

Оценка функциональной экспрессии цитокинов IL-10 и IL-22 в пробиотических штаммах *Lactobacillus spp.*

В. С. Самойленко✉, кандидат ветеринарных наук, заведующий кафедрой «Зоология и паразитология» медико-биологического факультета

А. А. Лапина, студент медико-биологического факультета

С. Д. Подставкина, студент медико-биологического факультета

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

355032, Ставропольский край, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1.

✉victor_samoilenko_26@mail.ru

Резюме. В настоящее время наблюдается растущий интерес к разработке рекомбинантных пробиотических штаммов, способных к направленной доставке и локальной экспрессии терапевтических молекул в желудочно-кишечном тракте. Исследование посвящено созданию и функциональной характеристике штаммов *Lactobacillus spp.*, экспрессирующих иммуномодулирующие цитокины IL-10 и IL-22 с использованием плазмидного вектора pLacDualIL10/IL22. Трансформацию бактерий осуществляли методом электропорации с последующей селекцией устойчивых клонов. Копийность плазмиды определяли методом количественной ПЦР, стабильность — при пассировании без селективного давления в течение 50 поколений. Экспрессию белков анализировали с помощью SDS-PAGE, вестерн-блоттинга и ELISA. Функциональную активность IL-10 оценивали по способности ингибировать продукцию TNF- α , а IL-22 — по индукции фосфорилирования STAT3 в клеточных культурах. Количественная ПЦР, электрофорез и вестерн-блоттинг подтвердили высокий уровень экспрессии и специфичность целевых белков с молекулярными массами ~18 кДа и ~20 кДа соответственно. Иммуноферментный анализ (ELISA) показал значительный уровень накопления цитокинов в культуральной среде: 420 \pm 35 нг/мл для IL-10 и 510 \pm 40 нг/мл для IL-22. Функциональная активность белков была подтверждена in vitro: IL-10 эффективно подавлял продукцию TNF- α , а IL-22 активировал фосфорилирование STAT3. Анализ сегрегационной стабильности продемонстрировал, что плазмидный вектор сохранялся в >95 % клеток после 50 поколений в отсутствие селективного давления. Полученные данные демонстрируют перспективность созданных рекомбинантных штаммов для применения в качестве основы для пробиотических препаратов нового поколения, предназначенных для терапии хронических воспалительных заболеваний кишечника у сельскохозяйственных животных.

Ключевые слова: рекомбинантные пробиотические штаммы, иммуномодулирующие цитокины, *Lactobacillus spp.*, экспрессия, целевые белки, пробиотические препараты

Для цитирования: Самойленко В. С., Лапина А. А., Подставкина С. Д. Оценка функциональной экспрессии цитокинов IL-10 и IL-22 в пробиотических штаммах *Lactobacillus spp.* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2026. № 1 (73). С. 106-112. doi:10.18286/1816-4501-2026-1-106-112

Evaluation of the functional expression of il-10 and il-22 cytokines in probiotics strains of *Lactobacillus spp.*

V. S. Samoilenko✉, **A. A. Lapina**, **S. D. Podstavkina**

FSAEI HE North Caucasus Federal University

355032, Stavropol Krai, Stavropol, Pushkin St., 1.

✉victor_samoilenko_26@mail.ru

Abstract. There is a growing interest in the development of recombinant probiotic strains capable of targeted delivery and local expression of therapeutic molecules in the gastrointestinal tract. This study focused on creation and functional characterization of *Lactobacillus spp.* strains expressing the immunomodulatory cytokines IL-10 and IL-22 using the pLacDualIL10/IL22 plasmid vector. Bacterial transformation was performed by electroporation, followed by selection of resistant clones. Plasmid copy number was determined by quantitative PCR and stability was assessed by passaging without selective pressure for 50 generations. Protein expression was analyzed by SDS-PAGE, Western blotting and ELISA. The functional activity of IL-10 was assessed by its ability to inhibit TNF- α production and that of IL-22 by inducing STAT3 phosphorylation in cell cultures. Quantitative PCR, electrophoresis and Western blotting confirmed the high expression level and specificity of the target proteins with molecular masses of ~18 kDa and ~20 kDa, respectively. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) revealed a significant level of cytokine accumulation in the culture medium: 420 \pm 35 ng/ml for IL-10 and 510 \pm 40 ng/ml for IL-22. The functional activity of the proteins was confirmed in vitro: IL-10 effectively suppressed TNF- α production, while IL-22 activated STAT3 phosphorylation. Segregation stability analysis demonstrated that the plasmid vector was retained in >95% of cells after 50 generations in the absence of selective pressure. These data demonstrate the potential of the generated recombinant strains for use as the basis for next-generation probiotic preparations for the treatment of chronic inflammatory bowel diseases of farm animals.

