تولید و اهمیت سلول‌های بنیادی پرتوان جوجه و نقش آن‌ها در تولید واکسن: *مقاله مروری*

مریم فرزانه[1*]
مژگان حسینی[2]

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامشهر، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: اهواز، بلوار فروردین، خیابان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور.
تلفن: ۰٦۱-۳۳۱۳۹٤۱
E-mail: maryamfarzaneh2013@yahoo.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰٦ ویرایش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۹/۰٤/۲٤ آنلاین: ۱۳۹۹/۰٤/۳۱

تخم لقاح یافته پرندگان به‌عنوان یک مدل تاریخی در بررسی‌های جنین‌شناسی همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. سلول‌های بنیادی پرتوان پرندگان، سلول‌هایی هستند که دارای دو خصوصیت مهم خودنوزایی و توانایی تبدیل شدن به سه لایه زاینده جنینی در محیط آزمایشگاه هستند. با توجه به ویژگی خاص گونه پرندگان، از دیرباز از تخم لقاح یافته جوجه به‌عنوان یک بیوراکتور طبیعی برای تولید انواعی از پروتیین نوترکیب و واکسن‌ها استفاده شده است. با توجه به محدودیت‌های استفاده از تخم‌مرغ برای تکثیر ویروس‌ها، به‌کمک فناوری‌های کشت سلول‌های بنیادی، امکان دستیابی به روش‌های مطمئن و تولید در مقیاس وسیع انواعی از واکسن‌های انسانی و دامی فراهم شده است. سلول‌های بنیادی جنینی جوجه برای اولین بار از بلاستودرم جنین در مرحله تکوینی X به‌دست آمدند. این سلول‌ها مدلی مناسبی برای مطالعات جنین در مراحل اولیه، دستورزی‌های ژنتیکی، تکثیر ویروس و تولید پرندگان تراریخته هستند. افزون‌بر آن، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی به‌عنوان منبع دیگری از سلول‌های پرتوان قابلیت خودنوزایی دارند و می‌توانند به سه لایه زاینده تبدیل شوند و ابزاری مناسب برای تولید واکسن و پرندگان تراریخته هستند. باوجود توانمندی بالای سلول‌های بنیادی پرتوان جوجه در پذیرش ویروس، امکان دستیابی به رده‌های سلولی تکثیرپذیر عاری از دستکاری‌های ژنتیکی محدود بوده و بیشتر از رده‌های سلولی فیبروبلاستی مشتق شده از تخم‌های عاری از پاتوژن برای تولید واکسن استفاده می‌شود. در این مطالعه اهمیت رده‌های سلولی مشتق شده از جنین جوجه به‌عنوان ابزاری مناسب برای دستیابی به واکسن‌های ویروسی مورد بررسی قرار می گیرند.

کلمات کلیدی: جوجه، سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های فیبروبلاستی، حیوانات اصلاح ژنتیکی شده، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، پروتیین‌های نوترکیب، واکسن‌ها.

کمتر از ٤۰ سال است که از پایه‌گذاری اولین رده سلول‌های بنیادی جنینی موشی (Mouse embryonic stem cells, mESCs) از توده داخلی بلاستوسیت جنین موش ۳/۵ تا ٤/۵ روزه توسط دو گروه Evans، Kaufman، همچنین Martin و همکارانش به‌طور مستقل می‌گذرد. آن‌ها با قراردادن سلول‌های جنینی بر روی محیط کشت حاوی سرم و لایه تغذیه‌کننده، موفق به دستیابی به رده سلول‌های mESCs شدند.[1و2] این سلول‌ها توانایی تبدیل شدن به انواعی از سلول‌های تمایز یافته جاندار بالغ، یعنی مشتقات سلولی سه دودمان زاینده جنینی (اکتودرم، مزودرم و اندودرم) را دارند و از این‌رو سلول‌های بنیادی پرتوان (Pluripotent stem cells) نامیده می‌شوند.[1و3] به‌دنبال پژوهش‌ها بیشتر در زمینه تولید سلول‌های ESCs در سایر گونه‌ها، می‌توان به گزارشاتی در رابطه با جداسازی سلول‌های بنیادی پرتوان از پریمات‌ها و مهمترین آن‌ها، تولید سلول‌های بنیادی جنینی انسانی (Human ESCs, hESCs) توسط Thomson و همکارانش در سال

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

۱۹۹۸ اشاره کرد.[۴-۶] مکانیسم‌هایی که سلول‌های ESCs برای فرار از پیری، تنظیم چرخه سلولی، ترمیم DNA و فعالیت تلومرازی پیاده می‌کنند با مکانیسم‌های دخیل در سلول‌های بنیادی بزرگسالان و سرطانی متفاوت است.[۷و۸] برای دستیابی به سلول‌های پرتوان، تاکنون از جانداران مختلفی به‌عنوان نمونه مدل استفاده شده است. یکی از این مدل‌ها، پرندگان هستند و سلول‌های پرتوان حاصل از آن‌ها کاربرد چشمگیری در پژوهش‌های پایه و کاربردی دارند.[۹] از جمله ویژگی‌ها و مزایای استفاده از سلول‌های بنیادی پرندگان می‌توان به مواردی مانند حذف مشاهده نشدن رد پیوند در آن‌ها، امکان جداسازی از بافت‌های خارج جنینی، امکان نگهداری تخم‌مرغ حاوی جنین در یخچال، در دسترس بودن تخم‌مرغ نطفه‌دار در تمام فصول سال، تعداد بالای سلول‌های جدا شده و مقرون به‌صرفه بودن اشاره کرد.[۱۰-۱۳] برای دستیابی به سلول‌های پرتوان جوجه دو منبع شامل سلول‌های بلاستودرمی در مرحله تکوینی X و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (Induced pluripotent stem cells, iPSCs) وجود دارد.[۱۴] از آن‌جایی که مراحل جنینی پرندگان شباهت زیادی به مراحل اولیه تکوین جنین انسان دارد می‌توان از این سلول‌ها به‌عنوان یک نمونه Ex ovo استفاده کرد و وقایع مختلف تکوینی را به‌صورت طبیعی دنبال کرد.[۱۵و۱۶] همچنین به‌کمک این سلول‌ها امکان بررسی مسیرهای سلولی و مولکولی که در طی تکوین اولیه پرندگان رخ می‌دهد، فراهم می‌شود.[۱۷] این سلول‌ها راهی به‌سوی تولید پرندگان تراریخته به منظور تولید پروتیین‌های نوترکیب و تولید نژادهای مقاوم به بیماری باز کرده‌اند.[۱۸-۲۰] افزون‌بر آن، به‌خاطر نوع خاص سیستم ایمنی موجود در جنین اولیه جوجه، نقش قابل توجه این سلول‌ها در تولید واکسن‌های انسانی و حیوانی مورد ارزیابی قرار گرفته است.[۲۱و۲۲]

