مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۸، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۴

شاپای چاپی: ۰۶۳۲ – ۲۷۱۷، شاپای الکترونیکی: ۹۸۰۴ - ۲۷۱۶

ویرایش آغازین: گامی نو در راستای کاهش نگرانی‌های ایمنی‌زیستی در مسیر ویرایش ژنوم گیاهان

نوع مقاله: مروری 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9

صدیقه سادات سیددعائیان، ابراهیم دورانی*

گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

dorani@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۵

صفحه ۳۰-۱۳

چکیده

رشد سریع جمعیت و تغییرات اقلیمی توسعه محصولات زراعی با عملکرد بالا و مقاوم به تنش‌ها را به یک ضرورت جهانی تبدیل کرده است. ظهور فناوری‌های ویرایش ژنوم مانند CRISPR-Cas9 تحولی در این زمینه ایجاد کرده‌اند، اما نگرانی‌های ایمنی‌زیستی ناشی از ایجاد شکست‌های دو رشته‌ای دی‌ان‌ا و اثرات خارج از هدف، کاربرد آن در گیاهان را با موانعی مواجه ساخته است. ویرایش آغازین به عنوان نسل جدیدی از ابزارهای ویرایش ژنوم، بدون نیاز به ایجاد شکست‌های دورشته‌ای و کاهش قابل توجه اثرات خارج از هدف قادر است انواع جهش‌ها را بدون نیاز به دی‌ان‌ای دهنده خارجی انجام دهد. به همین دلیل، علی‌رغم محدودیت‌های ویرایش آغازین مانند کارایی پایین آن در گیاهان و محدودیت توالی‌هایPAM، این فناوری همچنان از پتانسیل زیادی برای توسعه محصولات برتر کشاورزی برای اهداف مختلف، از جمله افزایش عملکرد، ایجاد مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی، و بهبود کیفیت محصول گیاهی برخوردار است. برهمین اساس این مقاله با هدف معرفی اجمالی این فناوری به عنوان گامی نو در راستای کاهش نگرانی‌های ایمنی‌زیستی ناشی از فناوری‌های ویرایش ژنوم در گیاهان شکل گرفته است.

واژه‌های کلیدی: امنیت غذایی، دست‌ورزی ژنتیکی، کریسپر، ویرایش ژنوم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

مقدمه

جامعه جهانی امروز جهت تأمین امنیت غذایی با چالش‌های جدی، نظیر رشد روزافزون جمعیت، کاهش منابع و تغییرات اقلیمی مواجه است (Brock *et al*., 2025). برای مقابله با این چالش‌ها توسعه ارقام زراعی با کیفیت و عملکرد بالا و مقاوم به بیماری‌ها و تنش‌ها از مهمترین وظایف کشاورزی مدرن است (Tian *et al*., 2025). اگرچه پیش از این روش‌های سنتی به‌نژادی پاسخگوی نیازهای بشر بودند اما اکنون باتوجه به چالش‌های موجود و محدودیت‌های روش‌های سنتی، شامل چرخه‌های طولانی به‌نژادی، وابستگی شدید به تنوع ژنتیکی موجود و دشواری در دست‌یابی به بهبود صفات به صورت دقیق و کارآمد، نیاز به فناوری‌های جدید برای پاسخگویی به نیازهای تغذیه‌ای حال و آینده بشر بیش از گذشته است (Ahmad *et al*., 2020). با افزایش نیاز به تکنولوژی‌های جدید در حوزه تولید محصولات کشاورزی، نگرانی‌های حاصل از کاربرد فناوری‌های جدید و اهمیت توجه به ایمنی‌زیستی نیز افزایش یافته است. ایمنی‌زیستی مفهومی است برای حصول اطمینان از بی‌خطر بودن محصولات بیوتکنولوژی مدرن و موجودات تراریخته که از طریق مهندسی ژنتیک تولید می‌شوند (Alalwani *et al*., 2024). محصولات تراریخته محصولاتی هستند که ژنوم آن‌ها با استفاده از مهندسی ژنتیک و وارد ساختن یک یا چند توالی دی‌ان‌ای خارجی دچار تغییر شده است. این قطعات جدید می‌توانند موجب بروز صفات مفید و بهبودیافته‌ای درگیاه شوند که دست‌یابی به آن‌ها از طریق روش‌های متداول به‌نژادی دشوار و یا بسیار زمان‌بر است (Permyakova and Deineko, 2024). اگرچه در حال حاضر فناوری‌هایی مانند تولید محصولات تراریخته پیشرفت‌های بسیاری داشته و رویکرد ساده‌تری را ارائه داده است (Alemzadeh, 2024). اما با چالش‌هایی همچون فرآیندهای طولانی جهت تایید تجاری محصولات، موانع نظارتی سخت و پیچیده و افکار منفی مواجه است و همین امر بهره‌مندی از این تکنیک را با پیچیدگی‌هایی روبرو ساخته است (Tuncel *et al*., 2023). علی‌رغم وجود تمام این موانع، توسعه ارقام جدید همچنان یک نیاز ضروری است. لذا برای پاسخ به این نیاز فناوری‌های ویرایش ژن، که از لحاظ ملاحظات ایمنی‌زیستی با چالش‌های کمتری همراه هستند، پدید آمدند. تکنیک‌های ویرایش ژنوم می‌توانند به عنوان تکنیک به‌نژادی جایگزین برای تولید محصولات کشاورزی مطلوب به کار گرفته شوند (Permyakova and Deineko, 2024). در این میان روش CRISPR/Cas9 به پرکاربردترین و پیشرفته‌ترین تکنیک ویرایش ژنوم تبدیل شده و فرصت‌های قابل توجهی را برای بهبود گیاهان زراعی و مطالعه عملکرد ژن‌ها فراهم کرده است (Zhang *et al*., 2021). فناوری CRISPR/Cas9 قادر است بدون افزودن دی‌ان‌ای خارجی و با استفاده از قیچی‌های مولکولی تغییرات ژنتیکی مشابه با جهش‌های طبیعی ایجاد کند. قیچی‌های مولکولی پس از ویرایش می‌توانند از سلول‌ها حذف شوند و همین امر موجب کاهش نگرانی‌های مرتبط با محصولات آن‌ها در برخی کشورها است (VanVu *et al*., 2022). سیستم CRISPR/Cas با کمک آران‌ای راهنما، دی‌ان‌ا را هدف‌گیری کرده و شکست دو رشته‌ای ایجاد می‌کند. این شکست‌ها توسط دو مسیر ترمیم اتصال انتهای غیر همولوگ (NHEJ) و ترمیم نوترکیبی همولوگی (HDR) بازسازی می‌شوند. ترمیم اتصال انتهای غیر همولوگ معمولا منجر به درج‌ها یا حذف‌های تصادفی می‌شود. ترمیم نوترکیبی همولوگی می‌تواند درج‌های دقیق ژنی تولید کند، اما فراوانی وقوع آن درگیاهان کم بوده و نیازمند دی‌ان‌ای اهدا کننده است (Vats *et al*., 2024). به طور کلی سیستم‌های مبتنی بر شکست‌های دو رشته‌ای با موانعی نظیر تولید محصولات غیر هدف،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

چالش‌های مرتبط با فراهم ساختن الگوهای دهنده در گیاهان و وجود برش‌های خارج از هدف مواجه هستند (Lazzarotto *et al.*, 2020; Gallo *et al.*, 2025; Pandit and Bohara, 2025). برهمین اساس می‌توان گفت علی‌رغم موفقیت‌های حاصل از کاربرد CRISPR/Cas9، این فناوری نیز با مشکلات متعدد مواجه است. برای حل این مشکلات فناوری‌های ویرایش ژن بدون نیاز به ایجاد شکست‌های دورشته‌ای و الگوی دهنده، شامل ویرایش پایه و ویرایش آغازین، شکل گرفتند (Matres *et al.*, 2021). ویرایش پایه متشکل از ترکیب nCas9 با آنزیم دآمیناز دی‌ان‌ا است. دآمینازهای سیتیدین تبدیل جفت‌بازهای C.G به T.A و دآمینازهای آدنوزینی تبدیل جفت‌پایه‌های A.T به G.C را انجام می‌دهند (Anzalone *et al.*, 2020). ویرایشگرهای آغازین برخلاف ویرایشگرهای پایه که محدود در ۴ جهش انتقالی هستند محدودیتی در این زمینه ندارند (Pandit and Bohara, 2025). ویرایش آغازین با استفاده از یک آران‌ای راهنمای ویرایش آغازین (pegRNA)، مجموعه nCas9 (H840A یا D10A) و آنزیم رونوشت‌بردار معکوس (RT) را به جایگاه مشخص در ژنوم هدایت می‌کند. این مجموعه امکان ایجاد تغییرات در مکان‌های هدف را از طریق بخش بسط یافته آران‌ای راهنمای ویرایش آغازین و با اتکا به فعالیت رونوشت‌بردار معکوس فراهم می‌کند. محصول حاصل یک فلاپ ۳۰ نوکلئوتیدی خواهد بود که می‌توان آن را از طریق مجموعه‌ای از مراحل زیست‌مولکولی مرتبط با مسیرهای ترمیم و همانندسازی دی‌ان‌ا در جایگاه ژنومی مورد نظر وارد کرد (Vu *et al.*, 2024). ویرایش آغازین، فناوری ویرایش ژنوم به سبک جست و جو و جایگزینی است که توانایی آن در درج‌ها، حذف‌ها، تمام تبدیل‌های ممکن پایه به پایه و ترکیب‌های آن‌ها بدون ایجاد شکست دو رشته‌ای در سلول‌های انسانی به اثبات رسیده است (Anzalone *et al.*, 2019). این فناوری با حذف نیاز به شکست دو رشته‌ای دی‌ان‌ا، کاهش چشمگیر جهش‌های خارج از هدف، رفع مشکل اثر همسایگی و استقلال از الگوی دی‌ان‌ا خارجی، انقلابی در ویرایش ژنوم بوده و مزایای ایمنی‌زیستی قابل توجهی نسبت به روش‌های قبلی ارائه می‌دهد (Anzalone *et al.*, 2019; Hua *et al.*, 2022). در گیاهان نیز مطالعات انجام شده روی برنج و گندم، نشان داده است ویرایش آغازین در گیاهان برای ویرایش عناصر تنظیمی، تصحیح جهش‌های نقطه‌ای و ایجاد مقاومت به علف‌کش با موفقیت استفاده شده است (Lin *et al.*, 2020). اگرچه ویرایش آغازین در سیستم‌های گیاهی هنوز در مراحل اولیه خود است اما نتایج بدست آمده نشان دهنده پتانسیل بسیار زیاد این روش برای بهبود دقیق صفات محصولات کشاورزی است (Nayagam, 2025). بر همین اساس و با توجه به مزایای ایمنی‌زیستی ویرایش آغازین نسبت به فناوری‌های پیشین ویرایش ژنوم، هدف این مقاله آشنایی بیشتر با کاربرد این فناوری در گیاهان و مزایای ایمنی‌زیستی آن نسبت به سایر روش‌ها است.

