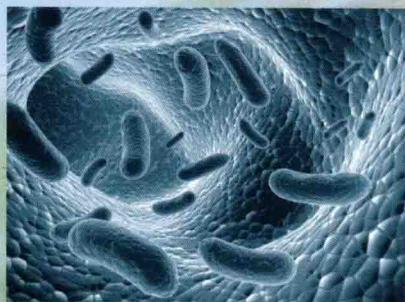




电穿孔技术促进微生物细胞 通透特性的应用研究

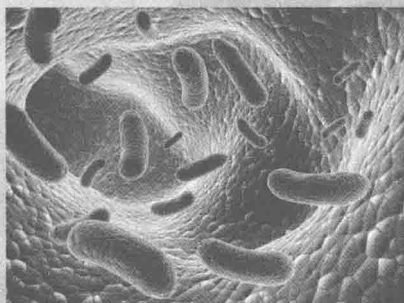
冀照君 著





电穿孔技术促进微生物细胞 通透特性的应用研究

冀照君 著



黑龙江大学出版社
HEILONGJIANG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目 (CIP) 数据

电穿孔技术促进微生物细胞通透特性的应用研究 /
冀照君著. -- 哈尔滨: 黑龙江大学出版社, 2016. 12
ISBN 978-7-5686-0068-2

I. ①电… II. ①冀… III. ①细胞生物学—研究
IV. ①Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 271665 号

电穿孔技术促进微生物细胞通透特性的应用研究

DIANCHUANKONG JISHU CUJIN WEISHENGWU XIBAO TONGTOU TEXING DE YINGYONG YANJIU

冀照君 著

责任编辑 于丹

出版发行 黑龙江大学出版社

地 址 哈尔滨市南岗区学府三道街 36 号

印 刷 哈尔滨市石桥印务有限公司

开 本 720×1000 1/16

印 张 7.75

字 数 101 千

版 次 2016 年 12 月第 1 版

印 次 2016 年 12 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5686-0068-2

定 价 22.00 元

本书如有印装错误请与本社联系更换。

版权所有 侵权必究

目 录

| | |
|-----------------------------|-----|
| 第一章 概述 | 1 |
| 1.1 细胞膜电穿孔及实际应用 | 2 |
| 1.2 酵母菌细胞壁的成分及结构 | 11 |
| 1.3 乳酸菌细胞壁的成分及结构 | 13 |
| 1.4 国内外研究现状 | 15 |
| 第二章 酵母菌细胞通透特性的研究 | 21 |
| 2.1 试验材料 | 22 |
| 2.2 试验方法 | 23 |
| 2.3 结果与分析 | 30 |
| 2.4 结论与讨论 | 59 |
| 第三章 乳酸菌细胞通透特性的研究 | 61 |
| 3.1 试验材料 | 61 |
| 3.2 试验方法 | 63 |
| 3.3 结果与分析 | 68 |
| 3.4 结论与讨论 | 90 |
| 第四章 乳酸菌细胞通透特性的应用与模型建立 | 93 |
| 4.1 试验材料 | 93 |
| 4.2 试验方法 | 94 |
| 4.3 结果与分析 | 96 |
| 4.4 结论与讨论 | 102 |
| 参考文献 | 105 |

第一章 概述

电对生物体的作用和影响早在 19 世纪前就受到了人们的重视。但是,大部分相关研究都集中在了电场对生物体的不可逆损伤上,如用电场来给食物灭菌、消毒等。

电场对生物膜的作用特性早在 20 世纪 70 年代前就有研究。关于膜电位阻抗、组织和细胞悬浮液的电特性、膜与离子电脉冲之间的关系、神经细胞膜的可逆电穿孔作用等都有所报道,但研究内容都是很零散的。

20 世纪 60 年代后期,Sale 和 Hamilton 首次对电穿孔特性进行了系统的研究,采用多个高压电脉冲对红细胞悬浮液进行处理,发现在电场作用下细胞溶解或死亡,证明剧烈的电场作用可能使细胞膜形成不可逆损伤。这一研究为细胞电穿孔与电融合技术的形成奠定了基础。

