



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 34746—2017

---

## 犬细小病毒基因分型方法

Genotyping method of canine parvovirus

2017-11-01 发布

2018-05-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

订单号: 0100191216052475 防伪编号: 2019-1216-0941-2563-9846 购买单位: 全国动物卫生标准化技术委员会

全国动物卫生标准化技术委员会 专用

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:扬州大学、江苏农牧科技职业学院、中国动物卫生与流行病学中心、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘文博、张小荣、王海燕、徐向明、邵卫星、王涛、刘静、詹爱军。

全国动物卫生标准化技术委员会 专用

订单号: 0100191216052475 防伪编号: 2019-1216-0941-2563-9846 购买单位: 全国动物卫生标准化技术委员会

全国动物卫生标准化技术委员会 专用

# 犬细小病毒基因分型方法

## 1 范围

本标准规定了犬细小病毒(*canine parvovirus*, CPV)基因分型方法要求。  
本标准适用于犬细小病毒的病原分型、犬细小病毒感染疫情监测和流行病学调查。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CPV:犬细小病毒(*canine parvovirus*)

PCR:聚合酶链式反应(*polymerase chain reaction*)

DNA:脱氧核糖核酸(*deoxyribonucleic acid*)

RNA:核糖核酸(*ribonucleic acid*)

PBS:磷酸盐缓冲液(*phosphate-buffered saline buffer*)

EDTA:乙二胺四乙酸(*ethylene diamine tetraacetic acid*)

Taq 酶: Taq 脱氧核糖核酸聚合酶(*Taq DNA polymerase*)

Tris:三羟甲基氨基甲烷[*tris(hydroxymethyl)aminomethane*]

dNTPs:脱氧核糖核苷三磷酸混合物(*deoxyribonucleotide triphosphates mixture*)

dATP:脱氧腺苷三磷酸(*deoxyadenosine triphosphate*)

dGTP:脱氧鸟苷三磷酸(*deoxyguanosine triphosphate*)

dCTP:脱氧胞苷三磷酸(*deoxycytidine triphosphate*)

dTTP:脱氧胸苷三磷酸(*deoxy thymidine triphosphate*)

RNase :核糖核酸酶(*ribonuclease*)

## 4 仪器

4.1 PCR 扩增仪。

4.2 高速台式冷冻离心机:可控温至 4 ℃、离心速度可达 12 000 r/min 以上。

4.3 组织研磨器或者研钵。

4.4 2 ℃~8 ℃及-20 ℃冰箱和-70 ℃以下超低温冰箱。

4.5 核酸电泳仪和水平电泳装置。

4.6 微量移液器 量程分别 0.2 μL~2 μL、1 μL~10 μL、10 μL~100 μL、20 μL~200 μL 和 100 μL~1 000 μL 的移液器,并配备与移液器相匹配的吸头。

- 4.7 高压灭菌锅。
- 4.8 凝胶成像系统(或紫外透射仪)。

## 5 耗材

- 5.1 1.5 mL 无 DNA 酶离心管。
- 5.2 0.2 mL PCR 管。

## 6 试剂

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 6.1 水,GB/T 6682,三级水。
- 6.2 氯仿:常温保存。
- 6.3 异丙醇:使用前预冷至 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.4 无水乙醇: $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷。
- 6.5 75%乙醇:无水乙醇和双蒸水配制, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷。
- 6.6 *Taq* 酶及 10 倍 *Taq* 酶反应缓冲液: $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,避免反复冻融。
- 6.7 dNTPs:含 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 各 10 mmol/L, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,避免反复冻融。
- 6.8 DNA 分子量标准:200 bp DNA 分子量标准。
- 6.9 磷酸盐缓冲液(PBS):配制见 A.1。
- 6.10 电泳缓冲液(TBE):配方及配制方法见 A.2。
- 6.11 电泳上样缓冲液:配方及配制见 A.3。
- 6.12 1%琼脂糖凝胶板:配制见 A.4。
- 6.13 引物:Pab-s 和 Pab-as 用于第一轮扩增,Pb-s 和 Pb-as 用于第二轮扩增,其中 s 表示正义链,as 代表反义链(见附录 B)。引物在使用时用灭菌双蒸水稀释为 50 pmol/L(见附录 B)。
- 6.14 阳性对照模板为经测序验证过犬细小病毒的基因组或 VP2 阳性质粒(参见 C.1),阴性对照见(参见 C.2)或使用空白对照(参见 C.3)。

