



# Potensi CRISPR-Cas9 Terkonjugasi Sistem Pengantar Vesikel Ekstraseluler Berbasis Metode Genome Editing sebagai Strategi Terapeutik Penyakit HIV

Muhammad Rizky Hidayatullah<sup>\*1</sup> , Salwa Adilah Ningtiyas<sup>1</sup> , Adinda Nezma Meidina<sup>1</sup>, Awwa Chaga Qambara Taqwa<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Undergraduate Medical Education Program, Faculty of Medicine, Universitas Sriwijaya, Palembang 30151, Indonesia

<sup>2</sup>Undergraduate Medical Education Program, Faculty of Medicine, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesia

\*Corresponding Author: [muhammadrizkyhidayatullah50@gmail.com](mailto:muhammadrizkyhidayatullah50@gmail.com)

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 16 June 2026

Revised 25 July 2026

Accepted 6 August 2026

Available online 28 August 2026

E-ISSN: 2686-0864

P-ISSN: 2088-8686

### How to cite:

Hidayatullah MR, Ningtiyas SA, Meidina AN, Taqwa ACQ. Potensi CRISPR-Cas9 Terkonjugasi Sistem Pengantar Vesikel Ekstraseluler sebagai Strategi Terapeutik Penyakit HIV dengan Metode Genome Editing untuk Pengobatan Masa Depan Penyakit HIV. SCRIPTA SCORE Sci Med J. 2026 Aug 28;8(1):107–113

## ABSTRACT

**Background:** Human Immunodeficiency Virus (HIV) remains a major global health challenge with high morbidity and mortality rates. Although antiretroviral therapy (ART) effectively suppresses viral replication, it is unable to eradicate latent HIV reservoirs, preventing complete viral clearance. Advances in genome editing technologies, particularly Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9 (CRISPR-Cas9), have created new opportunities for HIV treatment through the targeted elimination of integrated viral genetic material. **Objectives:** This study aimed to review the potential of CRISPR-Cas9 delivered via extracellular vesicles delivery systems as a therapeutic strategy for HIV based on current scientific evidence. **Methods:** A literature review was conducted using scientific articles retrieved from PubMed, ScienceDirect, NCBI, and other relevant scientific databases. Relevant studies were critically reviewed and synthesized to evaluate its therapeutic potential for HIV treatment. **Result and Discussion:** The findings indicate that CRISPR-Cas9 can target multiple stages of the HIV life cycle, including disruption of viral entry coreceptors, inhibition of viral replication, and elimination of latent proviral DNA integrated within host genomes. Furthermore, extracellular vesicles offer several advantages as delivery vehicles, including high biocompatibility, low immunogenicity, and efficient intracellular delivery of CRISPR-Cas9 components. Several studies have demonstrated that the combination of CRISPR-Cas9 and extracellular vesicle-based delivery systems can reduce HIV proviral expression and prevent the reactivation of latent viral reservoirs. **Conclusion:** CRISPR-Cas9 delivered via extracellular vesicles delivery systems represents a promising therapeutic approach for HIV treatment. However, further studies are required to evaluate its safety, efficacy, and clinical applicability in humans.

**Keyword:** CRISPR-Cas9, extracellular vesicles, gene therapy, genome editing, HIV.

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Human Immunodeficiency Virus (HIV) masih menjadi tantangan kesehatan global dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Meskipun terapi antiretroviral (ART) efektif dalam menekan replikasi virus, terapi ini belum mampu mengeliminasi reservoir laten HIV sehingga belum dapat memberikan kesembuhan secara menyeluruh. Perkembangan teknologi genome editing, khususnya Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9 (CRISPR-Cas9), membuka peluang baru dalam terapi HIV melalui eliminasi materi genetik virus yang terintegrasi pada