20 世纪 70 年代,研究者多以双分子脂膜、细胞膜作为材料进行电穿孔试验,尤其是细胞的介电电泳(Dielectrophoresis)技术的发现,是一项非常重要的研究成果。在这一时期,Neumann、Zimmermann 等人同时采用矩形脉冲电场或指数衰减脉冲电场对生物膜电穿孔现象进行了系统的研究。研究表明:(1)当采用合适的电脉冲条件时,细胞膜形成可逆电穿孔(Reversible electroporation),即电场诱导细胞膜形成的孔洞在一定时间内可以再封闭;(2)在电致孔洞封闭之前,某些离子和小分子物质可以通过孔洞自由出入;(3)通过调节电场参数和细胞

悬浮液(尤其是渗透剂和离子强度)可以控制电致孔洞的大小;(4)随着电场强度的增大,细胞膜上电致孔洞增大,达到一定程度后孔洞不能重新封闭,造成不可逆击穿,细胞死亡。他们的研究成果标志着细胞电穿孔这一新兴技术正式诞生。

在过去的几十年中,有关电穿孔的研究新成果很多。目前,人们越来越关注电穿孔技术的应用研究。电穿孔技术是一种生物物理现象,与传统方法(如磷酸钙沉淀法、基因枪法)相比,电穿孔技术具有独特的优点。

1.1 细胞膜电穿孔及实际应用

1.1.1 细胞膜电穿孔现象的定义

电穿孔是一种利用电脉冲来克服细胞膜这一屏障的过程,即在电场作用下,细胞壁组成和结构发生一定的变化,细胞膜脂双层上形成瞬时孔洞,细胞膜的通透性和膜电导瞬时增大,在正常情况下不能通过细胞膜的病毒颗粒、DNA、蛋白质以及染料颗粒等得以进出细胞的一个生物物理过程。该技术由于简单、快速、高效,目前广泛应用于生物技术、临床医学等许多领域。

电场造成细胞的穿孔有两种形式:可逆电穿孔和不可逆电穿孔。如果脉冲条件不超过某一临界限度,这种通透性是可逆的,否则细胞会遭到不可逆的损伤甚至死亡。其区别就在于前者可在短暂时间内恢复,而后者则恢复较慢或者不能恢复。研究表明:细胞膜电穿孔过程中细胞膜表面形成的孔洞直径为 20 ~ 100 nm,并且在数秒内基本维持不变。汪和睦等以 *E. Coli* HB101 为试验材料,采用电穿孔技术导入了经精胺缩合后直径为 88 nm 的复曲面形 pCP10 质粒,证实了 *E. Coli* 细胞膜的电致孔洞直径大于 88 nm 的结论。

作为一种具有普遍意义的生物物理新技术,电穿孔技术具有操作简便、电参数易控制、可重复性高、电穿孔效率高、无污染、作用机理相对清楚等优点。更重要的是,它的适用范围非常广,几乎可应用于所有种类的细胞,可用于有细胞壁的植物细胞、没有细胞壁的动物细胞,适用于贴壁生长的细胞,也适用于悬浮生长的细胞。就导入细胞的物质而言,既可以导入基因,也可以导入蛋白质、病毒等大分子,在工业、农业、医学及许多基础研究中的应用前景十分可观。

1.1.2 细胞膜电穿孔的机理

细胞膜是由双层磷脂和蛋白质构成的,厚度为5~10 nm。细胞膜有许多重要的功能,对细胞内外的物质交换起着重要作用。细胞膜表面通常会产生一些微小的孔洞。这一方面是由热运动造成的,它是随机的,与温度有关;另一方面是由电场造成的,它是确定的,直接与细胞膜的跨膜电位有关,电场对微孔的形成有决定性作用。

为了维持细胞正常的生理功能,通常细胞膜的两端存在约70 mV的静息跨膜电位,这是由于细胞膜内外带有相反的电荷(一般膜外带正电荷,膜内带负电荷,存在电位差)。当细胞处于外加电场中,细胞跨膜电位达到0.5~1 V时,就超过了细胞的静息跨膜电位。对单独的细胞而言,所加脉冲电场幅度为 $10^5 \sim 10^6$ V/m,这样的脉冲电场可使细胞电导增大。

