Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Genome Editing Using the CRISPR–Cas9 System in Lynch Syndrome: From Molecular Insights to Clinical Perspectives

Elena Lak [1], Homayon Yousefi [2], Safa Radmehr [2*]

[1] Alimentary Tract Research Center, Clinical Sciences Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[2] Thalassemia & Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Dec. 13, 2025
Received in revised form: Jan. 31, 2026
Accepted: Feb. 21, 2026
Published Online: May. 26, 2026

**** Correspondence to:***
Safa Radmehr
Thalassemia & Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Email:
safa.radmehr1398@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: Lynch Syndrome, caused by mutations in DNA mismatch repair genes, is the most common inherited cause of colorectal cancer. Despite advances in diagnosis, definitive targeted treatment remains challenging. CRISPR-Cas9 technology and its newer versions, such as base editing and prime editing, have provided new possibilities for precise genome editing. This study aimed to review the applications of these technologies and the challenges facing their clinical use in Lynch syndrome.

Materials & Methods: This narrative review was conducted by searching PubMed, Scopus, Google Scholar, and Web of Science databases between 2010 and 2026. Keywords related to Lynch syndrome, CRISPR-Cas9, microsatellite instability, and genome editing were used. Relevant original articles, systematic reviews, and case reports were included.

Results: Four main areas of application were identified: disease modelling, sensitive diagnosis of microsatellite instability and MMR mutations, direct correction of pathogenic variants in laboratory models, and design of personalised therapy using patient-derived organoids. Major challenges included off-target effects, inefficient delivery of CRISPR components to target tissues (especially colon and endometrium), high mutation diversity, and ethical issues related to germline editing.

Conclusion: CRISPR-Cas9 and its derivatives hold significant potential to transform diagnosis and treatment of Lynch syndrome, but a considerable gap remains before routine clinical application. Bridging this gap requires development of targeted delivery systems, use of high-fidelity Cas9 variants, and formulation of clear ethical and legal frameworks. Combining CRISPR with immunotherapy represents a promising future perspective.

Keywords: Lynch Syndrome, CRISPR-Cas9, Microsatellite Instability, Genome Editing, Personalized Medicine

Cite this paper: Lak E, Yousefi H, Radmehr S. Genome Editing Using the CRISPR–Cas9 System in Lynch Syndrome: From Molecular Insights to Clinical Perspectives. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2026;34(2):55-70.

Introduction

Lynch Syndrome, previously known as hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC), is the most common inherited cause of colorectal cancer, accounting for approximately 3–5% of all cases of this malignancy (1). This syndrome typically results from inherited mutations in DNA mismatch repair (MMR) genes, including *MLH1, MSH2, MSH6*, and *PMS2*, and is associated with microsatellite instability (MSI) and an increased risk of multiple cancers such as endometrial, gastric, liver, biliary tract, brain, and urinary tract cancers (2, 3). Despite significant advances in the diagnosis and management of this syndrome, major challenges remain regarding targeted and definitive treatments (4). The emergence of novel genome editing technologies, particularly the CRISPR-Cas9 system, has opened new horizons for detailed study of disease mechanisms, development of sensitive diagnostic methods, and design of personalised therapeutic approaches in Lynch syndrome (5). The aim of this study was to review existing evidence on various applications of CRISPR-Cas9 technology and its newer versions, including base editing and prime

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

© The Author(s)

editing, in the context of Lynch syndrome and to examine the challenges facing the clinical application of these technologies.

Methods

This study was conducted as a narrative review based on searches in reputable databases, including PubMed, Scopus, Google Scholar, and Web of Science. Keywords used included Lynch syndrome, HNPCC, CRISPR-Cas9, Microsatellite Instability (MSI), base editing, prime editing, genome editing, and personalised medicine within the time period of 2010 to 2026. Original articles, systematic reviews, meta-analyses, and relevant case reports were included. Library resources and credible scientific reports on ethics and genome editing regulations were also utilised. Extracted data were analysed and categorised qualitatively with an analytical approach.

Results

Evidence from reviewed studies demonstrated four main areas of application for CRISPR-Cas9 technology and its derivatives in Lynch syndrome: (1) Generation of reliable cellular and animal models to study molecular mechanisms and evaluate novel therapeutic strategies; (2) Development of rapid, sensitive, and low-cost diagnostic tools based on Cas12 and Cas13 systems, such as DETECTR and SHERLOCK, for identifying microsatellite instability and specific MMR gene mutations; (3) Direct correction of pathogenic variants in laboratory models using classical CRISPR/Cas9 and more precise approaches such as base editing (C→T and A→G conversions) and prime editing (small insertions, deletions, and substitutions without double-strand DNA breaks); (4) Design of patient-centred therapeutic approaches through generation of patient-specific organoids, evaluation of response to gene-based strategies in these models, and selection of the most targeted approach for each patient based on their specific genetic profile. However, findings also indicated that routine clinical application of these technologies faces several challenges, the most important of which include off-target effects due to unintended cleavage by Cas9 nuclease at similar genomic regions; low efficiency of CRISPR component delivery to target tissues (especially colon and endometrium) due to limitations of viral vectors and their immunogenicity; extensive genetic heterogeneity and high diversity of pathogenic variants in MMR genes, making a single therapeutic approach difficult; and finally, ethical and legal issues related to germline editing, requiring clear and comprehensive regulatory frameworks.

Conclusion

CRISPR-Cas9 and its derivatives hold significant potential to transform diagnosis and treatment of Lynch syndrome, but a considerable gap remains before routine clinical application. Bridging this gap requires development of targeted delivery systems, use of high-fidelity Cas9 variants, and formulation of clear ethical and legal frameworks. Combining CRISPR with immunotherapy represents a promising future perspective.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Investigation, Resources, Writing Original Draft Preparation, Writing–Review & Editing, Supervision, Software, Data Curation, Visualization, Project Administration: EL, HY,

Methodology, Supervision, Project Administration: EL, SR.

Ethical Statement

No new animal experiments were performed in this study; therefore, ethical approval was not required. The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research received no financial support.

Acknowledgment

The authors would like to acknowledge the research support provided by the Gastroenterology Research Center, Clinical Sciences Research Institute, and Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences (Iran). They would also like to thank all colleagues who contributed to the preparation and editing of this article.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

شاپای چاپی : ۱۵۶۳-۴۷۲۸

شاپای الکترونیک : ۲۵۸۸-۳۱۳۵

ویرایش ژنوم با سامانه CRISPR-Cas9 در سندرم لینچ: از بینش‌های مولکولی تا چشم‌اندازهای بالینی

النا لک [۱]، **همایون یوسفی** [۲]، **صفا رادمهر** [۲*]

[۱] مرکز تحقیقات گوارش، پژوهشکده علوم بالینی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

[۲] مرکز تحقیقات بیماریهای تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۲

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۳/۰۵

نویسنده مسئول:

صفا رادمهر

مرکز تحقیقات بیماریهای تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

Email:
safa.radmehr1398@gmail.com

چکیده

مقدمه: سندرم لینچ شایع‌ترین علت سرطان کولورکتال ارثی است و حدود ۳–۵٪ موارد سرطان کولورکتال را شامل می‌شود. این سندرم عمدتاً ناشی از جهش‌های ارثی در ژن‌های ترمیم عدم‌تطابق DNA (MMR) شامل *MLH1*، *MSH2*، *MSH6* و *PMS2* بوده و با ناپایداری میکروساتلایت (MSI) و افزایش خطر بروز سرطان‌های متعدد همراه است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه یک مرور روایی بر شواهد موجود درباره کاربردهای فناوری CRISPR/Cas9 و رویکردهای نوین‌تر شامل Base Editing و Prime Editing در زمینه سندرم لینچ انجام داد.