ضرورت ویرایش ژنوم در گیاهان

جامعه بشری در قرن حاضر با چالش‌های چندگانه‌ای نظیر تغییرات اقلیمی، کاهش منابع و رشد مداوم جمعیت مواجه است. این چالش‌ها تامین امنیت غذایی در سطح جهان را با مشکلات بیشتری همراه ساخته است (Tian *et al.*, 2025). تنش‌های زیستی و غیر زیستی هزینه‌ای بالغ بر میلیاردها دلار از نظر خسارت به محصولات کشاورزی به دلیل عوامل زیستی و تغییرات اقلیمی ایجاد می‌کنند (Saurabh, 2021). برای مقابله با این مشکلات، توسعه ارقام گیاهی با عملکرد بالا همراه با افزایش کیفیت و افزایش مقاومت این گیاهان نسبت به انواع تنش‌های زیستی و غیر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

زیستی از ضروری‌ترین نیازهای عصر حاضر در بخش کشاورزی است (Tian *et al*., 2025).

اگرچه روزگاری روش‌های سنتی به‌نژادی با انقلاب سبز نقش مهمی در کشاورزی و تامین نیازهای بشر در این حوزه ایفا کردند اما امروزه محدودیت‌های این روش‌ها شامل چرخه‌های طولانی به‌نژادی، وابستگی شدید آن‌ها به تنوع ژنتیکی موجود و دشواری در دستیابی به بهبود دقیق و کارآمد صفات و چالش‌های موجود در این حوزه مانع از توانمندی روش‌های سنتی در رفع نیازها و بهبود تأمین امنیت غذایی است (Gelvin, 2018). حفظ تأمین پایدار محصولات کشاورزی و در عین حال بهبود محتوای تغذیه‌ای آن‌ها در جهت مقابله با تغییرات اقلیمی نیازمند بهره‌مندی از راهبردهای نوآورانه به‌نژادی در کشاورزی است و فناوری ویرایش ژنوم از مهمترین این راهبردها است (Bortesi *et al*., 2016; Zhang *et al*., 2018a). ویرایش ژنوم نسبت به فناوری‌های پیشین مانند فناوری تولید محصولات تراریخته نیز مزایای متعددی دارد، مهم‌تر از همه اینکه امکان جهش هدفمند و تک ژنی را در سراسر ژنوم گیاه فراهم می‌کند (Lassoued *et al*., 2019). مجموعه ابزارهای ویرایش ژن شکل ساده‌تر، کاربردی‌تر و دقیق‌تری از جهش‌زایی را ارائه می‌دهند که انتقال صفت مطلوب به نسل‌های بعد را بدون از دست دادن هیچ اثربخشی تسهیل می‌کند (Georges and Ray, 2017). از سوی دیگر دستیابی به بسیاری از اهداف در زیست‌شناسی گیاهی، مانند اصلاح جهش‌های نقطه‌ای، ایجاد چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی و ایجاد حذف و یا درج‌های چندنوکلئوتیدی مستلزم توانمندی در ویرایش دقیق ژنوم گیاهان است (Hassan *et al*., 2020).

در حال حاضر از ویرایش ژنوم برای دستیابی به صفات مهم زراعی و کیفی در محصولات زراعی به ویژه غلات استفاده شده است. این صفات شامل ویژگی‌های موثر در کاهش اثرات تغییرات اقلیمی، تحمل به تنش‌های زیستی، عملکرد بیشتر، ساختار گیاهی بهینه‌تر، کیفیت دانه و محتوای تغذیه‌ای بهبودیافته و تولید محصولات ایمن‌تر می‌شود (Matres *et al*., 2021). در این راستا به عنوان نمونه می‌توان به تلاش‌ها و مطالعات محققان در زمینه تولید برنج و ذرت مقاوم به تنش خشکی (Shan *et al*., 2014; Lou *et al*., 2017; Shi *et al*., 2017)، برنج، ذرت، سیب‌زمینی، سویا و پنبه مقاوم به علف‌کش‌ها (D'Halluin *et al*., 2013; Li *et al*., 2015; Svitashev *et al*., 2015; Butler *et al*., 2016; Sun *et al*., 2016)، تنباکوی مقاوم به ویروس پیچیدگی بوته چغندر(Ji *et al*., 2015)، برنج مقاوم به بیماری بلاست (Wang *et al*., 2016)، گندم مقاوم به سفیدک پودری (Wang *et al*., 2014)، پنبه مقاوم به پژمردگی ورتیسیلیومی (Zhang *et al*., 2018b)، افزایش محتوای بتاکاروتن در برنج (Dong *et al*., 2020) و افزایش محتوای گاما آمینو بوتیریک اسید در گوجه (Nonaka *et al*., 2017) اشاره کرد. اگرچه همه صفات را نمی‌توان از طریق ویرایش ژنوم به دست آورد و نیاز به رفع برخی چالش‌های فنی و نظارتی موجود است تا این فناوری بتواند به پتانسیل کامل خود دست یابد، با این حال، ویرایش ژنوم در حال حاضر انقلابی در بهبود محصولات کشاورزی به ویژه غلات ایجاد کرده است و آماده است تا همراه با سایر نوآوری‌های به‌نژادی، کشاورزی ایمن‌تر و مطلوب‌تری را شکل دهد (Matres *et al*., 2021).

فناوری‌های ویرایش ژنوم در گیاهان

ویرایش ژنوم اصطلاحی است برای اشاره به مجموعه‌ای از تکنیک‌ها که امکان ایجاد تغییرات دقیق و مشخص در ژن‌های هدف را فراهم می‌کنند. به عبارتی ویرایش ژنوم را می‌توان جهش‌زایی هدفمند نامید (Brock *et al*., 2025). پیش از اواسط دهه‌ی ۱۹۹۰، ابزارهای تغییر ژنتیک عمدتاً وابسته به تکنیک‌های پرزحمت و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

وقت‌گیر شامل جهش‌زایی تصادفی، ایجاد تراریختی و هدف‌گیری ژن‌ها با ناقل‌های نوترکیبی همولوگ بودند (Luo *et al.*, 2025). ویرایش ژنوم مبتنی بر نوکلئازهای انگشت‌روی که از اتصال اختصاصی توالی یک پروتئین انگشت‌روی به یک دی‌ان‌ای نوکلئاز تشکیل شده است در سال ۱۹۹۶ معرفی شد (Kim *et al.*, 1996). این فناوری منجر به ایجاد اولین جاندار ویرایش شده ژنومی یعنی مگس سرکه *Drosophila melanogaster* در سال ۲۰۰۲ شد (Bibikova *et al.*, 2002)، اماپیچیدگی‌های فنی، وجود محدودیت در انتخاب جایگاه هدف، هزینه‌های بالا و اثرات فراوان و مشکل‌ساز خارج از هدف مانع از ادامه به کارگیری این روش و گسترش آن توسط جامعه علمی شد (Luo *et al.*, 2025). در سال ۲۰۰۹ نیز پژوهش‌هایی در خصوص افکتورهای شبه فعال کننده رونویسی منتشر و منجر به توسعه این روش برای ویرایش ژنوم شد (Boch *et al.*, 2009). این روش با اتصال دامنه اتصال دهنده دی‌انا در افکتورهای شبه فعال کننده رونویسی برای شناسایی هدفمند دی‌انا و نوکلئاز FokI برای شکافت دی‌انا مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه طراحی و مهندسی نوکلئازهای شبه فعال‌کننده رونویسی با توالی اختصاصی ساده‌تر بوده و بهبود قابل توجهی را در هدف‌گیری جایگاه‌های ژنومی نشان داد اما این روش نیز وابسته به هدایت پروتئین بوده و در نتیجه دچار محدودیت در هدف‌گیری هم زمان چندین ناحیه ژنی و دشواری در طراحی‌های سفارشی به دلیل افزایش ناقل‌های مورد نیاز برای مهندسی بود (Luo *et al.*, 2025). باتوجه به محدودیت روش‌های وابسته به پروتئین، محققان به دنبال روش‌های ساده‌تر و دقیق‌تری در ویرایش ژنوم بودند. با پیدایش فناوری کریسپر (تکرارهای کوتاه پالیندرومیک خوشه‌ای منظم فاصله‌دار) و سیستم شکافت دی‌ان‌ای وابسته به آرانا تحول جدیدی در این حوزه ایجاد شد (Zhang *et al.*, 2017). این تکنیک که برگرفته از مکانیسم ایمنی باکتری‌ها است با استفاده از ترکیب پروتئین CAS9 و آران‌ای راهنما و با شناسایی توالی‌های PAM به دی‌ان‌ای هدف متصل شده و موجب ایجاد شکست‌های دورشته‌ای می‌شود. در نتیجه این شکست‌ها و مکانیسم‌های ترمیم طبیعی، شامل اتصال انتهای غیر همولوگ (NHEJ) و ترمیم نوترکیبی همولوگی (HDR)، حذف، اضافه و یا جایگزینی‌های نوکلئوتیدها رخ می‌دهد (Permyakova and Deineko, 2024).

