

УДК: 575.113:577.21:636.5

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2026.1.338

РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА КУР: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И БИОМЕДИЦИНЕ

Крутикова А.А. * – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Племяшов К.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., член-корр. РАН, ректор (ORCID 0000-0002-3658-5886)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: редактирование генома, CRISPR/Cas9, примордиальные половые клетки, куры, генетическая модификация, устойчивость к патогенам.

Key words: genome editing, CRISPR/Cas9, primordial germ cells, chickens, genetic modification, pathogen resistance.

Поступила: 12.01.2026

Принята к публикации: 05.03.2026

Опубликована онлайн: 01.04.2026

РЕФЕРАТ

Редактирование генома животных, в частности, кур – активно развивающееся направление биотехнологии в области сельского хозяйства, фундаментальной науки и медицинских исследований. Домашняя курица является модельным объектом в области иммунологии, эмбриологии и инфекционных заболеваний. Появление современных технологий редактирования генов, включая систему CRISPR/Cas9, TALEN и гомологичную рекомбинацию, расширило потенциал для точной целевой модификации куриного генома. Технологии редактирования генома кур демонстрируют стремительный прогресс в период 2019–2025 гг., охватывая как селекционные, так и природоохранные задачи, что открыло новые перспективы одновременно в нескольких направлениях. С практической стороны, селекционеры получили возможность создавать птицу с повышенной устойчивостью к распространённым инфекциям. Не менее важным стало применение методов геномного редактирования для решения природоохранных задач. Криоконсервация первичных зародышевых клеток от кур редких и исчезающих пород позволяет сохранять полный набор генетической информации – включая митохондриальную ДНК и уникальную для самок W-хромосому – недоступную при замораживании только спермы. Венгерские коллеги создали функционирующий криобанк шести национальных пород с показателями приживления трансплантированных клеток до 100%. Благодаря этим технологиям было успешно восстановлено несколько исчезающих пород кур в Китае и Японии. Такая комбинация прикладных и природоохранных аспектов делает технологии редактирования генома птицы перспективным направлением современной биотехнологии. Данная работа представляет комплексный анализ текущего состояния технологий редактирования генома птиц, рассматривая основные подходы к генетической модификации, включая работу с примордиальными половыми клетками, применение вирусных

векторов и прямое редактирование эмбрионов. Особое внимание уделяется достижениям в создании устойчивых к патогенам линий кур, получении моделей с нокаутом генов для изучения их функций и разработке биотехнологических систем для производства терапевтических белков. Анализируются перспективы использования генетически модифицированных кур в биомедицинских исследованиях и производстве биофармацевтических препаратов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Домашняя курица занимает особое место среди сельскохозяйственных животных, являясь не только важным, а в некоторых случаях лидирующим, источником белка для населения планеты (Burt, 2007), но и ценным модельным организмом для научных исследований в области эмбриологии, иммунологии, генетики, вирусологии и онкологии (Stern, 2005). Курица стала первым видом сельскохозяйственных животных, геном которого был полностью секвенирован в 2004 году международным консорциумом исследователей (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004), что позволило использовать методы реверсивной генетики для изучения роли генов (Burt, 2007; Stern, 2005). Традиционные методы селекции кур требуют значительных временных затрат и не позволяют вносить точные изменения в геном на молекулярном уровне. Появление технологий целенаправленного редактирования генома ознаменовало начало новой эры в птицеводстве и биомедицинских исследованиях с использованием кур как модельного объекта. Эти технологии предоставляют исследователям инструменты для точной модификации специфических генов, что невозможно достичь классическими методами селекции.

Актуальность редактирования генома кур обусловлена несколькими факторами. Домашняя, а особенно промышленная птица постоянно подвергаются воздействию целого спектра патогенов, угрожающих здоровью человека и животных. Например, высокопатогенные вирусы гриппа А подтипа H5N1, могут передаваться людям при контакте с инфицированной птицей и иметь летальные последствия. С момента первого выявления случаев заражения людей вирусом H5N1 в 1997 году в Гонконге было зарегистриро-

вано более 900 случаев заболевания человека с показателем летальности около 52% (Petersen et al., 2024). В 2024–2025 годах в США было подтверждено 70 случаев заражения людей высокопатогенным птичьим гриппом А(H5N1), преимущественно связанных с профессиональным контактом с инфицированной птицей и молочным скотом, при этом зарегистрирован один летальный исход (Garg et al., 2025). Бактериальные агенты, включая *Campylobacter jejuni* и *Salmonella enteritidis*, являются ведущими причинами пищевых заболеваний у человека. Кампилобактериоз остается наиболее часто регистрируемым зоонозным заболеванием в Европейском Союзе с более чем 150 тысячами подтвержденными случаями в 2024 году, при этом птица рассматривается как основной резервуар инфекции. Сальмонеллез занимает второе место среди пищевых инфекций, причём *Salmonella enteritidis* остается наиболее частым возбудителем вспышек пищевого происхождения (EFSA & ECDC, 2024).

Развитие методов редактирования генома кур актуально и с точки зрения уникальности кур как модельного организма для изучения иммунологии, особенностей развития В-клеток и процессов созревания антител. Также генетически модифицированные куры могут служить в качестве биореакторов для производства терапевтических белков в яйцах, что представляет экономически эффективный подход.

За последние десятилетия был достигнут значительный прогресс в разработке методов генетической модификации кур. Создание протокола культивирования примордиальных половых клеток кур (PGC) с сохранением их способности к передаче по зародышевой линии упростило работу с куриными эмбрионами. В 2024–25 гг. на базе ВНИИГРЖ был

разработан метод наименее травматичного получения PGC из эмбрионов кур *in ovo* (Патент на изобретение RU 2832977 C1, 2025). Технологии культивирования PGC позволяют применять методы гомологичной рекомбинации для создания точных модификаций генома. Последующее внедрение нуклеаз с программируемой специфичностью, таких как TALEN и система CRISPR/Cas9, значительно повысило эффективность целенаправленного редактирования генов и расширило возможности для создания генетически модифицированных кур и других видов сельскохозяйственных птиц с заданными свойствами (Ветох и др., 2021). Важным достижением последних лет стала модификация технологии CRISPR для снижения нежелательных мутаций при редактировании генома примордиальных зародышевых клеток. Kim с соавторами (2020) эффективно применил CRISPR-никазы (D10A-Cas9) для создания кур с нокаутом гена миостатина. В отличие от стандартного Cas9, который вносит двухцепочечные разрывы ДНК, никаза D10A-Cas9 создаёт только одноцепочечные разрезы, что значительно снижает частоту нецелевых мутаций и нежелательных крупных делеций в геноме. Использование пары направляющих РНК позволило достичь высокой точности редактирования при сохранении жизнеспособности и нормальной функции примордиальных половых клеток. Полученные куры с нокаутом гена миостатина демонстрировали увеличенную мышечную массу при нормальной плодовитости. Этот подход открывает перспективы для более безопасного и точного геномного редактирования сельскохозяйственной птицы с минимизацией нецелевых эффектов. Разработка и совершенствование технологий редактирования генома кур позволяет решать вопросы пищевой безопасности продуктов, в частности проблему аллергенности белка куриных яиц. Так, белок овомукоид (OVM) составляет около 11% белков яичного белка и является наиболее аллергенным компонентом, вызывающим реакции у 0,5-2,5% детей. Благодаря высокой

устойчивости к термической обработке и действию протеаз, овомукоид сложно удалить физико-химическими методами. Технологии геномного редактирования предложили принципиально новое решение этой проблемы. Oishi et al. (2016) впервые применили CRISPR/Cas9 для создания кур с нокаутом гена *OVM*, достигнув эффективности мутагенеза более 90% в примордиальных половых клетках. Последующие исследования (Mukae et al., 2021) показали, что гомозиготные *OVM*-knockout куры производят яйца с нормальными показателями яйценоскости, не содержащие зрелого овомукоида, хотя и характеризующиеся более водянистой консистенцией яичного белка.

Критически важная оценка безопасности геномного редактирования (Ezaki et al., 2023) с использованием полногеномного секвенирования позволила выявить, что потенциальные off-target эффекты локализованы исключительно в межгенных и интронных областях, не затрагивая белок-кодирующие последовательности, а плазмидные векторы, используемые в качестве генетических конструкций для доставки в клетки компонентов системы CRISPR, не интегрировались в геном. Функциональный анализ показал, что *OVM*-null яйца сохраняют достаточные технологические свойства для пищевой переработки. Эти результаты открывают перспективу создания гипоаллергенных яиц для людей с пищевой аллергией, хотя требуются дополнительные клинические исследования для полной валидации безопасности и эффективности.

При обсуждении перспектив применения генно-редактированных кур необходимо рассмотреть потенциальные экологические риски, связанные с возможным распространением модифицированных генов в домашние и дикие популяции кур. Теоретически, случайные скрещивания особей с отредактированным геномом с дикими и домашними популяциями кур могут привести к интрогрессии модифицированных аллелей в нативных представителей *Gallus gallus*, изменяя их генетическое разнообразие и локальную адап-

тацию. Однако, в отличие от некоторых других видов сельскохозяйственных животных, для кур эти риски оцениваются как относительно низкие, поскольку промышленное птицеводство является преимущественно закрытой системой с минимальным контактом с дикой фауной. Также существует значительная географическая изоляция между большинством птицеводческих регионов и естественными ареалами диких форм кур в Юго-Восточной Азии. Кроме того, современные методы редактирования через примордиальные зародышевые клетки не используют механизмы «gene drive», способные к самостоятельному распространению в популяциях. Однако, по мнению Ballantyne и соавторов (2021), эти аспекты не снижают необходимости соблюдения строгих мер биобезопасности, включая физическую изоляцию производственных объектов и создание стерильных суррогатных линий. Перспективным направлением может стать внедрение непосредственно в геном систем генетической биобезопасности с индуцируемыми «suicide genes», которые кодируют неактивный или безвредный в норме белок, при активации которого запускаются процессы контролируемого самоуничтожения клеток целых организмов при необходимости.

Важным аспектом является регуляторный контроль: геномно-редактированные животные подпадают под действие международных соглашений, таких как Картахенский протокол по биобезопасности, и национальных регуляций, требующих независимой оценки экологических рисков до коммерческого использования. Также рекомендуется проведение долгосрочного мониторинга диких популяций *Gallus gallus* в регионах, где осуществляется выращивание редактированных кур, для раннего выявления возможных случаев интрогрессии и разработка чётких протоколов действий при случайном выпуске модифицированных особей в окружающую среду.

