



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE
INMUNIZACIÓN CONTRA EL SARS-CoV-2 BASADA
EN NANOPARTÍCULAS DE ORO**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

QFB. SUSAN ITZEL FARFÁN CASTRO

DIRECTOR DE TESIS

DR. SERGIO ROSALES MENDOZA

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. MARIANO DE JESÚS GARCÍA SOTO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE
INMUNIZACIÓN CONTRA EL SARS-CoV-2 BASADA
EN NANOPARTÍCULAS DE ORO**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

QFB. SUSAN ITZEL FARFÁN CASTRO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. SERGIO ROSALES MENDOZA

CO-DIRECTOR DE TESIS

Dr. MARIANO DE JESÚS GARCÍA SOTO

SINODALES:

PRESIDENTE:

DR. SERGIO ROSALES MENDOZA _____

SECRETARIO:

DR. MARIANO DE JESÚS GARCÍA SOTO _____

VOCAL:

DRA. MA. DEL CARMEN GONZÁLEZ CASTILLO _____

DRA. GABRIELA NAVARRO TOVAR _____

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Bioseparaciones de la Facultad de Ciencias Químicas y
Laboratorio de Biofármacos del Centro de Investigación de Ciencias de la Salud y
Biomedicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Con financiamiento de:

Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), mediante el proyecto
No. 311879.

El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma
de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad
(PNPC) del CONACYT, registro 000588, en el Nivel Maestría (Consolidado).

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 746759



Desarrollo de una estrategia de inmunización contra el SARS-CoV-2 basada en
nanopartículas de oro por Susan Itzel Farfán Castro se distribuye bajo una
licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0
Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mis directores de tesis, los doctores Sergio Rosales Mendoza y Mariano García Soto, por todo el apoyo y estar siempre pendiente de mi trabajo, por la paciencia y el tiempo brindado para aclarar todas mis dudas. Especialmente, gracias por confiar en mí y permitirme trabajar en un proyecto tan valioso como crucial.

Agradezco en gran medida a mis asesoras, Dra. Gabriela Navarro Tovar y Dra. María del Carmen González Castillo, por transmitirme sus conocimientos, guiarme en base a su experiencia y apoyarme para evaluar y concluir este proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A Dios, que en todo momento está conmigo y jamás me ha abandonado. Porque todo lo que tengo y soy hoy en día se lo debo a Él, mi fortaleza y mi roca eterna.

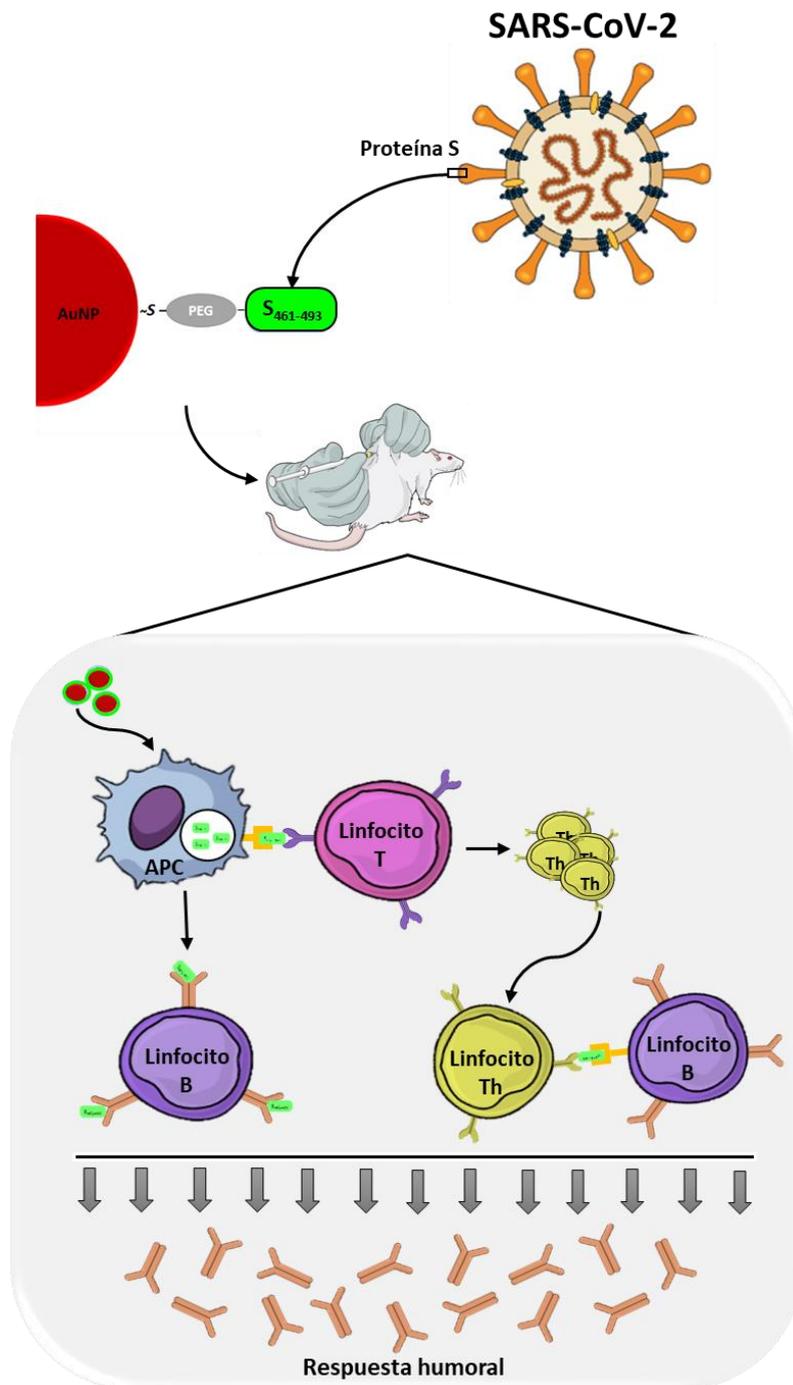
A mis padres, por su inefable apoyo, paciencia y dedicación para mi formación académica. Gracias por inculcarme los valores y principios que me han ayudado a crecer como persona y a luchar por lo que quiero.