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International.  
<https://doi.org/10.32734/scripta.v8i1.26035>

genom inang. **Tujuan:** Mengkaji potensi CRISPR-Cas9 yang dihantarkan menggunakan vesikel ekstraseluler sebagai strategi terapeutik HIV berdasarkan bukti ilmiah terkini. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode literature review dengan menelaah berbagai artikel ilmiah yang diperoleh dari PubMed, ScienceDirect, NCBI, dan sumber ilmiah relevan lainnya. Artikel yang relevan ditelaah secara kritis dan disintesis untuk mengevaluasi potensi terapeutik pendekatan tersebut dalam pengobatan HIV. **Pembahasan:** Kajian menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 mampu menargetkan berbagai tahap siklus hidup HIV, termasuk menghambat koreseptor masuknya virus, mengganggu replikasi virus, serta mengeliminasi provirus laten yang terintegrasi dalam genom sel inang. Selain itu, vesikel ekstraseluler memiliki keunggulan sebagai sistem penghantar karena bersifat biokompatibel, memiliki imunogenisitas rendah, serta mampu meningkatkan efisiensi pengiriman komponen CRISPR-Cas9 ke sel target. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kombinasi CRISPR-Cas9 dan vesikel ekstraseluler mampu menurunkan ekspresi provirus HIV dan menghambat aktivasi ulang reservoir laten. **Kesimpulan:** CRISPR-Cas9 yang dihantarkan menggunakan vesikel ekstraseluler berpotensi menjadi strategi terapeutik inovatif untuk HIV. Meskipun demikian, penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengevaluasi keamanan, efikasi, dan aplikasinya pada manusia.

**Keyword:** CRISPR-Cas9, HIV, penyuntingan genom, terapi gen, vesikel ekstraseluler.

## 1. Introduction

Human immunodeficiency virus (HIV) adalah retrovirus berselubung yang menyebabkan *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS) sebagai tahap terakhir dari penyakit HIV.<sup>[1]</sup> Meskipun upaya maksimal dalam pencegahan dan terapi infeksi HIV telah dikerahkan, HIV tetap menjadi ancaman utama bagi kesehatan manusia secara global.<sup>[2]</sup> Menurut data *United Nations Programme on HIV and AIDS* (UNAIDS), terdapat 40,8 juta orang diseluruh dunia hidup dengan HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) pada tahun 2024, dimana Indonesia menyumbang 570.000 orang pada angka tersebut.<sup>[3]</sup> Selanjutnya, World Health Organization (WHO) pada tahun 2024 menyatakan bahwa terdapat peningkatan sebesar 1.3 juta kasus baru HIV di seluruh dunia, dengan 630.000 kematian akibat HIV pada tahun yang sama.<sup>[4]</sup>

Sampai saat ini, terapi antiretroviral (ART) masih menjadi strategi terapi utama dan telah terkonfirmasi dapat menurunkan angka morbiditas dan mortalitas penyakit HIV.<sup>[5]</sup> Sayangnya, pada beberapa penelitian terkait, hanya 50-60% pasien terinfeksi HIV yang telah menerima terapi ini. Selain itu, kombinasi terapi antiretroviral (ART) tidak mampu memusnahkan reservoir virus laten pada pasien HIV, meskipun dalam perannya sangat aktif menekan replikasi virus.<sup>[6]</sup> Hal tersebut menegaskan bahwa penyakit HIV menjadi penyakit kronis yang tidak dapat disembuhkan. Oleh karena itu, strategi terapi yang lebih efektif untuk penyakit HIV harus dikembangkan.