外加电场之所以能够击穿细胞,主要是由于细胞膜基本上是一个绝缘体,两面浸在含离子的电解质溶液中,当处于外加电场中时,膜两边的电解质离子极化,而形成外加膜电位差。这个电位差的形成时间常数与膜等效电容充电时间有关,即膜两边的电解质浓度(相当于电导率)和膜本身的电容量决定外加膜电位差的形成,膜电位差可用下式来表示:

$$U_m = 1.5rE_0 \cos\theta (1 - e^{-t/\tau})$$

式中, r 是细胞的等效半径;

E_0 是外加的电场强度;

θ 是经细胞膜任意一点的径向与电场方向之间的夹角(如图1-1);

t 是时间;

τ 是电位差的形成时间常数。

电场强度最大的位置是面对电场($\theta = 180^\circ$)和背对电场($\theta = 0^\circ$)的两个极点。但往往细胞的正极区和负极区有很大的差异。

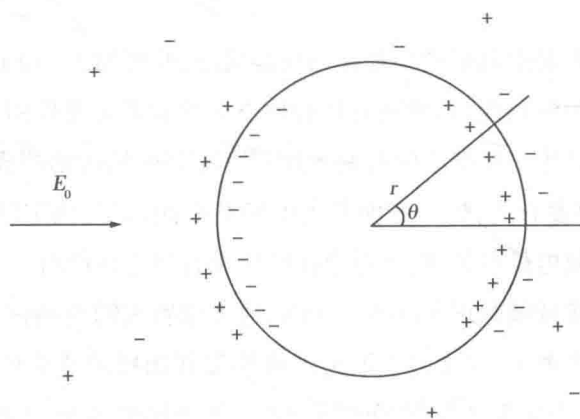


图1-1 细胞在弱电解质溶液中极化示意图

电位差形成的时间很短,细胞两端的最高膜电位差 $U_m = 1.5rE_0$ 很快就建立起来,这个电压对细胞膜会产生一定的压力 π :

$$\pi = 0.5\varepsilon_e\varepsilon_0(U_m/h)^2$$

由上式可见,这个压力 π 与膜的等效电容厚度 h 、缓冲液的介电常数 ε_e 、真空的介电常数 ε_0 也有关。这个压力施于一块厚度为 h_0 的膜上时,膜的厚度就会减小。当减至临界厚度 $h = 0.607h_0$ 时,膜就会因不稳定而被击穿。

可逆电穿孔还包括一个细胞膜迅速放电的过程。在脉冲结束后

几微秒内,较高的跨膜电位迅速下降到一个相对较低的数值上,不过细胞膜要完全恢复还需要多几个数量级的时间,一般是几秒至几分钟。

从能量角度来看,细胞膜的介电常数($2 \sim 3 \text{ F/m}$)远小于细胞内外液体的介电常数($70 \sim 80 \text{ F/m}$,接近于水),同时细胞膜对离子的电阻率远远高于水对离子的电阻率,细胞膜对离子有很强的阻挡作用,即在正常情况下,离子通过细胞膜所需要的能量都很高。细胞膜上的微孔,在电脉冲的作用下会扩大,使离子通过细胞膜所需的能量大大减少,离子很容易进入细胞,导致细胞膨胀、细胞膜变薄,从而引起微孔的迅速扩大,由于细胞内外渗透压不同,细胞内物质外喷,而形成电穿孔。当胞内物质外喷后,膜内外压力又趋于相同,与此同时,细胞外物质也可能会进入细胞的内部,细胞膜上的孔洞又开始逐渐修复。

磁场对电穿孔的产生所起的作用也是不能忽视的。由于生物体的磁导率 μ 与真空条件下的磁导率 μ_0 很相近,因而磁场是可透过生物体的。脉冲磁场或交变磁场在生物体内将产生感应电流及高频热效应。由于趋肤效应,细胞中的感应电流会使接近细胞膜处的发热量较高,同时细胞膜的两边会积累电荷,从而改变细胞的跨膜电位,严重时也会导致细胞膜的电击穿。

