



基于PRESTO-Salsa筛选平台绘制人体和人体细菌代谢物-GPCR作用图谱

王雪丹¹, 陈海威^{2*}

1. 复旦大学基础医学院, 上海 200032;

2. 复旦大学生物医学研究院, 上海 200032

* 联系人, E-mail: chen_haiwei@fudan.edu.cn

PRESTO-Salsa reveals human and microbiota metabolome-GPCR interactions

Xuedan Wang¹ & Haiwei Chen^{2*}

¹ School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China;

² Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China

* Corresponding author, E-mail: chen_haiwei@fudan.edu.cn

doi: [10.1360/TB-2023-0664](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0664)

人体由人体细胞和人体微生物(主要为人体细菌)组成。每个人体内细菌的数量、种类和基因数量要超过人体细胞的数量、种类和基因总量^[1]。人体微生物的功能是什么,一直是学术界思考的问题。

人体消化道内定植着数量庞大的肠道细菌,但是由于黏液层的存在,在生理状态下,大部分肠道细菌无法直接与肠道上皮细胞相互作用^[2]。近期的一系列研究证明,肠道细菌可分泌大量的活性小分子代谢物,通过靶向宿主多个G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)来调控宿主多种生理和病理活动^[3-7]。近几年,随着体外培养技术和培养基配方的改良,目前可在体外培养的人体细菌接近3万株^[8-10]。如何从海量的人体细菌培养上清中鉴定出以GPCR为靶点的活性小分子代谢物,已经成为一项技术难题,限制了学术界对于人体微生物功能的深入认识。

最近,本课题组联合Noah W. Palm课题组开发了一种基于GPCR活性的高通量筛选技术,称为PRESTO-Salsa(图1)。PRESTO-Salsa的技术原理是把一个GPCR信号转化为一个独特的mRNA条形码,从而将314种GPCR报告细胞系集成在96孔板的单孔中;通过下一代基因测序(next-generation sequencing, NGS)对mRNA条形码进行定量,从而间接性监控单孔中314个GPCR的活性。PRESTO-Salsa技术可对小分子、多肽、蛋白质、细菌培养上清、血清等多种样品进行活性检测;相比之前的PRESTO-Tango技术,PRESTO-Salsa技术具有高通量、低样品量等两大优点^[11]。

利用PRESTO-Salsa筛选平台,该研究用1041小分子代谢物对314个GPCR进行了功能性筛选,初步绘制人体代谢物-GPCR作用图谱,证明人体小分子代谢物除了主要激活氨类GPCR(包括乙酰胆碱受体、肾上腺素能受体、多巴胺受体和组胺受体)外,也可以激活多肽类GPCR、蛋白类GPCR、黏附类GPCR和孤儿GPCR,以及部分小分子药物在GPCR上存在脱靶效应。

紧接着,对分离自人体多个部位的435株人体细菌的培养上清进行PRESTO-Salsa筛选,绘制人体细菌代谢物-GPCR作用图谱,揭示人体细菌培养上清倾向于激活宿主肾上腺素能受体、多巴胺受体、甲酰胺受体、组胺受体和琥珀酸受体^[11]。随后,通过小分子抑制剂、细菌基因缺失突变株和纯化的蛋白等实验证实口腔牙龈卟啉单胞菌分泌的牙龈蛋白酶K (gingipain K; Kgp)是CD97的激动剂。更进一步,单氨基酸突变筛选证实Kgp通过靶向K290来激活CD97。

因此,基于PRESTO-Salsa筛选平台绘制的人体/人体细菌代谢物-GPCR作用图谱(<http://palmlab.shinyapps.io/presto-salsa/>)为研究潜在的人体/人体细菌代谢物的作用靶点及功能、小分子药物副作用的分子机制、孤儿GPCR内源性配体和生物学功能提供了数据参考。同时,由于PRESTO-Salsa筛选平台只需“一滴血”的样品量(60 μ L)即可完成对314个GPCR的功能筛选,因此该技术适合对多种疾病的临床样品进行活性分析,用于系统性寻找疾病相关分子,从而为多种疾病的分子诊断和病理学机制研究提供技术支撑。