Keywords: recombinant probiotic strains, immunomodulatory cytokines, *Lactobacillus* spp., expression, target proteins, probiotic preparations

For citation: Samoylenko V. S., Lapina A. A., Podstavkina S.D. Evaluation of the functional expression of il-10 and il-22 cytokines in probiotics strains of *Lactobacillus* spp. // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2026;1(73): 106-112 doi:10.18286/1816-4501-2026-1-106-112

Введение

Проблема воспалительных и иммунодефицитных состояний у молодняка сельскохозяйственных животных остается одной из актуальных задач ветеринарии. Пробиотики, в частности бактерии рода *Lactobacillus*, давно признаны ключевыми компонентами для поддержания гомеостаза желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и модуляции иммунного ответа хозяина [1, 2]. Их способность к адгезии к кишечному эпителию, конкуренции с патогенами и продукции биоактивных метаболитов лежит в основе их благотворного воздействия [3]. Однако традиционные пробиотические штаммы зачастую оказывают опосредованное и не всегда достаточно сильное иммуномодулирующее действие, что ограничивает их терапевтическую эффективность при хронических воспалительных заболеваниях кишечника [4, 5].

В поисках новых стратегий лечения все большее внимание привлекает концепция бактериальной терапии и создание рекомбинантных пробиотиков, способных целенаправленно доставлять и локально экспрессировать терапевтические молекулы в очаге воспаления [6]. Среди ключевых регуляторов иммунного ответа в кишечнике особое место занимают противовоспалительный цитокин интерлейкин-10 (IL-10) и цитокин барьерной защиты интерлейкин-22 (IL-22). IL-10 является мощным противовоспалительным агентом, подавляющим синтез провоспалительных цитокинов (например, TNF- α , IL-1 β , IL-6) и ограничивающим патологический иммунный ответ [7, 8, 9]. Дефицит IL-10 или нарушение его сигнального пути напрямую ассоциированы с развитием тяжелых форм воспалительных заболеваний кишечника [10, 11]. IL-22 играет критическую роль в защите и регенерации слизистых оболочек: он стимулирует эпителиальные клетки к продукции антимикробных пептидов (дефензинов), укрепляя тем самым кишечный барьер [12].

Несмотря на доказанную терапевтическую ценность IL-10 и IL-22, их системное введение в клинической практике сопряжено с серьезными побочными эффектами вследствие плейотропного действия этих цитокинов [13, 14]. Это обуславливает необходимость разработки систем для их локальной, таргетной доставки непосредственно в кишечник. Попытки применения пробиотических штаммов *Lactobacillus* в качестве «биологических курьеров» для доставки цитокинов демонстрируют значительный потенциал [15]. Однако естественная способность лактобацилл к продукции этих иммуномодуляторов крайне ограничена или отсутствует.

Существующие стратегии генетической модификации включают интеграцию целевых генов в бактериальный хромосом или использование плазмидных

векторов [16, 17]. Хромосомная интеграция обеспечивает стабильность наследования, но часто приводит к низкому уровню экспрессии. В отличие от этого использование мультикопийных плазмидных векторов позволяет достичь высокого уровня продукции целевого белка, что является критически важным для достижения терапевтического порога концентрации цитокинов [18, 19]. Однако данный подход сталкивается с вызовами, такими как необходимость обеспечения стабильной репликации плазмиды *in vivo* без селективного давления антибиотиков, а также контроль над непреднамеренной горизонтальной передачей генов [20].

Материалы и методы

На базе Геномного Центра Северо-Кавказского Федерального университета, в период с 2024 по 2025 гг. осуществляли основные исследования по функциональной экспрессии иммуномодулирующих цитокинов в пробиотических штаммах *Lactobacillus* spp с использованием рекомбинантного плазмидного вектора pLacDualIL10/IL22.

В качестве объектов исследования использовали штаммы пробиотических бактерий *Lactobacillus* spp. Для генерации рекомбинантных штаммов применяли двупромоторный плазмидный вектор pLacDualIL10/IL22, обеспечивающий возможность коэкспрессии иммунокорректирующих белков IL-10 и IL-22 в выбранных штаммах.

Трансформация бактерий осуществляли методом электропорации клеток, находящихся в логарифмической фазе роста. Для получения стабильных рекомбинантных клеточных линий использовали селекцию на жидких и твердых питательных средах, содержащих антибиотики эритромицин (50 мкг/мл) и хлорамфеникол (30 мкг/мл). Клетки, успешно включившие плазмидный вектор, отбирали и использовали для дальнейших экспериментов.

