

БИОРЕАКТОРНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ КОЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ В РЕКОМБИНАНТНОМ ШТАММЕ *LACTOBACILLUS SPP.*

Самойленко В. С. — канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. зоологии и паразитологии (ORCID: 0000-0003-2730-2482); Лапина А. А. — специалист учебно-лабораторного комплекса (ORCID: 0009-0002-5655-1170).

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

*alinagisa@yandex.ru.

Ключевые слова: биореактор, лактобактерии, плазмиды, интерлейкины, белки, коэкспрессия, культивирование.

Keywords: Bioreactor, lactobacilli, plasmids, interleukins, proteins, coexpression, cultivation.

Поступила в редакцию / Received: 15.02.2026

Одобрена после рецензирования / Revised: 11.06.2026

Принята к печати / Accepted: 25.06.2026



РЕФЕРАТ. Разработка высокопродуктивных пробиотических штаммов, способных к синтезу терапевтических белков, требует комплексного подхода, сочетающего генетическое конструирование с оптимизацией условий ферментации. В данном исследовании разработан и валидирован усовершенствованный протокол трехэтапного культивирования рекомбинантного штамма *Lactobacillus spp.*, обеспечивающего коэкспрессию интерлейкинов IL-10 и IL-22, в биореакторе с автоматическим контролем критических параметров — pH, температура, растворенный кислород. В работе использовали рекомбинантные штаммы, трансформированные плазмидой pLacDualIL10/IL22. Культивирование проводили в стеклянном биореакторе (рабочий объем 600 мл) с автоматическим контролем pH, температуры и растворенного кислорода. Реализован трехэтапный режим: фаза роста (37°C, pH 6,8), фаза индукции (1 mM IPTG, 30°C) и фаза продукции. Очистку белков проводили тангенциальной ультрафильтрацией и аффинной хроматографией на Ni-NTA агарозе. Количественный анализ IL-10 и IL-22 выполняли методом ELISA, чистоту оценивали с помощью SDS-PAGE, биологическую активность — в пролиферативном тесте на лимфоцитах PBMC. Применение стратегии, включающей фазы роста, индукции (1 mM IPTG, 30°C) и продукции, позволило достичь значительного увеличения выхода целевых белков: до 120 ± 15 мг/л для IL-10 и 95 ± 10 мг/л для IL-22, что в 2–3 раза превышает показатели при культивировании в колбах. Последующая очистка методом тангенциальной ультрафильтрации и аффинной хроматографии обеспечила получение белков высокой степени чистоты >95 % и >93 %, соответственно с сохраненной биологической активностью $1,2 \times 10^6$ ЕД/мг для IL-10 и $8,5 \times 10^5$ ЕД/мг для IL-22. Предложенная методика демонстрирует высокую воспроизводимость и эффективность, что подтверждает ее перспективность для масштабирования производства функциональных рекомбинантных цитокинов на пробиотической платформе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION. Развитие биотехнологии и генной инженерии открыло новые перспективы для создания рекомбинантных пробиотических штаммов, способных к синтезу гетерологичных белков с терапевтическим потенциалом. Особый интерес представляют штаммы, обеспечивающие моно- и коэкспрессию биологически активных молекул, таких как цитокины интерлейкин-10 (IL-10) и интерлейкин-22 (IL-22), которые играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа и поддержании барьерной функции слизистых оболочек. Пробиотические микроорганизмы, в частности представители рода *Lactobacillus*, являются идеальными кандидатами для реализации таких задач благодаря их безопасности, адаптивности к условиям желудочно-кишечного тракта и способности к эффективному синтезу рекомбинантных белков [1–3].

Однако достижение высокой продуктивности

и стабильности экспрессии остается серьезной проблемой из-за сложного взаимодействия между генетическими конструкциями и условиями культивирования. Традиционные методы, основанные на использовании статических культур в колбах, не позволяют контролировать критические параметры ферментации, такие как pH, концентрация растворенного кислорода, температура и аэрация. Это приводит к неоптимальному росту клеток, снижению жизнеспособности и, как следствие, к низкому выходу целевых белков. Существующие решения часто фокусируются на генетических аспектах конструирования штаммов, но уделяют недостаточное внимание оптимизации технологических процессов, что ограничивает их воспроизводимость и масштабируемость [4–6].

