



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410040037.3

[43] 公开日 2005年2月23日

[11] 公开号 CN 1584594A

[22] 申请日 2004.6.16

[21] 申请号 200410040037.3

[71] 申请人 深圳华康生物医学工程有限公司

地址 518054 广东省深圳市南山区南油粤海
工业区四栋五楼

[72] 发明人 傅剑华 刘瑜 胡家纯 何林
何小红

[74] 专利代理机构 深圳创友专利商标代理有限公司

代理人 彭家恩

权利要求书1页 说明书3页

[54] 发明名称 精液液化剂及其制备方法以及液化精液的方法

[57] 摘要

本发明公开一种精液液化剂，所述精液液化剂为含有蛋白质水解酶的酶保存液。一种精液液化剂的制备方法，包括如下步骤：将称量的蛋白质水解酶、碳化二亚胺加入酶保存液中置4℃搅拌反应4~12小时；加入2-氨基乙醇，置室温反应1~4小时；加入牛血清白蛋白，置室温反应0.5~1小时；以酶保存液调整蛋白质水解酶浓度至2~10g/l。一种精液液化剂液化精液的方法，每1ml精液中加入精液液化剂10~50ul。由于采用了以上的方案，用蛋白质水解酶水解液化异常精液中的纤维蛋白，便于进一步检测，经过液化处理后的精液样本，其生化免疫分析的结果不受影响；且本发明的液化剂为液体，性能稳定，液化时操作简便，易于临床的广泛应用。

ISSN 1008-4274

- 1、一种精液液化剂，其特征是：所述精液液化剂为含有蛋白质水解酶的酶保存液。
- 2、如权利要求1所述的精液液化剂，其特征在于：所述蛋白质水解酶在酶保存液中的含量为2~10g/L。
- 3、如权利要求1或2所述的精液液化剂，其特征在于：所述蛋白质水解酶优选菠萝蛋白酶。
- 4、如权利要求3所述的精液液化剂，其特征在于：所述酶保存液是包括单糖、无机盐、明胶、氨基乙酸与牛血清白蛋白的pH值在7.0~8.0 15~50mM的磷酸盐缓冲液。
- 5、如权利要求4所述的精液液化剂，其特征在于：所述单糖的含量为5~15g/L，所述无机盐的含量为1~5 g/L，所述明胶的含量为0.5~1.5g/L，所述氨基乙酸的含量为10~30 g/L，所述牛血清白蛋白的含量为1~5g/L。
- 6、一种精液液化剂的制备方法，其特征在于包括如下步骤：
 - 1) 将称量的蛋白质水解酶、碳化二亚胺加入酶保存液中，置4℃搅拌反应4~12小时；
 - 2) 在步骤1)所述混合液中加入2-氨基乙醇，置室温反应1~4小时；
 - 3) 在步骤2)所述混合液中加入牛血清白蛋白，置室温反应0.5~1小时；
 - 4) 在步骤3)所述混合液中加入步骤1)中所述的酶保存液，调整蛋白质水解酶浓度至2~10g/L。
- 7、如权利要求6所述的精液液化剂的制备方法，其特征在于：所述步骤1)中所述蛋白质水解酶优选菠萝蛋白酶。
- 8、如权利要求6或7所述的精液液化剂的制备方法，其特征在于：所述步骤1)中所述酶保存液是包括单糖、无机盐、明胶、氨基乙酸、牛血清白蛋白的pH值在7.0~8.0 15~50mM的磷酸盐缓冲液，所述单糖的含量为5~15g/L，所述无机盐的含量为1~5 g/L，所述明胶的含量为0.5~1.5g/L，所述氨基乙酸的含量为10~30 g/L，所述牛血清白蛋白的含量为1~5g/L。
- 9、如权利要求6所述精液液化剂的制备方法，其特征在于：所述步骤4)混合液中碳化二亚胺的含量为1~5 g/L，2-氨基乙醇的含量为12mmol/L。
- 10、一种权利要求1所述精液液化剂液化精液的方法，其特征在于：每1ml精液中加入精液液化剂10~50ul，优选25ul。

精液液化剂及其制备方法以及液化精液的方法

技术领域

本发明涉及一种体外诊断试剂，具体适用于液化异常精液的液化。

背景技术

液化异常精液样本过于粘稠，进行免疫生化等项目检测时，由于精液内各待测物质分布不均而难以混匀及准确加样，往往难以得到准确的检测结果，因此，添加液化剂消化精液检测标本，是液化异常精液进一步检测分析必不可少的前处理程序。

