

510

TAC CTA TGG GAG TGG GCC TCA GTC CGT TTC TCT TGG CTC AGT TTA CTA GTG CCA TTT GTT
Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val

570

CAG TGG TTC GTA GGG CTT TCC CCC ACT GTT TGG CTT TCA GCT ATA TGG ATG ATG TGG TAT
Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Ala Ile Trp Met Met Trp Tyr

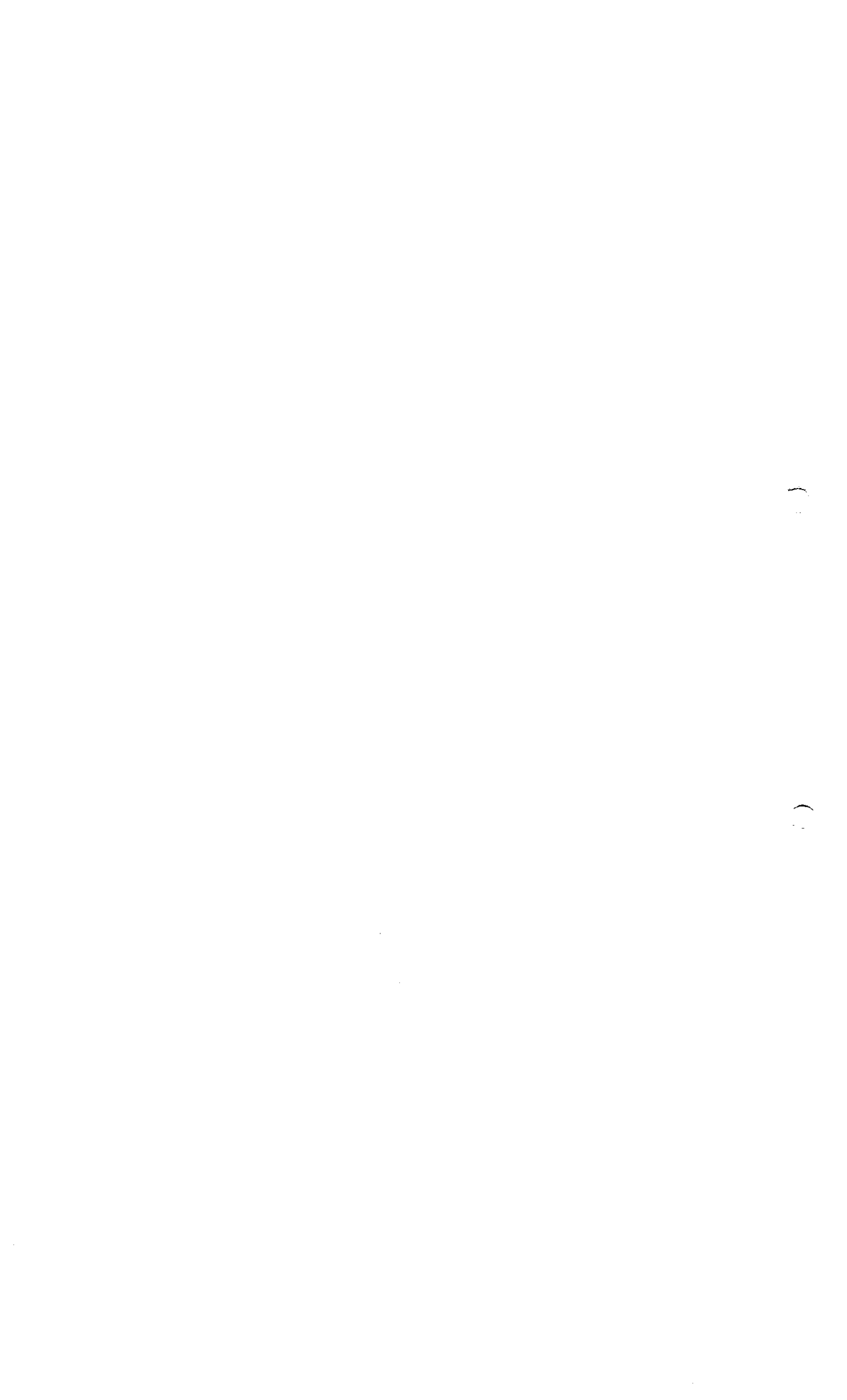
600

630

TGG GGG CCA AGT CTG TAC AGC ATC GTG AGT CCC TTT ATA CCG CTG TTA CCA ATT TTC TTT
Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Ser Ile Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe

