

ИНАКТИВАЦИЯ ВИРУСОВ УСКОРЕННЫМИ ЭЛЕКТРОНАМИ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ВЫЗОВЫ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН

*Д.Д. Жданов^{*1}, Р.С. Чурюкин², В.Г. Блинова¹, А.В. Бережнова¹, А.Н. Шишпарёнок¹, В.В. Шумянцева^{1,3},
С.В. Будник², А.В. Лисица¹*

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10/8; *e-mail: zhdanovdd@mail.ru

²"Теокортекс", 108808, Москва, поселение Первомайское, кв-л 328, 34, стр. 6

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Технология инактивации вирусов ускоренными электронами (УЭ) для разработки и производства инаktivированных противовирусных вакцин активно развивается в мире. Использование УЭ, это успешная альтернатива традиционным химическим методам инаktivации, которая позволяет подобрать условия облучения для полной деградации вирусного генома при сохранении антигенных иммуногенных эпитопов. В данном обзоре рассмотрены физические особенности УЭ, их механизм инаktivации вирусов, а также рассмотрены примеры разрабатываемых противовирусных вакцин для человека и животных. Отдельно рассмотрены методы оценки структурно-биохимических свойств вирусных частиц, инаktivированных УЭ. Развитие технологии облучения вирусов УЭ требует разработки ускорителей электронов, удовлетворяющие требованиям как радиационной, так вирусной безопасности. Радиорезистентностью некоторых вирусов также является ограничением, которое должно быть преодолено для успешного создания вакцинных противовирусных препаратов.

Ключевые слова: противовирусная вакцина; облучение; ионизирующее излучение; деградация генома

DOI: 10.18097/BMCRM00348

ВВЕДЕНИЕ

Появление новых вирусных заболеваний и новых вирусных штаммов, наряду с высокой скоростью распространения инфекций ставит перед вирусологами и фармацевтами задачу создания противовирусных вакцин в кратчайшие сроки. Большинство производимых противовирусных аттенуированных или «мёртвых» вакцин, в настоящее время, получают путём химической инаktivации вирусов, при которой вирус инкубируют с алкилирующим агентом в течение нескольких суток. Наиболее часто используют формальдегид или бета-пропиолактон. Подбор условий инаktivации, прежде всего концентраций химического агента и продолжительности инкубации, занимает достаточно много времени, что наряду с необходимостью дополнительной очистки инаktivированного вируса от химического агента увеличивает время разработки и производства вакцины. Поэтому взгляды исследователей обращены в сторону разработки подходов, позволяющих контролируемо, быстро и эффективно разрушить геном вируса, но сохранить при этом белковые структуры. Сохранение белковых структур позволит вирусу однократно поразить клетку и запустить иммунный процесс наработки антител, в то время как разрушение генома не позволит вирусу размножиться. Ранее вирусные частицы с такими свойствами были названы «псевдовirusами» [1]. Инаktivация ионизирующим излучением рассматривается как альтернативный

подход химической инаktivации при разработке вакцин. Облучение гамма-радиацией развивалось изначально активно для получения противовирусных вакцин, поскольку обладают высокой проникающей способностью, даже в замороженном препарате, что необходимо для снижения нежелательного радиолитического разложения воды. Жёсткие требования к инфраструктуре и квалификации персонала являются ограничением применения данного типа излучения [2]. Облучение ускоренными электронами (УЭ) рассматривается как альтернатива гамма-излучению для целей создания противовирусных вакцин, поскольку не накладывает столь строгих инфраструктурных ограничений, и вполне сравнимо по эффективности и биологическим эффектам.

В данном обзоре мы рассмотрели использование УЭ для разработки и производства противовирусных вакцин для человека и сельскохозяйственных животных.

1. ФИЗИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ

Свое название ионизирующие излучения получили благодаря способности вызывать ионизацию атомов и молекул в облучаемом веществе. Ионизация – это акт взаимодействия излучения с веществом, при котором происходит поглощение энергии кванта атомом или молекулой, приводящее к высвобождению электрона с энергией в размере 33 эВ, что превышает энергию, необходимую для разрыва любых связей между атомами в молекуле. Ионизирующие



