

شبیه‌سازی غیرفعال سازی ویروس کرونای جدید توسط ذرات باردار سنگین، با کد Geant4-DNA

پیمان رفیعی پور^۱، صدیقه سینا^{۱،۲*}، سید محمد جواد مرتضوی^{۳،۴}

۱. دانشگاه شیراز، دانشکده مهندسی مکانیک، بخش مهندسی هسته‌ای، شیراز، ایران

۲. دانشگاه شیراز، دانشکده مهندسی مکانیک، مرکز تحقیقات تابش، شیراز، ایران

۳. دانشگاه علوم پزشکی شیراز، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، شیراز، ایران

۴. دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات حفاظت در برابر پرتوهای یون ساز و غیر یون ساز، شیراز، ایران

چکیده

بیش از یک سال است که جهان دچار همه‌گیری ویروس کرونای جدید (SARS-CoV-2) می‌باشد و آمار جهانی مبتلایان رو به افزایش است. هر چند برخی اقدامات برای تولید واکسن به نتایجی رسیده است، ولی تلاش برای توسعه واکسن‌های موثر با کمترین عوارض احتمالی به طور بی‌وقفه ادامه دارد. یک راه مناسب برای تولید واکسن، استفاده از ویروس‌های غیرفعال شده می‌باشد. نشان داده شده است که پرتودهی با تابش یون ساز می‌تواند به غیرفعال‌سازی ویروس‌ها کمک کند. اخیراً مطالعاتی پیرامون پرتودهی با تابش گامای چشمه کبالت-۶۰ و مزیت ذرات باردار سنگین نسبت به تابش فوتونی انجام شده است، اما در مورد ذرات باردار مطالعات زیادی انجام نشده است. در این مطالعه با استفاده از کد مونت کارلوی Geant4-DNA، ساختار SARS-CoV-2 شبیه‌سازی شد و اثر ذرات پروتون، هلیم-۴، کربن-۱۲ و آهن-۵۶ بر غیرفعال‌سازی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهند ذرات کربن-۱۲ و آهن-۵۶، نسبت به آلفا و پروتون در غیرفعال‌سازی ویروس کرونای جدید مطلوب‌ترند.

کلیدواژه‌ها: ویروس کرونا، SARS-CoV-2، واکسن، مونت کارلو، Geant4-DNA

The new coronavirus inactivation induced by heavy charged particles: A Geant4-DNA Monte Carlo simulation

Payman Rafiepour¹, Sedigheh Sina^{1,2*}, Seyed Mohammad Javad Mortazavi^{3,4}

1. Department of Nuclear Engineering, School of Mechanical Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2. Radiation research center, School of Mechanical Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3. Department of Medical Physics and Engineering, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4. Ionizing and Non-ionizing Radiation Protection Research Center (INIRPRC), Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

The new coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic has been plagued the world for more than a year and its global incidence and mortality rates are increasing rapidly. Although many steps have been taken to produce effective vaccines, efforts in this field are still ongoing. Using inactivated viruses is a conventional method of vaccine production. It has been shown that ionizing radiation can inactivate viruses. Recently, studies on gamma irradiation using Cobalt-60 sources have been performed, but there are not sufficient studies on the effects of heavy charged particles. In this study, the structure of SARS-CoV-2 is simulated using the Geant4-DNA Monte Carlo toolkit. Moreover, the effect of protons, He-4, C-12 and Fe-56 on the SARS-CoV-2 inactivation is investigated. The results show that C-12 and Fe-56 are more desirable for the SARS-CoV-2 inactivation.

Keywords: coronavirus, SARS-CoV-2, vaccine, Monte Carlo, Geant4-DNA.