Редактирование генома кур является перспективной технологией также и для

решения вызовов глобального изменения климата и расширения птицеводства в тропические регионы, когда на первом плане оказывается проблема теплового стресса у кур, приводящего к значительному снижению продуктивности и экономическим потерям. В этом контексте разработка геномных ресурсов для идентификации генетических детерминант термостойкости приобретает критическое значение. Геномный проект Chicken Genotype-Tissue Expression (ChickenGTEx), завершённый в 2025 году, интегрирует в себе данные о порядка 7 тысячах образцов RNA-seq из 28 разных типов тканей, около 3 тысячах полногеномных последовательностях кур 123 пород мира и порядка 180 тысячах одноклеточных профилях экспрессии (Guan et al., 2025; Hou et al., 2025). Проект ChickenGTEx позволил идентифицировать около 2,2 миллиона молекулярных локусов количественных признаков (QTL), включая контекст-зависимые эффекты (sex-biased, tissue-biased и cell type-biased eQTL), что позволяет выявлять регуляторные варианты, ассоциированные с 108 экономически важными признаками. Особое значение имеет возможность идентификации генов-кандидатов для улучшения термостойкости, включая гены семейства heat shock proteins (*HSP70*, *HSP90*, *GRP78*), метаболические и иммунные гены, участвующие в ответе на тепловой стресс. ChickenGTEx позволяет не только выявлять благоприятные аллели в аборигенных термостойких породах для их последующей интрогрессии через геномное редактирование, но и определять оптимальные регуляторные элементы для тканеспецифичного редактирования генов теплового ответа. Интеграция подходов, сочетающих данные ChickenGTEx с технологиями CRISPR/Cas9, открывают перспективы создания линий кур устойчивых к экстремальным климатическим условиям и способных поддерживать продуктивность в условиях повышенных температур, что критически важно для обеспечения глобальной продовольственной безопасности в условиях изменяющегося климата.

Целью данной работы является анализ современных технологий редактирования генома кур, оценка достигнутых результатов и перспектив их практического применения в сельском хозяйстве и биомедицине.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исторически первые генетически модифицированные куры были получены в 1987 году с использованием ретровирусных векторов на основе вируса лейкоза птиц, который успешно интегрировался в зародышевую линию после инъекции в желточный мешок развивающейся бластодермы (Salter et al., 1987). Подход выявил принципиальную возможность трансгеноза у кур, но имел существенные ограничения, включая риск рекомбинации с вирусами дикого типа и репликацию дефектных вирусных частиц.

Альтернативой стала микроинъекция плазмидной ДНК непосредственно в зародышевый диск куриной зиготы. В 1994 году данный метод позволил получить трансгенных кур, экспрессирующих гены устойчивости к неомицину и репортерный ген *lacZ*, однако эффективность трансмиссии трансгена в потомство составила всего около 3,4% (Love et al., 1994). Существенное улучшение эффективности было достигнуто в 2004 году при использовании лентивирусных векторов, обеспечивающих трансмиссию от 4 до 45% в зависимости от используемого клона первичных половых клеток (McGrew et al., 2004).

Знаковым моментом в технологии создания генетически модифицированных кур стала возможность культивирования их примордиальных половых клеток (PGC) с сохранением их функциональных характеристик. Как описывал Fujimoto с коллегами еще в 1976 году, PGC являются предшественниками гамет и критическим элементом для развития сперматозоидов и ооцитов. На ранних стадиях эмбрионального развития эти клетки обнаруживаются в герминальном серпе и впоследствии мигрируют (50-55 часов инкубации) к гонадам под влиянием хемокина CXCL12 и его рецептора

CXCR4 (Kim et al., 2010; Kang et al., 2015; Lee et al., 2017c). Эта особенность усложняет процесс получения примордиальных половых клеток кур из крови эмбрионов, снижая сроки взятия крови до 24-48 часов с момента, когда дорсальная аорта достаточно сформирована для микроинъекции до полного перемещения PGC в гонады.

Установление условий долгосрочного культивирования примордиальных половых клеток представляло техническую проблему, решение которой стало значимым шагом для модификации генома кур. В 2006 году первоначально для культивирования использовались фидерные клетки BRL или STO, на которых PGC могли культивироваться до 217 дней с сохранением экспрессии герминальных маркеров, включая куриный гомолог белка *vasa* (CVH), и успешно криоконсервировались. Принципиально важным открытием стала демонстрация того, что примордиальные половые клетки после генетической модификации и длительного культивирования сохраняют способность колонизировать гонады и передавать модифицированный геном потомству. Это было подтверждено экспериментами, в которых культивированные в течение 35–110 дней мужские PGC трансфецировали конструкцией с геном *GFP* и затем инъекцировали в сосудистую систему эмбрионов белых леггорнов на стадии 13-15 по классификации Гамбургера и Гамильтона. Эффективность трансмиссии в зародышевую линию варьировала от 0,1 до 48% в зависимости от используемого клона первичных половых клеток (Van De Lavoie et al., 2006). Дальнейшая оптимизация, проведенная Whyte с соавторами в 2015 году, привела к разработке бессывороточных условий культивирования без фидерных клеток, учитывающих специфические сигнальные пути (FGF, инсулин и SMAD), необходимые для пролиферации примордиальных половых клеток кур.

Следует отметить, что методы культивирования PGC значительно различаются по эффективности трансмиссии в зародышевую линию (от 0,1% до 100% в зависимости от клона). Основным ограни-

чением остаётся необходимость длительного скрининга (до 6 месяцев на генерацию) и вариабельность между клональными линиями.

Перспективным инновационным подходом к повышению эффективности трансмиссии в зародышевую линию является использование стерилизованных петухов в качестве реципиентов для экзогенного переноса генетически модифицированных примордиальных половых клеток. По данным Trefil и коллег (2017) такой подход может повысить эффективность трансмиссии PGC до 100%, что сокращает время и количество используемых животных.

Стерилизация петухов-реципиентов на стадии эмбриона, до введения донорских примордиальных половых клеток, позволяет избежать конкурирующего взаимодействия между нативными и донорскими PGC, а также получить петухов, производящих сперматозоиды только с целевым модифицированным геномом.

В работах Nakamura (2010) куриные эмбрионы и взрослые петухи были химически или физически стерилизованы с целью получения суррогатов для внешних доноров PGC клеток. Частичная стерилизация куриных эмбрионов путем инъекции бусульфана в желток оплодотворенных яиц перед инкубацией приводила к значительному снижению эндогенных PGC. Nakamura с коллегами (2010), а позднее Trefil с соавторами (2017) убедительно доказали, что стерилизованные эмбрионы могут быть использованы для экзогенного переноса примордиальных половых клеток с высокой эффективностью трансмиссии в зародышевую линию.

Альтернативой химической стерилизации стало использование гамма-облучения, приводящего к стерилизации петухов. Инъекция донорских сперматогониальных клеток приводила к восстановлению мужской функции у 50% петухов всего через 5 недель после инъекции. По данным Trefil с соавторами (2017) трансплантация PGC восстанавливала сперматогенез на 4 недели позже по срав-

нению со сперматогониальными клетками, однако PGC демонстрировали более высокую эффективность репопуляции семенного эпителия. Трансплантация генетически модифицированных примордиальных половых клеток, экспрессирующих гены GFP или mCherry, во взрослых петухов после полного облучения приводила к восстановлению мужской фертильности с почти 100% трансмиссией в зародышевую линию. Основное преимущество этого метода заключается в гарантированной трансмиссии в зародышевую линию и низком числе животных, используемых в эксперименте, что снижает время и затраты на тестирование большого числа химерных петухов.

Чтобы избежать трудоёмких процедур культивирования примордиальных половых клеток был разработан метод *in vivo* геномного редактирования эмбрионов птиц: Lee с соавторами (2022) успешно создали линии кур и уток с модифицированным геномом путём прямой инъекции аденовируса, содержащего систему CRISPR/Cas9, в бластомеру эмбрионов, что значительно упрощает и ускоряет процесс создания геномно-редактированных птиц и расширяет возможности применения технологии на виды, для которых культивирование примордиальных зародышевых клеток затруднено.

Технология трансплантации первичных половых клеток также была успешно применена для сохранения редких видов птиц. Межвидовая трансмиссия примордиальных зародышевых клеток дрофы-красотки *Chlamydotis undulata* посредством трансформации в эмбрионы кур позволяет получить последовательное потомство исчезающего вида: гонадная ткань эмбрионов дрофы-красотки, содержащая примордиальные зародышевые клетки, была инъецирована в эмбрионы кур породы Белый Леггорн, в результате чего были получены петухи, сперма которых после искусственного осеменения самок дрофы-красотки дала независимых птенцов донорского вида, демонстрируя потенциал этой технологии для сохране-

ния биоразнообразия (Wernery et al., 2010).

Одно из самых распространенных направлений генной инженерии животных – это целевой нокаут генов, позволяющий изучать функции нокаутированных генов, блокировать рецепторы взаимодействия вирус-хозяин, совершенствовать продуктивные качества животных. Например, нокаутировав ген миостатина можно получить животное с двойной мышечной массой. Методы гомологичной рекомбинации, успешно применяемые для создания нокаутных мышей, были адаптированы и для работы с куриными PGC. Первые специфические генные нокауты у кур были получены в 2013 году путем целенаправленного воздействия на локусы иммуноглобулиновых генов. При таргетировании J-сегмента тяжелой цепи иммуноглобулинов из 27 клонов примордиальных половых клеток 7 (28%) содержали целевую модификацию в геноме, что демонстрировало высокую эффективность, сопоставимую с эмбриональными стволовыми клетками мыши. Гомозиготные куры с нокаутом J-сегмента тяжелой цепи иммуноглобулинов демонстрировали истощение периферических В-клеток и отсутствие антител, став первыми позвоночными, не относящимися к классу млекопитающих с нокаутом, полученным методом гомологичной рекомбинации (Schusser et al., 2013).

Важным техническим требованием для успешной гомологичной рекомбинации в PGC является использование изогенной ДНК, поскольку несоответствия в областях гомологии не распознаются системой репарации (Schusser et al., 2016).

Способом повышения эффективности целенаправленного редактирования генома стало внедрение программируемых нуклеаз. Транскрипционные активатор-подобные эффекторные нуклеазы (TALEN) состоят из серии повторов, слитых с неспецифическими доменами расщепления *FokI*, индуцирующими двухцепочечные разрывы ДНК при димеризации (Gaj et al., 2013). TALEN до настоящего момента остается самой точной системой

редактирования генома, однако сложность дизайна направляющей конструкции, ее громоздкость и дороговизна исполнения снижает частоту ее использования, несмотря на высокий уровень специфичности.