CRISPR-Cas9 (*clustered regular interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9*) merupakan metode *genome editing* yang akhir-akhir ini telah banyak diteliti sebagai terapi molekuler untuk berbagai penyakit.<sup>[7]</sup> Sistem ini menggunakan CRISPR RNA (crRNA), yang mengenali sekuens DNA target, dan *trans-activating* CRISPR RNA (tracrRNA), yang mengikat serta mengaktifkan enzim Cas9. Pada CRISPR-Cas9, crRNA dan tracrRNA membentuk untai RNA tunggal, yang dikenal sebagai single guide RNA (sgRNA) yang mampu membimbing dan mengaktifkan Cas9 untuk memecahkan DNA yang ditargetkan. Pemutusan ini tergantung pada adanya urutan tiga nukleotida yang disebut *protospacer adjacent motif* (PAM). Hasil pemutusan selanjutnya diperbaiki dengan mekanisme *non-homologous end-joining* (NHEJ) ataupun *homology-directed repair* (HDR).<sup>[7,8]</sup> Dengan cara ini, diverifikasi bahwa sistem CRISPR-Cas dapat digunakan untuk mengedit gen dalam upaya terapi penyakit. Harapannya tulisan ini dapat bermanfaat sebagai fondasi pemikiran ilmiah perkembangan terapi masa depan yang efektif untuk penyakit HIV di Indonesia.

## 2. Method

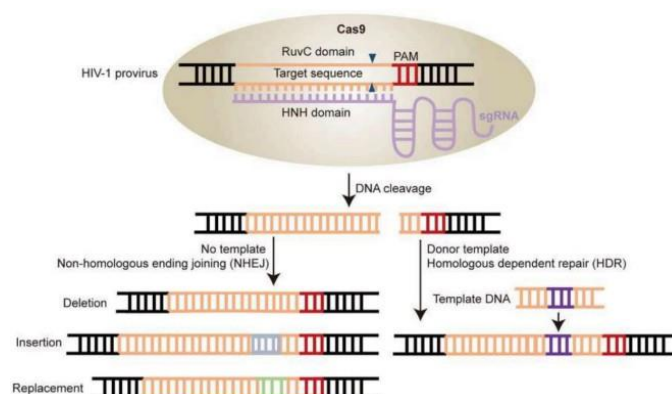
Penelitian ini menggunakan metode literature review dengan pendekatan deskriptif untuk mengkaji potensi *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9* (CRISPR-Cas9) yang dihantarkan menggunakan vesikel ekstraseluler sebagai strategi terapeutik penyakit Human Immunodeficiency Virus (HIV). Pencarian literatur dilakukan melalui basis data ilmiah internasional, yaitu PubMed, ScienceDirect, Google buScholar, dan NCBI, menggunakan kombinasi kata kunci

“CRISPR-Cas9”, “HIV”, “genome editing”, “extracellular vesicles”, “exosomes”, “HIV gene therapy”, dan “CRISPR delivery system”. Kriteria inklusi pada pencarian literatur ini adalah jurnal berbahasa Indonesia dan Inggris dengan ketentuan publikasi maksimal 10 tahun terakhir. Adapun, kriteria eksklusi pada pencarian literatur ini adalah jurnal yang tidak tersedia dalam bentuk *full-text*, *conference paper*, dan *commentary*. Validitas dan relevansi referensi yang digunakan dapat dipertanggungjawabkan.

Seleksi literatur dilakukan melalui tahap identifikasi, penyaringan judul dan abstrak, serta penelaahan teks lengkap berdasarkan relevansinya terhadap topik penelitian. Pengumpulan data dilakukan pada bulan Agustus 2023 – Juli 2026. Artikel yang membahas mekanisme kerja CRISPR-Cas9, aplikasi *genome editing* pada HIV, sistem penghantaran berbasis vesikel ekstraseluler, serta hasil penelitian preklinis maupun klinis terkait terapi HIV dimasukkan dalam kajian. Tahap seleksi dikumpulkan sebanyak 52 referensi dimasukkan ke log, 7 duplikat dihapus, 45 referensi unik disaring, 17 dikeluarkan pada tahap judul-abstrak, 28 teks lengkap dinilai, dan 10 dikeluarkan setelah telaah teks lengkap. Sebanyak 18 publikasi ilmiah disintesis, kemudian dua sumber konteks otoritatif ditambahkan dari WHO dan UNAIDS Indonesia. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dan disintesis secara naratif untuk mengevaluasi potensi, keunggulan, tantangan, serta prospek pengembangan CRISPR-Cas9 terkonjugasi vesikel ekstraseluler sebagai strategi terapeutik HIV di masa depan.