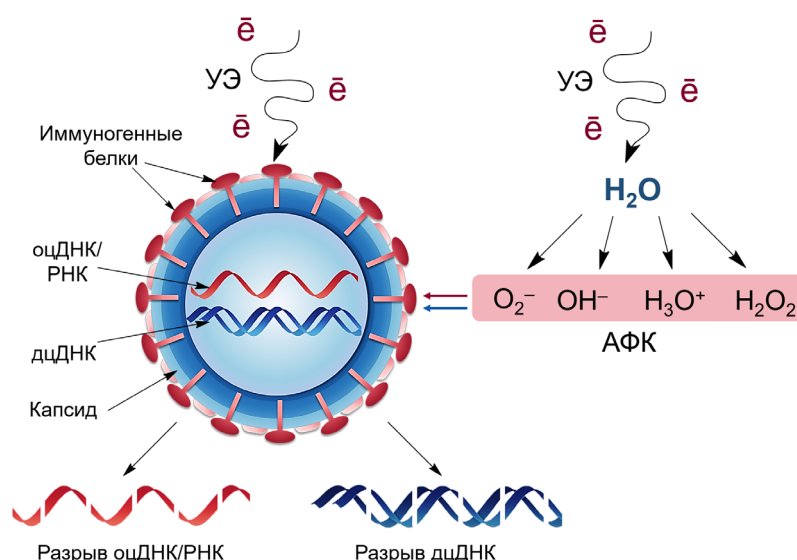


Рисунок 1. Разрушение генетического материала вирусов под действием УЭ. Прямое действие УЭ заключается во внесении повреждений в нуклеиновые кислоты – одноцепочечные молекулы (оцДНК или РНК) или двухцепочечную ДНК (дцДНК), в зависимости от типа вируса. Вторичное действие заключается в воздействии УЭ на молекулы воды, вызывающее образование различных типов активных форм кислорода (АФК), которые также способны повреждать нуклеиновые кислоты. $O_2^{\cdot-}$ – супероксид радикал; $OH^{\cdot}$ – гидроксид радикал; H_3O^+ – ион гидроксония; H_2O_2 – пероксид водорода.

излучения по своей природе подразделяются на электромагнитные и корпускулярные. Электромагнитные излучения – это рентгеновское излучение и гамма – излучение. К корпускулярным ионизирующим излучениям относят бета-частицы (отрицательно заряженные электроны и положительно заряженные позитроны), альфа-частицы, состоящие из двух протонов и двух нейтронов, ускоренные ионы – атомы различных элементов, лишенные электронов, а также внутриядерные частицы, из которых для радиобиологии важны пи-мезоны, нейтроны – ядерные частицы, не имеющие заряда. Несмотря на принадлежность к ионизирующему излучению, УЭ не является частью электромагнитного спектра, поскольку представляет собой дискретные частицы с известной массой и энергией. УЭ получают на промышленных ускорителях, использующих в качестве источника катод, активная поверхность которого испускает электроны. Ускорители принято условно подразделять на ускорители с низкой энергией (до 1 МэВ), со средней энергией (от 1 до 4 МэВ) и с высокой энергией (свыше 4 МэВ) [3]. Эти значения определяют кинетическую энергию и проникающую способность УЭ [4], которая, в свою очередь, ограничивается плотностью и толщиной обрабатываемого материала. Чем выше кинетическая энергия УЭ и меньше плотность вещества, тем выше пробег электронов в материале. При плотности среды 1 г/см^3 УЭ с низкой энергией практически не способны проникнуть внутрь и используются для обработки поверхностей. УЭ средней энергии способны проникать на глубину до 1,5 см, а высокоэнергетические электроны на глубину до 4 см [5]. Невысокая проникающая способность УЭ даже высоких энергий является ограничением этой технологии, которое, однако, можно смягчить подбором размера, формы и упаковки объекта облучения [6].

Получение УЭ не требует радиоактивных изотопов типа кобальта-60 или цезия-137, наиболее часто используемых для генерации гамма-излучения, не формирует радиоактивных отходов [6, 7] и является более экологически

чистым. При выключенном ускорителе радиоактивная защита не требуется. Это делает обращение с УЭ более безопасным и экономичным. Кроме этого, УЭ безопасны для использования в водных условиях, поскольку не выделяют токсичных соединений и минимально генерируют теплообразование [8].

Хотя облучатели различных мощностей достаточно распространены в РФ и используются для обработки пищевых продуктов и в промышленных целях [9], до сих пор не появилось установки, пригодной для облучения вирусов. К таким установкам должны предъявляться требования как радиационной, так и биологической безопасности. Тем не менее, облучение электронами, особенно низких энергий, можно использовать в обычных лабораториях, в том числе в условиях надлежащей производственной практики [10].

2. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ НА ВИРУСЫ

Взаимодействие УЭ с биологическими объектами и, в частности, с вирусами приводит к их инаktivации за счёт прямого и/или косвенного повреждения воздействия [6,7]. Прямое действие УЭ заключается в воздействии их энергии на критические макромолекулярные структуры – нуклеиновые кислоты и белки, в результате чего нарушается их функционирование [11].

Поскольку ДНК или РНК являются крупнейшими макромолекулами в вирусах, они подвержены критическому разрушению, в первую очередь (рис. 1). Фосфодиэфирные связи основной цепи ДНК и водородные связи между комплементарными парами азотистых оснований расщепляются из-за процессов ионизации. Следует отметить, что у вирусов отсутствует система репарации генетического аппарата, поэтому даже единичные нарушения структуры нуклеиновой кислоты, вызванные УЭ, могут стать причиной резкого снижения репликативного потенциала вируса.