یافته‌های پژوهش: شواهد نشان می‌دهد فناوری CRISPR می‌تواند برای (۱) ایجاد مدل‌های سلولی و حیوانی دقیق به‌منظور مطالعه مکانیسم‌های بیماری، (۲) توسعه ابزارهای تشخیصی سریع و حساس جهت شناسایی MSI، (۳) اصلاح جهش‌ها در مدل‌های آزمایشگاهی و (۴) طراحی رویکردهای درمانی فردمحور مورد استفاده قرار گیرد. Base Editing و Prime Editing امکان اصلاح دقیق برخی جهش‌های نقطه‌ای را بدون ایجاد شکست دورشته‌ای DNA فراهم می‌کنند.

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع، اگرچه فناوری‌های ویرایش ژنوم پتانسیل قابل‌توجهی برای بهبود تشخیص و درمان سندرم لینچ نشان می‌دهند، فاصله معناداری تا کاربرد بالینی روتین وجود دارد. چالش‌هایی نظیر اثرات خارج‌هدف، محدودیت‌های انتقال به بافت هدف، ناهمگنی ژنتیکی بیماران و ملاحظات اخلاقی و قانونی همچنان موانع اصلی محسوب می‌شوند. رفع این چالش‌ها از طریق بهبود سامانه‌های انتقال، استفاده از ارگانوئیدهای مشتق از بیمار و انجام مطالعات بالینی دقیق، شرط اساسی برای تحقق کاربرد بالینی ایمن و مؤثر این فناوری‌ها است.

واژه‌های کلیدی: سندرم لینچ؛ CRISPR/Cas9؛ ناپایداری میکروساتلایت؛ ویرایش ژنوم؛ پزشکی فردمحور

استناد: لک النا، یوسفی همایون، رادمهر صفا. ویرایش ژنوم با سامانه CRISPR-Cas9 در سندرم لینچ: از بینش‌های مولکولی تا چشم‌اندازهای بالینی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، خرداد ۱۴۰۵؛ (۲)۳۴ : ۷۰–۵۵.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

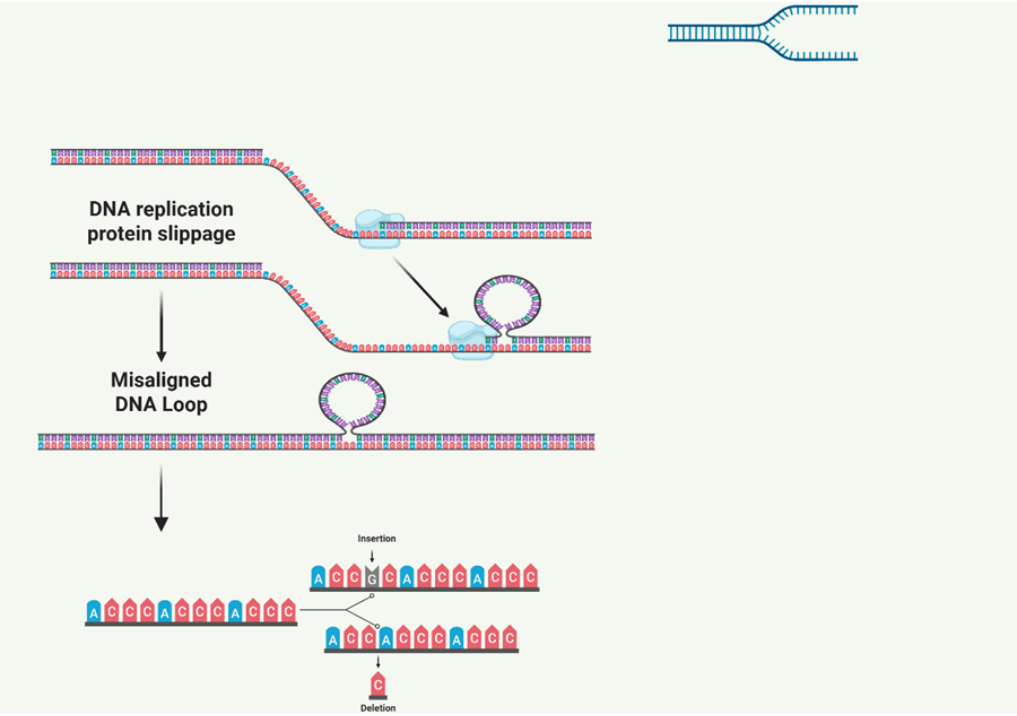
مقدمه

سندرم لینچ که پیش‌تر با عنوان سرطان کولورکتال غیرپولیپوز ارثی (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer; HNPCC) شناخته می‌شد، یکی از شایع‌ترین سندرم‌های سرطان ارثی به شمار می‌آید (۱). این سندرم حدود ۱ در ۲۷۹ نفر از جمعیت عمومی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مسئول حدود ۳–۵٪ از کل موارد سرطان کولورکتال است (۲). افراد مبتلا به سندرم لینچ با خطر ۷۰–۸۰٪ برای ابتلا به سرطان کولورکتال و همچنین خطر افزایش‌یافته برای سایر بدخیمی‌ها از جمله سرطان آندومتر، معده، کبد، مجاری صفراوی، مغز و دستگاه ادراری مواجه‌اند (۳).

مبنای مولکولی سندرم لینچ در جهش‌های ژرم‌لاین ژن‌های سیستم ترمیم عدم‌تطابق DNA (Mismatch Repair; MMR) نهفته است. چهار ژن اصلی درگیر در این مسیر عبارت‌اند از: *MLH1*، *MSH2*، *MSH6* و *PMS2* (PMS1 homolog 2) (۴). محصولات پروتئینی این ژن‌ها به‌صورت هماهنگ در شناسایی و ترمیم خطاهای ایجادشده طی همانندسازی DNA نقش دارند. اختلال در عملکرد MMR موجب تجمع جهش‌ها، به‌ویژه در نواحی میکروساتلایت، و در نتیجه بروز پدیده ناپایداری میکروساتلایت (Microsatellite Instability; MSI) می‌شود (شکل ۱) (۵).

میکروساتلایت‌ها توالی‌های کوتاه تکراری DNA هستند که در سراسر ژنوم انسان پراکنده شده‌اند. در شرایط طبیعی، سیستم MMR خطاهای ایجادشده در این نواحی را طی همانندسازی DNA تصحیح می‌کند؛ اما در سندرم لینچ، نقص این سیستم می‌تواند به تغییر طول میکروساتلایت‌ها و ایجاد MSI منجر شود (۶). تومورهای MSI-High به دلیل بار جهشی بالا، نئوآنتی‌ژن‌های متعددی تولید می‌کنند که می‌تواند آن‌ها را برای سیستم ایمنی قابل شناسایی‌تر سازد؛ ویژگی‌ای که مبنای پاسخ بهتر این تومورها به ایمونوتراپی را تشکیل می‌دهد (۷).

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در تشخیص و مدیریت سندرم لینچ، همچنان چالش‌های مهمی در زمینه درمان‌های هدفمند و قطعی وجود دارد. راهبردهای کنونی عمدتاً بر غربالگری و پایش متمرکزند و گزینه‌های درمانی معمولاً به جراحی و رویکردهای استاندارد مانند شیمی‌درمانی محدود می‌شوند (۸). در این میان، ظهور فناوری‌های نوین ویرایش ژنوم، به‌ویژه سامانه CRISPR/Cas9، افق‌های تازه‌ای برای توسعه رویکردهای دقیق‌تر در مدل‌سازی بیماری، تشخیص و درمان‌های اختصاصی در سندرم لینچ ایجاد کرده است (۹).



[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

شکل شمارهٔ ۱. در طی همانندسازی DNA، لغزش DNA پلیمراز روی نواحی تکراری می‌تواند باعث ناهم‌ترازی رشته‌ها و تشکیل حلقه‌های DNA شود. در صورت ناکارآمدی سامانه ترمیم عدم‌تطابق (Mismatch Repair; MMR)، این حلقه‌ها به‌صورت درج (افزایش تعداد تکرارها) یا حذف (کاهش تعداد تکرارها) تثبیت شده و در نهایت به تغییر طول ریزماهواره‌ها/میکروساتلایت‌ها و ایجاد ناپایداری میکروساتلایت (Microsatellite Instability; MSI) منجر می‌شود.