ویرایش ژنوم کلاسیک مبتنی بر CRISPR/Cas9 به سیستم ترمیم دی‌ان‌ای درونی سلول برای ترمیم شکست‌های دورشته‌ای ناشی از Cas9 متکی است که عمدتا از طریق مکانیسم اتصال انتهای غیر همولوگ صورت گرفته و منجر به ابجاد حذف‌ها یا درج‌های کوچک در سلول‌ها می‌شود. از زمان پیدایش این سیستم، ابزارهای مبتنی بر کریسپر غالب شده و استفاده از روش‌های پیشین به میزان قابل توجهی کاهش یافت (Luo *et al.*, 2025). هرچند تکنیک CRISPR/Cas به طور گسترده برای توسعه محصولات مطلوب جهت تولید پایدار غذا در کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته است (Zaidi *et al.*, 2019)، با این حال نگرانی‌هایی در مورد ویرایش‌های ناخواسته و خارج از هدف در استفاده از این روش وجود دارد. برای غلبه بر این چالش‌ها فناوری‌های ویرایش ژنوم دقیق‌تر و بدون شکست‌های دورشته‌ای مانند ویرایش پایه برای جایگزینی‌های تک نوکلئوتیدی (Komor *et al.*, 2016) و ویرایش آغازین برای جایگزینی‌های بدون دی‌ان‌ای الگو، درج‌ها یا حذف‌ها و تنظیم‌کننده‌های رونویسی توسعه یافته‌اند (Anzalone *et al.*, 2019). ویرایش آغازین گستره وسیع‌تری از انعطاف‌پذیری نسبت به ویرایش پایه را فراهم می‌کند "جدول۱" و به همین دلیل برای ایجاد تغییرات پیچیده‌تر در ژنوم، کارآمدتر است (Gallo *et al.*, 2025). به

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

دلیل تطبیق‌پذیری بیشتر و اثرات خارج از هدف کاهش‌یافته، ویرایش آغازین در حال حاضر به یکی از محورهای اصلی پژوهش در زمینه ویرایش ژنوم تبدیل شده است و جایگزینی دقیق‌تر و انعطاف‌پذیرتر نسبت به ویرایش پایه سنتی ارائه می‌دهد (Gallo *et al.*, 2025).

جدول۱. مقایسه دو نوع فناوری ویرایش ژنوم، ویرایش پایه و ویرایش آغازین

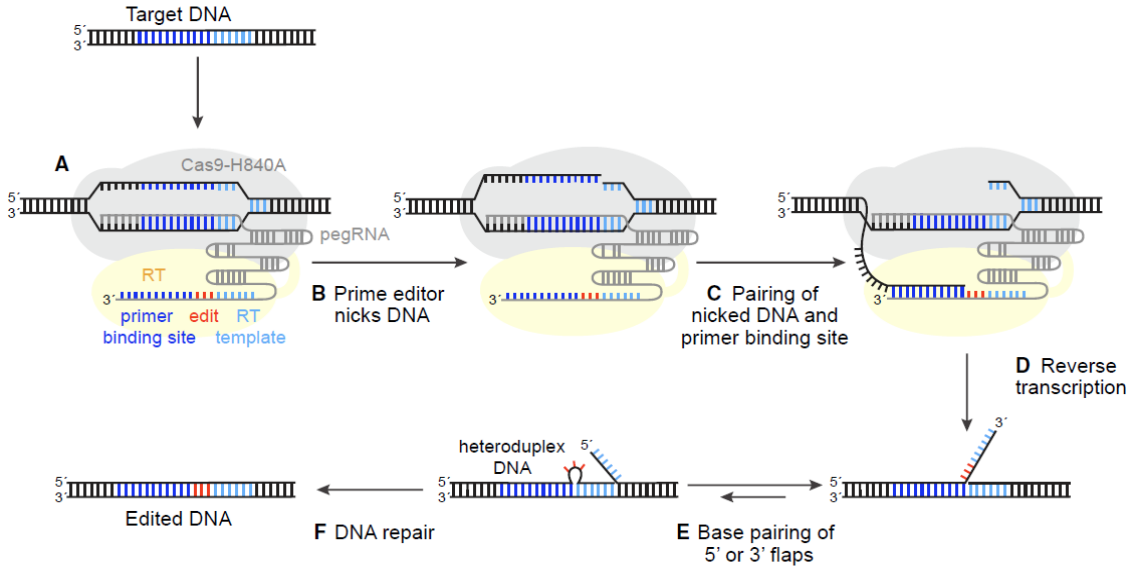
فناوری	ویژگی‌ها	نقاط قوت	نقاط ضعف	سال معرفی و منبع
ویرایش پایه	امکان ایجاد ۴ نوع جهش جایگزینی نوکلئوتیدی (C→T, G→A, A→G, T→C) استفاده از دآمیناز سیتیدین یا آدنین متصل به نیکاز Cas9 بی‌نیاز از شکست‌های دورشته‌ای و الگوهای اهداکننده	دقت بالا در جهش‌های نقطه‌ای انتقال موثر و ساده کارآمدی در سیستم‌های حیوانی و گیاهی	محدود به جایگزینی انتقالی خطر اثرات جانبی و آمین‌زدایی خارج از هدف غیر موثر برای درج یا حذف قطعات بزرگ	معرفی شده در سال ۲۰۱۶ (Komor *et al.*, 2016; Gaudelli *et al.*, 2017; Anzalone *et al.*, 2019)
ویرایش آغازین	انجام تمام ۱۲ جایگزینی نوکلئوتیدی قابلیت درج یا حذف قطعات کوچک و بزرگ استفاده از نیکاز Cas9 متصل به رونوشت بردار معکوس و آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین بی‌نیاز از شکست‌های دورشته‌ای و الگوهای اهداکننده	انعطاف‌پذیری بسیار بالا (پشتیبانی از انواع جایگزینی، درج و حذف) پایین بودن میزان اثرات جانبی و ویرایش‌های خارج از هدف دقت بالا بدون نیاز به شکست‌های دو رشته‌ای و الگوی اهدا کننده قابل استفاده در گونه‌های مختلف	اندازه ساختاری بزرگ و مکانیسم پیچیده‌تر نیازمند بهینه‌سازی برای افزایش کارایی به ویژه در گیاهان محدودیت انتقال در برخی گونه‌ها	معرفی شده در سال ۲۰۱۹ (Anzalone *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2020; Zhong *et al.*, 2024)

ویرایش آغازین

ویرایش آغازین یکی از فناوری‌های ویرایش ژنوم است که در سال ۲۰۱۹ معرفی و اعتبارسنجی شد (Anzalone *et al.*, 2019). ویرایشگر آغازین از یک nCas9 (H840A یا D10A) متصل به انتهای آمینی آنزیم رونوشت‌بردار معکوس (مشتق از ویروس لوسمی موری مولونی (MMLV) تشکیل شده است. این مجموعه همراه با یک آران‌ای راهنمای منفرد (sgRNA) اصلاح‌شده به نام آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین (pegRNA) عمل می‌کند (Gallo *et al.*, 2025). با اتصال مجموعه nCas9-MMLV به جایگاه هدف در دی‌ان‌ا، ساختار حلقه R ایجاد می‌شود. پس از آن، آنزیم نیکاز رشته غیرهدف را می‌شکافد تا اتصال آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین و آغاز رونوشت‌برداری معکوس را تسهیل کند. سپس انتهای '۳ شکسته‌شده، که دارای گروه هیدروکسیل آزاد است، به ناحیه محل اتصال پرایمر (PBS) در آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین متصل می‌شود. سپس آنزیم رونوشت‌بردار معکوس با استفاده از انتهای '۳ به عنوان پرایمر، از قسمت'۳ آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین به عنوان الگو برای ساخت رشته دی‌ان‌ا جدید استفاده می‌کند. پس از این مرحله، بخش برآمده (فلاپ '۵) برداشته می‌شود و فلاپ '۳ در جایگاه هدف به دی‌ان‌ا متصل می‌شود و در نهایت یک دی‌ان‌ای هترودوپلکس یا دی‌ان‌ای دوگانه ناجور شکل می‌گیرد "شکل۱" (Anzalone *et al.*, 2019).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]



شکل ۱. مکانیسم عملکرد ویرایش آغازین (Yan *et al.*, 2020). A) اتصال مجموعه ویرایشگر آغازین، متشکل از Cas9-H840A متصل به آنزیم رونوشت‌بردار معکوس (RT) و آرای‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین (pegRNA) به دی‌ای‌ای هدف. B) برش تک‌رشته دی‌ای‌ا توسط دامنه نوکلئازی Cas9-H840A. C) اتصال رشته برش خورده دی‌ای‌ا به محل اتصال پرایمر (Primer binding site) در انتهای '۳ آرای‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین. D) طویل شدن رشته برش خورده دی‌ای‌ا توسط آنزیم رونوشت‌بردار معکوس. E) رقابت بین رشته طویل شده توسط آنزیم رونوشت‌بردار معکوس (flap'3) و رشته اصلی برش خورده (flap'5) برای اتصال به دی‌ای‌ای هدف. F) ترمیم دی‌ای‌ا و تبدیل دی‌ای‌ای دوگانه ناجور (heteroduplex DNA) به دی‌ای‌ای ویرایش شده