660

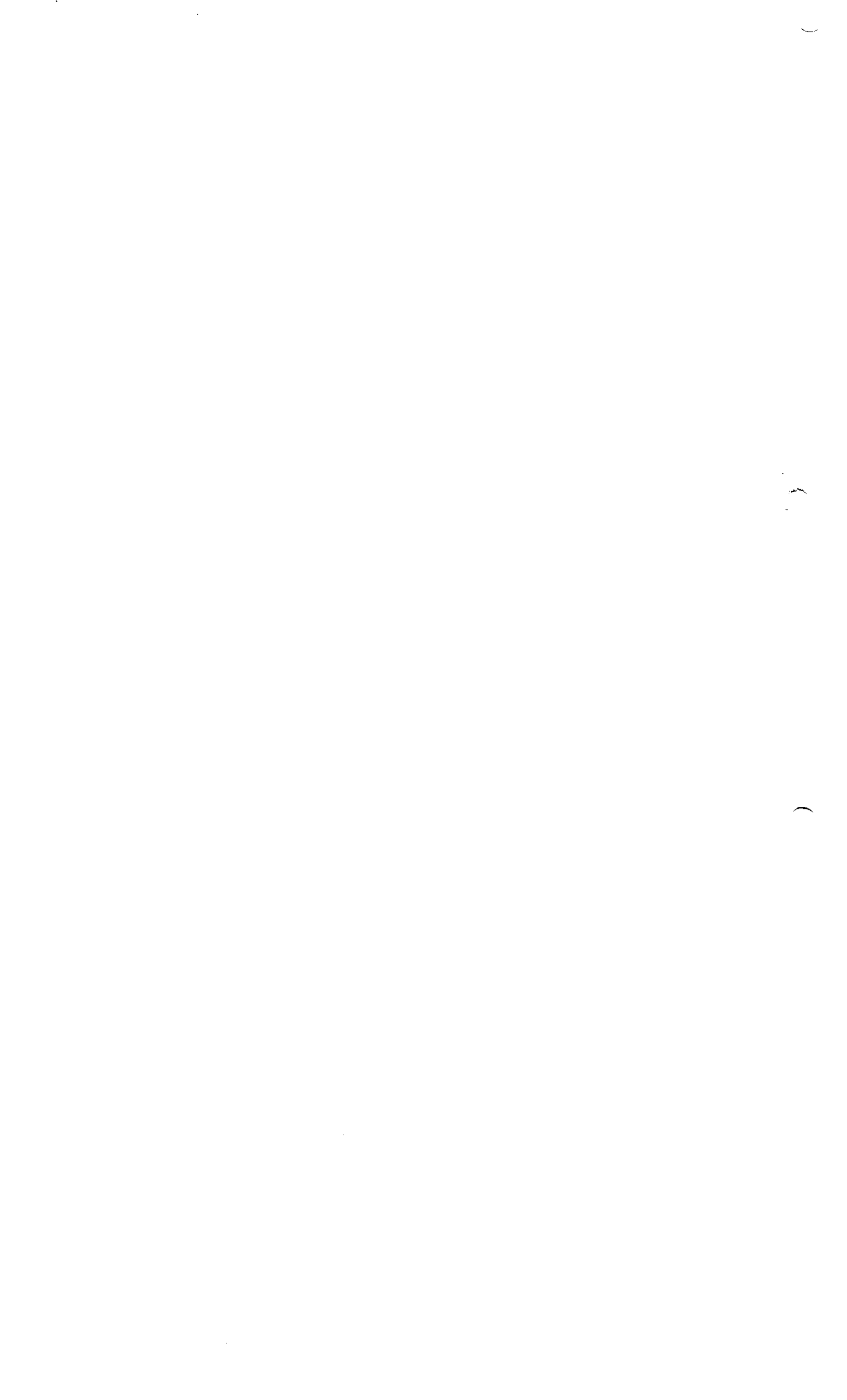
TGT CTC TGG GTA TAC APT TAA
Cys Leu Trp Val Tyr Ile END





