

Héparinase III

L'Héparinase III segmente uniquement l'héparane-sulfate et non pas l'héparine non fractionnée ni les héparines de faible poids moléculaire.

Applications non cliniques :

- Comme réactif de recherche (glycobiologie, préparation de banques d'oligosaccharides, préparation de dissaccharides à partir d'héparane-sulfate).

Applications cliniques potentielles :

L'Héparinase III segmente de manière sélective les protéoglycanes d'héparane-sulfate des surfaces cellulaires et des matrices extracellulaires, réduisant la fixation d'agents pro-inflammatoires tels que les P-sélectines, les L-sélectines et l'interleukine 8. Cette action de l'Héparinase III réduit le roulement, l'adhésion et l'épanchement des leucocytes.

IBEX Pharmaceutiques a mis au point l'Héparinase III sous le nom de commerce Extravase^{md} pour un certain nombre d'applications médicales potentielles, notamment :

- Comme protection contre une blessure de reperfusion par suite d'une ischémie.
- Pour réduire la resténose après une angioplastie.
- Pour accélérer la guérison des plaies chez les patients souffrant d'ulcères veineux.

L'application thérapeutique a été vendue à BioMarin Pharmaceuticals, de Novato en Californie.

Héparinase III Fiche d'information

Synonymes

L'héparine-sulfate éliminase, l'héparitinase I

Source

Flavobacterium heparinum (recombinant)

No. d'enzyme

E.C. 4.2.2.8

Numéro CAS

37290-86-1

Réaction catalytique

L'enzyme segmente de manière sélective, par un mécanisme d'élimination, les chaînes de polysaccharides sulfatés comprenant des liaisons 1-4 entre les hexosamines et les résidus d'acide glucuronique. La réaction donne lieu à des oligosaccharides (principalement des disaccharides) contenant des acides uroniques non saturés qui peuvent se déceler à la spectroscopie UV à 232 nm. L'enzyme agit seulement sur l'héparane-sulfate et ne segmente pas l'héparine ni les héparines de faible poids moléculaire.

Spécificité des substrats

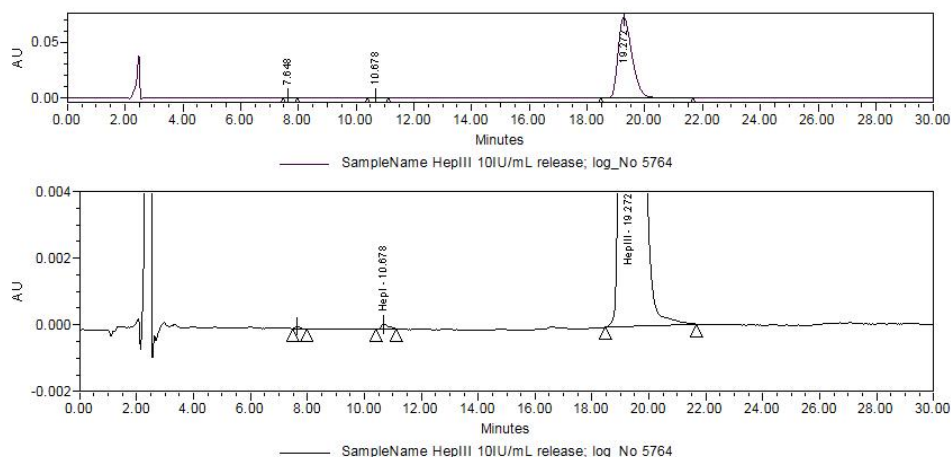
L'héparane-sulfate.

Propriétés

- Poids moléculaire: 73,202 Da
- Point isoélectrique: 9.6 – 9.9
- pH d'activité optimale: 7 – 8
- Zone de pH d'activité: 5.5 – 9
- Plage de température optimale: 20°C – 37°

Pureté

≥95 % par "HPLC" en phase inversée (chromatographie liquide à haute pression).



IBEX Pharmaceuticals Inc.

Activité spécifique

>45 UI/mg.