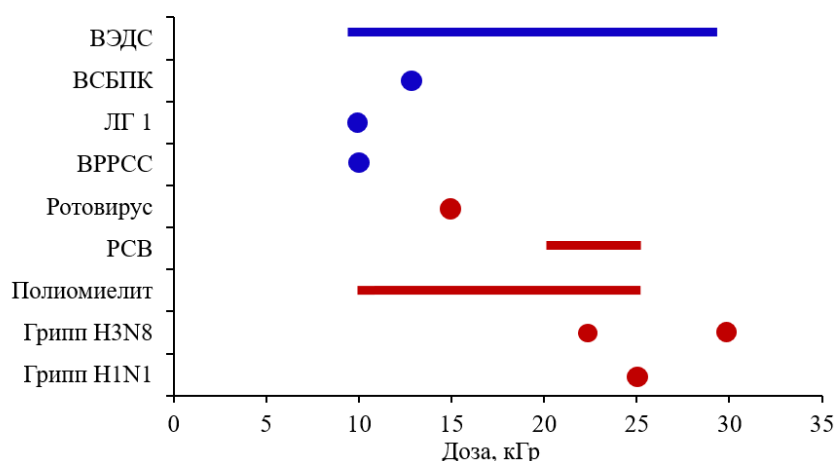


Рисунок 2. Дозы УЭ, используемые для создания противовирусных вакцинных препаратов. Кругами показаны индивидуальные дозы, линиями показан диапазон используемых доз. Красным цветом обозначены вакцины против вирусов человека. Синим цветом обозначены вакцины против вирусов животных. ВРСС – вирус репродуктивного и респираторного синдрома свиней; ВСБПК – вирус синдрома белого пятна креветок; ВЭДС – вирус эпидемической диареи свиней; ЛГ 1 – лошадиного герпеса 1; РСВ – респираторно-синцитиальный вирус. Рисунок создан на основе данных, приведенных в следующих работах [10, 17, 22 – 27].

Косвенное действие, приводящее к поражению критических структур, осуществляется продуктами радиолиза воды, окружающей вирус, как свободной, так связанной. В результате радиолиза воды образуются высокоэнергетические соединения – активные формы кислорода (АФК). АФК, стремясь стабилизировать свободный электрон, способны соединяться друг с другом или кислородом и производить окислители, которые обладают высокой реакционной способностью по отношению к молекулам-мишеням [6, 7].

Гидроксильные радикалы ($\cdot\text{OH}$) значительно повреждают молекулы в непосредственной близости от них [12]. Супероксидные радикалы ($\text{O}_2^{\cdot-}$), предположительно, накапливаются в вирусном капсиде и вызывают серьезное повреждение его структурных белков и функциональных ферментов [13]. Они также вступают в реакцию с эндогенными для вирусов формами оксида азота, образуя активные формы азота, которые способствуют повреждению нуклеиновых кислот. К числу таких активных форм азота относятся анионы пероксинитрита (ONOO^-), диоксид азота (NO_2) и триоксид азота (N_2O_3) [14].

При воздействии УЭ, АФК и ионы азота образуются за одну пикосекунду, а их взаимодействие с белками и нуклеиновыми кислотами вирусов завершаются примерно через 1 миллисекунду после воздействия [15,16]. В качестве примера можно привести исследование [17], которое показывает время инактивации вируса эпидемической диареи свиней посредством распада одноцепочечной РНК под действием УЭ. Прямое повреждение, связанное с разрушением химических связей РНК, завершилось через 10^{-14} – 10^{-12} секунд после облучения. Таким образом, электронное облучение за весьма короткое время может генерировать большие титры инаktivированных вирусов, которые могут быть использованы в качестве инаktivированных вакцин.

Для прогнозирования накопления дозы и действия УЭ внутри и снаружи вируса можно применять моделирование методом Монте-Карло [18, 19]. С использованием данного метода показано, что при облучении основная активность УЭ концентрируется внутри капсида вируса Ковид-19, как

при пропускании узкого пучка (цепочки) электронов через вирус, так и при равномерном облучении всего объекта более широким пучком электронов [20]. Такой характер распределения дозы предпочтителен для разрушения геномной РНК Ковид-19, а минимальная активность на периферии позволяет сохранить целостность поверхностных эпитопов. Это доказывает, что оптимально подобранный режим облучения УЭ может полностью инаktivировать вирусы, сохраняя при этом целостность их поверхностных иммуногенных структур.

Инаktivация патогена зависит главным образом от дозы поглощенных УЭ [21]. На рисунке 2 показаны дозы УЭ, применяемые для инаktivации вируса в целях создания противовирусных вакцин. Применяемые эффективные дозы находятся в диапазоне 10 – 30 кГр. Остается открытым вопрос о зависимости между размером и строением вируса и дозой УЭ, которая бы разрушала геном, но сохраняла бы антигенность.

Селективность действия УЭ в отношении вирусного генома можно повысить используя различную температуру облучения. В целом, снижение температуры приводит к образованию меньшего количества свободных радикалов воды, способных повредить антиген, но требует более высоких доз УЭ для инаktivации вируса. Облучение УЭ вируса полиомиелита штамма Сэбин 2 в водной среде в диапазоне доз 10–25 кГр показало уменьшение степени деградации генома при понижении температуры от 25°C до -70°C [22]. Однако остаточная инфекционность повышалась с понижением температуры.

3. КОНТРОЛЬ СВОЙСТВ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ПОСЛЕ ИНАКТИВАЦИИ УСКОРЕННЫМИ ЭЛЕКТРОНАМИ

Работа над созданием противовирусных вакцин должна сопровождаться анализом их остаточной инфекционности, сохранности структуры и антигенных свойств, а также полноты разрушения генома. Подробно подходы к определению функциональных характеристик вирусных

частиц и их физико-химических свойств рассмотрены на примере вируса полиомиелита [1].

