

鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 的扩增与 生物信息学分析

赵文娟¹, 康立超¹, 田 亮², 薄新文¹, 马 勋²

(1. 新疆农垦科学院/新疆兵团绵羊繁育生物技术重点实验室, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学 动物科技学院, 新疆 石河子 832003)

摘要:为扩增鹅多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因, 预测 OmpH 蛋白二级结构和 B 细胞抗原表位, 通过 PCR 扩增测序及生物信息学分析技术对该基因序列进行开放阅读框(ORF)的寻找、编码氨基酸的推导及蛋白质二级结构的初步预测等, 探讨了鹅多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因在免疫保护中的作用。结果表明: 鹅多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因全长 1 537 bp, ORF 包含 1 056 bp 编码 351 个氨基酸; 二级结构以无规则卷曲为主, 有少量的 α -螺旋和延伸带; 推测 OmpH 蛋白有 1 个细胞黏附位点、3 个糖基化位点。该研究为分析鹅多杀性巴氏杆菌外膜蛋白理化特性、制备单克隆抗体和设计表位疫苗等奠定了理论基础。

关键词:多杀性巴氏杆菌; 外膜蛋白 H; 二级结构; B 细胞抗原表位; 功能预测

中图分类号:S835; Q78

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)02-0016-05

鹅巴氏杆菌病是由多杀性巴氏杆菌引起的接触性传染病, 常引起鹅的急性败血症及组织器官出血性炎症, 常伴有严重的下痢, 又称禽霍乱、禽出血性败血症、摇头瘟等。该病流行于世界各地, 无明显的季节性, 一年四季均可发生。此病发生后, 同种和不同种的畜禽间都可互相传染, 传播途径广泛, 可通过污染的饮水、饲料和用具等经消化道或呼吸道以及损伤的皮肤黏膜等传染, 是危害养鹅业的一种严重传染病。因此, 做好该病的预防和诊治工作是防治此病的关键。

外膜蛋白(Outer membrane proteins, Omps)是革兰氏阴性菌细胞壁的特有成分, 在维持外膜结构、物质转运, 以及细菌对宿主的感染和致病过程等方面起着重要的作用^[1], 同时作为细胞膜中的一种重要成分具有良好的免疫原性, 在免疫方面的作用越来越受关注。OmpH 是多杀性巴氏杆菌的主要外膜蛋白, 可以诱导产生高水平的保护性抗体。通过生物信息学的方法预测抗原表位或于抗原表位相关的信息多有报道^[2-3]。该研究对分离的鹅多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因进行克隆测序, 以氨基酸序列为基础, 利用生物信息学的方法, 预测其二级结构和 B 细胞抗原表位, 以期为其研究其免疫机理和新型高效疫苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 新疆发病鹅多杀性巴氏杆菌分离株^[4]和 *E. coli* DH-5 α , 由新疆兵团绵羊繁育生物技术重点实验室临床分离鉴定并保存。标准多杀性巴氏杆菌 1 株(cvcc393)购自中国兽医药品监察所。

1.1.2 工具酶与主要试剂 UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒购自上海生物工程有限公司, PCR 反应与检测试剂 (*Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、10 \times PCR buffer、DL2000 DNAMarker) 购自天根生化科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 引物合成 用 DNASTar 软件对 Gen Bank 已发表的多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因(Gen Bank 登录号: PMU50907)进行比对, 用 Premier5.0 设计特异性引物, 上海生物工程有限公司合成。上游引物 P₁: 5'-TTTGGGT-GAAGTGAGAAATAGAGGC-3', 下游引物 P₂: 5'-GACCGCGTAACGACTTTCAAATCC-3'。

1.2.2 鹅多杀性巴氏杆菌 *OmpH* 基因的扩增和测序 用碱裂解法提取细菌基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增反应。反应体系 25 μ L: 10 \times Buffer (free Mg²⁺) 2.5 μ L, MgCl₂ 25 mmol \cdot L⁻¹ 2.0 μ L, dNTPs 2.5 mmol \cdot L⁻¹ 3.0 μ L, P₁ 10 μ mol \cdot L⁻¹ 1 μ L, P₂ 10 μ mol \cdot L⁻¹ 1 μ L, *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μ L, 模板 DNA 1 μ L, ddH₂O 14 μ L。PCR 反应的条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 61 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。胶回收所得的目的 DNA 片段送上海生物工程有

