

Vitamintransport

Membrantransport von Thiamin im menschlichen Körper

FLORIAN GABRIEL^{1,2}, CHRISTIAN LÖW^{1,2,3}

¹ ZENTRUM FÜR STRUKTURELLE SYSTEMBIOLOGIE (CSSB), HAMBURG

² EUROPÄISCHES MOLEKULARBIOLOGIELABOR (EMBL) HAMBURG

³ BERNHARD-NOCHT-INSTITUT FÜR TROPENMEDIZIN, HAMBURG

Thiamine (vitamin B₁) is an essential coenzyme for central metabolic pathways. Metazoans, including humans, have to take up thiamine via the solute carriers SLC19A2 and SLC19A3, because they lost the ability to synthesize thiamine de novo. Perturbation of these transport systems has severe effects on human health. Here we discuss the molecular mechanisms of thiamine recognition, transport and inhibition based on recently available cryo-Electron Microscopy structures of SLC19A3.

DOI: 10.1007/s12268-025-2462-4
© The Author(s) 2025

■ Thiamin ist ein wasserlösliches Vitamin (B₁) und ein essenzieller Mikronährstoff für den Menschen. In der Zelle wird Thiamin enzymatisch in das biologisch aktive Coenzym Thiaminpyrophosphat (Thiamin-pp) umgewandelt. Dieses Molekül bindet an thiaminabhängige Enzyme (TAE) und ist essenziell für deren Katalysemechanismus. Im menschlichen Proteom sind derzeit fünf

TAEs bekannt. Diese katalysieren Reaktionen in zentralen Stoffwechselwegen, wie dem Citratzyklus und dem Pentosephosphatweg (Abb. 1, [1, 2]). Ein Mangel an Thiamin führt zu schwerwiegenden Erkrankungen, die sich besonders durch neurologische Symptome äußern. Thiaminmangel kann durch Mangelernährung, Alkoholismus und chronisch inflammatorische Darmerkrankungen

bedingte Defekte in der Aufnahme und Metabolisierung des Vitamins hervorgerufen werden.