Система редактирования генома CRISPR/Cas9 упростила процесс специфической таргетной модификации ДНК за счет использования одиночных направляющих РНК. Система CRISPR/Cas9 – это адаптированная иммунная система бактерий и архей, использующая малые некодирующие РНК для направления нуклеазы Cas9 к целевым участкам, что приводит к двухцепочечному разрыву ДНК (Jinek et al., 2012). Применение CRISPR/Cas9 в комбинации с гомологично направленной репарацией значительно повысило эффективность генного таргетирования в примордиальных половых клетках кур. При введении сайта loxP в локус тяжелой цепи иммуноглобулинов с использованием таргетирующего вектора с 2 kb плечами гомологии в комбинации с CRISPR/Cas9, нацеленной на область выше единственной варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулинов, все отобранные лекарственно-устойчивые клоны PGC содержали корректное целевое событие, а эффективность трансмиссии в зародышевую линию, по данным Dimitrov с соавторами (2016), варьировала от 0 до 100% в зависимости от используемой линии клеток.

В экспериментальной работе Taylor и коллег (2017) модификация локуса гена *DDX4*, расположенного на Z-хромосоме, с использованием редактирующей системы TALEN в комбинации с таргетирующим вектором показало возможную роль этого гена в формировании герминативной клеточной линии. Эффективность трансмиссии в зародышевую линию от основателей при этом составила 6%. Гемизиготные самки поколения G1 с нокаутом *DDX4* не откладывали яйца и не имели желтых или белых фолликулов в яичниках, что контрастирует с фенотипом нокаутных по *DDX4* самок мышей, которые не утратили фертильность. Это может свиде-

тельствовать о более сложных и многоуровневых механизмах формирования репродуктивной функции у млекопитающих, о наличии компенсаторных механизмов либо различной роли генов-ортологов у птиц и у млекопитающих.

Для изучения функций генов и взаимодействий хозяин-патоген можно использовать не только животных с отредактированным соответственно целям геномом, но и клеточные линии, в том числе и птиц, которые предоставляют ценные модели для исследований *in vitro*. Так линия клеток DT-40, представляющая собой индуцированную вирусом лейкоза бурсальную В-клеточную лимфому, использовалась в работах Arakawa и Buerstedde (2004) для исследования иммунологии В-клеток, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Большое количество мутантных DT-40 было создано для понимания биологии В-клеток, включая демонстрацию того, что активированная цитидиндезаминаза (AID) инициирует диверсификацию генов иммуноглобулинов посредством генной конверсии, описанной Buerstedde с соавторами в 1990 году.

Линия клеток DF-1, представляющая собой иммортализованные куриные фибробласты (Foster, 1998), установилась как эффективная модель для изучения взаимодействий хозяин-патоген различных авиальных патогенов, включая вирусы гриппа А, вирус болезни Ньюкасла и ретровирусы. Применение системы CRISPR/Cas9 сделало клеточные культуры значительно более полезными благодаря возможности легкого нокаута различных генов.

Lee с соавторами (2017) использовали систему CRISPR/Cas9 для внесения целевых модификаций в куриный ген *NHE1* с целью генерации устойчивости клеток DF-1 к инфицированию подгруппой J вируса лейкоза птиц. Редактирование проводилось посредством гомологичной направленной репарации, комбинирующей векторы CRISPR/Cas9 с одноцепочечными олигонуклеотидами. Исследования были основаны на экспери-

ментальных данных, показывающих, что мутация в положении триптофана 38 является критической для инфекции вирусом (Kučerová et al., 2013; Lee et al., 2017). Альтернативно, негомологичное соединение концов было также установлено в клетках DF-1, где модификация гена *TVB* привела к мутациям со сдвигом рамки считывания, что обеспечило устойчивость против подгруппы В вируса лейкоза птиц (Lee et al., 2017b).

Эффективность индукции мутаций при таргетировании широкого спектра генов в клетках DF-1, включая *DROSHA*, *DICER*, *MBD3*, *KIAA1279*, *CDKN1B*, *EZH2*, *HIRA*, *TYRP1*, *STMN2*, *RET* и *DGCR*, играющих роль в эмбриональном развитии и патогенезе эмбриональных заболеваний, варьировала от 20 до 65% (Abu-Bonsrah et al., 2016). Дальнейшие исследования Bai с коллегами (2016) показали, что селекция пурамицином увеличивает частоту мутаций при таргетировании гена *PPAR-γ* с 0,75% до 60,7%, гена *ATP5E* с 0,5% до 61,3% и гена *OVA* с 3,0% до 47,3% соответственно.

Изучение процессов эмбрионального развития организмов и взаимодействий хозяин-патоген успешно осуществляется на хорошо зарекомендовавших себя в качестве модели куриных эмбрионах. В течение последних десятилетий были разработаны различные методы внедрения редактирующих генетических конструкций в клетки куриных эмбрионов, включая электропорацию конструкций с чужеродной ДНК и трансдукцию ретровирусами в комбинации с системой CRISPR/Cas9.

Система ретровирусных векторов RCAS, полученная из вируса саркомы Рауса штамма SR-A, по данным Bell and Brickell (1997), широко использовалась в качестве встраиваемого вектора для стабильной трансдукции развивающихся куриных эмбрионов и клеточных культур. Инъекция векторов RCAS, несущих различные изоформы гена цитокина *MX*, в желточный мешок трехдневных оплодотворенных яиц с последующей оценкой защиты против вируса гриппа А показала,

что гиперэкспрессия различных изоформ *MX* в эмбрионированных яйцах не обеспечивала защиты против инфекции вирусами H1N1, H7N1 и VSV, что согласовалось с результатами, полученными на куриных фибробластах (Schusser et al., 2011).

Роль интерферона лямбда была исследована Reuter и его коллегами (2014) путем создания мозаичных куриных эмбрионов с гиперэкспрессией этого цитокина. Ученые фиксировали снижение вирусных титров в эмбрионах при заражении вирусом гриппа А, болезни Ньюкасла (NDV Herts-33) или инфекционного бронхита (IBV M-41) через аллантоисную полость как минимум на четыре логарифмических единицы по сравнению с инокулированными яйцами с пустым вектором RCAS, что показало защитный эффект куриного интерферона лямбда против различных вирусов.

Применение технологий редактирования генов посредством прямой доставки редактирующих генетических конструкций в куриные эмбрионы методом электропорации *in ovo* оказалось весьма эффективным. Использование плазмид на основе мРНК для подавления генной экспрессии в нервной трубке кур (Wilson and Stoeckli, 2012) и *in ovo* электропорация, в качестве способа их доставки в эмбрион, для нокаута генов ключевых транскрипционных факторов нервного гребня *PAX7* и *SOX10* продемонстрировали возможность применения этого подхода для изучения функций генов на различных стадиях эмбрионального развития (Gandhi et al., 2017).

Одним из наиболее перспективных практических применений редактирования генома кур является создание линий, невосприимчивых к специфическим патогенам. Если при создании трансгенных эмбрионов с помощью вирусных векторов, например вируса саркомы Рауса, как указано выше, акцент был на встраивание дополнительных генов, экспрессирующих агенты иммунного ответа, то в дальнейшем внимание было перенесено на дезактивацию генов поверхностных клеточных

рецепторов, посредством которых вирус проникает в клетку.

Наиболее распространенным ретровирусом у кур является вирус лейкоза птиц (ALV), индуцирующий различные неопластические повреждения и вызывающий потери продуктивности в пораженных стадах (Fadly, 2000). Мутации, ответственные за ингибирование проникновения подгруппы А вируса лейкоза в клетки, были идентифицированы и включали вставку четырех пар оснований и замену одной пары оснований в локусе гена *TVA*-рецептора (Klucking et al., 2002), который используется вирусом птичьего лейкоза и саркомы подгруппы А (ALV-A) для проникновения в клетки птиц.

Высокая эффективность таргетирования и простота системы CRISPR/Cas9 позволяют нокаутировать гены в специфических тканях и органах развивающегося куриного эмбриона без необходимости создания полностью генетически модифицированных линий кур. Применение технологии CRISPR/Cas9 позволило создать кур с целенаправленным нокаутом гена *TVA* путём введения сдвига рамки считывания в примордиальных зародышевых клетках. Полученные гомозиготные *TVA*^{-/-} куры показали полную резистентность к инфекции ALV подгрупп А и К как *in vitro*, так и *in vivo*, в отличие от восприимчивых кур с генотипом *TVA*^{+/+} и *TVA*^{+/-} особей. Важно отметить, что нокаут *TVA* приводит к специфическому нарушению метаболизма кобаламина (витамина В12), что согласуется с недавно установленной физиологической функцией *TVA* как рецептора для кобаламина в комплексе с транскобаламиновым транспортером (Koslová et al., 2021).

Для *TVB*-рецептора, взаимодействующего с вирусом лейкоза птиц подгруппы В, одиночная замена пары оснований в богатом цистеином домене также приводила к снижению восприимчивости клеток DF-1 к инфекции подгруппой В вируса лейкоза по данным Klucking с коллегами (2002) и Reinisová с коллегами (2008).

Подгруппа J вируса лейкоза (ALV-J) использует мультимембранный поверх-

ностный белок клетки, куриный Na⁺/H⁺ обменник типа 1 (NHE1), в качестве рецептора (Barnard et al., 2006). Функциональная важность остатка триптофана в положении 38 (Trp38) для проникновения вируса была установлена с использованием мутагена субгенного фрагмента NHE1 (Kučerová et al., 2013). Точное редактирование гена *NHE1* с использованием системы CRISPR/Cas9 привело к устойчивости клеток против инфекции, подтверждая критическую роль этой позиции (Lee et al., 2017).

Однако важно отметить потенциальные ограничения стратегии минимального редактирования рецепторов. Так оказалось, что вирус ALV-J способен к быстрой адаптивной эволюции в ответ на единичную аминокислотную делецию W38, при этом, по данным Matoušková с соавторами (2024) адаптированные варианты вируса с мутациями в гене оболочки (N311D и A432T) могут преодолевать резистентность NHE1ΔW38 клеток. Эти данные подчёркивают необходимость более комплексных стратегий геномного редактирования, таких как множественные делеции в критическом регионе рецептора, для создания устойчивой долгосрочной резистентности и минимизации риска вирусной адаптации.