## 7 样品的采集和前处理

### 7.1 工具

棉拭子、一次性无菌注射器、剪刀、镊子、研钵、1.5 mL 离心管、移液器吸头、药匙。所有上述取样工具(一次性无菌注射器除外)应经  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,15 min 高压灭菌并烘干;1.5 mL 离心管、吸头应无 DNA 酶污染。

### 7.2 采样方法

- 7.2.1 采样过程中样本避免交叉污染,采样及样品前处理过程中戴一次性手套、口罩、帽子。
- 7.2.2 拭子样品 鼻拭子采样,采样时要将灭菌处理过的拭子深入鼻腔来回刮 3 次~5 次,取鼻腔分泌液。取肛门拭子,将灭菌处理过的拭子深入肛门转一圈蘸取粪便。粪便采样,用高压过的药匙取新鲜的粪便,往往为稀便或血便。
- 7.2.3 组织样品 组织样品采集时应采取有明显病变组织,编号备用。

### 7.3 存放与运送

采集或处理的样品在 2 °C~8 °C 条件下保存应不超过 24 h;若需长期保存,放置-70 °C 冰箱,但应避免反复冻融。采集的样品密封后,采用样品箱加冰密封,尽快运送到实验室。

### 7.4 样品处理

#### 7.4.1 组织样品的处理

用无菌的剪刀和镊子剪取待检样品 0.5 g 左右于组织匀浆器或研钵中充分匀浆或研磨,再加 1.0 mL PBS 混匀,然后将组织悬液转入无菌 1.5 mL 离心管中,4 °C 5 000 r/min 离心 10 min,取上清转入新的无菌 1.5 mL 离心管中,取 500 μL 上清,编号备用。

#### 7.4.2 粪便样品的处理

将鼻拭子和肛门拭子一起放入盛有 1.0 mL 拭子悬液的 1.5 mL 离心管中,然后将拭子悬液转入无菌 1.5 mL 离心管中,4 °C 5 000 r/min 离心 10 min,取上清转入新的无菌 1.5 mL 离心管中,取 500 μL 上清,编号备用。

## 8 DNA 的提取方法

8.1 向 7.4 中制备的 DNA 模板中加入 8 μL 蛋白酶 K 溶液(100 μg/mL)和 92 μL 10% 的十二烷基磺酸钠溶液,混匀。55 °C 孵育 30 min。

8.2 在样品中加入 600 μL 酚-氯仿(体积比 1:1),上下颠倒混匀,4 °C 12 000 r/min 离心 10 min。

8.3 取 500 μL 上述样品加入等体积的酚-氯仿(体积比 1:1),上下颠倒混匀,4 °C 12 000 r/min 离心 10 min。

8.4 转移上清液到另一个 1.5 mL 离心管中,加入 800 μL 无水乙醇,-20 °C 静置 10 min。

8.5 4 °C,12 000 r/min 离心 10 min,弃去所有液相。

8.6 用 1 mL 70%乙醇漂洗,4 °C 12 000 r/min 离心 5 min。

8.7 真空或室温干燥,DNA 沉淀物用 25 μL 无菌双蒸水溶解作为模板,标记,保存在-20 °C 备用。

## 9 PCR 扩增反应

### 9.1 引物及使用条件

使用两对引物对样品进行基因分型。首先使用引物对 Pab-s 和 Pab-as 对样品扩增,如果结果为阳性,再使用引物对 Pb-s 和 Pb-as 对样品进行扩增,如扩增结果为阳性,将扩增产物测序后比对。

### 9.2 第一次 PCR

#### 9.2.1 反应体系

反应体系(50 μL 体系)