در نسخه‌های اولیه ویرایشگرهای آغازین، مانند PE1 و PE2 هترودوپلکس به طور خودبه‌خودی توسط مسیر ترمیم عدم‌جفت‌شدگی ممکن است یا تثبیت شود و یا به توالی اولیه بازگردد. در نسخه PE3 ، از یک راهنمای دوم و کلاسیک استفاده می‌شود تا رشته هدف در فاصله‌ای کوتاه از جهش‌های معرفی شده شکسته شود و بدین ترتیب، جهش هدفمند توسط مسیر ترمیم عدم‌جفت‌شدگی تثبیت می‌شود. بدین ترتیب کارایی تثبیت جهش مورد نظر به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Anzalone *et al.*, 2019; Gallo *et al.*, 2025). این فناوری نشان‌دهنده پیشرفتی بزرگ نسبت به فناوری کریسپر پایه است و دقتی فراتر از ابزارهای سنتی ویرایش ژنوم ارائه می‌دهد (Gallo *et al.*, 2025). از نظر تئوری، می‌توان از ویرایش آغازین برای معرفی تقریباً هرگونه جهش مورد نیاز، از تغییر یک باز نوکلئوتیدی منفرد تا تغییرات پیچیده‌تر (درج، حذف، تغییرات چند نوکلئوتیدی و غیره)، استفاده کرد. تلاش‌های اولیه برای به‌کارگیری ویرایش آغازین در گیاهان، بازدهی پایینی (غالباً زیر ۱٪ و به ندرت بالای ۱۰٪) نشان می‌داد (Li *et al.*,2020; Lin *et al.*, 2020).

در سال‌های اخیر پیشرفت‌های متعددی منتشر شد که امکان دست‌یابی گیاه‌شناسان به نرخ‌های نزدیک به مقادیر به دست آمده در سیستم‌های حیوانی را فراهم کرده است. این پیشرفت‌ها همچنین به بهبود عملکرد اختصاصی این فناوری در ایجاد الل‌های مورد نظر و کاهش یا حذف الل‌های ناخواسته کمک کردند (Gallo *et al.*, 2025). با بهینه‌سازی مداوم کارآیی ویرایش آغازین در گیاهان، به احتمال زیاد این سیستم به ابزار برگزیده، هم برای جهش‌زایی هدفمند در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

مکان‌های شناخته‌شده و هم برای ایجاد جهش‌های جدید در مکان‌های ناشناخته، تبدیل خواهد شد (Tingting *et al*., 2023).

کاربردهای ویرایش آغازین در گیاهان

با توجه به اهمیت برنج، گندم و ذرت به عنوان محصولات غذایی اصلی، افزایش عملکرد پایدار این گیاهان در تامین و حفظ امنیت غذایی در سطح جهانی از ارزش بالایی برخوردار است. از همین رو، مطالعات با هدف بهبود عملکرد افزایش مقاومت این گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی از طریق فناوری‌های به‌نژادی ژنتیکی نیز مورد توجه پژوهشگران قرار دارد (Matres *et al*., 2021; Huang and Liu, 2023). مطالعات نشان داده‌اند که ویرایش آغازین (پرایم ادیتینگ۲ و ۳) در برنج و گندم کارایی قابل قبولی دارند (Lin *et al*., 2020). به طور مشابه، سیستم ویرایش آغازین بهبود یافته برای گیاهان (enpPE2) نیز به طور موثر در گیاهان عمل می‌کند و امکان ایجاد تغییرات دقیق و وراثت‌پذیر در چندین ژن را فراهم می‌آورد. این ویژگی، ویرایش آغازین را به ابزاری ارزشمند برای بهبود صفات محصولات زراعی از طریق تغییرات ژنومی هدفمند تبدیل می‌کند (Li *et al*., 2022). کارایی ویرایش آغازین بهبود یافته برای گیاهان در برنج، بسته به محل هدف، از ۰ تا ۳۱ درصد متغیر بوده است (Xu *et al*., 2020). امروزه بازدهی این روش با طراحی‌های کارآمدتر آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین و همچنین استفاده از سیستم‌های بهبود یافته ویرایش آغازین، در محل‌های ژنی بیشتری افزایش یافته است (Zhong *et al*., 2024). سایر ویژگی‌های مفید ویرایش آغازین بهبود یافته برای گیاهان، که برای اهداف خاص در نسل صفر برنج تا حدود ۷۰ درصد گزارش شده است، شامل جایگزینی پروموتر، اصلاحات آنزیم رونوشت‌بردار معکوس و افزایش پایداری آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین است (Lin *et al*., 2020). طی پژوهشی محققان دریافتند با حذف دامنه RNase H آنزیم رونوشت‌بردار معکوس و افزودن پروتئین نوکلئوکپسید ویروسی بازده ویرایش آغازین در گیاهان به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. ترکیب این دو رویکرد منجر به بهبود کارایی انواع جانشینی‌های نوکلئوتیدی، حذف‌های تا ۹۰ جفت باز و درج‌های تا ۳۴ جفت باز در برنج و گندم می‌شود. این ویرایشگر مهندسی شده همچنین می‌تواند تولید گیاهان برنج مقاوم به علف‌کش‌های نوع سولفونیل اوره و ایمیدازولینون را تسهیل نماید (Zong *et al*., 2022). در تلاشی دیگر، پژوهشگران دانشگاه کشاورزی چین با جهش‌زایی آنزیم رونوشت‌بردار معکوس و مهندسی ساختار پروتئین ویرایشگر آغازین، موفق به ویرایش همزمان ده ژن در پروتوپلاست‌های گندم و هشت ژن در گندم‌های تراریخته شده‌اند (Ni *et al*., 2023).

مطالعات اخیر گزارش داده‌اند که ویرایشگرهای آغازین گیاهی بهینه شده‌ای وجود دارند که قادر به دستیابی به بازدهی بیش از ۲۰ درصد برای تغییر چند نوکلئوتیدی و درج نشانگرهای کوچک در برنج، با کمترین تشکیل توالی‌های حذف و اضافه ناخواسته هستند (Li *et al*., 2023; Zhong *et al*., 2024). در پژوهشی با بهینه‌سازی بیان آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین کارایی ویرایش ژن رمزگذار آنزیم استولاکتات سینتاز (ALS) در سلول‌های ذرت بهبود یافت (Jiang *et al*., 2020). به منظور تولید لاین‌های ذرت مقاوم به علف‌کش حاوی جهش P165S یا جهش مضاعف W542L/S621I در ژن‌های *ZmALS1* و *ZmALS2*، یک سیستم ویرایش آغازین حاوی دو نوع آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین برای هدف قرار دادن همزمان *ZmALS1* و *ZmALS2* طراحی شد تا جهش‌های مضاعف ایجاد شود. نتایج نشان داد که به ترتیب ۵۳/۲ درصد و ۶/۵ درصد از لاین‌های

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

تاریخته حامل جهش‌های S621I و W542L در ژن‌های *ZmALS1* و *ZmALS2* بودند و در مقایسه با برنج، کارآیی ویرایش بالاتری نشان دادند (Huang and Liu, 2023). نمونه‌ای از به کارگیری ویرایش آغازین در گیاهان دولپه‌ای، در گیاه گوجه صورت گرفته است. ویرایشگر آغازین اصلاح‌شده به نام pCXPE03 با استفاده از پروموتر RPS5A گوجه‌فرنگی برای بیان MMLV بهینه‌شده از نظر کدون گیاهی (pMMLV) و پروموتر U6 آرابیدوپسیس برای بیان آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین و آران‌ای راهنمای منفرد، تغییرات دقیق ژنومی را در سه ژن (*GAI*، *ALS2* و *PDS1*) گیاه گوجه‌فرنگی ممکن ساخت (Lu *et al*., 2021). در پژوهشی دیگر که روی گیاه سیب زمینی تتراپلوئید انجام شده است نیز کارایی ویرایش آغازین با عدم وجود جهش‌زایی‌های خارج از هدف به اثبات رسیده است (Perroud *et al*., 2022).

مجموعه مطالعات انجام شده در این زمینه نشان می‌دهد که فناوری ویرایش ژنوم آغازین دارای چشم‌انداز کاربرد گسترده‌ای در گیاهان است (Vu *et al*., 2024). ویرایش آغازین در گیاهان روشی دقیق و کارآمد برای ایجاد تغییرات خاص در دی‌ان‌ا از جمله انواع تبدیل بازها، درج یا حذف توالی‌های دی‌ان‌ا، جایگزینی‌ها و ادغام دقیق توالی دی‌ان‌ا در ژنوم گیاه است (Gao 2021; Sun *et al*., 2024). علاوه بر ایجاد تغییرات نوکلئوتیدی، از ویرایشگر آغازین می‌توان برای جهش‌زایی هدفمند درون‌گیاهی (Xu *et al*., 2021) و تنظیم ژن اختصاصی جایگاه در گیاهان استفاده کرد (Shi *et al*., 2023). همچنین، با وارد کردن دقیق جهش‌های طراحی‌شده (شناخته‌شده) به نواحی تنظیمی غیررمزشونده، عناصر پروموتری یا چارچوب‌های خوانش باز بالادست (Liu *et al*., 2021; Tang and Zhang, 2023) ویرایشگر آغازین می‌تواند، مشابه آنچه در سیستم CRISPR/Cas9 رخ می‌دهد، سطوح بیان ژن را تعدیل کرده و یا توالی‌های تنظیمی را تغییر دهد. این امر مسیرهای جدیدی را برای تنظیم دقیق الگوهای بیان ژن، افزایش بهره‌وری و کیفیت محصولات کشاورزی و توسعه گیاهانی با تحمل تنش بهبودیافته فراهم می‌کند (Vu *et al*., 2024). یکی از مزایای اصلی ویرایش آغازین، توانایی آن در ایجاد تغییرات دقیق تقریباً در هر مکانی، از جمله مکان‌هایی است که تغییر آنها با ویرایشگرهای پایه یا سیستم‌های معمول CRISPR/Cas9 دشوار است. این فناوری به ویژه برای مهندسی واریانت‌های آللی و تصحیح جهش‌های نقطه‌ای مضر بدون افزودن توالی‌های خارجی، مفید بوده است (Nayagam, 2025). با این حال، کارآیی نسبتاً پایین این فناوری در گیاهان، کاربرد آن را در بیوتکنولوژی گیاهی و کشاورزی محدود می‌کند. بنابراین، توسعه یک سیستم ویرایش ژنومی آغازین کارآمد نیاز فوری است. این امر نشان می‌دهد که بهینه‌سازی بیشتر این فناوری برای ویرایش گیاهان مورد نیاز است که شامل تکامل ساختاری افکتورها، بهینه‌سازی آران‌ای راهنمای ویرایشگر آغازین و بازطراحی سیستم آن است (Huang and Liu, 2023).

