

# 谷胱甘肽转移酶通过代谢重编程增强变异链球菌环境适应性的功能研究

郑皓月 彭显 邹静

口腔疾病防治全国重点实验室 国家口腔医学中心 国家口腔疾病临床医学研究中心  
四川大学华西口腔医院儿童口腔科, 成都 610041

**[摘要]** **目的** 探讨谷胱甘肽转移酶 (GST) 对变异链球菌环境适应能力的影响。**方法** 构建变异链球菌 GST 基因敲除株  $\Delta$ gsT。通过转录组测序分析变异链球菌 UA159 野生型与其 GST 基因敲除株  $\Delta$ gsT 的基因表达差异, 酸胁迫实验、过氧化氢胁迫实验分析耐酸能力、抗氧化应激能力, 营养限制条件下进行生长动力学分析, 荧光原位杂交实验分析在菌斑生物膜的种间竞争能力。**结果** 与变异链球菌野生型 UA159 相比, 敲除株  $\Delta$ gsT 中 198 个基因显著差异表达, 富集于代谢、应激响应及能量稳态相关通路。耐酸实验中, 敲除株  $\Delta$ gsT 存活率显著降低 ( $P<0.01$ )。过氧化氢处理 15 min 后, 敲除株  $\Delta$ gsT 存活率为 38.12% (野生型为 71.75%)。营养限制下, 敲除株  $\Delta$ gsT 最大比生长速率及稳定期生物量显著降低 ( $P<0.05$ )。生物膜竞争实验中, 变异链球菌敲除株  $\Delta$ gsT 在混合生物膜中所占的比例 (8.50%) 较野生型 (16.89%) 显著下降 ( $P<0.05$ )。**结论** GST 可通过调控代谢和应激响应相关基因, 显著增强变异链球菌的耐酸、抗氧化及营养胁迫适应能力。

**[关键词]** 谷胱甘肽转移酶; 变异链球菌; 耐酸性; 氧化应激; 种间竞争; 基因表达调控; 代谢重编程

**[中图分类号]** R780.2 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2025.2025084



本文链接 开放科学标识码

## Metabolic reprogramming by glutathione S-transferase enhances environmental adaptation of *Streptococcus mutans*

Zheng Haoyue, Peng Xian, Zou Jing

State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Pediatric Dentistry, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China (82170947)

Correspondence: Zou Jing, E-mail: zoujing@scu.edu.cn

**[Abstract]** **Objective** This study aims to investigate the impact of glutathione S-transferase (GST) on the environmental adaptability of *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). **Methods** A GST knockout strain  $\Delta$ gsT was constructed. Transcriptomic sequencing was performed to analyze the gene expression differences between the wild-type *S. mutans* UA159 and its GST knockout strain  $\Delta$ gsT. Comprehensive functional assessments, including acid tolerance assays, hydrogen peroxide challenge assays, nutrient limitation growth assays, and fluorescence in situ hybridization, were conducted to evaluate the acid tolerance, antioxidant stress resistance, growth kinetics, and interspecies competitive ability of  $\Delta$ gsT within plaque biofilms. **Results** Compared with the wild-type *S. mutans*, 198 genes in  $\Delta$ gsT were significantly

differentially expressed and enriched in pathways related to metabolism, stress response, and energy homeostasis. The survival rate of  $\Delta$ gsT in acid tolerance assays was markedly reduced ( $P<0.01$ ). After 15 min of hydrogen

**[收稿日期]** 2025-03-06; **[修回日期]** 2025-04-30

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (82170947)

**[第一作者]** 郑皓月, 硕士, E-mail: 976014667@qq.com

**[通信作者]** 邹静, 教授, 博士, E-mail: zoujing@scu.edu.cn

peroxide challenge, the survival rate of  $\Delta$ gsT decreased to 38.12% (wild type, 71.75%). Under nutrient-limiting conditions,  $\Delta$ gsT exhibited a significantly lower final OD<sub>600</sub> value than the wild-type strain ( $P<0.05$ ). In the biofilm competition assays, the proportion of *S. mutans*  $\Delta$ gsT in the mixed biofilm (8.50%) was significantly lower than that of the wild type (16.89%) ( $P<0.05$ ). **Conclusion** GST enhances the acid resistance, oxidative stress tolerance, and nutrient adaptation of *S. mutans* by regulating metabolism-related and stress response-related genes.

**[Key words]** glutathione S-transferase; *Streptococcus mutans*; acid tolerance; oxidative stress; interspecies competition; gene expression regulation; metabolic reprogramming

变异链球菌 (*Streptococcus mutans*) 是目前公认的主要致龋菌, 牙齿表面菌斑中的变异链球菌通过糖酵解代谢产酸导致牙釉质脱矿, 并依赖低 pH 环境抑制共生菌 (如血链球菌和戈登链球菌) 的定植<sup>[1-3]</sup>。后者产生的过氧化氢对变异链球菌构成氧化胁迫, 促使其进化出多重防御机制, 包括合成超氧化物歧化酶、硫醇过氧化物酶及烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶等, 并通过外源性摄取谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 增强抗氧化能力<sup>[4-5]</sup>。近年研究<sup>[6-10]</sup>发现, S-谷胱甘肽化作为可逆的翻译后修饰, 通过调控蛋白功能参与应激适应, 其缺失可显著降低变异链球菌的致龋性。谷胱甘肽转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 作为催化 GSH 结合反应的关键酶, 在细菌解毒和应激耐受中发挥重要作用<sup>[11-14]</sup>, 但在变异链球菌中的功能尚未明确。