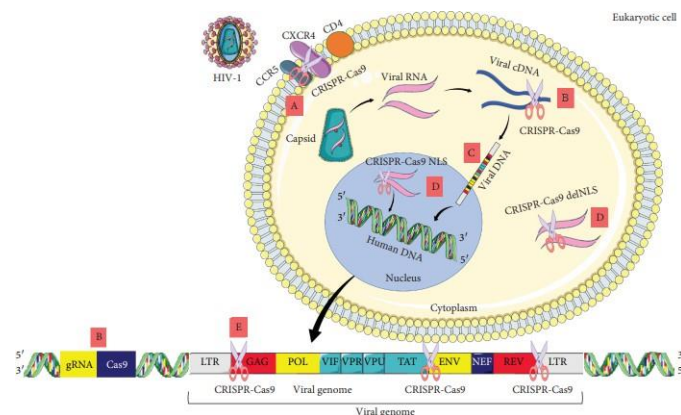
### 3. Result and Discussion

CRISPR-Cas9 adalah sistem pengeditan genom. Dalam sistem ini, tracr RNA dan crRNA dapat dihubungkan bersama untuk membentuk RNA pemandu tunggal (sgRNA) yang dapat mengarahkan Cas9 untuk menginduksi pembelahan DNA di wilayah *Protospacer adjacent motifs* (PAMs). Nuklease Cas9 memiliki dua domain aktivitas histidin-asparagin-histidin (HNH) dan RuvC, membelah untai DNA yang berbeda. Basa sgRNA berpasangan dengan untai target, yang dipecah oleh domain HNH, sedangkan untai non-target dibelah oleh domain RuvC. Pemecahan DNA untai ganda yang diinduksi pembelahan *double-strand break* (DSB) akan diperbaiki oleh *non-homologous end-joining* (NHEJ) tanpa adanya *template* atau *homology-directed repair* (HDR) dengan *template* homolog.<sup>[5,9]</sup> (Gambar 1).



Gambar 1. Skema modifikasi DNA provirus HIV-1 dengan teknologi CRISPR/Cas9<sup>[5]</sup>

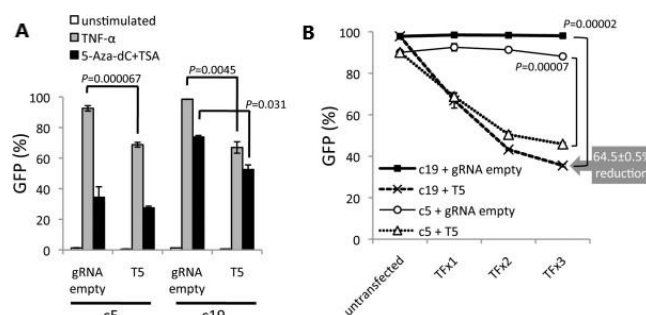
HIV-1 adalah retrovirus dengan dua salinan RNA genomik panjang penuh sekitar 9,8 kb yang terdiri dari dua urutan pengulangan terminal panjang *long terminal repeat* (LTR) dan gen yang mengkode sepuluh protein virus, termasuk gag, pol, vif, vpr, vpu, env, tat, rev, nef, dan protein antisense (ASP).<sup>[5,6]</sup> HIV-1 menyerang sel target dengan mengikat protein permukaan amplopnya gp120 ke reseptor utama CD4 pada membran sel target, dan kemudian berinteraksi dengan koreseptor kemokin CCR5 atau CXCR4.<sup>[14,15]</sup> Dengan mengikat reseptor, HIV-1 memasuki sel melalui fusi membran dan mengubah RNA genomik virus menjadi DNA untai ganda (dsDNA) oleh *RNA reverse transcriptase*. Kemudian, dsDNA berintegrasi ke dalam genom inang untuk membentuk provirus yang dapat secara aktif mentranskripsi RNA untuk menghasilkan virus atau memasuki keadaan laten tanpa produksi virus. Reservoir HIV laten terbentuk selama tahap awal infeksi HIV dalam sel CD4 T istirahat, makrofag, astrosit dan sel microglial.<sup>[16]</sup> Akibatnya menghindari sistem kekebalan dan obat antivirus. Setelah provirus laten diaktifkan kembali oleh rangsangan, virus baru dapat diproduksi untuk menginfeksi sel yang berdekatan, dan reservoir laten baru dapat dibentuk.<sup>[5,6]</sup>