فناوری CRISPR و انواع آن

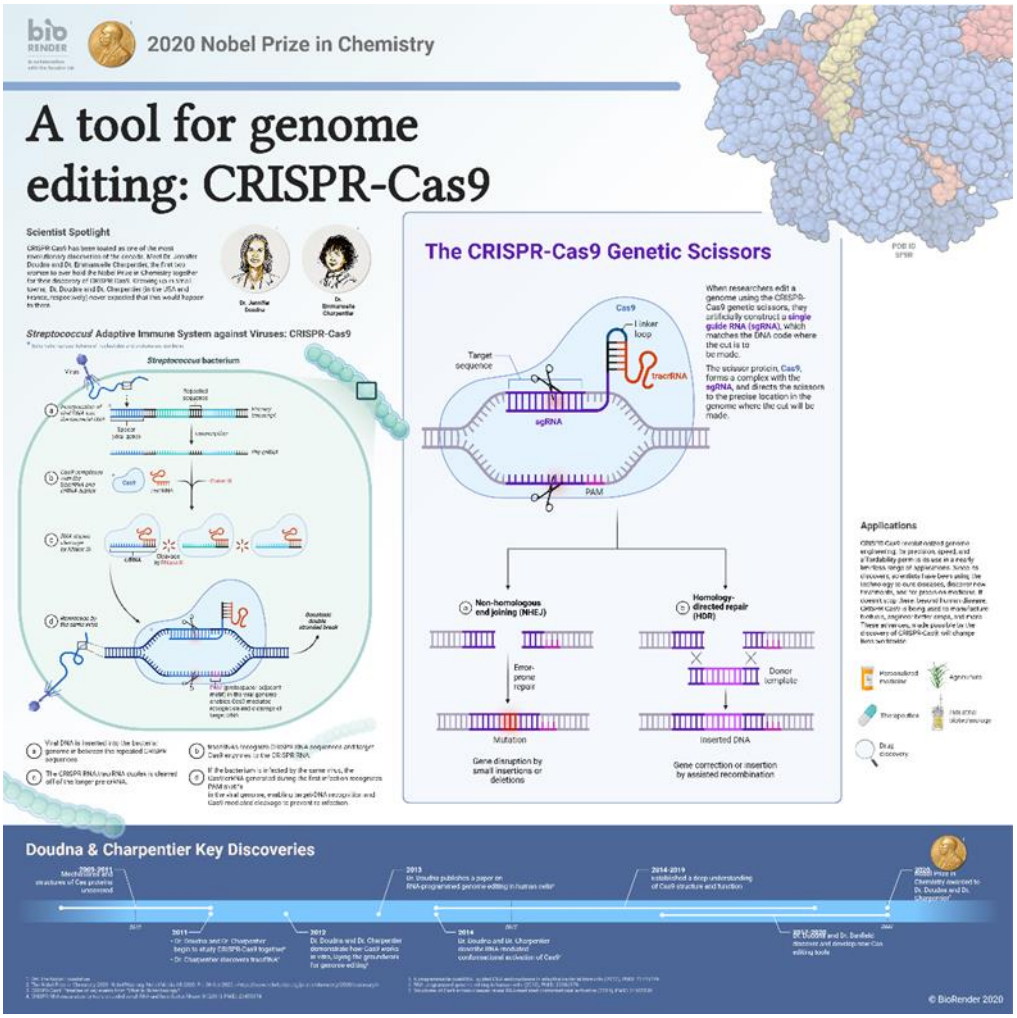
فناوری CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) انقلابی در ویرایش ژنوم ایجاد کرده و امکان اصلاح دقیق و هدفمند توالی DNA را فراهم آورده است (۱۰, ۱۱). این سامانه که نخست در باکتری‌ها به‌عنوان بخشی از سیستم ایمنی تطبیقی شناسایی شد، به‌طور کلی از دو جزء اصلی تشکیل می‌شود: (۱) RNA راهنما (guide RNA; gRNA) که توالی هدف را شناسایی می‌کند و (۲) یک نوکلئاز برشی مانند Cas9 که DNA را در محل مشخص‌شده قطع می‌کند (۱۲).

CRISPR/Cas9 کلاسیک

سامانه کلاسیک CRISPR/Cas9 با ایجاد شکست دورشته‌ای (Double-Strand Break; DSB) در DNA عمل می‌کند. پس از برش، سلول آسیب ایجادشده را عمدتاً از طریق دو مسیر ترمیمی اتصال انتهای غیرهمولوگ (Non-Homologous End Joining; NHEJ) یا ترمیم هدایت‌شده با همولوژی (Homology-Directed Repair; HDR) ترمیم می‌کند(۱۳). در مسیر HDR می‌توان یک الگوی ترمیم (donor template) فراهم کرد تا تغییر ژنتیکی مطلوب وارد ژنوم شود؛ با این حال، کارایی HDR در بسیاری از انواع سلول‌ها و شرایط آزمایشگاهی محدود گزارش شده است (شکل ۲) (۱۴).

فناوری CRISPR/Cas9 در قالب کنونی خود توسط امانوئل شارپنتیه و جنیفر ای. دودنا توسعه یافت و به‌دلیل «توسعه روشی برای ویرایش ژنوم»، جایزه نوبل شیمی سال ۲۰۲۰ به‌طور مشترک به آنان اعطا شد(۱۵).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]



شکل شمارهٔ ۲. نمای کلی سامانه CRISPR–Cas9: RNA راهنما (sgRNA؛ حاصل اتصال crRNA و tracrRNA) با شناسایی توالی هدف در مجاورت PAM، نوکلئاز Cas9 را هدایت کرده و شکست دورشته‌ای DNA (DSB) ایجاد می‌کند. ترمیم DSB عمدتاً از طریق اتصال انتهای غیرهمولوگ (NHEJ) یا ترمیم هدایت‌شده با همولوژی (HDR) انجام می‌شود؛ NHEJ معمولاً درج/حذف‌های کوچک (InDel) و غیرفعال‌سازی ژن ایجاد می‌کند، در حالی‌که HDR در حضور الگوی دهنده می‌تواند ویرایش دقیق یا درج توالی را امکان‌پذیر سازد.

Base Editing

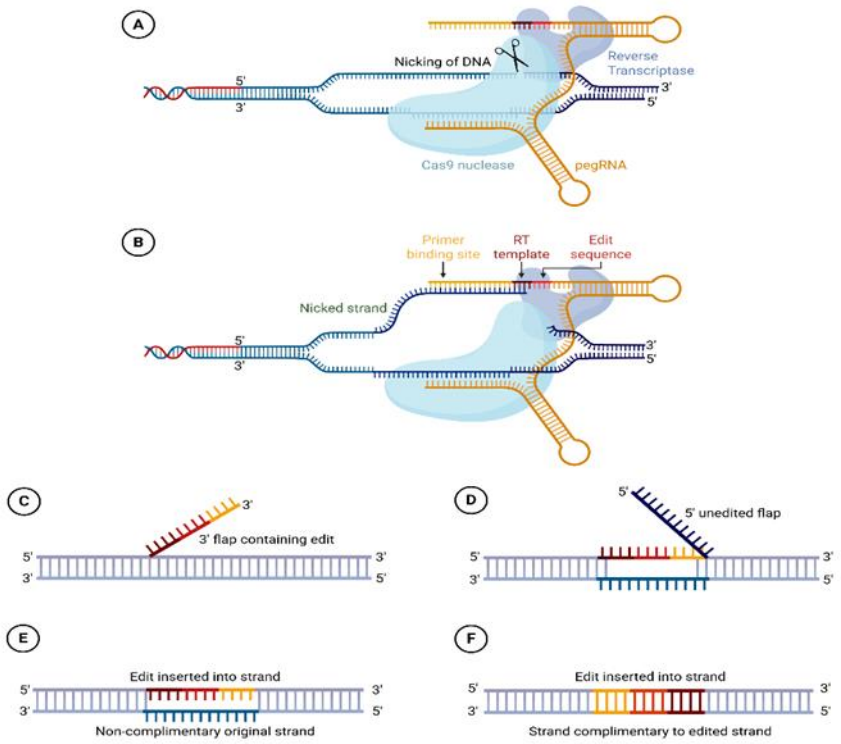
تکنیک ویرایش باز (Base Editing) امکان تغییر نوکلئوتیدهای منفرد را بدون نیاز به ایجاد شکست دورشته‌ای DNA فراهم می‌کند(۱۵). دو دسته اصلی از ویرایشگرهای باز عبارت‌اند از: ویرایشگرهای بازِ سیتوزینی (Cytosine Base Editors; CBE) که معمولاً تبدیل C→T (یا معادل آن G→A در رشته مقابل) را ایجاد می‌کنند، و ویرایشگرهای بازِ آدنین (Adenine Base Editors; ABE) که تبدیل A→G (یا T→C) را ممکن می‌سازند(۱۶). از آنجا که بخش قابل توجهی از واریانت‌های بیماری‌زا می‌تواند از نوع تغییرات تک‌نوکلئوتیدی باشد، این رویکرد از نظر تئوریک برای اصلاح برخی جهش‌های نقطه‌ای مرتبط با سندرم لینچ ظرفیت بالایی دارد(۱۷).