本研究对 GST 基因敲除株  $\Delta$ gsT 进行转录组测序, 并采用酸胁迫、过氧化氢胁迫、营养限制条件下生长动力学分析和荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 实验, 探讨 GST 在代谢重编程和生态适应中的分子功能, 为生态防龋策略提供新思路和新靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验菌株和生长条件

实验菌株: 变异链球菌 UA159 (ATCC 700-610)、血链球菌 (ATCC 10556) 和戈登链球菌 (DL1)。上述菌株均获自中国口腔微生物组数据库 (Oral Microbiome Bank of China, OMBC)<sup>[15]</sup>。等位基因交换法<sup>[10]</sup>构建变异链球菌 GST 基因敲除株  $\Delta$ gsT (基因位点: SMU\_1296), 通过一代测序扩增 16S 区域, 与 NCBI 数据库比对, 序列相似性为 99.58%。

所有菌株均于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 的孵箱中, 使用脑心浸液培养基 (brain heart infusion, BHI) 进行兼性厌氧培养。培养基按照说明书进行配制, 高

压灭菌后分装至无菌试管或培养皿备用。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 基因表达差异分析

将变异链球菌 UA159 野生型及其敲除株  $\Delta$ gsT 分别接种于 BHI 液体培养基中, 于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下过夜活化。取 30 mL 对数生长期菌液 (OD<sub>600</sub>=0.5) 离心 (10 000×g, 4 °C, 10 min) 收集菌体, pH 7.4 无菌磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 洗涤 2 次以去除培养基残留。菌体沉淀经液氮速冻后, 立即转移至 -80 °C 超低温冰箱保存。

使用十六烷基三甲基溴化铵法 (cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 法<sup>[16]</sup>进行 RNA 提取, NanoDrop 2000 分光光度计进行 RNA 纯度检测, 琼脂糖凝胶电泳及 Agilent 5300 片段分析仪系统进行 RNA 完整性检测。委托上海美吉生物医药科技有限公司完成转录组测序, 使用 DESeq2 1.42.0 软件进行表达量差异分析, 与同源蛋白簇 (clusters of orthologous groups, COG) 数据库对比进行 COG 功能注释分析, 使用 Goatools 1.4.4 软件 GO 富集分析, 使用 R 脚本进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路功能富集分析, 参数均设置为 P<sub>adjust</sub><0.05, BH 多重检验校正。采用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行双端 150 bp 测序 (PE150), 每个菌株设置 3 个生物学重复。

#### 1.2.2 表型验证

##### 1.2.2.1 酸胁迫实验

参照 Belli 和 Marquis<sup>[17]</sup>的方法, 进行菌体预处理、酸性胁迫处理和存活率测定。

将变异链球菌 UA159 野生型及其敲除株  $\Delta$ gsT 分别接种于 BHI 液体培养基中, 于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养至对数生长期 (OD<sub>600</sub>=0.5)。取 5 mL 菌液经离心 (4 000×g, 4 °C, 10 min) 收集菌体沉淀, 用预冷的 0.1 mol/L、pH 7.0 甘氨酸缓冲液洗涤 2 次以去除培养基残留。

将菌体重悬于常温 5 mL 的 0.1 mol/L、pH 2.8

甘氨酸缓冲液，分别孵育 15、30、45 min。为精确控制酸暴露时间，孵育后立即加入预冷的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 终止反应。将处理后的菌液进行 10 倍梯度稀释 ( $10^{-1}$  至  $10^{-5}$ )，取 10  $\mu$ L 接种于 BHI 琼脂平板，每个稀释度设置 3 个生物学重复。平板于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 条件下厌氧培养 48 h 后计数菌落形成单位 (colony forming unit, CFU)，以未处理组为对照组，计算存活率 (%)。

#### 1.2.2.2 过氧化氢胁迫实验

细菌抗氧化应激能力评估参照 Wen 等<sup>[18]</sup>的方法，菌体预处理及存活率测定与上述耐酸实验相同。

将菌体重悬于 5 mL 含 0.2% 过氧化氢的 0.1 mol/L、pH 7.0 甘氨酸缓冲液，分别孵育 15、30、45 min。加入过氧化氢酶 (5 mg/mL) 并混匀，静置 5 min 以彻底分解残留过氧化氢，终止反应。

#### 1.2.2.3 营养限制条件下生长动力学分析

将变异链球菌 UA159 野生型及其敲除株  $\Delta$ gsT 分别接种于 BHI 液体培养基中，于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 条件下过夜活化并传代至对数生长期 ( $OD_{600}=0.5$ )。

将 BHI 培养基与无菌去离子水按 1:1 体积比混合，配制为 1/2 浓度的 BHI 培养基；正常的 BHI 培养基作为对照。取对数期菌液，分别用正常浓度的 BHI、1/2 浓度的 BHI 培养基调整菌体密度至初始接种量 ( $OD_{600}=0.10$ )。将 200  $\mu$ L 菌液分装至 96 孔板，每孔覆盖 50  $\mu$ L 无菌矿物油以防止蒸发并维持微需氧环境。

