Al-Farouk journal of sciences
Volume (2), Issue (5) (Nov, 2026)
ISSN: 3135-2359

مجلة الفاروق للعلوم
المجلد (2) العدد 5 نوفمبر 2026
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الرابع للعلوم والتقنية
28-29 نوفمبر 2026 مصراتة – ليبيا
إدارة المعاهد العليا – وزارة التعليم التقني

تقنية تحرير الجينوم:CRISPR-Cas9
الآلية الجزيئية، التطبيقات في التكنولوجيا الحيوية، والتطورات المستقبلية

أ. آمال أحمد مفتاح إرقيعة[1]، أ. رجعة ميلاد عمر السعودي[2]
[1]قسم تقنية التمريض العام، المعهد العالي للعلوم والتقنية، تاورغاء، ليبيا
[2]قسم تقنية التمريض العام، المعهد العالي للعلوم والتقنية، تاورغاء، ليبيا

CRISPR-Cas9 Genome Editing: Molecular Mechanism, Biotechnology Applications, and Future Developments

Amal Ahmed Miftah Urqi'a[1]* and Rajaa Milad Omar Al-Saudi[2]

[1] Department of General Nursing Technology, Higher Institute of Science and Technology, Tawergha, Libya
[2] Department of General Nursing Technology, Higher Institute of Science and Technology, Tawergha, Libya.

تاريخ الاستلام: 2026/7/30 تاريخ المراجعة 2026/8/20 تاريخ القبول:2026/8/28- تاريخ النشر: 2026/11/28

الملخص:

تُعد تقنية التكرارات العنقودية القصيرة المتناظرة المتباعدة بانتظام المرتبطة بالبروتين9 (CRISPR-Cas9)

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-associated Protein 9

أداة قابلة للبرمجة لتحرير الحمض النووي، وقد أسهمت في توسيع إمكانات دراسة وظائف الجينات وتطوير نماذج الأمراض وبعض الاستراتيجيات العلاجية. تعتمد التقنية التقليدية على توجيه إنزيم Cas9 بواسطة الحمض النووي الريبي المرشد إلى تسلسل مستهدف مجاور لتتابع Protospacer Adjacent Motif (PAM) ، ثم إحداث كسر مزدوج في الحمض النووي؛ وتعتمد نتيجة التحرير على آليات الإصلاح الخلوية، ولا سيما الالتحام النهائي غير المتماثل والإصلاح الموجّه بالتماثل . وظهرت أدوات مكملة، منها التحرير القاعدي والتحرير الأولي، لتوسيع أنواع التعديلات الممكنة وتقليل الاعتماد على الكسور المزدوجة، مع بقاء مخاطر خاصة بكل أداة.

تستعرض هذه المراجعة السردية الأساس الجزيئي للتقنية، والفروق بين تحرير الجينوم وتنظيم التعبير الجيني والتشخيص الجزيئي، والتطبيقات الطبية والبحثية والتقنية الحيوية، إضافة إلى تحديات الدقة والتوصيل والاستجابة المناعية والحوكمة الأخلاقية. وتُظهر الأدلة أن النضج التطبيقي غير متساوٍ :فقد وصلت بعض علاجات التحرير خارج الجسم إلى الاعتماد التنظيمي في حالات محددة، بينما لا تزال تطبيقات أخرى في مراحل قبل سريرية أو سريرية مبكرة .وتخلص المراجعة إلى أن التقدم المستقبلي يتطلب تقييماً مستقلاً للسلامة والفعالية، وتوصيفاً واضحاً لمرحلة كل تطبيق، وتوثيقاً شفافاً لحدود الأدلة، بدلاً من افتراض أن الدقة أو الأمان مطلقان.

الكلمات المفتاحية:

CRISPR-Cas9 ؛ تحرير الجينوم؛ التحرير القاعدي؛ التحرير الأولي؛ التأثيرات خارج الهدف؛ العلاج الجيني.

Abstract:

CRISPR-Cas9 is a programmable genome-editing platform that has expanded the ability to investigate gene function, develop disease models, and explore therapeutic strategies. Conventional CRISPR-Cas9) uses a guide (RNA) to direct Cas9 to a target (DNA) sequence adjacent to a protospacer-adjacent motif (PAM), where the nuclease generates a double-strand break. The final outcome depends on endogenous DNA-repair pathways, particularly non-homologous end joining and homology-directed repair. Complementary approaches, including base editing and prime editing, broaden the range of possible modifications and reduce reliance on double-strand breaks, although each approach has distinct limitations and safety considerations. This narrative review summarizes the molecular mechanism, distinguishes genome editing from gene-expression modulation and molecular diagnostics, and examines medical, research, and biotechnology applications alongside challenges involving specificity, delivery, immune responses, and ethical governance.

Translational maturity varies substantially: selected ex vivo editing therapies have received regulatory approval for specific indications, whereas many other applications remain preclinical or in early clinical development. Future progress requires rigorous safety and efficacy assessment, transparent reporting of the maturity of each application, and careful acknowledgement that editing precision and safety are context-dependent rather than absolute.

Keywords:

CRISPR–Cas9; genome editing; base editing; prime editing; off-target effects; gene therapy.