Prime Editing

ویرایش پرایم (Prime Editing) به‌عنوان یکی از رویکردهای جدید مبتنی بر CRISPR، امکان انجام طیفی از ویرایش‌ها از جمله جایگزینی، درج و حذف‌های کوچک را بدون نیاز به شکست دورشته‌ای و بدون استفاده از الگوی DNA خارجی فراهم می‌کند(۱۸). این سامانه از یک Cas9 نیکازِ اصلاح‌شده (Cas9-H840A) به‌همراه RNA راهنمای پرایم (prime editing guide RNA; pegRNA) استفاده می‌کند؛ pegRNA علاوه بر شناسایی توالی هدف، اطلاعات

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

لازم برای اعمال ویرایش را نیز حمل می‌کند (شکل ۳)(۱۹).



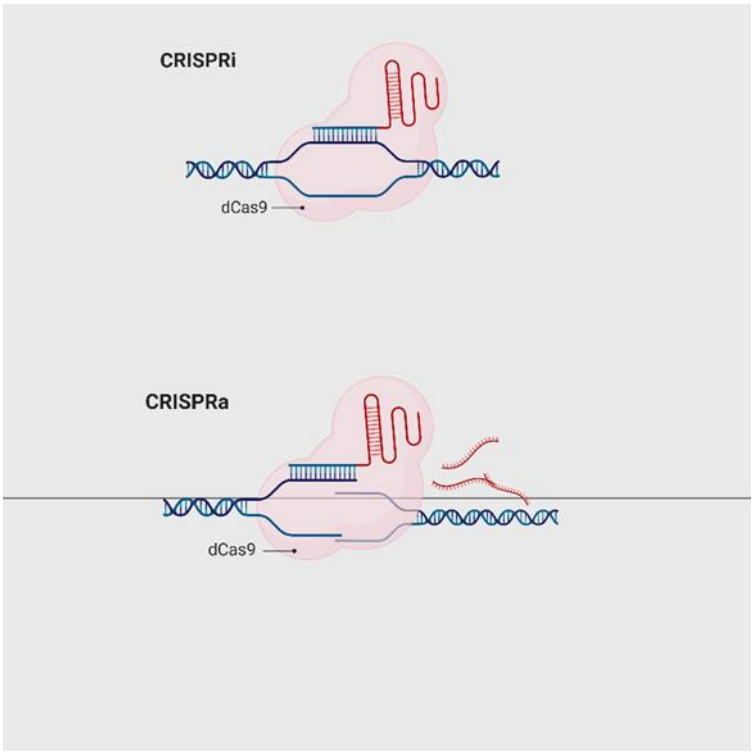
شکل شمارهٔ ۳. نمایی از سازوکار پرایم‌ادیتینگ.

در این روش، یک Cas9 نیکاز متصل به رونوشت‌بردار معکوس (nCas9–Reverse Transcriptase) به‌همراه pegRNA (شامل راهنمای هدف‌گیر، محل اتصال آغازگر *PBS* و الگوی رونوشت‌برداری *RT template*) به کار می‌رود و بدون ایجاد شکست دورشته‌ای DNA، امکان اعمال ویرایش‌های نقطه‌ای و نیز درج/حذف‌های کوچک را فراهم می‌کند. pegRNA توالی ویرایش را روی رشته نیک‌شده سنتز می‌کند؛ سپس ′۳ flap حاوی ویرایش، جایگزین ′۵ flap اولیه می‌شود. در ادامه، با فرایندهای ترمیمی سلول—و در حالت PE3 با نیک‌کردن رشته مقابل—ویرایش در نهایت در هر دو رشته تثبیت می‌شود.

CRISPRa/CRISPRi

سامانه‌های CRISPRa (CRISPR activation) و CRISPRi (CRISPR interference) امکان تنظیم بیان ژن را بدون ایجاد تغییر در توالی DNA فراهم می‌کنند(۲۰). در CRISPRa، با اتصال دامنه‌های فعال‌کننده رونویسی به Cas9 غیرفعال (dead Cas9; dCas9)، بیان ژن هدف افزایش می‌یابد؛ در مقابل، CRISPRi با هدایت dCas9 (معمولاً همراه با دامنه‌های سرکوبگر) به ناحیه هدف، موجب کاهش بیان ژن می‌شود(۲۱). این رویکردها ابزارهای ارزشمندی برای مطالعه عملکرد ژن‌ها و نیز توسعه راهبردهای درمانی مبتنی بر تنظیم بیان ژن به‌شمار می‌آیند (شکل ۴) (۲۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]



شکل شمارهٔ ٤. شماتیک CRISPRi و CRISPRa مبتنی بر Cas9 غیرفعال (dead Cas9; dCas9) که بدون ایجاد برش در DNA عمل می‌کند.

در CRISPRi، dCas9 به‌کمک gRNA به ناحیه پروموتر یا بخش‌های ابتدایی ناحیه کُدکننده متصل می‌شود و با ایجاد مانع فیزیکی برای RNA پلی‌مراز (و/یا با جذب دامنه‌های سرکوبگر مانند KRAB) موجب کاهش رونویسی و سرکوب بیان ژن می‌گردد. در مقابل، در CRISPRa، dCas9 با اتصال به دامنه‌های فعال‌کننده رونویسی (مانند VP64/p65/Rta) در ناحیه پروموتر/انهنسر، باعث افزایش رونویسی و تقویت بیان ژن هدف می‌شود.

برای تسهیل انتخاب ابزار مناسب در پروژه‌های مرتبط با سندرم لینچ، جدول ۱ ویژگی‌های کلیدی پلتفرم‌های مختلف CRISPR را مقایسه می‌کند؛ از نوع ویرایش و دقت/کارایی گرفته تا کاربردهای بالقوه و محدودیت‌ها.

به‌طور خلاصه، سامانه کلاسیک CRISPR/Cas9 عمدتاً برای ایجاد جهش‌های ناک‌اوت از طریق InDel (مسیر NHEJ) و نیز برای برخی ویرایش‌های هدفمند در صورت فراهم بودن شرایط HDR به‌کار می‌رود؛ در حالی‌که Base Editing و Prime Editing برای اعمال تغییرات دقیق‌تر در مقیاس تک‌نوکلئوتید یا تغییرات کوچک—که در برخی واریانت‌های مرتبط با ژن‌های MMR اهمیت دارند— گزینه‌های مناسب‌تری محسوب می‌شوند. همچنین CRISPRa/i امکان تنظیم بیان ژن را بدون ایجاد تغییر پایدار در توالی DNA فراهم می‌کند. این جمع‌بندی می‌تواند به‌عنوان یک نقشه راه سریع برای طراحی آزمایش و ارزیابی اولیه ریسک/فایده در انتخاب رویکرد مناسب استفاده شود.