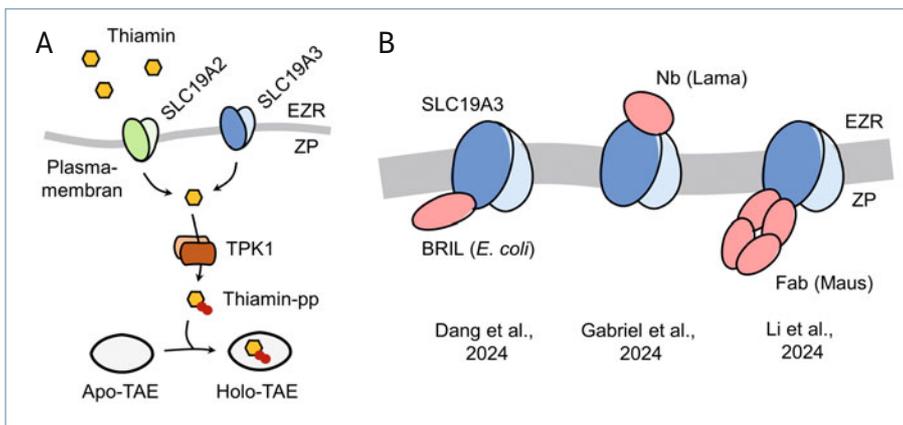
Membrantransport von Thiamin

Da Thiamin von menschlichen Zellen nicht synthetisiert werden kann, ist besonders dessen Transport über zelluläre Membranen ein vulnerabler Punkt in der Versorgung des Körpers mit dem Vitamin. Im Menschen wird der Membrantransport von Thiamin hauptsächlich durch die Transportproteine SLC19A2 und SLC19A3 aus der Familie der *Solute Carrier* (SLC) vermittelt (Abb. 1, [3, 4]). Diese beiden Proteine sind sich strukturell und biochemisch sehr ähnlich [5]. Aufgrund ihrer zelltypspezifischen Expression und differenziellen subzellulären Lokalisation sind sie auf physiologischer Ebene allerdings nicht redundant [6, 7]. Dieser Aspekt wird besonders im medizinischen Kontext deutlich, da Mutationen in einem der beiden Transporter ausreichen, um lebensbedrohliche Thiaminmangelerkrankungen hervorzurufen [8]. Die menschlichen Thiamintransporter zeigen keine offensichtliche Homologie zu ihren funktionellen Pendanten in Bakterien oder Hefen. Damit scheint der Thiamintransport domänenübergreifend ein Beispiel für konvergente Evolution zu sein.

Strukturbiologische Aufklärung des menschlichen Thiamintransports

Der Membrantransport von Thiamin im menschlichen Körper über die Transporter SLC19A2 und SLC19A3 war bis 2024 vor allem mittels zellbasierter Assays untersucht worden. Die entsprechenden Studien haben Einblicke in die Transportdynamik der beiden *Solute Carrier* gegeben und die funktionellen Effekte von krankheitsverursachenden Mutationen aufgezeigt. Allerdings fehlte ein Verständnis der konkreten biochemischen, mechanistischen und strukturbiologischen Grundlagen des Thiamintransports.

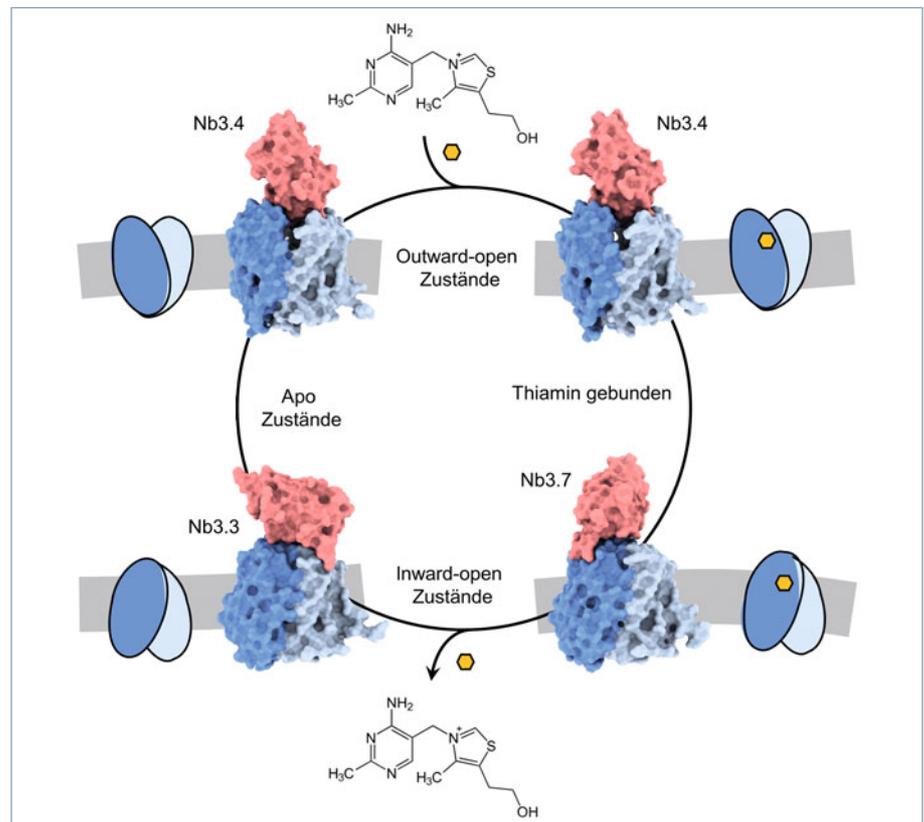
Bis dahin hatten sich die beiden Transporter der Strukturbestimmung entzogen. Für die Röntgenkristallographie stellen die