Gambar 2. Tinjauan strategi CRISPR-Cas9 untuk mengganggu siklus infeksi HIV-1<sup>[9]</sup>

Pada patogenesis HIV tersebut, CRISPR-Cas9 memiliki banyak peluang untuk melakukan strategi terapi. Strategi pertama yaitu CRISPR-Cas9 dapat mengganggu kedua koreseptor CCR5 dan CXCR4 sebagai koreseptor untuk masuknya HIV (Gambar 2, A), mengganggu transkripsi balik molekul RNA menjadi DNA (Gambar 2, B), menghambat replikasi virus dengan menargetkan situs berbeda yang ada dalam genom HIV-1, termasuk LTR, gag, pol, tat, dan rev (Gambar 2, C), memecahkan genom HIV-1 sebelum integrasinya ke dalam DNA inang (Gambar 2, D), dan untuk menyembuhkan pasien yang membawa provirus dalam bentuk laten dengan menargetkan wilayah LTR HIV (Gambar 2, E).<sup>[9,14,15]</sup> Reservoir laten HIV-1 merupakan hambatan utama dalam eradikasi HIV karena provirus tidak dapat dieliminasi oleh terapi antiretroviral dan dapat kembali aktif untuk menghasilkan virus baru. Oleh karena itu, pembahasan bukti efektivitas CRISPR-Cas9 difokuskan pada penargetan reservoir laten sebagai strategi menuju penyembuhan HIV.

Berikut ini studi invitro sistem CRISPR-Cas9 yang dapat menargetkan bentuk laten dari provirus HIV-1 dalam sel Jurkat. Untuk menguji ini, dibuat dua garis sel klon Jurkat, c5 dan c19, yang meniru latensi HIV. Klon sel ini diisolasi dengan pengenceran terbatas dari populasi sel yang hanya mengekspresikan *green fluorescent protein* (GFP) setelah induksi oleh TNF- $\alpha$  atau kombinasi 5-Aza-dC/TSA. Baik c5 dan c19 ditransfeksi bersama dengan vektor kosong gRNA (gRNA empty) dan T5 (gRNA yang menargetkan regio R dari LTR HIV) serta plasmid ekspresi hCas9 sebagai mesin pemotong. Data ini menunjukkan bahwa sistem T5 CRISPR-Cas9 menghasilkan populasi sel, yang resisten terhadap stimulasi TNF- $\alpha$  dan 5-Aza-dC/TSA (Gambar 3, A). Untuk meningkatkan efisiensi sistem T5 CRISPR-Cas9, dilakukan beberapa transfeksi dari plasmid ekspresi T5 dan hCas9. Pendekatan ini secara signifikan mengurangi aktivasi ulang provirus laten (Gambar 3, B). Hasil ini dengan jelas menunjukkan bahwa sistem T5 CRISPR-Cas9 mampu mencegah aktivasi ulang provirus yang terintegrasi secara laten dalam sel T.<sup>[10]</sup>