*Email: samirasina@yahoo.com

۱. مقدمه

طبق آخرین گزارش سازمان جهانی بهداشت در اولین روز از سال ۲۰۲۱ میلادی، تعداد مبتلایان و مرگ‌ومیر ناشی از ویروس کرونای جدید موسوم به سندروم حاد تنفسی کروناویروس ۱۲ (SARS-CoV-2)، به ترتیب بیش از ۸۱/۵ میلیون و ۱/۸ میلیون نفر در سراسر جهان می‌باشد [۱]. در حال حاضر با توجه به سرعت بالای شیوع ویروس و نرخ بالای مرگ‌ومیر ناشی از آن، تلاش برای تولید واکسن با همّت روزافزون ادامه دارد. از طرفی میزان بالای جهش و تغییر ساختار پروتئینی SARS-CoV-2 بر نگرانی افزایش قدرت سرایت آن‌ها و عدم توانایی واکسن در برابر این جهش‌ها می‌افزاید [۲]. انواع مختلفی از واکسن‌ها در حال توسعه هستند و یکی از راه‌های توسعه واکسن، استفاده از ویروس‌های غیرفعال شده می‌باشد [۳]. برای غیرفعال‌سازی ویروس روش‌های مختلفی اعم از شیمیایی، حرارتی و پرتودهی به کار گرفته می‌شود. استفاده از تابش یون‌ساز مانند اشعه گاما به عنوان یک روش مناسب برای غیرفعال کردن ویروس‌ها، گزارش شده است [۴]. بنابراین در راستای کمک به مطالعات اولیه در روند تولید واکسن، بررسی اثرات پرتوهای مختلف بر ساختار کروناویروس‌ها با هدف غیرفعال‌سازی، ضروری است. به دلیل محدودیت‌های آزمایشگاه، یکی از بهترین روش‌های بررسی اثرات تابش یون‌ساز بر ویروس، شبیه‌سازی مونت کارلو می‌باشد. لیونگ^۲ و همکاران به صورت تجربی، SARS-CoV-2 را با تابش گاما مورد پرتودهی قرار دادند [۵]. هرچند غیرفعال‌سازی ویروس با استفاده از تابش گاما سابقه طولانی داشته و نتایج مطلوبی گزارش شده است [۶]، اما در مورد SARS-CoV-2 به علت جهش‌های احتمالی که در اثر فشار گزینشی^۳ به آن تحمیل می‌گردد، باید با احتیاط بیشتری این موضوع را مورد مطالعه قرار داد [۷]. ژانگ^۴ و همکاران به روش مونت کارلو، ساختار هندسی ساده SARS-CoV-2 را در معرض تابش الکترونی قرار دادند [۸]. در تکمیل آن، فنگ^۵ و همکاران با استفاده از کد Geant4-DNA، مطالعه جامع‌تری در مورد اثر تابش الکترونی بر SARS-CoV-2 انجام دادند [۹]. هر دو مطالعه اخیر به این نتیجه رسیده‌اند که انرژی مطلوب تابش الکترون برای غیرفعال‌سازی SARS-CoV-2، به طور میانگین ۲ keV می‌باشد. البته هر دو اذعان داشته‌اند که از لحاظ عملی، به علت برد بسیار کوتاه الکترون با این انرژی در آب، اجرای عملی آن بسیار دشوار خواهد بود. دورانت^۶ و همکاران با استفاده از کد Geant4-DNA مقایسه‌ای بین اثرات تابش فوتونی و ذرات باردار بر SARS-CoV-2 انجام داده و نتیجه گرفته‌اند که با در نظر گرفتن آسیب یکسان به RNA^۷ (حامل اطلاعات ژنتیکی) ویروس، ذرات باردار سنگین به دلیل آسیب کمتر بر پروتئین‌های اسپایک^۸ نسبت به پرتوهای فوتونی، در توسعه واکسن مفیدتر واقع خواهند شد [۱۰-۱۱]. با این حال، به نظر می‌رسد که باید به مطالعات بیشتری در مورد اثر ذرات باردار سنگین در غیرفعال‌سازی SARS-CoV-2 پرداخته شود. از آنجایی که نمونه‌های ویروس‌های تنفسی درون ذرات ریزی موسوم به آئروسول ویروسی^۹ (با ضخامت تقریبی چند دهم تا چند میکرومتر) قرار می‌گیرند [۱۲]، باید اثر این‌ها نیز در نظر گرفته شود. علاوه بر آن بهتر است هندسه پیچیده‌تری از ساختار SARS-CoV-2 شبیه‌سازی شود. سایت بانک داده‌ای پروتئین^{۱۰} حاوی بیش از صدوسی هزار ساختار مختلف (با شناسه مجزا)، از میکروارگانیسم‌های^{۱۱} کشف شده است که به طور رایگان در اختیار محققان قرار داده شده است. در مطالعه حاضر، ساختار پیچیده‌تری از SARS-CoV-2 با بهره‌گیری از سایت بانک داده‌ای پروتئین توسط ابزار مونت کارلوی Geant4-DNA شبیه‌سازی گردید. ویروس به همراه ضخامت اضافه در اطراف آن (به عنوان دیواره آئروسول)، تحت تابش ذرات باردار سنگین مانند پروتون، آلفا (هلیوم-۴)، کربن-۱۲ و آهن-۵۶ قرار گرفت. در نهایت منحنی‌های کسر بقا برای این نوع ویروس به دست آمد و مقایسه گردید.