收稿日期: 2011-06-17

基金项目: 新疆农垦科学院青年基金资助项目(YQJ-201110); 新疆农垦科学院引导计划资助项目(YYD201107)

第一作者简介: 赵文娟(1983-), 女, 山东省临沂市人, 硕士, 助理研究员, 从事分子寄生虫学研究。E-mail: zwj-130@163.com。

限公司进行测序。

1.2.3 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白结构预测与序列分析 利用 DNASTar 确定完整编码序列及其编码的氨基酸序列;利用蛋白在线分析工具 ProtParam tool (<http://www.expasy.ch/tools/prot-param.html>)预测氨基酸序列的相对分子质量、等电点及稳定性指数等理化性质;利用 MotifScan (http://myhits.isb-sbi.ch/cgi-bin/motif_scan)预测氨基酸序列中的基序与功能域;SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)、GOR (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html)预测氨基酸序列的二级结构;Timpred (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)预测氨基酸跨膜区。

1.2.4 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白 B 细胞表位预测 利用 Hopp-Woods 亲水性参数^[5]、Zimmerman 极性参数^[6]、柔韧性参数 (<http://www.expasy.org/cgi-bin/protscale.pl>)、Jameson-Wolf 抗原性参数^[7]及 Emini 表面可及性参数^[8]进行单参数预测。通过对预测结果的综合比较与分析,得出鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白可能的 B 细胞表位。

2 结果与分析

2.1 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 基因的扩增与测序

鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 基因 PCR 扩增产

物在 1% 琼脂糖凝胶电泳中显示约为 1 500 bp,与预期的片段大小相符,分离株和阳性对照条带大小相近(见图 1)。测序结果表明:OmpH 片段为 1 537 bp,包含完整的 ORF(1 056 bp),编码 351 个氨基酸。OmpH 基因的氨基酸序列见图 2。

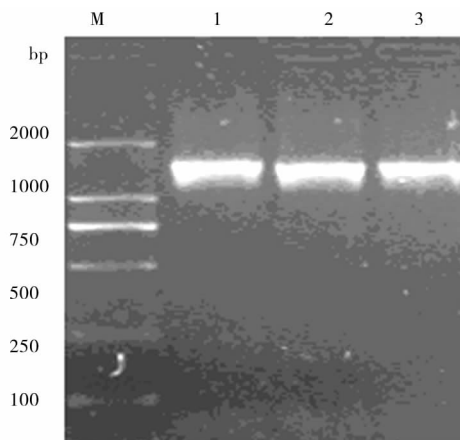


图 1 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 扩增的电泳结果
Fig. 1 Electrophoresis analysis of PCR products for Goose *Pasteurella multocida* OmpH