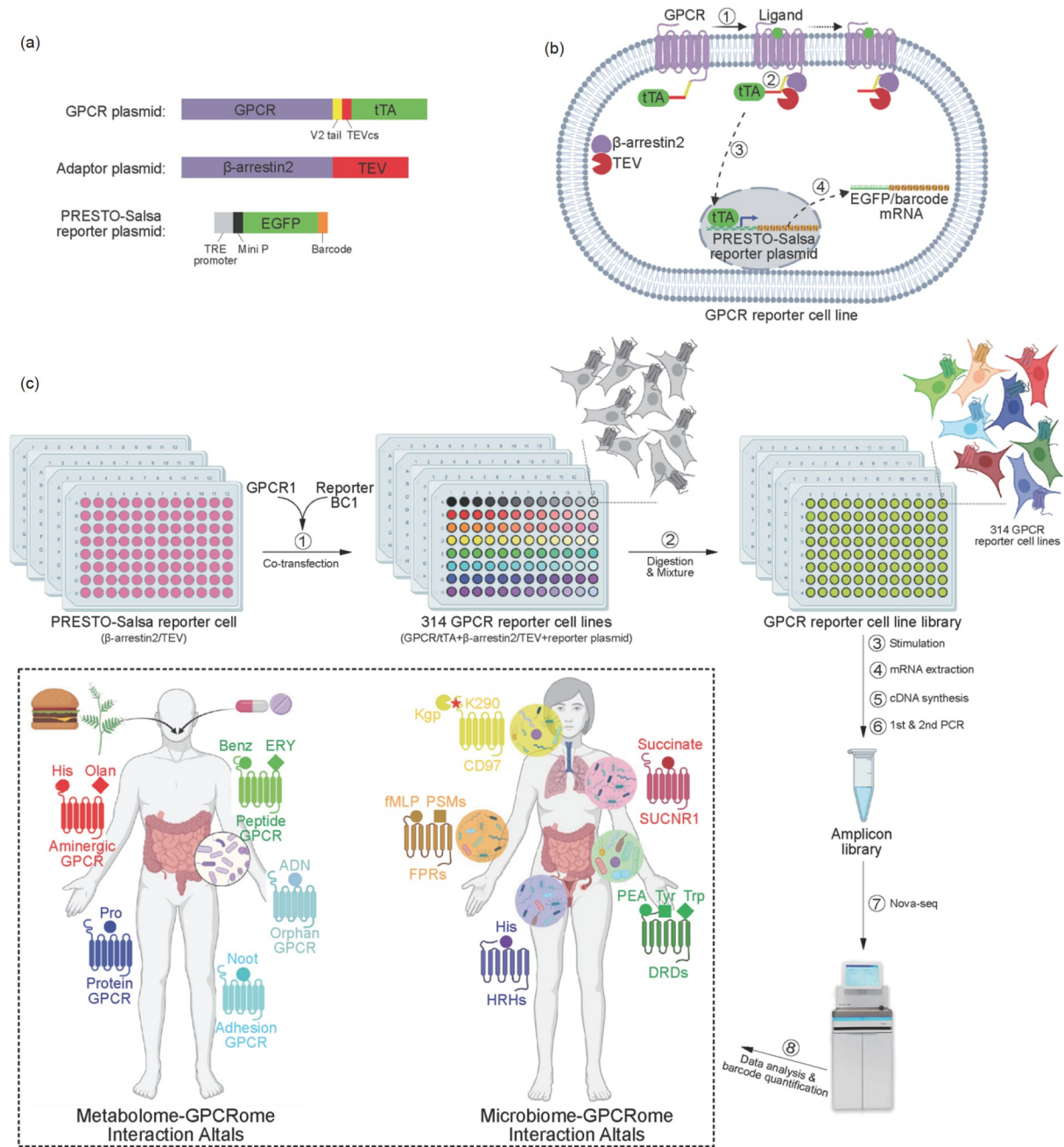


图 1 (网络版彩色)PRESTO-Salsa筛选平台的模块、技术原理和工作流程, 改自文献[11]。 (a) PRESTO-Salsa需要GPCR质粒、接头蛋白质粒和PRESTO-Salsa报告质粒这3个模块。 (b) PRESTO-Salsa的技术原理是将由配体诱导的GPCR和 β -arrestin2相互作用转化为一个mRNA条形码。 (c) 基于PRESTO-Salsa筛选平台绘制的人体/人体细菌代谢物-GPCR相互作用

Figure 1 (Color online) Modules, principle and pipeline of PRESTO-Salsa, modified from Ref. [11]. (a) PRESTO-Salsa needs GPCR plasmid, adaptor plasmid and PRESTO-Salsa reporter plasmid. (b) The principle of PRESTO-Salsa is transducing an inducible interaction of GPCR and β -arrestin2 into an mRNA barcode. (c) The PRESTO-Salsa screening pipeline reveals human and microbiota metabolome-GPCRome interactions

推荐阅读文献

- Gilbert J A, Blaser M J, Caporaso J G, et al. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*, 2018, 24: 392–400
- Johansson M E V, Sjövall H, Hansson G C. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10:

- 352–361
- 3 Cohen L J, Esterhazy D, Kim S H, et al. Commensal bacteria make GPCR ligands that mimic human signalling molecules. *Nature*, 2017, 549: 48–53
 - 4 Chen H, Nwe P K, Yang Y, et al. A forward chemical genetic screen reveals gut microbiota metabolites that modulate host physiology. *Cell*, 2019, 177: 1217–1231.e18
 - 5 Colosimo D A, Kohn J A, Luo P M, et al. Mapping interactions of microbial metabolites with human G-protein-coupled receptors. *Cell Host Microbe*, 2019, 26: 273–282.e7
 - 6 Nemet I, Saha P P, Gupta N, et al. A cardiovascular disease-linked gut microbial metabolite acts via adrenergic receptors. *Cell*, 2020, 180: 862–877.e22
 - 7 Zhu W, Gregory J C, Org E, et al. Gut microbial metabolite tmao enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 2016, 165: 111–124
 - 8 Forster S C, Kumar N, Anonye B O, et al. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 186–192
 - 9 Zou Y, Xue W, Luo G, et al. 1520 reference genomes from cultivated human gut bacteria enable functional microbiome analyses. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 179–185
 - 10 Lin X, Hu T, Chen J, et al. The genomic landscape of reference genomes of cultivated human gut bacteria. *Nat Commun*, 2023, 14: 1663
 - 11 Chen H, Rosen C E, González-Hernández J A, et al. Highly multiplexed bioactivity screening reveals human and microbiota metabolome-GPCRome interactions. *Cell*, 2023, 186: 3095–3110.e19