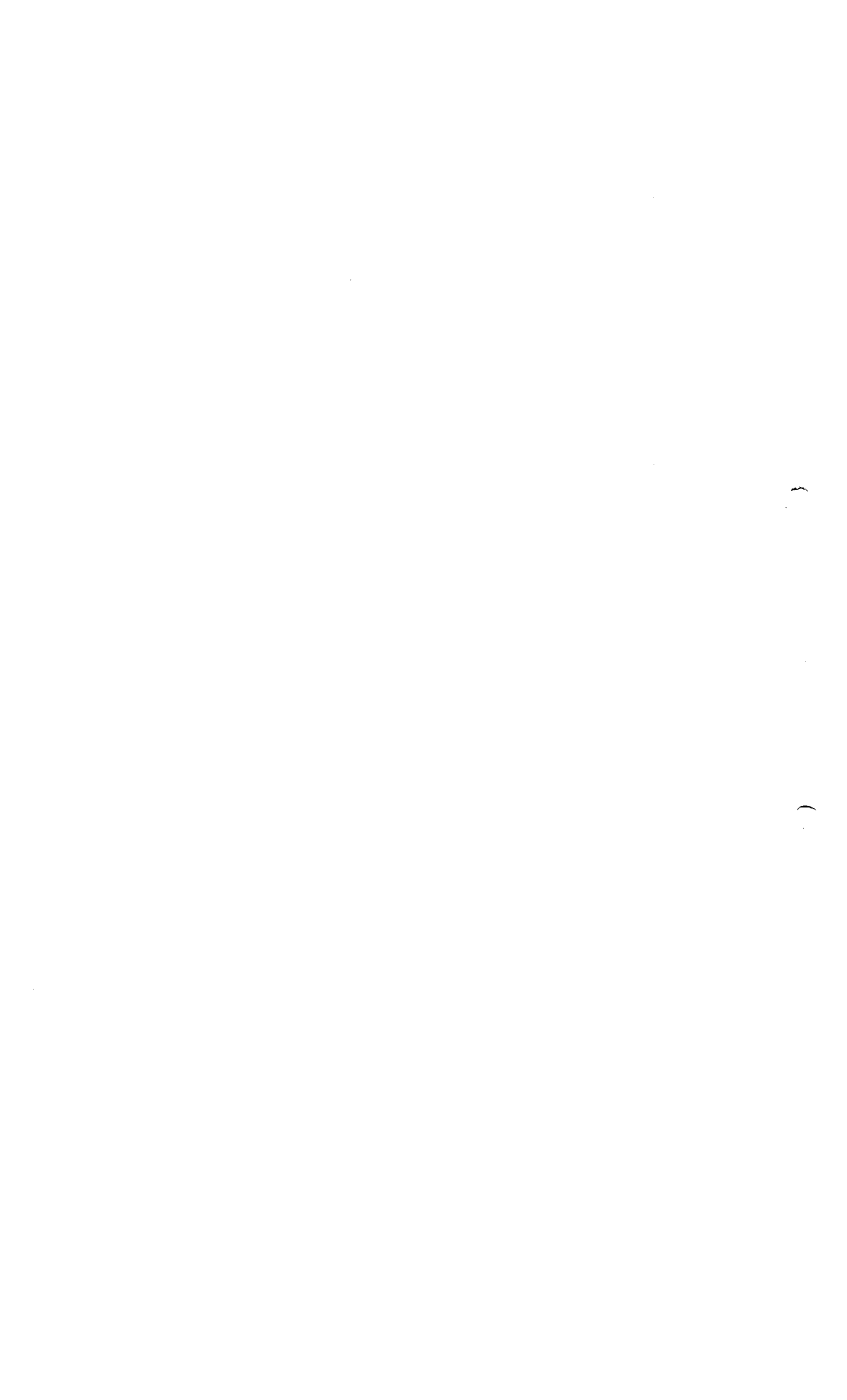
Lista de referencias

- 1 Valenzuela P, Medina A and Rutter WJ. Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. *Nature* 1982; 298: 347-350
- 2 Pêtre J, Van Wijnendaele F, De Neys B, Conrath K, Van Opstal O, Hauser P, Rutgers T, Cabezon T, Capiou C, Harford N, De Wilde M, Stephenne J, Carr S, Hemling H and Swadesh J. Development of a hepatitis B vaccine from transformed yeast cells. *Postgrad Med J* 1987; 63 (2): 73-81
- 3 Janowicz ZA, Melber K, Merckelbach A, Jacobs E, Harford N, Comberbach M and Hollenberg CP. Simultaneous expression of the S and L surface antigens of hepatitis B, and formation of mixed particles in the methylotrophic yeast, *Hansenula polymorpha*. *Yeast* 1991; 7: 431-443
- 4 Diminsky D, Schirmbeck R, Reimann J and Barenholz Y. Comparison between hepatitis B surface antigen particles derived from mammalian cells (CHO) and yeast cells (*Hansenula polymorpha*): composition, structure and immunogenicity. *Vaccine* 1997; 15 (6-7): 637-647
- 5 Bhatnagar P, Papas E, Blum HE, Milich DR, Nitecki D, Karels MJ and Vyas GN. Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the "a" determinant. *PNAS* 1982; 79: 4400-4404
- 6 Waters JA, O'Rourke SM, Richardson SC, Papaevangelou G and Thomas HC. Qualitative analysis of the humoral immune response to the "a" determinant of HBs antigen after inoculation with plasma-derived or recombinant vaccine. *J Med Virol* 1987; 21: 155-160
- 7 Magnius LO and Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirol* 1995; 38: 24-34
- 8 Sonveaux N, Ruyschaert JM and Brasseur R. Proposition of a three-dimensional representation of the constitutive protein of the hepatitis B surface antigen particles. *J Prot Chem* 1995; 14 (6): 477-486
- 9 Moerschell RP, Hosokawa Y, Tsunasawa S and Sherman F. The specificities of yeast methionine aminopeptidase and acetylation of amino-terminal methionine in vivo. *J Biol Chem* 1990; 265 (32): 19638-19643
- 10 Dreesman GR, Hollinger FB, Suriano JR, Fujioka RS, Brunshwig JP and Melnick JL. Biophysical and biochemical heterogeneity of purified hepatitis B antigen. *J Virol* 1972; 10 (3): 469-476
- 11 Huovila APJ, Eder AM and Fuller SD. hepatitis B surface antigen assembles in a post-ER, pre-golgi compartment. *J Cell Biol* 1992; 118 (6): 1305-1320.
- 12 Biemans R, Thines D, Petre-Parent B, De Wilde M, Rutgers T, Cabezon T. Immunoelectron microscopic detection of the hepatitis B virus major surface protein in dilated perinuclear membranes of yeast cells. *DNA Cell Biol* 1992; 11(8):621-626.
- 13 Satoh O, Imai H, Yoneyama T, Miyamura T, Utsumi H, Inoue K and Umeda M. Membrane structure of the hepatitis B virus surface antigen particle. *J Biochem* 2000; 127: 543-550





- 14 Sonveaux N, Thines D and Ruyschaert JM. Characterization of the HBsAg particle membrane. *Res Virol* 1995; 146: 43-51
- 15 Gavilanes F, Gomez-Gutierrez J, Aracil M, Gonzales-Ros JM, Ferragut JA, Guerrero E and Peterson DL. Hepatitis B surface antigen: Role of lipids in maintaining the structural and antigenic properties of protein components. *J Biol Chem* 1990; 265 : 857-864
- 16 Gavilanes F, Gonzales-Ros JM and Peterson DL. Structure of hepatitis B surface antigen. *J Biol Chem* 1982; 257(13): 7770-7777
- 17 Gomez-Gutierrez J, Rodriguez-Crespo I, Gonzales-Ros JM, Ferragut JA, Paul DA, Peterson DL and Gavilanes F. Thermal stability of hepatitis B surface antigen S proteins. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1119: 225-231
- 18 Gomez-Gutierrez J, Rodriguez-Crespo I, Peterson DL and Gavilanes F. Antigenicity of hepatitis B surface antigen proteins reconstituted with phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1233: 205-212
- 19 Mangold CMT and Streeck RE. Mutational analysis of the cysteine residues in the hepatitis B virus small envelope protein. *J Virol* 1993; 67 (8): 4588-4597
- 20 Zhao Q, Wang Y, Freed D, Fu TM, Gimenez JA, Sitrin RD and Washabaugh MW. Maturation of recombinant hepatitis B virus surface antigen particles. *Hum Vaccines* 2006; 2 (4): 174-180
- 21 Wampler DE, Lehman ED, Boger J, McAleer WJ and Scolnick EM. Multiple chemical forms of hepatitis B surface antigen produced in yeast. *PNAS* 1985; 82: 6830-6834
- 22 Mishiro S, Imai M, Takahashi K, Machida A, Gotanda G, Miyakawa Y and Mayumi M. A 49,000 dalton polypeptide bearing all antigenic determinants and full immunogenicity of 22-nm hepatitis B surface antigen particles. *J Immunol* 1980; 124 (4): 1589-1593
- 23 Antoni BA, Rodriguez-Crespo I, Gomez-Gutierrez J, Nieto M, Peterson D and Gavilanes F. Site-directed mutagenesis of cysteine residues of hepatitis B surface antigen. *Eur J Biochem* 1994; 222: 121-127
- 24 Maillard P and Pillot J. At least three epitopes are recognized by the human repertoire in the hepatitis B virus group "a" antigen inducing protection; possible consequences for seroprevention and serodiagnosis. *Res Virol* 1998; 149: 153-161
- 25 Schellekens H, de Reus A, Peetermans JH and van Eed PACM. The protection of chimpanzees against hepatitis B viral infection using a recombinant yeast-derived hepatitis B surface antigen. *Postgrad Med J* 1987; 63 (2): 93-96
- 26 Hauser P, Thomas HC, Waters J, Simoen E, Voet P, De Wilde M, Stephenne J and Pêtre J. Induction of neutralising antibodies in chimpanzees and in humans by a recombinant yeast-derived hepatitis B surface antigen particle. *Viral Hepatitis and Liver Disease* 1988; 1031-1037
- 27 Peterson DL, Paul DA, Lam J, Tribby IIE and Achord DT. Antigenic structure of hepatitis B surface antigen: identification of the "d" subtype determinant by chemical modification and use of monoclonal antibodies. *J Immunol* 1984;132 (2): 920-927
- 28 Chen YCJ, Delbrook K, Dealwis C, Mimms L, Mushahwar IK and Mandeck W. Discontinuous epitopes of hepatitis B surface antigen derived from a filamentous phage peptide library. *PNAS* 1996, 93: 1997-2001





- 29 Iwarson S, Tabor E, Thomas HC, Goodall A, Waters J, Snoy P, Shih JWK and Gelfand RJ. Neutralization of hepatitis B virus infectivity by a murine monoclonal antibody. J Med Virol 1985; 16: 89-96
- 30 Waters J, Pignatelli M, Galpin S, Ishihara K and Thomas HC. Virus-neutralizing antibodies to hepatitis B virus: the nature of an immunogenic epitope on the S gene peptide. J Gen Virol 1986; 67: 2467-2473
- 31 Hauser P, Voet P, Simoen E, Thomas HC, Pêtre J, De Wilde M and Stephenne J. Immunological properties of recombinant HBsAg produced in yeast. Postgrad Med J 1987; 63 (2): 83-91


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.




CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

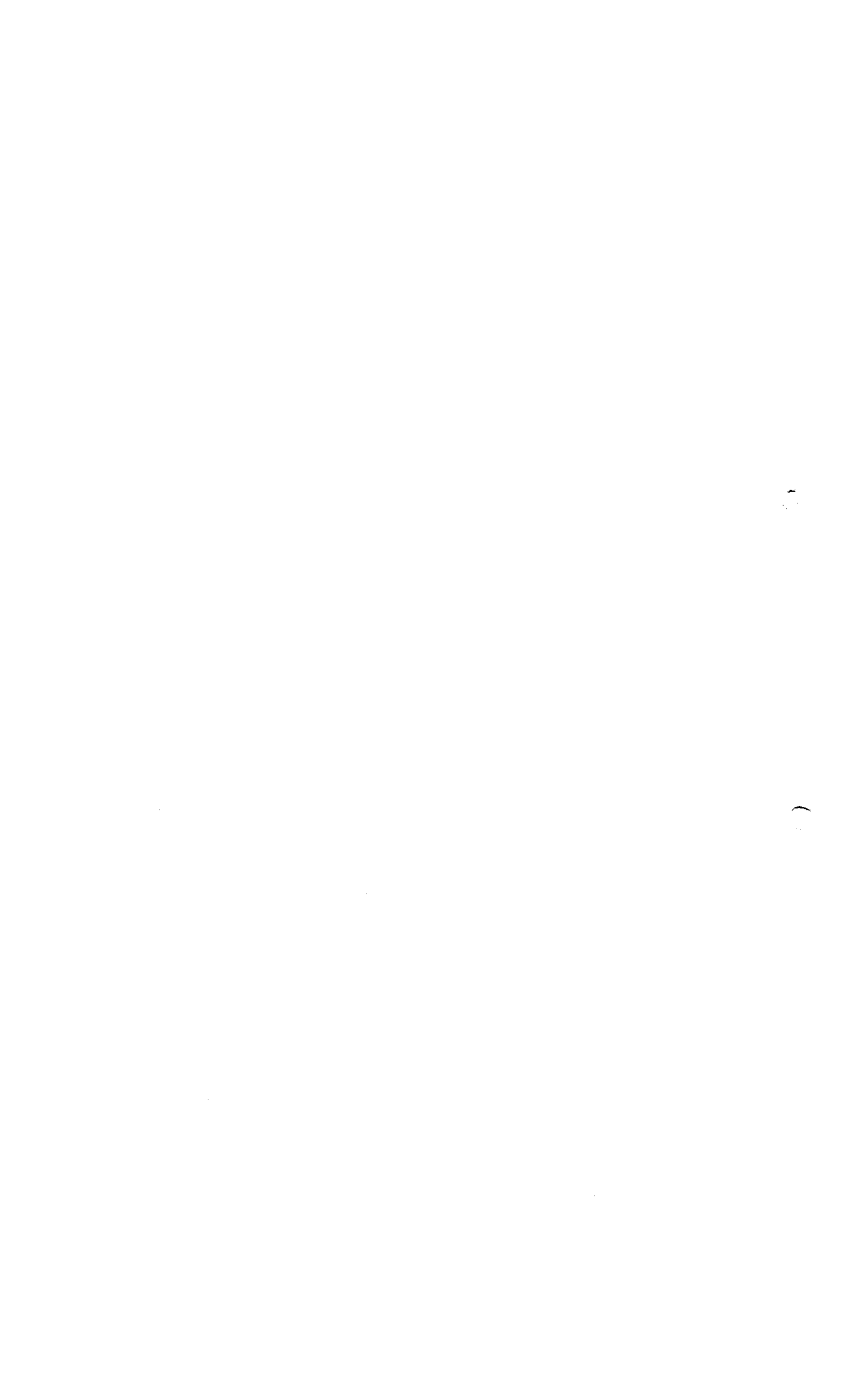




3.2.S.1.3

Información General - HBsAg

	
ROXANA MONTEMILONE	CHRISTIAN DOMINGUEZ
DIRECTORA TÉCNICA	APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.	SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.1.3 - Propiedades generales

Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, introducción.

1 Descripción general

El antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) es la expresión de una cepa de ácido desoxirribonucleico (ADN) viral insertada en el ADN de la levadura *Hansenula polymorpha* mediante un vector plásmido; vea la sección 3.2.S.2.3 Sistema de lote de siembra viral, caracterización y pruebas. Sólo el gen que codifica el antígeno de superficie principal del virus de la hepatitis B se inserta en el ADN de la levadura, lo cual conforma un ADN recombinante (ADNr). La levadura recombinante obtenida presenta una buena estabilidad genética.

El HBsAg se expresa en las células de levadura (*Hansenula polymorpha*) sometidas a ingeniería genética y luego se purifica a través de varios pasos físico-químicos; vea la sección 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación.