使用 BioTek LogPhase 600 全自动微生物生长曲线分析仪，于 37  $^{\circ}$ C 条件下连续监测  $OD_{600}$  值，振荡频率为 180 r/min，测量间隔为 1 h，持续 24 h。每个处理组设置 3 个生物学重复，每个生物学重复包含 3 个技术重复。采用 GraphPad Prism 10.0 软件计算各时间点  $OD_{600}$  的均值  $\pm$  标准差，并通过四参数 Logistic 模型拟合生长曲线，计算最大比生长速率 ( $\mu_{max}$ ) 及稳定期生物量 ( $OD_{600\_max}$ )。

#### 1.2.2.4 FISH 实验

将血链球菌 ATCC10556、戈登链球菌 DL1、变异链球菌 UA159 野生型及其敲除株  $\Delta$ gsT 分别接种于 BHI 液体培养基，于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 条件下过夜活化并传代至对数生长期 ( $OD_{600}=0.5$ )。

将变异链球菌 UA159、敲除株  $\Delta$ gsT 分别与血链球菌和戈登链球菌按等比例 (1:1:1) 混合

后，用含 1% 蔗糖的 BHI 培养基按 1:100 稀释 (终菌液浓度约  $1 \times 10^5$  CFU/mL)，接种至无菌玻底培养皿 (直径 15 mm)。37  $^{\circ}$ C 兼性厌氧环境中静态培养 24 h，以模拟口腔生物膜形成的自然条件，构建生物膜共培养体系。移除培养基后，用 pH 7.4 无菌 PBS 缓冲液轻柔洗涤生物膜 3 次，去除浮游菌体，加入预冷的 4% 多聚甲醛 4  $^{\circ}$ C 下固定 6 h。参照 Klug 等<sup>[19]</sup>的方法，采用物种特异性 16S rRNA 荧光探针进行杂交。

使用尼康 N-SIM 超分辨共聚焦显微镜，每组随机捕获至少 3 个视野采集 Z-stack 图像。通过 NIS-Elements AR 5.21 软件进行三维重构，并采用 ImageJ 1.8.0 定量各物种在生物膜中的空间占比。

#### 1.3 数据分析

采用 SPSS 29.0 和 Prism 10.0 软件对数据进行统计分析，组间差异比较采用 Welch 校正的非配对 *t* 检验，趋势分析采用泊松回归检验。 $P < 0.05$  被认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基因表达差异分析

#### 2.1.1 RNA 提取检测结果

为确保转录组测序数据的可靠性，对变异链球菌野生型和敲除株  $\Delta$ gsT 的 RNA 样品进行了严格的质量控制。RNA 质量和数量检测结果见表 1。样品的总量为 52.33~120.54  $\mu$ g，符合 Illumina 高通量测序的起始量要求 ( $\geq 1 \mu$ g)。纯度分析显示， $OD_{260/280}$  为 2.10~2.12， $OD_{260/230}$  为 2.57~2.61，表明样本无显著蛋白质或有机溶剂污染。完整性检测显示，RNA 完整性数 (RNA quality number, RQN) 均  $\geq 9.5$ 。结合琼脂糖凝胶电泳结果可见清晰的 28S 与 18S 核糖体 RNA 条带 (图 1)，表明无基因组 DNA 残留或 RNA 降解迹象。

表 1 RNA 质量和数量检测结果

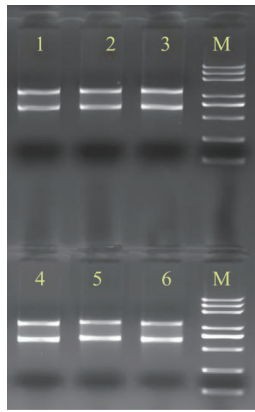
Tab 1 Assessment of RNA quality and quantity

样品名称	浓度/(ng/ $\mu$ L)	总量/ $\mu$ g	$OD_{260/280}$	$OD_{260/230}$	RQN
野生型 1	1 586.50	79.33	2.10	2.61	10.00
野生型 2	1 691.20	59.19	2.11	2.59	9.90
野生型 3	1 774.90	88.75	2.12	2.59	10.00
敲除株 $\Delta$ gsT1	1 492.00	52.22	2.11	2.60	10.00
敲除株 $\Delta$ gsT2	1 855.90	64.96	2.11	2.57	10.00
敲除株 $\Delta$ gsT3	1 418.10	120.54	2.11	2.59	9.50

#### 2.1.2 gsT 缺失对基因表达的影响

基因表达量的差异火山图 (图 2) 显示，与变

异链球菌野生型 UA159 相比, 敲除株  $\Delta$ gsT 中 198 个基因显著差异表达, 其中, 99 个基因显著上调, 99 个基因显著下调, 敲除后的基因表达变化呈现均衡的上下调趋势。此外, 有 1 709 个基因未表现出显著差异, 表明 gsT 缺失对整体基因表达的影响有限。