M: Marker DL2000; 1: 标准阳性对照 cvcc393; 2~3: 临床分离鹅多杀性巴氏杆菌

M: Marker DL2000; 1: Positive control standard cvcc393; 2~3: Goose *Pasteurella multocida* of Clinical separation

```

1  ATGAAAAGACAACTCCTAGCATTAGCAGTGCAGCAGTAGCAGCAACTTCAGCAAAACGACGCAACAGTTTACAATCAAGACGGTACAAA
1  M K K T I V A L A V A A V A A T S A N A A T V Y N Q D G T K
91  GTTGATGTAAACGGTTCTTTAAGTTTAACTTAAAAAGAAAAAATGAGCGCGGTGATTAGTGGATAAGCGTTCACGGCTTCATTCT
31  V D V N G S L R L I L K K E K N E R G D L V D N G S R V S F
181  AAAGCATCTCATGATTAGCGGAGCGCTTAAGCGCATTAGCTTATACAGAACTTGTCTTTAGTAAAAATGTACCGTGCAGTAAAGAC
61  K A S H D L G E G L S A L A Y T E L R F S K N V P V Q V K D
271  CAACAGGTGAGTACTAGCTGAGTATGAGCTTGAGAACTTGTAACAATGTTACGTAAGAACTCTTTATGCGGTTTCGGTATGAA
91  Q Q G E V V R E Y E V E K L G N N V H V K R L Y A G F A Y E
361  GGTTTAGGTACATTAACTTCGTAACAACTTAACTATCGGTGATGATGTTGCTATCTGACTATACCTATTCAACAGTGGTATTAT
121  G L G T L T F G N Q L T I G D D V G L S D Y T Y F N S G I N
451  AACCTCCTTTCTAGCGGTGAAAAAGCAATTAATCTTAAATCTGCAGAACTCAATGTTTCACATTGCTGCTGCTATGCTCTCTGCT
151  N L L S S G E K A I N F K S A E F N G F T F G G A Y V F S A
541  GATGCTGACAAACAGCATTAGCTGATGCTCGCGTTTCGTTGATGAGGTTTATACACAGAAAAATGCGTATGTTGTTTTCATTCT
181  D A D K Q A L R D G R G F V V A G L Y N R K M G D V G F A F
631  GAAGCCGGTTATAGCCAAAAATATGCGAAACAGAGTAGAACAGCAGCAAGCAACAAAGTATTTAAAGATGAAAAAGAGAAAGCTTTC
211  E A G Y S Q K Y V K Q E V E Q A Q A P K V F K D E K E K A F
721  ATGCTGGCTGCTGAGTTATCATATGCTGCTTTAGCGCTTGCTGTTGACTAGCACAATCTAAAGTACTAAGCTAGATGTAAGAAACGT
241  M V G A E L S Y A G L A L G V D Y A Q S K V T N V D G K K R
811  GCTCTTGAAGTGGTTTAAATTATGACCTTAAAGACAGAGCGAAAGTTTACACAGACTTCATCTGGAAAAAGAGGTCCTAAAGGTGAT
271  A L E V G L N Y D L N D R A K V Y T D F I W E K E G P K G D
901  GTTACAGAAACGTACTGCTGCTAGGTTTGTGTTACAACTTCACAAACAGTGGAAACTTTTGTGAGCAGCTTGGGGTAGAGAG
301  V T R N R T V A V G F G Y K L H K Q V E T F V E A A W G R E
991  AAAGACTCTGATGCTGAACAAACAAAAACAAGCTAGTAGGTACAGGTTTACGCGTACACTTCTAA
331  K D S D G V T T K N N V V G T G L R V H F *

```

图 2 OmpH 基因的氨基酸序列

Fig. 2 Amino acid sequence of OmpH gene

2.2 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 氨基酸序列的理化性质分析

利用 Prot Param 软件对鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白进行分析,结果表明,原子总数为 5 382,分子结构式为 $C_{1711}H_{2672}N_{470}O_{526}S_3$,理论分子量为 38.339 kD,理论 PI 值为 7.72,不稳定系数 12.53,大于阈值 40 则性质不稳定,所以此类蛋白比较稳定。脂肪系数为 78.86,总平均亲水性为 -0.364,蛋白总体疏水性较高。此蛋白不含有半胱氨酸(Cys),280 nm 处的摩尔消光系数为 $34\ 840\ L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$,酸性氨基酸残基总数(Asp+Glu)为 45,碱性氨基酸总数(Arg+Lys)为 46。在 N 末端是甲硫氨酸(Met),在酵母和大肠埃希菌中表达的半衰期分别大于 20 h 和 10 h,在哺乳动物网状细胞体外培养中表达的半衰期为 30 h。

2.3 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 结构的特征性序列和二级结构预测

通过 Motif Scan 在线预测 OmpH 基因有 1 个氨基化位点,位于 266~269 位(DGKK);3 个 N-糖基化位点,分别位于碱基的:34~37 位(NGSL)、54~57 位(NGSR)和 304~307 位(NRSR);5 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点,分别位于碱基的:29~32 位(TKVD)、132~135 位(TIGD)、154~157 位(SSGE)、263~266 位(TNVD)和 321~324 位(TFVE);4 个 N-十四(烷)酰化位点:55~60(GSRVSF)位、128~133 位(GNQLTI)、243~248 位(GAELSY)和 250~255 位(GLALGV);4 个蛋白激酶 C 磷酸化位点:36~38 位(SLR)、59~61 位(SFK)、215~217 位(SQK)和 337~339(TTK)位;1 个细胞黏附位点,位于 48~50 位(RGD)(见图 3)。

