

权 利 要 求 书

1. 一种异育银鲫脊髓组织细胞系 (Spinal cord tissue cell lines of *Carassius auratus gibelio*, CSC), 其特征在于, 其保藏号为 CCTCC NO: C2018211。

2. 权利要求 1 所述的异育银鲫脊髓组织细胞系的构建方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

步骤 1、脊髓组织的处理: 无菌条件下取出异育银鲫脊髓组织, 无菌处理为 30~60mm³ 的组织块, 放入含 L15 培养液的培养皿中;

步骤 2、原代培养: 将步骤 1 中的组织块均匀地放入 T25 细胞培养瓶中, 放组织块的一面朝上, 培养瓶中添加 3ml 培养液, 过夜, 慢慢将培养瓶侧过来, 使组织块浸润培养液, 再将组织块的一面朝上, 期间不定期操作一次直至组织块边缘长出细胞, 将细胞培养瓶正置培养, 每 2~3 天更换培养液一次;

步骤 3、传代培养: 原代培养异育银鲫脊髓组织细胞长成单层后, 加入胰蛋白酶消化液静置消化 1~2 分钟, 用培养液悬起细胞, 按 1 瓶传 2 瓶的方式进行传代培养, 待细胞再次形成单层后, 按照上述的细胞的传代培养方法进行下一次传代培养, 得到一种异育银鲫脊髓组织的细胞系 CSC。

3. 根据权利要求 2 所述的构建方法, 其特征在于, 所述的步骤 1 中的异育银鲫脊髓组织细胞 L15 培养液为含有 10~20%V/V 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100μg/ml 链霉素, pH 值 7.0~7.4 的培养液。

4. 根据权利要求 2 所述的构建方法, 其特征在于, 所述的步骤 3 中的细胞传代的胰蛋白酶消化液为 0.25%W/V 胰蛋白酶-EDTA 消化液。

5. 根据权利要求 2 所述的构建方法, 其特征在于, 步骤 2 和步骤 3 中的

细胞培养、传代的温度为 23~25℃，pH 值 7.0~7.4。

6.权利要求 1 所述异育银鲫脊髓组织细胞系在鲤疱疹病毒 II 型分离、培养 and 检测中的应用。

7.根据权利要求 [76](#) 所述的应用，其特征在于，所述鲤疱疹病毒 II 型为鲤疱疹病毒 II 型分离株。

8.权利要求 1 所述异育银鲫脊髓组织细胞系在制备鲤疱疹病毒 II 型的疫苗中的应用。

9.根据权利要求 [78](#) 所述的应用，其特征在于，所述鲤疱疹病毒 II 型为鲤疱疹病毒 II 型分离株。