

مقاله پژوهشی

## سیستم CRISPR-Cas9 برای ویرایش ژنومی ژن ASS1 در سلول‌های انسانی به منظور پیش‌بینی تأثیر آن بر تکثیر HSV-1

Nastaran Khodadad<sup>1</sup>, Mona Fani<sup>2</sup>, Mahboobeh Khodadad<sup>1</sup>, Shokufeh Akbarinia<sup>1</sup>, Zahra Goodarzi<sup>1</sup>, Ali Teimoori<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>2</sup>Department of Pathobiology and Laboratory Sciences, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

<sup>3</sup>Department of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

### چکیده

ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ (HSV-1) یک پاتوژن بسیار مسری است که عفونت‌های نهفته مادام‌العمر ایجاد می‌کند. تکثیر HSV-1 به طور بالقوه می‌تواند تحت تأثیر ژن آرژنینین سوکسینات سنتتاز ۱ (ASS1)، یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی متابولیسم سلولی قرار گیرد. در این مطالعه از پلتفرم ویرایش ژنوم CRISPR-Cas9 برای هدف‌گیری و اختلال اختصاصی در ژن ASS1 و بررسی تأثیر آن بر تکثیر ویروس استفاده شد. یک RNA راهنما (gRNA) مکمل توالی درون‌ژنی ASS1 طراحی گردید. پلاسمید اهداکننده و پلاسمید pCas-guide کلون شده و به همراه DNA آدنووایروس نوع ۵ (Ad5) برش‌خورده به سلول‌های کلیه جنینی انسان (HEK293-AD) منتقل شدند. کلون‌های احتمالی فاقد ژن ASS1 با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و تعیین توالی DNA شناسایی و تأیید شدند. اثر حذف ژن بر تکثیر HSV-1 از طریق سنجش پلاک به منظور تعیین تیترو ویروسی ارزیابی شد. نتایج تعیین توالی در سلول‌های تیمار شده با ASS1-gRNA/Cas9 حذف موفق ژن را تأیید نکرد، زیرا اختلال مورد نظر در ژن ASS1 حاصل نشد. تیترو ویروسی بین گروه عفونی HSV-1 (MOI=0.01) و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که gRNA تکی طراحی شده در این مطالعه اختصاصیت کافی برای القای حذف ژنی به واسطه CRISPR-Cas9 را نداشت. بنابراین، استفاده از مجموعه‌ای از gRNA‌های اختصاصی‌تر برای افزایش کارایی هدف‌گیری توصیه می‌شود. مطالعات بیشتری برای تأیید اصلاح ژنتیکی مورد نظر و بررسی اثرات آن بر تکثیر HSV-1 ضروری است.

کلیدواژه‌ها: ویرایش ژنوم، ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱، CRISPR-Cas9، ژن آرژنینین سوکسینات سنتتاز ۱

### \*Corresponding authors:

Ali Teimoori, PhD

Address: Department of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Tel: +98 71 37386272

Email: [teimooriali1982@gmail.com](mailto:teimooriali1982@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0003-0766-8591>

Received: 12 Aug 2025

Accepted: 19 Sep 2025