جدول شمارهٔ ۱. مقایسه فناوری‌های مختلف CRISPR از نظر دقت، کارایی، و کاربرد در بیماری‌های گوارشی ارثی

فناوری	نوع ویرایش	دقت	کارایی	کاربرد در سندرم لینچ	محدودیت‌ها
CRISPR/Cas9 کلاسیک	شکست دورشته‌ای + HDR/NHEJ	متوسط	متوسط	اصلاح جهش‌های بزرگ	اثرات خارج هدف، کارایی پایین HDR

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

Base Editing	تبدیل تک نوکلئوتید	بالا	بالا	جهش‌های نقطه‌ای	محدود به C→T و A→G
Prime Editing	ویرایش دقیق بدون برش	خیلی بالا	متوسط	انواع مختلف جهش	پیچیدگی طراحی
CRISPRa/CRISPRi	تنظیم بیان ژن	بالا	بالا	مطالعات عملکردی	بدون تغییر دائمی

کاربرد CRISPR در سندرم لینچ

ایجاد مدل‌های سلولی و حیوانی

یکی از مهم‌ترین کاربردهای CRISPR در حوزه سندرم لینچ، ایجاد مدل‌های دقیق بیماری برای درک مکانیسم‌های مولکولی و نیز ارزیابی راهبردهای درمانی جدید است(۲۳). با بهره‌گیری از CRISPR/Cas9 می‌توان واریانت‌های بیماری‌زا یا جهش‌های اختصاصی را در ژن‌های کلیدی مسیر ترمیم عدم‌تطابق (MMR) شامل *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* و *PMS2* در رده‌های سلولی مختلف القا کرد(۲۴). چنین مدل‌هایی امکان بررسی پیامدهای عملکردی جهش‌ها بر کارایی MMR، بروز ناپایداری میکروساتلایت (MSI) و مسیرهای پایین‌دستی مرتبط با سرطان‌زایی را فراهم می‌کنند.

در مطالعه Matano و همکاران، از فناوری CRISPR برای ایجاد ارگانوئیدهای روده‌ای حامل اختلالات مختلف در ژن‌های MMR استفاده شد و بدین‌ترتیب مدل‌های سه‌بعدی قابل اتکایی برای مطالعه سرطان کولورکتال مرتبط با سندرم لینچ توسعه یافت(۲۵). این ارگانوئیدها افزون بر کمک به فهم زیست‌شناسی بیماری، بستری مناسب برای غربالگری داروها و ارزیابی پاسخ به درمان‌ها در چارچوب رویکردهای پزشکی فردمحور/شخصی‌سازی‌شده فراهم می‌کنند(۲۵).

کاربردهای تشخیصی

CRISPR در سال‌های اخیر در توسعه روش‌های تشخیصی نوین و حساس برای شناسایی ناپایداری میکروساتلایت (MSI) و نشانگرهای مرتبط با سندرم لینچ مورد توجه قرار گرفته است(۲۶). برخی سامانه‌های CRISPR مبتنی بر Casهای خانواده‌های مختلف—از جمله Cas12 و Cas13—قابلیت شناسایی توالی‌های اختصاصی DNA یا RNA را دارند و می‌توان از آن‌ها برای طراحی آزمون‌های سریع و دقیق بهره برد(۲۷).

به‌عنوان مثال، روش DETECTR (DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter) که بر پایه Cas12a توسعه یافته است، برای شناسایی توالی‌های DNA هدف و واریانت‌های خاص با حساسیت بالا مورد استفاده قرار گرفته و در برخی مطالعات برای تشخیص نشانگرهای مرتبط با MSI پیشنهاد شده است (۲۷).

همچنین سامانه SHERLOCK (Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter Unlocking) مبتنی بر Cas13، امکان شناسایی دقیق توالی‌های RNA یا DNA پس از تقویت ایزوترمال را فراهم می‌کند و به‌عنوان یک ابزار بالقوه برای شناسایی جهش‌های خاص ژن‌های MMR در سندرم لینچ مطرح شده است (۲۸).

این رویکردها می‌توانند به‌عنوان آزمون‌های سریع و کم‌هزینه، حتی در قالب‌های نزدیک به *point-of-care*، برای غربالگری اولیه افراد مشکوک به سندرم لینچ مورد استفاده قرار گیرند؛ با این حال، کاربرد بالینی روتین آن‌ها مستلزم انجام مطالعات اعتبارسنجی گسترده، استانداردسازی پروتکل‌ها و ارزیابی عملکرد در نمونه‌های واقعی بیماران است (۲۷, ۲۸).

اصلاح جهش‌های ارثی در مدل‌های آزمایشگاهی

یکی از امیدبخش‌ترین حوزه‌های کاربرد CRISPR در سندرم لینچ، امکان اصلاح مستقیم واریانت‌های بیماری‌زا در مدل‌های آزمایشگاهی است(۲۹). شواهد *in vitro* نشان می‌دهد که می‌توان با استفاده از رویکردهای مختلف CRISPR، برخی تغییرات ژنتیکی از جمله جهش‌های نقطه‌ای و نیز حذف‌ها یا درج‌های کوچک را در ژن‌های مسیر ترمیم عدم‌تطابق (MMR) هدف قرار داد(۳۰).

در مطالعه Georgiadis و همکاران، از فناوری Base

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

Editing برای اصلاح واریانت بیماری‌زای c.208C>T در ژن *MLH1* استفاده شد. این مطالعه در سلول‌های سوماتیک انسانی در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت و مداخله‌ای در سطح ژرم‌لاین صورت نگرفت. اصلاح این واریانت با بهبود عملکرد پروتئین MLH1 و کاهش شاخص‌های مرتبط با ناپایداری میکروساتلایت (MSI) در سلول‌های تیمارشده همراه بود (۳۱).

رویکرد Base Editing به‌طور خاص برای اصلاح برخی جهش‌های نقطه‌ای از نوع transition مانند (C→T) یا (A→G) در ژن‌های MMR کاربرد دارد و برای همه انواع جهش‌ها (از جمله transversionها یا تغییرات ساختاری بزرگ) قابل استفاده نیست. این یافته‌ها ظرفیت بالقوه CRISPR را برای توسعه رویکردهای درمان ژنی هدفمند در سندرم لینچ برجسته می‌کنند؛ هرچند گذار از نتایج آزمایشگاهی به کاربرد بالینی همچنان مستلزم رفع چالش‌هایی نظیر ایمنی، تحویل هدفمند، محدودیت دامنه جهش‌های قابل اصلاح و ارزیابی دقیق اثرات خارج‌هدف است ((۳۱).

چشم‌انداز درمان فردمحور

CRISPR همچنین می‌تواند چارچوب‌هایی برای توسعه رویکردهای پزشکی فردمحور (Personalized Medicine) در بیماران مبتلا به سندرم لینچ فراهم کند(۳۲). با توجه به تنوع ژنتیکی و ناهمگونی واریانت‌ها میان بیماران، طراحی راهبردهای ویرایشی متناسب با هر فرد—به‌ویژه در سطح مدل‌های بیمارمحور—قابل طرح است. این مسیر می‌تواند شامل تولید ارگانوئیدهای اختصاصی بیمار، ارزیابی پاسخ به گزینه‌های درمانی یا راهبردهای ژنی در این مدل‌ها، و کمک به انتخاب رویکرد مناسب‌تر برای هر بیمار باشد(۳۳).

چالش‌ها و محدودیت‌ها

اثرات خارج هدف

یکی از مهم‌ترین نگرانی‌ها در مسیر کاربرد بالینی CRISPR، احتمال بروز اثرات خارج‌هدف است(۳۴). نوکلئازهایی مانند Cas9 ممکن است در نواحی مشابهِ توالی هدف نیز برش ایجاد کنند که می‌تواند به جهش‌های ناخواسته و در برخی شرایط، پیامدهای زیان‌بار منجر شود(۳۵). برای کاهش این خطر، راهبردهایی نظیر استفاده از گونه‌های high-fidelity Cas9، بهینه‌سازی طراحی RNA راهنما (gRNA)، و کاهش مدت زمان حضور/بیان اجزای CRISPR در سلول (برای مثال از طریق تحویل گذرا) توسعه یافته‌اند(۳۶).