10×PCR 缓冲液	5 μL
氯化镁溶液	3 μL
dNTPs	3 μL
引物 Pab-s	1 μL
引物 Pab-as	1 μL

DNA 模板	4 $\mu\text{L}$
<i>Taq</i> 酶	1 $\mu\text{L}$
无菌双蒸水	32 $\mu\text{L}$

将上述组分依次加入 0.2 mL PCR 管中,样品检测时,同时要设阳性对照和阴性对照/空白对照。

### 9.2.2 PCR 反应程序

94  $^{\circ}\text{C}$  变性 3 min,然后 35 个循环,分别为:95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s;56  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min。最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min,4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

## 9.3 第二次 PCR

### 9.3.1 反应体系

反应体系(50  $\mu\text{L}$  体系)

10 $\times$ PCR 缓冲液	5 $\mu\text{L}$
氯化镁溶液	3 $\mu\text{L}$
dNTPs	3 $\mu\text{L}$
引物 Pb-s	1 $\mu\text{L}$
引物 Pb-as	1 $\mu\text{L}$
DNA 模板	4 $\mu\text{L}$
<i>Taq</i> 酶	1 $\mu\text{L}$
无菌双蒸水	32 $\mu\text{L}$

将上述组分依次加入 0.2 mL PCR 管中,样品检测时,同时要设阳性对照和阴性对照/空白对照。

### 9.3.2 PCR 反应程序

94  $^{\circ}\text{C}$  变性 3 min,然后 35 个循环,分别为:95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s;56  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min。最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min,4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

## 10 电泳

### 10.1 制板

1%琼脂糖凝胶板的配方和制备。将 1 g 琼脂糖加入到 100 mL TBE 电泳缓冲液中,加热融化。温度降至 60  $^{\circ}\text{C}$  左右时,加入 10 mg/mL 乙锭 3  $\mu\text{L}$ ~5  $\mu\text{L}$ ,均匀铺板,厚度为 3 mm~5 mm。

### 10.2 加样

PCR 反应结束,分别取被检样品、阳性对照/空白对照的扩增产物 5  $\mu\text{L}$ 、200 bp DNA 分子质量标准(5  $\mu\text{L}$  与 1  $\mu\text{L}$  电泳上样缓冲液混匀后),进行琼脂糖凝胶电泳。

### 10.3 电泳条件

5 V/cm 的电压,电泳 40 min。

### 10.4 凝胶成像仪观察

扩增产物电泳结束后,用紫外凝胶成像仪观察结果、拍照、记录试验结果。

## 10.5 第二次 PCR 产物的测序

将第二次 PCR 的 427 bp 产物进行测序,分析 VP2 基因的第 1 276 位和 1 278 位核苷酸(见附录 D),并分析有无“t”或“a”的突变,以确定为 CPV-2b 亚型或 CPV-2c 亚型。

## 11 结果判定

### 11.1 试验成立的条件

#### 11.1.1 第一次 PCR 成立条件

第一次 PCR 阳性对照泳道应有 681 bp 的扩增条带,阴性对照/空白对照没有相应条带,否则试验不成立。

#### 11.1.2 第二次 PCR 成立条件

第二次 PCR 的阳性对照泳道应有 427 bp 的扩增条带,阴性对照/空白对照没有相应条带,否则试验不成立。

### 11.2 结果判断标准

#### 11.2.1 CPV 感染判定标准

符合 11.1.1 条件,样本泳道中出现 681 bp 目的条带,阳性对照扩增出 681 bp 目的条带,且阴性对照/空白对照没有扩增条带,表明样本中存在 CPV 核酸,判定 CPV 感染。

#### 11.2.2 CPV-2a 亚型感染判定标准

符合 11.1.2 条件,样品电泳道不出现 427 bp 目的条带,阳性对照扩增出 427 bp 目的条带,且阴性对照/空白对照没有扩增条带,判定为 CPV-2a 亚型感染。

#### 11.2.3 CPV-2b 亚型、CPV-2c 亚型感染判定标准

符合 11.2.2 条件,样本泳道中出现 427 bp 目的条带,扩增结果为阳性,阳性对照扩增出 427 bp 目的条带,且阴性对照/空白对照没有扩增条带,判定为 CPV-2b 或 CPV-2c 亚型感染。分析 427 bp PCR 产物的测序结果,如果在第 1 276 位的核苷酸为“g”而 1 278 位核苷酸为“t”,则 426 位氨基酸为天冬氨酸,则表明为 CPV-2b 亚型感染(参见 E.5、E.6);如果在第 1 276 位的核苷酸为“g”而 1 278 位核苷酸为“a”,则其 426 位上的氨基酸为谷氨酸,则表明为 CPV-2c 亚型感染(参见 E.7、E.8)。