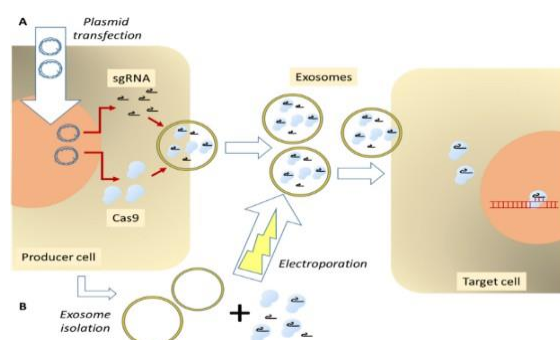


Gambar 3. Efektivitas CRISPR-Cas9 dalam menargetkan provirus HIV-1 laten pada sel Jurkat: (A) Persentase sel GFP-positif setelah transfeksi CRISPR-Cas9, tanpa stimulasi maupun setelah induksi dengan TNF- $\alpha$  atau kombinasi 5-aza-dC dan TSA. (B) Tiga putaran transfeksi menurunkan persentase sel yang membawa provirus laten dari 97,8% menjadi 35,5%.<sup>[10]</sup>

Sistem CRISPR-Cas menawarkan potensi terapeutik yang besar. Namun, dibutuhkan sistem penghantaran yang aman. Metode pengiriman biasanya dibagi menjadi metode fisik (elektroporasi dan mikroinjeksi), melalui vektor virus (lentiviral, adenoviral, dan vektor *adeno-associated virus*), dan menggunakan metode non-virus (plasmid, lipid dan nanopartikel polimer, vesikel ekstraseluler). Mikroinjeksi dan elektroporasi

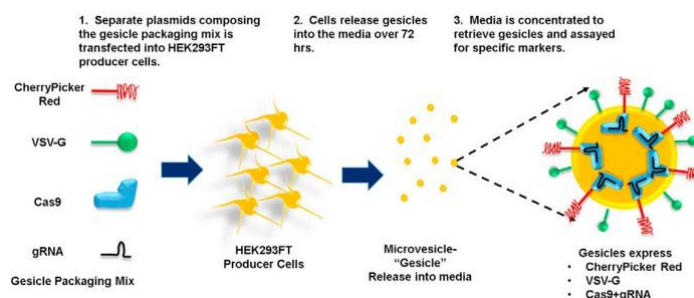
memiliki keterbatasan karena berpotensi menyebabkan kerusakan sel selama proses penghantaran, dan vektor virus dapat menciptakan respon imun.<sup>[11,17]</sup> Baru-baru ini penelitian menunjukkan bahwa sistem pengantaran vesikel ekstraseluler seperti eksosom adalah yang paling baik.<sup>[11,12]</sup>

Vesikel ekstraseluler adalah vesikel terikat membran alami yang menunjukkan keunggulan biokompatibilitas tinggi dan imunogenisitas rendah. Mereka dapat membawa berbagai biomolekul, termasuk plasmid, protein, siRNA, dan miRNA, yang dapat berfungsi sebagai terapi bebas sel. Komponen fungsional protein gRNA dan Cas9 dapat dienkapsulasi dalam vesikel ekstraseluler dan dapat menghantarkan komponen tersebut ke sel target. Karena biokompatibilitasnya yang sangat baik dan degradasi protein gRNA dan Cas9 yang cepat di dalam sel, pengiriman gRNA dan Cas9 mengurangi risiko efek *off-target* serta meminimalkan kemungkinan integrasi materi genetik ke dalam genom inang.<sup>[12,18]</sup> Perbandingan kuantitatif efisiensi pengiriman RNA antara vesikel ekstraseluler dan nanopartikel sintetis baru-baru ini diterbitkan, vesikel ekstraseluler mengungguli nanopartikel sintetis beberapa kali lipat.<sup>[11,19]</sup> Pemuatan komponen CRISPR ke dalam vesikel ekstraseluler dapat dilakukan dengan menggunakan vesikel ekstraseluler yang dimurnikan atau memanfaatkan mekanisme pengemasan seluler (Gambar 4).<sup>[11]</sup>