کارایی پایین انتقال به بافت‌های هدف

تحویل مؤثر اجزای CRISPR به بافت‌های هدف—به‌ویژه در بافت‌هایی مانند کولون و آندومتر—یکی از موانع اصلی برای ترجمه بالینی این فناوری است(۳۷). روش‌های رایج انتقال، از جمله ناقل‌های ویروسی مانند AAV و لنتی‌ویروس، با محدودیت‌هایی نظیر ظرفیت بار ژنی، ایمنی‌زایی/پاسخ ایمنی، کنترل‌پذیری بیان و برخی ملاحظات ایمنی همراه‌اند(۳۸). از این‌رو، توسعه و بهینه‌سازی سامانه‌های جایگزین مانند نانوذرات لیپیدی (lipid nanoparticles) و روش‌های تحویل پروتئین/ریبونوکلئوپروتئین (protein/RNP delivery systems) در دست بررسی است(۳۹).

مسائل اخلاقی و قانونی

ویرایش ژن‌های انسان با CRISPR، به‌ویژه در زمینه ویرایش سلول‌های زایا (germline)، با چالش‌های اخلاقی و قانونی قابل توجهی روبه‌رو است(۴۰). موضوعاتی مانند ایمنی، رضایت آگاهانه، عدالت در دسترسی، و پیامدهای بلندمدت احتمالی برای نسل‌های آینده از جمله محورهای اصلی این بحث‌ها هستند(۴۱). در نتیجه، تدوین و اجرای چارچوب‌های نظارتی و اخلاقی شفاف و جامع برای استفاده مسئولانه از این فناوری ضروری است (۴۲).

ناهمگونی ژنتیکی و تنوع بالای واریانت‌ها میان بیماران

سندرم لینچ با ناهمگونی ژنتیکی قابل توجه و طیف وسیعی از واریانت‌ها در ژن‌های مسیر MMR همراه است(۴۳). تعداد زیادی واریانت (از جمله واریانت‌های بیماری‌زا و نیز واریانت‌های با اهمیت نامشخص) در این ژن‌ها گزارش شده است که هر یک ممکن است از نظر نوع تغییر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

ژنتیکی و امکان‌پذیری ویرایش، نیازمند راهبردهای متفاوتی باشد(۴۴). این پیچیدگی، توسعه یک درمان واحد برای همه بیماران را دشوار می‌کند و اهمیت رویکردهای فردمحور را برجسته می‌سازد. ناهمگونی ژنتیکی یکی از چالش‌های اساسی در به‌کارگیری فناوری‌های ویرایش ژنوم برای درمان سندرم لینچ محسوب می‌شود. تنوع گسترده واریانت‌های بیماری‌زا در ژن‌های MMR، حتی در میان بیماران حامل جهش در یک ژن مشترک، طراحی یک راهبرد درمان ژنی واحد و جهان‌شمول را با محدودیت جدی مواجه می‌کند. این تنوع ژنتیکی سبب می‌شود که هر بیمار به مداخلات اصلاحی متفاوتی نیاز داشته باشد و همین موضوع، لزوم بهره‌گیری از رویکردهای پزشکی فردمحور مبتنی بر پروفایل ژنتیکی اختصاصی هر فرد را برجسته می‌سازد. در این چارچوب، استفاده از پلتفرم‌های ویرایش ژنوم قابل برنامه‌ریزی و مدل‌های مشتق از بیمار، نقش کلیدی در توسعه درمان‌های هدفمند و ایمن ایفا می‌کند (جدول ۲)(۴۵).

جدول شمارهٔ ۲. چالش‌های کنونی استفاده از CRISPR در درمان سندرم لینچ و راهکارهای احتمالی برای غلبه بر آن‌ها

چالش	توضیحات	راهکارهای پیشنهادی
اثرات خارج هدف	برش ناخواسته در نواحی غیرهدف	استفاده از Cas9 با دقت بالا (High-fidelity Cas9)، بهینه‌سازی طراحی gRNA، کاهش زمان حضور کمپلکس ویرایشی
انتقال به بافت	کارایی پایین رساندن CRISPR به سلول‌ها	نانوذرات لیپیدی هدفمند، ویروس‌های AAV با تروپیسم اصلاح‌شده برای بافت روده
ایمنی‌زایی	واکنش ایمنی علیه Cas9	استفاده از Cas9 انسانی یا ارتولوگ‌های کمتر ایمن‌زا، ایمونوساپرسیون موقت
تنوع جهش‌ها	نیاز به درمان اختصاصی برای هر جهش	پلتفرم‌های ویرایش قابل برنامه‌ریزی(Base/Prime Editing) ، طراحی راهبردهای فردمحور مبتنی بر ژنوتیپ
هزینه بالا	پیچیدگی تولید و کیفیت‌سنجی	استانداردسازی فرایندها، توسعه خطوط تولید مقیاس‌پذیر
مسائل قانونی	نبود چارچوب نظارتی مناسب	تدوین دستورالعمل‌های اخلاقی، همکاری‌های بین‌المللی و مقررات‌گذاری شفاف

چشم‌انداز آینده

ترکیب CRISPR با ایمونوتراپی

یکی از رویکردهای آینده‌نگرانه، بررسی ترکیب فناوری CRISPR با ایمونوتراپی در بیماران مبتلا به تومورهای MSI-H است(۴۶). تومورهای با MSI بالا معمولاً بار جهشی بیشتری دارند که می‌تواند به تولید نئوآنتی‌ژن‌های متعدد منجر شود(۴۷). این نئوآنتی‌ژن‌ها بالقوه اهداف مناسبی برای راهبردهای ایمونوتراپی محسوب می‌شوند(۴۸).

از منظر مکانیزمی، CRISPR می‌تواند برای تقویت پاسخ ایمنی از طریق راهبردهایی مانند افزایش بیان ژن‌های دخیل در ارائه آنتی‌ژن، غیرفعال‌سازی ژن‌های مهارکننده ایمنی، یا دست‌کاری مسیرهای ایمنی در سلول‌های توموری/ایمنی به‌کار رود(۴۹). به‌عنوان یک مثال ملموس، از CRISPR می‌توان در مهندسی سلول‌های T استفاده کرد؛ به‌گونه‌ای که در درمان‌های CAR-T یا سلول‌های T مهندسی‌شده با گیرنده TCR، ژن‌های مهارکننده‌ای مانند PD-1 حذف شوند یا گیرنده‌هایی اختصاصی برای شناسایی نئوآنتی‌ژن‌های مرتبط با MSI به سلول‌ها افزوده شود. این دست‌کاری‌ها می‌توانند کارایی و پایداری پاسخ ایمنی علیه تومورهای MSI-H را افزایش دهند .

چنین رویکردهای ترکیبی از نظر تئوریک می‌توانند اثربخشی درمان را بهبود دهند، هرچند ارزیابی دقیق ایمنی، انتخاب هدف‌های مناسب و طراحی مطالعات بالینی برای اثبات سودمندی آن‌ها ضروری است(۵۰).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

استفاده از ارگانوئیدهای روده

ارگانوئیدهای روده‌ای که از سلول‌های بنیادی مشتق از بیمار تولید می‌شوند، بستری ارزشمند برای ارزیابی درمان‌های اختصاصی فراهم می‌کنند(۵۱). این مدل‌های سه‌بعدی تا حد زیادی ویژگی‌های بافت اصلی را حفظ کرده و امکان بررسی اثربخشی و ایمنی رویکردهای مبتنی بر CRISPR را پیش از انتقال به کاربرد بالینی فراهم می‌سازند(۵۲).

در چشم‌انداز آینده، توسعه ارگانوئیدهای اختصاصی بیمار می‌تواند به آزمون و مقایسه گزینه‌های درمانی مختلف کمک کند و در نهایت انتخاب راهبرد مناسب‌تر برای هر فرد را تسهیل نماید(۵۳). با این حال، عملیاتی‌سازی گسترده این رویکرد نیازمند استانداردسازی فرایندها، کاهش زمان/هزینه تولید، و اعتبارسنجی همبستگی نتایج ارگانوئیدی با پاسخ‌های بالینی است (۵۴).