پرندگان جانورانی تخم‌گذار هستند و بر این اساس جنین مراحل تکوینی خود را مستقل از بدن مادر طی می‌کند، از این‌رو لازم است مواد غذایی ضروری برای تکوین جنین از همان ابتدا در تخمک تامین و ذخیره شود.[۲۳] لقاح در پرندگان حدود ۱۵ دقیقه پس از تخمک‌گذاری درون مجرای تخمک‌بر (Oviduct) و در بخش اینفاندیبولوم (Infundibulum) روی می‌دهد.[۲۴] نخستین تقسیم‌های هسته‌ای در زمانی رخ می‌دهد که سلول تخم در حال گذر از این مجرا است. به‌دلیل حجم زیاد زرده، تقسیم‌های سلول تخم به‌طور ناقص و سطحی انجام می‌شود (Meroblastic cleavage). ابتدا چهار یا پنج تقسیم به‌طور عمودی انجام می‌شود و به‌دنبال آن، تقسیم‌های افقی انجام می‌شود و سبب چند لایه‌ای شدن و تشکیل بلاستودرم می‌گردد.[۲۵] به‌دنبال این تقسیم‌ها، با مهاجرت انفرادی سلول‌ها از لایه سطحی به ناحیه زیرین، دو لایه اپی‌بلاست (Epiblast) در سطح و هیپوبلاست (Hypoblast) در بخش زیرین تشکیل می‌شود و بین این دو لایه، فضای بلاستوسل (Blastocoel) به‌وجود می‌آید. چنین که روی حجم زیادی از زرده قرار می‌گیرد، بلاستودیسک (Blastodisc) یا چنین صفحه‌ای شکل نامیده می‌شود و فضایی که در زیر جنین و بالای زرده وجود دارد، فضای زیر نطفه‌ای (Subgerminal space) نامیده می‌شود.[۲۶] در جوجه، سلول تخم تا حدود ۲۰ ساعت پس از لقاح، درون مجرای تخمک‌بر و رحم مادر می‌ماند و مراحل اولیه تکوین را در آن‌جا طی می‌کند. این مراحل که از آغاز تسهیمات تا پیش از تشکیل خط اولیه (Primitive streak) و فرآیند گاسترولاسیون می‌باشد، توسط Eyal-Giladi و Kochav در سال ۱۹۷۶ به ۱۴ مرحله قراردادی تقسیم شدند که به‌طور اختصار مراحل EG&K نامیده و با اعداد رومی (مراحل I تا XIV) نام‌گذاری می‌شوند.[۲۷] مراحل بعدی تکوین جنین که مربوط به مراحل پس از تخم‌گذاری است و تا انتهای اندام‌زایی پیش می‌رود به ۴۶ مرحله تقسیم و توسط اعداد عربی (مراحل یک تا ۴۶) نام‌گذاری می‌شوند.[۲۸] بر پایه تقسیم‌بندی EG&K در زمان تخم‌گذاری، جنین جوجه در مرحله X جنینی قرار دارد و شامل منطقه شفاف (Area pellucida)، منطقه تیره (Area opaca) و ناحیه حاشیه‌ای (Marginal zone) می‌باشد.[۲۹و۳۰]

کوتاه بودن چرخه سلولی در زمان حضور سلول‌ها در مجرای تخمک‌بر احتمالا سبب می‌شود تا از تمایز تمامی سلول‌ها در جنین طی این مرحله از تکوین جلوگیری شود و به‌همین دلیل است که جمعیت سلول‌های حاصل از این تقسیم‌ها شامل سلول‌های پرتوان و پیش‌ساز است که می‌توانند در تشکیل انواع مختلفی از بافت‌ها مشارکت کنند.[۳۱] البته پرتوانی سلول‌های بلاستودرمی با شواهد آزمایشگاهی فراوانی نیز تایید شده است. نخستین بار در سال ۱۹۶۱ نشان داده شد که سلول‌های بلاستودرمی پس از تقسیم شدن به چهار قسمت مساوی، توانایی ایجاد چهار جنین کامل را دارا هستند.[۳۲] همچنین، در سال ۱۹۷۰ نشان داده شد که سلول‌های بلاستودرمی پس از تزریق به جنین میزبان توانایی تشکیل کایمر را دارند.[۳۳] با