Остаточную инфекционность оценивают рутинным вирусологическим способом, определяя концентрацию инфекционных вирусных частиц с помощью титрования на чувствительных культурах клеток по 50-процентному инфекционному действию (TCID₅₀, Tissue Culture Infectious Dose) [1]. Сохранность антигенных структур определяют иммуноферментными методами с использованием специфических антител или методом поверхностного плазменного резонанса, позволяющего определить кинетические параметры (прежде всего константу диссоциации, K_d) взаимодействия антител и инактивированного вируса. Сохранность D-антигена вируса полиомиелита после инактивации УЭ в дозе 30 кГр составила $42.4 \pm 3.1\%$ [28], а K_d моноклональных антител и полученных псевдовиральных частиц находился на уровне 10^{-11} М [29]. Эти показатели не уступали таковым для частиц, вирусов, инактивированных химическим методом с использованием формальдегида или бета-пропиолактона. Сохранность структуры вируса полиомиелита после облучения также показана методами атомно-силовой микроскопии [28] и электрохимическим профилированием [1].

Оценку иммуногенных свойств проводят прямой иммунизацией животных (чаще всего крыс или морских свинок) инактивированным образцом с последующим анализом титра выработавшихся антител. Оценка остаточной инфекционности, сохранности антигена и определение иммуногенности являются тремя минимально-необходимыми критериями, позволяющими судить об эффективности инактивации вируса УЭ.

Дополнительным критерием эффективности инактивации может служить оценка уровня деградации генома вируса. Как сказано выше, действие УЭ может приводить к модификации нуклеотидов, одноцепочечным и двуцепочечным разрывам в молекулах нуклеиновых кислот. Визуализация общего уровня деградации генома возможна методом электрофореза нуклеиновых кислот в агарозном геле (рис. 3А), флуоресцентным количественным анализом длинноцепочечной и короткоцепочечных нуклеиновых кислот, (рис. 3Б) (например, Thermo Fisher Scientific Qubit RNA IQ Assay [30]) или биоэлектрохимическим методом по оценке окислительного потенциала нуклеиновых кислот различной степени фрагментарности (рис. 3В) [22, 31].

Возможен также анализ деградации отдельных участков генома по эффективности их амплификации методом количественной полимеразно-цепной реакции (кПЦР). Большинство исследований по деградации генома вирусов основываются на предположении, что различные участки генома подвержены воздействию денатурирующего фактора в равной степени [17, 32]. Упаковка и трёхмерная структура геномной нуклеиновой кислоты в вирусах не изучена в полной мере. Водородные и ван-дер-ваальсовы взаимодействия внутри третичной структуры молекулы и с аминокислотами капсида могут создавать локальные места с повышенной стабильностью к действию УЭ или места, экранирующие от излучения. Наличие таких структур приводит к неоднородности распределения повреждений внутри вирусного генома. Неравномерность распределения повреждения была показана на примере вируса полиомиелита [22]. Различные участки генома данного вируса после инактивации УЭ анализировали

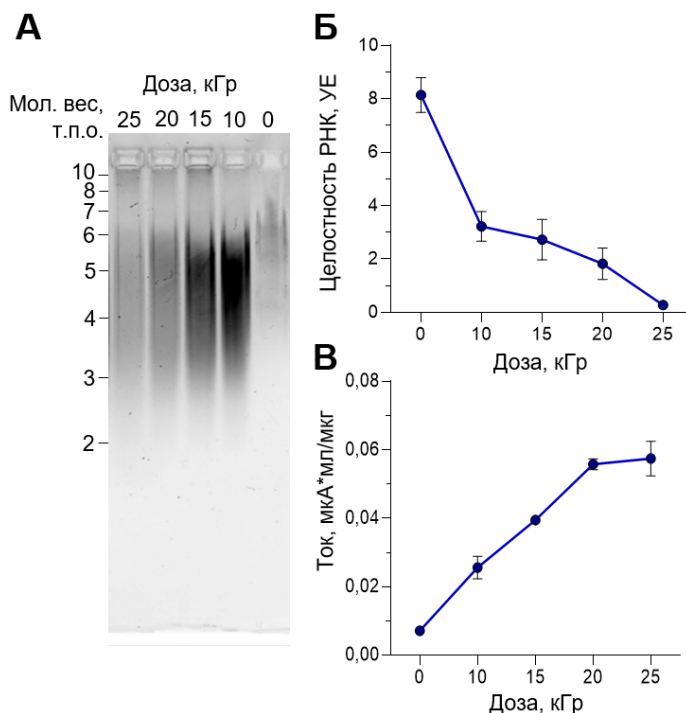


Рисунок 3. Пример деградации генома вируса полиомиелита после облучения УЭ в дозах 0 – 25 кГр. (А) Электрофорез РНК облучённого вируса в агарозном геле, окрашенным бромистым этидием. Показано понижение размера фрагментов РНК с увеличением дозы. (Б) Понижение уровня целостности РНК при увеличении дозы УЭ. Представлены данные детекции целостности РНК с помощью набора Thermo Fisher Scientific Qubit RNA IQ Assay. (В) Увеличение сигнала электроокисления при увеличении дозы УЭ. Приведены величины максимальной амплитуды тока электроокисления, нормированные на 1 мкг/мл вирусной РНК. Рисунок создан на основе данных, опубликованных в работе [22].

методом кПЦР. Были обнаружены участки с различной чувствительностью к облучению (рис. 4), в т.ч. к облучению при различных температурах. Например, участок 3D left оказался весьма чувствительным и уровень его деградации достоверно увеличивался с увеличением дозы УЭ при всех температурах. В то время как участок VP1 right был относительно стабильным и степень его деградации не соотносилась с увеличением дозы облучения. Авторы исследования рекомендовали выбирать участок генома для анализа деградации генома методом кПЦР.