A mi *Lebenslangerschicksalsschatz*, que siempre me ha apoyado incondicionalmente y ha creído en mí. Gracias por ese afecto y cariño, que, incluso en los momentos más difíciles, se ha hecho notar con su peculiar sentido del humor.

Índice General

RESUMEN GRÁFICO	ii
DIVULGACIÓN CIENTÍFICA.....	iii
RESUMEN	1
Introducción	1
Objetivos.....	2
Material y métodos	2
1.1. Selección de antígeno.....	2
1.2. Preparación del conjugado KLH-S ₄₆₁₋₄₉₃ y producción de antisuero	2
1.3. Ensayo ELISA.....	3
1.4. Síntesis de nanopartículas de oro y bioconjugación.	3
1.5. Caracterización de las nanopartículas de oro	4
1.6. Evaluación de citotoxicidad	4
1.7. Evaluación de inmunogenicidad.....	4
Resultados y discusión	5
Conclusiones	6
Bibliografía.....	7
Reseña del artículo: Síntesis y evaluación de la inmunogenicidad de un conjugado de nanopartículas de oro para la liberación de un péptido de SARS-CoV-2.....	8
ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO.....	9

RESUMEN GRÁFICO



Respuesta humoral inducida por la administración subcutánea del conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ en ratones. El péptido de SARS-CoV-2, S₄₆₁₋₄₉₃, fue conjugado a nanopartículas de oro para inmunizar ratones BALB/c, como estrategia para inducir una respuesta inmunológica contra la proteína S del virus. Tras la inyección subcutánea, el conjugado es capturado por las células presentadoras de antígeno (APC) que migran a los ganglios linfáticos con la posterior inducción de respuestas inmunes adaptativas.

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

En diciembre de 2019 se emitió una alerta por el aumento en la incidencia de pacientes que presentaron neumonía atípica similar a la provocada por el síndrome respiratorio agudo grave (SARS, por sus siglas en inglés) en la provincia de Hubei, China. Pronto fue identificado el virus SARS-CoV-2, perteneciente a la familia *Coronaviridae*, como el agente causal de la enfermedad COVID-19.

El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud declaró a la COVID-19 como una pandemia debido a la rápida propagación en diversos países y la alta capacidad infecciosa del virus. Por este motivo, diversas organizaciones y centros de investigación se concentraron en la síntesis de una vacuna contra el SARS-CoV-2.