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

پیشرفت‌های بیشتر در زمینه‌ی جداسازی سلول‌های بلاستودرمی، پژوهشگران توانستند با استفاده از سلول‌های مرحله X تکوین که حاوی ٤٠ هزار تا ٦٠ هزار سلول اولیه می‌باشد، کایمرهای زنده‌ای ایجاد کنند که توانایی تشکیل لایه زاینده را دارند.[٣٤] بنابراین، این مرحله برای جداسازی و تولید سلول‌های بنیادی جنینی جوجه (Chicken ESCs, cESCs) مرحله مناسبی است.[٣٥] البته باید در نظر داشت که هر چند سلول‌های مرحله X جنینی از نظر ظاهری شکل به‌نسبت یکسانی دارند، اما اگر تحت تاثیر محیط‌ها و شرایط کشت متفاوت قرار گیرند، ممکن است پاسخ‌های متفاوتی بروز دهند. نخستین رده سلول‌های cESCs در سال ١٩٩٦ در شرایط آزمایشگاهی تولید شدند. روش کار به این صورت بود که سلول‌های بلاستودرمی از تخم مرغ انکوبه نشده از دو نژاد "بارد پیلموت راک" (Barred plymouth rock, BPR) و "لگ هورن سفید" (White leghorn chicken, WL) و همچنین گونه بلدرچین در مرحله X جدا شدند و بر روی "سلول‌های جنینی فیبروبلاست موشی" (Mouse embryonic fibroblast, MEF) پرتو دیده، به‌عنوان لایه‌ی تغذیه‌رسان و محیط حاوی سرم جنین گوساله (Fetal calf serum, FCS) کشت داده شدند.[٣٥] همچنین فاکتورهای رشد Leukemia inhibitory factor (LIF)، Interleukin-11 (IL-11)، Stem cell factor (SCF)، Insulin like growth factor-1 (IGF-1) و Basic fibroblast growth factors (bFGF) برای تکثیر و نگهداشت خاصیت بنیادینگی سلول‌ها، به محیط کشت آن‌ها اضافه شد. کلنی‌های به‌دست آمده (تجمعات سلولی موجود در ظرف کشت) هر دو تا سه روز یک‌بار پاساژ داده شدند و کلنی‌های پرتوان تا ١٦٠ روز (٣٥ پاساژ) حفظ شدند. با انتقال سلول‌های cESCs به بلاستودرم تخم‌مرغ‌های دیگر، جنین‌های کایمر نیز ایجاد شدند. بیش از ٥٠٪ جنین‌های حاوی سلول‌های تزریقی، پس از ٢١ روز از تخم خارج شدند که در دو جوجه کایمر، سلول‌ها در تشکیل لایه زاینده نیز مشارکت کردند. هر چند که در پژوهش‌های آتی نشان داده شد که وجود سرم و LIF پرندگان می‌تواند برای کشت این نوع از سلول‌ها کافی باشد.[٣٦] تا به امروز، آزمایش‌های متعددی برای کشت و نگهداری سلول‌های cESCs انجام گرفته است و از انواع مختلفی از لایه‌های تغذیه‌رسان و عوامل رشد استفاده شده است. از مهمترین لایه‌های تغذیه‌رسان می‌توان به MEF، سلول‌های فیبروبلاستی جنینی جوجه (Chicken embryonic fibroblast, CEF) و رده فیبروبلاستی موشی STO اشاره کرد که سبب ایجاد شرایط مناسب برای رشد و تکثیر سلول‌های cESCs می‌شوند.[٣٧-٣٩] در اولین تحقیقاتی که در زمینه‌ی حفظ سلول‌های cESCs در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، نقش سایتوکین LIF به‌عنوان عاملی مهم و حیاتی برای حفظ خود نوزایی و تکثیر سلول‌های cESCs در نظر گرفته شد.[٣٥] برخی از مطالعات نشان دادند که حتی سایتوکین نوترکیب انسانی و موشی نیز می‌توانند قابلیت تکثیرپذیری این سلول‌ها را حفظ کنند. در مقابل، مطالعاتی نیز بر بی‌اثر بودن عامل LIF موشی برای بقای سلول‌های cESCs تاکید داشتند و وجود LIF جوجه را برای حفظ پرتوانی در این سلول‌ها، تنها راهکار ضروری می‌دانستند.[١١و٣٦] افزون‌برآن، مشخص شده است که فاکتورهای رشد bFGF، IGF-1 و SCF در به راه‌اندازی مسیرهای سلولی موثر در حفظ پرتوانی سلول‌های cESCs حایز اهمیت هستند.[١٠و٣٥و٣٩و٤٠]

سلول‌های cESCs مشابه سلول‌های ESCs در انسان و موش، سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که توانایی خودنوزایی نامحدود دارند و می‌توانند در محیط آزمایشگاه، سه لایه زاینده جنینی را ایجاد کنند.[١٠و٤٤-٤١] نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در آن‌ها بالا بوده و هستک بزرگی نیز عموما مشاهده می‌شود. همچنین، سیتوپلاسم غلیظ به همراه گرانول‌های ذخیره زرده و گلیکوژن در هر سلول مشاهده می‌شود و کلنی‌های به‌دست‌آمده از این سلول‌ها در محیط کشت، ظاهری مدور با حاشیه صاف و مشخص را تشکیل می‌دهند.[٤٥و٤٦] حاصل کشت‌های سلول‌های بلاستودرمی، جزایری از سلول‌های cESCs است که فعالیت آلکالین فسفاتازی (Alkaline phosphatase, ALP) دارند و در بسیاری از موارد گروه‌های دارای فعالیت ALP، پروتیین آنتی‌ژن ویژه مرحله جنینی SSEA-1، EMA-1 و ECMA-7 را بیان می‌کنند.[٣٤و٣٥] حفظ دو خصوصیت خودنوزایی و پرتوانی توسط فاکتورهای رونویسی Oct4 از خانواده PouV، Nanog، ERN1 و ERN7 کنترل می‌شود که نقش موثری در کنترل بیان ژن‌های پرتوانی، تمایزی و هرگونه تغییر در سطح ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی دارند.[٥٠-٤٧]

سلول‌های cESCs برای حفظ خاصیت نامیرایی خود، دارای فعالیت تلومرازی بالایی هستند. پس از حذف LIF و ایجاد اجسام شبه جنینی (Embryoid bodies, EBs)، این سلول‌ها می‌توانند به

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

سلول‌های تمایزیافته تبدیل شوند.[۳۴و۳۸] این سلول‌ها تمایل به ذخیره گلیکوژن دارند و میزان کمتری از رونوشت‌های مربوط به ژن‌های Glucose transporter 1 (GLUT1) و فسفوفروکتوکیناز (Phosphofructokinase, PFK) را نسبت به سلول‌های فیبروبلاستی بیان می‌کنند. درمقابل، بیان ژن‌های هگزوکیناز-۱ (Hexokinase 1, HK1) و گلیکوژن‌سنتاز (Glycogen synthase, GYS) در سلول‌های cESCs بیشتر است.[۴۵] این موارد نشان‌گر آن است که این سلول‌ها جریان گلوکز را به سمت مسیرهای تولید گلیکوژن هدایت می‌کنند. همچنین، مشخص شده است که سلول‌های یادشده مسیر گلوکونئوژنز را مهار می‌کنند و مانع از انباشته شدن گلوکز-٦- فسفات (G6P) حاصل از این مسیر می‌شوند.[۴۵]