Многие исследования по разработке вакцин при помощи облучения УЭ сопровождаются одновременным сравнением получившегося продукта с вакцинными препаратами, полученными методом химической инактивации [1,2]. Результатом химической инактивации являются вакцины двух типов: аттенуированная и «мертвая». Аттенуированная вакцина состоит из живого, но сильно ослабленного вируса. Вирус после введения размножается в организме привитого и вызывает вакцинальный инфекционный иммуногенный процесс. «Мёртвая» вакцина состоит из полностью инактивированных вирусных частиц, которые, однако, сохраняют иммуногенные антигены. Как правило, иммунитет, сформированный аттенуированными вакцинами более продолжительный и стойкий, по сравнению с таковым от «мёртвых вакцин», но не подходит для людей с ослабленным иммунитетом. Преимущество применения УЭ заключается в возможности получения вакцин, сочетающие эффективные свойства иммуногенности аттенуированной вакцины и безопасность «мёртвой» вакцины.

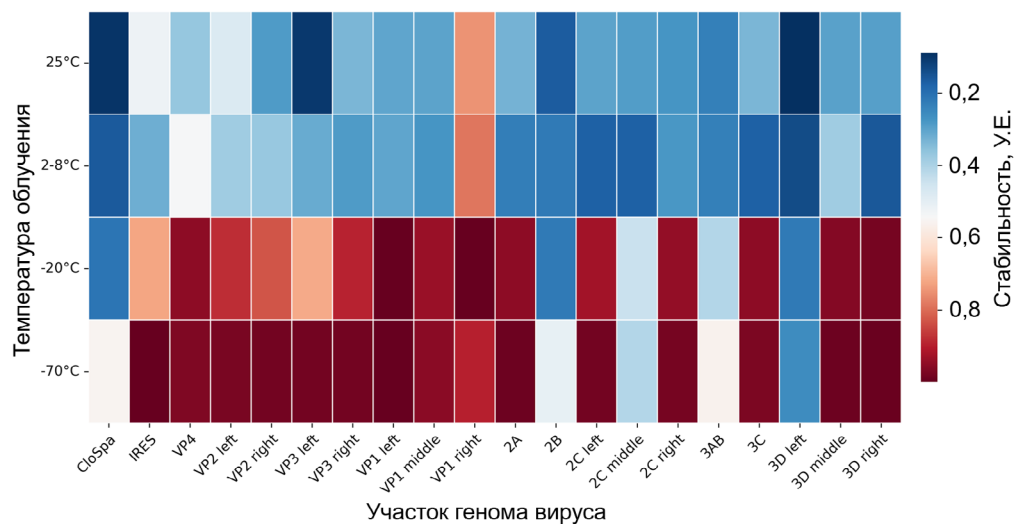


Рисунок 4. Дозы УЭ, используемые для создания противовирусных вакцинных препаратов. Кругами показаны индивидуальные дозы, линиями показан диапазон используемых доз. Красным цветом обозначены вакцины против вирусов человека. Синим цветом обозначены вакцины против вирусов животных. ВРСС – вирус репродуктивного и респираторного синдрома свиней; ВСБПК – вирус синдрома белого пятна креветок; ВЭДС – вирус эпидемической диареи свиней; ЛГ 1 – вирус лошадиного герпеса 1; РСВ – респираторно-синцитиальный вирус. Рисунок создан на основе данных, приведенных в следующих работах [10, 17, 22 – 27].

Таблица 1. Использование УЭ для разработки противовирусных вакцин человека.

Вирус	Условия облучения	Результат	Ссылка
Гриппа тип А, штамм H1N1	25 кГр; 0.3 мэВ	Сохранность антигена на уровне 60%. Титр антител после иммунизации макак-крабоедов от 40 до 8 ед.	[23]
Гриппа тип А, штамм H3N8	22 кГр; 0.3 мэВ	Сохранность антигена 63,7%.	[24]
	30 кГр; 0.3 мэВ; 5 мА	Сохранность антигена 90% и выше, чем у образцов после инактивации формалином. У иммунизированных мышей более высокие титры антител и меньше потеря веса по сравнению с непривитыми. Более чем в три раза снижена вирусная нагрузка в лёгких по сравнению с мышами, вакцинированными образцами, обработанными формалином.	[10]
Полиомиелит, штамм Сэбин 2	10 – 25 кГр; 10 мэВ; 15 кВт	Сохранность D-антигена 27,5% при облучении при температуре 2 – 8°C, и 46,3% при температуре -20°C. Деградация генома понижается при понижении температуры.	[22]
Респираторно-синцитиальный	20 – 25 кГр; 0.2 мэВ; 5 мА	Антигенный потенциал F-белка не ниже, чем у необлученного вируса. Титры антител выше, а вирусная нагрузка ниже у иммунизированных мышей, по сравнению с не вакцинированными.	[24]
	25 кГр; 0,3 мэВ; 1.2 мА	Нет различий по уровню образования цитокинов в сравнении с живым вирусом у мышей. Более высокие уровни антител в сыворотке крови и пониженная инфекционная нагрузка по сравнению с не вакцинированными животными.	[25]
Ротавирус	15 кГр; 10 мэВ; 15 кВт	Сохранность антигена 75-90%, что значительно превышает сохранность при термической инактивации и инактивации формальдегидом. Значительное увеличение уровня антител в сыворотке крови куриц и яичных желтках.	[27]