¹ Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2

² Leung

³ Selective pressure

⁴ Zhang

⁵ Feng

⁶ Durante

⁷ Ribonucleic Acid

⁸ Spike

⁹ Viral aerosol

¹⁰ www.rcsb.org

¹¹ Microorganisms

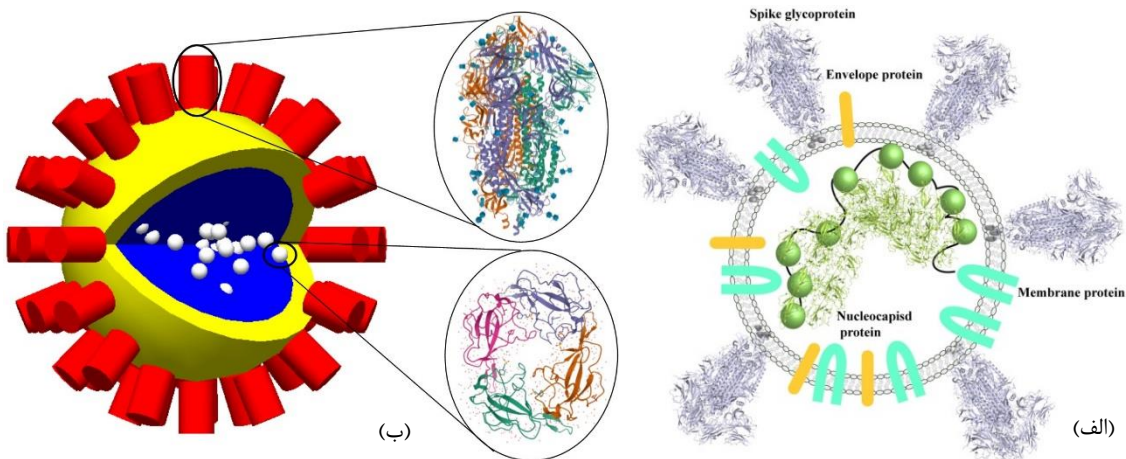
۲. روش کار

۲.۱. کد Geant4-DNA

افزونه Geant4-DNA در سال ۲۰۰۹ به ابزار شبیه‌ساز رایگان Geant4 [۱۳] اضافه گردید. Geant4-DNA که بر پایه برنامه‌نویسی ++C نوشته شده است، حاوی سطح مقطع‌های برهمکنش ذرات الکترون، پروتون، هلیوم و برخی یون‌های سنگین دیگر در محیط آب و در گستره پایین انرژی در حدود eV بوده و در نتیجه برای اجرای محاسبات دزیمتری و غیره در مقیاس نانو، که انرژی بسیار کم ذرات برخلاف مقیاس ماکروسکوپی بسیار اهمیت پیدا می‌کند، کاربرد دارد. مدلی فیزیکی مورد استفاده در این تحقیق، مدل G4EmDNAPhysics_option2 می‌باشد [۱۴].