طراحی کارآزمایی‌های بالینی

با پیشرفت فناوری و بهبود تدریجی چالش‌های فنی، آغاز کارآزمایی‌های بالینی مبتنی بر CRISPR در حوزه سندرم لینچ در آینده قابل تصور است(۵۵). انتظار می‌رود در مراحل اولیه، تمرکز بر سناریوهای کم‌ریسک‌تر و هدف‌های مشخص‌تر (برای مثال واریانت‌های منتخب یا راهبردهای قابل کنترل‌تر) باشد(۵۶).

طراحی این کارآزمایی‌ها معمولاً به یک رویکرد مرحله‌ای نیاز دارد که شامل ارزیابی ایمنی در فاز I، بررسی سیگنال اثربخشی و دوز/زمان‌بندی در فاز II، و در صورت امکان، مطالعات تصادفیِ کنترل‌شده در فاز III خواهد بود (۵۷).علاوه بر این، بهره‌گیری از نشانگرهای مولکولی مانند وضعیت MSI، بار جهشی تومور (TMB) و شاخص‌های مرتبط با ریزمحیط ایمنی می‌تواند در انتخاب مناسب بیماران، پایش پاسخ و طبقه‌بندی خطر نقش کلیدی داشته باشد(۵۸).

یکی از مسیرهای قابل توجه، استفاده از ویرایش ژن ex vivo است؛ به‌طوری که سلول‌های بیمار خارج از بدن ویرایش شده و سپس به بیمار بازگردانده می‌شوند (۵۹). این رویکرد در مقایسه با *in vivo editing* امکان کنترل بهتر مراحل ویرایش، ارزیابی کیفیت محصول و کاهش برخی ریسک‌های مرتبط با تحویل مستقیم در بدن را فراهم می‌کند(۶۰).

بحث و نتیجه‌گیری

فناوری CRISPR می‌تواند افق‌های تازه‌ای برای مطالعه و مدیریت سندرم لینچ ایجاد کند؛ از مدل‌سازی دقیق‌تر بیماری و بررسی پیامدهای اختلال در مسیر ترمیم عدم‌تطابق (MMR) گرفته تا توسعه ابزارهای تشخیصی نوین و ارزیابی امکان اصلاح برخی واریانت‌های ژنتیکی در مدل‌های آزمایشگاهی. در کنار این ظرفیت‌ها، رویکردهای جدیدتر مانند Base Editing و Prime Editing نیز فرصت‌هایی برای ویرایش دقیق‌تر تغییرات کوچک فراهم کرده‌اند و توجه به پزشکی فردمحور را در این حوزه تقویت می‌کنند.

با این حال، ترجمه این فناوری از آزمایشگاه به بالین همچنان با محدودیت‌های مهمی همراه است؛ از جمله اثرات خارج‌هدف، چالش‌های تحویل/انتقال به بافت‌های هدف، ناهمگونی ژنتیکی بیماران، و ملاحظات اخلاقی و قانونی. مواجهه با این موانع نیازمند توسعه فناوری‌های ایمن‌تر، استانداردسازی ارزیابی‌ها، و همکاری میان‌رشته‌ای میان پژوهشگران، پزشکان، متخصصان اخلاق و نهادهای سیاست‌گذار است.

در چشم‌انداز آینده، ادغام CRISPR با رویکردهایی مانند ایمونوتراپی، مدل‌های بیمارمحور (به‌ویژه ارگانوئیدها) و ابزارهای محاسباتی می‌تواند مسیر طراحی درمان‌های دقیق‌تر و انتخاب هدفمند بیمار را هموارتر کند. در مجموع، حرکت به سمت کاربرد بالینی موفق در سندرم لینچ مستلزم ادامه پژوهش‌های بنیادی و ترجمانی، سرمایه‌گذاری در سامانه‌های تحویل و ایمنی، و ایجاد چارچوب‌های نظارتی شفاف و قابل اجرا خواهد بود.

سپاس‌گزاری

نویسندگان لازم می‌دانند از حمایت‌های پژوهشی مرکز تحقیقات گوارش، پژوهشکده علوم بالینی و همچنین مرکز تحقیقات بیماری‌های تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تشکر و قدردانی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

نمایند. همچنین از همه همکارانی که در تهیه و ویرایش این مقاله همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با انتشار این مقاله ندارند.

کد اخلاق

این مقاله مصوبه گروه مشاوره دانشگاه شهید چمران اهواز بوده و با نظارت و تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز با کد اخلاق IR.SCU.REC.1403.034 انجام شده است.

حمایت مالی

این مطالعه فاقد هرگونه حمایت مالی از سوی سازمان‌های دولتی، خصوصی یا غیرانتفاعی بوده است.

مشارکت نویسندگان

النا لک: طراحی مطالعه، نگارش پیش‌نویس اولیه، بررسی نهایی و تأیید نسخه نهایی.

همایون یوسفی: جستجو و گردآوری منابع، تحلیل داده‌ها، نگارش بخش‌هایی از متن.

صفا رادمهر: ایده‌پردازی، طراحی ساختار مقاله، بازنگری انتقادی محتوا، تأیید نهایی و نویسنده مسئول مکاتبه.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