Gambar 4. Rute Umum untuk Memuat Komponen CRISPR/Cas ke dalam Vesikel Ekstraseluler: (A) Dengan memanfaatkan rutinitas pengemasan seluler, sel-sel produsen dapat ditransfeksi dengan plasmid yang mengkode protein Cas9 dan sgRNA. (B) Setelah isolasi dan pemurnian vesikel ekstraseluler, mereka dimuat secara *in vitro* dengan protein Cas9 dan sgRNA, misalnya, dengan elektroporasi<sup>[11]</sup>

Terdapat penelitian menggunakan vesikel ekstraseluler khusus yang disebut "gesicle" yang menargetkan LTR HIV. Sel HEK293 ditransfeksi dengan campuran plasmid yang mengekspresikan salah satu dari empat komponen: VSV-G, CherryPicker Red, Cas9, dan guide RNA. Gesicle kemudian dibentuk dan disekresikan ke medium kultur selama sekitar 72 jam, lalu dikumpulkan, dikonsentrasikan, dan digunakan untuk mengantarkan kompleks Cas9–guide RNA ke sel target yang mengandung provirus HIV laten, sehingga kompleks tersebut dapat mengenali dan memotong sekuens LTR HIV secara terarah.<sup>[13,20]</sup>



Gambar 5. Vesikel Ekstraseluler Gesicle<sup>[13]</sup>

HIV-NanoLuc CHME-5 digunakan untuk memeriksa pengiriman CRISPR-Cas9 oleh gesicle. HIV-NanoLuc mengandung provirus HIV yang menghasilkan Nef sebagai protein HIV. Jumlah salinan HIV provirus dan protein Nef virus menurun setelah pengobatan gesicle, yang diukur dengan PCR. Uji T7E1 mengkonfirmasi mutasi di wilayah LTR yang ditargetkan yang mengurangi perkembangan HIV. Hal ini menunjukkan gesicle sebagai bentuk vesikel ekstraseluler efektif dalam pengantaran CRISPR-Cas9.<sup>[13]</sup>

#### 4. Conclusion

Berdasarkan kajian literatur, CRISPR-Cas9 yang dihantarkan melalui vesikel ekstraseluler berpotensi menjadi strategi terapeutik HIV karena mampu menargetkan koreseptor masuk virus, mengganggu gen esensial HIV, dan terutama menginaktivasi provirus laten yang tidak dapat dieliminasi oleh terapi antiretroviral. Keunggulan vesikel ekstraseluler berupa biokompatibilitas tinggi, imunogenisitas rendah, dan efisiensi penghantaran Cas9–gRNA memperkuat rasionalitas pendekatan ini, didukung oleh bukti *in vitro* berupa penurunan reaktivasi provirus, jumlah salinan HIV, dan ekspresi protein virus. Namun, karena bukti yang tersedia masih didominasi penelitian seluler dan preklinis, efektivitas klinisnya belum dapat dipastikan. Dengan demikian, pendekatan ini merupakan kandidat terapi inovatif menuju remisi atau penyembuhan fungsional HIV, tetapi masih memerlukan validasi terkait spesifisitas target, efek off-target, resistensi virus, biodistribusi, keamanan jangka panjang, dan efikasi pada manusia.