MKKTIVALAVAATAATVYNQDGTKVDVNGSLRLILKKEKNERGDLVDVSE
KASHDLGEGLSALAYTELRFKSNVPVQVKDQQGEVVRREYVEKLGNNVHVKRLYAGFAY
EGLGTLTG[GNQLTI]GDDVGLSDYTYFNSGINLLSSGEKAINFKSAEFNGFTFGGAYVFSAD
ADKQALRDGRGFVVA GLYNRKMCDVGF AFEAGYSQKYVKQVEQAQAPKVFKDEKEKA
FMV[GAELSY][GLALGV]DYAQSKVINVDGKKRALEVGLNYDLNDRAKVYTDIFIWEKEGP
KGDVTRNRTAVGFGYKLHKQVETFEAAWGREKDSGVTIKNNVVGTGLRVHF*

图 3 OmpH 基因推测的编码蛋白推测位点

Fig. 3 Encoded protein-specific spaces prediction of OmpH gene

Tmpred 预测跨膜结构,该蛋白有 1 个跨膜区域(见图 4),位于碱基的 5~24 位,膜外部分为预测表位的候选区段;SOPMA 和 GOR 预测 OmpH 的二级结构。结果表明,两种方法对多杀性巴氏杆菌的二级结构预测无显著性差异,均显示 OmpH 二

级结构中以无规则卷曲为主占到 43%以上,存在 α -螺旋和延伸带,无规则卷曲主要位于氨基酸的 81~85 位、89~93 位、103~108 位、147~150 位、200~205 位、257~268 位、293~300 位、311~315 位和 328~336 位区段(见图 5)。

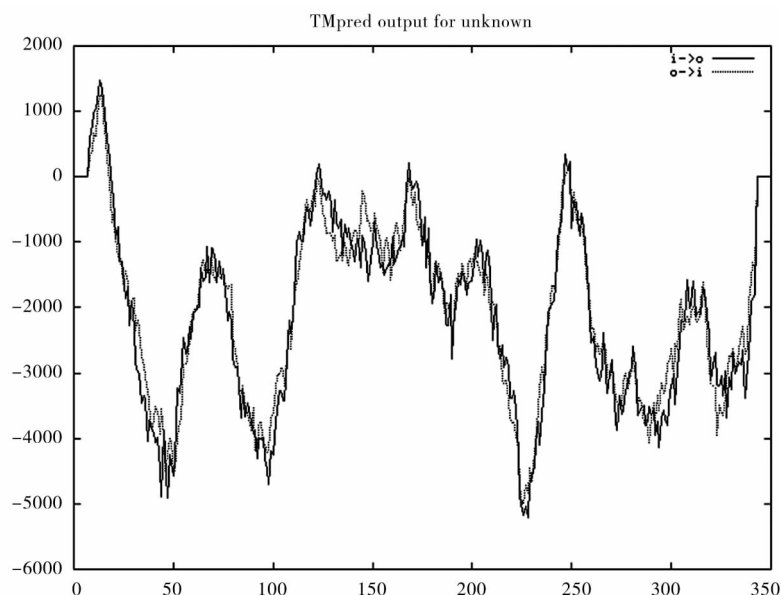


图 4 OmpH 基因的跨膜结构预测

Fig. 4 Transmembrane region prediction of OmpH gene



图 5 二级结构预测

SOPMA、GOR4 为不同的预测方法;H 为 α -螺旋;e 为延伸带;c 为无规则卷曲;t 为 β -转角

Fig. 5 Secondary structure prediction

SOPMA and GOR4 are different prediction methods;H: α -helix;e: extended strand; c: random coils; t: β -turn