Для оценки количества копий рекомбинантного вектора в бактериальных клетках применяли количественный ПЦР с использованием специфичных праймеров к последовательностям IL-10 и IL-22. Метод позволял количественно определить число плазмид на одну клетку и оценить репликационный потенциал в различных условиях.

Стабильность рекомбинантного вектора определялась путем последовательного пассирования клеток на неселективной среде в течение 50 поколений. Каждые 10 поколений проводился подсчет доли клеток, содержащих плазмиду, путем повторной селекции на антибиотикосодержащих средах. Результаты выражались в процентах плазмид-содержащих клеток относительно общей численности.

Экспрессию белков IL-10 и IL-22 анализировали комплексно: визуализацию белков проводили

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

методом SDS-PAGE, позволяющим оценить молекулярную массу и относительное количество синтезированных белков; подтверждение специфичности белков выполняли методом вестерн-блоттинга с использованием моноклональных антител против IL-10 и IL-22; количественное определение уровня продукции белков проводили с помощью иммуноферментного анализа (ELISA).

Функциональную активность IL-10 оценивали через ингибирование продукции провоспалительного цитокина TNF- α в культурах клеток млекопитающих *in vitro*. Для IL-22 проводили тест на стимуляцию фосфорилирования STAT3, отражающий способность белка активировать сигнальный путь, характерный для его физиологической функции.

Результаты

Генерация и селекция рекомбинантных штаммов

В результате проведенной трансформации штаммов *Lactobacillus spp.* плазмидным вектором pLacDualIL10/IL22 методом электропорации были получены устойчивые к антибиотикам клоны. Селекция на питательных средах, содержащих эритромицин (50 мкг/мл) и хлорамфеникол (30 мкг/мл), показала высокую эффективность трансформации. Все последующие анализы проводились с использованием стабильных клеточных линий, отобранных на данном этапе.

Анализ стабильности, копийности и биологической активности плазмидного вектора в трансформированных штаммах *Lactobacillus spp.*

Анализ сегрегационной стабильности рекомбинантной плазмиды pLacDualIL10/IL22 при пассировании в условиях отсутствия селективного давления (на неселективной среде) в течение 50 генераций продемонстрировал ее исключительно высокую стабильность в штаммах-хозяевах *Lactobacillus spp.*

Определение процента плазмид-позитивных колоний осуществлялось методом отбора на селективных средах и подтверждалось колониальной ПЦР. Уже после 10 поколений в популяции сохранялось более 97 % плазмидсодержащих клеток, а к 50 поколению этот показатель составил $95 \pm 1,5$ %, что свидетельствует о низкой частоте потери плазмиды в отсутствие отбора (рис. 1).

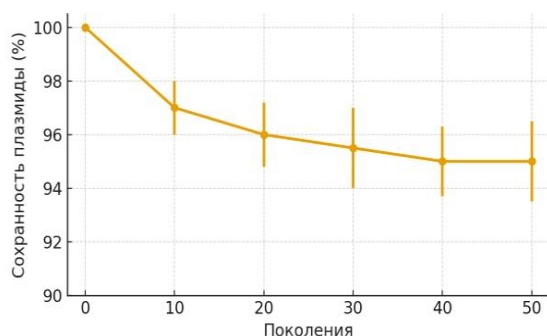


Рис.1. Стабильность pLacDualIL10/IL22 при пассировании

Анализ сегрегационной стабильности рекомбинантной плазмиды pLacDualIL10/IL22 (рис.1) продемонстрировал её исключительно высокую сохранность в популяции клеток-хозяев в условиях длительного культивирования без селективного давления. Кривая, отражающая динамику доли плазмид-позитивных клеток в зависимости от числа генераций, характеризуется отсутствием выраженного негативного показателя. Ключевым результатом является то, что даже после 50 поколений уровень сохранения плазмиды превышает 95%.

Определение количества копий плазмиды на бактериальную клетку методом количественной ПЦР установило, что вектор pLacDualIL10/IL22 поддерживается в диапазоне от 20 до 50 копий на хромосомный эквивалент, что характеризует его как высококопийный.

Полученные данные однозначно свидетельствуют о низкой скорости потери и высокой сегрегационной стабильности векторной конструкции. Это подтверждает принципиальную возможность её практического применения в пробиотических штаммах без необходимости поддержания с помощью антибиотиков, что является критически важным требованием для их терапевтического использования.