常用的处理不液化样本的方法有酶消化法和机械混合法。酶消化法主要是利用蛋白酶干粉试剂或糜蛋白酶针剂水解精液中的纤维蛋白液化精液。酶消化法存在的缺陷在于：干粉试剂不便于使用，并难以广泛应用于临床；糜蛋白酶针剂为粉状，需要使用前溶解，但是溶解后极不稳定。机械混合法是通过机械振荡，破坏网状纤维丝，达到促进液化的效果，但此方法极易破坏精液内精子或其他细胞，同时导致精子或细胞内物质向精浆释放，造成难以预计的影响。

发明内容

本发明的目的在于提出一种能快速液化异常精液，且不影响精液生化免疫分析，易于临床广泛应用的精液液化剂及其制备方法以及用该液化剂液化精液的方法。

实现上述目的的技术方案：

一种精液液化剂，所述精液液化剂为含有蛋白质水解酶的酶保存液。

一种精液液化剂的制备方法，包括如下步骤：

- 1) 将称量的蛋白质水解酶、碳化二亚胺加入酶保存液中，置4℃搅拌4~12小时；
- 2) 在步骤1)所述混合液中加入2-氨基乙醇，置室温反应1~4小时；
- 3) 在步骤2)所述混合液中加入牛血清白蛋白，置室温反应0.5~1小时；
- 4) 在步骤3)所述混合液中加入步骤1)中所述的酶保存液，调整蛋白质水解酶

浓度至2~10g/L。

一种精液液化剂液化精液的方法，每1ml精液中加入精液液化剂10~50ul。

采用上述技术方案，结合下面将要详述的实施例，本发明突出的技术效果在于：

1、液化时，用蛋白质水解酶水解液化异常精液中的纤维蛋白，能将不液化的新鲜精

液样本在 30 分钟内快速液化，便于进一步检测；2、本发明消除了机械混合法对精液内精子或其他细胞的破坏，经过液化处理后的精液样本，其生化免疫分析的结果不受影响；3、进一步的，在酶保存液中采用牛血清白蛋白，对蛋白质水解酶的稳定性有帮助，液化剂稳定性更好，贮存期长，4℃保存可稳定 1 年以上，完全适合于作为试剂盒使用；4、本发明的液化剂为液体，性能稳定，液化时操作简便，易于临床的广泛应用。

具体实施方式

下面通过具体的实施例对本发明作进一步详细的描述。

实施例一，一种精液液化剂，为含有菠萝蛋白酶 2~10mg/ml 的酶保存液，酶保存液为含有 10g/L 的蔗糖、1.755 g/L 的 NaCl、22 g/L 的氨基乙酸、2g/L 的牛血清白蛋白（BSA）的 pH7.4 的 0.2M/L 的磷酸盐（PB）缓冲液。

上述精液液化剂的制备方法，包括如下步骤：

1) 称量蔗糖 1.0 克，NaCl 0.1755 克，氨基乙酸 2.2 克，BSA 0.2 克，置于 100ml 容量瓶中；

2) 加 95ml pH7.4 20mM 的 PB 缓冲液于 100ml 容量瓶中充分溶解步骤 1) 中所述的物质。以 pH 计测定溶液酸碱度，并以 NaOH 或 HCl 校正 pH 至 7.4。最后用 pH7.4 20mM 的 PB 缓冲液补充至总体积 100ml，制得酶保存液，并于 4℃保存；

3) 称取碳化二亚胺 10~50mg 溶解于 10ml 0.02M PB 缓冲液中，加入菠萝蛋白酶液 20mg，在 4℃下磁力搅拌 4~12 小时，其中碳化二亚胺起交联作用，使菠萝蛋白酶形成多聚酶；

4) 加入 2mol/L 2-氨基乙醇 60ul，置室温反应 1~4 小时，2-氨基乙醇终止碳化二亚胺的交联作用；

5) 加入 BSA 10mg，置室温反应 0.5~1 小时，BSA 用于稳定菠萝蛋白酶；

6) 以步骤 2) 制成的酶保存液调整菠萝蛋白酶浓度至 4g/l，得到精液液化剂，并于 4℃保存。

使用上述精液液化剂液化精液的方法，具体步骤如下：

1) 在液化障碍精液标本中，按每 1ml 精液中加入 25ul 精液液化剂的比例，加入液化剂，充分混合；

2) 将添加有精液液化剂的精液标本置 37℃孵育 5~10min 或至精液液化，其间振荡 1~2 次。

实施例二，一种精液液化剂，为含有菠萝蛋白酶 2~10g/l 的酶保存液，酶保存液

为含有 5~15g/L 的葡萄糖, 1~5 g/L 的 NaCl, 0.5~1.5 g/L 的明胶, 1~5g/L 的 BSA, pH7.4 0.2M/L 的 PB 缓冲液。

