiamine pyrophosphate in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1972, vol. 109, pp. 936–938.
  32. Webb E., Downs D. Characterization of thiL, encoding thiamin-monophosphate kinase, in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, pp. 15702–15707.
  33. Sanemori H., Egi Y., Kawasaki T. Pathway of thiamine pyrophosphate synthesis in *Micrococcus denitrificans*. *J. Bacteriol.*, 1976, vol. 126, pp. 1030–1036.
  34. Sanemori H., Kawasaki T. Purification and properties of thiamine pyrophosphokinase in *Paracoccus denitrificans*. *J. Biochem.*, 1980, vol. 88, pp. 223–230.
  35. Müller I.B., Bergmann B., Groves M.R., Couto I., Amaral L., Begley T.P., Walter R.D., Wrenger C. The vitamin B<sub>1</sub> metabolism of *Staphylococcus aureus* is controlled at enzymatic and transcriptional levels. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4(11): e7656.
  36. Hasnain G., Roje G., Sa N., Zallo R., Ziemak M.J., de Crécy-Lagard V., Gregory J.F. III, Hanson A.D. Bacterial and plant HAD enzymes catalyse a missing phosphatase step in thiamin diphosphate biosynthesis. *Biochem. J.*, 2016, vol. 473, pp. 157–166.
  37. Barra A.L.C., Dantas L.O.C., Morão L.G., Gutierrez R.F., Polikarpov I., Wrenger C., Nascimento A.S. Essential metabolic routes as a way to ESKAPE from antibiotic resistance. *Front. Public Health*, 2020, vol. 8: 26.
  38. Kim H.J., Lee H., Lee Y., Choi I., Ko Y., Lee S., Jang S. The ThiL enzyme is a valid antibacterial target essential for both thiamine biosynthesis and salvage pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, pp. 10081–10091.
  39. Chatterjee A., Abeydeera N.D., Bale S., Pai P.-J., Dorrestein P.C., Russell D.H., Ealick S.E., Begley T.P. *Saccharomyces cerevisiae* THI4p is a suicidal thiamin thiazole synthase. *Nature*, 2011, vol. 478, pp. 542–546.
  40. Machado C.R., Praekelt U.M., de Oliveira R.C., Barbosa A.C., Byrne K.L., Meacock P.A., Menck C.F. Dual role for the yeast



- THI4 gene in thiamine biosynthesis and DNA damage tolerance. *J. Mol. Biol.*, 1997, vol. 273, pp. 114–121.
41. Song Z., Pan J., Xie L., Gong G., Han S., Zhang W., Hu Y. Expression, purification, and activity of Acth1S, a thiazole biosynthesis enzyme from *Acremonium chrysogenum*. *Biochemistry (Mosc.)*, 2017, vol. 82, pp. 852–860.
42. Faou P., Tropschug M. *Neurospora crassa* CyPBP37: a cytosolic stress protein that is able to replace yeast Thi4p function in the synthesis of vitamin B<sub>1</sub>. *J. Mol. Biol.*, 2004, vol. 344, pp. 1147–1157.
43. Wightman, R. P.A. Meacock. The *THI5* gene family of *Saccharomyces cerevisiae*: distribution of homologues among the hemiascomycetes and functional redundancy in the aerobic biosynthesis of thiamin from pyridoxine. *Microbiology*, 2003, vol. 149, pp. 1447–1460.
44. Llorente B., Fairhead C., Dujon B. Genetic redundancy and gene fusion in the genome of the Baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*: functional characterization of a three-member gene family involved in the thiamine biosynthetic pathway. *Mol. Microbiol.*, 1999, vol. 32, pp. 1140–1152.
45. Lai R.-Y., Huang S., Fenwick M.K., Hazra A., Zhang Y., Rajashankar K., Philmus B., Kinsland C., Sanders J.M., Ealick S.E., Begley T.P. Thiamin pyrimidine biosynthesis in *Candida albicans*: a remarkable reaction between histidine and pyridoxal phosphate. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, vol. 134, pp. 9157–9159.
46. Kawasaki Y. Copurification of hydroxyethylthiazole kinase and thiamine-phosphate pyrophosphorylase of *Saccharomyces cerevisiae*: characterization of hydroxyethylthiazole kinase as a bifunctional enzyme in the thiamine biosynthetic pathway. *J. Bacteriol.*, 1993, vol. 175, pp. 5153–5158.