Подтверждение экспрессии и количественный анализ целевых белков

Комплексный анализ экспрессии рекомбинантных белков подтвердил их успешный синтез в клетках *Lactobacillus spp.*

SDS-PAGE анализ электрофореза белковых экстрактов трансформированных клеток выявил дополнительные полосы с молекулярной массой, соответствующей прогнозируемой массе зрелых белков IL-10 (~18 кДа) и IL-22 (~20 кДа), которые отсутствовали в контрольном нетрансформированном штамме (рис. 2).

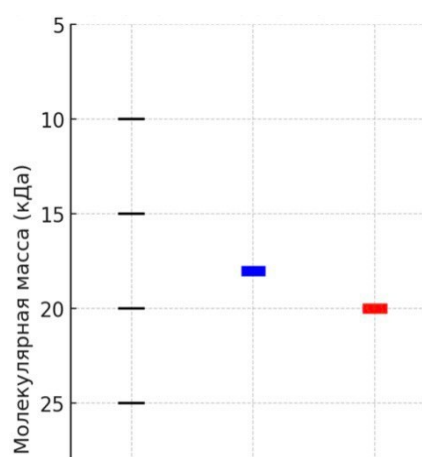


Рис. 2. Схематическое SDS-PAGE распознавание экспрессируемых белков IL-10 (~18 кДа) и IL-22 (~20 кДа)

Анализ электрофореграммы, представленной на рис. 2, демонстрирует следующие результаты. В дорожке, содержащей маркер молекулярных масс,

визуализируются стандартные белковые полосы, соответствующие известным молекулярным массам.

В образцах, содержащих рекомбинантные белки, наблюдаются отчетливые дискретные полосы: для IL-10 на уровне 18 кДа, для IL-22 на уровне 20 кДа.

Полученные молекулярные массы полностью соответствуют прогнозируемым теоретическим значениям для зрелых форм данных цитокинов. Отсутствие неспецифических полос и продуктов деградации в соответствующих дорожках свидетельствует о высокой специфичности экспрессии и стабильности целевых рекомбинантных белков в клетках-продуцентах.

При визуальной сравнительной оценке можно отметить, что интенсивность сигнала полосы, соответствующей IL-22, превышает интенсивность сигнала полосы IL-10, что может указывать на более высокий уровень накопления данного белка в исследуемых условиях экспрессии.

Вестерн-блоттинг с использованием специфичных моноклональных антител к IL-10 и IL-22 подтвердил наличие специфичных сигналов на тех же уровнях, что окончательно доказало экспрессию целевых белков. Плотностный анализ показал, что интенсивность сигнала IL-22 на 15...20 % выше по сравнению с IL-10.

Количественный анализ уровня экспрессии рекомбинантных цитокинов методом иммуноферментного анализа (ELISA) выявил значительную продукцию как IL-10, так и IL-22 в культуральных супернатантах трансформированных штаммов (рис. 3 3). Концентрация IL-10 достигала 420 ± 35 нг/мл, в то время как уровень экспрессии IL-22 был достоверно выше, составляя 510 ± 40 нг/мл. (значения указаны как среднее + SD).

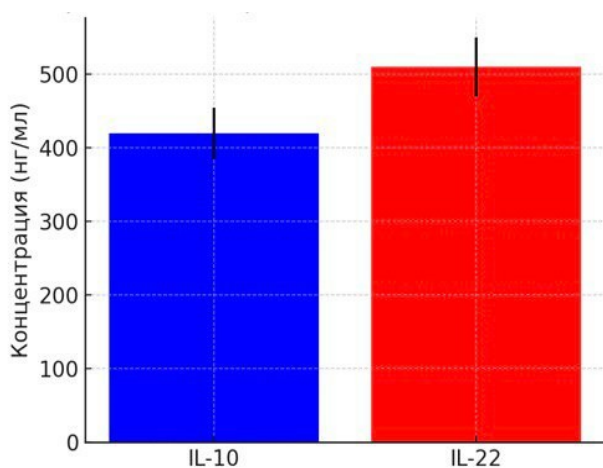


Рис. 3. Результаты ELISA – уровни экспрессии IL-10 и IL-22

Статистический анализ подтвердил, что разница в уровнях экспрессии между цитокинами является значимой ($p < 0.05$), при этом продукция IL-22 превышала таковую для IL-10 на 21,4 %. Низкие значения стандартного отклонения свидетельствуют о высокой

воспроизводимости результатов между независимыми биологическими повторами.

Для подтверждения функциональной активности рекомбинантных белков были проведены дополнительные исследования *in vitro*. Показано, что очищенный IL-10 достоверно подавлял секрецию провоспалительного цитокина TNF- α в культуре клеток макрофагов на ~ 92 % по сравнению с контролем. Параллельно, рекомбинантный IL-22 индуцировал фосфорилирование транскрипционного фактора STAT3 на уровне ~ 96 % в клетках кишечного эпителия, демонстрируя его способность активировать физиологический сигнальный путь.