Можно отметить значительный прогресс в создании кур устойчивых к вирусу гриппа. В 2011 году были получены трансгенные куры, которые экспрессируют короткие шпилечные РНК, функционирующие как ловушка для взаимодействия и блокирования полимеразы вируса гриппа А, хотя и не были устойчивы к начальной инфекции, предотвращали вирусную трансмиссию (Lyll et al., 2011). Группа исследователей во главе с June Yun (2017) выявила возможность подавления трансмиссии вируса гриппа А у трансгенных птиц, экспрессирующих одноцепочечный варибельный фрагмент 3D8 (scFv), взаимодействующий с вирусным геномом и приводящий к подавлению вирусного выделения (et al., 2017).

Создание генетической устойчивости к высокопатогенному вирусу гриппа птиц

представляет критически важное направление для глобальной продовольственной безопасности: Idoko-Akoh et al. (2023) применили CRISPR/Cas9 для создания гомозиготных кур с аминокислотными заменами (N129I и D130N) в гене ANP32A, предотвращающими взаимодействие с вирусной полимеразой, что обеспечило устойчивость к птичьему гриппу 9 из 10 отредактированных кур при низкой дозе вируса, хотя при высокой дозе наблюдались прорывные инфекции адаптированными вариантами вируса, используемыми альтернативные белки ANP32B и ANP32E, что подчёркивает необходимость множественного редактирования генов семейства ANP32 для предотвращения вирусной адаптации.

Перспективным подходом является использование кур в качестве биореакторов для производства терапевтических белков человека. Замена варибельных областей куриных иммуноглобулинов человеческими V-областями и синтетическими псевдогенными массивами позволяет производить созревшие по аффинности человеческие антитела у кур. По мнению Ching и соавторов (2018) платформа OmniChicken компании Ligand Pharmaceuticals является уникальной в мировом масштабе системой, использующей филогенетическую разницу между млекопитающими и птицами для производства человеческих моноклональных антител.

В 2018 году ген человеческого интерферона бета (*hIFN-β*) был успешно интегрирован в локус гена овальбумина кур для производства данного белка в яичном белке. Это демонстрирует способность производства чужеродных белков в яйцах, что имеет промышленное и терапевтическое значение (Oishi et al., 2018). Производство антител в куриных яйцах также является экономичным и не вызывающим стресс методом получения специфических антител.

Геномное редактирование также открывает перспективы для снижения экологического следа птицеводства через улучшение конверсии корма, снижение выделений азота и фосфора, создание

термостойких линий для адаптации к климатическим изменениям, а также для биофармацевтических применений, включая производство гипоаллергенных яиц и создание платформ для производства терапевтических рекомбинантных белков и антител в яичном белке.

Особо следует отметить, что применение технологий геномной модификации в птицеводстве и не только требует тщательной предварительной оценки возможных рисков. Нецелевые мутации (нецелевые эффекты) могут возникать в геномных локусах со сходной нуклеотидной последовательностью с целевым сайтом, что может повлечь за собой нокаут нецелевых функционально значимых генов и привести к непредсказуемым изменениям фенотипа вплоть до серьезных физиологических дефектов и летальности. Использование в качестве контроля полногеномного секвенирования отредактированных линий позволит выявить такие нежелательные модификации и опасность дальнейшей работы.

Плейотропные эффекты генов-мишеней также заслуживают пристального внимания. Примером может послужить описанный выше нокаут гена рецептора TVA, обеспечивающий устойчивость к вирусу лейкоза птиц подгруппы А и К, но при этом одновременно снижающий синтез кобаламина, поскольку эти рецепторы захватывают комплекс витамина В12 с транскобаламином. Аналогично, модификация гена *NHE1* для защиты от вируса лейкоза подгруппы J может затрагивать множество последовательных процессов, связанных с регуляцией рН в клетках. Комплексный фенотипический анализ отредактированных птиц необходимо проводить в нескольких поколениях для выявления отсроченных эффектов модификаций, которые могут не проявляться у первого поколения, но влиять на продуктивность или устойчивость потомства.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Редактирование генома кур прошло путь от первых экспериментов с ретровирусными векторами до высокоточных технологий на основе системы CRISPR/

Cas9, открывающих широкие возможности для фундаментальной науки и практических применений. Ключевыми достижениями в этой области стали разработка методов культивирования и генетической модификации примордиальных половых клеток с сохранением их способности к трансмиссии в зародышевую линию, создание эффективных систем для целенаправленного редактирования генома, особенно CRISPR/Cas9, и получение первых кур с точными генетическими модификациями.

Перспективы дальнейшего развития технологий редактирования генома кур включают создание устойчивых к различным патогенам линий, что может революционизировать птицеводство и снизить необходимость применения антибиотиков. Использование кур как биореакторов для производства терапевтических белков человека представляет экономически привлекательную альтернативу существующим системам экспрессии. Платформы для производства человеческих моноклональных антител в курах демонстрируют коммерческий потенциал этой технологии.

Несмотря на значительные успехи, остаются задачи, требующие дальнейших исследований. Необходима идентификация новых генов-мишеней, связанных с восприимчивостью к заболеваниям, для расширения спектра устойчивых к патогенам линий кур. Требуется развитие методов для более сложных геномных модификаций, включая вставку больших фрагментов ДНК и множественные одновременные редактирования. Важным аспектом является также решение регуляторных и этических вопросов, связанных с использованием животных с измененным геномом в производстве продуктов питания.

Споры об использовании животных с отредактированным геномом в пищевой промышленности продолжают, технология действительно требует доработки в плане уменьшения непредсказуемых нецелевых эффектов и разработки систем контроля биобезопасности. Однако

накопленные научные данные свидетельствуют о том, что редактирование генома кур, в отличие от переноса чужеродных генов в геном, имеет значительный потенциал для улучшения благополучия животных, снижения использования фармацевтических препаратов в птицеводстве и создания новых биотехнологических платформ.

CHICKEN GENOME EDITING: MODERN TECHNOLOGIES, ACHIEVEMENTS, AND PROSPECTS FOR APPLICATION IN AGRICULTURE AND BIOMEDICINE

Krutikova A.A.* – PhD, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Plemyashov K.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Rector (ORCID 0000-0002-3658-5886)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anntim2575@mail.ru

ABSTRACT

Animal genome editing, particularly in chickens, is a rapidly developing field of biotechnology with significant implications for agriculture, fundamental science, and medical research. The domestic chicken is a model animal in immunology, embryology, and infectious diseases. The advent of modern gene editing technologies, including the CRISPR/Cas9 system, TALENs, and homologous recombination, has opened new possibilities for precise modification of the chicken genome. Chicken genome editing technologies are demonstrating rapid progress between 2019 and 2025, spanning both breeding and conservation applications, opening new prospects in several areas simultaneously. From a practical perspective, breeders have gained the opportunity to create poultry with increased resistance to common infections. Equally important is the application of genome editing methods to address conservation issues. Cryopreservation of primordial germ cells from rare and

endangered chicken breeds allows for the preservation of a full set of genetic information—including mitochondrial DNA and the W chromosome, unique to females—that is inaccessible when freezing sperm alone. Hungarian colleagues have created a functioning cryobank of six national breeds with engraftment rates of up to 100%. These technologies have successfully restored several endangered chicken breeds in China and Japan. This combination of applied and conservation aspects makes avian genome editing technologies a promising area of modern biotechnology. This paper presents a comprehensive analysis of the current state of avian genome editing technologies, examining the main approaches to genetic modification, including work with primordial germ cells, the use of viral vectors, and direct embryo editing. Particular attention is given to advances in the creation of pathogen-resistant chicken lines, the development of gene knockout models for studying their functions, and the development of biotechnological systems to produce therapeutic proteins. The prospects for using genetically modified chickens in biomedical research and the production of biopharmaceuticals are analysed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Abu-Bonsrah K. D. CRISPR/Cas9 targets chicken embryonic somatic cells in vitro and in vivo and generates phenotypic abnormalities / K. D. Abu-Bonsrah, D. Zhang, D. F. Newgreen // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 34524. DOI: 10.1038/srep34524. URL: <https://doi.org/10.1038/srep34524>.
2. Arakawa H. Immunoglobulin gene conversion: insights from bursal B cells and the DT40 cell line / H. Arakawa, J. M. Buerstedde // *Developmental Dynamics*. – 2004. – Vol. 229, № 3. – P. 458–464. DOI: 10.1002/dvdy.20003, URL: <https://doi.org/10.1002/dvdy.20003>.
3. Bai Y. Efficient genome editing in chicken DF-1 cells using the CRISPR/Cas9 system / Y. Bai, L. He, P. Li, K. Xu, S. Shao, C. Ren, Z. Liu, Z. Wei // *G3: Genes, Genomes, Genetics*. – 2016. – Vol. 6, № 4. – P. 917–