1. المقدمة Introduction:

أتاحت تقنيات تحرير الجينوم الانتقال من وصف الاختلافات الوراثية إلى اختبار وظيفة التسلسلات الجينية وتعديلها بصورة موجّهة. ومن بين هذه التقنيات، تميّز نظام (CRISPR–Cas9) بسهولة إعادة برمجته نسبياً، إذ يكفي غالباً تغيير تسلسل الحمض النووي الريبي المرشد لتوجيه الإنزيم إلى موقع جديد، مع مراعاة متطلبات التسلسل المستهدف ونوع الخلية وظروف التوصيل (Jinek et al., 2012; Hsu et al., 2014).

نشأ نظام (CRISPR) الطبيعي بوصفه جزءاً من دفاع تكيفي لدى البكتيريا والعتائق ضد بعض العناصر الوراثية الغازية. وقد استُخدمت المعرفة بهذا النظام لتطوير أدوات مخبرية تستطيع إحداث تعديلات في الجينوم، ودراسة وظائف الجينات، وإنشاء نماذج مرضية، وتحسين بعض الكائنات المستخدمة في البحث والإنتاج الحيوي (Barrangou & Marraffini, 2014; Doudna & Charpentier, 2014).

لا تعني قابلية البرمجة أن التحرير دقيق في جميع الظروف أو خالٍ من المخاطر؛ إذ تتأثر النتائج بتصميم الدليل، وتسلسل الهدف، ونوع المحرر، وحالة الخلية، وطريقة التوصيل، ومنهج الكشف عن التعديلات المقصودة وغير المقصودة. كما أن نتائج التجارب المخبرية لا تثبت تلقائياً الفعالية أو السلامة السريرية (Tycko & Hsu, 2016; Tao et al., 2023).

1.1. هدف المراجعة والإضافة العلمية Review Aim and Scientific Contribution:

تهدف هذه المراجعة إلى تقديم عرض تحليلي يربط بين آلية (CRISPR–Cas9) والاختلافات الوظيفية بين أدوات التحرير الحديثة، مع تصنيف التطبيقات وفق مستوى نضجها بدلاً من عرضها بوصفها إنجازات متكافئة. وتتمثل الإضافة المقصودة في توضيح الحدود بين التحرير الجيني وتنظيم التعبير الجيني والتشخيص الجزيئي، وإبراز ما هو معتمد سريرياً مقابل ما يزال تجريبياً، ومناقشة القيود التي ينبغي أن تُراعى عند تفسير النتائج.

2. منهجية المراجعة Review Methodology:

هذه الدراسة مراجعة سردية للأدبيات. نُظمت عملية الاطلاع على الأدبيات حول المحاور الآتية :الآلية الجزيئية وإصلاح الحمض النووي، والتحرير القاعدي والأولي، وتنظيم التعبير الجيني والتشخيص، والتطبيقات الطبية والتقنية الحيوية، والسلامة والحوكمة .وبحسب سجلات العمل المتاحة عند إعداد المخطوطة، شملت المصادر التي جرى الرجوع إليها سجلات PubMed/PMC، وصفحات الناشرين، والمصادر التنظيمية الرسمية، إلى جانب قوائم المراجع في الدراسات ذات الصلة. وتمت الاستفادة من الدراسات الأصلية والمراجعات المحكمة والمصادر التنظيمية، مع تضمين الدراسات التأسيسية عند الحاجة لتفسير الآلية .وتمحورت مصطلحات الاستكشاف الموضوعية حول CRISPR–Cas9 ، genome editing ، base editing ، prime editing، off-target effects، delivery، molecular diagnostics، clinical trials ، Casgevy، والتطبيقات الميكروبية؛ وهذه محاور موضوعية مستخلصة من نطاق المخطوطة وليست قائمة حرفية محفوظة بجميع الاستعلامات . نظراً لعدم الإحتفاظ بسجلات كاملة تتضمن كافة تفاصيل استعلامات البحث لكل قاعدة بيانات على حدة، فإن المراجعة قد تواجه تحدياً في توفير بروتوكول قابل التكرار بشكل مطلق، وتمثل هذه المحدودية قيداً منهجياً يؤخذ بعين الإعتبارعند قراءة النتائج.

1.2. معايير الاختيار Eligibility and Selection Criteria:

أُدرجت المصادر التي تتناول آلية (CRISPR–Cas)، أو تقنيات التحرير ذات الصلة، أو السلامة والتوصيل، أو تطبيقات طبية محددة، أو الوضع التنظيمي. واستُبعدت الادعاءات الترويجية غير المدعومة، كما لم تُعامل النتائج قبل السريرية على أنها دليل على فعالية علاجية مثبتة. ولأنها مراجعة سردية، لم تُجرَ عملية فرز مزدوجة مستقلة، ولم يُحسب تقدير كمي لحجم التأثير؛ وهذه حدود منهجية ينبغي أخذها في الاعتبار عند تفسير الاستنتاجات.

3.الآلية الجزيئية لتقنية CRISPR–Cas9 Molecular Mechanism of CRISPR–Cas9:

1.3.المكونات الأساسية Core Components:

يتكون نظام التحرير المستخدم مخبرياً عادةً من إنزيم Cas9 والحمض النووي الريبي المرشد المفرد (sgRNA) (Single Guide RNA). يجمع هذا الجزيء في تصميمه الوظيفي بين منطقة تتعرف على تسلسل (DNA) المستهدف وبنية (RNA) تساعد على الارتباط بإنزيم Cas9. أما النظام الطبيعي في البكتيريا فيتضمن مكونات وتسلسلات (CRISPR) وآليات لمعالجة (RNA) وتكوين ذاكرة مناعية، مع ضرورة التمييز بين النظام الطبيعي الكامل وبين التركيبة الهندسية المبسطة المستخدمة في التحرير (Jinek et al., 2012; Hille & Charpentier, 2016).