1~3: 野生型; 4~6: 敲除株  $\Delta$ gsT; M: Marker。

图 1 琼脂糖凝胶电泳结果

Fig 1 Agarose gel electrophoresis of total RNA

从差异表达基因的数目 (表 2) 可以看出, 当差异倍数 (fold change, FC) 大于 1.5 时, 上调与下调基因分别减少至 22 和 34 个; FC 大于 2 时, 上调基因仅保留 8 个 (ptcA、SMU\_921、SMU\_922、SMU\_923、tpx、add、SMU\_1297、pheS), 下调基因仅保留 7 个 (SMU\_151、SMU\_152、SMU\_498、SMU\_499、SMU\_RS04545、dprA、SMU\_1905c)。该结果提示, 随着筛选标准升高, 差异基因数量显著减少 ( $P < 0.001$ )。

2.1.3 gsT 缺失主要影响防御和代谢功能

COG 功能注释分析显示, 差异表达基因广泛

分布于多个功能类别中, 并主要集中在代谢相关功能类别中 (图 3)。下调基因主要集中在脂质代谢 (COG 类别 I)、转录 (COG 类别 K)、复制/重组/修复 (COG 类别 L)、无机离子转运和代谢 (COG 类别 P)、防御机制 (COG 类别 V) 和移动基因组 (COG 类别 X)。上调基因主要集中在能量生产与转换 (COG 类别 C)、氨基酸转运和代谢 (COG 类别 E)、碳水化合物转运和代谢 (COG 类别 G)、翻译/核糖体结构/生物合成 (COG 类别 J)、翻译后修饰/蛋白质周转/分子伴侣 (COG 类别 O) 和信号转导机制 (COG 类别 T)。

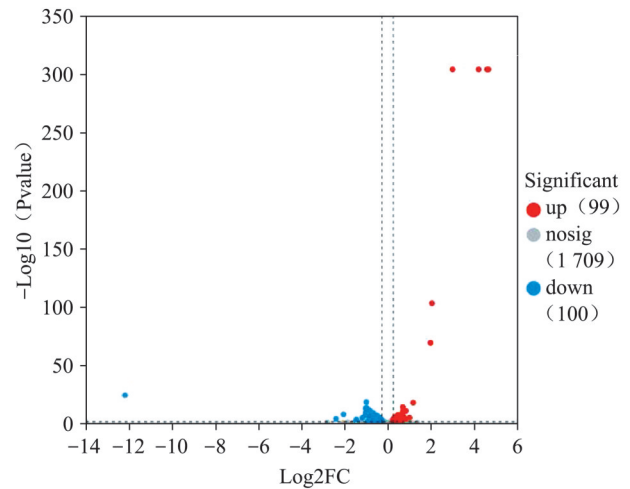


图 2 基因表达量差异火山图

Fig 2 Volcano plot of differential expression of gene

表 2 差异表达的基因数目

Tab 2 Number of differentially expressed genes

调节类型	FC>1.2	FC>1.5	FC>2
上调	99	22	8
下调	99	34	7

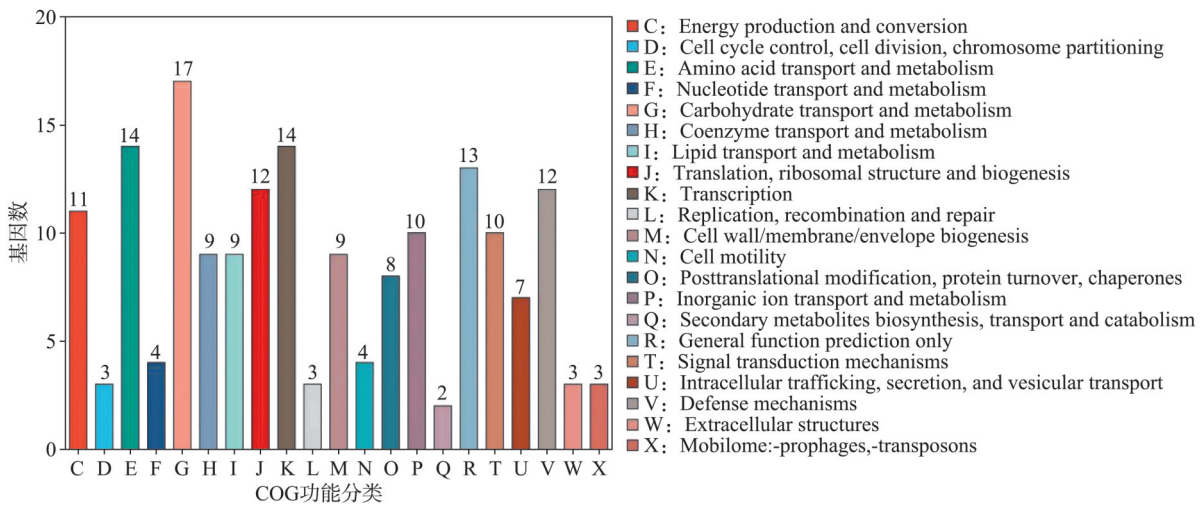


图 3 基因集 COG 分类统计柱状图

Fig 3 Bar chart of COG classification statistics for gene sets

GO富集分析气泡图（图4）显示，差异基因主要富集于对细菌的防御反应及响应、对外部生物刺激的反应、防御反应等条目，且绝大多数为下调基因，提示 *gsT* 缺失可抑制宿主防御机制，削

