

Functional characterisation of SLC22A15 – a new creatine efflux transporter in oligodendrocytes



Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Svenja Flögel

angenommen im Jahr 2025

Begutachtung:

Prof. Dr. Dirk Gründemann

Prof. Dr. Jan Riemer

I. Abstract

Creatine is a crucial compound in the energy metabolism of tissues with a high and fluctuating energy demand like skeletal muscle, heart muscle or brain. Through the creatine kinase reaction, it allows a fast ATP regeneration and ensures a constant supply with energy. Malfunction in the creatine supply system leads to severe symptoms described by the cerebral creatine deficiency syndrome. In the brain, creatine is mainly synthesised by oligodendrocytes which provide it to adjacent neurons. While the creatine import into neurons is mediated by the uptake transporter SLC6A8, the transporter that releases creatine from oligodendrocytes is still unknown. In this thesis, the transport protein SLC22A15 was functionally investigated through heterologous expression in 293 cells and quantification using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. SLC22A15 showed a strong expression in oligodendrocytes and an exceptionally high conservation of the amino acid sequence in different species. Human and rat transporter mediated efflux of various zwitterions with similar efficiencies. However, regarding the efflux velocity, the release of creatine via SLC22A15 clearly exceeded the other substrates. In contrast to the creatine efflux transporters SLC16A9 and SLC16A12, which mediated a continuous creatine efflux, SLC22A15 was inactive by default. Through extracellular stimulation by guanidinoacetic acid, GABA or MPP⁺, SLC22A15 was activated and mediated an antiport with a ratio of stimulant against creatine of 1:1. After continuous external stimulation, SLC22A15 markedly reduced the high intracellular creatine content in 293 cells. In an analysis of mRNA data from human and mouse brain, SLC22A15 showed the strongest expression in the oligodendrocyte lineage. In the human brain, a high SLC22A15 expression correlated with a high expression of the creatine synthesis enzyme AGAT and a low expression of the uptake transporter SLC6A8 on mRNA level. SLC22A15 mRNA was also expressed in human macrophages from different tissues where it again correlated with a high expression of AGAT and a low expression of SLC6A8. While oligodendrocytes can be expected to provide neurons with creatine via SLC22A15, macrophages could support damaged tissue in wound healing through creatine supply. Through the stimulation mechanism, SLC22A15 prevents a continuous loss of creatine from the producing cells and thus allows a demand-oriented creatine release to adjacent tissues. Taken together, the results strongly indicate that SLC22A15 accounts for the unknown creatine efflux transporter in oligodendrocytes that mediates creatine supply to adjacent neurons, thus providing essential knowledge for understanding creatine utilisation in the brain.

II. Zusammenfassung

Kreatin ist eine zentrale Verbindung im Energiestoffwechsel von Geweben mit einem hohen und schwankenden Energiebedarf wie Skelettmuskel, Herzmuskel oder Gehirn. Durch die Kreatinkinase-Reaktion ermöglicht es eine schnelle ATP-Regeneration und sorgt für eine konstante Energiezufuhr. Eine Funktionsstörung im Kreatinversorgungssystem führt zu schweren Symptomen, die durch das zerebrale Kreatinmangelsyndrom beschrieben werden. Im Gehirn wird Kreatin hauptsächlich von Oligodendrozyten synthetisiert, die es an die angrenzenden Neurone abgeben. Während der Kreatinimport in die Neurone durch den Aufnahmetransporter SLC6A8 vermittelt wird, ist der Transporter, der Kreatin aus den Oligodendrozyten freisetzt, noch unbekannt. In dieser Arbeit wurde das Transportprotein SLC22A15 durch heterologe Expression in 293 Zellen und Quantifizierung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie funktionell untersucht. SLC22A15 zeigte eine starke Expression in Oligodendrozyten und eine außergewöhnlich hohe Konservierung der Aminosäuresequenz in verschiedenen Spezies. Der Transporter aus Mensch und Ratte vermittelte den Efflux von verschiedenen Zwitterionen mit ähnlicher Effizienz. Im Hinblick auf die Effluxgeschwindigkeit übertraf die Freisetzung von Kreatin mittels SLC22A15 jedoch deutlich die der anderen Substrate. Im Gegensatz zu den Kreatin-Efflux-Transportern SLC16A9 und SLC16A12, die einen kontinuierlichen Kreatin-Efflux vermittelten, war SLC22A15 standardmäßig inaktiv. Durch extrazelluläre Stimulation mit Guanidinoessigsäure, GABA oder MPP⁺ wurde SLC22A15 aktiviert und vermittelte einen Antiport, mit einem Verhältnis von Stimulans zu Kreatin von 1:1. Nach kontinuierlicher externer Stimulation reduzierte SLC22A15 den hohen intrazellulären Kreatingehalt in 293 Zellen deutlich. In einer Analyse von mRNA-Daten aus dem Gehirn von Mensch und Maus zeigte SLC22A15 die stärkste Expression in der Oligodendrozyten-Linie. Im menschlichen Gehirn korrelierte eine hohe SLC22A15-Expression mit einer hohen Expression des Kreatinsynthese-Enzyms AGAT und einer niedrigen Expression des Aufnahmetransporters SLC6A8 auf mRNA-Ebene. SLC22A15 mRNA wurde auch in menschlichen Makrophagen aus verschiedenen Geweben exprimiert, wo sie wiederum mit einer hohen Expression von AGAT und einer niedrigen Expression von SLC6A8 korrelierte. Während von Oligodendrozyten angenommen werden kann, dass sie Neuronen über SLC22A15 mit Kreatin versorgen, könnten Makrophagen geschädigtes Gewebe bei der Wundheilung durch Kreatinversorgung unterstützen. Durch den Stimulationsmechanismus verhindert SLC22A15 einen kontinuierlichen Verlust von Kreatin aus den produzierenden Zellen und ermöglicht so eine bedarfsgerechte Kreatinfreisetzung an angrenzende Gewebe. Insgesamt weisen die Ergebnisse stark darauf hin, dass SLC22A15 der unbekannte Kreatinefflux-Transporter in Oligodendrozyten ist, der die Kreatinversorgung angrenzender Neurone vermittelt, was somit wesentliche Erkenntnisse für das Verständnis der Kreatinverwertung im Gehirn liefert.