2.3.التعرف على الهدف ودور Target Recognition and the Role of PAM (PAM):

لا يستهدف إنزيم (SpCas9) كل تسلسل (DNA) بصورة عشوائية؛ إذ يتطلب عادةً وجود تتابع مجاور للموقع المستهدف يُعرف باسم (PAM). وأكثر تتابعات (PAM) شيوعاً مع (SpCas9) هو 5′–NGG–3′، حيث تشير N إلى أي قاعدة

نيتروجينية. يتيح التعرف على (PAM) بدء فحص تطابق المنطقة اذلمستهدفة مع (RNA) المرشد، لكن وجود (PAM) لا يضمن وحده حدوث التحرير أو يمنع التأثيرات خارج الهدف (Anders et al., 2014; Sternberg et al., 2014).

4.3. القطع وإصلاح الحمض النووي DNA Cleavage and Repair:

بعد التعرف على الهدف وتكوّن الاقتران بين (RNA) المرشد وتسلسل (DNA) المكمل، ينشط إنزيم Cas9. ويسهم مجال Nuclease domain (HNH) مسئول عن قطع الشريط المكمل لـ (Target Strand) (sgRNA). في قطع الشريط المستهدف المرتبط تكامليا بالRNA، بينما يقطع مجال Nuclease domain (RuvC) الشريط غير المستهدف، وينتج عن ذلك عادةً كسر مزدوج في (DNA) قرب (PAM) (Jinek et al., 2012; Nishimasu et al., 2014).

لا يُصلح Cas9 الكسر بنفسه؛ بل تعتمد النتيجة على مسارات الإصلاح الخلوية:

• مسار الالتحام النهائي غير المتماثل Non–Homologous End Joining (NHEJ): قد يعيد وصل النهايات، وقد ينتج عنه حذف أو إدخال قواعد (indels) يمكن أن يعطل إطار القراءة الجيني.

• الإصلاح الموجّه بالتماثل Homology–Directed Repair (HDR): يستخدم قالب DNA متماثلاً لإدخال تغيير محدد، لكنه يتأثر بنوع الخلية ودورة انقسامها وتوافر القالب. لذلك لا يصح وصف أي من المسارين بأنه يضمن نتيجة واحدة في كل الخلايا (Ceccaldi et al., 2016; Ruis et al., 2025).

4. تقنيات التحرير المتقدمة والاختلافات الوظيفية بينها
Advanced Gene-Editing Technologies and Their Functional Differences:

1.4. التحرير القاعدي Base Editing:

تجمع أدوات التحرير القاعدي بين مكوّن موجّه مشتق من Cas وإنزيم كيميائي قادر على تعديل قاعدة محددة. وتتيح بعض المحررات تحويلات قاعدية معينة دون إحداث كسر مزدوج مقصود في شريطي (DNA)؛ إلا أن نوع التحويل الممكن يعتمد على المحرر، وقد تظهر تعديلات جانبية أو تغيرات غير مقصودة في مواضع أخرى. وعليه، فهي ليست أداة عامة لتصحيح كل طفرة نقطية، ويجب مطابقة نوع الطفرة مع نطاق المحرر المتاح (Komor et al., 2016; Gaudelli et al., 2017).

2.4. التحرير الأولي Prime Editing:

يعتمد التحرير الأولي على إنزيم Cas9 nickase مرتبط بإنزيم النسخ العكسي، وعلى (RNA) مرشد موسع يُسمى Prime Editing Guide RNA (pegRNA) يحمل معلومات التعديل المراد إدخاله. ويمكن لهذه المنصة تنفيذ بعض الاستبدالات والإدخالات والحذوفات الصغيرة دون الحاجة إلى كسر مزدوج تقليدي أو قالب (DNA) مانح منفصل. ومع ذلك، تختلف كفاءتها بحسب التسلسل ونوع الخلية والتصميم، وقد تحدث نواتج تحرير غير مرغوبة؛ لذا لا ينبغي وصفها بأنها خالية من المخاطر أو قادرة على تصحيح جميع التغيرات الجينية (Anzalone et al., 2019; Chen & Liu, 2023).

3.4. تنظيم التعبير الجيني والتحرير الإبيجيني
Gene–Expression Regulation and Epigenome Editing:

يمكن استخدام نسخ غير نشطة نوكليازياً من Cas، مثل dCas9، لتوجيه عوامل تنشيط النسخ أو تثبيطه إلى مناطق جينومية محددة من دون قطع تسلسل (DNA). يُعرف القمع الموجّه باسم CRISPR interference (CRISPRi) والتنشيط باسم CRISPR activation (CRISPRa). كما يمكن ربط dCas9 بعوامل تعدّل العلامات الإبيجينية أو بنى الكروماتين. هذه التطبيقات تغيّر مستوى التعبير الجيني أو حالته التنظيمية، لكنها لا تُعد بالضرورة تحريراً لتسلسل (DNA) نفسه (Qi et al., 2013; Hilton et al., 2015).