弱菌株对生物胁迫的应答能力。这一结果与COG注释分析中的信号转导机制（COG类别T）和防御机制（COG类别V）相符。

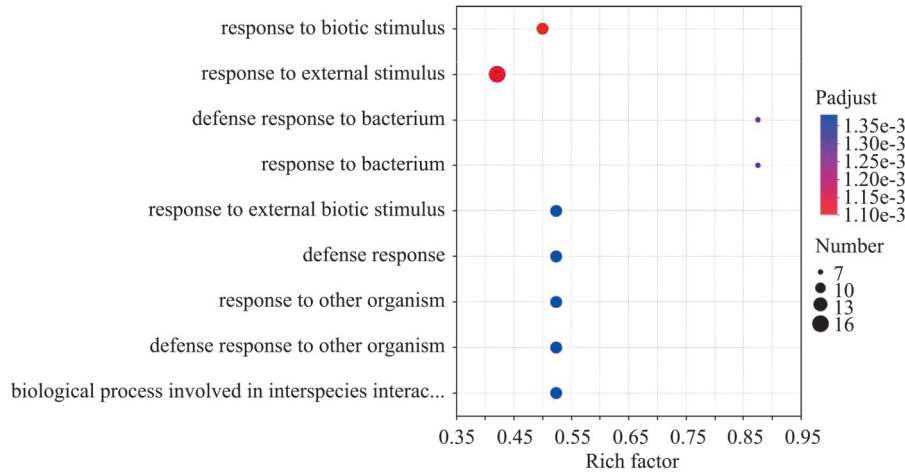


图4 GO富集分析气泡图

Fig 4 Bubble plot of GO enrichment analysis

KEGG富集分析气泡图（图5）显示，差异基因富集于硫辛酸代谢、三羧酸循环和丙酮酸代谢，且相关基因均上调。这一结果与COG注释分析中的能量生产与转换（COG类别C）、碳水化合物转运和代谢（COG类别G）结果高度一致，表明 *gsT* 缺失后变异链球菌可能通过激活糖酵解-三羧酸循环-氧化磷酸化轴提升能量代谢效率。

仍形成了数量可观的菌落，而敲除株仅形成了十余个菌落。45 min处理组同样无法计算存活率，但稀释10倍后标准株仍有少量菌落形成，而敲除株则无菌落形成。

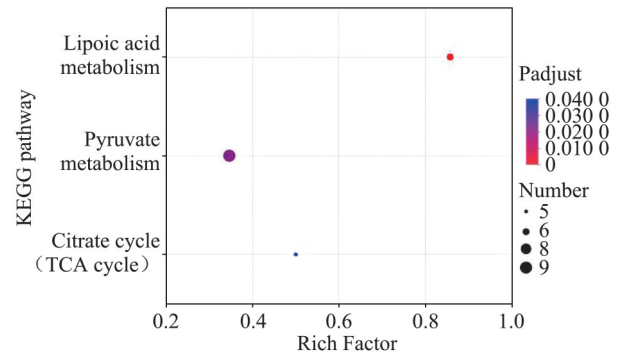


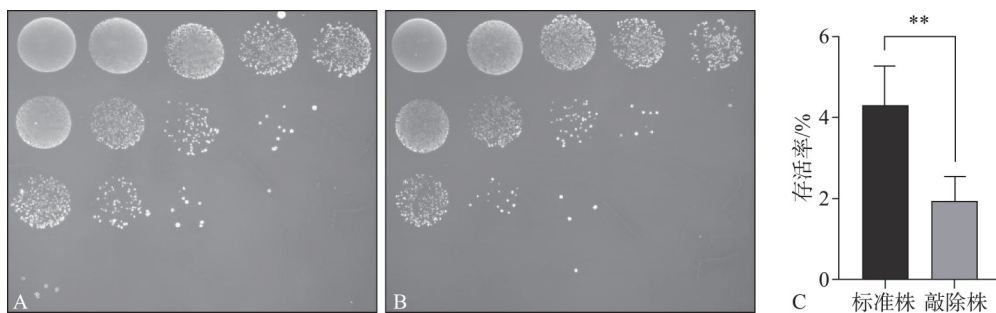
图5 KEGG富集分析气泡图

Fig 5 Bubble plot of KEGG enrichment analysis

## 2.2 表型验证

### 2.2.1 *gsT* 缺失变异链球菌耐酸能力降低

*gsT* 缺失对耐酸能力的影响见图6。与标准株 UA159相比，敲除株  $\Delta gsT$  在 pH2.8 的甘氨酸缓冲液中的存活能力明显降低。15 min处理组标准株的平均存活率为4.31%，而敲除株的平均存活率仅为1.93%，存活率显著降低 ( $P < 0.01$ )。30 min处理组虽然无法计算存活率，但稀释100倍后标准株