La proteína S se encuentra en abundancia en la superficie del SARS-CoV-2 y se sabe que se une al receptor ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina 2, por sus siglas en inglés) en las vías respiratorias del huésped, lo que marca el punto de entrada del virus a la célula y desencadena la infección. En este trabajo, se sintetizaron nanopartículas de oro (AuNP) de 25 nm por un método químico, las cuales se cubrieron con un polímero que permitió unir el péptido S₄₆₁₋₄₉₃, que constituye una región de la proteína S y que podría servir como una vacuna.

El conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ se usó para inmunizar ratones de cepa BALB/c, como estrategia para inducir una respuesta inmunológica positiva contra la proteína S del virus. Los resultados obtenidos confirmaron la efectividad del conjugado para generar anticuerpos en una etapa temprana (IgM) y tardía (IgG), lo que sugiere que tiene el potencial de inducir protección contra la infección por SARS-CoV-2. Adicionalmente, se probó que las AuNP no tienen efecto tóxico significativo en células humanas (HEK-293T), lo que sugiere que la vacuna es segura. Este trabajo constituye la base para estudios futuros en donde se determinará si los animales tratados con esta vacuna candidata adquieren protección contra la infección experimental por SARS-CoV-2 y validar parámetros adicionales que determinen la seguridad de la posible vacuna.

RESUMEN

“Síntesis y evaluación de la inmunogenicidad de un conjugado de nanopartículas de oro para la liberación de un péptido de SARS-CoV-2”

Introducción

El nuevo coronavirus, SARS-CoV-2, que afecta a la salud humana está provocando efectos devastadores en términos de morbilidad, mortalidad e impacto económico. La mayoría de los candidatos vacunales están dirigidos a la proteína S (*spike*), que es un blanco para lograr la neutralización del virus mediada por anticuerpos que evitan su entrada en la célula huésped (Begum et al. 2020; Wang et al. 2020). Dichas formulaciones contienen la proteína S completa y se basan en vectores virales o virus inactivados.

Un aspecto crítico en el diseño de las vacunas contra SARS-CoV-2 es la inducción de respuestas humorales neutralizantes, para lo cual se emplean vacunas formuladas con antígenos específicos (por ejemplo, péptidos sintéticos) que permiten focalizar la respuesta en los epítomos específicos que promueven la producción de anticuerpos neutralizantes.

El uso de nanomateriales en tales formulaciones previene la degradación enzimática prematura del péptido y promueve la captación del sistema antígeno-acarreador por las células dendríticas (CD), lo que facilita el drenado hacia ganglios linfáticos (Jia et al. 2017). La eficacia terapéutica de un sistema basado en nanopartículas depende de la elección adecuada tanto del nanoacarreador como del antígeno. El uso de nanopartículas de oro (AuNP) es una estrategia promisoría en este sentido debido a su versatilidad en modificación de superficie con múltiples funcionalidades, su interacción con las células blanco y sus propiedades fisicoquímicas que las hacen ideales en aplicaciones terapéuticas y de diagnóstico (Ahmad et al. 2017).

En este trabajo, se unió covalentemente un péptido derivado de la secuencia de la proteína S de SARS-CoV-2 a nanopartículas de oro (AuNP) y una vez

caracterizado, el bioconjugado obtenido se utilizó para evaluar su potencial inmunogénico en ratones.

Objetivos

- Sintetizar AuNP de 25 nm por el método de Frens (1973) que se basa en la reducción de Au^{3+} a Au^0 , usando citrato como agente reductor y estabilizador.
- Definir las condiciones para bioconjugar las AuNPs con el péptido S₄₆₁₋₄₉₃ empleando polietilenglicol heterobifuncional como ligando y glutaraldehído como agente entrecruzante.
- Caracterizar los conjugados AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ para determinar su tamaño hidrodinámico (DLS), su estabilidad en suspensión coloidal (PDI), carga superficial (potencial ζ) y su morfología (TEM).
- Determinar la inmunogenicidad de AuNP- S₄₆₁₋₄₉₃ en ratones BALB/c, en términos de inducción de respuestas humorales.

Material y métodos

1.1. Selección de antígeno

Esta selección fue guiada por la predicción *in silico* de epítomos de células B con el software BepiPred-2.0: Secuencial B-Cell Epitope Predictor. Se seleccionó el péptido S₄₆₁₋₄₉₃ a partir de la secuencia del dominio de unión al motivo de la proteína S (S₄₃₇₋₅₀₈), que contiene varios epítomos potenciales de linfocitos B. La secuencia final del péptido fue: CLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQ; sintetizado por Synpeptide Inc., China.