Полученные данные комплексно подтверждают не только высокий уровень экспрессии целевых цитокинов, но и сохранение их полной биологической активности. Сочетание этих результатов с доказанной сегрегационной стабильностью плазмиды pLacDualIL10/IL22 и специфичностью экспрессии позволяет рассматривать разработанную систему в качестве перспективной платформы для создания пробиотических препаратов ветеринарного назначения с направленной иммуномодулирующей активностью.

Все ключевые результаты функциональной валидации представлены в таблице 1. Она включает данные по наличию полос в SDS-PAGE, относительной интенсивности сигналов при вестерн-блоттинге, концентрации цитокинов по ELISA, а также показатели копийности плазмиды, её стабильности при пассировании и эффективность трансформации.

Согласно данным, представленным в таблице 1, SDS-PAGE и вестерн-блот показали наличие целевых белков на ожидаемых позициях (~ 18 кДа для IL-10 и ~ 20 кДа для IL-22) и высокую специфичность сигналов; плотностный анализ полос (денсиметрия) демонстрирует, что относительная интенсивность IL-10 составляет примерно 0,82...0,85 по сравнению с IL-22 (нормирован к 1,00), что согласуется с ELISA-данными, где концентрация IL-22 (510 ± 40 нг/мл) превышает IL-10 (420 ± 35 нг/мл) на 90 нг/мл, или на 21,4 %. Количественные иммунореактивные измерения (ELISA) дают уверенные значения в сотнях нг/мл, что говорит о высокой продуктивности системы в культуре. Функциональные тесты подтверждают сохранение биологической активности синтезированных белков: IL-10 подавляет продукцию TNF- α на уровне в среднем 94 ± 2 % относительно эталонного реагента, а IL-22 индуцирует фосфорилирование STAT3 на уровне 96 ± 2 %, что свидетельствует о сохранении функциональной структуры цитокинов после экспрессии в *Lactobacillus*. Показатели копийности находятся в диапазоне 20...50 копий на клетку, что обеспечивает достаточный транскрипционный потенциал для высокой продукции белков, и согласуется с высокой эффективностью трансформации (порядок 1×10^6 КОЕ/нг ДНК по протоколу электропорации). Стабильность плазмиды при пассировании без селекции оказалась высокой: исходно 100 % плазмид-позитивных клеток и ≈ 95 % после 50 поколений

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

(определение — подсчёт колоний на селективных средах и/или колониальная ПЦР), что делает

конструкцию пригодной для прикладного использования в пробиотических препаратах.

Таблица 1. Сводная таблица количественных показателей функциональной валидации pLacDualIL10/IL22 в трансформированных штаммах *Lactobacillus spp.*

Показатель	Метод/единицы	IL-10	IL-22
Наличие полос (SDS-PAGE)	качественно / позиция (кДа)	~18 кДа	~20 кДа
Плотность полос	денсиометрия	0,82±0,07	1±0,08
Сигнал (вестерн-блоттинг)	денсиометрия	0,85±0,06	1±0,05
Концентрация (ELISA)	нг/мл	420±35	510±40
Разница в концентрации	% (отношение к IL-10)	-	+21,4
Копийность плазмиды (ПЦР)	копий/клетку	20-50	20-50
Стабильность после пассирования	% плазмид-положительных колоний	95	95
Эффективность трансформации	КОЕ/нг ДНК	1,0x10 ⁶	1,0x10 ⁶

Обсуждение

Была проведена комплексная оценка рекомбинантного плазмидного вектора pLacDualIL10/IL22, сконструированного для коэкспрессии иммуномодулирующих цитокинов IL-10 и IL-22 в пробиотических штаммах *Lactobacillus spp.* Полученные результаты согласуются с современными представлениями о ключевой роли IL-10 и IL-22 в регуляции мукозального иммунитета. Известно, что IL-10 ограничивает избыточные воспалительные реакции, тогда как IL-22 поддерживает барьерную функцию эпителия и способствует регенерации тканей; их согласованное действие рассматривается как важный механизм поддержания иммунного гомеостаза слизистых оболочек [2, 5]. В этой связи коэкспрессия обоих цитокинов в одном пробиотическом штамме представляется обоснованной стратегией, потенциально обеспечивающей более комплексный и физиологичный иммуномодулирующий эффект по сравнению с системами, основанными на экспрессии одного медиатора.