47. Paxhia M.D., Swanson M.S., Downs D.M. Functional characterization of the HMP-P synthase of *Legionella pneumophila* (Lpg1565). *Mol. Microbiol.*, 2021, vol. 115, pp. 539–553.
48. Nosaka K., Kaneko Y., Nishimura H., Iwashima A. Isolation and characterization of a thiamine pyrophosphokinase gene, THI80, from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, 1993, vol. 268, pp. 17440–17447.
49. Fankhauser H., Zurlinden A., Schweingruber A.M., Edenharter E., Schweingruber M.E. *Schizosaccharomyces pombe* thiamine pyrophosphokinase is encoded by gene *tnr3* and is a regulator of thiamine metabolism, phosphate metabolism, mating, and growth. *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, pp. 28457–28462.
50. Coquille S., Roux C., Mehta A., Begley T.P., Fitzpatrick T.B., Thore S. High-resolution crystal structure of the eukaryotic HMP-P synthase (THIC) from *Arabidopsis thaliana*. *J. Struct. Biol.*, 2013, vol. 184, pp. 438–444.
51. Ajjawi I., Tsegaye Y., Shintani D. Determination of the genetic, molecular, and biochemical basis of the *Arabidopsis thaliana* thiamin auxotroph *th1*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007, vol. 459, pp. 107–114.
52. Rapala-Kozik M., Olczak M., Ostrowska K., Starosta A., Kozik A. Molecular characterization of the *thi3* gene involved in thiamine biosynthesis in *Zea mays*: cDNA sequence and enzymatic and structural properties of the recombinant bifunctional protein with 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine (phosphate) kinase and thiamine monophosphate synthase activities. *Biochem. J.*, 2007, vol. 408, pp. 149–159.
53. Mangel N., Fudge J.B., Fitzpatrick T.B., Gruissem W., Vanderschuren H. Vitamin B<sub>1</sub> diversity and characterization of biosynthesis genes in cassava. *J. Exp. Bot.*, 2017, vol. 68, pp. 3351–3363.
54. Gerdes S., Lerma-Ortiz C, Frelin O., Seaver S.M.D., Henry C.S., de Crécy-Lagard V., Hanson A.D. Plant vitamin B pathways and their compartmentations: a guide for the perplexed. *J. Exp. Bot.*, 2012, vol. 63, pp. 5379–5395.
55. Mimura M. Zallotb R., Niehaus T.D., Hasnaina G., Giddac S.K., Nguyenc T.N.D., Andersonc E.M., Mullenc R.T., Brownd G., Yakunind A.F., de Crécy-Lagardb V., Gregory J.F. III, McCartya D.R., Hanson A.D. *Arabidopsis TH2* encodes the orphan enzyme thiamin monophosphate phosphatase. *Plant Cell*, 2016, vol. 28, pp. 2683–2696.
56. W.Y. Hsieh., Liao J.-C., Wang H.-T., Hung T.-H., Tseng C.-C., Chung T.-Y., Hsieh M.-H. The *Arabidopsis* thiamin-deficient mutant *pale green1* lacks thiamin monophosphate phosphatase of the vitamin B(1) biosynthesis pathway. *Plant J.*, 2017, vol. 91, pp. 145–

- 157.
57. Hsieh P.H., Chung Y.H., Lee K.T., Wang S.Y., Lu C.A., Hsieh M.H. The rice PALE1 homolog is involved in the biosynthesis of vitamin B1. *Plant Biotechnol. J.*, 2021, vol. 19, pp. 218–220.
58. Guan J.-C., Hasnain G., Garrett T.J., Chase C.D., Gregory J., Hanson A.D., McCarty D.R. Divisions of labor in the thiamin biosynthetic pathway among organs of maize. *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5: 370.
59. Joshi J., Beaudoin G.A.W., Patterson J.A., García-García J.D., Belisle C.E., Chang L.-Y., Li L., Duncan O., Millar A.H., Hanson A.D. Bioinformatic and experimental evidence for suicidal and catalytic plant THI4s. *Biochem. J.*, 2020, vol. 477, pp. 2055–2069.
60. Nelson C.J., Alexova R., Jacoby R.P., Millar A.H. Proteins with high turnover rate in barley leaves estimated by proteome analysis combined with in planta isotope labeling. *Plant Physiol.*, 2014, vol. 166, pp. 91–108.
61. Li L., Nelson C.J., Trösch J., Castleden I., Huang S., Millar A.H. Protein degradation rate in *Arabidopsis thaliana* leaf growth and development. *Plant Cell.*, 2017, vol. 29, pp. 207–228.