با وجود مزایا و کاربردهای متعدد سلول‌های cESCs در علوم پایه و کاربردی، همچنان چالش‌های زیادی منجر به عدم تکرارپذیری روش‌های گزارش شده جهت تولید و حفظ طولانی‌مدت این سلول‌ها شده است.[۵۱] چالش‌هایی مانند پاسخ‌های متفاوتی که در طی کشت سلول‌های بلاستودرم حاصل از تخم‌های نطفه دار یک نژاد با سایر نژادها، دیده می‌شود، انواع محیط‌های کشتی که بر نقش مهم هریک بسیار تاکید می‌شود اما حضور موثر خود را در تولید این سلول‌های پرتوان نشان نمی‌دهند.[۵۲] تاثیر فاکتورهای رشد، سرم و سایر افزودنی‌های مورد نیاز برای رشد موثر این سلول‌ها، حضور لایه تغذیه کننده که بنابر گزارش‌های متعدد بر نقش موثر و یا مضر هر کدام تاکید می‌شود. از طرفی، استفاده و یا عدم لزوم استفاده از محیط‌های کشت شرطی شده حاصل از لایه‌های تغذیه کننده و تاثیر متغیرهای موجود در انکوباتور شامل دما، اکسیژن، دی‌اکسیدکربن و عدم پاساژپذیری سلول‌های بنیادی تولید شده در کشت اولیه و یا پاساژهای بالاتر و تمایل حرکت سلول‌ها به سمت تمایز، آپوپتوز و غیره هر یک به‌نحوی سبب پیچیده‌تر شدن شرایط کشت می‌شوند.[۵۳]

تخم نطفه‌دار پرندگان به‌عنوان یک مدل تاریخی در تحقیقات جنین‌شناسی، همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است.[۱۲و۵۴] این مدل از حدود دو هزار سال پیش در زمان ارسطو که به‌کمک تخم نطفه‌دار جوجه، نحوه پیدایش جانوران را به‌خوبی نشان داد حایز اهمیت بود و تا قرن‌ها بعد که از تخم لقاح یافته پرندگان در راستای تولید واکسن استفاده شد، نیز ارزش خود را حفظ کرد.[۵۵و۵۶] در آن سال‌ها افراد زیادی در جست‌وجوی روش‌های ایمن و مناسب جهت تولید واکسن بودند. تا اینکه در دهه ۳۰ پاتولوژیستی سرشناس به‌نام Ernest William Goodpasture که از پیشگامان علم ویروس‌شناسی بود، به‌دنبال یک حامل مناسب بود که بتواند واکسن را در شرایط بدون دفع ویروس و یا تغییر در ساختار ویروس در مقیاس وسیع تولید کند. وی نشان داد که تخم‌مرغ‌های لقاح‌یافته حاملی مناسب برای تولید ویروس‌ها هستند و توانست یافته‌هایش را با تولید واکسن آنفولانزا به اثبات برساند.[۵۷] به‌دنبال آن انواع مختلفی از واکسن‌ها به‌واسطه این سیستم توسط سایر پژوهشگران تولید و عرضه شد.[۵۸]

باوجود موفقیت‌هایی که در راستای تولید فراورده‌های نوترکیب در تخم مرغ دیده می‌شد، استفاده از تخم‌مرغ لقاح یافته معایب و محدودیت‌هایی نیز به‌دنبال داشت، مواردی مانند نیاز به حجم وسیعی از تخم‌مرغ لقاح یافته، احتمال ایجاد آلرژی درنتیجه انتقال فراورده‌های ناشی از تخم‌مرغ و نیاز به تعداد بالای نیروی انسانی.[۵۹] محدودیت‌های یاد شده باعث شدند که نقش تخم‌مرغ به‌عنوان عامل تولید ویروس در برخی شرکت‌ها و همچنین پژوهشگران کمرنگ شده و به‌دنبال جایگزینی مناسب برای تولید ویروس باشند.[۵۸و۶۰] این جایگزین می‌توانست مشتقی از همان سیستم اولیه باشد اما به این شرط که بتواند محدودیت‌های آن سیستم را جبران کند. بدین ترتیب سیستم‌های بر پایه رده‌های سلولی مشتق شده از پرندگان با اهداف مختلف نیز شکل گرفتند.[۶۱] این رده‌های سلولی با داشتن چندین ویژگی می‌توانستند کاندیدای مناسب برای تولید واکسن باشند، این رده‌ها افزون‌بر خاصیت تکثیرپذیری بالا، می‌بایست از لحاظ ژنتیکی در طی پاساژهای بالاتر پایداری خود را حفظ می‌کردند و از طرفی می‌توانستند بدون تغییر در ساختار ویروس، پذیرای دامنه وسیعی از ویروس‌ها به‌همراه حجم بالای تولید آن باشند.[۶۲و۶۳] بر همین اساس انواعی از رده‌های سلولی مشتق از جنین اولیه جوجه شکل گرفتند و مهمترین رده‌هایی که توجه پژوهشگران را به خود جلب کرد، رده سلولی نامیرای مشتق از جنین جوجه به‌نام EB14 و رده سلولی EB66 که سلول‌های مشتق از جنین تمایز نیافته اردک بود می‌توان نام برد. به واسطه این رده‌ها امکان تولید دامنه وسیعی از واکسن‌های آنفولانزا، پاکس ویروس و پارا آنفولانزا فراهم شد.[۶۲و۶۶-۶۴] مهمترین شرکتی که از این رده‌های سلولی در جهت تولید واکسن و همچنین سایر فراورده‌های نوترکیب از جمله آنتی‌بادی‌ها استفاده می‌کند، شرکت Vivalis بوده و سالانه سرمایه هنگفتی را به‌واسطه این رده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

نامیرا از آن خود می‌کند.[۶۷] افزون‌بر دو رده نامیرای ذکر شده، رده‌هایی با منشا فیبروبلاست پرندگان هم روی کار آمدند و با استفاده از آن‌ها نیز انواعی از واکسن‌ها تولید شدند.[۳۴و۳۵و۳۸]