1.2. Preparación del conjugado KLH-S₄₆₁₋₄₉₃ y producción de antisuero

El péptido S₄₆₁₋₄₉₃ se conjugó con el portador hemocianina de lapa californiana (KLH, Geno Technology Inc.), añadiendo a la reacción 500 μ g de péptido, 1 mg de KLH y clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC, Sigma-

Aldrich) solubilizado en dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich) como entrecruzador.

Una oveja de raza Ramboiullet de 12 meses de edad se inmunizó cuatro veces en intervalos de 2 semanas con 250 µg del conjugado KLH-S₄₆₁₋₄₉₃, siguiendo los protocolos aprobados por el Comité de Ética de Investigación Institucional con registro CEID-2020-07R1. Se obtuvieron muestras de sangre por punción yugular, se separó el suero y se almacenó a -40 °C para su análisis posterior.

1.3. Ensayo ELISA

Los niveles de anticuerpos anti-S₄₆₁₋₄₉₃ se determinaron en muestras de suero de oveja y de ratón mediante ELISA. Se emplearon placas de 96 pozos recubiertas de péptido S₄₆₁₋₄₉₃ en tampón de carbonatos, que después se bloquearon con leche descremada al 5 % a temperatura ambiente, realizando tres lavados con solución PBS-T en cada paso. Se añadieron diluciones seriadas de los sueros correspondientes y se incubaron durante 24 h a 4 °C. Para el marcaje secundario, se añadió IgG anti-oveja o anti-ratón conjugada con peroxidasa. La detección se desarrolló añadiendo como sustrato sal de diamonio del ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS, Sigma-Aldrich) y H₂O₂. La densidad óptica a 405 nm se midió en un lector de microplacas Multiskan Ascent (Thermo Scientific).

1.4. Síntesis de nanopartículas de oro y bioconjugación.

Se preparó una mezcla inicial de reacción que contenía agua ultra pura, ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) y citrato de sodio (Na₃C₆H₅O₇). La mezcla se incubó 5 min y se añadió a un matraz con agua miliQ en ebullición, conectado a un sistema de reflujo. La reacción se mantuvo durante 30 min.

Para la funcionalización, a 1 mL de AuNP se añadieron en orden y en agitación constante HCl 1 M, HS-PEG5k-NH₂ y Tween 20 al 5 %; esto se mezcló por 2 h y se dejó reposar durante la noche para después lavarse por centrifugación. Las nanopartículas se resuspendieron en solución tampón PBS-T.

Para la conjugación, se añadió glutaraldehído (GTA) a las nanopartículas funcionalizadas. La solución se mantuvo en agitación durante 1 h y se realizó un lavado para después añadir el péptido S₄₆₁₋₄₉₃ disuelto en DMSO. La reacción se mantuvo en agitación durante la noche y finalmente se añadió NaBH₄ (Sigma-Aldrich), se mezcló durante 1 h y el conjugado obtenido se lavó.

1.5. Caracterización de las nanopartículas de oro

En cada paso de reacción, se midió la absorbancia máxima en la región visible correspondiente al plasmón de superficie con un espectrofotómetro Jenway 6705 (Bibby Ltd). Además, el cambio en tamaño hidrodinámico y potencial Z se registró en un Zetasizer Nano ZS (Malvern Ltd). Las variaciones de carga se compararon mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.75 % con tampón TAE 1X, ajustando la muestra cargada a una proporción 1:4 (v:v) de AuNP y glicerol.

El tamaño y morfología de las nanopartículas se determinaron mediante microscopía electrónica de transmisión en el equipo JEM-JEOL-2100 a 200 kV (JEOL Ltd.).

1.6. Evaluación de citotoxicidad

Se cultivaron células HEK293T en medio DMEM completo en placas de 12 pozos a una densidad de siembra de 1×10^5 células. Las células se expusieron durante 48 h a diferentes concentraciones de estímulo prueba (AuNP o AuNP- S₄₆₁₋₄₉₃), H₂O₂ (control positivo) o medio completo (control negativo). Posteriormente, las células se despegaron de la placa y se tiñeron en azul de tripano al 0.4 % para su conteo en una cámara de Neubauer empleando un microscopio invertido Carl Zeiss.