附 录 A  
(规范性附录)  
试剂的配制

#### A.1 pH 7.2 磷酸缓冲盐溶液(PBS)配制

2 mmol/L 磷酸二氢钾	0.24 g
10 mmol/L 磷酸氢二钠	1.44 g
137 mmol/L 氯化钠	8.00 g
2.7 mmol/L 氯化钾	0.20 g

将上述试剂完全溶解于 800 mL 双蒸水中,用 1 mol/L 盐酸滴度至 pH 7.2,双蒸水定容至 1 L,分装,121 °C、15 min 高压灭菌后备用。

在上述缓冲液中加入青霉素和链霉素,最终浓度分别为 1 000 IU/mL 和 1 mg/mL,即为含有双抗 pH 7.2 的 PBS。

#### A.2 TBE 电泳缓冲液(pH 8.0)的配制

5×TBE 电泳缓冲液储存液:

三羟甲基氨基甲烷	54.00 g
乙二胺四乙酸二钠	2.90 g
硼酸	27.50 g
双蒸水	800 mL

待上述试剂完全溶解后,加入 5 mol/L 的盐酸调节 pH 至 8.0,加双蒸水至 1 L 后,置室温保存。应用前用双蒸水将 5×TBE 电泳缓冲液 5 倍稀释。

#### A.3 电泳上样缓冲液的配制

溴酚蓝	0.25 g
蔗糖	40.00 g

加入 100 mL 双蒸水中充分溶解。

#### A.4 1%琼脂糖凝胶板的制备

准确称取 1 g 琼脂糖,加入 100 mL 1×TBE 电泳缓冲液(见 A.2),在微波炉中加热,使琼脂糖充分溶解,取出,加入适量的染料,混匀,倒入制胶板中。

**附 录 B**  
(规范性附录)  
**PCR 引物**

犬细小病毒分型所用引物,详见表 B.1。

**表 B.1 PCR 引物信息**

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增片段长度
Pab-s	GAA GAG TGG TTG TAA ATA ATT	681 bp
Pab-as	CCT ATA TAA CCA AAG TTA GTA C	
Pb-s	CTT TAA CCT TCC TGT AAC AG	427 bp
Pb-as	CAT AGT TAA ATT GGT TAT CTA C	

全国动物卫生标准化技术委员会

附 录 C  
(资料性附录)

犬细小病毒阳性样品、阴性样品和空白对照

C.1 阳性样品制备

用于阳性对照的细小病毒参考株细胞培养毒或含有克隆到各种载体上并经测序的 VP2 基因阳性质粒。

C.2 阴性样品制备

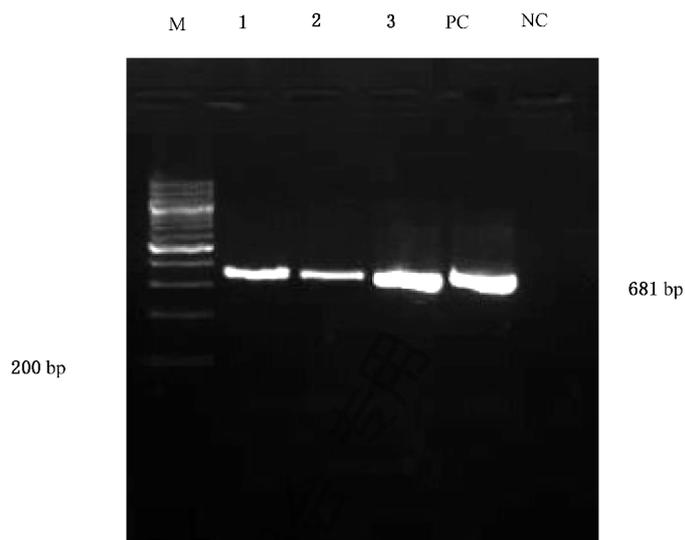
用 A.1 中的 PBS 按 10 : 1 比例稀释的不含 CPV 的犬鼻拭子、粪便或组织,摇匀,分装,0.5 mL/管,备用。