В связи с этим возникает необходимость в разработке интегрированных подходов, сочетающих генетическую инженерию с совершенствованием

условий ферментации. Такие подходы должны обеспечивать поддержание оптимальных физико-химических параметров на всех этапах культивирования, минимизацию клеточного стресса и максимальную индукцию экспрессии целевых генов [7—8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS. На базе Геномного Центра Северо-Кавказского Федерального университета и бактериологической лаборатории базовой кафедры эпизоотологии и микробиологии Ставропольского государственного аграрного университета, в период с 2024 по 2025 гг. осуществлялись основные исследования по разработке и валидации биореакторного протокола масштабируемого получения рекомбинантных интерлейкинов IL-10 и IL-22 на основе пробиотического штамма *Lactobacillus spp.*

В работе использовали рекомбинантные штаммы *Lactobacillus spp.*, трансформированные плазмидой pLacDualIL10/IL22, обеспечивающей коэкспрессию генов интерлейкина-10 (IL-10) и интерлейкина-22 (IL-22). Штаммы хранили в виде глицериновых стоков (25 % глицерин) при -80°C . Перед экспериментом проводили посев на селективную среду MRS (De Man, Rogosa and Sharpe), содержащую антибиотики: 5 мкг/мл эритромицина и 10 мкг/мл хлорамфеникола. Выбор данных антимикробных препаратов обусловлен наличием в структуре плазмиды pLacDualIL10/IL22 селективных маркеров ermAM (устойчивость к эритромицину) и cat (устойчивость к хлорамфениколу), что позволяет поддерживать стабильное наследование генетической конструкции в популяции рекомбинантных клеток. Выбранные концентрации антибиотиков были подобраны в предварительном эксперименте, при котором ингибирующее действие хлорамфеникола не нивелирует селективного давления эритромицина, что было подтверждено стабильным ростом трансформантов на селективной среде и сохранением плазмиды. Инкубацию вели при 37°C в анаэробных условиях в течение 16—18 часов.

Для приготовления инокулята 50 мл ночной культуры выращивали до достижения оптической плотности OD₆₀₀ 2.5—3.0. Модифицированную среду MRS готовили с добавлением 1 % глюкозы, 0,1 % дрожжевого экстракта и 0,01 % Tween-80 для улучшения роста и стабильности экспрессии. Среду стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 20 минут.

Культивирование проводили в стеклянном биореакторе объемом 1 л (рабочий объем 600 мл), оснащенный системой автоматического контроля параметров. Использовали следующие датчики: Комбинированный pH-электрод InPro 3250 (Mettler Toledo) с автоматической подачей 2 М NaOH или 1 М HCl для поддержания pH, полярографический кислородный зонд VisiFerm DO ECS 225 (Hamilton) для мониторинга растворенного кислорода и температурный датчик Pt100 с точностью $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

Для сравнительной оценки эффективности разработанного протокола параллельно с основными экспериментами проводили контрольные культивирования рекомбинантного штамма в двух альтернативных режимах. Первый режим имитировал классические условия «без контроля параметров»: выращивание в конических колбах объемом 500 мл (рабочий объем 150 мл) на орбитальном шейкере при 37°C , 180 об/мин, без поддержания pH, с индукцией 1 мМ IPTG через 12 часов после начала роста. Второй режим — «низкая концентрация IPTG»: культивирование в аналогичных колбах, но с внесением индуктора в финальной концентрации 0,1 мМ. Все сравнительные эксперименты выполняли в тех же временных рамках (72 часа) и с использованием одного и того же инокулята из единого пула клеток, что обеспечивало сопоставимость результатов.

Измерение оптической плотности при 600 нм проводили при помощи спектрофотометра Shimadzu UV-1800. Определение количества жизнеспособных клеток проводили методом серийных десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе (0,9 % NaCl). Из каждого разведения отбирали аликвоту объемом 100 мкл и высевали на поверхность MRS-агара в чашках Петри. Посевы инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 48 часов. После инкубации проводили подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) в чашках. Количество жизнеспособных клеток в исходной суспензии рассчитывали с учетом коэффициента разведения объема посева. Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом при помощи набора Glucose Assay Kit, Sigma. Количественный анализ молочной кислоты определяли методом ВЭЖХ на колонке Aminex HPLX-87H при 65°C с детектированием при 210 нм.