Подтверждением может служить работа, показывающая, что антигенная целостность вакцины вируса гриппа H3N8 после воздействия УЭ была значительно выше, чем после инактивации формальдегидом. А снижение вирусной нагрузки мышей после иммунизации вакциной, облученной УЭ, было в три раза больше, по сравнению с химически-инактивированной вакциной [10]. В другом исследовании [22]показано, что деградация генома и сохранность антигена

у вирусных частиц полиомиелита, инактивированных УЭ, не уступает таковым показателям у вакцин, инактивированных формальдегидом или бета-пропиолактоном.

4. РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВИРУСОВ

Как сказано выше, эффективность использования УЭ для разработки противовирусных вакцин зависит от баланса

Таблица 2. Использование УЭ для разработки противовирусных вакцин животных

Вирус	Условия облучения	Результат	Ссылка
Репродуктивный и респираторный синдром свиней	10 кГр; 0.2 мЭВ	Сохранность антигена 87% и выше, чем у образцов после инактивации формалином.	[10]
Лошадиный герпес 1	10 кГр; 0.2 мЭВ	Сохранность антигена 89% и выше, чем у образцов после инактивации формалином.	[10]
Синдром белого пятна креветок	13 кГр; 10 мЭВ; 2 мА	Снижение вирусной нагрузки у личинок с 10^5 до 10^2 ЛД ₅₀ /мл. Повышение до 75% выживаемости привитых личинок по сравнению с невакцинированными контрольными группами.	[28]
Эпидемическая диарея свиней	10 – 30 кГр; 10 мЭВ; 2 мА	Эффективная инактивация при замораживании и сохранение целостности капсида. Дозы более 20 кГр нарушают целостность капсида. Значительное повреждение РНК в дозе 5 кГр и выше, но полная инактивация только при использовании УЭ в дозе 10 кГр и выше.	[17]

между сохранением антигена возбудителя и разрушением генетического материала. Разрушение генома гарантирует полноту инактивации (т.е. невозможность размножения) перед использованием в качестве иммуностимулирующего агента вакцинации. Разрушение генома достигается путём подбора минимальной инактивирующей дозы и оптимальных условий облучения. Доза, меньшая, чем необходимая или не оптимальные условия способствуют сохранению потенциальной воспроизводимости патогена, представляя угрозу для вакцинируемого. С другой стороны, более высокие дозы УЭ могут повредить белки капсиды и нарушить целостность иммуногенных эпитопов, ослабляя иммуногенность вакцинируемого и снижая эффективность вакцинации. Как показано на рисунке 2, каждый тип вируса инактивируется своей дозой УЭ. Поэтому, выбор оптимальной дозы, условий для полноты инактивации каждого вируса должны подбираться индивидуально. До сих пор нет понимания, какое минимальное повреждение генома достаточно для поной инактивации вируса. И хотя вирусы не обладают системой репарации повреждений нуклеиновых кислот, было показано, что вирус иммунодефицита человека–2, гепатита А, псевдобешенства и парвовирус свиней способны восстанавливать сублетальные повреждения генома в клетках хозяина [33,34]. Такая способность проявлялась в сохранении инфекционных свойств в широком диапазоне доз от 3 до 34 кГр. Однако такая радиоустойчивость была преодолены за счет набора целевой дозы многократным облучением низкими дозами УЭ (10 раз по 3.4 кГр). Поэтому крайне важно, чтобы при проведении подобных исследований при разработке противовирусных вакцин было включено несколько контрольных экспериментов с дробным набором целевой дозы.

5. ПРИМЕРЫ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЭ

Разработка противовирусных вакцин с использованием облучения УЭ ведётся для наиболее социально-значимых инфекционных заболеваний, а также для вакцинации сельскохозяйственных животных. В таблицах

1 и 2 представлены основные результаты разработки противовирусных вакцин против патогенов человека и животных

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инактивация вирусных патогенов человека и животных УЭ представляется многообещающей стратегией в разработке противовирусных вакцин. Тщательный подбор условий и дозы облучения позволяет селективно разрушить вирусный геном, но сохранить белковую структуру вируса. Такая селективная деградация генома гарантирует отсутствие репликативного потенциала вируса и сохранение антигенного потенциала. Однако отсутствие специализированных облучателей, которые совместили бы в себе технические решения как радиационной, так и биологической безопасности, ограничивают развитие данного метода. Другим ограничивающим вызовом является «радиорезистентность» вирусов, не всегда позволяющая подобрать баланс условий облучения для целевой деградации генома. Тем не менее, главное преимущество развития данного метода, заключается в том, что вакцины, полученные с помощью УЭ, сочетают в себе безопасность убитой вакцины с иммуногенностью аттенюированной вакцины.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-15-00471-П, <https://rscf.ru/project/23-15-00471-П/>

