

Héparinase I

L'Héparinase I segmente l'héparine et, dans une moindre mesure, l'héparane-sulfate (ratio approx. 3:1).

Applications non cliniques :

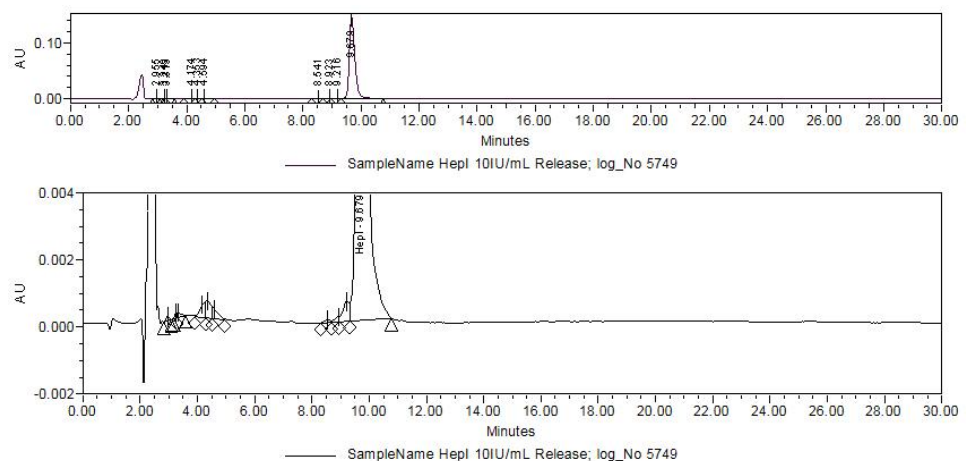
- L'Héparinase I, produite et fournie par IBEX, est employée comme composante des produits de diagnostic commercialisés suivants:
 - La cartouche du test polyvalent à l'Héparinase (« HR-HTC ») de Medtronic Perfusion Systems pour mesurer le temps de coagulation activée (TCA).
 - Des cupules et des microtubes contenant de l'Héparinase, incorporées au Thromboélastographe^{md} (TEG) de la société Haemoscope pour l'analyse de la coagulation lors du contrôle de l'hémostase.
 - L'Hepzyme^{md} (de Dade Behring, Inc.), une formulation lyophilisée d'Héparinase I, pour éliminer l'héparine dans des échantillons sanguins fraîchement prélevés.
 - Abbott (i-STAT) incorpore l'Héparinase I dans son essai Prothrombin Time (PT/INR), spécifiquement conçu pour le suivi Coumadin^{md} (warfarin) des patients en cours de thérapie orale d'anticoagulation.
- Pour neutraliser l'héparine dans le sang et les échantillons plasmatiques avant leur analyse (en tant qu'additif ou déjà contenue dans les tubes de prélèvement).
- Comme composante des tests de diagnostic in vitro pour évaluer la coagulation, et des tests de fonction plaquettaire pour éliminer toute interférence de l'héparine.
- Pour la préparation d'héparines de faible poids moléculaire à partir d'héparine non fractionnée.
- Comme réactif de recherche (glycobiologie, préparation de banques d'oligosaccharides, préparation de disaccharides à partir de l'héparine).

Applications cliniques potentielles :

- IBEX a mis au point l'Héparinase I sous le nom commercial de Neutralase^{md} comme agent de neutralisation de l'héparine après un pontage cardiovasculaire. Ce médicament se trouvait en phase III de son développement clinique au moment de sa vente à la société BioMarin Pharmaceuticals de Novato, en Californie.

Héparinase I Fiche d'information

Synonymes	L'héparinase, l'héparine lyase, l'héparine éliminase
Source	<i>Flavobacterium heparinum</i> (non recombinant ou recombinant)
No. d'enzyme	E.C. 4.2.2.7
Numéro CAS	9025-39-2
Réaction catalytique	L'enzyme segmente de manière sélective, par un mécanisme d'élimination, les chaînes de polysaccharides fortement sulfatés comprenant des liaisons 1-4 entre les hexosamines et les résidus d'acide iduronique O-sulfatés. La réaction donne lieu à des oligosaccharides (principalement des disaccharides) contenant des acides uroniques non saturés qui peuvent se détecter à la spectroscopie UV à 232 nm. L'enzyme segmente aussi le domaine pentasaccharide de fixation de l'antithrombine III dans la molécule de l'héparine.
Spécificité des substrats	L'héparine, l'héparane-sulfate (l'activité spécifique avec l'héparine est approximativement 3 fois plus élevée qu'avec l'héparane- sulfate).
Propriétés	<ul style="list-style-type: none">• Poids moléculaire: 42,508 Da• Point isoélectrique: 9.3 – 9.5• pH d'activité optimale: 6.5 – 7.5• Zone de pH d'activité: 4 – 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