▲ **Abb. 1:** Thiaminaufnahme und Metabolismus sowie Ansätze zur Strukturbestimmung des Thiamintransporters SLC19A3. **A**, Thiamin (gelb) wird aus dem Extrazellulärraum (EZR) mithilfe der beiden Thiamintransporter SLC19A2 und A3 über die Plasmamembran ins Zellplasma (ZP) transportiert. Dort wird Thiamin unter Verwendung der Thiaminpyrophosphokinase 1 (TPK1) zu Thiaminpyrophosphat (Thiamin-pp) phosphoryliert und fungiert als Coenzym in thiaminabhängigen Enzymen (TAE). **B**, schematische Darstellung der verschiedenen Referenzmarker (rot), die zur Aufklärung der Struktur von SLC19A3 mittels Kryo-EM entwickelt und genutzt wurden [9–11]. Die beiden Domänen (N- und C-terminal) des Transporters sind in unterschiedlichen Blautönen dargestellt.

humanen Membranproteine aufgrund ihrer intrinsischen Flexibilität, geringen Stabilität sowie der niedrigen Expressionslevel in Säugerzellen eine große Herausforderung dar; auch für die Kryoelektronenmikroskopie (Kryo-EM) sind sie nach heutigem Stand der Technik mit einer strukturierten Masse von nur etwa 42 kDa relativ klein. Nach der Immunisierung von Lamas mit rekombinanten SLC19A3, konnten spezifische Nanobodies, die aus den variablen Fragmenten von *Heavy-chain only*-Antikörpern bestehen, gegen den Transporter gewonnen werden. Mittels Kryo-EM konnten wir dann die Struktur von SLC19A3 zusammen mit den Nanobodies aufklären [9].

Dabei stabilisierten die Nanobodies den Transporter in zwei unterschiedlichen konformationalen Zuständen: dem *Outward-open* und dem *Inward-open*-Zustand. Die Binde-tasche des Transporters ist hierbei zu verschiedenen Seiten der Membran offen. Ebenso konnten wir die Struktur von SLC19A3 in Gegenwart und Abwesenheit des Substrats Thiamin bestimmen, wodurch wir den Transportzyklus von SLC19A3 experimentell nachvollziehen und detaillierte Einblicke in dessen strukturelle Grundlagen gewinnen konnten (**Abb. 2**). Die Bindetasche für Thiamin befindet sich hierbei nicht, wie typisch für andere Transporter, mittig angeordnet, sondern ist in SLC19A3 eher im extrazellulär zugewandten Bereich lokalisiert. Die konformationalen Änderungen, die es dem Transporter erlauben, sich zu den verschiedenen Seiten der Membran zu öffnen, werden von Schranken, die sich zwischen den beiden Hälften des Transporters ausbilden und wieder auflösen, gesteuert. Eine genauere Analyse von bekannten SLC19A3-Mutationen, die mit verschiedenen Krankheiten asso-