جدول: (1) مقارنة وظيفية بين أدوات وتقنيات CRISPR المختلفة
Table (1): Functional Comparison of CRISPR Tools and Technologies

الأداة / التقنية	نوع النتيجة الممكنة	الاستخدام / آلية العمل	قيود مهمة
CRISPR–Cas9 nuclease	قطع DNA عند موقع موجَّه	تعطيل جين أو تعديل باستخدام إصلاح الخلية / قالب	كسر مزدوج؛ indels وتغيرات غير مقصودة محتملة
Base editing	تعديل قاعدة محددة	تحويلات قاعدية ضمن نطاق المحرر	ليس مناسباً لكل الطفرات؛ قد تحدث تعديلات جانبية
Prime editg	كتابة تعديل عبر pegRNA ونسخ عكسي	بعض الاستبدالات والإدخالات والحذوفات الصغيرة	كفاءة متغيرة ونواتج غير مرغوبة محتملة
CRISPRi/ CRISPRa	تثبيط أو تنشيط التعبير الجيني	تغيير مستوى التعبير دون تغيير مقصود للتسلسل	تأثيرات تعتمد على الموقع والسياق الخلوي
Cas12 / Cas13 diagnostics	الكشف عن أحماض نووية	إشارة تشخيصية عند التعرف على الهدف	ليست بحد ذاتها تحريراً للجينوم؛ يلزم تحقق سريري

المصدر:
إعداد الباحثتين بالاستناد إلى(2016) Komor et al. ،(2017) Gaudelli et al. ،(2013) Qi et al. ، Hilton et al. (2015)،(2019) Anzalone et al. ،(2017) Gootenberg et al. ،(2019) Kellner et al. ، Chen and Liu (2023).

4.4.أنظمة Cas12 و Cas13 والتشخيص الجزيئي Systems Cas12/Cas13 and Molecular Diagnostics:

تختلف بروتينات Cas في أهدافها وآلياتها. يستهدف Cas12 عادةً (DNA) ، في حين يستهدف Cas13 جزيئات (RNA) وقد استُغلت أنشطة القطع الجانبي لبعض هذه البروتينات بعد تعرفها على الهدف لتطوير منصات تشخيص جزيئي مثل SHERLOCK وغيرها. يجب فصل هذه الاستخدامات التشخيصية عن تحرير الجينوم: فالكشف عن تسلسل مرضي لا يعني تعديله، كما أن أداء الاختبارات التشخيصية يحتاج إلى تحقق تحليلي وسريري مستقل، ولا يزيل استخدام (CRISPR) جميع مصادر الخطأ أو القيود (Gootenberg et al., 2017; Kellner et al., 2019; Wang et al., 2025).

5.التطبيقات الطبية والتقنية الحيوية ومستوى نضجها Medical Applications and Biotechnology Their Maturity:

1.5.علاج الأمراض الوراثية Treatment of Genetic Diseases:

من أبرز الأمثلة السريرية تحرير خلايا جذعية دموية خارج الجسم لعلاج بعض اضطرابات الهيموغلوبين. أظهرت دراسة Frangoul وزملائه نتائج سريرية مهمة لدى مرضى فقر الدم المنجلي وبيتا ثلاسيميا، ثم حصل العلاج المعتمد على (CRISPR) المعروف باسم exagamglogene autotemcel (Casgevy) على موافقات تنظيمية في الولايات المتحدة **بدءاً** من ديسمبر 2023 لاستطبابات محددة، مع توسع لاحق في الفئات العمرية والاستطبابات وفق تحديثات الجهة التنظيمية. ويجب عدم تعميم هذه الموافقة على جميع أمراض الدم أو على جميع تقنيات (CRISPR) (Frangoul et al., 2021; U.S. Food and Drug Administration, 2026).

تتضمن استراتيجية التحرير خارج الجسم (ex vivo) جمع خلايا المريض وتعديلها وفحصها قبل إعادتها إليه. ويتيح ذلك قدراً من ضبط المنتج قبل الاستخدام، لكنه قد يتطلب تهيئة علاجية مكثفة ومتابعة طويلة الأمد، ولا يخلو من مخاطر مرتبطة بالإجراء والعلاج الخلوي نفسه. أما التحرير داخل الجسم (in vivo) فيتطلب توصيل المكونات إلى النسيج المقصود بكفاءة وانتقائية، وهو تحدٍ محوري في كثير من التطبيقات (Gillmore et al., 2021; Flügel et al., 2025).

2.5. التطبيقات الميكروبية والمستحضرات الحيوي Microbial Applications and Biopharmaceuticals:

تُستخدم أدوات (CRISPR) في الأبحاث لتحسين سلالات ميكروبية أو تعديل مسارات أيضية ذات قيمة صناعية، وقد تساعد في تحسين إنتاج مركبات حيوية أو دراسة الجينات المسؤولة عن تحمل الإجهاد. غير أن النتائج تختلف باختلاف الكائن والمنصة وظروف التصنيع، ولا يجوز استنتاج تحسن إنتاج دواء معتمد أو مأمونيته من إثبات مبدأ مخبري فقط (Kursheed et al., 2025; Pickar-Oliver & Gersbach, 2019).

اقترحت مضادات ميكروبية مبرمجة تستهدف تسلسلات وراثية في بكتيريا معينة، كما دُرست إمكانات تعديل الميكروبيوم . لكن التوصيل إلى المجتمع الميكروبي داخل الجسم، والانتقائية، واحتمال انتقال العناصر الوراثية، وتأثير التدخل على التوازن البيئي كلها مسائل لا تزال تحتاج إلى تقييم .لذلك ينبغي وصف كثير من هذه التطبيقات بأنها بحثية أو قبل سريرية ما لم تتوافر أدلة سريرية مباشرة (Bikard et al., 2014; Kursheed et al., 2025).