电穿孔过程中,电脉冲的强度、宽度、脉冲波形及脉冲数等参数对细胞膜渗透性的影响都很大。电场强度和脉冲宽度之间存在互补关系,即降低电场强度,则需要加大脉冲宽度来弥补,穿孔的效率往往与电场强度和脉冲宽度的乘积成正比。脉冲波形对细胞膜电穿孔也有重要的影响。目前用得最多的是方波和指数衰减脉冲。

在自然环境中,生物细胞在自己体内由一定的感应电荷形成平衡电场。这些感应电荷包括自由电荷、极性分子、可溶性离子等。在施加电场后,极性分子等在电场力的作用下发生位移,若电场力足够大,则会造成细胞膜的损伤,使细胞内物质外漏,导致溶液的电导率增大。

1.1.3 细胞膜电穿孔的形成过程

由于细胞膜电穿孔过程的复杂性和试验手段的局限性,人们还没有彻底了解电穿孔发生的机制。有观察表明,可逆电穿孔的形成与演变是动力学过程。许多研究者都认为,电穿孔的形成过程大致分为三个阶段:第一阶段发生在施加电场后的几微秒内,细胞膜上会出现微小孔洞,称为触发过程;第二阶段也发生在微秒级时间内,孔洞结构迅速扩大,之后孔洞变得相对稳定,称为次级过程;第三阶段孔洞开始缩小,细胞开始复原至微孔消失,或者孔洞持续扩大,造成不可逆电穿孔,细胞破裂甚至死亡,称为脉冲后效应。

1.1.3.1 电穿孔的触发过程

电穿孔的触发过程,是指在外加电场的作用下,细胞膜上形成大量微孔的阶段。由于跨膜电位与电场强度、脉冲宽度和细胞半径有关,只要选择适当的脉冲参数,就可以使细胞膜的磷脂双分子层极化和重排,造成电穿孔。通常半径为 $10\ \mu\text{m}$ 的动物细胞上施加电场强度为 $1\sim 4\ \text{kV/cm}$ 的电脉冲,产生的细胞膜的临界跨膜电位为 $0.5\sim 1.5\ \text{V}$ 。而且要求脉冲宽度比细胞膜的充电时间和细胞膜复原的时间长,以保持孔洞的开放。

张弘等在超宽频带横电磁传输室(BTEM Cell)中,对鸡红细胞施加场强 $20\ \text{V/cm}$ 、脉宽 $100\ \text{ns}$ 的低强度脉冲,在跨膜电位小于临界击穿电压的情况下观测到了直径为 $0.1\sim 0.9\ \mu\text{m}$ 大小不等的孔洞,从而证明跨膜电位达到临界击穿电压并不是形成电穿孔的唯一原因。

1995年,Weaver用亲水孔和疏水孔模型解释电穿孔的形成,认为电致微孔是由分子热运动的能量和电能共同决定的,电场使跨膜电位增加,细胞膜表面瞬态微孔半径增大,疏水微孔被水填充,亲水微孔通道则降低了离子穿膜所需的能量,使大量离子可以较自由地穿过细

胞膜。

1.1.3.2 电穿孔的次级过程

细胞被脉冲击穿后,离子穿过细胞膜所需能量会极大地减少。由于渗透压的不平衡,水和部分离子及小分子会进入细胞,导致细胞继续膨胀。细胞膜变薄,表面张力使微孔迅速扩大,直至细胞质外喷,形成火山口形开孔。微孔迅速扩大至细胞骨架网孔大小,孔洞趋于稳定。这一过程称为电穿孔的次级过程,通常在几十微秒内实现,而且,在电场作用下一些已经存在的孔洞会被不断扩大。