Adicionalmente, se realizó una estimación de la viabilidad celular relativa añadiendo 30 µg/mL de resazurina a cada pozo después de 48 h de exposición al tratamiento y se midió la fluorescencia en un equipo FlexStation II (LabX).

1.7. Evaluación de inmunogenicidad

Se inmunizaron ratones BALB/c de 8 semanas de edad con dosis subcutáneas de S₄₆₁₋₄₉₃ en PBS, S₄₆₁₋₄₉₃ con adyuvante de Freund, AuNP- S₄₆₁₋₄₉₃ en dosis baja o

en dosis alta. Se administraron tres dosis cada dos semanas y se recolectaron muestras de sangre periférica el día previo a cada inmunización y 2 semanas después de la última dosis. Se separaron los sueros mediante centrifugación y se almacenaron a -40 °C.

Resultados y discusión

El conjugado final presentó absorbancia máxima correspondiente al plasmón de superficie a 520 nm y amplitud de banda de 43 nm. El potencial ζ de AuNP-PEG5k-NH₂ se volvió cercano a cero; sin embargo, una vez activado con GTA y conjugado con S₄₆₁₋₄₉₃ incrementó la negatividad de su carga a -8.4 mV.

Este efecto en la modificación efectiva después de la funcionalización se comprobó en la electroforesis en gel de agarosa, en donde las nanopartículas funcionalizadas con PEG-NH₂ migraron uniformemente al cátodo debido al grupo amino protonado, mientras que el conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ modificó su migración hacia el cátodo por la carga neta del péptido con ligeras variaciones en el movimiento electroforético debido a una eficiencia no uniforme en la conjugación.

Al evaluar la toxicidad *in vitro*, los tratamientos que condujeron a una disminución moderada de la viabilidad fueron AuNP a 25 µg/mL con una media de 93.5 % y AuNP- S₄₆₁₋₄₉₃ a 250 µg/mL, con media de 94.9 %; similar a lo observado en el ensayo de resazurina donde se produjo una reducción significativa de la actividad metabólica con 25 µg/mL de AuNP y 250 µg/mL de conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃. Estos resultados confirmaron que el conjugado no ejerce toxicidad en un rango de 12.5 a 250 µg Au/mL, similar a estudios anteriores que validan la biocompatibilidad de las nanopartículas de oro (Lee et al. 2019; Manivasagan and Oh 2016; Woźniak-Budyń et al. 2016).

Los conjugados KLH-S₄₆₁₋₄₉₃ y AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ indujeron altos niveles de IgG en ovejas y ratones, respectivamente, confirmando que S₄₆₁₋₄₉₃ porta un epítipo de células B. La inducción de respuestas de IgG se observó entre los grupos que recibieron el péptido S₄₆₁₋₄₉₃ en todas las formulaciones de prueba, con una respuesta notablemente más alta en el grupo tratado con la dosis alta del conjugado

AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃; en comparación al grupo tratado con una dosis equivalente del péptido solo. La magnitud de la respuesta alcanzada por la dosis alta de AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ fue similar a la alcanzada en el grupo de ratones inmunizados en combinación con adyuvante de Freund, lo que denota que las AuNP incrementan la inmunogenicidad del péptido S₄₆₁₋₄₉₃. Al evaluar subclases de IgG se evidenció una respuesta de IgG1 predominante, lo que sugiere que el conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ induce una respuesta de tipo Th2. Esta respuesta es favorable ya que la vacuna tiene como objetivo inducir respuestas robustas de anticuerpos neutralizantes que podrían bloquear la entrada del virus en las células huésped (Huang et al. 2020).

El mecanismo detrás de las propiedades adyuvantes de la vacuna de AuNP podría radicar en que el conjugado AuNP-S₄₆₁₋₄₉₃ penetra en la matriz extracelular tras la inyección subcutánea, es capturada por las células presentadoras de antígeno que migran a los ganglios linfáticos con la posterior inducción de respuestas inmunes adaptativas (Zhang et al. 2019).

Conclusiones

Mientras esta pandemia avance, se debe continuar el desarrollo de nuevos enfoques de inmunización contra el SARS-CoV-2 para favorecer el desarrollo de vacunas biotecnológicas que podrían sumarse a las vacunas que se espera que sean aprobadas a mediano plazo; aumentando así el potencial para abordar el notable desafío de lograr la vacunación mundial contra este patógeno emergente de gran relevancia en el menor tiempo posible. En conclusión, este estudio abre el camino para la formulación de vacunas basadas en epítomos contra el SARS-CoV-2, que serán de gran relevancia en el desarrollo de vacunas de próxima generación contra este y otros patógenos emergentes.