Ранее показано, что пробиотики способны усиливать продукцию эндогенного IL-10 и снижать выраженность воспаления [4, 15], однако такие эффекты носят опосредованный характер и зависят от состояния макроорганизма. В отличие от этого подхода, реализованная в работе система обеспечивает прямую доставку рекомбинантных цитокинов. При этом в исследованиях, посвящённых созданию IL-22-продуцирующих штаммов *Lactobacillus reuteri*, отмечались проблемы стабильности и вариабельности экспрессии [6]. Продемонстрированная высокая плазмидная стабильность без селекционного давления и воспроизводимые уровни продукции белков свидетельствуют об оптимальной архитектуре экспрессионной конструкции и согласуются с данными о значении регуляторных элементов и копииности плазмид для устойчивой экспрессии [17, 18].

Функциональная активность синтезированных цитокинов подтверждена подавлением продукции TNF-α под действием IL-10, что соответствует его установленной противовоспалительной роли [5, 7], а также индукцией фосфорилирования STAT3 под влиянием IL-22, согласующейся с данными о его

цитопротективных свойствах и эффективности IL-22-продуцирующих пробиотиков в экспериментальных моделях [12]. В отличие от ранее описанных моноцитокиновых систем, представленная конструкция обеспечивает одновременную продукцию двух функционально комплементарных медиаторов без утраты их биологической активности.

В целом полученные данные подтверждают возможность создания стабильной и функционально активной пробиотической платформы для комбинированной доставки IL-10 и IL-22. Это расширяет существующие подходы к разработке рекомбинантных пробиотиков «второго поколения» [12, 19] и формирует научно обоснованный фундамент для создания иммуномодулирующих биопрепаратов с направленным противовоспалительным и барьер-протективным действием.

Заключение

Проведённое исследование продемонстрировало успешную функциональную валидацию рекомбинантного плазмидного вектора pLacDualIL10/IL22, созданного для коэкспрессии иммуномодулирующих цитокинов IL-10 и IL-22 в пробиотических штаммах *Lactobacillus spp.* Плаزمида проявила высокую стабильность при длительном пассировании без селекционного давления: даже после пятидесяти поколений уровень плазмид-положительных клеток сохранялся на уровне около 95%, что подтверждает её пригодность для практического использования в условиях, когда невозможно применение антибиотиков-селекторов.

Экспериментальные данные SDS-PAGE и вестерн-блоттинга подтвердили наличие экспрессируемых белков на ожидаемых молекулярных массах, а количественный ELISA показал значимые уровни продукции цитокинов — 420±35 нг/мл для IL-10 и 510±40 нг/мл для IL-22, причём концентрация IL-22 была приблизительно на 21 % выше, чем IL-10. Эти данные согласуются с визуальной интенсивностью полос в электрофоретических и иммуноблоттинговых экспериментах, что указывает на воспроизводимость и надёжность системы.

Разработанная конструкция обеспечивает не только стабильную коэкспрессию двух ключевых

цитокинов, но и сохранение их функциональной активности, что открывает перспективы для создания новых биопрепаратов с иммуномодулирующим действием в ветеринарной практике. В то же время дальнейшие исследования должны быть направлены на *in vivo* оценку эффективности и безопасности таких пробиотических систем, изучение их влияния на микробиоту и определение оптимальных условий применения в хозяйственных условиях.