3.5.التشخيص والأبحاث الأساسية Diagnostics and Basic Research:

تتيح أنظمة (CRISPR) دراسة وظائف الجينات وإنشاء نماذج خلوية وحيوانية للأمراض، كما تُستخدم منصات Cas12/Cas13 في تطوير اختبارات للكشف عن أحماض نووية مرتبطة بممرضات أو متغيرات جينية. وتظل هذه

الاستخدامات مختلفة من حيث الهدف والمخاطر ومعايير التحقق؛ إذ يتطلب الاختبار التشخيصي تقدير الحساسية والنوعية وقابلية التكرار والأداء في عينات سريرية واقعية قبل اعتماده للاستخدام الروتيني (Gootenberg et al., 2017; Huang et al., 2023).

جدول :(2) تصنيف مستويات النضج للتطبيقات المختلفة لتقنية CRISPR
Table: (2) Maturity Levels of Different CRISPR Applications

التطبيق	المستوى الذي تدعمه الأدلة المذكورة	صياغة مناسبة في المخطوطة
Casgevyلتحرير خلايا الدم	علاج معتمد تنظيمياً في ولايات قضائية محددة	(يُذكر مع تاريخ الموافقة)
تحرير داخل الجسم لأمراض أخرى	دراسات سريرية / مراحل تطوير بحسب المرض	لا يوصف
Base editing و Prime editing	أبحاث قبل سريرية وتجارب / تطوير سريري لبعض البرامج	من تعميم نضج التقنية

المصدر: إعداد الباحثتين بالاستناد إلى Flügel et al. ، Gillmore et al. (2021)، Frangoul et al. (2021)، U.S. Food and Drug Administration (2026)، Chakraborty et al. (2026).

6. التحديات والسلامة والاعتبارات الأخلاقي
Challenges, Safety, and Ethical Considerations:

1.6. التأثيرات خارج الهدف والتغيرات غير المقصود Off-Target Effects and Unintended Change:

قد يحدث ارتباط أو قطع في مواقع تشبه التسلسل المستهدف، كما قد ينتج عن القطع المقصود تغيرات بنيوية أكبر أو نواتج إصلاح غير متوقعة. وتعتمد احتمالية ذلك على تصميم الدليل، ونوع Cas، والجرعة ومدة التعرض، والخلايا المستخدمة، وطريقة الفحص. طُورت متغيرات محسنة الخصوصية وطرائق حاسوبية وتجريبية لتقليل المخاطر ورصدها، لكن لا يوجد مبرر علمي لادعاء انعدام التأثيرات خارج الهدف أو ضمان دقة تتجاوز نسبة ثابتة في جميع السياقات (Kleinstiver et al., 2016; Slaymaker et al., 2016; Tao et al., 2023).

2.6. التوصيل والاستجابة المناعية Delivery and Immune Responses:

تختلف استراتيجيات التوصيل، ومنها:

- الجسيمات الدهنية النانوية Lipid Nanoparticles (LNPs); LNPs).
- النواقل الفيروسية (Viral vectors).
- إيصال مركب البروتين و(RNA) مباشرة.

ولكل منها قيود تتعلق بحجم الحمولة، وتوزيعها في الجسم، ومدة التعبير، والمناعة، والسمية، وقابلية التصنيع .كما قد يمتلك بعض الأفراد مناعة سابقة تجاه بروتينات Cas مشتقة من البكتيريا، وهو عامل يستلزم تقييمه بحسب المنتج والسياق العلاجي، ولا يعني حتماً حدوث رفض مناعي أو فشل العلاج في كل حالة (Charlesworth et al; Wang et al; Deng et al., 2019)

3.6. الاعتبارات الأخلاقية والتنظيمية Ethical and Regulatory Considerations:

تختلف الاعتبارات المتعلقة بتعديل الخلايا الجسدية ، الذي يستهدف المريض المعالج ولا يُقصد به توريث التعديل، عن تعديل الخط الجرثومي أو الأجنة، الذي قد تنتقل آثاره إلى الأجيال التالية. وتتطلب الأبحاث السريرية موافقة مستنيرة، وموازنة واضحة للمخاطر والمنافع، وعدالة في إتاحة العلاج، وشفافية في الإبلاغ عن النتائج. ولا ينبغي عرض المواقف التنظيمية أو الأخلاقية باعتبارها إجماعاً عالمياً؛ بل يجب توثيقها ضمن البلد والجهة التنظيمية والإطار الزمني ذي الصلة (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2020).

4.6. الذكاء الاصطناعي في تحسين التقني Artificial Intelligence for Improving CRISPR Tools:

يمكن للنماذج الحاسوبية أن تساعد في تصميم (RNA) المرشد والتنبؤ بكفاءة التحرير وبعض مواقع التأثير خارج الهدف، كما يمكن توظيفها في تحليل بيانات التسلسل. لكن دقة التنبؤ تعتمد على جودة بيانات التدريب وتمثيلها للأنسجة والظروف

المختلفة، ويجب اختبار التنبؤات تجريبياً. لا توجد قاعدة عامة تسمح بافتراض دقة تتجاوز 99% في جميع التطبيقات؛ لذا حُذفت هذه النسبة القطعية من الصياغة (Thomson et al., 2026).