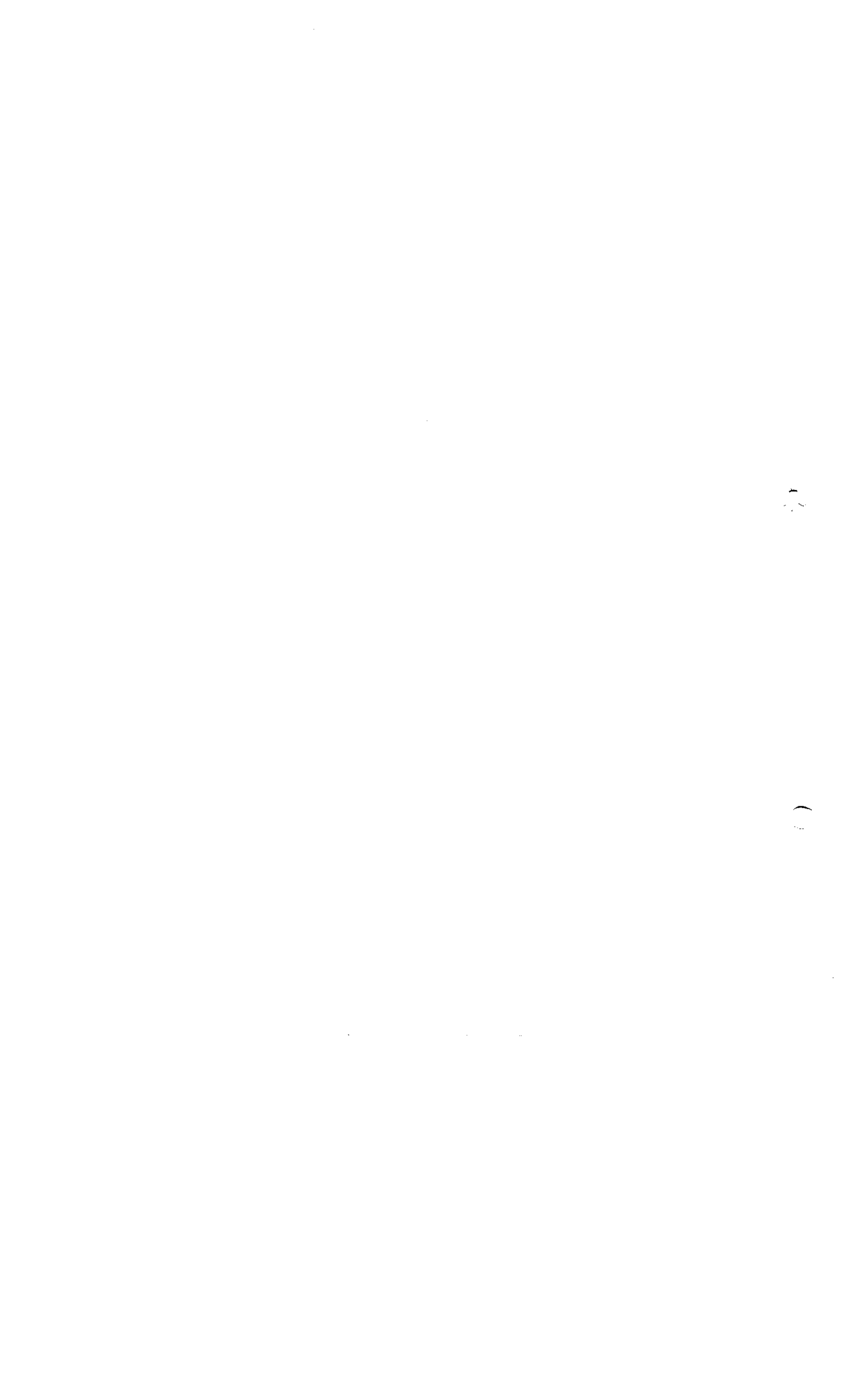
De acuerdo con la monografía 1056 de la Ph. Eur., el HBsAg está constituido principalmente por una proteína, la proteína S, expresión del gen S. Esta proteína se presenta en la sección 3.2.S.1.2 Estructura.

2 Propiedades físico-químicas y bioquímicas

Las distintas características físico-químicas (tamaño de la partícula, punto isoeléctrico, composición de lípidos, estructura primaria y secundaria de la proteína S, documentación de los enlaces disulfuro) y características antigénicas (interacción con anticuerpos monoclonales) de este antígeno se detallan en la sección 3.2.S.3.1 Elucidación de la estructura y otras características.

El HBsAg presenta las siguientes características:

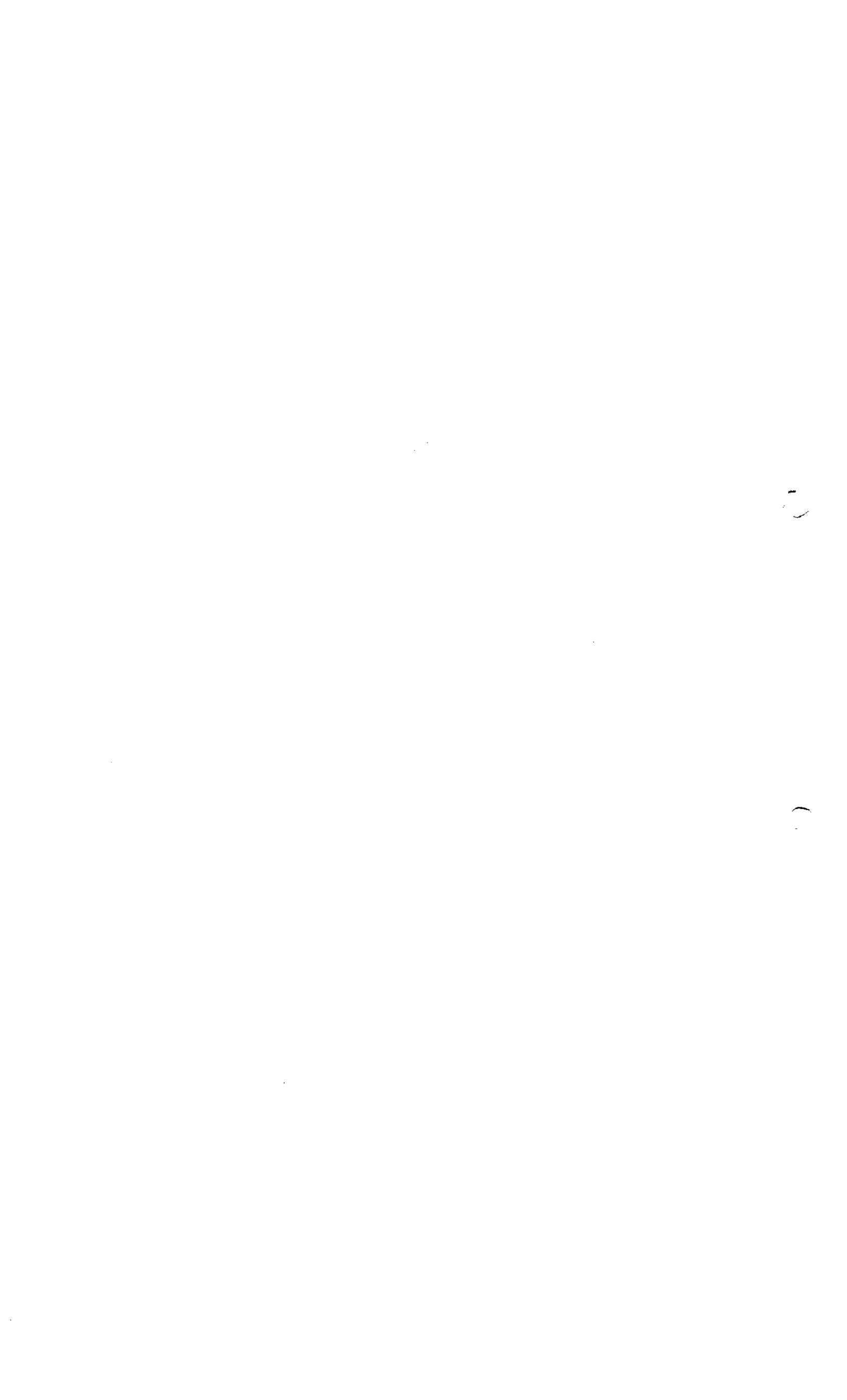
- Forma partículas espontáneamente esféricas con un diámetro de alrededor de 23 nm, que contienen polipéptido de HBsAg no glicosilado y una matriz de lípidos que está constituida principalmente por fosfolípidos.
- Está caracterizado por su contenido proteico y contenido de lípidos; vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones.
- El grado de pureza es de por lo menos 95% de HBsAg con respecto a las proteínas totales mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras, por ejemplo, según la Ph. Eur. 1056.
- La antigenicidad se caracteriza mediante pruebas inmunoquímicas (método ELISA, por ejemplo), que representan la calidad del Ag.