>100 UI/mg d'après la définition suivante d'une unité.

Une unité internationale (UI) se définit comme étant la quantité d'enzyme qui dégagera, à partir d'une héparine de muqueuse porcine, 1.0 μ mole par minute d'oligosaccharides non saturés à 30°C et à un pH de 7.0.

Une unité (U) se définit aussi comme suit dans une autre préparation: 1 U formera 0.1 μ mole par heure d'acide uronique non saturé, à 25°C et à un pH de 7.5; 1 UI est équivalent à 600 U.

Stabilité

- Si la formulation est concentrée (≥ 2 mg/ml), plusieurs années congelé à -70°C dans des tampons aqueux contenant du phosphate de sodium ou du sucrose 5%.
- PN 50-010 (0.5 UI/vial) : La date d'expiration est 18 mois après la date de fabrication congelé à -70°C dans des tampons aqueux contenant du phosphate de sodium et du sucrose 5%
- PN 50-100 (0.1 UI/vial) : La date d'expiration est 12 mois après la date de fabrication congelé à -70°C dans des tampons aqueux contenant du phosphate de sodium et du sucrose 5%

Applications

- Pour la neutralisation de l'héparine dans des prélèvements sanguins et plasmatiques, préalablement à une analyse.
- De la même manière, pour la neutralisation in vitro d'héparines de faible poids moléculaire.
- Comme partie intégrante des tests de diagnostic in vitro, afin de neutraliser l'héparine (tests de coagulation, tests plaquettaires).
- Dans les tubes de prélèvement sanguin, afin de neutraliser l'héparine.
- Pour la préparation d'héparines de faible poids moléculaire à partir d'héparine non fractionnée.
- En tant que réactif de recherche (dégradation des glycosaminoglycanes).
- Pour la préparation des disaccharides à partir d'héparine 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.

IBEX Pharmaceuticals Inc.

- “Purification and Characterization of Heparinase from *Flavobacterium heparinum*”. V.C.Yang, R.J. Linhardt, H. Bernstein, C.L. Cooney et R. Langer, *J. Biol. Chem.* (1985) 260(3): 1849-1857.
- “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.
- “Heparinase I from *Flavobacterium heparinum*. Mapping and Characterization of the Heparin Binding Domain”. R. Sasisekharan, G. Venkataraman, R. Godavarti, S. Ernst, C.L. Cooney et R. Langer, *J. Biol. Chem.* (1996) 271 (6): 3124-3131.
- “Cloning and Expression of Heparinase I Gene from *Flavobacterium heparinum*”. R. Sasisekharan, M. Bulmer, K.W. Moremen, C.L. Cooney et R. Langer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1993) 90: 3660-3664.
- “Neutralase (Heparinase I) as a Potential Heparin Reversal Agent in Coronary Artery Bypass Surgery”. P.J. Silver, *Management of Bleeding in Cardiovascular Surgery*, édité par R. Pifarré, MD, (2000) Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia, PA.
- “The effects of heparinase I and protamine on platelet reactivity”. T. Ammar et C.F. Fisher, *Anesthesiology* (1997) 86: 1382-1386.
- “Heparinase I (Neutralase) Reversal of Systemic Anticoagulation”. L.G. Michelsen, M. Kikura, J.H. Levy et al., *Anesthesiology* (1996) 85: 339-346.
- “Neutralase Reverses the Anti-coagulant but not the Anti-thrombotic Activity of Heparin in a Rabbit Model of Venous Thrombosis”. P.J. Silver, R. Broughton, J. Bouthillier et al., *Thromb. Res.* (1998) 91: 143-150.