۲.۲. ساختار هندسی SARS-CoV-2

از آغاز شیوع SARS-CoV-2، مطالعات زیادی در مورد بررسی ساختار پروتئینی آن انجام گرفته است. ما از مرجع [۱۵] برای شبیه‌سازی آن در Geant4-DNA بهره گرفتیم. به زبان ساده، این ویروس دارای چند پروتئین است. گلیکوپروتئین اسپایک^۱ که به شکل تاج است و به تعداد زیاد بر روی سطح خارجی آن چیده شده است، عامل اتصال به سلول‌های میزبان در بدن انسان و دخول در آن می‌باشد. لایه زیر اسپایک‌ها که به صورت پوسته کروی تعریف شده، غلاف یا انولوپ^۲ نامیده می‌شود. پروتئین‌های غلاف در این ناحیه قرار می‌گیرند. در نهایت یک لایه زیرین موسوم به نوکلئوکپسید^۳ وجود دارد که RNA ویروس درون آن قرار دارد. تصویر اغراق‌آمیز آن را در شکل ۱-الف مشاهده می‌کنید. برای شبیه‌سازی در Geant4، با استفاده از مرجع [۱۵] دو ساختار پروتئینی از سایت داده‌ای پروتئین برای تعریف در هندسه به کار گرفته شدند: ساختار با شناسه 6vxx برای اسپایک و ساختار با شناسه 6vyo برای تعریف منطقه اتصال^۴ RNA با پروتئین نوکلئوکپسید. ابتدا یک پوسته کروی به شعاع ۵۰ nm برای غلاف و یک کره با شعاع ۴۰ nm برای کپسید^۵ ویروس شبیه‌سازی شد. برای راحتی فرآیند تکثیر، پروتئین‌های اسپایک درون یک استوانه به شعاع ۶۶ nm و ارتفاع ۹۶ nm قرار گرفتند. صدوچهار اسپایک با فاصله مشخص و به طور متقارن روی محیط غلاف ویروس گرفتند. در مورد شبیه‌سازی RNA، تنها مناطق اتصالی به نوکلئوکپسید در نظر گرفته شد که به طور تصادفی درون کپسید ویروس تکثیر شدند. هندسه شبیه‌سازی شده در شکل ۱-ب نمایش داده شده است.



شکل ۱. (الف) ساختار پروتئینی SARS-CoV-2 [۱۵]. (ب) هندسه شبیه‌سازی شده ویروس در Geant4. شناسه ساختار پروتئینی

اسپایک 6vxx و شناسه پروتئین RNA، 6vyo از سایت rcsb.org انتخاب شده است.

¹ Spike glycoprotein
² Envelope
³ Nucleocapsid protein
⁴ Binding domain
⁵ Capsid

لازم به ذکر است که تعداد دقیق اسپایک‌ها در هر ویروس یگانه مشخص نیست و ممکن است متغیر باشد، چراکه حتی یک جهش احتمالی در ویروس نیز می‌تواند تعداد اسپایک‌ها را تغییر دهد [۲]؛ اما با توجه به مساحت سطح لایه خارجی ویروس (کره‌ای به شعاع 50 nm) که اسپایک‌ها روی آن تکثیر شده‌اند، و با توجه به ابعاد استوانه حامل پروتئین اسپایک، تنها همین مقدار قابل تکثیر بود. فاصله زاویه‌ای $22/5$ درجه‌ای در راستای زاویه سمتی و فاصله طولی 15 nm در راستای قطبی بین مرکز مقطع استوانه‌ها، طبق مرجع [۱۱] در نظر گرفته شدند. البته در مرجع ذکر شده، تعداد 141 اسپایک شبیه‌سازی شده است که دلیل آن عدم شبیه‌سازی ساختار پروتئینی است و در آن‌جا اسپایک‌ها به شکل یک مخروط ساده و یکنواخت تعریف شده‌اند.

