



	Totales BCA	
Identidad	Western Blot	Positiva
HCP/Proteína	ELISA/cálculo	≤ 50 ppm
Osmolaridad	Osmometría, punto de congelamiento	600-750 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 UI/100 ml
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 10 UFC/100 ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5
Conductividad	Potenciometría	11.000-14.500 μS/cm
Proporción Ox-Red	RP-HPLC	Para información únicamente

**Materiales de Referencia y estándares:** A la fecha de emisión del presente informe se utiliza como estándar de referencia de proteína NHBA el lote B037463. Siempre que se establezca un nuevo estándar de referencia se deben cumplir con los procedimientos establecidos

#### 2.2.a.5. Estabilidad

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil de 36 meses a  $\leq -15^{\circ}\text{C}$  para el granel concentrado de NHBA. Se generaron también datos en las siguientes condiciones:

- 48 meses a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 48 meses a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$
- 1 mes a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$

**Denominación Común Internacional (DCI):** Proteína recombinante de fusión fHbp de *Neisseria meningitidis* del grupo B

**Estructura:** La proteína recombinante de fusión fHbp (proteína 936-741) es un producto de proteína de fusión de 936 y 741. La proteína 741 (proteína de unión al factor H) es el componente antigénico principal mientras que 936 es una proteína accesoria que aumenta la inmunogenicidad de su contraparte fusionada. En la naturaleza, la proteína de unión al factor H (741) se expresa ampliamente sobre la superficie celular de *Neisseria meningitidis* y se une al factor H humano, un inhibidor de la vía de complemento alternativa. La unión del factor H aumenta la capacidad de *Neisseria meningitidis* de evadir los mecanismos de defensa del huésped.

La proteína 936 está derivada de la cepa 2996 del serogrupo B y la proteína 741 está derivada de la cepa MC58 del serogrupo B. La proteína de fusión se expresa vía fermentación bacteriana por métodos de tecnología estándares de ADN recombinante en *Escherichia coli*.

La proteína recombinante de fusión fHbp está compuesta por 26202 aminoácidos de antígeno 936 y por 23274 aminoácidos de antígeno 741, donde las proteínas están vinculadas por dos aminoácidos. El género de fusión se clonó en el vector de expresión pET-24b(+). El clon resultante, 936-741-K, se introdujo posteriormente en la cepa BL21 (DE3) de *E. coli*, donde la expresión de la proteína recombinante de fusión NHBA se indujo por Isopropil- $\beta$ -D-tiogalactopiranosida (IPTG).

La secuencia de aminoácidos predicha a partir de la secuencia de nucleótidos conocida da cuenta de una cadena de polipéptidos de 434 aminoácidos con un punto isoeléctrico teórico de 5,1.

La proteína fHbp tiene un peso molecular teórico de 46253 Da con base en la secuencia de aminoácidos derivada a partir del cálculo por el servidor de proteómicas del sistema de análisis ExPASy. La masa molecular promedio de 46 kDa se confirmó por análisis de masa ESI-q-Tof.

92

