

权 利 要 求 书

1、一种基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，包括以下步骤：

5 步骤 1、选取鸭胚的卵巢组织 4-6 个，将卵巢组织置于灭菌 PBS 中，将卵巢组织剪碎；

步骤 2、在剪碎的卵巢组织碎片中加入 10ml 混合酶消化液，将卵巢组织碎片和混合酶消化液置于细口消化瓶中，并放置在摇床上进行消化处理；

步骤 3、用移液枪吹打卵巢组织碎片，加入胎牛血清终止消化，用细胞筛网过滤；

10 步骤 4、收集滤液，并进行离心处理；弃滤液，在沉淀的细胞中加细胞培养基，移液器轻柔吹打 20-30 次，使细胞悬浮，将细胞悬浮液铺板培养皿；分离提取得到基于鸭胚的卵母细胞。；所述步骤 4 中的细胞悬浮液按照 1×10^4 cell/ml 浓度铺板培养皿。

15 2、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，所述步骤 1 中的鸭胚的胚龄为 24-26 天。

3、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，所述步骤 2 中的混合酶消化液的配比为每 10ml 中含有 3-5mg 胶原蛋白酶 II、3-5mg 蛋白酶和 3-5mg 透明质酸酶。

20 4、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，所述步骤 2 中的消化时间为 45-60min，消化温度为 37℃，消化转速为 170-190r/min。

5、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，所述步骤 3 中的胎牛血清的体积浓度为 10%，细胞筛网的目数为 200 目。

25 6、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特征在于，所述步骤 4 中的离心转速为 1000-1500r/min，离心时间为 3-4min。

~~7、根据权利要求 1 所述的基于鸭胚的卵母细胞的分离提取方法，其特~~

~~征在于，所述步骤4中的细胞悬浮液按照 1×10^4 cell/ml 浓度铺板培养皿。~~