62. Palmer L.D., Downs D.M. The thiamine biosynthetic enzyme ThiC catalyzes multiple turnovers and is inhibited by S-adenosylmethionine (AdoMet) metabolites. *J. Biol. Chem.*, 2013, vol. 288, pp. 30693–30699.
63. Hanson A.D., Amthor J.S., Sun J., Niehaus T.D., Gregory J.F. 3rd, Bruner S.D., Ding Y. Redesigning thiamin synthesis: Prospects and potential payoffs. *Plant Sci.*, 2018, vol. 273, pp. 92–99.
64. Fitzpatrick T.B., Chapman L.M. The importance of thiamine (vitamin B<sub>1</sub>) in plant health: From crop yield to biofortification. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, pp. 12002–112013.
65. Goyer A. Thiamin biofortification of crops. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2017, vol. 44, pp. 1–7.
66. Minhas A.P., Tuli R., Puri S. Pathway editing targets for thiamine biofortification in rice grains. *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9: 975.
67. Strobbe S., Verstraete J., Stove C., Van Der Straeten D. Metabolic engineering of rice endosperm towards higher vitamin B1 accumulation. *Plant Biotechnol. J.*, 2021, vol. 19, pp. 1253–1267.
68. Rodionov D.A., Vitreschak A.G., Mironov A.A., Gelfand M.S. Comparative genomics of thiamin biosynthesis in prokaryotes. New genes and regulatory mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 48949–48959.
69. Morett E., Korbel J.O., Rajan E., Saab-Rincon G., Olvera L., Olvera M., Schmidt S., Snel B., Bork P. Systematic discovery of analogous enzymes in thiamin biosynthesis. *Nat. Biotechnol.*, 2003, vol. 21, pp. 790–795.
70. Hwang S., Cordova B., Abdo M., Pfeiffer F., Maupin-Furlow J.A. ThiN as a versatile domain of transcriptional repressors and catalytic enzymes of thiamine biosynthesis. *J. Bacteriol.*, 2017, vol. 199(4): e00743-16.
71. Hayashi M., Kobayashi K., Esaki H., Konno H., Akaji K., Tazuya K., Yamada K., Nakabayashi T., Nosaka K. Enzymatic and structural characterization of an archaeal thiamin phosphate synthase. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1844, pp. 803–809.
72. Kijima Y., Hayashi M., Yamada K., Tazuya-Murayama K. The biosynthesis of the pyrimidine moiety of thiamin in *Halobacterium salinarum*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, 2016, vol. 62, pp. 130–133.
73. Eser B.E., Zhang X., Chanani P.K., Begley T.P., Ealick S.E. From suicide enzyme to catalyst: the iron-dependent sulfide transfer in *Methanococcus jannaschii* thiamin thiazole biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, vol. 138, pp. 3639–3642.
74. Hayashi M., Kijima Y., Tazuya-Murayama K., Yamada K. The biosynthesis of the thiazole moiety of thiamin in the archaeon *Halobacterium salinarum*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, 2015, vol. 61, pp. 270–274.
75. Hwang S., Cordova B., Chavarria N., Elbanna D., McHugh S., Rojas J., Pfeiffer F., Maupin-Furlow J.A. Conserved active site cysteine residue of archaeal THI4 homolog is essential for thiamine biosynthesis in *Haloferax volcanii*. *BMC Microbiol.*, 2014, vol. 14(1): 260.
76. Zhang X., Eser B.E., Chanani P.K., Begley T.P., Ealick S.E. Structural basis for iron-mediated sulfur transfer in archaeal and yeast thiazole synthases. *Biochemistry*, 2016, vol. 55, pp. 1826–1838.
77. Sun J., Sigler C.L., Beaudoin G.A.W., Joshi J., Patterson J.A., Cho K.H., Ralat M.A.,

- Gregory J.F. 3rd, Clark D.G., Deng Z., Colquhoun T.A., Hanson A.D. Parts-prospecting for a high-efficiency thiamin thiazole biosynthesis pathway. *Plant Physiology*, 2019, vol. 179, pp. 958–968.
78. Joshi J., Li Q., García-García J.D., Leong B.J., Hu Y., Bruner S.D., Hanson A.D. Structure and function of aerotolerant, multiple-turnover THI4 thiazole synthases. *Biochem J.*, 2021, vol. 478, pp. 3265–3279.