Bibliografía

1. Ahmad, Suhana, Anes Ateqah Zamry, Hern Tze Tina Tan, Kah Keng Wong, Jit Kang Lim, and Rohimah Mohamud. 2017. "Targeting Dendritic Cells through Gold Nanoparticles: A Review on the Cellular Uptake and Subsequent Immunological Properties." *Molecular Immunology* 91(June):123–33.
2. Begum, Jubeda, Nasir Akbar Mir, Kapil Dev, Bidyarani Buyamayum, Mohd Yaqoob Wani, and Meesam Raza. 2020. "Challenges and Prospects of COVID-19 Vaccine Development Based on the Progress Made in SARS and MERS Vaccine Development." *Transboundary and Emerging Diseases*.
3. Frens, G. 1973. "Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions." *Nature Physical Science* 241(105):20–22.
4. Jia, Yimei, Abdelwahab Omri, Lakshmi Krishnan, and Michael J. McCluskie. 2017. "Potential Applications of Nanoparticles in Cancer Immunotherapy." *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 13(1):63–74.
5. Wang, Ning, Jian Shang, Shibo Jiang, and Lanying Du. 2020. "Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses." *Frontiers in Microbiology* 11:298

Reseña del artículo: Synthesis and immunogenicity assessment of a gold nanoparticles conjugate for the delivery of a peptide from SARS-CoV-2

El artículo correspondiente a este trabajo fue enviado para su publicación a una revista científica indexada (**ANEXO**).

ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO



Susan Farfán <susanfar94c@gmail.com>

Track your recent Co-Authored submission to NANO

1 mensaje

Nanomedicine NBM <eesserver@eesmail.elsevier.com>
Responder a: Nanomedicine NBM <nano@elsevier.com>
Para: susanfar94c@gmail.com

30 de septiembre de 2020 a las 21:14

*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Susan Farfán-Castro,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine

Title: Synthesis and immunogenicity assessment of a gold nanoparticles conjugate for the delivery of a peptide from SARS-CoV-2

Corresponding Author: Sergio Rosales-Mendoza

Co-Authors: Susan Farfán-Castro; Mariano García-Soto; Mauricio Comas-García; Jaime Arevalo-Villalobos; Gabriela Palestino; Omar Gonzalez-Ortega;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: <https://ees.elsevier.com/nano/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Susan&lname=Farfán-Castro&email=susanfar94c@gmail.com>

Or log in: <https://ees.elsevier.com/nano/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=susanfar94c@gmail.com>

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at rosales.s@uaslp.mx.

Thank you,

Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine

Elsevier Editorial System(tm) for
Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Synthesis and immunogenicity assessment of a gold nanoparticles conjugate for the delivery of a peptide from SARS-CoV-2

Article Type: Original Article

Keywords: nanovaccine; COVID-19; humoral response; antigen carrier; adjuvant.

Corresponding Author: Dr. Sergio Rosales-Mendoza,

Corresponding Author's Institution: Autonomous University of San Luis Potosí

First Author: Susan Farfán-Castro

Order of Authors: Susan Farfán-Castro; Mariano García-Soto; Mauricio Comas-García; Jaime Arevalo-Villalobos; Gabriela Palestino; Omar Gonzalez-Ortega; Sergio Rosales-Mendoza

Abstract: The development of vaccines is a crucial response against the COVID-19 pandemic. Although promising candidates are currently under phase III clinical trials, innovative nanovaccines could increase the potential to address this remarkable challenge. In the present study a B cell epitope (S461-493) from the spike protein of SARS-CoV-2 was selected and its immunogenicity validated in sheep. This synthetic peptide was coupled to gold nanoparticles (AuNP) as carriers to create a nanovaccine candidate called AuNP-S461-493. A method for the efficient conjugation of the target peptide to AuNP was developed ensuring stability of the bioconjugate. The immunogenicity assessment in mice revealed that AuNPS461-493 had superior immunogenicity in terms of the induction of IgG responses when compared to soluble S461-493. Interestingly, the response triggered by AuNP-S461-493 was similar in magnitude to that induced using a conventional strong adjuvant. This study provides a platform for the development of AuNP-based nanovaccines targeting specific SARS-CoV-2 epitopes.