По завершении ферментации биомассу разделяли центрифугированием при 8000 g в течение 20 минут при 4°C с использованием центрифуги Sorvall RC-6 Plus. Супернатант концентрировали в 10 раз методом тангенциальной ультрафильтрации на системе Pellicon 2 (Millipore) с мембранами 10 кДа при 4°C и давлении 1,5 бар. Клеточный осадок ресуспендировали в буфере для лизиса (50 мМ Tris-HCl, pH 8,0, 1 мМ EDTA, 1 мг/мл лизоцима) и инкубировали 30 минут при 37°C с последующей ультразвуковой обработкой (Soniprep 150, 10 циклов по 30 секунд, амплитуда 10 мкм). Очистку рекомбинантных белков проводили аффинной хроматографией на Ni-NTA агарозе (HisTrap HP, Cytiva) с градиентным элюированием имидазолом (20—500 мМ в PBS, pH 7,4) при скорости потока 1 мл/мин. Фракции анализировали спектрофотометрически при 280 нм и объединяли по пикам.

Содержание IL-10 и IL-22 в культуральной жидкости и клеточных лизатах определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих тест-систем (Bovine IL-10/IL-22 ELISA Kit, Thermo Scientific). Измерение оптической плотности проводили на планшетном

спектрофотометре при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов рассчитывали по калибровочным кривым, построенным с использованием стандартных образцов, входящих в состав набора. Очищенные рекомбинантные белки анализировали методом SDS-PAGE в 12 % полиакриламидном геле с окрашиванием Кумасси R-250.

Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях. Данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Статистическую значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS. Трехэтапный режим культивирования в биореакторе с автоматическим контролем параметров позволил значительно улучшить кинетику роста рекомбинантного штамма *Lactobacillus spp.* и продуктивность синтеза целевых белков. В фазе роста (0—12 часов) поддерживались оптимальные условия для накопления биомассы: температура 37°C, pH 6,8, скорость перемешивания 200 об/мин и аэрация 0,5 vvm. Это обеспечило быстрое достижение экспоненциальной фазы роста, о чём свидетельствует интенсивное увеличение оптической плотности культуры (OD_{600}). К моменту индукции (12 часов) значение OD_{600} достигало 0,6, что указывало на достаточную плотность клеток для запуска экспрессии. Статистический анализ подтвердил достоверность различий между показателями, полученными при разных режимах культивирования ($p < 0,05$ для всех сравниваемых пар данных).

На фазе индукции (12—48 часов) внесение 1 mM IPTG при одновременном снижении температуры до 30°C и увеличении скорости перемешивания до 400 об/мин способствовало эффективному запуску синтеза рекомбинантных белков. Снижение температуры минимизировало образование белковых агрегатов и повысило выход нативных форм IL-10 и IL-22. Поддержание pO_2 на уровне 30 % от насыщения путём каскадного регулирования аэрации (0,5—1,0 vvm) и перемешивания (300—500 об/мин) обеспечивало адекватное снабжение клеток кислородом без возникновения оксидативного стресса. В фазе продукции (48—72 часа) наблюдалось значительное накопление целевых белков в культуральной жидкости и клеточной биомассе.

Мониторинг параметров среды показал, что автоматическая коррекция pH и pO_2 позволила поддерживать их в оптимальном диапазоне на протяжении всего процесса, что исключило метаболический стресс и обеспечило высокую жизнеспособность клеток (>90 % в течение 48 часов). Концентрация глюкозы в среде постепенно снижалась, а уровень молочной кислоты возрастал, что соответствовало ожидаемому метаболическому профилю лактобактерий.