مزیت‌های ویرایش آغازین از منظر ایمنی‌زیستی

فناوری‌های جدید به‌نژادی که بر پایه ویرایش ژنوم هستند و امکان تغییر همزمان چندین جایگاه ژنتیکی را در ارقام برتر فراهم می‌کنند، روند بهبود محصولات را سرعت بخشیده و امنیت غذایی جهان را تقویت می‌کنند (Yin *et al*., 2017). فناوری‌های ویرایش ژنوم برخلاف فناوری تولید محصولات تراریخته، تغییراتی را ایجاد می‌کنند که به شکل طبیعی و یا با روش‌های سنتی به‌نژادی ایجاد می‌شوند (Duensing *et al*., 2018). برهمین اساس می‌توان گفت به طورکلی فناوری‌های ویرایش ژنوم به دلیل حفظ ساختار اصلی ژنومی پس از ویرایش، تکنولوژی‌های ایمنی برای بهبود محصولات زراعی محسوب می‌شوند (Kamburova *et al*., 2017; Friedrichs *et al*., 2019). با وجود این درک کلی،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

نگرانی‌هایی نیز درباره ایمنی‌زیستی محصولات ایجادشده با استفاده از این روش‌ها وجود دارد. اصلی‌ترین چالش مرتبط با ایمنی‌زیستی در استفاده از فناوری ویرایش ژنوم نگرانی ناشی از ایجاد تغییرات ژنتیکی ناخواسته در گیاهان به دلیل جهش‌های خارج از هدف است (Liang *et al.*, 2018; pineda *et al.*, 2019). در همین راستا تلاش‌های قابل‌توجهی برای به حداقل رساندن اثرات خارج از هدف این فناوری‌ها انجام شد و طراحی و توسعه ویرایش‌های پایه و آغازین نیز در راستای دست‌یابی به این اهداف بوده است (Shimatani *et al.*, 2017; El-Mounadi *et al.*, 2020). برهمین اساس آنزالون و همکاران (۲۰۱۹) بیان داشتند سه مرحله در فناوری ویرایش آغازین سبب کاهش اثرات خارج از هدف ناشی از این ویرایش می‌شود. این سه مرحله شامل این موارد است: مکمل بودن و یا تطابق توالی فاصله‌انداز در مولکول آرای راهنمای ویرایشگر آغازین با دی‌ان‌ای ه دف که امکان اتصال دامنهء Cas9 را فراهم می‌کند. مکمل بودن ناحیه اتصال پرایمر در آرای راهنمای ویرایشگر آغازین با دی‌ان‌ای هدف برای آغاز رونویسی معکوس و مکمل بودن محصول رونویسی معکوس با دی‌ان‌ای هدف برای تکمیل و ترمیم فلاپ نوکلئوتیدی است.

در راستای اثبات این فرضیه مبنی بر تاثیر سه مرحله مذکور در کاهش میزان اثرات خارج از هدف ویرایش آغازین و جهت ارزیابی اثرات خارج از هدف ویرایش آغازین نسبت به Cas9، پژوهشی با استفاده از سلول‌های HEK293T و فناوری‌های ویرایش آغازین (نسخه‌های ۱ و ۲)، Cas9 و ۱۶ نوع آرای راهنمای ویرایشگر آغازین که ۴ جایگاه ژنومی را هدف قرار می‌دهند و هریک حداقل ۴ جایگاه خارج از هدف شناخته شده برای Cas9 (توالی‌هایی که مطالعات قبلی نشان داده‌اند درصورت استفاده از Cas9 احتمال ویرایش‌های خارج از هدف یا ناخواسته در آن‌ها بسیار زیاد است) دارند، صورت گرفت (Tsai *et al.*, 2015; Kleinstiver *et al.*, 2016; Anzalone *et al.*, 2019). مقایسه میان نتایج حاصل از کاربرد هریک از این سه روش شامل، استفاده از Cas9 همراه با آرای راهنمای منفرد (Cas9+ sgRNA)، Cas9 همراه با ۱۶ نوع آرای راهنمای ویرایشگر آغازین (Cas9+ pegRNA) و استفاده از سیستم ویرایشگر آغازین، انجام شد. استفاده از Cas9 همراه با آرای راهنمای منفرد، منجر به ایجاد اثرات خارج از هدف در ۴ جایگاه شناخته شده EMX1، HEK3، HEK4 و FANCF با ترتیب میانگین فراوانی ۲۸±۴۸٪، ۱۶±۱۶٪، ۲۶±۶۰٪ و ۵.۶±۴/۳٪ شد. استفاده از Cas9 همراه با آرای راهنمای ویرایشگر آغازین، اثرات درون هدف را به میزان مشابه با Cas9 همراه با آرای راهنمای منفرد و اثرات خارج از هدف را به میزان ۴/۴٪ کمتر از Cas9 همراه با آرای راهنمای منفرد نشان داد. استفاده از ویرایش آغازین تنها در ۳ مورد از ۱۶ جایگاه، اثر خارج از هدف نشان داد. تنها در یک مورد از آن‌ها کارایی ویرایش خارج از هدف بیش‌تر و یا برابر با ۱٪ بوده است. میانگین ویرایش خارج از هدف با استفاده از ویرایش آغازین در همان ۴جایگاه (EMX1، HEK3، HEK4 و FANCF)به ترتیب <۰/۱٪، <۰/۱٪، <۵.۲±۲/۲٪ و <۰.۱۱±۰/۱۳٪ بوده است. همچنین در جایگاه HEK4، کارایی اثر خارج از هدف حاصل از کاربرد Cas9 همراه با آرای راهنمای ویرایشگر آغازین، برابر با ۹۷٪ و کارایی اثر خارج از هدف حاصل از ویرایش آغازین تنها برابر با ۰/۲٪ بوده است. نتایج حاصل از این پژوهش فرضیه محققان آن را مبنی بر تاثیر سه شرط مکملی فناوری ویرایش آغازین بر کاهش اثرات خارج از هدف در جایگاه‌های خارج از هدف شناخته شده توسط Cas9 به اثبات رساند (Anzalone *et al.*, 2019). این در حالی است که در سیستم سنتی ویرایش ژن CRISPR-Cas، تنها شرط لازم برای انجام ویرایش، هیبرید شدن یا جفت‌شدگی بین دی‌ان‌ای هدف و بخش شناساگر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

آران‌ای راهنمای منفرد است، که این امر به طور قابل توجهی احتمال وقوع ویرایش خارج‌هدف را افزایش می‌دهد (Jiang and Doudna, 2017; Chen *et al*., 2020). همچنین مطالعات نشان داده است که در پژوهش‌های صورت گرفته روی گیاهان برنج، گندم و سیب‌زمینی تتراپلوئید هیچ ویرایش غیر قابل پیش‌بینی و خارج از هدف مشاهده نشده است (Hua *et al*., 2020; Lin *et al*., 2020; Lin *et al*., 2021; Perroud *et al*., 2022; Gupta *et al*., 2023). بنابراین می‌توان گفت فناوری ویرایش آغازین در مقایسه با Cas9 در جایگاه‌های خارج از هدف شناخته‌شده Cas9، فعالیت خارج از هدف بسیار کمتری دارد، محصولات جانبی بسیار کمتری تولید می‌کند و کارایی آن نسبت به ترمیم همولوگ‌محور ناشی از Cas9 بالاتر یا مشابه است. همچنین این فناوری بر اساس هدف و موضوع استفاده در مقایسه با ویرایشگرهای پایه دارای نقاط قوت و ضعف است (Lin *et al*., 2020). ویرایش آغازین با امکان انجام درج‌ها، حذف‌ها و هر ۱۲ نوع ممکن از جهش‌های نقطه‌ای به صورت دقیق و هدفمند، بدون نیاز به شکست‌های دو رشته‌ای یا الگوهای دی‌ان‌ا دهنده، این پتانسیل را دارد که مطالعه و تصحیح اکثریت قریب‌به‌اتفاق آلل‌های بیماری‌زا را متحول کند (Tingting *et al*., 2023).