برخی گزارشات حاکی از آن است که سلول‌های cESCs اغلب پتانسیل پرتوانی خود را در کشت‌های طولانی‌مدت از دست می‌دهند.[۵۱] بر همین اساس سایر منابع تولیدکننده سلول‌های پرتوان جوجه نیز مورد توجه قرار گرفتند. سلول‌های iPSCs که حاصل فرآیند باز برنامه‌ریزی (Reprogramming) سلول‌های سوماتیک هستند نیز توانایی تکثیر و خونوزایی را در محیط آزمایشگاه دارند.[۴۴]

در سال ۲۰۱۱ اولین سلول‌های iPSC حاصل باز برنامه‌ریزی سلول‌های تخصص یافته بلدرچین تولید شد.[۱۴] تولید سلول‌های iPSC پرندگان تاکنون با انتقال چهار تا شش فاکتور پرتوانی انسانی POU5F1، SOX2، NANOG، LIN28 و C-MYC توسط سیستم رتروویروسی، سیستم لنتی‌ویروسی و همچنین Minicircle انجام گرفته است.[۱۴و۵۱و۶۸و۶۹] در اولین مطالعه انتقال فاکتورهای پرتوانی انسانی توسط سیستم رتروویروسی به سلول‌های فیبروبلاستی جدا شده از جنین ۱۱ روزه صورت گرفت. این سلول‌ها پس از دریافت، در محیط کشت حاوی سرم و فاکتورهای رشد قرار گرفتند و ۱۰ روز پس از کلنی‌های iPSC قابل مشاهده بودند.[۱۴] ارزیابی‌های متعددی شامل مطالعات مورفولوژیکی، وضعیت تکثیرپذیری، بیان مارکرهای سطحی، ایجاد اجسام شبه جنینی و تمایز مستقیم به انواع دودمان‌های سلولی، پرتوان بودن این سلول‌ها و مشابهت بی‌نظیر سلول‌های iPSC را با سلول‌های ESCs نشان می‌دهد.[۱۴و۵۱۶۹] در رنگ‌آمیزی اختصاصی ALP و پریودیک اسید شیف (PAS) که مختص حضور گلیکوژن در سلول است، کلنی‌های iPSC به رنگ ارغوانی مشاهده می‌شوند و در بیان مارکرهای پرتوانی SSEA4، TRA-1-60 و TRA-1-81 نیز مثبت هستند. همچنین توان تکثیر بالای این سلول‌ها حاکی از بیان ژن تلومراز که کنترل‌کننده طول قطعات ژنومی است، می‌باشد.[۱۴و۱۵] در بخش ارزیابی پرتوانی این سلول‌ها، توانایی تمایز به سلول‌های اکتودرمی با بیان ژن‌های Tuj1، Pax6، تمایز به سلول‌های اندودرمی با بیان ژن Vimentin، تمایز به سلول‌های مزودرمی با بیان ژن Brachyury و تمایز به سلول‌های جنسی با بیان ژن‌های Vasa و Dazl قابل مشاهده است.[۱۴و۵۱و۶۸و۷۰و۷۱] به‌نظر می‌رسد فرآیندهایی که سلول پستانداران برای باز برنامه‌ریزی طی می‌کنند به‌صورت حفظ شده بوده و سلول‌های پرندگان نیز در حضور فاکتورهای انسانی قابلیت تولید سلول‌های iPSC را دارند.[۱۴و۶۹] هرچند، برای تولید iPSC با راندمان بالا در گونه‌های غیر از پستانداران، نیاز به فاکتورهای رونویسی مختص همانگونه است و این عامل باعث محدودیت دستیابی به این سلول‌های پرتوان می‌شود. تاثیری که فاکتورهای رونویسی پرتوانی انسانی و موشی بر روی سلول‌های تخصصی خود می‌گذارند متفاوت با سلول‌های گونه‌ای مانند پرنده بوده و منجر به کارایی پایین تولید و همچنین عدم باز برنامه‌ریزی کامل می‌شود. امروزه سلول‌های iPSC جوجه نیز به‌عنوان منبعی مناسب برای تکثیر ویروس مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند.[۷۲و۷۳]

برای تولید واکسن، رده‌هایی مناسب هستند که افزون‌بر توانایی ورود ویروس‌ها به درون خود بدون تغییر در ساختار نهایی ویروس، خاصیت تکثیرپذیری خود را نیز حفظ کنند. بر همین اساس انواعی از رده‌های سلولی تمایز یافته پرندگان مورد ارزیابی قرار گرفتند.[۵۸و۶۰] ابتدا با کشت کل بافت‌های جنین میزان پذیرش ویروس مورد بررسی قرار گرفت، اما با توجه به این‌که تکثیر ویروس نیازمند تکثیر سلول‌های میزبان بود، رده‌های سلولی فیبروبلاستی از جمله CEF، DT95، DEF، QEF، DF-1، QT-35، QT-6، QM7، سلول‌های روده‌ای، سلول‌های شبه ماکروفاژی و سلول‌های عضلانی با منشا مرغ، بلدرچین و اردک، به‌منظور پذیرش و توانایی تکثیر ویروس مورد ارزیابی قرار گرفتند.[۵۸و۶۳] در بین پرندگان، برخی از گونه‌ها از جمله اردک توانمندی بهتری در تولید حجم بالایی از ویروس با کمترین تداخل ویروس‌های درون‌زا را دارند. رده‌های سلولی مشتق شده از این‌گونه فاقد رتروویروس‌های درونی هستند و درنتیجه تداخلی در عملکرد صحیح ویروس ندارند و میزبان مناسب‌تری نسبت به سایر گونه‌ها تلقی می‌شوند.[۶۵و۷۷-۷۴]

حضور ویروس‌های درونی میزبان، ممکن است با ایجاد تداخل در ساختار نهایی ویروس منجر به واکنش آلرژیک در زمان تزریق واکسن به میزبان دیگری از جمله انسان شود. در حقیقت استفاده از تخم پرندگان و یا رده‌های سلولی مشتق شده از آن‌ها، وابسته به هدفی است که پژوهشگر دنبال می‌کند. تاکنون هر دو سیستم ارزش خود را حفظ کرده‌اند و جایگاه ویژه‌ای در بیوتکنولوژی دارویی به‌خود اختصاص داده‌اند.[۷۴و۷۸] امروزه با استفاده از محیط‌های کشت مشخص (از جمله محیط کشت EX-CEll Ebx برای کشت رده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