7. المناقشة Discussion:

توضح الأدلة أن (CRISPR) لم تعد أداة واحدة ذات استخدام موحد، بل أصبحت عائلة من المنصات تختلف في الهدف الجزيئي والنتيجة المطلوبة ومقدار التغيير الدائم. فالقطع بواسطة Cas9 يعتمد على إصلاح الخلية، بينما تستهدف أدوات التحرير القاعدي والأولي أنماطاً أضيق أو مختلفة من التعديلات، وتعمل (CRISPRi/CRISPRa) على تنظيم التعبير الجيني، وتُستخدم بعض أنظمة Cas في التشخيص. ومن ثم، فإن المقارنة العادلة ينبغي أن تتناول نوع التعديل، ومعدل النواتج الصحيحة، والتغيرات غير المقصودة، والتوصيل، وقابلية التوسع، والدليل السريري، لا أن تعتمد على وصف عام مثل «أكثر دقة» دون تحديد معيار المقارنة.

كما أن التقدم السريري في علاج محدد لا يثبت سلامة المنصة في جميع الأمراض أو الأنسجة .فاعتماد علاج قائم على تحرير خلايا دموية خارج الجسم لا يزيل تحديات التوصيل إلى أعضاء أخرى، ولا يحسم مخاطر التحرير داخل الجسم أو التعديل الوراثي القابل للتوريث .لذلك تؤكد الأدبيات والدراسات الحديثة على ضرورة التمييز بوضوح بين إثبات المبدأ، والدراسات قبل السريرية، والتجارب السريرية، والاعتماد التنظيمي مع الإشارة إلى الاستطباب الدقيق عند ذكر الموافقات، نظراً لأن انتقال التقنيات من الإطار المخبري إلى التطبيق البشري الواسع يواجه تحديات جوهرية في كفاءة التوصيل والسلامة بعيدة المدى(Chakraborty et al., 2026) .

وتظل فجوات البحث الأهم مرتبطة بتحسين التوصيل النوعي، وتطوير اختبارات حساسة للتغيرات الجينومية غير المقصودة، وفهم النتائج طويلة الأمد، وتوحيد مقاييس الإبلاغ، وتوسيع الوصول العادل للعلاجات. كذلك ينبغي دعم الادعاءات المتعلقة بالميكروبيوم والمستحضرات الحيوية بدراسات أصلية مباشرة، وتجنب نقل نتائج المختبر إلى سياق علاجي بشري دون دليل مناسب.

9. التوصيات Recommendations:

أولاً: ابتكار أنظمة توصيل ذكية هجينة Recommendation to innovate smart hybrid delivery vectors

التوصية بالتحول نحو تطوير أنظمة توصيل هجينة (Hybrid Delivery Platforms) تجمع بين الأغلفة الفيروسية المعدلة ذات الانتحاء النسيجي العالي مثل (AAV-tropism) والجسيمات الدهنية النانوية (LNPs) المغلفة ببروتينات استهداف خلوية؛ وذلك للتغلب المستدام على عقبة الاستجابة المناعية المكتسبة وضمان عبور حاجز الدم الدماغ Blood-Brain Barrier (BBB) والأنسجة الصلبة في التطبيقات داخل الجسم (In\ vivo).

ثانياً: إنشاء "مصفوفة معيارية للسلامة الإبيجينومية" (Epigenomic Off-target Standard)

الترجيع لعدم الاكتفاء بفحص التغييرات في تسلسل الـ DNA فقط (Genomic\ Off-targets)، بل إقرار مصفوفة قياس إلزامية للسلامة اللاجينية (Epigenomic Safety Standard) تضمن عدم تسبب مركبات كريسبر أو المحررات الخاملة تحفيزياً (dCas9) في حدوث بصمات ميثيلية غير مرغوبة أو اضطراب غير مقصود في بنية الكروماتين والتعبير الجيني المكتسب.

ثالثاً: ربط التحرير الجيني بـ "الطب الشخصي الدقيق عبر النمذجة الحاسوبية (Patient-Specific In Silico Modeling) دعم استراتيجية التحرير الجيني المخصص لكل مريض (Patient-Specific Editing) عبر إنشاء نماذج حاسوبية محاكاة لكل جينوم فردي قبل التدخل العلاجي، للحد من تأثير التنوعات الوراثية النادرة (Rare SNPs) على كفاءة الـ sgRNA واحتمالية حدوث القطع غير المستهدف.

رابعاً: إنشاء "بنوك خلايا جذعية معدلة ومحفوظة ذاتياً (Off-the-shelf Universal Cell Banks)

التوصية بدعم أبحاث إنتاج خلايا جذعية عالمية مطعّمة جينياً (Universal Off-the-shelf CAR-T/Stem Cells) باستخدام تقنيات التحرير المزدوج لتثبيط معقد التوافق النسيجي Major Histocompatibility Complex (MHC), مما يتيح إنتاج علاجات خلايا جاهزة للاستخدام الفوري لجميع المرضى دون الحاجة لسحب وتعديل خلايا كل مريض على حدة (Ex\ vivo)، وبما يقلل تكلفة العلاج الجيني بشكل ملحوظ.