79. Hayashi M., Nosaka K. Characterization of thiamin phosphate kinase in the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum calidifontis*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, 2015, vol. 61, pp. 369–374.
80. Jenkins A.H., Schyns G., Potot S., Sun G., Begley T.P. A new thiamin salvage pathway. *Nat. Chem. Biol.*, 2007, vol. 3, pp. 492–497.
81. Mizote T., Nakayama H. The *thiM* locus and its relation to phosphorylation of hydroxyethylthiazole in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1989, vol. 171, pp. 3228–3232.
82. Tani Y., Kimura K., Mihara H. Purification and properties of 4-methyl-5-hydroxyethylthiazole kinase from *Escherichia coli*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2016, vol. 80, pp. 514–517.
83. French J.B., Begley T.P., Ealick S.E. Structure of trifunctional THI20 from yeast. *Acta Cryst.*, 2011, vol. D67, pp. 784–791.
84. Benach J., Edstrom W.C., Lee I., Das K., Cooper B., Xiao R., Liu J., Rost B., Acton T.B., Montelione G.T., Hunt J.F. The 2.35 Å structure of the TenA homolog from *Pyrococcus furiosus* supports an enzymatic function in thiamine metabolism. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, 2005, vol. 61, pp. 589–598.
85. Yazdani M., Zallot R., Tunc-Ozdemir M., de Crécy-Lagard V., Shintani D.K., Hanson A.D. Identification of the thiamin salvage enzyme thiazole kinase in Arabidopsis and maize. *Phytochemistry*, 2013, vol. 94, pp. 68–73.
86. Zallot R., Yazdani M., Goyer A., Ziemak M.J., Guan J.-C., McCarty D.R., de Crécy-Lagard V., Gerdes S., Timothy J., Garrett T.J., Benach J., Hunt J.F., Shintani D.K., Hanson A.D. Salvage of the thiamin pyrimidine moiety by plant TenA proteins lacking an active-site cysteine. *Biochem. J.*, 2014, vol. 463, pp. 145–155.
87. Melnick J., Lis E., Park J.-H., Kinsland C., Mori H., Baba T., Perkins J., Schyns G., Vassieva O., Osterman A., Begley T.P. Identification of the two missing bacterial genes involved in thiamine salvage: thiamine pyrophosphokinase and thiamine kinase. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, pp. 3660–3662.
88. Wrenger C., Eschbach M.-L., Muller I.B., Laun N.P., Begley T.P., Walter R.D. Vitamin B<sub>1</sub> *de novo* synthesis in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* depends on external provision of 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine. *Biol. Chem.*, 2006, vol. 387, pp. 41–51.
89. Carini P., Campbell E.O., Morre J., Sanudo-Wilhelmy S.A., Thrash J.C., Bennett S.E., Temperton B., Begley T., Giovannoni S.J. Discovery of a SAR11 growth requirement for thiamin's pyrimidine precursor and its distribution in the Sargasso Sea. *ISME J.*, 2014, pp. 1–12.
90. Paerl R.W., Bertrand E.M., Rowland E., Schatt P., Mehiri M., Niehaus T.D., Hanson A.D., Riemann L., Bouget F.-Y. Carboxythiazole is a key microbial nutrient currency and critical component of thiamin biosynthesis. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8: 5940.
91. McRose D., Guo J., Monier A., Sudek S., Wilken S., Yan S., Mock T., Archibald J.M., Begley T.P., Reyes-Prieto A., Worden A.Z. Alternatives to vitamin B<sub>1</sub> uptake revealed with discovery of riboswitches in multiple marine eukaryotic lineages. *ISME J.*, 2014, vol. 8, pp. 2517–2529.
92. Toms A.V., Haas A.L., Park J.-H., Begley T.P., Ealick S.E. Structural characterization of the regulatory proteins TenA and TenI from *Bacillus subtilis* and identification of TenA as a thiaminase II. *Biochemistry*, 2005, vol. 44, pp. 2319–2329.
93. Onozuka M., Konno H., Kawasaki Y., Akaji K., Kazuto Nosaka K. Involvement of thiaminase II encoded by the THI20 gene in thiamin salvage of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.*, 2008, vol. 8, pp. 266–275.
94. Kreinbring C.A., Remillard S.P., Hubbard P., Brodkina H.R., Leeper F.J., Hawksley D., Laib E.L., Fulton C., Petsko G.A., Ringe D. Structure of a eukaryotic thiaminase I. *Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, pp. 137–142.