سلولی EB66)، امکان تولید غلظت‌های بالایی از ویروس‌ها فراهم شده است.[۵۸] در پرندگان، تخم‌گذار بودن و وجود تخم‌های فراوان مزیتی است که امکان دست‌ورزی را به‌نسبت ساده کرده است. اگرچه، نبود نشانگرهای اختصاصی در پرندگان، دستیابی و شناخت سلول‌های پرتوان را در شرایط آزمایشگاهی دشوار ساخته است. افزون‌براین، عدم استفاده از محیط‌های کشت مشخص برای تولید این سلول‌ها، موجب شده است که حضور رده‌های سلولی پرتوان مشتق از جنین جوجه به‌ندرت در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی دیده شود. بنابراین، با توجه به ارزش بالای این سلول‌ها در صنعت دارویی و تولید فراورده‌های نوترکیب، بایستی تحقیقات بیشتری بر روی این سلول‌ها انجام شود و به‌دنبال روش‌هایی جهت حل چالش‌های موجود در این مسیر بود.

References

1. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78(12):7634-8.
2. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292(5819):154-6.
3. Evans M. Discovering pluripotency: 30 years of mouse embryonic stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;12(10):680-6.
4. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282(5391):1145-7.
5. Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:435-62.
6. Thomson JA. Primate embryonic stem cells. Google Patents; 1998.
7. Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev* 2001;122(7):713-34.
8. Blasco MA. Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol* 2007;3(10):640-9.
9. Pain B, Chenevier P, Samarut J. Chicken embryonic stem cells and transgenic strategies. *Cells Tissues Organs* 1999;165(3-4):212-9.
10. van de Lavoir MC, Mather-Love C. Avian embryonic stem cells. *Methods Enzymol* 2006;418:38-64.
11. Nakano M, Arisawa K, Yokoyama S, Nishimoto M, Yamashita Y, Sakashita M, et al. Characteristics of novel chicken embryonic stem cells established using chicken leukemia inhibitory factor. *J Poultry Sci* 2011;48(1):64-72.
12. Farzaneh M, Khoshnam SE, Nokhbatolfoghahai M. First scientific record of two cases of partial twinning in the chick embryo, Gallus gallus domesticus. *J Vet Rec Case Rep* 2016;4(2):e000353.
13. Greenwood M. Medical emergencies in dental practice: 2. Management of specific medical emergencies. *Dent Update* 2009;36(5):262-4, 266-8.
14. Lu Y, West FD, Jordan BJ, Mumaw JL, Jordan ET, Gallegos-Cardenas A, Beckstead RB, Stice SL. Avian-induced pluripotent stem cells derived using human reprogramming factors. *Stem Cells Dev* 2012;21(3):394-403.
15. Mozdziak PE, Petitte JN. Status of transgenic chicken models for developmental biology. *Dev Dyn* 2004;229(3):414-21.
16. Vergara MN, Gutierrez C, Canto-Soler MV. Efficient gene transfer in chick retinas for primary cell culture studies: an ex-ovo electroporation approach. *J Vis Exp* 2015;(105):e52002.
17. Farzaneh M, Khoshnam S, Mozdziak P. Concise review: avian multipotent stem cells as a novel tool for investigating cell-based therapies. *J Dairy Vet Anim Res* 2017;5(1):1-4.
18. van de Lavoir MC, Mather-Love C, Leighton P, Diamond JH, Heyer BS, Roberts R, et al. High-grade transgenic somatic chimeras from chicken embryonic stem cells. *Mech Dev* 2006;123(1):31-41.
19. Abu-Bonsrah KD, Zhang D, Newgreen DF. CRISPR/Cas9 targets chicken embryonic somatic cells in vitro and in vivo and generates phenotypic abnormalities. *Sci Rep* 2016;6:34524.
20. Farzaneh M, Attari F, Khoshnam SE, Mozdziak PE. The method of chicken whole embryo culture using the eggshell windowing, surrogate eggshell and ex ovo culture system. *Br Poult Sci* 2018;59(2):240-4.
21. Krietsch Boerner L. The flu shot and the egg. *ACS Cent Sci* 2020;6(2):89-92.
22. Song Y, Wei Q, Liu Y, Bai Y, Deng R, Xing G, et al. Development of novel subunit vaccine based on truncated fiber protein of egg drop syndrome virus and its immunogenicity in chickens. *Virus Res* 2019;272:197728.
23. Christ B, Ordahl CP. Early stages of chick somite development. *Anat Embryol (Berl)* 1995;191(5):381-96.
24. Naito M, Nirasawa K, Oishi T. Development in culture of the chick embryo from fertilized ovum to hatching. *J Exp Zool* 1990;254(3):322-6.
25. Bakst MR, Gupta SK, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. *Poult Sci* 1997;76(1):83-90.
26. Gilbert SF. Early development in birds. In: Gilbert SF. Developmental Biology. 6th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates; 2000.
27. Eyal-Giladi H, Kochav S. From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology. *Dev Biol* 1976;49(2):321-37.
28. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. 1951. *Dev Dyn* 1992;195(4):231-72.
29. Hatada Y, Stern CD. A fate map of the epiblast of the early chick embryo. *Development* 1994;120(10):2879-89.
30. Azar Y, Eyal-Giladi H. Marginal zone cells: the primitive streak-inducing component of the primary hypoblast in the chick. *J Embryol Exp Morphol* 1979;52:79-88.
31. Etches RJ, Clark ME, Toner A, Liu G, Gibbins AM. Contributions to somatic and germline lineages of chicken blastodermal cells maintained in culture. *Mol Reprod Dev* 1996;45(3):291-8.
32. SPRATT NT Jr, HAAS H. Integrative mechanisms in development of the early chick blastoderm. III. Role of cell population size and growth potentiality in synthetic systems larger than normal. *J Exp Zool* 1961;147:271-93.
33. Marzullo G. Production of chick chimaeras. *Nature* 1970;225:72-3.
34. Petitte JN, Liu G, Yang Z. Avian pluripotent stem cells. *Mech Dev* 2004;121(9):1159-68.
35. Pain B, Clark ME, Shen M, Nakazawa H, Sakurai M, Samarut J, et al. Long-term in vitro culture and characterisation of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic potentialities. *Development* 1996;122(8):2339-48.
36. Horiuchi H, Tategaki A, Yamashita Y, Hisamatsu H, Ogawa M, Noguchi T, et al. Chicken leukemia inhibitory factor maintains chicken embryonic stem cells in the undifferentiated state. *J Biol Chem* 2004;279(23):24514-20.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