923. DOI: 10.1534/g3.115.026102, URL: <https://doi.org/10.1534/g3.115.026102>.
4. Ballantyne M. Direct allele introgression into pure chicken breeds using Sire Dam Surrogate (SDS) mating / M. Ballantyne, M. Woodcock, D. Doddamani, T. Hu, L. Taylor, R. J. Hawken, M. J. McGrew // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 659. DOI: 10.1038/s41467-020-20812-x, URL: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20812-x>.
5. Barnard R. J. Avian sarcoma and leukosis virus-receptor interactions: from classical genetics to novel insights into virus-cell membrane fusion / R. J. Barnard, D. Elleder, J. A. Young // *Virology*. – 2006. – Vol. 344, № 1. – P. 25–29. DOI: 10.1016/j.virol.2005.09.006, URL: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.006>.
6. Bell E. J. Replication-competent retroviral vectors for expressing genes in avian cells in vitro and in vivo / E. J. Bell, P. M. Brickell // *Molecular Biotechnology*. – 1997. – Vol. 7, № 3. – P. 289–298. DOI: 10.1007/BF02787935, URL: <https://doi.org/10.1007/BF02787935>.
7. Buerstedde J. M. Light chain gene conversion continues at high rate in an ALV-induced cell line / J. M. Buerstedde, C. A. Reynaud, E. H. Humphries, W. Olson, D. L. Ewert, J. C. Weill // *The EMBO Journal*. – 1990. – Vol. 9, № 3. – P. 921–927. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08103.x, URL: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08103.x>.
8. Burt D. W. Emergence of the chicken as a model organism: implications for agriculture and biology / D. W. Burt // *Poultry Science*. – 2007. – Vol. 86, № 7. – P. 1460–1471. DOI: 10.1093/ps/86.7.1460, URL: <https://doi.org/10.1093/ps/86.7.1460>.
9. Ching K. H. Chickens with humanized immunoglobulin genes generate antibodies with high affinity and broad epitope coverage to conserved targets / K. H. Ching, E. J. Collarini, Y. N. Abdiche, D. Bedinger, D. Pedersen, S. Izquierdo, W. Harriman, S. Kusugal, D. Reilly, K. Lewis, J. Lutz, A. C. Lim, R. Etches, M. C. Van De Lavoie, A. Thiel, B. Harriman, P. A. Leighton // *mAbs*. – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. 71–80. DOI: 10.1080/19420862.2017.1389365, URL: <https://doi.org/10.1080/19420862.2017.1389365>.
10. Dimitrov L. Germline gene editing in chickens by efficient CRISPR-mediated homologous recombination in primordial germ cells / L. Dimitrov, D. Pedersen, K. H. Ching, H. Yi, E. J. Collarini, S. Izquierdo, M. C. Van De Lavoie, P. A. Leighton // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, № 5. – Art. e0154303. DOI: 10.1371/journal.pone.0154303, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154303>.
11. EFSA, ECDC. The European Union One Health 2024 Zoonoses Report / EFSA, ECDC // *EFSA Journal*. – 2024. – Vol. 22, № 12. – Art. e9106. DOI: 10.2903/j.efsa.2024.9106, URL: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>.
12. Ezaki R. Transcription activator-like effector nuclease-mediated deletion safely eliminates the major egg allergen ovomucoid in chickens / R. Ezaki, T. Sakuma, D. Kodama, T. Mukae, K. Yoshii, T. Takahama, T. Yamamoto, I. Oishi // *Food and Chemical Toxicology*. – 2023. – Vol. 175. – Art. 113703. DOI: 10.1016/j.fct.2023.113703, URL: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113703>.
13. Fadly A. M. Isolation and identification of avian leukosis viruses: a review / A. M. Fadly // *Avian Pathology*. – 2000. – Vol. 29, № 6. – P. 529–535. DOI: 10.1080/03079450020016808, URL: <https://doi.org/10.1080/03079450020016808>.
14. Foster D. Development of a spontaneously immortalized chicken embryo fibroblastic cell line / D. Foster // *Virology*. – 1998. – Vol. 248, № 2. – P. 305–311. DOI: 10.1006/viro.1998.9273, URL: <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9273>.
15. Fujimoto T. Observations of the primordial germ cells in blood samples from the chick embryo / T. Fujimoto, T. Ninomiya, A. Ukeshima // *Developmental Biology*. – 1976. – Vol. 49, № 2. – P. 278–282. DOI: 10.1016/0012-1606(76)90208-0, URL: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(76\)90208-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(76)90208-0).
16. Gaj T. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering / T. Gaj, C. A. Gersbach, C. F. Barbas III //

- Trends in Biotechnology. – 2013. – Vol. 31, № 7. – P. 397–405. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004, URL: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>.
17. Gandhi S. Optimization of CRISPR/Cas9 genome editing for loss-of-function in the early chick embryo / S. Gandhi, M. L. Piacentino, F. M. Vicceli, M. E. Bronner // *Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 432, № 1. – P. 86–97. DOI: 10.1016/j.ydbio.2017.09.027, URL: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.09.027>.
18. Garg S. Human infections with highly pathogenic avian influenza A(H5N1) viruses in the United States from March 2024 to May 2025 / S. Garg, A. L. Garg, T. Surie, et al. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2025. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12477757/>.
19. Guan D. Genetic regulation of gene expression across multiple tissues in chickens / D. Guan, Y. Hou, D. Zou, et al. // *Nature Genetics*. – 2025. – Vol. 57. – P. 606–622. DOI: 10.1038/s41588-025-02155-9, URL: <https://doi.org/10.1038/s41588-025-02155-9>.
20. Hou Y. The ChickenGTEEx portal: a pan-tissue catalogue of regulatory variants shaping transcriptomic and phenotypic diversity / Y. Hou, D. Zou, Q. Chu, et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2025. – Art. gkaf731. DOI: 10.1093/nar/gkaf731, URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf731>.
21. Idoko-Akoh A. Creating resistance to avian influenza infection through genome editing of the ANP32 gene family / A. Idoko-Akoh, D. H. Goldhill, C. M. Sheppard, D. Bialy, J. L. Quantrell, K. Sukhova, J. C. Brown, S. Richardson, C. Campbell, L. Taylor, A. Sherman, S. Nazki, J. S. Long, M. A. Skinner, H. Shelton, H. M. Sang, W. S. Barclay, M. J. McGrew // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 6136. DOI: 10.1038/s41467-023-41476-3, URL: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41476-3>.
22. International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution / International Chicken Genome Sequencing Consortium // *Nature*. – 2004. – Vol. 432, № 7018. – P. 695–716. DOI: 10.1038/nature03154, URL: <https://doi.org/10.1038/nature03154>.
23. Jinek M. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity / M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna, E. Charpentier // *Science*. – 2012. – Vol. 337, № 6096. – P. 816–821. DOI: 10.1126/science.1225829, URL: <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.
24. June Byun S. Transgenic chickens expressing the 3D8 single chain variable fragment protein suppress avian influenza transmission / S. June Byun, S. S. Yuk, Y. J. Jang, H. Choi, M. H. Jeon, T. Erdene-Ochir, B. Y. Yun, J. K. Oem, Y. J. Kim, H. Kim // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – Art. 5938. DOI: 10.1038/s41598-017-06206-3, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06206-3>.
25. Kang K. S. Spatial and temporal action of chicken primordial germ cells during initial migration / K. S. Kang, H. C. Lee, H. J. Kim, H. G. Lee, Y. M. Kim, H. J. Lee, Y. H. Park, J. Y. Shin, H. Kim, J. T. Do, C. Park, J. H. Kim, J. Y. Han // *Reproduction*. – 2015. – Vol. 149, № 2. – P. 179–187. DOI: 10.1530/REP-14-0420, URL: <https://doi.org/10.1530/REP-14-0420>.
26. Kim J. N. Migration and proliferation of intact and genetically modified primordial germ cells and the generation of a transgenic chicken / J. N. Kim, T. S. Park, S. H. Park, K. J. Park, T. M. Kim, S. K. Lee, J. M. Lim, J. Y. Han // *Biology of Reproduction*. – 2010. – Vol. 82, № 2. – P. 257–262. DOI: 10.1095/biolreprod.109.079095, URL: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.079095>.
27. Kim G. D. Generation of myostatin-knockout chickens mediated by D10A-Cas9 nickase / G. D. Kim, J. H. Lee, S. Song, S. W. Kim, J. S. Han, S. P. Shin, B. C. Park, T. S. Park // *FASEB Journal*. – 2020. – Vol. 34, № 4. – P. 5688–5696. DOI: 10.1096/fj.201903035R, URL: <https://doi.org/10.1096/fj.201903035R>.
28. Klucking S. Resistance to infection by subgroups B, D, and E avian sarcoma and leukosis viruses is explained by a premature stop codon within a resistance allele of the

- tvb receptor gene / S. Klucking, H. B. Adkins, J. A. Young // *Journal of Virology*. – 2002. – Vol. 76, № 15. – P. 7918–7921. DOI: 10.1128/JVI.76.15.7918-7921.2002, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.76.15.7918-7921.2002>.
29. Koslová A. Knock-Out of Retrovirus Receptor Gene TVA in the Chicken Confers Resistance to Avian Leukosis Virus Subgroups A and K and Affects Cobalamin (Vitamin B12)-Dependent Level of Methylmalonic Acid / A. Koslová, P. Trefil, J. Mucksová, J. Reinišová, B. Dvořák, J. Plachý, D. Kučerová, Z. Geryk, J. Kalina, D. Elleder, J. Hejnar // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13, № 12. – Art. 2504. DOI: 10.3390/v13122504, URL: <https://doi.org/10.3390/v13122504>.
30. Kučerová D. Nonconserved tryptophan 38 of the cell surface receptor for subgroup J avian leukosis virus discriminates sensitive from resistant avian species / D. Kučerová, J. Plachý, M. Reinišová, F. Šenigl, K. Trejbalová, J. Geryk, J. Hejnar // *Journal of Virology*. – 2013. – Vol. 87, № 15. – P. 8399–8407. DOI: 10.1128/JVI.00869-13, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.00869-13>.
31. Lee J. Generation of genome-edited chicken and duck lines by adenovirus-mediated in vivo genome editing / J. Lee, D. H. Kim, M. C. Karolak, S. Shin, K. Lee // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. – 2022. – Vol. 119, № 45. – Art. e2214344119. DOI: 10.1073/pnas.2214344119, URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.2214344119>.
32. Lee H. J. Precise gene editing of chicken Na⁺/H⁺ exchange type 1 (chNHE1) confers resistance to avian leukosis virus subgroup J (ALV-J) / H. J. Lee, K. Y. Lee, K. M. Jung, K. J. Park, K. O. Lee, J. Y. Suh, Y. Yao, V. Nair, J. Y. Han // *Developmental & Comparative Immunology*. – 2017. – Vol. 77. – P. 340–349. DOI: 10.1016/j.dci.2017.08.016, URL: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.08.016>.
33. Lee H. J. Acquisition of resistance to avian leukosis virus subgroup B through mutations on tvb cysteine-rich domains in DF-1 chicken fibroblasts / H. J. Lee, K. Y. Lee, Y. H. Park, H. J. Choi, Y. Yao, V. Nair, J. Y. Han // *Veterinary Research*. – 2017. – Vol. 48. – Art. 48. DOI: 10.1186/s13567-017-0454-1, URL: <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0454-1>.
34. Lee J. H. CXC chemokine receptor type 4 (CXCR4) is a key receptor for chicken primordial germ cell migration / J. H. Lee, J. W. Park, S. W. Kim, J. Park, T. S. Park // *Journal of Reproduction and Development*. – 2017. – Vol. 63, № 6. – P. 555–562. DOI: 10.1262/jrd.2017-074, URL: <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-074>.
35. Love J. Transgenic birds by DNA microinjection / J. Love, C. Gribbin, C. Mather, H. Sang // *Bio/Technology*. – 1994. – Vol. 12. – P. 60–63. DOI: 10.1038/nbt0194-60, URL: <https://doi.org/10.1038/nbt0194-60>.
36. Lyall J. Suppression of avian influenza transmission in genetically modified chickens / J. Lyall, R. M. Irvine, A. Sherman, T. J. McKinley, A. Núñez, A. Purdie, L. Oakes, S. Ravipati, I. H. Brown, G. Rolleston-Smith, H. M. Sang, L. Tiley // *Science*. – 2011. – Vol. 331, № 6014. – P. 223–226. DOI: 10.1126/science.1198020, URL: <https://doi.org/10.1126/science.1198020>.
37. Matoušková M. Rapid adaptive evolution of avian leukosis virus subgroup J in response to biotechnologically induced host resistance / M. Matoušková, J. Plachý, D. Kučerová, E. Pecnová, M. Reinišová, J. Geryk, J. Hejnar // *PLoS Pathogens*. – 2024. – Vol. 20, № 8. – Art. e1012468. DOI: 10.1371/journal.ppat.1012468, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012468>.
38. McGrew M. J. Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors / M. J. McGrew, A. Sherman, F. M. Ellard, S. G. Lillico, H. J. Gilhooley, A. J. Kingsman, K. A. Mitrophanous, H. Sang // *EMBO Reports*. – 2004. – Vol. 5, № 7. – P. 728–733. DOI: 10.1038/sj.embor.7400181, URL: <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400181>.
39. Mukae T. Production and characterization of eggs from hens with ovomucoid gene mutation / T. Mukae, K. Yoshii, T. Watanobe, T. Tagami, I. Oishi // *Poultry Science*. – 2021. – Vol. 100, № 1. – P. 452–460. DOI: 10.1016/j.psj.2020.09.088, URL: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.088>.