این نکته مهم است که Geant4-DNA تنها شبیه‌سازی در محیط آب را انجام می‌دهد، بنابراین تمام این ساختارهای هندسی با تمام پیچیدگی که دارد از جنس آب ولی با چگالی‌های متفاوت تعریف شده است. چگالی برای پروتئین اسپایک برابر با 1.4 g/cm^3 و برای کپسید و RNA برابر با 1.46 g/cm^3 و بقیه محیط (شامل دیواره آئروسول) با چگالی آب یعنی 1 g/cm^3 در نظر گرفته شد. این مقادیر از مطالعه شبیه‌سازی قبلی اقتباس شده است [۱۱]. با داشتن چگالی کپسید ویروس و همچنین RNA آن، می‌توان حجم تقریبی آن‌ها را حساب کرد. طبق توالی ژنوم به دست آمده از ویروس کروناوی جدید، طول توالی RNA به 29903 جفت نوکلئوتیدی^۱ (یا جفت باز^۲) می‌رسد [۱۶]. گزارش شده است که RNA ویروس کروناوی جدید، تقریباً ۴ درصد حجم کپسید آن را اشغال می‌کند [۱۱]. بنابراین با استخراج تعداد اتم‌های موجود در پروتئین RNA (با شناسه 6vyyo) و همچنین حجم آن، می‌توان با تکثیر ۳۹ عدد از این ساختار که با کره‌های سفید رنگ در شکل ۱ نشان داده شده‌اند، حدود ۴٪ حجم کپسید (کره‌ای به شعاع 40 nm) را اشغال کرد. مولد و دانه اولیه اعداد تصادفی در روش مونت‌کارلو ثابت تعیین شده است تا در هر بار اجرا گرفتن، مکان کره‌های معرف RNA تغییر نکند. هر یک از اتم‌های موجود در این ساختارهای پروتئینی، در Geant4 به عنوان یک آشکارساز حساس تعریف شد. از آنجا که دو پروتئین اصلی موردنظر ما، اسپایک و RNA هستند و همچنین به منظور افزایش سرعت برنامه، از شبیه‌سازی دیگر پروتئین‌ها با این جزئیات صرف‌نظر شده و بقیه محیط با اشکال هندسی ساده شبیه‌سازی شد. این نوع شبیه‌سازی، تقریب واقعی تری نسبت به هندسه‌های ساده‌ای است که در مطالعات پیشین انجام شده بود. چهار ذره پروتون، آلفا، کربن-۱۲ و آهن-۵۶ که افت انرژی در واحد مسیر طی شده (LET^3) متفاوت دارند، به عنوان چشمه در نظر گرفته شدند. فضای خارج از آئروسول از جنس خلاء می‌باشد. برخلاف مطالعات قبلی که چشمه در یک جهت به سمت ویروس تابیده می‌شد، در اینجا چشمه به صورت تصادفی از سطح یک کره به شعاع 1500 nm به سمت مرکز خودش، ذرات را گسیل می‌کند. علت این است که در نمونه‌های ویروسی واقعی، علاوه بر اینکه تعداد زیادی و نه یک عدد ویروس در آن وجود دارد، چرخش آن‌ها در آئروسول ویروسی نیز محتمل است، هرچند بسته‌بندی مخصوص را منجمد می‌کنند. علت دیگر این است که از آنجا که در این شبیه‌سازی، حجم آشکارسازهای حساس معادل با ابعاد اتم است، گسیل چشمه در جهت‌های مختلف (با در نظر گرفتن تقارن ویروس)، به جلوگیری از تکرار نمونه‌گیری تصادفی در محاسبه انرژی انباشت‌شده، کمک خواهد کرد. برای در نظر گرفتن لایه آئروسول در مقابل ویروس، ضخامت معادل 1000 nm از جنس آب که حول ویروس را احاطه کرده باشد، در نظر گرفته شد [۹]. لازم به ذکر است که وجود ماده یخ، در این شبیه‌سازی لحاظ نشده است.