37. van de Lavoir MC, Mather-Love C, Leighton P, Diamond JH, Heyer BS, Roberts R, et al. High-grade transgenic somatic chimeras from chicken embryonic stem cells. *Mech Dev* 2006;123(1):31-41.
38. Lavial F, Pain B. Chicken embryonic stem cells as a non-mammalian embryonic stem cell model. *Dev Growth Differ* 2010;52(1):101-14.
39. Intarapat S, Stern CD. Chick stem cells: current progress and future prospects. *Stem Cell Res* 2013;11(3):1378-92.
40. Horiuchi H, Furusawa S, Matsuda H. Maintenance of chicken embryonic stem cells in vitro. *Methods Mol Biol* 2006;329:17-34.
41. Farzaneh M, Attari F, Khoshnam SE. Concise Review: LIN28/let-7 Signaling, a Critical Double-Negative Feedback Loop During Pluripotency, Reprogramming, and Tumorigenicity. *Cell Reprogram* 2017;19(5):289-293.
42. Farzaneh M, Alishahi M, Derakhshan Z, Sarani NH, Attari F, Khoshnam SE. The expression and functional roles of miRNAs in embryonic and lineage-specific stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2019;14(3):278-89.
43. Kolagar TA, Farzaneh M, Nikkar N, Khoshnam SE. Human pluripotent stem cells in neurodegenerative diseases: potentials, advances and limitations. *Curr Stem Cell Res Ther* 2020;15(2):102-10.
44. Farzaneh M, Derakhshan Z, Hallajzadeh J, Sarani NH, Nejabatdoust A, Khoshnam SE. Suppression of TGF-β and ERK signaling pathways as a new strategy to provide rodent and non-rodent pluripotent stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2019;14(6):466-73.
45. Li J, Zhang B, Han H, Cao Z, Lian Z, Li N. Metabolic properties of chicken embryonic stem cells. *Sci China Life Sci* 2010;53(9):1073-84.
46. Valarche I, Batard L, Mehtali M, Guehenneux F. Method of obtaining chicken embryonic stem cells. Google Patents; 2015.
47. Lavial F, Acloque H, Bertocchini F, Macleod DJ, Boast S, Bachelard E, et al. The Oct4 homologue PouV and Nanog regulate pluripotency in chicken embryonic stem cells. *Development* 2007;134(19):3549-63.
48. Jean C, Aubel P, Soleihavoup C, Bouhallier F, Voisin S, Lavial F, et al. Pluripotent genes in avian stem cells. *Dev Growth Differ* 2013;55(1):41-51.
49. Petitte JN. Isolation and maintenance of avian ES cells. In: Lanza R, editor. Handbook of Stem Cells. London: Academic Press; 2004. p. 471-7.
50. Kress C, Montillet G, Jean C, Fuet A, Pain B. Chicken embryonic stem cells and primordial germ cells display different heterochromatic histone marks than their mammalian counterparts. *Epigenetics Chromatin* 2016;9(1).
51. Yu M, Lian S, Han H, Yu K, Li G, Lian Z, et al. Four recombinant pluripotency transcriptional factors containing a protein transduction domain maintained the in vitro pluripotency of chicken embryonic stem cells. *Sci China Life Sci* 2013;56(1):40-50.
52. Aubel P, Pain B. Chicken embryonic stem cells: establishment and characterization. *Methods Mol Biol* 2013;1074:137-50.
53. Farzaneh M, Attari F, Mozdziak PE, Khoshnam SE. The evolution of chicken stem cell culture methods. *Br Poult Sci* 2017;58(6):681-6.
54. Kain KH, Miller JW, Jones-Paris CR, Thomason RT, Lewis JD, Bader DM, et al. The chick embryo as an expanding experimental model for cancer and cardiovascular research. *Dev Dyn* 2014;243(2):216-28.
55. Ellis-Barrett L. The oxford companion to classical civilization. *Ref Rev* 2015;29(6):48.
56. Artenstein NC, Artenstein AW. The discovery of viruses and the evolution of vaccinology. In: Artenstein AW, editor. Vaccines: A Biography. New York, NY: Springer; 2010. P. 141-58.
57. Tong Q, Romanini CE, Exadaktylos V, Bahr C, Berckmans D, Bergoug H, et al. Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. *Poult Sci* 2013;92(3):620-8.
58. Genzel Y. Designing cell lines for viral vaccine production: Where do we stand? *Biotechnol J* 2015;10(5):728-40.
59. Goodpasture EW, Woodruff AM, Buddingh G. The cultivation of vaccine and other viruses in the chorioallantoic membrane of chick embryos. *Science* 1931;74(1919):371-2.
60. Kraus B, von Fircks S, Feigl S, Koch SM, Fleischanderl D, Terler K, et al. Avian cell line - technology for large scale vaccine production. *BMC Proc* 2011;5(Suppl 8):P52.
61. Brown SW, Mehtali M. The avian EB66(R) cell line, application to vaccines, and therapeutic protein production. *PDA J Pharm Sci Technol* 2010;64(5):419-25.
62. Mehtali M, Champion-Arnaud P, Leon A. Production of viral vaccines in suspension on avian embryonic derived stem cell lines. Google Patents; 2015.
63. Aubrit F, Perugi F, Léon A, Guéhenneux F, Champion-Arnaud P, Lahmar M, et al. Cell substrates for the production of viral vaccines. *Vaccine* 2015;33(44):5905-12.
64. Valarche I, Batard L, Mehtali M, Guehenneux F. Method of obtaining chicken embryonic stem cells. Google Patents; 2014.
65. Guehenneux F, Moreau K, Esnault M, Mehtali M. Generation of duck cell lines. Google Patents; 2016.
66. Genzel Y, Reichl U. Continuous cell lines as a production system for influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2009;8(12):1681-92.
67. Farzaneh M, Hassani SN, Mozdziak P, Baharvand H. Avian embryos and related cell lines: A convenient platform for recombinant proteins and vaccine production. *Biotechnol J* 2017;12(5).
68. Yu P, Lu Y, Jordan BJ, Liu Y, Yang JY, Hutcheson JM, et al. Nonviral minicircle generation of induced pluripotent stem cells compatible with production of chimeric chickens. *Cell Reprogram* 2014;16(5):366-78.
69. Rosselló RA, Chen CC, Dai R, Howard JT, Hochgeschwender U, Jarvis ED. Mammalian genes induce partially reprogrammed pluripotent stem cells in non-mammalian vertebrate and invertebrate species. *Elife* 2013;2:e00036.
70. Dai R, Rossello R, Chen CC, Kessler J, Davison I, Hochgeschwender U, et al. Maintenance and neuronal differentiation of chicken induced pluripotent stem-like cells. *Stem Cells Int* 2014;2014:182737.
71. Lu Y, West FD, Jordan BJ, Jordan ET, West RC, Yu P, et al. Induced pluripotency in chicken embryonic fibroblast results in a germ cell fate. *Stem Cells Dev* 2014;23(15):1755-64.
72. Susta L, He Y, Hutcheson JM, Lu Y, West FD, Stice SL, et al. Derivation of chicken induced pluripotent stem cells tolerant to Newcastle disease virus-induced lysis through multiple rounds of infection. Virol J 2016;13(1):205.
73. Liou JF, Wu WR, Chen LR, Shiue YL. Establishment of an induced pluripotent cell line from Taiwan black silkie chick embryonic fibroblasts for replication-incompetent virus production. *Sci Rep* 2019;9(1):15745.
74. Shin D, Park KJ, Lee H, Cho EY, Kim MS, Hwang MH, et al. Comparison of immunogenicity of cell-and egg-passaged viruses for manufacturing MDCK cell culture-based influenza vaccines. *Virus Res* 2015;204:40-6.
75. Jordan I, John K, Höwing K, Lohr V, Penzes Z, Gubucz-Sombor E, et al. Continuous cell lines from the Muscovy duck as potential replacement for primary cells in the production of avian vaccines. *Avian Pathol* 2016;45(2):137-55.
76. Wang W, Said A, Wang Y, Fu Q, Xiao Y, Lv S, et al. Establishment and characterization of duck embryo epithelial (DEE) cell line and its use as a new approach toward DHAV-1 propagation and vaccine development. *Virus Res* 2016;213:260-8.
77. Olivier S, Jacoby M, Brillon C, Bouletreau S, Mollet T, Nerriere O, et al. EB66 cell line, a duck embryonic stem cell-derived substrate for the industrial production of therapeutic monoclonal antibodies with enhanced ADCC activity. *MAbs* 2010;2(4):405-15.
78. Park TS, Lee HG, Moon JK, Lee HJ, Yoon JW, Yun BN, et al. Deposition of bioactive human epidermal growth factor in the egg white of transgenic hens using an oviduct-specific minisynthetic promoter. *FASEB J* 2015;29(6):2386-96.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