محدودیت‌ها و چشم‌انداز آینده

فناوری ویرایش آغازین در گیاهان، به عنوان یک فناوری نوظهور هنوز در مراحل اولیه خود قرار دارد. بیشتر مطالعات انجام‌شده در گیاهان کارآیی بسیار پایین‌تری را نسبت به سلول‌های حیوانی گزارش کرده‌اند (Anzalone *et al*., 2019; Lin *et al*., 2020). همچنین تنوع بسیار زیادی در کارآیی بر اساس مکان‌های مختلف هدف وجود دارد، به طوری که کارآیی ویرایش در برنج ۲۱/۸٪ و در گوجه ۱/۶۶-۰/۲۵٪ بوده است (Lin *et al*., 2020; Lu *et al*., 2021). سوی دیگر کاربرد ویرایش آغازین در محصولات پلی‌پلوئید مانند گندم فراوانی کمتری از سلول‌های ویرایش‌شده را نسبت به محصولات دیپلوئید مانند برنج نشان می‌دهند، که این امر نشان دهنده نیاز به بهینه‌سازی کاربرد ویرایش آغازین در سیستم‌های پلی‌پلوئیدی است (Lin *et al*., 2020). ویرایش آغازین در گیاهان هنوز با محدودیت‌هایی مواجه است و نیاز به بهینه‌سازی بیشتر برای غلبه بر برخی محدودیت‌ها وجود دارد (Anzalone *et al*., 2019; Lin *et al*., 2020). به طور خاص، به دلیل محدودیت‌های توالی‌های PAM، برخی مکان‌ها قابل ویرایش نیستند. برای رفع این مشکل، می‌توان اجزای سیستم ویرایشگر آغازین را بیشتر بهبود بخشید. علاوه بر این، بررسی واریانت‌های کاربردی‌تر nCas9 می‌تواند به گسترش دامنه ویرایش فراتر از محدودیت‌های فعلی PAM کمک کند (Cebrian-Serrano and Davies, 2017). این فناوری همچنین در تولید گیاهان هموزیگوت نسل اول کارآیی پایینی دارد. این امر نه تنها زمان به‌نژادی را طولانی می‌کند، بلکه کاربرد آن را در به‌نژادی گیاهان مانند برنج هیبرید یا به‌نژادی پلی‌پلوئید محدود می‌سازد. بنابراین، نیاز به بهبود بیشتر کارآیی این فناوری وجود دارد (Perroud *et al*., 2022; Tingting *et al*., 2023). توسعه مستمر سیستم‌های ویرایش آغازین، که ناشی از پیشرفت‌ها در تحقیقات مرتبط با کاربرد این فناوری در پستانداران (Nelson *et al*., 2022; Doman *et al*., 2023) و گیاهان (Zong *et al*., 2022; Sun *et al*., 2024) است و توسعه سیستم‌های نوآورانه ویرایش آغازین مانند جدیدترین انواع آن(PE6) (Doman *et al*., 2023) سبب می‌شود دامنه وسیع‌تری از راه‌حل‌ها برای غلبه بر محدودیت‌های این فناوری در گیاهان فراهم شود (Vu *et al*., 2024). بنابراین علی‌رغم انبوه چالش‌ها، ویرایش آغازین این پتانسیل را دارد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

که جایگاه پیشرو را در تحقیقات پایه ژنومیک گیاهی و برنامه‌های بهبود محصولات کشاورزی به دست آورد (Vats *et al.*, 2024). ویرایش آغازین در آینده، به عنوان یک فناوری ویرایش ژنوم دقیق و قدرتمند، می‌تواند برای بهبود محصولات کشاورزی به‌طور دقیق و بدون تأثیرگذاری بر سایر صفات مطلوب آنها استفاده شود. در عین حال، می‌توان ژن‌های متعدد را به طور همزمان و با دقت از طریق به‌نژادی مولکولی با استفاده از این فناوری ویرایش کرد و بدین ترتیب صفات مطلوب چندگانه را به طور کارآمد تجمیع نمود. مهمتر از همه، ویرایش آغازین می‌تواند ژن‌های کلیدی را برای صفات مهم مختلف در محصولات کشاورزی هدف قرار دهد، ژنوتیپ‌های آللی برتر را شناسایی کند، و منابع ژرم‌پلاسم محصولات را غنی سازد. این امر به‌نژادی دقیق مولکولی محصولات را تسهیل کرده و زیست‌شناسی مصنوعی گیاهی را پیش می‌برد (Tingting *et al.*, 2023). به اعتقاد محققان با بهبود این فناوری، سیستم ویرایش آغازین یک رویکرد ویرایش ژنوم کارآمد، تطبیق‌پذیر و انعطاف‌پذیر برای تحقیقات گیاهی و بهبود محصولات کشاورزی فراهم خواهد کرد (Xu *et al.*, 2020).

نتیجه گیری

چالش‌های موجود در عرصه کشاورزی، تامین غذا و امنیت غذایی، همراه با محدودیت روش‌های سنتی، بهره‌مندی از فناوری‌های جدید را ضروری ساخته است. با ظهور هر فناوری، چالش‌ها و نگرانی‌های ایمنی‌زیستی در خصوص نتایج حاصل از کاربرد آن نیز بروز و ظهور می‌یابد. از این رو، محققان همواره به دنبال روش‌هایی با کارایی بالا و نگرانی‌های ایمنی‌زیستی کمتر بوده‌اند. فناوری ویرایش آغازین با توجه به عدم نیاز به ایجاد شکست‌های دورشته‌ای، اثرات خارج از هدف کمتر نسبت به کریسپر و توانمندی آن در ایجاد انواع جهش‌ها و جایگزینی‌ها گامی بزرگ به سمت ویرایش ژنوم ایمن‌تر و قابل پیش‌بینی‌تر محسوب می‌شود. با این حال، کاربرد فعلی این فناوری در گیاهان با چالش‌های مهمی از جمله کارایی پایین و محدودیت در ویرایش برخی مکان‌ها به دلیل محدودیت توالی‌های PAM مواجه است. بنابراین، توسعه سیستم‌های کارآمدتر ویرایش آغازین و بهینه‌سازی این فناوری برای غلبه بر محدودیت‌ها از پیش‌نیازهای اساسی برای انتقال موفق این فناوری به برنامه‌های عملی به‌نژادی دقیق در گیاهان است. تحقق این امر ضمن حفظ ملاحظات ایمنی‌زیستی، افق جدیدی در تولید محصولات زراعی مقاوم و پایدار خواهد گشود.

منابع

Ahmad S, Wei X, Sheng Z, Hu P, Tang S. (2020) CRISPR/Cas9 for development of disease resistance in plants: recent progress, limitations and future prospects. ***Briefings in Functional Genomics***. *19*(1): 26-39. https://doi.org/10.1093/bfgp/elz041.

Alalwani AK, AL-Jaf IH, Abed BM, Latef SA, Ahmed MM. (2024) Biosafety and environmental risks of genetically modified plants: A review. ***Journal of University of Anbar for Pure Science***. *18*(1). https://doi.org/10.37652/juaps.2023.144248.1154.

Alemzadeh A. (2024) A survey of global adoption of transgenic plants: Past, present, and future. ***Journal of Biosafety***. *17*(2): 50-72. https://dorl.net/dor/20.1001.1.27170632.1403.17.2.3.3. [In Persian]

Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, Chen PJ, Wilson C, Newby GA, Raguram A, Liu DR. (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.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

Anzalone AV, Koblan LW, Liu DR. (2020) Genome editing with CRISPR–Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. ***Nature Biotechnology***. *38*: 824–844. https://doi.org/10.1038/s41587-020-0561-9.

Bibikova M, Golic M, Golic KG, Carroll D. (2002) Targeted chromosomal cleavage and mutagenesis in *Drosophila* using zinc-finger nucleases. ***Genetics***. *161*(3): 1169-1175. https://doi.org/10.1093/genetics/161.3.1169.

Boch J, Scholze H, Schornack S, Landgraf A, Hahn S, Kay S, Lahaye T, Nickstadt A, Bonas U. (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. ***Science***. *326*(5959): 1509-1512. https://doi.org/10.1126/science.1178811.

Bortesi L, Zhu C, Zischewski J, Perez L, Bassié L, Nadi R, Forni G, Lade SB, Soto E, Jin X, Medina V, Villobina G, Muñoz P, Farré G, Fischer R, Twyman RM, Capell T, Christou P, Schillberg S. (2016) Patterns of CRISPR/Cas9 activity in plants, animals and microbes. ***Plant Biotechnology Journal***. *14*(12): 2203-2216. https://doi.org/10.1111/pbi.12634.

Brock N, Kaur N, Halford NG. (2025) Advances in genome editing in plants within an evolving regulatory landscape, with a focus on its application in wheat breeding. ***Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology***. *34*(3): 599-614. https://doi.org/10.1007/s13562-025-00981-w.

Butler NM, Baltes NJ, Voytas DF, Douches DS. (2016) Geminivirus mediated genome editing in potato (*Solanum tuberosum* L.) using sequence-specific nucleases. ***Frontiers in Plant Science***. *7*: 1045. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01045.

Cebrian-Serrano A, Davies B. (2017) CRISPR-Cas orthologues and variants: optimizing the repertoire, specificity and delivery of genome engineering tools. ***Mammalian Genome***. *28*: 247–261. https://doi.org/10.1007/s00335-017-9697-4.

Chen S, Yao Y, Zhang Y, Fan G. (2020) CRISPR system: Discovery, development and off-target detection. ***Cellular Signalling***. *70*: 109577. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109577.

D'Halluin K, Vanderstraeten C, Van Hulle J, Rosolowska J, Van Den Brande I, D'Hont PA, Bossut M, Jantz D, Ruiter R, Broadhvest J. (2013) Targeted molecular trait stacking in cotton through targeted double-strand break induction. ***Plant Biotechnology Journal***. *11*: 933–941. https://doi.org/10.1111/pbi.12085.

Doman JL, Pandey S, Neugebauer ME, An M, Davis JR, Randolph PB, Liu DR. (2023) Phage-assisted evolution and protein engineering yield compact, efficient prime editors. ***Cell***. *186*(18): 3983-4002. https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.07.039.