早期对细胞膜电致通透性增大的研究,主要以蔗糖、金属离子等小分子为对象,得到了细胞膜的临界击穿电压约为1 V、可逆电穿孔的脉冲宽度为5~40 μs 、孔洞直径约为1 nm的结论,但仍然还不能解释长度远大于1 nm的DNA质粒是如何进入细胞体内的。Berg等认为,电穿孔能诱导膜蛋白极化,造成构象上的变化,加剧微孔的扩大,接着发生的电荷排斥将导致跨膜通道的开放。

1.1.3.3 电穿孔的脉冲后效应

一般细胞都具有自我修复的能力,胞内物质外喷后,膜内外压力就会趋于平衡,膜上孔洞逐渐修复并可能发生分子重排。复原机制的研究目前尚处于理论模型阶段,通常认为细胞膜电穿孔的可逆性和恢复时间靠维持孔洞边缘的能量来决定,如果维持孔洞边缘的势能比恢复双分子层的势能高,则孔洞不稳定,将很快封闭,否则孔洞就会继续扩大,甚至形成不可逆电穿孔。

细胞膜电穿孔后的复原因膜组分、细胞种类等不同而异,例如纯脂膜的再封闭要比具有膜蛋白的细胞膜孔洞再封闭快得多。孔洞封闭的时间还与复原期间的温度、细胞内外的渗透压、溶液所含离子种类等因素有关,通常温度越低,孔洞复原就越慢,因此可以用低温来延缓膜孔复原时间,有利于细胞外物质进入细胞。

随着脉冲电场强度的增大,细胞存活率将会降低。一方面可能是由于电场直接造成了细胞膜某一区域的破裂,形成了较大的孔洞;另一方面,电致孔洞使细胞内外的物质发生交换,细胞内离子平衡骤变,影响了细胞正常的生理功能,导致细胞的迅速死亡。

一般,细胞膜孔洞在跨膜电位高的时候扩张,在跨膜电位低的时候复原。复原过程中,膜孔比较小的时候所受到的修复阻力比较小,当膜孔半径达到 100 nm 左右时,膜孔复原将遭到很大的阻力。如果选用合理的脉冲条件,就可以达到控制膜孔半径的目的。撤销外加电场,则细胞膜电容将快速放电,膜孔的修复力大于扩张力时,膜孔将开始复原,所以控制电场的作用时间就可以控制穿孔的时长。

1.1.4 影响细胞膜电穿孔效率的因素

1.1.4.1 电场强度对电穿孔的影响

目前发生电穿孔所采用的电场通常是直流电场、方波脉冲和指数衰减脉冲。为了满足电穿孔的要求,细胞膜上至少要有一定的跨膜电位,其值可由公式 $V_a = 1.5rE\cos\theta / [1 + (\omega\tau)^2]^{1/2}$ 估计。植物细胞须将细胞壁去掉,剩下的原生质体的电穿孔所需电压与动物细胞相近。细菌的外膜比较强韧,所需场强往往也比普通动物细胞大 1~2 个数量级。当外加电场为交流电场时,电场频率的增加会导致其跨膜电位降低,甚至低于电穿孔现象发生所需的临界值,所以要求高频电场具有更高的电场强度。

1.1.4.2 脉冲宽度对电穿孔的影响

跨膜电位也是脉冲宽度的函数。脉冲宽度的下限通常需比细胞膜充电时间和细胞膜弹性恢复时间长,才能保证孔洞在电脉冲后维持一段时间。穿孔效率往往与电场强度和脉冲宽度的乘积成正比,宽度

窄的脉冲需要提高电场强度来进行弥补,但太宽的脉冲往往会击破细胞膜,导致细胞不能自我修复而死亡。

1.1.4.3 脉冲波形对电穿孔的影响

不同的脉冲波形对细胞膜电穿孔也有重要的影响。目前使用最多的是方波和指数衰减脉冲。另外,交流脉冲或多次脉冲能够充分利用脉冲电场产生不断变化的张力,引起膜结构破坏。有研究表明:如果利用较高的电脉冲强度击穿细胞膜后,能以较低的电场强度维持膜孔开放一段时间,则有利于提高细胞膜电穿孔效率,但此时细胞死亡率也相应提高。