TUMJ Tehran University Medical Journal, July 2020; Vol. 78, No. 4: 189-196 Review Article

Establishment and the importance of chicken pluripotent stem cells and their role in vaccine production: *review article*

Maryam Farzaneh Ph.D.[1*]
Mojgan Hosseini Ph.D.[2]

1- Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamshahr Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Received: 26 Jan. 2020 Revised: 02 Feb. 2020 Accepted: 14 Jul. 2020 Available online: 21 Jul. 2020

Chick embryos are a great historical research model in basic and applied sciences. Along with other animal models, avian and specifically chicken embryo has been attended, as well. Avian fertilized eggs as a natural bioreactor are an efficient tool for producing recombinant proteins and vaccines manufacturing. Due to the limitations of birds' eggs for viral replication, avian stem cells culture technologies access to safe methods as well as large-scale production of a variety of human and animal vaccines. Chicken pluripotent stem cells present the unique property of self-renewal and the ability to generate differentiated progeny in all embryonic lineages such as ectoderm, mesoderm, and endoderm in vitro. For the first time, chicken embryonic stem cells (cESCs) derived from the blastodermal cells of stage X embryos in vitro. Chicken ESC provides a great model of early embryo and they are useful for gene manipulation, virus proliferation, and the generation of transgenic birds. In addition to blastodermal cells, pluripotent cell lines can be produced by reprogramming of chicken fibroblasts into induced pluripotent stem cells (iPSCs) with transcription factors such as OCT4, NANOG, SOX2, KLF4, LIN28, and C-MYC that are well known to contribute to the reprogramming of somatic cells into an iPSCs. Similar to chicken ESCs, iPSCs have properties of unlimited self-renewal in vitro and the capacity for differentiation to all three embryonic germ layers. Chicken iPSCs have been a useful tool for the production of transgenic birds and viral vaccines. Despite the benefits and multiple applications of chicken pluripotent stem cells, the propagation of these cells is limited and some important challenges should be eliminated before their use in vaccine manufacturing. It is necessary to define the appropriate culture conditions for chicken pluripotent stem cells. For example, the presence of endogenous viruses in the avian species should be evaluated for human vaccine production. Currently, primary chicken fibroblast cells are still mainly used for vaccine production. This review covers the resources to achieve chicken derived cell lines for vaccine manufacturing.

Keywords: chicken, embryonic stem cells, fibroblast cells, genetically modified animals, induced pluripotent stem cells, recombinant proteins, vaccines.

[*] Corresponding author: Jundishapur University of Medical Sciences, Golestan St., Farvardin Blvd., Ahvaz, Iran.
Tel: +98-61-33113941
E-mail: maryamfarzaneh2013@yahoo.com

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]