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhdanov, D. D., Ivin, Yu. Yu., Piniayeva, A. N., Shishparenok, A. N., Lisitsa, A. V., & Levin, I. V. (2023). Perspectives for the creation of a new type of vaccine preparations based on pseudovirus particles using polio vaccine as an example. *Biomeditsinskaya Khimiya*, 69(5), 253–280. DOI: 10.18097/PBMCR20236905253
2. Perera, R., Pillai, S. D., Alrubaye, A., & Jesudhasan, P. (2025). Leveraging Electron Beam (eBeam) Technology for Advancing the Development of Inactivated Vaccines. *Vaccines*, 13(2), 179. DOI: 10.3390/vaccines13020179
3. Pillai, S. D., & Shayanfar, S. (2017). Electron beam technology and other irradiation technology applications in the food industry. *Topics in Current Chemistry*, 375(1), 6. DOI: 10.1007/s41061-016-0092-5
4. Tallentire, A., Miller, A., & Helt-Hansen, J. (2010). A comparison of the microbicidal effectiveness of gamma rays and high and low energy electron radiations. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(6), 701–704. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2010.01.013
5. Bliznyuk, U., Chernyaev, A., Ipatova, V., Nikitchenko, A., Studenikin, F., & Zolotov, S. (2023). Electron beam processing of biological objects and materials. In O. Artun (Ed.), *Ion beam technology and applications*. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.112699
6. Tahergorabi, R., Matak, K. E., & Jaczynski, J. (2012). Application of electron beam to inactivate Salmonella in food: Recent developments. *Food Research International*, 45(2), 685–694. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.04.030
7. Bhatia, S. S., & Pillai, S. D. (2022). Ionizing radiation technologies for vaccine development - A mini review. *Frontiers in Immunology*, 13, 845514. DOI: 10.3389/fimmu.2022.845514
8. Sabbaghi, A., Miri, S. M., Keshavarz, M., Zargar, M., & Ghaemi, A. (2019). Inactivation methods for whole influenza vaccine production. *Reviews in Medical Virology*, 29(6), e2074. DOI: 10.1002/rmv.2074
9. Alimov, A. S., Bliznyuk, U. A., Borchevskaya, P. U., Varzar, S. M., Ishkhanov, B. S., Shvedunov, V. I., Yurov, D. S., Elansky, S., & Rozanov, V. V. (2017). Using accelerated electron beams for the radiation processing of foodstuffs and biomaterials. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*, 81(6), 743–747. DOI: 10.3103/S106287381706003X
10. Fertey, J., Bayer, L., Schönfelder, J., Rögner, F.-H., Gotzmann, G., & Dietze, M. (2016). Pathogens inactivated by low-energy-electron irradiation maintain antigenic properties and induce protective immune responses. *Viruses*, 8(11), 319. DOI: 10.3390/v8110319
11. Ainsbury, E. A., Abrantes, A. M., Baatout, S., Baeyens, A., Botelho, M. F., & Frey, B. (2023). Individual radiation sensitivity and biomarkers: Molecular radiation biology. In S. Baatout (Ed.), *Radiobiology textbook* (pp. 387–424). Springer International Publishing. DOI: 10.1007/978-3-031-18810-7_7 (Примечание: книга)
12. Mavragani, I. V., Nikitaki, Z., Kalospyros, S. A., & Georgakilas, A. G. (2019). Ionizing radiation and complex DNA damage: From prediction to detection challenges and biological significance. *Cancers*, 11(11), 1789. DOI: 10.3390/cancers11111789
13. Keyer, K., & Imlay, J. A. (1996). Superoxide accelerates DNA damage by elevating free-iron levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13635–13640. DOI: 10.1073/pnas.93.24.13635
14. Daly, M. J. (2009). A new perspective on radiation resistance based on *Deinococcus radiodurans*. *Nature Reviews Microbiology*, 7(3), 237–245. DOI: 10.1038/nrmicro2073
15. Reisz, J. A., Bansal, N., Qian, J., Zhao, W., & Furdul, C. M. (2014). Effects of ionizing radiation on biological molecules—mechanisms of damage and emerging methods of detection. *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(2), 260–292. DOI: 10.1089/ars.2013.5489
16. Singh, A., & Singh, H. (1982). Time-scale and nature of radiation-biological damage: Approaches to radiation protection and post-irradiation therapy. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 39(2), 69–107. DOI: 10.1016/0079-6107(82)90013-8
17. Liu, Y., Shao, Y., Wang, L., Lu, W., Li, S., Xu, D., & Fu, Y. V. (2022). Inactivation of porcine epidemic diarrhea virus with electron beam irradiation under cold chain conditions. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 102715. DOI: 10.1016/j.eti.2022.102715
18. Hu, D., Sun, T., Yao, L., Yang, Z., Wang, A., & Ying, Y. (2020). Monte Carlo: A flexible and accurate technique for modeling light transport in food and agricultural products. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 280–290. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.05.021
19. Rafiepour, P., Sina, S., & Mortazavi, S. M. J. (2023). A multiscale Monte Carlo simulation of irradiating a typical-size apple by low-energy X-rays and electron beams. *Radiation Physics and Chemistry*, 212, 111016. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2023.111016
20. Feng, G., et al. (2020). Electron beam irradiation on novel coronavirus (COVID-19): A Monte-Carlo simulation. *Chinese Physics B*, 29(4), 048703. DOI: 10.1088/1674-1056/ab81d5
21. Schopf, S., Gotzmann, G., Dietze, M., Gerschke, S., Kenner, L., & König, U. (2022). Investigations into the suitability of bacterial suspensions as biological indicators for low-energy electron irradiation. *Frontiers in Immunology*, 13, 814767. DOI: 10.3389/fimmu.2022.814767
22. Zhdanov, D. D., Ivin, Yu. Yu., Piniayeva, A. N., et al. (2025). Degradation of poliovirus Sabin 2 genome after electron beam irradiation. *Vaccines*, 13(8), 824. DOI: 10.3390/vaccines13080824
23. Scherließ, R., et al. (2014). Induction of protective immunity against H1N1 influenza A(H1N1)pdm09 with spray-dried and electron-beam sterilised vaccines in non-human primates. *Vaccine*, 32(19), 2231–2240. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.02.055
24. Fertey, J., Thoma, M., Beckmann, J., Bayer, L., Finkensieper, J., Reißhauer, S., et al. (2020). Automated application of low energy electron irradiation enables inactivation of pathogen- and cell-containing liquids in biomedical research and production facilities. *Scientific Reports*, 10(1), 12786. DOI: 10.1038/s41598-020-69347-7
25. Eberlein, V., et al. (2023). Mucosal application of a low-energy electron inactivated respiratory syncytial virus vaccine shows protective efficacy in an animal model. *Viruses*, 15(9), 1861. DOI: 10.3390/v15091861
26. Skrobacz, J. W., Martin, C. L., Bhatia, S. S., et al. (2022). Electron-beam inactivation of human rotavirus (HRV) for the production of neutralizing egg yolk antibodies. *Frontiers in Immunology*, 13, 840077. DOI: 10.3389/fimmu.2022.840077
27. Motamedi-Sedeh, F., et al. (2017). Protection of *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus by electron-irradiated inactivated vaccine and prebiotic immunogen. *Radiation Physics and Chemistry*, 130, 421–425. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2016.09.012
28. Kraevsky, S. V., Kanashenko, S. L., Ivin, Yu. Yu., et al. (2025). Atomic force microscopy of poliovirus particles after inactivation by chemical methods and accelerated electrons. *Viruses*, 17(11), 1498. DOI: 10.3390/v17111498
29. Gnedenko, O. V., Ivin, Yu. Yu., Piniayeva, A. N., & Archakov, A. I. (2025). The SPR analysis of the interaction of inactivated poliovirus vaccine attenuated strains with antibodies. *Biomeditsinskaya Khimiya*, 71(1), 59–64. DOI: 10.18097/PBMCR1507
30. Souda, M., et al. (2019). EP1.09-01 Suitability of Qubit RNA IQ to determine the RNA quality of FFPE samples in cancer genomic medicine. *Journal of Thoracic Oncology*, 14(10, Supplement), S998. DOI: 10.1016/j.jtho.2019.08.2090
31. Agafonova, L. E., Zhdanov, D. D., Gladilina, Y. A., Shishparenok, A. N., & Shumyantseva, V. V. (2024). Electrochemical approach for the analysis of DNA degradation in native DNA and apoptotic cells. *Heliyon*, 10(3), e25602. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e25602
32. Roque, J., Santos, P., et al. (2022). Inactivation mechanisms of human adenovirus by e-beam irradiation in water environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(9), 3799–3809. DOI: 10.1007/s00253-022-11943-w
33. Schmidt, T., et al. (2012). Inactivation effect of standard and fractionated electron beam irradiation on enveloped and non-enveloped viruses in a tendon transplant model. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 39(1), 29–35. DOI: 10.1159/000335822
34. Abolaban, F. A., & Djouider, F. M. (2021). Gamma irradiation-mediated inactivation of enveloped viruses with conservation of genome integrity: Potential application for SARS-CoV-2 inactivated vaccine development. *Open Life Sciences*, 16(1), 558–570. DOI: 10.1515/biol-2021-0062