¹ Nucleotide pair

² Base pair

³ Linear Energy Transfer

۳.۲. توصیف رفتار ویروس

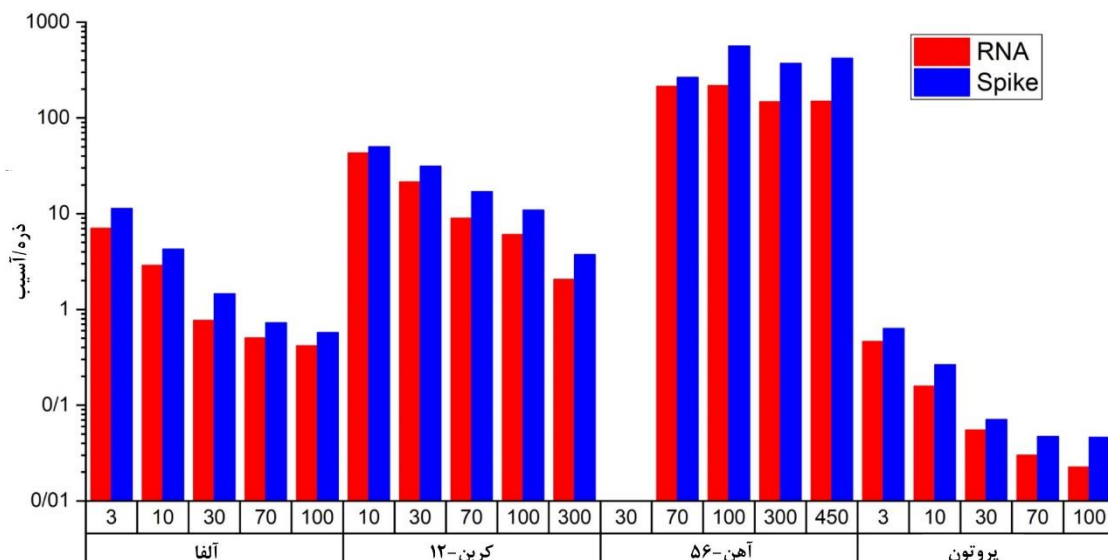
نمودارهای کسر بقا^۱ (SF) برای توصیف رفتار سلول در پاسخ به تابش یون‌ساز به کار می‌روند. از آنجا که ساختار ویروس‌ها پس از پرتوگیری، فرآیند ترمیم سلولی ندارند، می‌توان برای رسم نمودارهای کسر بقا از مدل قدیمی نظریه هدف^۲ [۱۷] استفاده کرد. طبق این نظریه اگر تنها یک هدف برای غیرفعال‌سازی یک سلول (در اینجا ویروس) کافی باشد، کسر بقا یا جمعیتی که متعاقب پرتوگیری زنده می‌مانند، (با استفاده از آمار پواسون) برابر است با:

$$SF = \exp(-D/D_0) \quad (1)$$

که در آن D مقدار دز رسیده به ویروس ناشی از پرتو فرودی و D_0 مقدار دز مرجعی است که به ازای آن، هر تابشی که از ویروس عبور کند منجر به مرگ آن می‌شود. این دز مرجع از روش‌های تجربی اندازه‌گیری می‌شود. یک مقایسه دیگر که حائز اهمیت است، میزان آسیب رسیده به اسپایک‌ها به ازای آسیب یکسان به RNA می‌باشد؛ زیرا آسیب رسیده به اسپایک می‌تواند با اعمال فشار گزینشی به ویروس، به روند جهش و تغییر ساختار ویروس کمک کند، درحالی‌که تنها یک آسیب رسیده به RNA، ویروس را غیرفعال خواهد کرد. از آنجا که در ساختار ویروس DNA وجود ندارد، آسیب به طور ساده عبارت است از مقدار انرژی که منجر به پاره شدن یک رشته RNA گردد. در این مطالعه، مقدار استاندارد 10.79 eV [۱۸] به عنوان آستانه آسیب تعیین شده است.

۳. نتایج

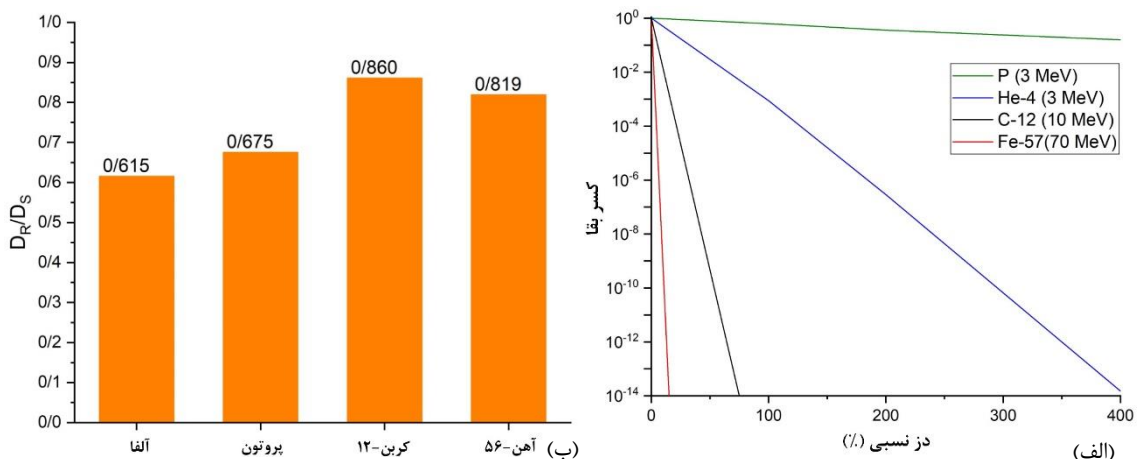
فراوانی آسیب در پروتئین اسپایک و RNA به ازای یک ذره ورودی، در شکل ۱ نشان داده شده است. در بالای نام هر ذره، دسته‌بندی انرژی بر حسب MeV انجام شده است. نمودارهای کسر بقا و نسبت فراوانی آسیب RNA به آسیب اسپایک ویروس (DR/DS)، برای چهار ذره باردار اولیه، به ترتیب در شکل ۳-الف و ب نشان داده شده است. توجه داشته باشید که انرژی ذرات پروتون، آلفا، کربن-۱۲ و آهن-۵۶ در شکل ۳-ب، به ترتیب برابر با 3 MeV ، 3 MeV ، 3 MeV و 10 MeV و 70 MeV می‌باشند.