C.3 空白对照制备

A.1 中的 PBS,0.5 mL/管,备用。

**附录 D**  
(资料性附录)  
**样品检测结果判定图**

**D.1** 犬细小病毒样本第一次 PCR 结果判定图,见图 D.1。

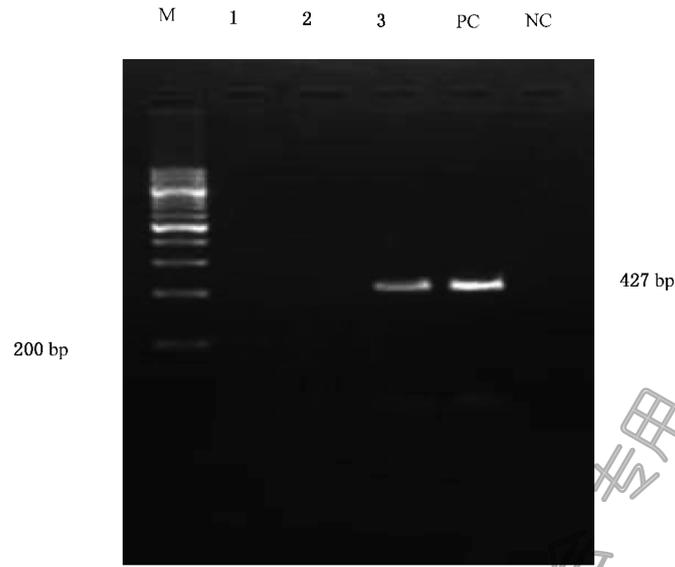


说明:

- M —— DNA 分子量标准(200 bp DNA Ladder Marker);  
 1 —— 样品 1;  
 2 —— 样品 2;  
 3 —— 样品 3;  
 PC —— 阳性对照;  
 NC —— 阴性对照。

**图 D.1** 第一轮 PCR 扩增结果电泳图

**D.2** 犬细小病毒样本第二次 PCR 结果判定图,见图 D.2。



说明:

M ——DNA 分子量标准(200 bp DNA Ladder Marker);

1 ——样品 1;

2 ——样品 2;

3 ——样品 3;

PC ——阳性对照;

NC ——阴性对照。

图 D.2 第二轮 PCR 扩增结果电泳图

## 附录 E

(资料性附录)