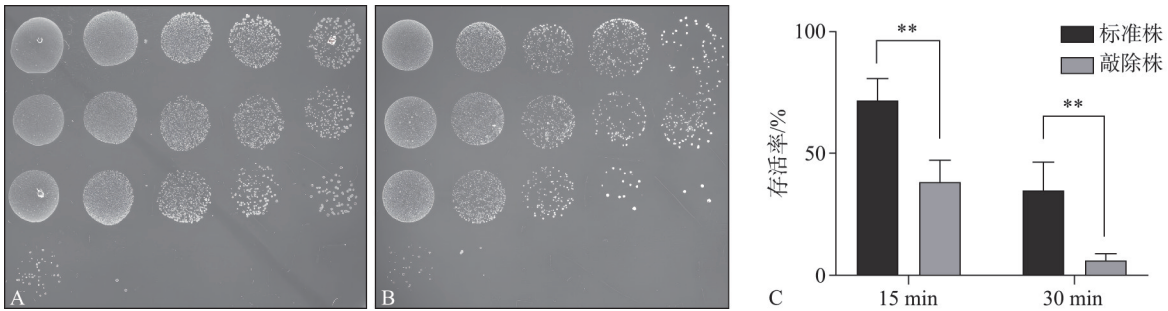
A、B分别为稀释后接种于培养基平板的标准株和敲除株，从上到下依次为对照组、15 min处理组、30 min处理组和45 min处理组，从左到右稀释倍数从10开始依次递增；C为15 min处理组的存活率，\*\* $P < 0.01$ 。

图6 *gsT* 缺失对耐酸能力的影响

Fig 6 Effect of *gsT* deficiency on acid tolerance

2.2.2 gsT 缺失抗氧化应激能力降低

gsT 缺失对抗氧化应激能力的影响见图 7。与标准株 UA159 相比, 敲除株  $\Delta$ gsT 面对氧化应激时存活能力明显降低。15 min 处理组标准株的平均存活率为 71.75%, 敲除株的平均存活率为 38.12%; 30 min 处理组标准株的平均存活率为 34.73%, 敲除株的平均存活率为 5.88%。45 min 处理组虽然无法计算存活率, 但可以看到在稀释 10 倍后, 标准株比敲除株有更多、形态更好的菌落形成。



A、B 分别为稀释后接种于培养基平板的标准株和敲除株, 从上到下依次为对照组、15 min 处理组、30 min 处理组和 45min 处理组, 从左到右稀释倍数从 10 开始依次递增; C 为 15 min 处理组及 30 min 处理组的存活率, \*\* $P < 0.01$ 。

图 7 gsT 缺失对抗氧化应激能力的影响

Fig 7 Effect of gsT deficiency on oxidative stress resistance

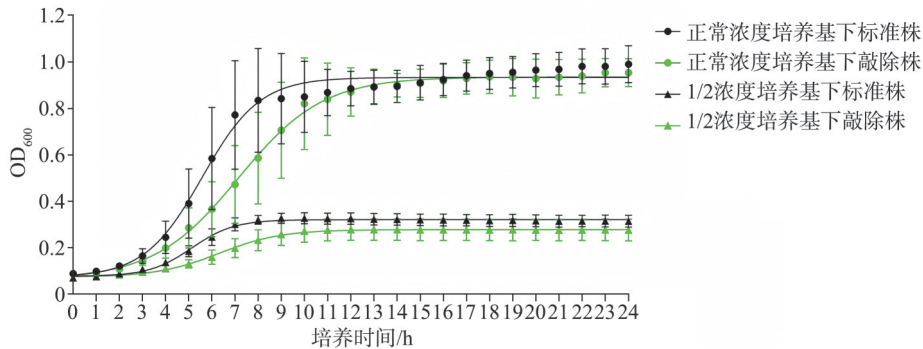


图 8 gsT 缺失对生长的影响

Fig 8 Effect of gsT deficiency on growth

在营养限制环境 (1/2 浓度 BHI 培养基) 下, 标准株的生长周期无明显改变, 生长速率降低 ( $\mu_{max}$  为  $0.32 \text{ h}^{-1}$ ),  $OD_{600\_max}$  为 0.32。敲除株的生长受到进一步抑制, 与正常营养条件下一样对数生长期延长,  $\mu_{max}$  仅为  $0.16 \text{ h}^{-1}$ ,  $OD_{600\_max}$  为 0.28, 与标准株相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 表明 gsT 的缺失导致变异链球菌对营养缺乏更加敏感。

2.2.4 gsT 缺失种间竞争能力降低

gsT 缺失种间竞争结果见图 9, 可见敲除株形成的混合生物膜结构较为稀疏, 且敲除株在其中占比较少。相对丰度定量分析, 敲除株在混合生物膜中占比 (8.50%) 较标准株 (16.89%) 下降