40. Nakamura Y. Germline replacement by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken / Y. Nakamura, F. Usui, T. Ono, K. Takeda, K. Nirasawa, H. Kagami, T. Tagami // *Biology of Reproduction*. – 2010. – Vol. 83, № 1. – P. 130–137. DOI: 10.1095/biolreprod.109.082537, URL: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.082537>.
41. Oishi I. Efficient production of human interferon beta in the white of eggs from ovalbumin gene-targeted hens / I. Oishi, K. Yoshii, D. Miyahara, T. Tagami // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – Art. 10203. DOI: 10.1038/s41598-018-28478-2, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28478-2>.
42. Oishi I. Targeted mutagenesis in chicken using CRISPR/Cas9 system / I. Oishi, K. Yoshii, D. Miyahara, H. Kagami, T. Tagami // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 23980. DOI: 10.1038/srep23980, URL: <https://doi.org/10.1038/srep23980>.
43. Petersen E. Mortality of H5N1 human infections might be due to H5N1 virus pneumonia and could decrease by switching receptor / E. Petersen, N. Lee, I. J. Sikkema, S. Peiris, G. M. Ippolito, N. Beeching, A. Zumla // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 24, № 9. – P. e527–e528. DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00460-2, URL: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00460-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00460-2).
44. Reinisová M. A single-amino-acid substitution in the TvbS1 receptor results in decreased susceptibility to infection by avian sarcoma and leukosis virus subgroups B and D and resistance to infection by subgroup E in vitro and in vivo / M. Reinisová, F. Senigl, X. Yin, J. Plachy, J. Geryk, D. Elleder, J. Hejnar // *Journal of Virology*. – 2008. – Vol. 82, № 4. – P. 2097–2105. DOI: 10.1128/JVI.01995-07, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.01995-07>.
45. Reuter A. Antiviral activity of lambda interferon in chickens / A. Reuter, S. Soubies, S. Härtle, B. Schusser, B. Kaspers, P. Staeheli, T. C. Mettenleiter // *Journal of Virology*. – 2014. – Vol. 88, № 5. – P. 2835–2843. DOI: 10.1128/JVI.03360-13, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.03360-13>.
46. Salter D. W. Transgenic chickens: insertion of retroviral genes into the chicken germ line / D. W. Salter, E. J. Smith, S. H. Hughes, S. E. Wright, L. B. Crittenden // *Virology*. – 1987. – Vol. 157, № 1. – P. 236–240. DOI: 10.1016/0042-6822(87)90332-1, URL: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90332-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90332-1).
47. Schusser B. Immunoglobulin knockout chickens via efficient homologous recombination in primordial germ cells / B. Schusser, E. J. Collarini, H. Yi, S. Izquierdo, J. Fesler, D. Pedersen, W. D. Harriman, M. C. Van De Lavoie, R. J. Etches // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2013. – Vol. 110, № 50. – P. 20170–20175. DOI: 10.1073/pnas.1312715110, URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.1312715110>.
48. Schusser B. Expression of heavy chain-only antibodies can support B-cell development in light chain knockout chickens / B. Schusser, E. J. Collarini, D. Pedersen, H. Yi, K. H. Ching, S. Izquierdo, A. L. Thuckava Doss, W. Harriman, M. C. Van De Lavoie, R. J. Etches // *European Journal of Immunology*. – 2016. – Vol. 46, № 9. – P. 2137–2148. DOI: 10.1002/eji.201646402, URL: <https://doi.org/10.1002/eji.201646402>.
49. Schusser B. Mx is dispensable for interferon-mediated resistance of chicken cells against influenza A virus / B. Schusser, A. Reuter, A. Von Der Malsburg, N. Penski, S. Weigend, B. Kaspers, S. Härtle, P. Staeheli, P. M. Schneider // *Journal of Virology*. – 2011. – Vol. 85, № 16. – P. 8307–8315. DOI: 10.1128/JVI.00521-11, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.00521-11>.
50. Stern C. D. The chick: a great model system becomes even greater / C. D. Stern // *Developmental Cell*. – 2005. – Vol. 8, № 1. – P. 9–17. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.11.018, URL: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.11.018>.
51. Taylor L. Efficient TALEN-mediated gene targeting of chicken primordial germ cells / L. Taylor, D. F. Carlson, S. Nandi, A. Sherman, S. C. Fahrenkrug, M. J. McGrew // *Development*. – 2017. – Vol. 144, № 5. – P. 928–934. DOI: 10.1242/dev.145367, URL: <https://doi.org/10.1242/dev.145367>.
52. Trefil P. Male fertility restored by trans-

- planting primordial germ cells into testes: a new way towards efficient transgenesis in chicken / P. Trefil, D. Aumann, A. Koslová, J. Mucksová, B. Benešová, J. Kalina, C. Wurmser, R. Fries, D. Elleder, B. Schusser, J. Hejnar // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – Art. 14246. DOI: 10.1038/s41598-017-14526-2, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14526-2>.
53. Van De Lavoie M. C. Germline transmission of genetically modified primordial germ cells / M. C. Van De Lavoie, J. H. Diamond, P. A. Leighton, C. Mather-Love, B. S. Heyer, R. Bradshaw, A. Kerchner, L. T. Hooi, T. M. Gessaro, S. E. Swanberg, M. E. Delany, R. J. Etches // *Nature*. – 2006. – Vol. 441, № 7094. – P. 766–769. DOI: 10.1038/nature04831, URL: <https://doi.org/10.1038/nature04831>.
54. Wernery U. Primordial germ cell-mediated chimera technology produces viable pure-line Houbara bustard offspring: potential for repopulating an endangered species / U. Wernery, C. Liu, V. Baskar, Z. Guerineche, K. A. Khazanehdari, S. Saleem, J. Kinne, R. Wernery, D. K. Griffin, I. K. Chang // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5, № 12. – Art. e15824. DOI: 10.1371/journal.pone.0015824, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015824>.
55. Whyte J. FGF, insulin, and SMAD signaling cooperate for avian primordial germ cell self-renewal / J. Whyte, J. D. Glover, M. Woodcock, J. Brzeszczynska, L. Taylor, A. Sherman, P. Kaiser, M. J. McGrew // *Stem Cell Reports*. – 2015. – Vol. 5, № 6. – P. 1171–1182. DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.10.015, URL: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.10.015>.
56. Wilson N. H. In ovo electroporation of miRNA-based plasmids in the developing neural tube and assessment of phenotypes by DiI injection in open-book preparations / N. H. Wilson, E. T. Stoeckli // *Journal of Visualized Experiments*. – 2012. – № 68. – Art. 4384. DOI: 10.3791/4384, URL: <https://doi.org/10.3791/4384>.
57. Ветох А. Н. Создание систем редактирования генома на основе CRISPR-Cas9 для нокаута генов FGF20 и HR в эмбриональных и генеративных клетках кур и перепелов / А. Н. Ветох, П. В. Сергиев, М. П. Рубцова, Н. А. Волкова, Е. К. Томгорова, Л. А. Волкова, Н. А. Зиновьева // *Сельскохозяйственная биология*. – 2021. – Т. 56, № 6. – С. 1099–1110. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.6.1099rus, URL: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.6.1099rus>.
58. Крутикова А. А. Способ получения примордиальных половых клеток птиц / А. А. Крутикова, Г. К. Пегливанян : патент РФ 2832977 С1. Заявка № 2024110980 от 22.04.2024. – Оpubл. 13.01.2025. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2832977C1/ru>.