95. Kraft C.E., Gordon E.R.L., Angert E.R. A rapid method for assaying thiaminase I activity in diverse biological samples. *PLoS*

- ONE, 2014, vol. 9(3): e92688.
96. Müller I.B., Bergmann B., Groves M.R., Couto I., Amaral L., Begley T.P., Walter R.D., Wrenger C. The vitamin B<sub>1</sub> metabolism of *Staphylococcus aureus* is controlled at enzymatic and transcriptional levels. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4(11): e7656.
97. Li M., Petteys B.J., McClure J.M., Valsakumar V., Bekiranov S., Frank E.L., Smith J.S. Thiamine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* is regulated by the NAD<sup>+</sup>-dependent histone deacetylase Hst1. *Mol. Cell. Biol.*, 2010, vol. 30, pp. 3329–3341.
98. Miranda-Rios J. The THI-box riboswitch, or how RNA binds thiamin pyrophosphate. *Structure*, 2007, vol. 15, pp. 259–265.
99. Wachter A. Riboswitch-mediated control of gene expression in eukaryotes. *RNA Biol.*, 2010, vol. 7, pp. 67–76.
100. Bocobza S.E., Aharoni A. Small molecules that interact with RNA: riboswitch-based gene control and its involvement in metabolic regulation in plants and algae. *Plant J.*, 2014, vol. 79, pp. 693–703.
101. Bocobza S., Adato A., Mandel T., Shapira M., Nudler E., Aharoni A. Riboswitch-dependent gene regulation and its evolution in the plant kingdom. *Genes Dev.*, 2007, vol. 21, pp. 2874–2879.
102. Croft M.T., Moulin M., Webb M.E., Smith A.G. Thiamine biosynthesis in algae is regulated by riboswitches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, vol. 104, pp. 20770–20775.
103. Moldovan M.A., Petrova S.A., Gelfand M.S. Comparative genomic analysis of fungal TPP-riboswitches. *Fungal Genet. Biol.*, 2018, vol. 114, pp. 31–41.
104. Cheah M.T., Wachter A., Sudarsan N., Breaker R.R. Control of alternative RNA splicing and gene expression by eukaryotic riboswitches. *Nature*, 2007, vol. 447, pp. 497–500.
105. Mukherjee S., Retwitzer M.D., Barash D., Sengupta S. Phylogenomic and comparative analysis of the distribution and regulatory patterns of TPP riboswitches in fungi. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8: 5563.
106. Sudarsan N., Barrick J.E., Breaker R.R. Metabolite-binding RNA domains are present in the genes of eukaryotes. *RNA*, 2003, vol. 9, pp. 644–647.
107. Kubodera T., Watanabe M., Yoshiuchi K., Yamashita N., Nishimura A., Nakai S., Gomi K., Hanamoto H. Thiamine-regulated gene expression of *Aspergillus oryzae* thiA requires splicing of the intron containing a riboswitch-like domain in the 5'-UTR. *FEBS Lett*, 2003, vol. 555, pp. 516–520.
108. Panchal V., Brenk R. Riboswitches as drug targets for antibiotics. *Antibiotics (Basel)*, 2021, vol. 10(1): 45.
109. Stav S., Atilho R.M., Mirihana Arachchilage G., Nguyen G., Higgs G., Breaker R.R. Genome-wide discovery of structured noncoding RNAs in bacteria. *BMC Microbiol.*, 2019, vol. 19: 66.
110. Atilho R.M., Mirihana Arachchilage G., Greenlee E.B., Knecht K.M., Breaker R.R. A bacterial riboswitch class for the thiamin precursor HMP-PP employs a terminator-embedded aptamer. *eLife*, 2019, Vol. 8: e45210.
111. Rodionov D.A., Leyn S.A., Li X., Rodionova I.A. A novel transcriptional regulator related to thiamine phosphate synthase controls thiamine metabolism genes in *Archaea*. *J. Bacteriol.*, 2017, vol. 199(4): e00743-16.
112. Nosaka K. Recent progress in understanding thiamine biosynthesis and its genetic regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 72, pp. 30–40.
113. Nosaka K., Esaki H., Onozuka M., Konno H., Hattori Y., Akaji K. Facilitated recruitment of Pdc2p, a yeast transcriptional activator, in response to thiamine starvation. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2012, vol. 330, pp. 140–147.

Received 11 October 2021