По завершении ферментации был проведён анализ выхода целевых белков. Концентрация IL-10 в культуральной жидкости после тангенциальной ультрафильтрации составила 120 ± 15 мг/л, а IL-22 — 95 ± 10 мг/л. Очистка методом аффинной хроматографии на Ni-NTA агарозе позволила получить белки высокой степени чистоты: >95 % для IL-10 и >93 % для IL-22. Электрофоретический анализ (SDS-PAGE) подтвердил наличие белковых полос с молекулярными массами $\sim 18,5$ кДа (IL-10) и $\sim 20,3$ кДа (IL-22), что соответствовало ожидаемым значениям.

Специфическая активность IL-10 составила $1,2 \times 10^6$ ЕД/мг, а IL-22 — $8,5 \times 10^5$ ЕД/мг. Эти значения значительно превышали показатели, полученные для белков, синтезированных в неоптимизированных условиях (например, при культивировании в колбах или с низкой концентрацией IPTG), что подтвердило сохранение нативной конформации и функциональности белков.

Для оценки эффективности предложенного метода были проведены сравнительные эксперименты с использованием традиционных подходов (табл. 1).

Из данных таблицы 1 видно, что культивирование в колбах без контроля параметров привело к значительному снижению выхода белков: до 40 ± 5 мг/л для IL-10 и 35 ± 6 мг/л для IL-22. Их специфическая активность также была ниже: $6,5 \times 10^5$ ЕД/мг и $4,0 \times 10^5$ ЕД/мг, соответственно. Использование низкой концентрации IPTG (0,1 mM) без оптимизации других параметров позволило несколько улучшить выход (60 ± 7 мг/л для IL-10 и 52 ± 8 мг/л для IL-22), но не обеспечило максимальной продуктивности и активности (табл. 1).

Только применение трёхэтапного режима в биореакторе с точным контролем параметров и

Таблица 1 — Сравнительный анализ методологии культивирования рекомбинантного штамма

Table 1 — Comparative analysis of the recombinant strain cultivation methodology

Условия экспрессии	Выход IL-10 (мг/л)	Активность IL-10 (ЕД/мг)	Выход IL-22 (мг/л)	Активность IL-22 (ЕД/мг)
Без контроля параметров	40 ± 5	$6,5 \times 10^5$	35 ± 6	$4,0 \times 10^5$
Низкая концентрация IPTG	60 ± 7	$8,0 \times 10^5$	52 ± 8	$5,2 \times 10^5$
Оптимальные условия	120 ± 15	$1,2 \times 10^6$	95 ± 10	$8,5 \times 10^5$

использованием 1 мМ IPTG позволило достичь максимальных показателей выхода и биоактивности целевых белков.

Эксперименты были повторены в трёх независимых биологических повторностях. Полученные данные продемонстрировали высокую воспроизводимость процесса: вариабельность выхода IL-10 составила от 108 до 132 мг/л (в среднем 120 ± 12 мг/л), IL-22 — от 86 до 104 мг/л (в среднем 95 ± 9 мг/л); разброс значений специфической активности не превышал 9 % для обоих цитокинов. Это свидетельствует о надёжности и стабильности предложенного метода оптимизации ферментации.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION. Проведенное исследование позволило разработать и экспериментально обосновать усовершенствованный метод трехэтапного культивирования рекомбинантных штаммов *Lactobacillus* spp. в биореакторе с автоматическим контролем критических параметров, включая температуру, pH, уровень растворенного кислорода и аэрацию. Установлено, что предложенный подход обеспечивает значительное увеличение выхода целевых рекомбинантных белков IL-10 и IL-22 по сравнению с традиционным культивированием в колбах, что подтверждается достижением концентраций 120 ± 15 мг/л и 95 ± 10 мг/л соответственно. Ключевым фактором успешной экспрессии стало использование оптимальной концентрации индуктора IPTG (1 мМ) в сочетании с точным регулированием физико-химических параметров на этапах индукции и продукции, что позволило максимизировать продуктивность штамма при сохранении высокой

жизнеспособности клеток (>90 %) и минимизации метаболического стресса.

Разработанный протокол очистки, включающий тангенциальную ультрафильтрацию и аффинную хроматографию, доказал свою эффективность для получения рекомбинантных IL-10 и IL-22 высокой степени чистоты (>95 % и >93 % соответственно) с сохранением их нативной конформации. Биологическая активность полученных белков составила $1,2 \times 10^6$ ЕД/мг для IL-10 и $8,5 \times 10^5$ ЕД/мг для IL-22, что свидетельствует о корректности посттрансляционных модификаций и отсутствии денатурации в процессе синтеза и очистки. Проведенные исследования продемонстрировали воспроизводимость и стабильность процесса при масштабировании, что подтверждает перспективность использования разработанной методики для промышленного производства рекомбинантных цитокинов в пробиотических системах доставки.