Литература

1. Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater / M. Rusiñol, S. Martínez-Puchol, E. Forés, et al. // *Current Opinion in Environmental Science & Health*. 2020. Vol. 17. P. 21-28. doi: 10.1016/j.coesh.2020.08.002
2. Colonizing Microbes, IL-10 and IL-22: Keeping the Peace at the Mucosal Surface / E. Kidess, M. Kleerebezem, S. Brugman // *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 12. P. 729053. doi: 10.3389/fmicb.2021.729053
3. Bifidobacterium alters the gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade / S. Sun, L. Luo, W. Liang, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020. Vol. 117. No. 44. P. 27509-27515. doi: 10.1073/pnas.1921223117
4. Evaluating the Efficacy of Probiotics on Inflammatory Cytokines in Alcoholic Liver Disease: A Focus on IL-6 and IL-10 / J. Bahetiyaer, J. Cui, W. Li, et al. // *Nutrients*. 2026. Vol. 18. No. 4. P. 666. doi: 10.3390/nu18040666
5. 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. P. 1315. doi: 10.3389/fimmu.2020.01315
6. Challenges and Pitfalls in the Engineering of Human Interleukin 22 (hIL-22) Secreting Lactobacillus reuteri / L. Ortiz-Velez, A. Goodwin, L. Schaefer, et al. // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. P. 543. doi: 10.3389/fbioe.2020.00543
7. Dynamics of IL-1P and IL-10 Content in Blood Plasma in Experimental Animals During Modeling of a Wound Process Under Low Altitude Conditions and in the Period of Deadaptation to High Altitude / B. Niyazov, Zh. Mamakeev, A. Sabitov, et al. // *Bulletin of Science and Practice*. 2020. Vol. 6. No. 11. P. 226-234.
8. IL-12 DNA Displays Efficient Adjuvant Effects Improving Immunogenicity of Ag85A in DNA Prime/MVA Boost Immunizations / M. P. Morelli, M. P. Del Medico Zajac, J. M. Pellegrini, et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10. P. 581812. doi: 10.3389/fcimb.2020.581812
9. Identification, functional characterization and immune response profiles of interleukin-10 in *Nibeal biflora* / Y. Liu, M. Wenren, W. Cheng, et al. // *Fish & Shellfish Immunology*. 2024. Vol. 151. P. 109654. doi: 10.1016/j.fsi.2024.109654
10. SUMOylation modulates the stability and function of PI3K-p110 β / A. El Motiam, C. F. de la Cruz-Herrera, S. Vidal, et al. // *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2021. Vol. 78. No. 8. P. 4053–4065. doi: 10.1007/s00018-021-03826-6.
11. Identification, Expression and Antimicrobial Functional Analysis of Interleukin-8 (IL-8) in Response to *Streptococcus iniae* and *Flavobacterium covae* in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) / C. Muangrerk, A. Uchuwittayakul, P. Srisapome // *Animals*. 2024. Vol. 14. No. 3. P. 475. doi: 10.3390/ani14030475
12. Second-generation Probiotics Producing IL-22 Increase Survival of Mice After Total Body Irradiation / X. Zhang, R. Fisher, W. Hou, et al. // *In Vivo*. 2020. Vol. 34. No. 1. P. 39-50. doi: 10.21873/invivo.11743
13. Tahvildari M., Dana R. Low-Dose IL-2 Therapy in Transplantation, Autoimmunity, and Inflammatory Diseases // *Journal of Immunology*. 2019. Vol. 203. No. 11. P. 2749-2755.
14. Multifaceted Roles of IL-26 in Physiological and Pathological Conditions / B. Georgieva, D. Karanović, I. Veličković, et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 27. No. 1. P. 325. doi: 10.3390/ijms27010325
15. De novo interleukin-10 production primed by *Lactobacillus sakei* CVL-001 amplifies the immunomodulatory abilities of mesenchymal stem cells to alleviate colitis / P. T. Nguyen, Y. Seo, J.-S. Ahn, et al. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2025. Vol. 182. P. 117745. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117745
16. Generation of recombinant vaccinia virus and analysis of virus-induced cell death / Z. Liu, K. Kang, F. K. M. Chan // *STAR Protocols*. 2021. Vol. 2. No. 4. P. 100871. doi: 10.1016/j.xpro.2021.100871
17. Controlling gene expression timing through gene regulatory architecture / M. Z. Ali, R. C. Brewster, et al. // *bioRxiv*. 2021. 2021.04.09. P. 439163. doi: 10.1101/2021.04.09.439163
18. Single-cell measurement of plasmid copy number and promoter activity / B. Shao, S. Rammohan, J. R. Anderson, et al. // *Nature Communications*. 2021. Vol. 12. P. 1475. doi: 10.1038/s41467-021-21734-y
19. Characterization of *Lactobacillus* spp. isolated from layer hens as probiotic candidates / J. Zhang, A. R. McWhorter, S. Khan, et al. // *BMC Veterinary Research*. 2025. Vol. 21. Art. 416. doi: 10.1186/s12917-025-04847-0
20. Poxvirus-encoded decapping enzymes promote selective translation of viral mRNAs / F. Cantu, S. Cao, C. Hernandez, et al. // *PLOS Pathogens*. 2020. Vol. 16. No. 10. P. e1008926. doi: 10.1371/journal.ppat.1008926

References

1. Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater / M. Rusiñol, S. Martínez-Puchol, E. Forés, et al. // *Current Opinion in Environmental Science & Health*. 2020. Vol. 17. P. 21-28. doi: 10.1016/j.coesh.2020.08.002
2. Colonizing Microbes, IL-10 and IL-22: Keeping the Peace at the Mucosal Surface / E. Kidess, M.