1.1.4.4 脉冲数对电穿孔的影响

增加脉冲数能增大细胞电穿孔的效率,电脉冲作用在细胞膜上具有累积效应。杨孔等在对 HeLa 细胞可逆电穿孔的试验中发现,脉冲幅度和波形固定时,穿孔的概率与脉冲数成正比,最佳的脉冲数为 5 个。早期研究表明,每个脉冲的细胞致死率随脉冲数的增多而增高。汪和睦等人的研究表明,每个脉冲的致死率随脉冲数的增加而递减,在连续 7 个脉冲后,酵母菌原生质体的存活率仍达到 57.6%,可能的解释是:每个脉冲的幅度相同的情况下,第一个脉冲使半径大于 r 的细胞损伤死亡,后继脉冲的致死率由于半径大于 r 的细胞减少而下降。

1.1.4.5 影响电穿孔效率的其他因素

不同种类的细胞或不同生长期的细胞,组分和结构差异巨大,对电穿孔的各参数、溶液成分、温度等要求也有差别,不同细胞对产生的热效应敏感度也有差异。通常情况下,生长快的细胞比生长慢的细胞电穿孔效率高;细胞处于有丝分裂期时更容易发生电穿孔;细胞越大,需要的电场强度越小,细胞越小,需要的电场强度越大。例如,处于对

数生长期的酵母菌就比处于稳定期的酵母菌电穿孔效率高。

有些情况下,细胞稍微膨胀,会有助于药物和分子进入细胞,所以在电穿孔时,不同的缓冲液对细胞的电穿孔效率有很大的影响。例如:与细胞培养基和磷酸盐缓冲液 PBS 相比,Cytomix 缓冲液能极大地提高贴壁细胞 Vero 的转染率,还能有效转染在其他缓冲液中不易转染的半悬浮细胞 Sp2/0。

1.1.5 细胞膜电穿孔的应用

电穿孔在生物、医学、食品等各方面都具有广泛的应用,主要有以下几个方面。

1.1.5.1 DNA 电转染

DNA 电转染进入活细胞以改善细胞特性是目前电穿孔特性应用较广的领域。细胞膜的微孔半径一般为纳米级,目前还不能充分解释 DNA 分子如何进入细胞,但推测脉冲电场的电场力可能起着重要的作用。

1.1.5.2 非热效应杀灭细菌

尽管电脉冲杀死微生物细胞的机理尚未完全清楚,但其已有广泛的应用,例如食品的高压脉冲消毒和保鲜。

1.1.5.3 细胞融合

细胞融合就是利用电穿孔技术将多个细胞合并形成一个细胞,也称为细胞杂交。目前有研究者通过电脉冲的作用融合人体细胞和动物组织细胞,以构建模型。

1.1.5.4 蛋白质的电导入

通过电脉冲作用,可以将复制后的细胞膜蛋白质导入细胞内。蛋

白质的电导入技术除了应用于临床,还应用于膜蛋白质与细胞膜的重组,该方法为细胞膜生物化学特性的研究提供了技术平台。

1.1.5.5 促进药物传送

如何用尽可能小剂量的药物达到最大的治疗效果是临床上关注的焦点,比如跨皮肤的直接药物传送。利用电穿孔技术在细胞膜上形成可逆微孔,增大药物大分子的吸收量,大大降低药物的使用量,具有许多优点。

1.2 酵母菌细胞壁的成分及结构

由于酵母菌在发酵工业中的应用越来越广泛,近年来研究者采用酵母菌融合等技术对酵母菌进行选育,其中酿酒酵母是最好的研究对象。酵母菌的细胞结构与其他真核微生物相似,有细胞壁、细胞膜、细胞质、细胞核、内质网、线粒体、液泡和核糖体等。一般酵母菌比细菌大得多,是一种单细胞微生物,通常是卵圆形或椭圆形,大部分为出芽繁殖,只有在营养极端缺乏时才可能出现孢子繁殖,其细胞结构和细胞膜结构分别如图 1-2 和图 1-3 所示。