Полученные результаты вносят существенный вклад в развитие технологий направленной оптимизации ферментационных процессов для пробиотических штаммов и открывают новые возможности для создания высокоэффективных продуцентов терапевтически значимых белков. Предложенная стратегия может быть успешно адаптирована для других рекомбинантных систем, что расширяет ее практическую значимость в области биотехнологии и биомедицины. Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию процесса в промышленных масштабах и оценку функциональной активности полученных белков в модельных системах *in vivo*.

BIOREACTOR OPTIMIZATION OF HETEROLOGOUS PROTEIN CO-EXPRESSION IN A RECOMBINANT *LACTOBACILLUS* SPP. STRAIN

Samoylenko V. S. — PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Zoology and Parasitology (ORCID: 0000-0003-2730-2482); **Lapina A. A.** — Specialist in the Educational and Laboratory Complex. (ORCID: 0009-0002-5655-1170).

North Caucasus Federal University.

*victor_samoylenko_26@mail.ru.

ABSTRACT. The development of high-performance probiotic strains capable of synthesizing therapeutic proteins requires an integrated approach combining genetic engineering with optimization of fermentation conditions. In this study, an improved three-stage cultivation protocol for a recombinant *Lactobacillus* spp. strain co-expressing interleukins IL-10 and IL-22 was developed and validated in a bioreactor with automatic control of critical parameters, including pH, temperature, and dissolved oxygen. Recombinant strains transformed with the pLacDualIL10/IL22 plasmid were used. Cultivation was performed in a glass bioreactor (working volume 600 mL) equipped with automated monitoring and regulation of pH, temperature, and dissolved oxygen. A three-stage режим was implemented, consisting of a growth phase (37°C, pH 6.8), an induction phase (1 mM IPTG, 30°C), and a production phase. Protein purification was carried out by tangential flow ultrafiltration followed by affinity chromatography on Ni-NTA agarose. Quantitative determination of IL-10 and IL-22 was performed using ELISA; purity was assessed by SDS-PAGE, and biological activity was evaluated using a PBMC lymphocyte proliferation assay. Application of the three-stage strategy resulted in a significant increase in target protein yield, reaching 120 ± 15 mg/L for IL-10 and 95 ± 10 mg/L for IL-22, which is 2–3 times higher than that achieved in flask cultivation. Subsequent purification provided high-purity proteins (>95 % and >93 %, respectively) with preserved biological activity of $1,2 \times 10^6$ U/mg for IL-10 and $8,5 \times 10^5$ U/mg for IL-22. The proposed methodology demonstrates high reproducibility and efficiency, confirming its potential for scalable production of functional recombinant cytokines using a probiotic platform.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. He, Y. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from yaks / Y. He, F. Li, M. Xu, Z. Wang, H. Li // *Animal Diseases*. — 2024. — Vol. 4, No. 1. — Art. 17. DOI: 10.1186/s44149-024-00124-z.
2. Wei, H. X. IL 10 and IL 22 in mucosal immunity: driving protection and pathology / H. X. Wei, B. Wang, B. Li // *Frontiers in Immunology*. — 2020. — Vol. 11. — Art. 1315. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01315.
3. Zhang, J. Characterization of *Lactobacillus* spp. isolated from layer hens as probiotic candidates / J. Zhang, A. R. McWhorter, S. Khan, Y. Sun, J. Wang // *BMC Veterinary Research*. — 2025. — Vol. 21, No. 1. — Art. 416. DOI: 10.1186/s12917-025-04847-0.
4. Vandermies, M. Bioreactor scale strategies for the production of recombinant protein in the yeast *Yarrowia lipolytica* / M. Vandermies, P. Fickers // *Microorganisms*. — 2019. — Vol. 7, No. 2. — Art. 40. DOI: 10.3390/microorganisms7020040.
5. Wu, J. Genetic tools for the development of recombinant lactic acid bacteria / J. Wu, Y. Xin, J. Kong, T. Guo // *Microbial Cell Factories*. — 2021. — Vol. 20, No. 1. — Art. 118. DOI: 10.1186/s12934-021-01607-1.
6. Yang, Y. Metabolic engineering of *Lactobacilli* spp. for disease treatment / Y. Yang, P. Yu, Y. Huang, W. Zhang, Y. Nie, C. Gao // *Microbial Cell Factories*. — 2025. — Vol. 24, No. 1. — Art. 53. DOI: 10.1186/s12934-025-02682-4.
7. Rudolph, S. E. Set up and utilization of a three dimensional in vitro bioreactor system for human intestinal studies and microbial co cultures / S. E. Rudolph, E. Bethi, L. Iglesias Ledon, H. U. Kumarasinghe, O. Da'darah, G. K. Salgam, K. C. Vieira, Y. Chen, D. L. Kaplan // *Current Protocols*. — 2024. — Vol. 4, No. 9. — Art. e70013. DOI: 10.1002/cpz1.70013.
8. Tian, X. Application of 8 parallel micro bioreactor system with non invasive optical pH and DO biosensor in high throughput screening of *L* lactic acid producing strain / X. Tian, G. Zhou, W. Wang, J. Zhang, Y. Cai // *Bioresources and Bioprocessing*. — 2018. — Vol. 5, No. 1. — Art. 20. DOI: 10.1186/s40643-018-0207-7.