## 基因 CPV-2a、CPV-2b、CPV-2c 型的相关基因序列和氨基酸序列

## E.1 CPV-2a 型毒株 VP2 基因全序列

1	atgagtgatg	gagcagttca	accagacggt	ggtcaacctg	ctgtcagaaa	tgaaagagct
61	acaggatctg	ggaacgggtc	tggaggcggg	ggtggtggtg	gttctggggg	tgtggggatt
121	tctacgggta	ctttcaataa	tcagacagaa	tttaaatttt	tggaaaacgg	atgggtggaa
181	atcacagcaa	actcaagcag	acttgtacat	ttaaatatgc	cagaaagtga	aaattataga
241	agagtgggtg	taaataattt	ggataaaact	gcagttaacg	gaaacatggc	tttagatgat
301	actcatgcac	aaattgtaac	accttggtea	ttggttgatg	caaatgcttg	gggagtttgg
361	tttaatccag	gagattggca	actaattggt	aatactatga	gtgagttgca	tttagttagt
421	tttgaacaag	aaatttttaa	tgttgtttta	aagactgttt	cagaatctgc	tactcagcca
481	ccaactaaag	tttataataa	tgatttaact	gcatcattga	tggttgcatt	agatagcaat
541	aatactatgc	catttactcc	agcagctatg	agatctgaga	cattgggttt	ttatccatgg
601	aaaccaacca	taccaactcc	atggagatat	tattttcaat	gggatagaac	attaatacca
661	tctcactactg	gaactagtgg	cacaccaaca	aatatatacc	atggtacaga	tccagatgat
721	gttcaatttt	atactattga	aaattctgtg	ccagtacact	tactaagaac	aggtgatgaa
781	tttgcctacag	gaacattttt	ttttgattgt	aaacctatga	gactaacaca	tacatggcaa
841	acaaatagag	cattgggctt	accaccattt	ctaaattctt	tgctcaagc	tgaaggaggt
901	actaaactttg	gttatatagg	agttcaacaa	gataaaagac	gtggtgtaac	tcaaatggga
961	aatacaaaact	atattactga	agctactatt	atgagaccag	ctgaggttgg	ttatagtgca
1021	ccatattatt	cttttgaggc	gtctacacaa	gggccattta	aaacacctat	tgcagcagga
1081	cggggggggag	cgcaaacaga	tgaaaatcaa	gcagcagatg	gtgatccaag	atatgcattt
1141	ggtagacaac	atggtcaaaa	aactaccaca	acaggagaaa	cacctgagag	atttacatat
1201	atagcacatc	aagatacagg	aagatatcca	gaaggagatt	ggattcaaaa	tattaacttt
1261	aaccttctctg	taacaaatga	taatgtattg	ctaccaacag	atccaattgg	aggtaaaaca
1321	ggaattaact	atactaataat	atttaatact	tatggtcctt	taactgcatt	aaataatgta
1381	ccaccagttt	atccaaatgg	tcaaatttgg	gataaagaat	ttgatactga	cttaaaacca
1441	agacttcatg	taaatgcacc	atttgtttgt	caaaataatt	gtcctggtea	attatttcta
1501	aaagttgcgc	ctaatttaac	aatgaatat	gatcctgatg	catctgctaa	tatgtcaaga
1561	attgtaactt	actcagattt	ttggtggaaa	ggtaaattag	tatttaaagc	taaactaaga
1621	gcctctcata	cttggaatcc	aattcaacaa	atgagtatta	atgtagataa	ccaatttaac
1681	tatgtacca	gtaatatggg	aggtatgaag	attgtatatg	aaaaatctca	actagcacct
1741	agaaaattat	attaa				

## E.2 CPV-2a 型毒株 VP2 蛋白全序列(或氨基酸推导序列)

MSDGAVQPDGGQPAVRNERATGSGNGSGGGGGGSGGVGISTGTFNNQTEFKFLENGWV  
EITANSSRLVHLNMPESYRRVVVNNLDKTAVNGNMALDDTHAQIVTPWSLVDANAWGV

WFNPGDWQLIVNTMSELHLVSFEQEIFNVVLKTVSESATQPPTKVYNNDLTASLMVALDSNN  
TMPFTPAAMRSETLGFYPWKPTIPTPWRYFQWDRTLIPSHTGTSPTPTNIYHGTDPPDDVQFY  
TIENSVPVHLLRTGDEFATGTFFFDCKPCRLTHTWQTNRALGLPFFLNSLPQAEGGTNFGYIG  
VQQDKRRGVTQMGNTNYITEATIMRPAEVGYSAPYYSFEASTQGPFKTPIAAGRGAQTDEN  
QAADGDPYAFGRQHGGKTTTTGETPERFTYIAHQDTGRYPEGDWIQNFNLPVTNDNVLL  
PTDPIGGKTGINYTNIYNTYGPLTALNNVPPVYPNGQIWDKEFDTLKPRHLVHVNAPFVCQNNC  
PGQLFVKVAPNLTNEYDPDASANMSRIVTYSDFWWKGKLVFKAKLRASHTWNPIQQMSINVD  
NQFNYPVSNIGGMKIVYEKSQLAPRKLY.

**E.3 CPV-2a 型毒株 VP2 基因核苷酸序列**

ctttaaccttctgtaacaaatgataatgtattgctaccaacagatccaattggaggtaaaacaggaattaactatactaataatattaacttatg  
gtcctttaactgcattaaataatgtaccaccagttatccaaatggcacaatttgggataaagaatttgatactgacttaaaccaagacttcatgtaaag  
caccattgtttgtcaaaataatgtcctggtaattattgtaaagttgcgctaatttaacaaatgaatatgatcctgatgcatctgctaataatgtcaag  
aattgtaacttactcagatttttgggtgaaaggtaaattagattttaagctaaactaagagcctctcacttggaaatccaattcaacaaatgagtattaa  
ttagataaccaatttaactat