REFERENCES

1. Abu-Bonsrah K. D. CRISPR/Cas9 targets chicken embryonic somatic cells in vitro and in vivo and generates phenotypic abnormalities / K. D. Abu-Bonsrah, D. Zhang, D. F. Newgreen // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 34524. DOI: 10.1038/srep34524. URL: <https://doi.org/10.1038/srep34524>.
2. Arakawa H. Immunoglobulin gene conversion: insights from bursal B cells and the DT40 cell line / H. Arakawa, J. M. Buerstedde // *Developmental Dynamics*. – 2004. – Vol. 229, No. 3. – P. 458–464. DOI: 10.1002/dvdy.20003, URL: <https://doi.org/10.1002/dvdy.20003>.
3. Bai Y. Efficient genome editing in chicken DF-1 cells using the CRISPR/Cas9 system / Y. Bai, L. He, P. Li, K. Xu, S. Shao, C. Ren, Z. Liu, Z. Wei // *G3: Genes, Genomes, Genetics*. – 2016. – Vol. 6, No. 4. – P. 917–923. DOI: 10.1534/g3.115.026102, URL: <https://doi.org/10.1534/g3.115.026102>.
4. Ballantyne M. Direct allele introgression into pure chicken breeds using Sire Dam Surrogate (SDS) mating / M. Ballantyne, M. Woodcock, D. Doddamani, T. Hu, L. Taylor, R. J. Hawken, M. J. McGrew // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 659. DOI: 10.1038/s41467-020-20812-x, URL: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20812-x>.
5. Barnard R. J. Avian sarcoma and leukosis virus-receptor interactions: from classical genetics to novel insights into virus-cell

- membrane fusion / R. J. Barnard, D. Elleder, J. A. Young // *Virology*. – 2006. – Vol. 344, No. 1. – P. 25–29. DOI: 10.1016/j.virol.2005.09.006, URL: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.006>.
6. Bell E. J. Replication-competent retroviral vectors for expressing genes in avian cells in vitro and in vivo / E. J. Bell, P. M. Brickell // *Molecular Biotechnology*. – 1997. – Vol. 7, No. 3. – P. 289–298. DOI: 10.1007/BF02787935, URL: <https://doi.org/10.1007/BF02787935>.
7. Buerstedde J. M. Light chain gene conversion continues at high rate in an ALV-induced cell line / J. M. Buerstedde, C. A. Reynaud, E. H. Humphries, W. Olson, D. L. Ewert, J. C. Weill // *The EMBO Journal*. – 1990. – Vol. 9, No. 3. – P. 921–927. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08103.x, URL: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08103.x>.
8. Burt D. W. Emergence of the chicken as a model organism: implications for agriculture and biology / D. W. Burt // *Poultry Science*. – 2007. – Vol. 86, No. 7. – P. 1460–1471. DOI: 10.1093/ps/86.7.1460, URL: <https://doi.org/10.1093/ps/86.7.1460>.
9. Ching K. H. Chickens with humanized immunoglobulin genes generate antibodies with high affinity and broad epitope coverage to conserved targets / K. H. Ching, E. J. Collarini, Y. N. Abdiche, D. Bedinger, D. Pedersen, S. Izquierdo, W. Harriman, S. Kusugal, D. Reilly, K. Lewis, J. Lutz, A. C. Lim, R. Etches, M. C. Van De Lavoie, A. Thiel, B. Harriman, P. A. Leighton // *mAbs*. – 2018. – Vol. 10, No. 1. – P. 71–80. DOI: 10.1080/19420862.2017.1389365, URL: <https://doi.org/10.1080/19420862.2017.1389365>.
10. Dimitrov L. Germline gene editing in chickens by efficient CRISPR-mediated homologous recombination in primordial germ cells / L. Dimitrov, D. Pedersen, K. H. Ching, H. Yi, E. J. Collarini, S. Izquierdo, M. C. Van De Lavoie, P. A. Leighton // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, No. 5. – Art. e0154303. DOI: 10.1371/journal.pone.0154303, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154303>.
11. EFSA, ECDC. The European Union One Health 2024 Zoonoses Report / EFSA, ECDC // *EFSA Journal*. – 2024. – Vol. 22, No. 12. – Art. e9106. DOI: 10.2903/j.efsa.2024.9106, URL: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>.
12. Ezaki R. Transcription activator-like effector nuclease-mediated deletion safely eliminates the major egg allergen ovomucoid in chickens / R. Ezaki, T. Sakuma, D. Kodama, T. Mukae, K. Yoshii, T. Takahama, T. Yamamoto, I. Oishi // *Food and Chemical Toxicology*. – 2023. – Vol. 175. – Art. 113703. DOI: 10.1016/j.fct.2023.113703, URL: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113703>.
13. Fadly A. M. Isolation and identification of avian leukosis viruses: a review / A. M. Fadly // *Avian Pathology*. – 2000. – Vol. 29, No. 6. – P. 529–535. DOI: 10.1080/03079450020016808, URL: <https://doi.org/10.1080/03079450020016808>.
14. Foster D. Development of a spontaneously immortalized chicken embryo fibroblastic cell line / D. Foster // *Virology*. – 1998. – Vol. 248, No. 2. – P. 305–311. DOI: 10.1006/viro.1998.9273, URL: <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9273>.
15. Fujimoto T. Observations of the primordial germ cells in blood samples from the chick embryo / T. Fujimoto, T. Ninomiya, A. Ukeshima // *Developmental Biology*. – 1976. – Vol. 49, No. 2. – P. 278–282. DOI: 10.1016/0012-1606(76)90208-0, URL: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(76\)90208-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(76)90208-0).
16. Gaj T. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering / T. Gaj, C. A. Gersbach, C. F. Barbas III // *Trends in Biotechnology*. – 2013. – Vol. 31, No. 7. – P. 397–405. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004, URL: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>.
17. Gandhi S. Optimization of CRISPR/Cas9 genome editing for loss-of-function in the early chick embryo / S. Gandhi, M. L. Piacentino, F. M. Vieceli, M. E. Bronner // *Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 432, No. 1. – P. 86–97. DOI: 10.1016/j.ydbio.2017.09.027, URL: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.09.027>.
18. Garg S. Human infections with highly

- pathogenic avian influenza A(H5N1) viruses in the United States from March 2024 to May 2025 / S. Garg, A. L. Garg, T. Surie, et al. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2025. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12477757/>.
19. Guan D. Genetic regulation of gene expression across multiple tissues in chickens / D. Guan, Y. Hou, D. Zou, et al. // *Nature Genetics*. – 2025. – Vol. 57. – P. 606–622. DOI: 10.1038/s41588-025-02155-9, URL: <https://doi.org/10.1038/s41588-025-02155-9>.
20. Hou Y. The ChickenGTEx portal: a pan-tissue catalog of regulatory variants shaping transcriptomic and phenotypic diversity / Y. Hou, D. Zou, Q. Chu, et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2025. – Art. gkaf731. DOI: 10.1093/nar/gkaf731, URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf731>.
21. Idoko-Akoh A. Creating resistance to avian influenza infection through genome editing of the ANP32 gene family / A. Idoko-Akoh, D. H. Goldhill, C. M. Sheppard, D. Bialy, J. L. Quantrell, K. Sukhova, J. C. Brown, S. Richardson, C. Campbell, L. Taylor, A. Sherman, S. Nazki, J. S. Long, M. A. Skinner, H. Shelton, H. M. Sang, W. S. Barclay, M. J. McGrew // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 6136. DOI: 10.1038/s41467-023-41476-3, URL: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41476-3>.
22. International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution / International Chicken Genome Sequencing Consortium // *Nature*. – 2004. – Vol. 432, No. 7018. – P. 695–716. DOI: 10.1038/nature03154, URL: <https://doi.org/10.1038/nature03154>.
23. Jinek M. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity / M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna, E. Charpentier // *Science*. – 2012. – Vol. 337, No. 6096. – P. 816–821. DOI: 10.1126/science.1225829, URL: <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.
24. June Byun S. Transgenic chickens expressing the 3D8 single chain variable fragment protein suppress avian influenza transmission / S. June Byun, S. S. Yuk, Y. J. Jang, H. Choi, M. H. Jeon, T. Erdene-Ochir, B. Y. Yun, J. K. Oem, Y. J. Kim, H. Kim // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – Art. 5938. DOI: 10.1038/s41598-017-06206-3, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06206-3>.
25. Kang K. S. Spatial and temporal action of chicken primordial germ cells during initial migration / K. S. Kang, H. C. Lee, H. J. Kim, H. G. Lee, Y. M. Kim, H. J. Lee, Y. H. Park, J. Y. Shin, H. Kim, J. T. Do, C. Park, J. H. Kim, J. Y. Han // *Reproduction*. – 2015. – Vol. 149, No. 2. – P. 179–187. DOI: 10.1530/REP-14-0420, URL: <https://doi.org/10.1530/REP-14-0420>.
26. Kim J. N. Migration and proliferation of intact and genetically modified primordial germ cells and the generation of a transgenic chicken / J. N. Kim, T. S. Park, S. H. Park, K. J. Park, T. M. Kim, S. K. Lee, J. M. Lim, J. Y. Han // *Biology of Reproduction*. – 2010. – Vol. 82, No. 2. – P. 257–262. DOI: 10.1095/biolreprod.109.079095, URL: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.079095>.
27. Kim G. D. Generation of myostatin-knockout chickens mediated by D10A-Cas9 nickase / G. D. Kim, J. H. Lee, S. Song, S. W. Kim, J. S. Han, S. P. Shin, B. C. Park, T. S. Park // *FASEB Journal*. – 2020. – Vol. 34, No. 4. – P. 5688–5696. DOI: 10.1096/fj.201903035R, URL: <https://doi.org/10.1096/fj.201903035R>.
28. Klucking S. Resistance to infection by subgroups B, D, and E avian sarcoma and leukosis viruses is explained by a premature stop codon within a resistance allele of the tvb receptor gene / S. Klucking, H. B. Adkins, J. A. Young // *Journal of Virology*. – 2002. – Vol. 76, No. 15. – P. 7918–7921. DOI: 10.1128/JVI.76.15.7918-7921.2002, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.76.15.7918-7921.2002>.
29. Koslová A. Knock-Out of Retrovirus Receptor Gene TVA in the Chicken Confers Resistance to Avian Leukosis Virus Subgroups A and K and Affects Cobalamin (Vitamin B12)-Dependent Level of Methylmalonic Acid / A. Koslová, P. Trefil, J. Mucksová, J. Reinišová, B. Dvořák, J.