Поступила:	03.09.2026
После доработки:	25.09.2026
Принята к публикации:	25.09.2026

INACTIVATION OF VIRUSES BY ACCELERATED ELECTRONS: PROSPECTS AND CHALLENGES OF CREATING ANTIVIRAL VACCINES

D.D. Zhdanov^{*1}, R.S. Churyukin², V.G. Blinova¹, A.V. Berezhona¹, A.N. Shishparenok¹, V.V. Shumyantseva^{1,3}, S.V. Budnik², A.V. Lisitsa¹

¹Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: zhdanovdd@mail.ru

²Teocortex LLC, 34/6 Pervomaysky settlement, Moscow, 108808 Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova str., Moscow, 117997 Russia

The technology for virus inactivation with accelerated electron (AE) for the development and production of inactivated antiviral vaccines is actively developing. The use of AE is a successful alternative to traditional chemical methods of inactivation, since it allows to select the irradiation conditions for complete degradation of the viral genome while preserving antigenic immunogenic epitopes. This review describes the physical features of AE, their mechanism of virus inactivation, and also provides the examples of antiviral vaccines developed for humans and farm animals. Methods for assessing the structural and biochemical properties of viral particles inactivated by AE are considered. The development of virus AE irradiation technology requires the construction of electron accelerators that meet the requirements of both radiation and viral safety. The radioresistance of some viruses is also a limitation that must be overcome for the successful creation of antiviral vaccines.

Key words: antiviral vaccine; irradiation; ionizing radiation; genome degradation

FUNDING

This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 23-15-00471-II).

Received: 01.09.2026, revised: 23.09.2026, accepted: 24.09.2026