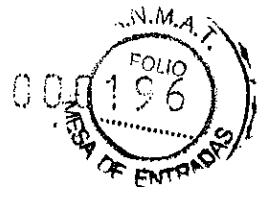




3 Propiedades inmunoquímicas

Las propiedades inmunoquímicas del HBsAg dan por resultado la inducción de una respuesta inmune activa en seres humanos que los protege contra el virus de la hepatitis B al generar una respuesta humoral. Estas propiedades se evalúan de manera cualitativa y cuantitativa en cada lote de HBsAg analizando la identidad del HBsAg y el contenido y la pureza del HBsAg.





3.2.S.2.1

Fabricante(s) - HBsAg


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA GENERAL
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.2.1 - Fabricantes

1 Nombre y dirección del fabricante

Dirección de la planta de elaboración y pruebas:

Sanofi Pasteur
Calle 8 N° 703 (esquina 5)
Parque Industrial Pilar (1629)
Provincia de Buenos Aires
Argentina



3.2.R

**Productos Medicinales que Contienen o Utilizan en el Proceso de Elaboración
Materiales de Origen Animal y/o Humano**


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTOR TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

10

1



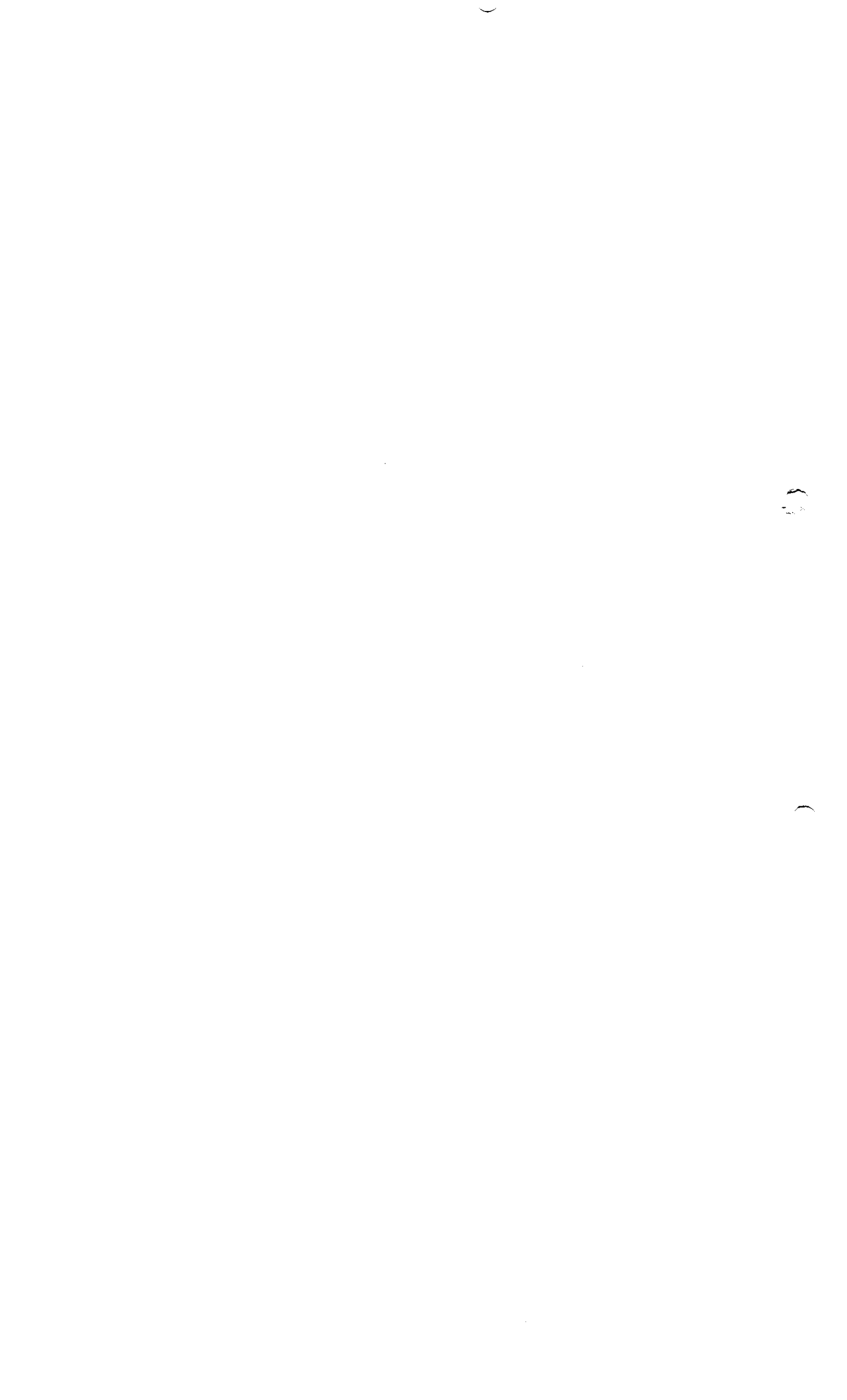
Sección 3.2 R - Información regional

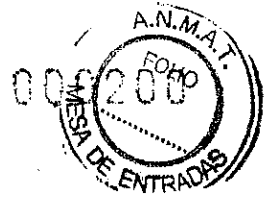
Productos medicinales que contienen o utilizan en el proceso de elaboración materiales de origen animal y/o humano

Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

En las tablas A y B que se incluyen más adelante, se muestra que el producto medicinal Hexaxim se elabora de conformidad con la Directiva 75/318/CEE relativa a la minimización del riesgo de transmisión de los agentes de la encefalopatía espongiforme animal a través de los medicamentos.

Puesto que para el proceso de elaboración de Hexaxim no se utiliza ningún material de origen humano, no se incluye en esta sección una tabla C.



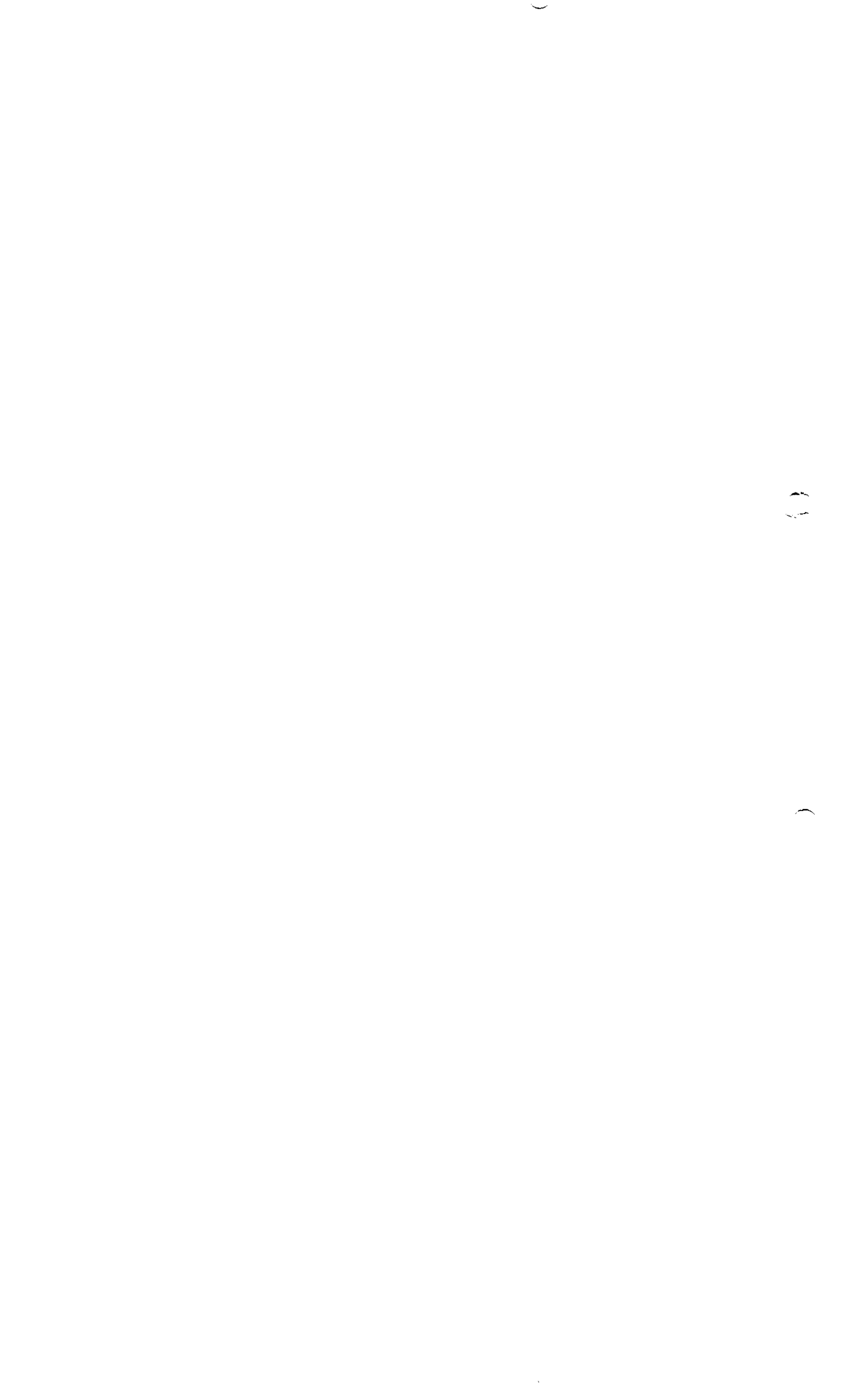


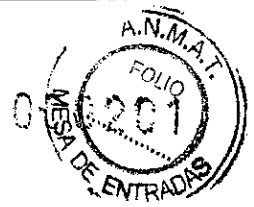
3.2.R

Tabla A - Diftérico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





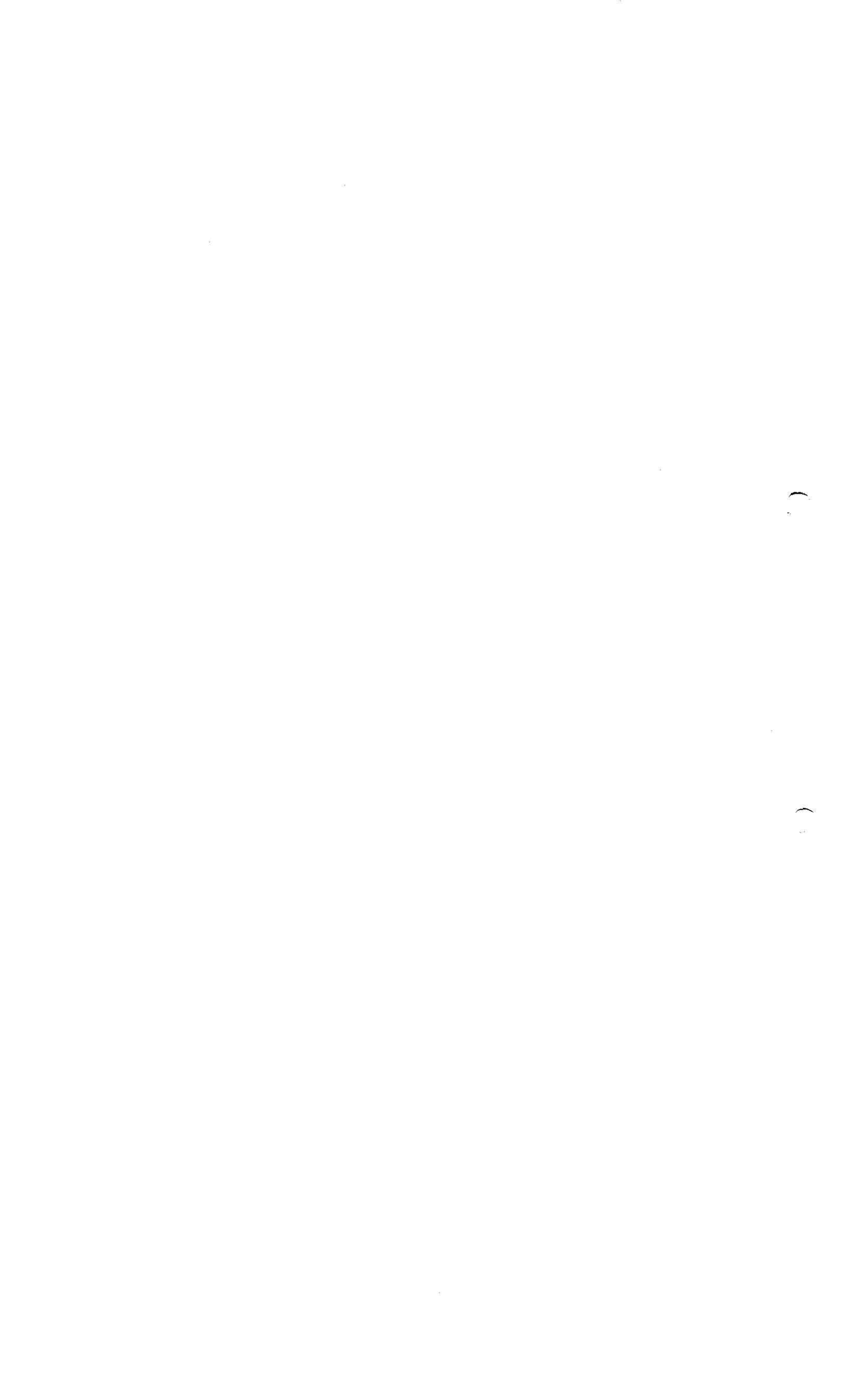
Sección 3.2 Información regional

Tabla A: Materiales de origen animal incluidos en la nota guía para minimizar el riesgo de transmitir agentes de encefalopatía espongiforme animal por medio de los productos medicinales^a

Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

Producto medicinal: Toxoide diftérico purificado
Solicitante: sanofi pasteur
Fecha de finalización de la tabla: 10 de febrero de 2011



^a Esta tabla A se aplica a los materiales de origen animal que se encuentren incluidos en el alcance de la nota guía para minimizar el riesgo de transmitir agentes de encefalopatía espongiforme animal por medio de los productos medicinales, octubre de 2003 (EMEA/410/01 rev. 2) o cualquier revisión futura. Para estos materiales, los solicitantes necesitarán demostrar el cumplimiento de la parte I 3.2 del anexo I de la Directiva 2003/63/EC.





Nombre del material	Sangre ovina desfibrinada	Agar base con sangre y triptosa	Agar base con sangre y triptosa	
Nombre y dirección del fabricante*	SANOPI PASTEUR SA Domaine de la Couronne 07400 Alba FRANCIA	BD DIAGNOSTICS SYSTEMS 39 Loveton Circle EE. UU. - 21152 Sparks, Maryland	BECTON DICKINSON AND COMPANY 920 Henry Street EE. UU. - 48201 Detroit, Michigan	
Especies y tejido del cual se deriva el material	Ovino (sangre)	Bovino (corazón, músculo esquelético)	Bovino (corazón, músculo esquelético)	
País de origen de los animales fuente para el material citado †	Francia	Australia	Australia	