- Plachý, D. Kučerová, Z. Geryk, J. Kalina, D. Elleder, J. Hejnar // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13, No. 12. – Art. 2504. DOI: 10.3390/v13122504, URL: <https://doi.org/10.3390/v13122504>.
30. Kučerová D. Nonconserved tryptophan 38 of the cell surface receptor for subgroup J avian leukosis virus discriminates sensitive from resistant avian species / D. Kučerová, J. Plachý, M. Reinišová, F. Šenigl, K. Trejbalová, J. Geryk, J. Hejnar // *Journal of Virology*. – 2013. – Vol. 87, No. 15. – P. 8399–8407. DOI: 10.1128/JVI.00869-13, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.00869-13>.
31. Lee J. Generation of genome-edited chicken and duck lines by adenovirus-mediated in vivo genome editing / J. Lee, D. H. Kim, M. C. Karolak, S. Shin, K. Lee // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. – 2022. – Vol. 119, No. 45. – Art. e2214344119. DOI: 10.1073/pnas.2214344119, URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.2214344119>.
32. Lee H. J. Precise gene editing of chicken Na⁺/H⁺ exchange type 1 (chNHE1) confers resistance to avian leukosis virus subgroup J (ALV-J) / H. J. Lee, K. Y. Lee, K. M. Jung, K. J. Park, K. O. Lee, J. Y. Suh, Y. Yao, V. Nair, J. Y. Han // *Developmental & Comparative Immunology*. – 2017. – Vol. 77. – P. 340–349. DOI: 10.1016/j.dci.2017.08.016, URL: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.08.016>.
33. Lee H. J. Acquisition of resistance to avian leukosis virus subgroup B through mutations on tvb cysteine-rich domains in DF-1 chicken fibroblasts / H. J. Lee, K. Y. Lee, Y. H. Park, H. J. Choi, Y. Yao, V. Nair, J. Y. Han // *Veterinary Research*. – 2017. – Vol. 48. – Art. 48. DOI: 10.1186/s13567-017-0454-1, URL: <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0454-1>.
34. Lee J. H. CXCR4 chemokine receptor type 4 (CXCR4) is a key receptor for chicken primordial germ cell migration / J. H. Lee, J. W. Park, S. W. Kim, J. Park, T. S. Park // *Journal of Reproduction and Development*. – 2017. – Vol. 63, No. 6. – P. 555–562. DOI: 10.1262/jrd.2017-074, URL: <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-074>.
35. Love J. Transgenic birds by DNA microinjection / J. Love, C. Gribbin, C. Mather, H. Sang // *Bio/Technology*. – 1994. – Vol. 12. – P. 60–63. DOI: 10.1038/nbt0194-60, URL: <https://doi.org/10.1038/nbt0194-60>.
36. Lyall J. Suppression of avian influenza transmission in genetically modified chickens / J. Lyall, R. M. Irvine, A. Sherman, T. J. McKinley, A. Núñez, A. Purdie, L. Oakes, S. Ravipati, I. H. Brown, G. Rolleston-Smith, H. M. Sang, L. Tiley // *Science*. – 2011. – Vol. 331, No. 6014. – P. 223–226. DOI: 10.1126/science.1198020, URL: <https://doi.org/10.1126/science.1198020>.
37. Matoušková M. Rapid adaptive evolution of avian leukosis virus subgroup J in response to biotechnologically induced host resistance / M. Matoušková, J. Plachý, D. Kučerová, Ľ. Pecnová, M. Reinišová, J. Geryk, J. Hejnar // *PLoS Pathogens*. – 2024. – Vol. 20, No. 8. – Art. e1012468. DOI: 10.1371/journal.ppat.1012468, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012468>.
38. McGrew M. J. Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors / M. J. McGrew, A. Sherman, F. M. Ellard, S. G. Lillico, H. J. Gilhooley, A. J. Kingsman, K. A. Mitrophanous, H. Sang // *EMBO Reports*. – 2004. – Vol. 5, No. 7. – P. 728–733. DOI: 10.1038/sj.embor.7400181, URL: <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400181>.
39. Mukae T. Production and characterization of eggs from hens with ovomucoid gene mutation / T. Mukae, K. Yoshii, T. Watanobe, T. Tagami, I. Oishi // *Poultry Science*. – 2021. – Vol. 100, No. 1. – P. 452–460. DOI: 10.1016/j.psj.2020.09.088, URL: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.088>.
40. Nakamura Y. Germline replacement by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken / Y. Nakamura, F. Usui, T. Ono, K. Takeda, K. Nirasawa, H. Kagami, T. Tagami // *Biology of Reproduction*. – 2010. – Vol. 83, No. 1. – P. 130–137. DOI: 10.1095/biolreprod.109.082537, URL: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.082537>.
41. Oishi I. Efficient production of human interferon beta in the white of eggs from ovalbumin gene-targeted hens / I. Oishi, K. Yoshii, D. Miyahara, T. Tagami // *Scientific*

- Reports. – 2018. – Vol. 8. – Art. 10203. DOI: 10.1038/s41598-018-28478-2, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28478-2>.
42. Oishi I. Targeted mutagenesis in chicken using CRISPR/Cas9 system / I. Oishi, K. Yoshii, D. Miyahara, H. Kagami, T. Tagami // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 23980. DOI: 10.1038/srep23980, URL: <https://doi.org/10.1038/srep23980>.
43. Petersen E. Mortality of H5N1 human infections might be due to H5N1 virus pneumonia and could decrease by switching receptor / E. Petersen, N. Lee, I. J. Sikkema, S. Peiris, G. M. Ippolito, N. Beeching, A. Zumla // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 24, No. 9. – P. e527–e528. DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00460-2, URL: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00460-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00460-2).
44. Reinisová M. A single-amino-acid substitution in the TvbS1 receptor results in decreased susceptibility to infection by avian sarcoma and leukosis virus subgroups B and D and resistance to infection by subgroup E in vitro and in vivo / M. Reinisová, F. Senigl, X. Yin, J. Plachy, J. Geryk, D. Elleder, J. Hejnar // *Journal of Virology*. – 2008. – Vol. 82, No. 4. – P. 2097–2105. DOI: 10.1128/JVI.01995-07, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.01995-07>.
45. Reuter A. Antiviral activity of lambda interferon in chickens / A. Reuter, S. Soubies, S. Härtle, B. Schusser, B. Kaspers, P. Staeheli, T. C. Mettenleiter // *Journal of Virology*. – 2014. – Vol. 88, No. 5. – P. 2835–2843. DOI: 10.1128/JVI.03360-13, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.03360-13>.
46. Salter D. W. Transgenic chickens: insertion of retroviral genes into the chicken germ line / D. W. Salter, E. J. Smith, S. H. Hughes, S. E. Wright, L. B. Crittenden // *Virology*. – 1987. – Vol. 157, No. 1. – P. 236–240. DOI: 10.1016/0042-6822(87)90332-1, URL: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90332-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90332-1).
47. Schusser B. Immunoglobulin knockout chickens via efficient homologous recombination in primordial germ cells / B. Schusser, E. J. Collarini, H. Yi, S. Izquierdo, J. Fesler, D. Pedersen, W. D. Harriman, M. C. Van De Lavoie, R. J. Etches // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2013. – Vol. 110, No. 50. – P. 20170–20175. DOI: 10.1073/pnas.1312715110, URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.1312715110>.
48. Schusser B. Expression of heavy chain-only antibodies can support B-cell development in light chain knockout chickens / B. Schusser, E. J. Collarini, D. Pedersen, H. Yi, K. H. Ching, S. Izquierdo, A. L. Thuckava Doss, W. Harriman, M. C. Van De Lavoie, R. J. Etches // *European Journal of Immunology*. – 2016. – Vol. 46, No. 9. – P. 2137–2148. DOI: 10.1002/eji.201646402, URL: <https://doi.org/10.1002/eji.201646402>.
49. Schusser B. Mx is dispensable for interferon-mediated resistance of chicken cells against influenza A virus / B. Schusser, A. Reuter, A. Von Der Malsburg, N. Penski, S. Weigend, B. Kaspers, S. Härtle, P. Staeheli, P. M. Schneider // *Journal of Virology*. – 2011. – Vol. 85, No. 16. – P. 8307–8315. DOI: 10.1128/JVI.00521-11, URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.00521-11>.
50. Stern C. D. The chick: a great model system becomes even greater / C. D. Stern // *Developmental Cell*. – 2005. – Vol. 8, No. 1. – P. 9–17. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.11.018, URL: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.11.018>.
51. Taylor L. Efficient TALEN-mediated gene targeting of chicken primordial germ cells / L. Taylor, D. F. Carlson, S. Nandi, A. Sherman, S. C. Fahrenkrug, M. J. McGrew // *Development*. – 2017. – Vol. 144, No. 5. – P. 928–934. DOI: 10.1242/dev.145367, URL: <https://doi.org/10.1242/dev.145367>.
52. Trefil P. Male fertility restored by transplanting primordial germ cells into testes: a new way towards efficient transgenesis in chicken / P. Trefil, D. Aumann, A. Koslová, J. Mucksová, B. Benešová, J. Kalina, C. Wurmser, R. Fries, D. Elleder, B. Schusser, J. Hejnar // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – Art. 14246. DOI: 10.1038/s41598-017-14526-2, URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14526-2>.
53. Van De Lavoie M. C. Germline transmission of genetically modified primordial germ cells / M. C. Van De Lavoie, J. H. Diamond, P. A. Leighton, C. Mather-Love, B. S. Hey-

- er, R. Bradshaw, A. Kerchner, L. T. Hooi, T. M. Gessaro, S. E. Swanberg, M. E. Delany, R. J. Etches // *Nature*. – 2006. – Vol. 441, No. 7094. – P. 766–769. DOI: 10.1038/nature04831, URL: <https://doi.org/10.1038/nature04831>.
54. Wernery U. Primordial germ cell-mediated chimera technology produces viable pure-line Houbara bustard offspring: potential for repopulating an endangered species / U. Wernery, C. Liu, V. Baskar, Z. Guerineche, K. A. Khazanehdari, S. Saleem, J. Kinne, R. Wernery, D. K. Griffin, I. K. Chang // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5, No. 12. – Art. e15824. DOI: 10.1371/journal.pone.0015824, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015824>.
55. Whyte J. FGF, insulin, and SMAD signaling cooperate for avian primordial germ cell self-renewal / J. Whyte, J. D. Glover, M. Woodcock, J. Brzeszczynska, L. Taylor, A. Sherman, P. Kaiser, M. J. McGrew // *Stem Cell Reports*. – 2015. – Vol. 5, No. 6. – P. 1171–1182. DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.10.015, URL: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.10.015>.
56. Wilson N. H. In ovo electroporation of miRNA-based plasmids in the developing neural tube and assessment of phenotypes by DiI injection in open-book preparations / N. H. Wilson, E. T. Stoeckli // *Journal of Visualized Experiments*. – 2012. – No. 68. – Art. 4384. DOI: 10.3791/4384, URL: <https://doi.org/10.3791/4384>.
57. Vetokh A. N. Creation of genome editing systems based on CRISPR-Cas9 for knock-out of the FGF20 and HR genes in embryonic and generative cells of chickens and quails / A. N. Vetokh, P. V. Sergiev, M. P. Rubtsova, N. A. Volkova, E. K. Tomgorova, L. A. Volkova, N. A. Zinovieva // *Agricultural biology*. – 2021. – T. 56, No. 6. – P. 1099–1110. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.6.1099rus, URL: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.6.1099rus>.
58. Krutikova A. A. Method for obtaining primordial germ cells of birds / A. A. Krutikova, G. K. Peglivanyan: Russian Federation Patent 2832977 C1. Application No. 2024110980 dated 04.22.2024. – Published 01.13.2025. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2832977C1/ru>.