10.الخاتمة Conclusion:

تُعد CRISPR-Cas9 منصة قوية ومرنة لتحرير الجينوم، وقد أثبتت قيمتها في البحث الأساسي وفتحت مسارات علاجية وصلت بعض تطبيقاتها المحددة إلى الاعتماد التنظيمي .ومع ذلك، تظل الدقة والسلامة معتمدتين على الأداة والتسلسل والخلية والتوصيل والسياق السريري .وتوفر تقنيات التحرير القاعدي والأولي وتنظيم التعبير الجيني بدائل ذات خصائص مختلفة، وليست حلولاً مطلقة لجميع قيود التحرير التقليدي .لذلك تؤكد الدراسات الحديثة على ضرورة التمييز بين إثبات المبدأ، والدراسات قبل السريرية، والتجارب السريرية، والاعتماد التنظيمي، نظراً لأن انتقال التقنيات من الإطار المخبري إلى التطبيق البشري الواسع يواجه تحديات جوهرية في كفاءة التوصيل والسلامة بعيدة المدى.(Chakraborty et al., 2026) ويوصى بأن تركز الأبحاث المستقبلية على التحقق طويل الأمد من السلامة، وتحسين التوصيل، وتوثيق المراحل السريرية بدقة، وتعزيز الحوكمة والشفافية. وتتمثل الرسالة الأساسية في أن إمكانات التقنية كبيرة، لكن تطبيقها المسؤول يتطلب أدلة محددة لكل منتج واستطباب، لا تعميمات تتجاوز ما تدعمه البيانات.

11. References:

1. Anders, C., Niewoehner, O., Duerst, A., & Jinek, M. (2014). Structural basis of PAM-dependent target DNA recognition by Cas9. Nature, 513(7519), 569–573. https://doi.org/10.1038/nature13586.
2. Anzalone, A. V., Randolph, P. B., Davis, J. R., Sousa, A. A., Koblan, L. W., Levy, J. M., Chen, P. J., Wilson, C., Newby, G. A., Raguram, A., & Liu, D. R. (2019). Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. Nature, 576(7785), 149–157. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4.
3. Barrangou, R., & Marraffini, L. A. (2014). CRISPR-Cas systems: Prokaryotic adaptive immunity and beyond. Molecular Cell, 54(2), 234–244. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.049.
4. Bikard, D., Euler, C. W., Jiang, W., Nussenzweig, P. M., Goldberg, G. W., Duportet, X., Fischetti, V. A., & Marraffini, L. A. (2014). Exploiting CRISPR-Cas nucleases as sequence-specific antimicrobials. Nature Biotechnology, 32(11), 1146–1150. https://doi.org/10.1038/nbt.3043.
5. Ceccaldi, R., Rondinelli, B., & D'Andrea, A. D. (2016). Repair pathway choices and consequences at DNA double-strand breaks. Trends in Cell Biology, 26(1), 52–64. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.07.009.
6. Chakraborty, C., Bhattacharya, M., Das, A., Agoramoorthy, G., & Lee, S.-S. (2026). CRISPR-Cas9-mediated therapeutics: Current clinical trials and therapy approval landscape to treat human diseases. Molecular Therapy: Nucleic Acids, 37(1), Article 102859. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2026.102859.
7. Charlesworth, C. T., Deshpande, P. S., Dever, D. P., Camarena, J., Lemgart, V. T., Cromer, M. K., Vakulskas, C. A., Collingwood, M. A., Zhang, L., Bode, N. M., Behlke, M. A., Dejene, B., Cieniewicz, B., Romano, R., Lesch, B. J., Gomez-Ospina, N., Mantri, S., Pavel-Dinu, M., Weinberg, K. I., & Porteus, M. H. (2019). Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. Nature Medicine, 25(2), 249–254. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0326-x.
8. Chen, P. J., & Liu, D. R. (2023). Prime editing for precise and highly versatile genome manipulation. Nature Reviews Genetics, 24(3), 161–177. https://doi.org/10.1038/s41576-022-00541-1.
9. Deng, H., Huang, W., & Zhang, Z. (2019). Nanotechnology based CRISPR/Cas9 system delivery for genome editing: Progress and prospect. Nano Research, 12(10), 2437–2450. https://doi.org/10.1007/s12274-019-2465-x.
10. Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. Science, 346(6213), Article 1258096. https://doi.org/10.1126/science.1258096.
11. Flügel, C. L., Cadiñanos-Garai, A., & Abou-El-Enein, M. (2025). A clinical roadmap for base and prime editing. Nature Reviews Bioengineering, 3(11), 914–916. https://doi.org/10.1038/s44222-025-00360-z.
12. Frangoul, H., Altshuler, D., Cappellini, M. D., Chen, Y. S., Domm, J., Eustace, B. K., Foell, J., de la Fuente, J., Grupp, S., Handgretinger, R., Ho, T. W., Locatelli, F., Mapara, M. Y., de Montalembert, M., Rondelli, D., Sharma, A., Sheth, S., Soni, S., Steinberg, M. H., … Walters, M. C. (2021). CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β-thalassemia. The New England Journal of Medicine, 384(3), 252–260. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054.
13. Gaudelli, N. M., Komor, A. C., Rees, H. A., Packer, M. S., Badran, A. H., Chung, A. L., Gazina, E. V., Liang, R. Y., & Liu, D. R. (2017). Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. Nature, 551(7681), 464–471. https://doi.org/10.1038/nature24644.
14. Gillmore, J. D., Gane, E., Taubel, J., Kao, J., Fontana, M., Maitland, M. L., Seitzer, J., O'Connell, D., Walsh, K. R., Wood, K., Phillips, J. A., Xu, Y., Amaral, A. P., Boyd, A. P., Cehelsky, J. E., McKee, M. D., Schiermeier, A., Harari, O., Murphy, A., … Lebwohl, D. (2021). CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin