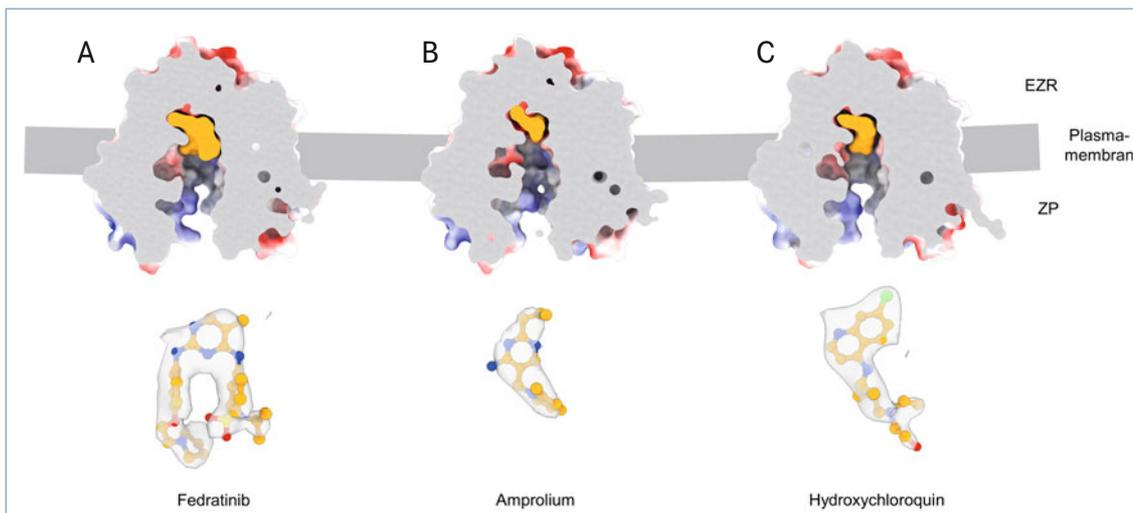
▲ **Abb. 2:** Konformationszyklus des Vitamintransporters SLC19A3 (blau). SLC19A3 wird durch die Nanobodies Nb 3.3, 3.4 und 3.7 (rot) in verschiedenen Konformationen stabilisiert. Die Bindetasche mit gebundenem Thiamin (dargestellt als gelbes Sechseck) wird dabei abwechselnd zu jeweils einer Seite der Membran geöffnet.

ziiert sind, ergab, dass sich diese vermehrt im Bereich der Substratbindetasche bzw. an für den Transportmechanismus kritischen Stellen befinden und damit die Funktion des Transporters negativ beeinflussen. Unsere Ergebnisse wurden im gleichen Jahr durch die Arbeiten anderer Gruppen bestätigt [10, 11]. Anstelle von Nanobodies wurden hier zum einen Fusionskonstrukte bzw. Maus-

Fab-Fragmente zur Strukturbestimmung von SLC19A3 verwendet (**Abb. 1**).

Strukturelle Grundlage der Vitaminaufnahmehemmung (VAH)

Da die meisten Vitamine grundsätzlich nicht von menschlichen Zellen synthetisiert werden können, ist ihr Membrantransport ein neuralgischer Punkt für die ausreichende



◀ **Abb. 3:** Kryo-EM-Strukturen von SLC19A3 im Komplex mit den Thiamin-aufnahmehemmer Fedratinib (A), Amprolium (B) und Hydroxychloroquin (C, jeweils orange), die in die gleiche Bindetasche wie Thiamin binden. Dargestellt ist ein Querschnitt durch den SLC19A3-Transporter und die entsprechenden Dichten der Medikamente.

Versorgung der Körperzellen mit diesen essenziellen Mikronährstoffen. Deshalb muss bei den entsprechenden Transportproteinen ein spezielles Augenmerk auf mögliche Medikamenteninteraktionen gelegt werden. Das wurde in den vergangenen Jahren besonders am Beispiel des Januskinase-Inhibitoren Fedratinib deutlich. Fedratinib löste in einer Phase-III-Studie bei mehreren Patienten Wernicke-Enzephalopathie mit teils tödlichem Verlauf aus. Daraufhin wurde festgestellt, dass Fedratinib den Thiamintransporter SLC19A3 mit hoher Affinität inhibiert und damit die ausreichende Versorgung u. a. des Gehirns mit diesem Vitamin unterbindet [12].

Um die strukturellen Grundlagen der Interaktionen von SLC19A3 mit bekannten Inhibitoren besser zu verstehen, bestimmten wir die Kryo-EM-Strukturen des Vitamintransporters zusammen mit den häufig verschriebenen Medikamenten Fedratinib, Amprolium und Hydroxychloroquin. Dabei stellten wir fest, dass diese Thiaminaufnahmehemmer (TAH) in die gleiche Bindetasche wie Thiamin binden, allerdings mit deutlich höherer Affinität (**Abb. 3**). Auf Grundlage struktureller Ähnlichkeiten mit diesen Medikamenten konnten wir sieben weitere TAHs identifizieren.