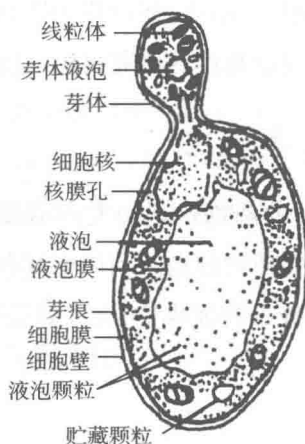


图 1-2 酵母菌细胞结构图

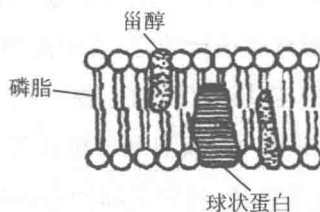


图 1-3 酵母菌细胞膜的结构

酵母菌细胞直径为 $5\ \mu\text{m}$ 以上。细胞壁厚约 $25\ \text{nm}$, 约占细胞干重的 25%, 是一种坚韧的结构, 其化学成分较特殊, 主要由“酵母纤维素”组成。其结构类似三明治, 外层为甘露聚糖, 内层为葡聚糖, 中间夹一层蛋白质, 其中还有与细胞壁相结合的酶存在, 如葡聚糖酶、蔗糖酶、甘露聚糖酶、脂酶和碱性磷酸酶等。此外, 细胞壁上还含有少量类脂和几丁质。

酵母菌细胞膜紧贴于细胞壁的内侧, 约厚 $7.5\ \text{nm}$, 外表光滑, 结构与细菌的细胞膜相似, 分内、中、外三层, 由大体上相等的类脂和蛋白质以及少量的糖类所组成, 有的酵母菌(如酿酒酵母)的细胞膜中含有固醇。细胞膜的功能很多, 主要是控制细胞内外物质的交换, 参与细

胞壁和部分酶的合成。此外,有些酵母菌细胞膜上还有麦角甾醇。

1.3 乳酸菌细胞壁的成分及结构

人类对于乳酸菌的应用历史非常久远。在远古时期,人类就在食品方面不自觉地利用了乳酸菌。但是,人类能动地去研究和掌握乳酸菌的生活规律并加以应用,还是近百年的事情。乳酸菌是一群能利用可发酵性碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌的通称。乳酸菌属于真细菌纲真细菌目中的乳酸细菌科。乳酸细菌科根据细胞呈球状或呈杆状,又分成乳酸杆菌族和链球菌族。乳酸菌与其他细菌相比,对营养的要求比较严格而且复杂。

乳酸菌生物学功能非常多,主要表现在以下几个方面:(1)维持肠道菌群平衡,乳酸菌通过产生大量有机酸、过氧化氢、酶、细菌素等,抑制病原菌的克隆和定植,并促进肠道蠕动,维持肠道正常生理功能;(2)免疫作用,乳酸菌能干预细胞免疫和体液免疫,能阻断许多微生物的入侵和黏附,口服乳酸菌能刺激人体产生非特异性免疫,而且乳酸菌及其产物的作用与佐剂相似,具体地说就是诱导干扰素产生,促进细胞分裂、体液免疫及细胞免疫;(3)营养作用,乳酸菌代谢产生乳酸,可提高钙、磷、铁、维生素D的吸收,乳糖分解产生的半乳糖,是构成脑神经系统中脑苷脂的成分,并且还和婴儿出生后脑的迅速生长有密切关系;(4)降低胆固醇作用,乳酸菌不仅有抑制胆固醇合成的作用,而且还能较好地吸收胆固醇,并通过代谢作用使胆固醇转化成胆酸或胆汁酸排出体外;(5)抗肿瘤作用,乳酸菌通过代谢过程,抑制了致癌物质的生成及癌细胞的增殖,尤其是保加利亚乳杆菌有潜在的抗肿瘤特性,可以降低 β -葡萄糖苷酶和偶氮还原酶的有效浓度,减少癌变率;(6)抗辐射及其他作用,乳酸菌可有效保护造血系统,并具有抗突变作用,口服乳杆菌和双歧杆菌的动物,经放射线照射后,比对照组存活时间长。