Une unité internationale (UI) se définit comme étant la quantité d'enzyme qui dégagera, à partir de l'héparane-sulfate, 1.0 μ mole d'oligosaccharides non saturés par minute à 30°C et à un pH de 7.5.

Stabilité

- PN 50-012 (0.5 UI/vial) : La date d'expiration est 18 mois après la date de fabrication à -70°C dans des tampons aqueux contenant du phosphate de sodium et du sucrose 5%
- PN 50-120 (0.1 UI/vial) : La date d'expiration est 12 mois après la date de fabrication à -70°C dans des tampons aqueux contenant du phosphate de sodium et du sucrose 5%

Applications

- Comme réactif de recherche (dégradation des glycosaminoglycanes).
- Pour la préparation de disaccharides d'héparane-sulfate, et la préparation de banques d'oligosaccharides.

Disponibilité

Le système breveté d'extraction à partir de *F. heparinum* et les procédés de fermentation et d'isolation que IBEX Pharmaceutiques a mis au point rendent possible la production de fortes quantités d'un produit de grande pureté.

Références

- Revue: "Enzymatic Degradation of Glycosaminoglycans". S. Ernst et al., *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* (1995), 30(5): 387-444.
- "Purification and Characterization of Heparin Lyases from *Flavobacterium heparinum*". D.L. Lohse et R.J. Linhardt, *J. Biol. Chem.* (1992) 267: 24347-24355.
- "Substrate Specificity of the Heparin Lyases from *Flavobacterium heparinum*". U.R.Desai, H.Wang et R.J. Linhardt, *Archives of Biochemistry and Biophysics* (1993) 306(2): 461-468.
- "Isolation and Expression in *Escherichia coli* of hepB and hepC, Genes Coding for the Glycosaminoglycan-Degrading Enzymes Heparinase II and Heparinase III, Respectively, from *Flavobacterium heparinum*". HongSheng Su, Françoise Blain, Roy A. Musil, Joseph J.F. Zimmermann, KangFu Gu et D. Clark Bennett, *Applied and Environmental Microbiology*, (1996): 2723-2734.
- "Heparinase III from *Flavobacterium heparinum*: Cloning and Recombinant Expression in *Escherichia coli*". R. Godavarti, M. Davis, G. Venkataraman, C. Cooney, R. Langer et R. Sasisekharan, *Biochemical and Biophysical Research Communications* (1996) 225: 751-758.

IBEX Pharmaceuticals Inc.

- "Involvement of heparan sulfate and related molecules in sequestration and growth promoting activity of fibroblast growth factor". I. Vlodaysky, H-Q. Miao, P. Danagher et D. Ron, *Cancer and Metastasis Reviews* (1996) 15(2): 177- 186.
- "Control of Cell Proliferation by Heparan Sulfate and Heparin- Binding Growth Factors". I. Vlodaysky, H-Q. Maio, R. Atzmon, E. Levi, J. Zimmermann, R. Bar-Shavit, T. Peretz et S. Ben-Sasson, *Thrombosis and Haemostasis* (1995) 74(1): 534-540.
- "Heparinase III Exerts Endothelial and Cardioprotective Effects in Feline Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury". R. Hayward, T.O. Nossuli et A.M. Lefer, *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics* (1997) 283: 1032-1038.
- "IBT 9302 (Heparinase III): a novel enzyme for the management of reperfusion injury-related vascular damage, restenosis and wound healing". P. Silver, *Exp. Opin. Invest. Drugs* (1998) 7 (6): 1003-1014.
- "Cellular mechanisms of heparinase III protection in rat traumatic shock". R. Hayward, R. Scalia, B. Hopper, J. Appel III et A. Lefer, *Am. J. Physiol.* (1998) 275 (*Heart Circ. Physiol.* 44): H23-H30.
- "Heparinase III limits rat arterial smooth muscle cell proliferation in vitro and in vivo." P. Silver, J-P. Moreau, E. Denholm, Y.Q. Lin, L. Nguyen, C. Bennett, A. Recktenwald, D. DeBlois, S. Baker, S. Ranger, *Euro. J. Pharmacol.* (1998) 351: 79-83.