شکل ۲. فراوانی آسیب رسیده به پروتئین اسپایک و RNA به ازای چهار ذره ورودی و به ازای پنج انرژی برای هر یک از آنها

¹ Survival Fraction

² Target theory



شکل ۳. الف) نمودار کسر بقا و ب) نسبت آسیب RNA به ازای آسیب رسیده به اسپایک، برای ذرات پروتون، آلفا، کربن-۱۲ و آهن-۵۶ به ترتیب با انرژی‌های ۳ MeV، ۳ MeV، ۱۰ MeV و ۷۰ MeV

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در ادامه مطالعه پیشین [۱۱] که مقایسه‌ای بین ذرات باردار سنگین و تابش گاما برای غیرفعال‌سازی ویروس کرونا انجام گرفت، در این مطالعه به مقایسه‌ای بین ذرات باردار سنگین مختلف پرداخته شد. همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، هر چقدر که ذره سنگین‌تر شود، بازدهی ایجاد آسیب افزایش می‌یابد. با کاهش انرژی نیز همین روند مشاهده می‌گردد. بنابراین ذرات با LET بیشتر، گزینه مناسب‌تری برای غیرفعال‌سازی SARS-CoV-2 خواهند بود. دقت شود که برای آهن-۵۶ با انرژی ۳۰ MeV به علت برد کوتاه آن، مقدار دز و همچنین تعداد آسیب‌ها صفر به دست آمد. برای ذرات پروتون با هر انرژی، این احتمال وجود دارد که به ازای یک ذره فرودی هیچ آسیبی در پروتئین اسپایک و RNA رخ ندهد. این حالت برای ذرات آلفای با انرژی بیش از ۳۰ MeV نیز صادق است. درحالی‌که برای ذرات سنگین‌تر مانند کربن-۱۲ و آهن-۵۶، تنها یک ذره اولیه می‌تواند برای غیرفعال‌سازی ویروس کافی باشد. بنابراین، مزیت استفاده از ذرات با LET بالا، خودش را نشان می‌دهد. در مورد شکل ۳، DR/DS را معیاری قرار دادیم که طبق آن نمودارهای کسر بقا را تنها برحسب یک انرژی برای هر ذره رسم کنیم. هر چه DR/DS به ۱ نزدیک‌تر باشد مناسب‌تر است. بیشینه DR/DS برای ذرات آلفا و پروتون در انرژی ۳ MeV و برای ذرات کربن-۱۲ و آهن-۵۶ به ترتیب در انرژی ۱۰ MeV و ۷۰ MeV به دست آمدند (شکل ۳-ب) و به همین دلیل تنها در این انرژی‌ها رسم شده است. در اینجا مقدار D_0 برای هر ذره به طور مجزاً به‌نچار شده است. به عبارتی، افزایش تدریجی مقدار دز به صورت نسبی و متناظر با افزایش شدت تابش، محاسبه شده است. بدین معنی که تعداد ذرات اولیه ثابت در نظر گرفته شد ولی شدت تابش ها دو، سه و چهار برابر شد به طوری که دز برجای‌گذاشته‌شده در ویروس نیز به همین نسبت افزایش یافت. همان‌طور که در شکل ۳-الف مشاهده می‌شود، برای ذرات کربن-۱۲ و آهن-۵۶، نمودار کسر بقا شیب بسیار تندی دارد که نشان می‌دهد مقدار دز به نسبت کمتری برای غیرفعال‌سازی ویروس نیاز می‌باشد. با افزایش انرژی ذرات بدیهی است که شیب متناظر در نمودار کسر بقای آن‌ها، کندتر می‌گردد، زیرا بازده ایجاد آسیب کاهش پیدا می‌کند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ذرات کربن-۱۲ و آهن-۵۶ شتاب‌داده‌شده، اثر بخشی بیشتری نسبت به ذرات آلفا و پروتون در غیرفعال‌سازی ویروس کرونای جدید خواهند داشت.