2.2.3 gsT 缺失生长速率降低且对营养限制更敏感

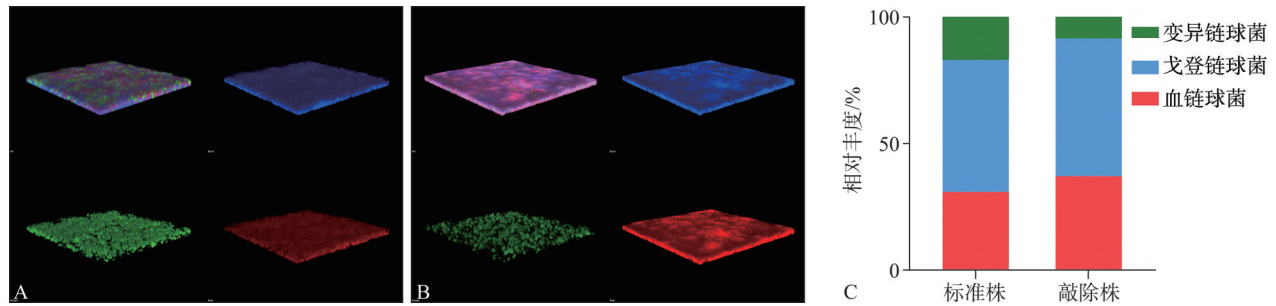
gsT 缺失对生长的影响见图 8。

当使用正常浓度 BHI 培养基时, 标准株呈现典型的生长周期, 对数生长期 (3~8 h) 的  $OD_{600}$  迅速上升,  $\mu_{max}$  为  $0.70 \text{ h}^{-1}$ ,  $OD_{600\_max}$  为 0.93。敲除株在经历约 3 h 的延迟期后进入对数生长期,  $OD_{600\_max}$  同样达到 0.93, 但  $\mu_{max}$  仅为  $0.35 \text{ h}^{-1}$ , 明显低于标准株, 相应的对数生长期也明显延长。

( $P < 0.05$ ), 而血链球菌占比 (37.16) 较标准株 (30.92%) 上升, 戈登链球菌占比 (54.34%) 也较标准株 (52.19%) 上升。

3 讨论

本研究通过整合转录组测序与多维度表型验证, 较为系统揭示了 GST 在变异链球菌代谢网络调控中的核心作用。研究表明, gsT 基因缺失不仅显著影响菌株的氧化应激响应能力, 更通过重塑中心代谢通路引发全局性生理重构, 这一发现为深入解析口腔致病菌的环境适应性机制提供了新的理论依据。



A、B 分别为变异链球菌标准株、敲除株与血链球菌及戈登链球菌共培养的混合生物膜荧光染色，C 为混合生物膜中各菌种相对丰度。

图 9 gsT 缺失对种间竞争能力的影响

Fig 9 Effect on interspecific competitive ability

基于转录组学分析，gsT 缺失株呈现显著的代谢重编程特征。值得注意的是，脂质代谢相关基因的普遍下调提示细胞膜生物合成可能受阻，导致膜流动性降低及质子通透性改变，进而影响胞内 pH 稳态维持能力。同时，无机离子转运系统的表达抑制可能加剧酸性环境下的质子失衡现象，这一推论在后续耐酸实验中得到表型验证。与此同时，能量代谢相关通路呈现显著激活特征：1) 碳水化合物转运与代谢基因的同时上调，与胞外多糖合成基因表达增强形成协同效应；2) 三羧酸循环相关基因的转录水平升高，提示丙酮酸脱氢酶复合体活性增强可能驱动乙酰辅酶 A 通量增加；3) 氧化磷酸化系统的激活表明能量转换效率提升。这种“代谢增强-结构妥协”的适应性策略与真核生物 Warburg 效应具有表型相似性<sup>[20]</sup>，具体调控机制可能涉及原核生物特有的双组分信号系统，在后续的机制研究中可通过实时荧光定量多聚核苷酸链式反应、靶向代谢组学和蛋白质组学进行验证。

在基因组稳定性维持方面，gsT 缺失导致同源重组、错配修复等关键 DNA 修复基因表达下调，同时转座子及原噬菌体相关基因转录抑制，提示基因组可塑性可能降低。转座子对真核基因组稳定性有着重要作用，在细菌中与接触依赖性信号转导密切相关<sup>[21-22]</sup>。研究<sup>[23-25]</sup>表明，原噬菌体是细菌水平基因转移的重要载体，可增强细菌适应性和毒力，在细菌进化中发挥重要作用。有趣的是，核糖体生物合成基因的显著上调与氨基酸转运系统激活形成代谢补偿网络，推测这种翻译效率提升可能是通过增加应激蛋白合成来缓解氧化损伤，在未来研究中可结合分子荧光追踪技术动态解析氧化损伤条件下 DNA 修复复合体的组装过程，进一步阐明其在基因组稳定性中的作用机制。

本研究发现的 GSH 代谢网络调控机制与多物

种研究形成理论呼应。在真核系统中，Han 等<sup>[26]</sup>证实 GSH 合成与谷氨酰胺代谢偶联可增强肿瘤细胞氧化应激耐受；Wang 等<sup>[27]</sup>在弗朗西斯氏菌中发现的保守性 GSH 利用途径则提示该分子在微生物环境适应中的普适性作用。值得注意的是，本研究发现 GSH 系统对耐酸能力的特异性调控，这一新机制在革兰氏阳性菌中尚未见报道。结合 Wu 等<sup>[28]</sup>对 Gstm2 调控线粒体功能的发现，提示 GSH 相关酶系可能通过保守的氧化还原调控模块影响不同生物体系的能量代谢。

综上，本研究阐释了 gsT 在变异链球菌代谢网络中的枢纽作用，揭示其通过协调氧化防御与能量重分配维持环境适应性的新机制。这些发现不仅为口腔微生物生态学研究提供新的理论框架，更为开发靶向 GSH 代谢通路的防龋策略奠定基础。