#### References

- [1] Swinkels HM, Nguyen AD, Samandari T, Gulick PG. HIV and AIDS. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan- [updated 2026 Jan 14; cited 2026 Jul 21]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534860/>
- [2] Huang Z, Nair M. A CRISPR/Cas9 guidance RNA screen platform for HIV provirus disruption and HIV/AIDS gene therapy in astrocytes. *Sci Rep*. 2017;7(1):5955. doi:10.1038/s41598-017-06269-x.
- [3] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. UNAIDS [Internet]. Geneva: UNAIDS; [cited 2026 Jul 21]. Available from: <https://www.unaids.org/en>
- [4] World Health Organization. HIV and AIDS [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2025 Jul 15 [cited 2026 Jul 21]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
- [5] Xiao Q, Guo D, Chen S. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:69. doi:10.3389/fcimb.2019.00069.
- [6] Zhang Z, Hou W, Chen S. Updates on CRISPR-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. *Viol Sin*. 2022;37(1):1-10. doi:10.1016/j.virs.2022.01.017.
- [7] Uddin F, Rudin CM, Sen T. CRISPR gene therapy: applications, limitations, and implications for the future. *Front Oncol*. 2020;10:1387. doi:10.3389/fonc.2020.01387.
- [8] Xu Y, Li Z. CRISPR-Cas systems: overview, innovations and applications in human disease research and gene therapy. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:2401-15. doi:10.1016/j.csbj.2020.08.031.
- [9] Sanches-da-Silva GDN, Medeiros LFS, Lima FM. The potential use of the CRISPR-Cas system for HIV-1 gene therapy. *Int J Genomics*. 2019;2019:8458263. doi:10.1155/2019/8458263.
- [10] Ebina H, Misawa N, Kanemura Y, Koyanagi Y. Harnessing the CRISPR/Cas9 system to disrupt latent HIV-1 provirus. *Sci Rep*. 2013;3:2510. doi:10.1038/srep02510.
- [11] Horodecka K, D  chler M. CRISPR/Cas9: principle, applications, and delivery through extracellular vesicles. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):6072. doi:10.3390/ijms22116072.
- [12] Duan L, Ouyang K, Xu X, Xu L, Wen C, Zhou X, et al. Nanoparticle delivery of CRISPR/Cas9 for genome editing. *Front Genet*. 2021;12:673286. doi:10.3389/fgene.2021.673286.
- [13] Campbell LA, Coke LM, Richie CT, Fortuno LV, Park AY, Harvey BK. Vesicle-mediated delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complex for inactivating the HIV provirus. *Mol Ther*. 2019;27(1):151-63. doi:10.1016/j.ymthe.2018.10.002.
- [14] Dash PK, Chen C, Kaminski R, Su H, Mancuso P, Sillman B, et al. CRISPR editing of CCR5 and HIV-1 facilitates viral elimination in antiretroviral drug-suppressed virus-infected humanized mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(19):e2217887120. doi:10.1073/pnas.2217887120.
- [15] Panja S, Zaman LA, Zhang C, Patel M, Gorantla S, Dash PK, et al. Lymphoid and CXCR4 cell targeted lipid nanoparticles facilitate HIV-1 proviral DNA excision. *Adv Healthc Mater*. 2025;14(25):e2501190. doi:10.1002/adhm.202501190.
- [16] Mandal S, Baloch AR, Yuan X, Chen J, Saribas AS, Zhu Y, et al. Bipolar CD4-targeted dual-DARPin-55/57 lipid nanoparticle enables efficient CRISPR/Cas-mediated HIV-1 DNA excision and reactivation blockade in latent CD4 T cell lines. *Mater Today Bio*. 2026;37:102939. doi:10.1016/j.mtbio.2026.102939.
- [17] Ma Y, Wei W, Yang Z, Zhou Y, Dong T, Wang T, et al. Exosomes as nonviral carrier for targeted delivery of CRISPR-Cas12a for therapeutic HIV-1 proviral DNA editing. *Mol Ther*. 2026;34(2):1152-1171. doi:10.1016/j.ymthe.2025.11.012.
- [18] Ilahibaks NF, Kluiver TA, de Jong OG, de Jager SCA, Schiffelers RM, Vader P, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complex targeting Pcsk9 in

primary mouse hepatocytes. *J Extracell Vesicles*. 2024;13(1):e12389. doi:10.1002/jev2.12389.

[19] Berggreen AH, Petersen JL, Lin L, Benabdellah K, Luo Y. CRISPR delivery with extracellular vesicles: promises and challenges. *J Extracell Biol*. 2023;2(9):e111. doi:10.1002/jex2.111.

[20] Wei S, Li J, Tuo H, Wang W, Li G, Wen L. ABA-induced cargo proteins loading in extracellular vesicles for gene editing. *Cells*. 2026;15(5):405. doi:10.3390/cells15050405.