Dong OX, Yu S, Jain R, Zhang N, Duong PQ, Butler C, Li Y, Lipzen A, Martin JA, Barry KW, Schmutz J, Tian L, Ronald PC. (2020) Marker-free carotenoidenriched rice generated through targeted gene insertion using CRISPR-Cas9. ***Nature Communications***. *11*: 1178. https://doi.org/10.1038/s41467-020-14981-y.

Duensing N, Sprink T, Parrott WA, Fedorova M, Lema MA, Wolt JD, Bartsch D. (2018) Novel features and considerations for ERA and regulation of crops produced by genome editing. ***Frontiers in Bioengineering and Biotechnology***. *6*: 79. https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00079.

El-Mounadi K, Morales-Floriano ML, Garcia-Ruiz H. (2020) Principles, applications, and biosafety of plant genome editing using CRISPR-Cas9. ***Frontiers in Plant science***. *11*: 56. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00056.

Friedrichs S, Takasu Y, Kearns P, Dagallier B, Oshima R, Schofield J, Moreddu C. (2019) Meeting report of the OECD conference on "genome editing: applications in agriculture—implications for health, environment and regulation". ***Transgenic Research***. *28*: 419–463. https://doi.org/10.1007/s11248-019-00154-1.

Gallo D, Meunier AC, Périn C. (2025) A long journey towards genome editing technologies in plants: A technical and critical review of genome editing technologies. ***Frontiers in Genome Editing***. *7*: 1663352. https://doi.org/10.3389/fgeed.2025.1663352.

Gao C. (2021) Genome engineering for crop improvement and future agriculture. ***Cell***. *184*(6): 1621-

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

1635. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.005.

Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, Packer MS, Badran AH, Bryson DI, Liu DR. (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.

Gelvin SB. (2018) Agrobacterium biology: From basic science to biotechnology; current topics in microbiology and immunology. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03257-9.

Georges F, Ray H. (2017) Genome editing of crops: a renewed opportunity for food security. ***GM Crops Food***. *8*: 1–12. https://doi.org/10.1080/21645698.2016.1270489.

Gupta A, Liu B, Chen Q, Yang B. (2023) High-efficiency prime editing enables new strategies for broad-spectrum resistance to bacterial blight of rice. ***Plant Biotechnology Journal***. *21*(7): 1454-1464. https://doi.org/10.1111/pbi.14049.

Hassan MM, Yuan G, Chen JG, Tuskan GA, Yang X. (2020) Prime editing technology and its prospects for future applications in plant biology research. ***BioDesign Research***. *20*: 1-14. https://doi.org/10.34133/2020/9350905.

Hua K, Jiang Y, Tao X, Zhu JK. (2020) Precision genome engineering in rice using prime editing system. ***Plant Biotechnology Journal***. *18*(11): 2167. https://doi.org/10.1111/pbi.13395.

Hua K, Han P, Zhu JK. (2022) Improvement of base editors and prime editors advances precision genome engineering in plants. ***Plant Physiology***. *188*(4): 1795-1810. https://doi.org/10.1093/plphys/kiab591.

Huang Z, Liu G. (2023) Current advancement in the application of prime editing. ***Frontiers in Bioengineering and Biotechnology***. *11*: 1039315. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1039315.

Ji X, Zhang H, Zhang Y, Wang Y, Gao C. (2015) Establishing a CRISPR–Cas-like immune system conferring DNA virus resistance in plants. ***Nature Plants***. *1*: 1–4. https://doi.org/10.1038/nplants.2015.144.

Jiang F, Doudna JA. (2017) CRISPR–Cas9 structures and mechanisms. ***Annual Review of Biophysics***. *46*: 505-529. https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-062215-010822.

Jiang YY, Chai YP, Lu MH, Han XL, Lin Q, Zhang Y, Zhang Q, Zhou Y, Wang XC, Gao C, Chen QJ. (2020) Prime editing efficiently generates W542L and S621I double mutations in two ALS genes in maize. ***Genome Biology***. *21*(1): 257. https://doi.org/10.1186/s13059-020-02170-5.

Kamburova VS, Nikitina EV, Shermatov SE, Buriev ZT, Kumpatla SP, Emani C, Abdurakhmonov IY. (2017) Genome editing in plants: an overview of tools and applications. ***International Journal of Agronomy***. *20*(1): 7315351. https://doi.org/10.1155/2017/7315351.

Kim YG, Cha J, Chandrasegaran S. (1996) Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***. *93*(3): 1156-1160. https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1156.

Kleinstiver BP, Pattanayak V, Prew MS, Tsai SQ, Nguyen NT, Zheng Z, Joung JK. (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.

Komor AC, Kim YB, Packer MS, Zuris JA, Liu DR. (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.

Lassoued R, Macall DM, Hesseln H, Phillips PW, Smyth SJ. (2019) Benefits of genome-edited crops: expert opinion. ***Transgenic Research***. *28*(2): 247-256. https://doi.org/10.1007/s11248-019-00118-5.

Lazzarotto CR, Malinin NL, Li Y, Zhang R, Yang Y, Lee G, Cowley E, He Y, Lan X, Jividen K, Katta V, Kolmakova NG, Petersen CT, Qi Q, Strelcov E, Maragh S, Krencicute G, Ma J, Cheng Y, Tsai SQ. (2020) CHANGE-Seq reveals genetic and epigenetic effects on CRISPR–Cas9 genome-wide activity. ***Nature Biotechnology***. *38*: 1317–1327. https://doi.org/10.1038/s41587-020-0555-7.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

Li Z, Liu ZB, Xing A, Moon BP, Koellhoffer JP, Huang L, Ward RT, Clifton E, Falco SC, Cigan AM. (2015) Cas9-guide RNA directed genome editing in soybean. ***Plant Physiology***. *169*: 960–970. https://doi.org/10.1104/pp.15.00783.

Li H, Li J, Chen J, Yan L, Xia L. (2020) Precise modifications of both exogenous and endogenous genes in rice by prime editing. ***Molecular Plant***. *13*: 671–674. https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.03.011.

Li J, Chen L, Liang J, Xu R, Jiang Y, Li Y, Ding J, Li M, Qin R, Wei P. (2022) Development of a highly efficient prime editor 2 system in plants. ***Genome Biology***. *23*: 161. https://doi.org/10.1186/s13059-022-02730-x.

Li J, Ding J, Zhu J, Xu R, Gu D, Liu X, Liang J, Qiu C, Wang H, Li M, Qin R, Wei P. (2023) Prime editing-mediated precise knockin of protein tag sequences in the rice genome. ***Plant Communications***. *4*: 100572. https://doi.org/10.1016/j.xplc.2023.100572.

Liang Z, Chen K, Zhang Y, Liu J, Yin K, Qiu JL, Gao C. (2018) Genome editing of bread wheat using biolistic delivery of CRISPR/Cas9 in vitro transcripts or ribonucleoproteins. ***Nature Protocols***. *13*: 413–430. https://doi.org/10.1038/nprot.2017.145.

Lin Q, Zong Y, Xue C, Wang S, Jin S, Zhu Z, Wang Y, Anzalone AV, Raguram A, Doman JL, Liu DR, Gao C. (2020) Prime genome editing in rice and wheat. ***Nature Biotechnology***. *38*(5): 582-585. https://doi.org/10.1038/s41587-020-0455-x.

Lin Q, Jin S, Zong Y, Yu H, Zhu Z, Liu G, Gao C. (2021) High-efficiency prime editing with optimized, paired pegRNAs in plants. ***Nature Biotechnology***. *39*(8): 923-927. https://doi.org/10.1038/s41587-021-00868-w.

Liu L, Gallagher J, Arevalo ED, Chen R, Skopelitis T, Wu Q, Bartlett M, Jackson D. (2021) Enhancing grain-yield-related traits by CRISPR–Cas9 promoter editing of maize CLE genes. ***Nature Plants***. *7*(3): 287-294. https://doi.org/10.1038/s41477-021-00858-5.

Lou D, Wang H, Liang G, Yu D. (2017) OsSAPK2 confers abscisic acid sensitivity and tolerance to drought stress in rice. ***Frontiers in Plant Science***. *8*: 993. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00993.

Lu Y, Tian Y, Shen R, Yao Q, Zhong D, Zhang X, Zhu JK. (2021) Precise genome modification in tomato using an improved prime editing system. ***Plant Biotechnology Journal***. *19*(3): 415–417. https://doi.org/10.1111/pbi.13497.

Luo Y, Ceasar SA, Benabdellah K. (2025) Trajectory of genome editing technology. ***BMC Biology***. *23*(1): 351. https://doi.org/10.1186/s12915-025-02450-1.

Matres JM, Hilscher J, Datta A, Armario-Nájera V, Baysal C, He W, Huang X, Zhu C, Valizadeh-Kamran R, Trijatmiko KR, Capell T, Christou P, Stoger E, Slamet-Loedin IH. (2021) Genome editing in cereal crops: an overview. ***Transgenic Research***. *30*(4): 461-498. https://doi.org/10.1007/s11248-021-00259-6.

Nayagam JR. (2025) CRISPR and beyond: The future of induced mutagenesis in plants. ***Revista Latinoamericana de la Papa***. *29*(1): 181-195.

Nelson JW, Randolph PB, Shen SP, Everette KA, Chen PJ, Anzalone AV, Liu DR. (2022) Engineered pegRNAs improve prime editing efficiency. ***Nature Biotechnology***. *40*(3): 402-410. https://doi.org/10.1038/s41587-021-01039-7.

Ni P, Zhao Y, Zhou X, Liu Z, Huang Z, Ni Z, Sun Q, Zong Y. (2023) Efficient and versatile multiplex prime editing in hexaploid wheat. ***Genome Biology***. *24*: 156. https://doi.org/10.1186/s13059-023-02990-1.

Nonaka S, Arai C, Takayama M, Matsukura C, Ezura H. (2017) Efficient increase of ɣ-aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. ***Scientific Reports***. *7*: 7057. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06400-y.