¿Tiene un certificado TSE de idoneidad ‡ para el material de origen animal? En caso afirmativo, escriba el número y la fecha del certificado y adjunte una copia al formulario de solicitud.	Certificado de idoneidad: R1-CEP 2000-326-Rev 00 Fecha de emisión: 10 mar 2006	Certificado de idoneidad: R1-CEP 2003-217-Rev 00 Fecha de emisión: 29 oct 2008	Certificado de idoneidad: R1-CEP 2003-217-Rev 00 Fecha de emisión: 29 oct 2008	
Uso del material	Como principio activo	/	/	
	Como excipiente	/	/	
	Como reactivo / componente del medio de cultivo utilizado en la elaboración de rutina	Cultivo del Toxoide Diftérico	Cultivo del Toxoide Diftérico	Cultivo del Toxoide Diftérico
	Como reactivo/componente del medio de cultivo usado para establecer nuevos bancos de células maestras §	/	/	/
	Como reactivo / componente del medio de cultivo utilizado para establecer nuevos bancos de células de trabajo	Lote de siembra de trabajo de <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Lote de siembra de trabajo de <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Lote de siembra de trabajo de <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	Material de inicio utilizado para elaborar principios activos	/	/	/
	Material de inicio utilizado para elaborar excipientes	/	/	/
	Otros, proporcionar detalles	/	/	/

- * Se debe mencionar el fabricante y no el proveedor/agente del material de origen animal. Para el mismo material de fabricantes diferentes, use una columna separada para cada fabricante.
- † El solicitante puede incluir un número de países menor que el especificado.
- ‡ A partir del 1 de enero de 2000, los fabricantes de los materiales de origen animal pueden presentar un dossier ante la Farmacopea Europea para obtener un certificado de idoneidad de acuerdo con la monografía: 'Products at risk of transmitting animal spongiform encephalopathies'.
- § Los materiales de origen rumiante utilizados para establecer los bancos celulares maestros existentes se deben incluir en la Tabla B.



 ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOPI PASTEUR S.A.
 CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANOPI PASTEUR S.A.