References

1. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. Gastroenterology. 2010;138:2073-87. e3. doi: 10.1053/j.gastro.2009.12.064.
2. Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, et al. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. Gastroenterology. 2009;137:1621-7. doi: 10.1053/j.gastro.2009.07.039.
3. Møller P, Seppälä TT, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, et al. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database. Gut. 2018;67:1306-16. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314057.
4. Peltomaki P. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol. 2003;21:1174-9. doi: 10.1200/JCO.2003.04.060.
5. Hewish M, Lord CJ, Martin SA, Cunningham D, Ashworth A. Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment. Nat Rev Clin Oncol. 2010;7:197-208. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.18.
6. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res. 1998;58:5248-57.
7. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. Science. 2017;357:409-13. doi: 10.1126/science.aan6733. Epub 2017 Jun 8.
8. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG clinical guideline: genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. Am J Gastroenterol. 2015;110:223-62. doi: 10.1038/ajg.2014.435. Epub 2015 Feb 3.
9. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. Science. 2014;346:1258096. doi: 10.1126/science.1258096.
10. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science. 2012;337:816-21. doi: 10.1126/science.1225829. Epub 2012 Jun 28.
11. Alivaisi E, Noori-Zadeh A. Genetic Surgery: The Revolutionary CRISPR-Cas9 Scissors. J Basic Res Med Sci. 2026;13:67-84.
12. Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. Science. 2013;339:823-6. doi: 10.1126/science.1232033. Epub 2013 Jan 3.
13. Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, Ran FA, Konermann S, Agarwala V, et al. DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. Nat Biotechnol. 2013;31:827-32.doi: 10.1038/nbt.2647.
14. Richardson CD, Ray GJ, DeWitt MA, Curie GL, Corn JE. Enhancing homology-directed genome editing by catalytically active and inactive CRISPR-Cas9 using asymmetric donor DNA. Nat Biotechnol. 2016;34:339-44. doi: 10.1038/nbt.3481. Epub 2016 Jan 20.
15. Komor AC, Kim YB, Packer MS, Zuris JA, Liu DR. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature. 2016;533:420-4.doi: 10.1038/nature17946.
16. Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, Packer MS, Badran AH, Bryson DI, et al. Programmable base editing of A• T to G• C in genomic DNA without DNA cleavage. Nature. 2017;551:464-71. doi: 10.1038/s41586-018-0070-x.
17. Huang TP, Zhao KT, Miller SM, Gaudelli NM, Oakes BL, Fellmann C, et al. Circularly permuted and PAM-modified Cas9 variants broaden the targeting scope of base editors. Nat Biotechnol. 2019;37:626-31. doi: 10.1038/s41587-019-0134-y.
18. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. Nature. 2019;576:149-57. doi: 10.1038/s41586-019-1711-4.
19. Lin Q, Zong Y, Xue C, Wang S, Jin S, Zhu Z, et al. Prime genome editing in rice and wheat. Nat Biotechnol. 2020;38:582-5. doi: 10.1038/s41587-020-0455-x.
20. Gilbert LA, Larson MH, Morsut L, Liu Z, Brar GA, Torres SE, et al. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. Cell. 2013;154:442-51. doi: 10.1016/j.cell.2013.06.044.
21. Qi LS, Larson MH, Gilbert LA, Doudna JA, Weissman JS, Arkin AP, et al. Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. Cell. 2013;152:1173-83. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.019.
22. Chavez A, Scheiman J, Vora S, Pruitt BW, Tuttle M, PR Iyer E, et al. Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming. Nat Methods. 2015;12:326-8. doi: 10.1038/nmeth.3312.
23. Drost J, Van Jaarsveld RH, Ponsioen B, Zimberlin C, Van Boxtel R, Buijs A, et al.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. Nature. 2015;521:43-7. doi: 10.1038/nature14415.
24. Roper J, Tammela T, Cetinbas NM, Akkad A, Roghanian A, Rickelt S, et al. In vivo genome editing and organoid transplantation models of colorectal cancer and metastasis. Nat Biotechnol. 2017;35:569-76. doi: 10.1038/nbt1217-1211a.
25. Matano M, Date S, Shimokawa M, Takano A, Fujii M, Ohta Y, et al. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9–mediated engineering of human intestinal organoids. Nat Med. 2015;21:256-62. doi: 10.1038/nm.3802.
26. Li Y, Li S, Wang J, Liu G. CRISPR/Cas systems towards next-generation biosensing. Trends Biotechnol. 2019;37:730-43. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.12.005.
27. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, Essletzbichler P, Dy AJ, Joung J, et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. Science. 2017;356:438-42. doi: 10.1126/science.aam9321.
28. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Kellner MJ, Joung J, Collins JJ, Zhang F. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. Science. 2018;360:439-44. doi: 10.1126/science.aaq0179.
29. Schwank G, Koo B-K, Sasselli V, Dekkers JF, Heo I, Demircan T, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. Cell Stem Cell. 2013;13:653-8. doi: 10.1016/j.stem.2013.11.002.
30. Zafra MP, Schatoff EM, Katti A, Foronda M, Breinig M, Schweitzer AY, et al. Optimized base editors enable efficient editing in cells, organoids and mice. Nat Biotechnol. 2018;36:888-93. doi: 10.1038/nbt.4194.
31. Georgiadis C, Rasaiyaah J, Gkazi SA, Preece R, Etuk A, Christi A, et al. Base-edited CAR T cells for combinational therapy against T cell malignancies. Leukemia. 2021;35:3466-81. doi: 10.1038/s41375-021-01282-6.
32. Tran NH, Qiao R, Xin L, Chen X, Liu C, Zhang X, et al. Deep learning enables de novo peptide sequencing from data-independent-acquisition mass spectrometry. Nat Methods. 2019;16:63-6. doi: 10.1038/s41592-018-0260-3.
33. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. Science. 2018;359:920-6. doi: 10.1126/science.aao2774.
34. Zhang XH, Tee LY, Wang XG, Huang QS, Yang SH. Off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. Mol Ther Nucleic Acids. 2015;4: e264. doi: 10.1038/mtna.2015.37.
35. Kosicki M, Tomberg K, Bradley A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR–Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. Nat Biotechnol. 2018;36:765-71. doi: 10.1038/nbt.4192.
36. Kleinstiver BP, Pattanayak V, Prew MS, Tsai SQ, Nguyen NT, Zheng Z, et al. High-fidelity CRISPR–Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. Nature. 2016;529:490-5. doi: 10.1038/nature16526.
37. Yin H, Kanasty RL, Eltoukhy AA, Vegas AJ, Dorkin JR, Anderson DG. Non-viral vectors for gene-based therapy. Nat Rev Genet. 2014;15:541-55. doi: 10.1038/nrg3763.
38. Wang D, Zhang F, Gao G. CRISPR-based therapeutic genome editing: strategies and in vivo delivery by AAV vectors. Cell. 2020;181:136-50.
39. Kazemian P, Yu SY, Thomson SB, Birkenshaw A, Leavitt BR, Ross CJ. Lipid-nanoparticle-based delivery of CRISPR/Cas9 genome-editing components. Mol Pharm. 2022;19:1669-86. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00916.
40. Baltimore D, Berg P, Botchan M, Carroll D, Charo RA, Church G, et al. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. Science. 2015;348:36-8. doi: 10.1126/science.aab1028.
41. Cwik B. Revising, correcting, and transferring genes. Am J Bioeth. 2020;20:7-18. doi: 10.1080/15265161.2020.1783024.
42. National Academies of Sciences E, Medicine. Human genome editing: science, ethics, and governance. 2017.
43. Jokar MH, Sedighi S, Moradzadeh M. Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (HNPCC)/Lynch Syndrome: Surveillance and Diagnostic strategies. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2021;29:3453-61.
44. Thompson BA, Spurdle AB, Plazzer JP, Greenblatt MS, Akagi K, Al-Mulla F, et al. Application of a 5-tiered scheme for standardized classification of 2,360 unique mismatch repair gene variants in the InSiGHT locus-specific database. Nat Genet. 2014;46:107-15. doi: 10.1038/ng.2854.
45. Shirts BH, Casadei S, Jacobson AL, Lee MK, Gulsuner S, Bennett RL, et al. Improving performance of multigene panels for genomic analysis of cancer predisposition. Genet Med. 2016;18:974-81. doi: 10.1038/gim.2015.212.
46. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. Science. 2018;359:1350-5. doi: 10.1126/science.aar4060.
47. Mandal R, Samstein RM, Lee KW, Havel JJ, Wang H, Krishna C, et al. Genetic diversity of tumors with mismatch repair deficiency

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]

influences anti–PD-1 immunotherapy response. Science. 2019;364:485-91. doi: 10.1126/science.aau0447.
48. McGranahan N, Furness AJ, Rosenthal R, Ramskov S, Lyngaa R, Saini SK, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. Science. 2016;351:1463-9. doi: 10.1126/science.aaf1490.
49. Zhang Y, Zhang Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. Cell Mol Immunol. 2020;17:807-21. doi: 10.1038/s41423-020-0488-6.
50. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. CAR T cell immunotherapy for human cancer. Science. 2018;359:1361-5. doi: 10.1126/science.aar6711.
51. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, Van De Wetering M, Barker N, Stange DE, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature. 2009;459:262-5. doi: 10.1038/nature07935.
52. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. Nat Rev Cancer. 2018;18:407-18. doi: 10.1038/s41568-018-0007-6.
53. Tiriac H, Belleau P, Engle DD, Plenker D, Deschênes A, Somerville TD, et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer. Cancer Discov. 2018;8:1112-29. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0349.
54. Pauli C, Hopkins BD, Prandi D, Shaw R, Fedrizzi T, Sboner A, et al. Personalized in vitro and in vivo cancer models to guide precision medicine. Cancer Discov. 2017;7:462-77. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1154.
55. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. N Engl J Med. 2017;377:1713-22. doi: 10.1056/NEJMoa1706198.
56. Russell S, Bennett J, Wellman JA, Chung DC, Yu Z-F, Tillman A, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet 2017;390:849-60. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31868-8.
57. Dunbar CE, High KA, Joung JK, Kohn DB, Ozawa K, Sadelain M. Gene therapy comes of age. Science. 2018;359:eaan4672. doi: 10.1126/science.aan4672.
58. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. Genome Med. 2017;9:34. doi: 10.1186/s13073-017-0424-2.
59. June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. N Engl J Med. 2018;379:64-73. doi: 10.1056/NEJMra1706169.
60. Stadtmauer EA, Fraietta JA, Davis MM, Cohen AD, Weber KL, Lancaster E, et al. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. Science. 2020;367 :eaba7365. doi: 10.1126/science.aba7365.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-21]