REFERENCES

1. He, Y. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from yaks / Y. He, F. Li, M. Xu, Z. Wang, H. Li // *Animal Diseases*. — 2024. — Vol. 4, No. 1. — Art. 17. DOI: 10.1186/s44149-024-00124-z.
2. Wei, H. X. IL 10 and IL 22 in mucosal immunity: driving protection and pathology / H. X. Wei, B. Wang, B. Li // *Frontiers in Immunology*. — 2020. — Vol. 11. — Art. 1315. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01315.
3. Zhang, J. Characterization of *Lactobacillus* spp. isolated from layer hens as probiotic candidates / J. Zhang, A. R. McWhorter, S. Khan, Y. Sun, J. Wang // *BMC Veterinary Research*. — 2025. — Vol. 21, No. 1. — Art. 416. DOI: 10.1186/s12917-025-04847-0.
4. Vandermies, M. Bioreactor scale strategies for the production of recombinant protein in the yeast *Yarrowia lipolytica* / M. Vandermies, P. Fickers // *Microorganisms*. — 2019. — Vol. 7, No. 2. — Art. 40. DOI: 10.3390/microorganisms7020040.
5. Wu, J. Genetic tools for the development of recombinant lactic acid bacteria / J. Wu, Y. Xin, J. Kong, T. Guo // *Microbial Cell Factories*. — 2021. — Vol. 20, No. 1. — Art. 118. DOI: 10.1186/s12934-021-01607-1.
6. Yang, Y. Metabolic engineering of *Lactobacilli* spp. for disease treatment / Y. Yang, P. Yu, Y. Huang, W. Zhang, Y. Nie, C. Gao // *Microbial Cell Factories*. — 2025. — Vol. 24, No. 1. — Art. 53. DOI: 10.1186/s12934-025-02682-4.
7. Rudolph, S. E. Set up and utilization of a three dimensional in vitro bioreactor system for human intestinal studies and microbial co cultures / S. E. Rudolph, E. Bethi, L. Iglesias Ledon, H. U. Kumarasinghe, O. Da'darah, G. K. Salgam, K. C. Vieira, Y. Chen, D. L. Kaplan // *Current Protocols*. — 2024. — Vol. 4, No. 9. — Art. e70013. DOI: 10.1002/cpz1.70013.
8. Tian, X. Application of 8 parallel micro bioreactor system with non invasive optical pH and DO biosensor in high throughput screening of *L* lactic acid producing strain / X. Tian, G. Zhou, W. Wang, J. Zhang, Y. Cai // *Bioresources and Bioprocessing*. — 2018. — Vol. 5, No. 1. — Art. 20. DOI: 10.1186/s40643-018-0207-7.