Pandit B, Bohara CB. (2025) A review on determinants and optimization strategies in prime editing in cereal and non-cereal crops. ***Archives of Agriculture and Environmental Science***. *10*(4): 702-711.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

https://doi.org/10.26832/24566632.2025.1004020.

Permyakova NV, Deineko EV. (2024) Crop improvement: comparison of transgenesis and gene editing. ***Horticulturae***. *10*(1): 57. https://doi.org/10.3390/horticulturae10010057.

Perroud PF, Guyon-Debast A, Veillet F, Kermarrec MP, Chauvin L, Chauvin JE, Gallois JL, Nogue F. (2022) Prime editing in the model plant *physcomitrium patens* and its potential in the tetraploid potato. ***Plant Science***. *316*: 111162. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111162.

Pineda M, Lear A, Collins JP, Kiani S. (2019) Safe CRISPR: challenges and possible solutions. ***Trends in Biotechnology***. *37*: 389–401. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.09.010.

Saurabh S. (2021) Genome editing: Revolutionizing the crop improvement. ***Plant Molecular Biology Reporter***. *39*(4): 752-772. https://doi.org/10.1007/s11105-021-01286-7.

Shan Q, Wang Y, Li J, Gao C. (2014) Genome editing in rice and wheat using the CRISPR/Cas system. ***Nature Protocols***. *9*: 2395–2410. https://doi.org/10.1038/nprot.2014.157.

Shi J, Gao H, Wang H, Lafitte HR, Archibald RL, Yang M, Hakimi SM, Mo H, Habben JE. (2017) ARGOS 8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. ***Plant Biotechnology Journal***. *15*: 207–216. https://doi.org/10.1111/pbi.12603.

Shi L, Su J, Cho MJ, Song H, Dong X, Liang Y, Zhang Z. (2023) Promoter editing for the genetic improvement of crops. ***Journal of Experimental Botany***. *74*(15): 4349-4366. https://doi.org/10.1093/jxb/erad175.

Shimatani Z, Kashojiya S, Takayama M, Terada R, Arazoe T, Ishii H, Teramura H, Yamamoto T, Komatsu H, Miura K, Ezura H, Nishida K, Ariizumi T, Kondo A. (2017) Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion. ***Nature Biotechnology***. *35*: 441-443. https://doi.org/10.1038/nbt.3833.

Sun C, Lei Y, Li B, Gao Q, Li Y, Cao W, Gao C. (2024) Precise integration of large DNA sequences in plant genomes using PrimeRoot editors. ***Nature Biotechnology***. *42*(2): 316-327. https://doi.org/10.1038/s41587-023-01769-w.

Sun Y, Zhang X, Wu C, He Y, Ma Y, Hou H, Guo X, Du W, Zhao Y, Xia L. (2016) Engineering herbicide-resistant rice plants through CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate synthase. ***Molecular Plant***. *9*: 628–631. https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.01.001.

Svitashev S, Young JK, Schwartz C, Gao H, Falco SC, Cigan AM. (2015) Targeted mutagenesis, precise gene editing, and site-specific gene insertion in maize using Cas9 and guide RNA. ***Plant Physiology.*** *169*: 931–945. https://doi.org/10.1104/pp.15.00793.

Tang X, Zhang Y. (2023) Beyond knockouts: fine-tuning regulation of gene expression in plants with CRISPR-Cas-based promoter editing. ***New Phytologist.*** 239(3): 868-874. https://doi.org/10.1111/nph.19020.

Tian S, Yao L, Zhang Y, Rao X, Zhu H. (2025) Prime editing for crop improvement: A systematic review of optimization strategies and advanced applications. ***Genes***. *16*(8): 965. https://doi.org/10.3390/genes16080965.

Tingting L, Jinpeng Z, Xi Y, Kejian W, Yuchun R, Chun W. (2023) Development and application of prime editing in plants. ***Rice Science***. *30*(6): 509-522. http://dx.doi.org/10.1016/j.rsci.2023.07.005.

Tsai SQ, Zheng Z, Nguyen NT, Liebers M, Topkar VV, Thapar V, Joung JK. (2015) GUIDE-seq enables genome-wide profiling of off-target cleavage by CRISPR-Cas nucleases. ***Nature Biotechnology***. *33*(2): 187-197. https://doi.org/10.1038/nbt.3117.

Tuncel A, Pan C, Sprink T, Wilhelm R, Barrangou R, Li L, Qi Y. (2023) Genome-edited foods. ***Nature Reviews Bioengineering***. *1*(11): 799-816. https://doi.org/10.1038/s44222-023-00115-8.

Van Vu T, Das S, Hensel G, Kim JY. (2022) Genome editing and beyond: What does it mean for the future of plant breeding? ***Planta***. *255*(6): 130. https://doi.org/10.1007/s00425-022-03906-2.

Vats S, Kumar J, Sonah H, Zhang F, Deshmukh R. (2024) Prime editing in plants: prospects and

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

challenges. ***Journal of Experimental Botany***. *75*(17): 5344-5356. https://doi.org/10.1093/jxb/erae053.

Vu TV, Nguyen NT, Kim J, Hong JC, Kim JY. (2024) Prime editing: mechanism insight and recent applications in plants. ***Plant Biotechnology Journal***. *22*(1): 19-36. https://doi.org/10.1111/pbi.14188.

Wang Y, Cheng X, Shan Q, Zhang Y, Liu J, Gao C, Qiu JL. (2014) Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. ***Nature Biotechnology***. *32*: 947–951. https://doi.org/10.1038/nbt.2969.

Wang F, Wang C, Liu P, Lei C, Hao W, Gao Y, Liu YG, Zhao K. (2016) Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene OsERF922. ***PloS One***. *11*(4): E0154027. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154027.

Xu R, Li J, Liu X, Shan T, Qin R, Wei P. (2020) Development of plant prime-editing systems for precise genome editing. ***Plant Communications***. *1*(3): 100043. https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100043.

Xu R, Liu X, Li J, Qin R, Wei P. (2021) Identification of herbicide resistance OsACC1 mutations via in planta prime-editing-library screening in rice. ***Nature Plants***. *7*(7): 888-892. https://doi.org/10.1038/s41477-021-00942-w.

Yan J, Cirincione A, Adamson B. (2020) Prime editing: precision genome editing by reverse transcription. ***Molecular Cell***. *77*(2): 210-212. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.12.016.

Yin KQ, Gao CX, Qiu JL. (2017) Progress and prospects in plant genome editing. ***Nature Plants***. *3*(8): 17107. https://doi.org/10.1038/nplants.2017.107.

Zaidi SSEA, Vanderschuren H, Qaim M, Mahfouz MM, Kohli A, Mansoor S, Tester M. (2019) New plant breeding technologies for food security. ***Science***. *363*(6434): 1390-1391. http://dx.doi.org/10.1126/science.aav6316.

Zhang K, Raboanatahiry N, Zhu B, Li M. (2017) Progress in genome editing technology and its application in plants. ***Frontiers in Plant Science***. *8*: 177. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00177.

Zhang Y, Li D, Zhang D, Zhao X, Cao X, Dong L, Liu J, Chen K, Zhang H, Gao C, Wang D. (2018a) Analysis of the functions of TaGW2 homoeologs in wheat grain weight and protein content traits. ***The Plant Journal***. *94*(5): 857–866. https://doi.org/10.1111/tpj.13903.

Zhang Z, Ge X, Luo X, Wang P, Fan Q, Hu G, Xiao J, Li F, Wu J. (2018b) Simultaneous editing of two copies of Gh14-3-3d confers enhanced transgene-clean plant defense against *Verticillium dahliae* in allotetraploid upland cotton. ***Frontiers in Plant Science***. *9*: 842. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00842.

Zhang D, Zhang Z, Unver T, Zhang B. (2021) CRISPR/Cas: A powerful tool for gene function study and crop improvement. ***Journal of Advanced Research***. *29*: 207-221. https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.10.003.

Zhong Z, Fan T, He Y, Liu S, Zheng X, Xu Y, Ren J, Yuan H, Xu Z, Zhang Y. (2024) An improved plant prime editor for efficient generation of multiple-nucleotide variations and structural variations in rice. ***Plant Communications***. *5*(9): 100976. https://doi.org/10.1016/j.xplc.2024.100976.

Zong Y, Liu Y, Xue C, Li B, Li X, Wang Y, Gao C. (2022) An engineered prime editor with enhanced editing efficiency in plants. ***Nature Biotechnology***. *40*(9): 1394-1402. https://doi.org/10.1038/s41587-022-01254-w.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]

Prime Editing: A New Step toward Reducing Biosafety Concerns in Plant Genome Editing

Sedigheh Sadat Seyeddoaeian, Ebrahim Dorani*

Department of Plant Biotechnology and Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

dorani@tabrizu.ac.ir

Abstract

Rapid population growth and climate change have made the development of high-yielding, stress-tolerant crops a global necessity. The emergence of genome editing technologies such as CRISPR-Cas9 has revolutionized this field. However, biosafety concerns arising from DNA double-strand breaks and off-target effects have posed obstacles to their application in plants. Prime editing, as a next-generation genome editing tool, can introduce various types of mutations without inducing double-strand breaks and with significantly reduced off-target effects, and it does not require an external DNA donor template. Therefore, despite certain limitations of Prime editing, such as its low efficiency in plants and PAM sequence constraints, this technology holds great potential for the development of superior agricultural crops for various purposes, including yield enhancement, conferring resistance to various abiotic and biotic stresses, and improving the quality of plant products. Accordingly, this article aims to provide a brief introduction to this technology as a novel step toward mitigating biosafety concerns associated with genome editing technologies in plants.

Keywords: Food security, Genetic modification, CRISPR, Genome editing

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.2.9]