**E.4 CPV-2a 型毒株 VP2 基因核苷酸序列推导氨基酸序列**

FNLPVTN(426aa)DNVLLPTDPIGGKTGINYTNIYNTYGPLTALNNVPPVYPNGQIWDKEFD  
TDLKPRHLVHVNAPFVCQNNCPGQLFVKVAPNLTNEYDPDASANMSRIVTYSDFWWKGKLVFK  
AKLRASHTWNPIQQMSINVDNQF

**E.5 CPV-2b 型毒株 VP2 基因扩增的部分核苷酸序列(含引物序列)**

ctttaaccttctgtaacagatgataatgtattgctaccaacagatccaattggaggtaaaacaggaattaactatactaataatattaacttatg  
gtcctttaactgcattaaataatgtaccaccagttatccaaatggcacaatttgggataaagaatttgatactgacttaaaccaagacttcatgtaaag  
caccattgtttgtcaaaataatgtcctggtaattattgtaaagttgcgctaatttaacaaatgaatatgatcctgatgcatctgctaataatgtcaag  
aattgtaacttactcagatttttgggtgaaaggtaaattagattttaagctaaactaagagcctctcact

**E.6 CPV-2b 型毒株 VP2 基因第二轮 PCR 扩增产物核苷酸序列推导氨基酸序列**

FNLPVTD(426aa)DNVLLPTDPIGGKTGINYTNIYNTYGPLTALNNVPPVYPNGQIWDKEF  
DTDLPRLHVNAPFVCQNNCPGQLFVKVAPNLTNEYDPDASANMSRIVTYSDFWWKGKLVF  
KAKLRASHTWNPIQQMSINVDNQFN

**E.7 CPV-2c 型毒株 VP2 基因扩增的部分核苷酸序列(含引物序列)**

ctttaaccttctgtaacagaaataatgtattgctaccaacagatccaattggaggtaaaacaggaattaactatactaataatattaacttatg  
gtcctttaactgcattaaataatgtaccaccagttatccaaatggcacaatttgggataaagaatttgatactgacttaaaccaagacttcatgtaaag  
caccattgtttgtcaaaataatgtcctggtaattattgtaaagttgcgctaatttaacaaatgaatatgatcctgatgcatctgctaataatgtcaag  
aattgtaacttactcagatttttgggtgaaaggtaaattagattttaagctaaactaagagcctctcacttggaaatccaattcaacaaatgagtattaa  
ttagataaccaatttaactat

E.8 CPV-2c 型毒株 VP2 基因第二轮 PCR 扩增产物核苷酸序列推导氨基酸序列

FNLPVTE(426aa)DNVLLPTDPIGGKTGINYTNIFNTYGPLTALNNVPPVYPNGQIWDKEFD  
TDLKPRHLHVNAPFVCQNNCPGQLFVKVAPNLTNEYDPDASANMSRIVTYSDFWWKGLVFK  
AKLRASHTWNPIQQMSINVDNQFN

---

全国动物卫生标准化技术委员会 专用

订单号: 0100191216052475 防伪编号: 2019-1216-0941-2563-9846 购买单位: 全国动物卫生标准化技术委员会

全国动物卫生标准化技术委员会 专用

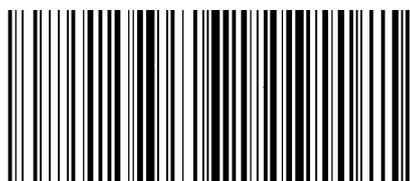
全国动物卫生标准化技术委员会 专用

 **版权声明**

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国标准出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网  
<http://www.spc.org.cn>

标准号: GB/T 34746-2017  
购买者: 全国动物卫生标准化技术委员会  
订单号: 0100191216052475  
防伪号: 2019-1216-0941-2563-9846  
时 间: 2019-12-16  
定 价: 28元



GB/T 34746-2017

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准

犬细小病毒基因分型方法

GB/T 34746—2017

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.org.cn

服务热线:400-168-0010

2017年11月第一版

\*

书号: 155066·1-57507

版权专有 侵权必究