利益冲突声明：作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans* [J]. Front Biosci, 2004, 9: 1267-1277.
- [2] Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process[J]. Aust Dent J, 2008, 53(3): 286-291.
- [3] Xu YF, Itzek A, Kreth J. Comparison of genes required for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resistance in *Streptococcus gordonii* and *Streptococcus sanguinis*[J]. Microbiology, 2014, 160(12): 2627-2638.
- [4] Sherrill C, Fahey RC. Import and metabolism of glutathione by *Streptococcus mutans*[J]. J Bacteriol, 1998, 180(6): 1454-1459.
- [5] Vergauwen B, Verstraete K, Senadheera DB, et al. Molecular and structural basis of glutathione import in Gram-positive bacteria via GshT and the cystine ABC importer TcyBC of *Streptococcus mutans*[J]. Mol Microbiol,

- 2013, 89(2): 288-303.
- [6] Zhang J, Ye ZW, Singh S, et al. An evolving understanding of the S-glutathionylation cycle in pathways of redox regulation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 120: 204-216.
- [7] Mailloux RJ. Protein S-glutathionylation reactions as a global inhibitor of cell metabolism for the desensitization of hydrogen peroxide signals[J]. *Redox Biol*, 2020, 32: 101472.
- [8] Bischoff ME, Shamsaei B, Yang JC, et al. Copper drives remodeling of metabolic state and progression of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2025, 15(2): 401-426.
- [9] Romig M, Eberwein M, Deobald D, et al. Reactivation and long-term stabilization of the [NiFe] Hox hydrogenase of *Synechocystis* sp. PCC6803 by glutathione after oxygen exposure[J]. *J Biol Chem*, 2025, 301(1): 108086.
- [10] Li ZY, Zhang CZ, Li C, et al. S-glutathionylation proteome profiling reveals a crucial role of a thioredoxin-like protein in interspecies competition and cariogenicity of *Streptococcus mutans*[J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(7): e1008774.
- [11] Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005, 45: 51-88.
- [12] Armstrong RN. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases[J]. *Chem Res Toxicol*, 1997, 10(1): 2-18.
- [13] Zhang SS, Zhang C, Sun FJ, et al. Glutathione-S-transferase (GST) catalyzes the degradation of chlorimuron-ethyl by *Klebsiella jilinsis* 2N3[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 729: 139075.
- [14] Kammerscheit X, Chauvat F, Cassier-Chauvat C. From cyanobacteria to human, MAPEG-type glutathione-S-transferases operate in cell tolerance to heat, cold, and lipid peroxidation[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2248.
- [15] Peng X, Zhou XD, Xu X. The oral microbiome bank of China[J]. *Int J Oral Sci*, 2018, 10(2):16.
- [16] Jones AS. The isolation of bacterial nucleic acids using cetyltrimethylammonium bromide (cetavlon)[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1953, 10(4): 607-612.
- [17] Belli WA, Marquis RE. Adaptation of *Streptococcus mutans* and *Enterococcus hirae* to acid stress in continuous culture[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(4): 1134-1138.
- [18] Wen ZT, Suntharaligham P, Cvitkovitch DG, et al. Trigger factor in *Streptococcus mutans* is involved in stress tolerance, competence development, and biofilm formation[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(1): 219-225.
- [19] Klug B, Rodler C, Koller M, et al. Oral biofilm analysis of palatal expanders by fluorescence in situ hybridization and confocal laser scanning microscopy[J]. *J Vis Exp*, 2011(56): 2967.
- [20] Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: warburg and beyond[J]. *Cell*, 2008, 134(5): 703-707.
- [21] Sienski G, Dönertas D, Brennecke J. Transcriptional silencing of transposons by piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression[J]. *Cell*, 2012, 151(5): 964-980.
- [22] Ocasio AB, Cotter PA. CDI/CDS system-encoding genes of *Burkholderia thailandensis* are located in a mobile genetic element that defines a new class of transposon [J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(1): e1007883.
- [23] Juhas M. Horizontal gene transfer in human pathogens [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2015, 41(1): 101-108.
- [24] Davies EV, Winstanley C, Fothergill JL, et al. The role of temperate bacteriophages in bacterial infection[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363(5): fnw015.
- [25] Renard A, Diene SM, Courtier-Martinez L, et al. 12/111phiA prophage domestication is associated with auto-aggregation and increased ability to produce biofilm in *Streptococcus agalactiae*[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(6): 1112.
- [26] Han XL, Wang DY, Yang L, et al. Activation of polyamine catabolism promotes glutamine metabolism and creates a targetable vulnerability in lung cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(13): e2319429121.
- [27] Wang YX, Ledvina HE, Tower CA, et al. Discovery of a glutathione utilization pathway in *Francisella* that shows functional divergence between environmental and pathogenic species[J]. *Cell Host Microbe*, 2023, 31(8): 1359-1370.e7.
- [28] Wu HY, Yao Z, Li HK, et al. Improving dermal fibroblast-to-epidermis communications and aging wound repair through extracellular vesicle-mediated delivery of Gstm2 mRNA[J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22: 307.