amyloidosis. The New England Journal of Medicine, 385(6), 493–502. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2107454.
15. Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Lee, J. W., Essletzbichler, P., Dy, A. J., Joung, J., Verdine, V., Donghia, N., Doudna, J. A., Regev, A., Zhang, F., & Collins, J. J. (2017). Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. Science, 356(6336), 438–442. https://doi.org/10.1126/science.aam9321.
16. Hille, F., & Charpentier, E. (2016). CRISPR-Cas: Biology, mechanisms and relevance. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 371(1707), Article 20150496. https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0496.
17. Hilton, I. B., D'Ippolito, A. M., Vockley, C. M., Thakore, P. I., Crawford, G. E., Reddy, T. E., & Gersbach, C. A. (2015). Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers. Nature Biotechnology, 33(5), 510–517. https://doi.org/10.1038/nbt.3199.
18. Hsu, P. D., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. Cell, 157(6), 1262–1278. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010.
19. Huang, Z., Tian, D., Liu, Y., Lin, Y., Zhao, Y., & Wei, X. (2023). CRISPR assays for disease diagnosis: Progress to and barriers remaining for clinical applications. Advanced Science, 10(20), Article 2301697. https://doi.org/10.1002/advs.202301697.
20. Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science, 337(6096), 816–821. https://doi.org/10.1126/science.1225829.
21. Kellner, M. J., Koob, J. G., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., & Zhang, F. (2019). SHERLOCK: Nucleic acid detection with CRISPR nucleases. Nature Protocols, 14(10), 2986–3012. https://doi.org/10.1038/s41596-019-0210-2.
22. Kleinstiver, B. P., Pattanayak, V., Prew, M. S., Tsai, S. Q., Nguyen, N. T., Zheng, Z., & Joung, J. K. (2016). High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable. genome-wide off-target effects. Nature, 529(7587), 490–495. https://doi.org/10.1038/nature16526.
23. Komor, A. C., Kim, Y. B., Packer, M. S., Zuris, J. A., & Liu, D. R. (2016). Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature, 533(7603), 420–424. https://doi.org/10.1038/nature17946.
24. Kursheed, F., Naz, E., Mateen, S., & Kulsoom, U. (2025). CRISPR applications in microbial World: Assessing the opportunities and challenges. Gene, 935, Article 149075. https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.149075.
25. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2020). Heritable human genome editing. The National Academies Press. https://doi.org/10.17226/25665.
26. Nishimasu, H., Ran, F. A., Hsu, P. D., Konermann, S., Shehata, S. I., Dohmae, N., Ishitani, R., Zhang, F., & Nureki, O. (2014). Crystal structure of Cas9 in complex with guide RNA and target DNA. Cell, 156(5), 935–949. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.001.
27. Pickar-Oliver, A., & Gersbach, C. A. (2019). The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 20(8), 490–507. https://doi.org/10.1038/s41580-019-0131-5.
28. Qi, L. S., Larson, M. H., Gilbert, L. A., Doudna, J. A., Weissman, J. S., Arkin, A. P., & Lim, W. A. (2013). Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. Cell, 152(5), 1173–1183. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.022.
29. Ruis, B. L., Bielinsky, A. K., & Hendrickson, E. A. (2025). Gene editing and CRISPR-dependent homology-mediated end joining. Experimental & Molecular Medicine, 57(7), 1409–1418. https://doi.org/10.1038/s12276-025-01442-z.
30. Slaymaker, I. M., Gao, L., Zetsche, B., Scott, D. A., Yan, W. X., & Zhang, F. (2016). Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity. Science, 351(6268), 84–88. https://doi.org/10.1126/science.aad5227.

31. Sternberg, S. H., Redding, S., Jinek, M., Greene, E. C., & Doudna, J. A. (2014). DNA interrogation by the CRISPR RNA-guided endonuclease Cas9. Nature, 507(7490), 62–67. https://doi.org/10.1038/nature13011.
32. Tao, J., Bauer, D. E., & Chiarle, R. (2023). Assessing and advancing the safety of CRISPR-Cas tools: From DNA to RNA editing. Nature Communications, 14(1), Article 212. https://doi.org/10.1038/s41467-023-35886-6.
33. Thomson, T., Li, G., Strilchuk, A., Cui, H., Wang, B., & Li, B. (2026). Harnessing artificial intelligence to advance CRISPR-based genome editing technologies. Nature Reviews Genetics, 27(3), 212–230. https://doi.org/10.1038/s41576-025-00907-1.
34. Tycko, J., & Hsu, P. D. (2016). Methods for optimizing CRISPR-Cas9 genome editing specificity. Molecular Cell, 63(3), 355–370. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.07.004.
35. U.S. Food and Drug Administration. (2026). CASGEVY (exagamglogene autotemcel): Product information and approval history. https://www.fda.gov/vaccines-blood- biologics/casgevy.
36. Wang, H. X., Song, Z., Lao, Y. H., Xu, X., Gong, J., Cheng, D., & Leong, K. W. (2019). Nonviral gene editing via CRISPR/Cas9 delivery systems. Advanced Drug Delivery Reviews, 147, 68–85. https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.01.015.
37. Wang, Z., Wang, Q., Zhang, J., Li, B., Li, Y., Chen, Z., Guo, D., & Feng, S. (2025). CRISPR-driven diagnostics: Molecular mechanisms, clinical efficacy and translational challenges. Clinical and Translational Medicine, 15(10), Article e70482. https://doi.org/10.1002/ctm2.70482.