مراجع

- [1] WHO Health Emergency Dashboard, (COVID-19) Homepage: <https://covid19.who.int>
- [2] J.A. Plante, Y. Liu, J. Liu et al. *Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness*. Nature (2020).
- [3] F. Krammer. *SARS-CoV-2 vaccines in development*. Nature **586**, 516–527 (2020).
- [4] S.C. David, J. Lau, E.V. Singleton et al. *The effect of gamma-irradiation conditions on the immunogenicity of whole-inactivated Influenza A virus vaccine*. Vaccine. **35**(7):1071-1079 (2017).
- [5] A. Leung, K. Tran, J. Audet et al. *In Vitro Inactivation of SARS-CoV-2 Using Gamma Radiation*. Applied Biosafety. **25**(3):157-160 (2020).
- [6] L.H. Elliott, J.B. McCormick, K.M. Johnson. *Inactivation of Lassa, Marburg, and Ebola viruses by gamma irradiation*. J Clin Microbiol. **16**(4):704-870 (1982).
- [7] A. Mehdizadeh, J. Bevelacqua, S. Mortazavi et al. *COVID-19: Introducing Low Dose Radiation as an Effective Treatment for Pneumonia that Shouldn't Induce Selective Pressure and New Mutations*. J Biomed Phys Eng, 10(3), 247-250 (2020).
- [8] X. Zhang, F. Wang, M. Weng et al. *Calculations of energy deposition and ionization in the 2019 novel coronavirus by electron beam irradiation*. Radiat Phys Chem Oxf Engl 1993 ;177:109169 (2020).
- [9] G. Feng, L. Liu, W. Cui et al. *Electron beam irradiation on novel coronavirus (COVID-19): A Monte-Carlo simulation*. Chinese Physics B, 29(4): 048703 (2020).
- [10] M. Durante, K. Schulze, S. Incerti et al. *Virus Irradiation and COVID-19 Disease*. Frontiers in Physics, Frontiers, 8, 565861 (2020).
- [11] Z. Francis, S. Incerti, S.A. Zein et al. *Monte Carlo Simulation of SARS-CoV-2 Radiation-Induced Inactivation for Vaccine Development*. Radiat Res. (2021).
- [12] D. Verreault, S. Moineau, C. Duchaine. *Methods for sampling of airborne viruses*. Microbiol Mol Biol Rev. **72**(3):413-44 (2008).
- [13] S. Agostinelli, J. Allison, K. Amako et al. *Geant4—a simulation toolkit*. Nucl Instrum Methods Phys Res A. 506(3):250-303 (2003).
- [14] S. Incerti, G. Baldacchino, M. Bernal et al. *The Geant4-DNA project*. Int. J. Model. Simul. Sci. Comput. 1; 157–178 (2010).
- [15] G. Mariano, R. J. Farthing et al. *Structural Characterization of SARS-CoV-2: Where We Are, and Where We Need to Be*. Front. Mol. Biosci. 7;605236 (2020).
- [16] MN908947.3, G. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate Wuhan-Hu-1, complete genome. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MN908947>
- [17] Lea DE. *Action of Radiations on Living Cells*. New York, NY: Cambridge University Press (1947).
- [18] S. Incerti, C. Champion, H.N. Tran et al. *A Members of the Geant4-DNA collaboration 2013 Energy deposition in smallscale targets of liquid water using the very low energy electromagnetic physics processes of the Geant4 toolkit*. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B 306 158–64 (2013).