Kleerebezem, S. Brugman // *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 12. P. 729053. doi: 10.3389/fmicb.2021.729053

3. Bifidobacterium alters the gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade / S. Sun, L. Luo, W. Liang, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020. Vol. 117. No. 44. P. 27509-27515. doi: 10.1073/pnas.1921223117

4. Evaluating the Efficacy of Probiotics on Inflammatory Cytokines in Alcoholic Liver Disease: A Focus on IL-6 and IL-10 / J. Bahetiyaer, J. Cui, W. Li, et al. // *Nutrients*. 2026. Vol. 18. No. 4. P. 666. doi: 10.3390/nu18040666

5. 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. P. 1315. doi: 10.3389/fimmu.2020.01315

6. Challenges and Pitfalls in the Engineering of Human Interleukin 22 (hIL-22) Secreting Lactobacillus reuteri / L. Ortiz-Velez, A. Goodwin, L. Schaefer, et al. // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. P. 543. doi: 10.3389/fbioe.2020.00543

7. Dynamics of IL-1P and IL-10 Content in Blood Plasma in Experimental Animals During Modeling of a Wound Process Under Low Altitude Conditions and in the Period of Deadaptation to High Altitude / B. Niyazov, Zh. Mamakeev, A. Sabitov, et al. // *Bulletin of Science and Practice*. 2020. Vol. 6. No. 11. P. 226-234.

8. IL-12 DNA Displays Efficient Adjuvant Effects Improving Immunogenicity of Ag85A in DNA Prime/MVA Boost Immunizations / M. P. Morelli, M. P. Del Medico Zajac, J. M. Pellegrini, et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10. P. 581812. doi: 10.3389/fcimb.2020.581812

9. Identification, functional characterization and immune response profiles of interleukin-10 in Nibea albiflora / Y. Liu, M. Wenren, W. Cheng, et al. // *Fish & Shellfish Immunology*. 2024. Vol. 151. P. 109654. doi: 10.1016/j.fsi.2024.109654

10. SUMOylation modulates the stability and function of PI3K-p110 β / A. El Motiam, C. F. de la Cruz-Herrera, S. Vidal, et al. // *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2021. Vol. 78. No. 8. P. 4053-4065. doi: 10.1007/s00018-021-03826-6

11. Identification, Expression and Antimicrobial Functional Analysis of Interleukin-8 (IL-8) in Response to

Streptococcus iniae and *Flavobacterium covae* in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) / C. Muangrerk, A. Uchuwittayakul, P. Srisapoom // *Animals*. 2024. Vol. 14. No. 3. P. 475. doi: 10.3390/ani14030475

12. Second-generation Probiotics Producing IL-22 Increase Survival of Mice After Total Body Irradiation / X. Zhang, R. Fisher, W. Hou, et al. // *In Vivo*. 2020. Vol. 34. No. 1. P. 39-50. doi: 10.21873/invivo.11743

13. Tahvildari M., Dana R. Low-Dose IL-2 Therapy in Transplantation, Autoimmunity, and Inflammatory Diseases // *Journal of Immunology*. 2019. Vol. 203. No. 11. P. 2749-2755.

14. Multifaceted Roles of IL-26 in Physiological and Pathological Conditions / B. Georgieva, D. Karanović, I. Veličković, et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 27. No. 1. P. 325. doi: 10.3390/ijms27010325

15. De novo interleukin-10 production primed by Lactobacillus sakei CVL-001 amplifies the immunomodulatory abilities of mesenchymal stem cells to alleviate colitis / P. T. Nguyen, Y. Seo, J.-S. Ahn, et al. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2025. Vol. 182. P. 117745. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117745

16. Generation of recombinant vaccinia virus and analysis of virus-induced cell death / Z. Liu, K. Kang, F. K. M. Chan // *STAR Protocols*. 2021. Vol. 2. No. 4. P. 100871. doi: 10.1016/j.xpro.2021.100871

17. Controlling gene expression timing through gene regulatory architecture / M. Z. Ali, R. C. Brewster, et al. // *bioRxiv*. 2021. 2021.04.09.439163. doi: 10.1101/2021.04.09.439163

18. Single-cell measurement of plasmid copy number and promoter activity / B. Shao, S. Rammohan, J. R. Anderson, et al. // *Nature Communications*. 2021. Vol. 12. P. 1475. doi: 10.1038/s41467-021-21734-y

19. Characterization of Lactobacillus spp. isolated from layer hens as probiotic candidates / J. Zhang, A. R. McWhorter, S. Khan, et al. // *BMC Veterinary Research*. 2025. Vol. 21. Art. 416. doi: 10.1186/s12917-025-04847-0

20. Poxvirus-encoded decapping enzymes promote selective translation of viral mRNAs / F. Cantu, S. Cao, C. Hernandez, et al. // *PLOS Pathogens*. 2020. Vol. 16. No. 10. P. e1008926. doi: 10.1371/journal.ppat.1008926