上述精液液化剂的制备方法, 包括如下步骤:

1) 称量葡萄糖 0.5~1.5 克, NaCl 0.1~0.5 克, 明胶 0.05~0.15 克, BSA 0.1~0.5 克, 置于 100ml 容量瓶中;

2) 加 95ml pH7.4 15~50mM 的 PB 缓冲液于 100ml 容量瓶中充分溶解步骤 1) 中的物质。以 pH 计测定溶液酸碱度, 并以 NaOH 或 HCl 校正 pH 至 7.4。最后用 pH7.4 15~25mM 的 PB 缓冲液补充至总体积 100ml, 制得酶保存液, 并于 4℃ 保存;

3) 称取碳化二亚胺 10~50mg 溶解于 10ml 0.02M PB 缓冲液中, 加入菠萝蛋白酶液 15~25mg, 在 4℃ 下磁力搅拌 4~12 小时, 其中碳化二亚胺起交联作用, 使菠萝蛋白酶形成多聚酶;

4) 加入 2mol/L 2-氨基乙醇 60ul, 置室温反应 1~4 小时, 2-氨基乙醇终止碳化二亚胺的交联作用;

5) 加入 BSA 10mg, 置室温反应 0.5~1 小时, BSA 用于稳定菠萝蛋白酶;

6) 以步骤 2) 制成的酶保存液调整菠萝蛋白酶浓度至 2~10mg/ml, 得到精液液化剂, 并于 4℃ 保存。

用上述精液液化剂液化精液的方法, 具体步骤如下:

1) 在液化障碍精液标本中, 按每 1ml 精液中加入 10~50ul 精液液化剂的比例, 加入液化剂, 充分混合;

2) 将添加有精液液化剂的精液标本置 37℃ 孵育 5~10min 或至精液液化, 其间振荡 1~2 次。

菠萝蛋白酶的浓度低于 2g/l 时会使用液化速度减慢, 不利于对精液样本的快速分离与进一步检测, 菠萝蛋白酶的浓度高于 10g/l 没有实验应用价值而且还增加了试剂成本; 酶保存液中的葡萄糖的浓度低于 5g/L、NaCl 的浓度低于 1g/L、明胶的浓度低于 0.5g/L、BSA 的浓度低于 1 g/L 时会降低其对菠萝蛋白酶的稳定作用, 葡萄糖的浓度高于 15g/L、NaCl 的浓度高于 5 g/L、明胶的浓度高于 1.5 g/L、BSA 的浓度高于 5g/L 时会干扰菠萝蛋白酶对精液的液化作用。

上述实施例中, 采用菠萝蛋白酶水解不液化精液中的纤维蛋白的, 菠萝蛋白酶还可以用木瓜蛋白酶、糜蛋白酶、胃蛋白酶等其它能水解纤维蛋白的酶替换; 采用 BSA 对蛋白质水解酶起稳定作用; 蔗糖或者葡萄糖还可以用其他的单糖替换; NaCl 还可以用其余可溶性含氯的无机盐替换, 氨基乙酸还可以用低分子量氨基酸酶替换。

专利名称(译)	精液液化剂及其制备方法以及液化精液的方法		
公开(公告)号	CN1584594A	公开(公告)日	2005-02-23
申请号	CN200410040037.3	申请日	2004-06-16
[标]申请(专利权)人(译)	深圳华康生物医学工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳华康生物医学工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳华康生物医学工程有限公司		
[标]发明人	傅剑华 刘瑜 胡家纯 何林 何小红		
发明人	傅剑华 刘瑜 胡家纯 何林 何小红		
IPC分类号	G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种精液液化剂，所述精液液化剂为含有蛋白质水解酶的酶保存液。一种精液液化剂的制备方法，包括如下步骤：将称量的蛋白质水解酶、碳化二亚胺加入酶保存液中置4°C搅拌反应4~12小时；加入2-氨基乙醇，置室温反应1~4小时；加入牛血清白蛋白，置室温反应0.5~1小时；以酶保存液调整蛋白质水解酶浓度至2~10g/l。一种精液液化剂液化精液的方法，每1ml精液中加入精液液化剂10~50ul。由于采用了以上的方案，用蛋白质水解酶水解液化异常精液中的纤维蛋白，便于进一步检测，经过液化处理后的精液样本，其生化免疫分析的结果不受影响；且本发明的液化剂为液体，性能稳定，液化时操作简便，易于临床的广泛应用。