Da immer mehr hochaufgelöste Strukturen von Vitamintransportern zur Verfügung stehen, bietet es sich nun an, mit computergestützten Methoden Bibliotheken von Medikamenten zu untersuchen, ob gegebenenfalls eine Interaktion mit einem bestimmten Transportprotein vorliegt, um potenzielle VAHs früh zu erkennen. Wir explorieren dieses Verfahren derzeit für SLC19A3, aber das

Konzept kann auch auf andere Transporter übertragen werden. ■

Literatur

- [1] Manzetti S, Zhang J, van der Spoel D (2014) Thiamin function, metabolism, uptake, and transport. *Biochemistry* 53: 821–835
- [2] Tylicki A, Lotowski Z, Siemiński M, Ratkiewicz A (2018) Thiamine and selected thiamine antivitamin - biological activity and methods of synthesis. *Biosci Rep* 38
- [3] Dutta B, Huang W, Molero M et al. (1999) Cloning of the human thiamine transporter, a member of the folate transporter family. *J Biol Chem* 274: 31925–31929
- [4] Rajgopal A, Edmondson A, Goldman ID, Zhao R (2001) SLC19A3 encodes a second thiamine transporter ThTr2. *Biochim Biophys Acta* 1537: 175–178
- [5] Yamashiro T, Yasujima T, Said HM, Yuasa H (2020) pH-dependent pyridoxine transport by SLC19A2 and SLC19A3: Implications for absorption in acidic microclimates. *J Biol Chem* 295: 16998–17008.
- [6] Karlsson M, Zhang C, Mear L et al. (2021) A single-cell type transcriptomics map of human tissues. *Sci Adv* 7
- [7] Uhlen M, Fagerberg L, Hallström BM et al. (2015) Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* 347: 1260419
- [8] Kono S, Miyajima H, Yoshida K et al. (2009) Mutations in a thiamine-transporter gene and Wernicke's-like encephalopathy. *N Engl J Med* 360: 1792–1794
- [9] Gabriel F, Priestersbach L, Fuhrmann A et al. (2024) Structural basis of thiamine transport and drug recognition by SLC19A3. *Nat Commun* 15: 8542
- [10] Dang Y, Zhang T, Pidathala S et al. (2024) Substrate and drug recognition mechanisms of SLC19A3. *Cell Res* 34: 458–461
- [11] Li P, Zhu Z, Wang Y et al. (2024) Substrate transport and drug interaction of human thiamine transporters SLC19A2/A3. *Nat Commun* 15: 10924
- [12] Zhang Q, Zhang Y, Diamond S et al. (2014) The Janus kinase 2 inhibitor fedratinib inhibits thiamine uptake: a putative mechanism for the onset of Wernicke's encephalopathy. *Drug Metab Dispos* 42: 1656–1662

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz ist und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Christian Löw
 Europäisches Molekularbiologielabor (EMBL)
 Hamburg
 Notkestraße 85
 D-22607 Hamburg
 christian.loew@embl-hamburg.de

AUTOREN



Florian Gabriel

2014–2017 B. Sc. Biochemie an der TU München. 2017–2019 M. Sc. Molekulare Neurobiologie an der Universität Stockholm und am Karolinska Institut, Schweden. 2019–2020 M. Phil. Biochemie an der Universität Cambridge, UK. 2020–2024 Promotion in Strukturbiologie, EMBL Hamburg. Seit 2025 Scientist bei Nuvisan ICB GmbH.



Christian Löw

1998–2003 Biochemiestudium. 2004–2008 Promotion. 2008–2013 Postdoc am Karolinska Institutet in Stockholm im Labor von Prof. Dr. P. Nordlund. 2014–2023 Gruppenleiter am EMBL Hamburg und am Zentrum für Strukturelle Systembiologie (CSSB). 2024–2025 Wissenschaftlicher Angestellter am Bernhard Nocht Institut für Tropenmedizin und Visiting Group Leader am EMBL Hamburg und CSSB.