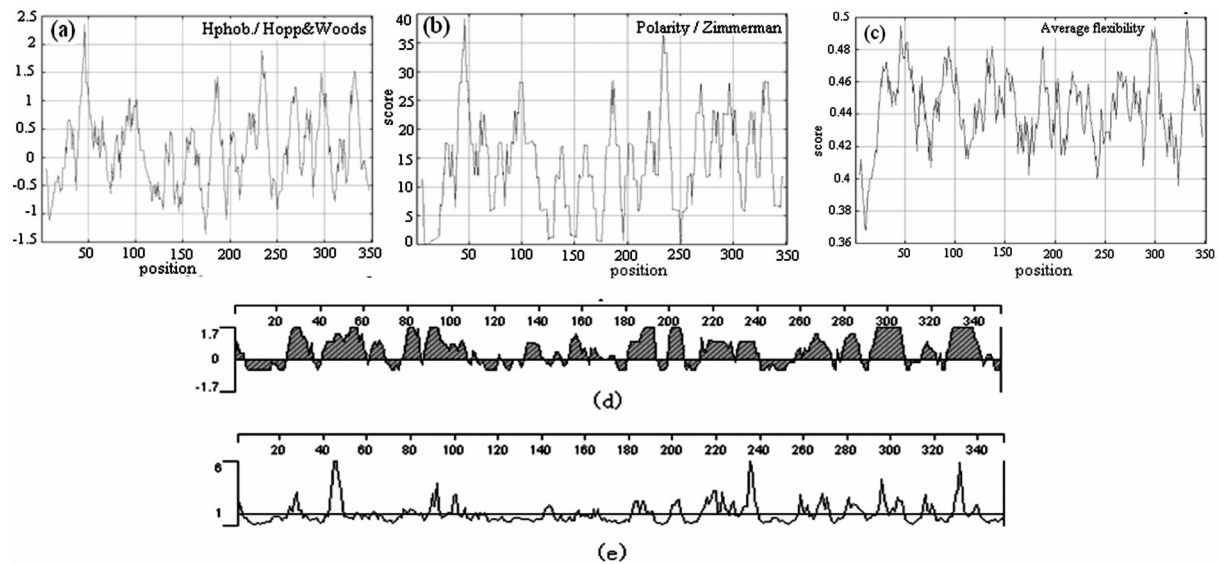


图 6 各种不同参数对 OmpH 的预测结果

a 为亲水性参数; b 为可及性参数; c 为柔韧性参数; d 为抗原性; e 为表面可能性

Fig. 6 Prediction of OmpH with various parameters

a: Hydrophilism; b: Accessibility; c: Flexibility; d: Antigenicity; e: Surface probability

2.4 鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白的 B 细胞表位预测

分别对 OmpH 蛋白的亲水性、可及性和柔韧性参数进行预测, 结果表明, 亲水性最低区域为第 171~176 位, 亲水性最高区域为第 42~49 位; 可及性最低区域为第 8~14 位, 可及性最高区域为第 41~49 位; 柔韧性最低区域为第 8~14 位, 柔

韧性最高区域为第 330~336 位(见图 6)。应用不同的方法预测 B 细胞抗原表位的数目及抗原表位可能出现的肽段有所不同, 但均显示在 OmpH 蛋白第 43~49 区段(KEKNERG)、100~102 区段(EVE)、185~188 区段(QALR)、265~271 区段(VDGKKRA)、296~299 区段(GPKG)和 329~334 区段(REKDSD)有较好的亲水性、

可及性以及较高的抗原性指数,并在二级结构上含有易形成抗原表位的转角和无规则卷曲,因此

B 细胞表位可能出现在这些区域内或者附近(见表 1)。

表 1 应用不同方法预测 OmpH 蛋白 B 细胞表位的肽段位置

Table 1 Epitopes predicted by various methods in OmpH

预测方法 Predicted method	预测结果 Predicted result
二级结构 Secondary structure	81~85、89~93、103~108、147~150、200~205、257~268、293~300、311~315、328~336
亲水性 Hydrophilism	42~49、90~94、98~102、184~188、231~238、265~271、296~302、328~335
可及性 Accessibility	40~51、96~102、79~94、184~188、231~239、265~272、291~299、327~335
柔韧性 Flexibility	25~36、42~59、85~104、130~140、150~160、185~193、215~221、263~271、293~303、328~338
表面可能性 Surface Probability	26~28、43~50、90~95、100~102、233~238、296~300、329~334
抗原性 Antigenicity	26~37、42~60、78~86、90~98、185~194、201~206、265~274、280~287、294~307、328~341

3 结论与讨论

在同种菌的不同菌株中,孔蛋白的一级氨基酸序列、二级结构及与抗原性有关的区域相对保守,因此,OmpH 有望成为一种对所有血清型的 Pm 产生保护的候选抗原。Vasfi Marandi 等试验证明 OmpH 特异的单克隆抗体能抑制多杀性巴氏杆菌在肺中的增殖^[9]。Luo 等研究表明纯化的天然 OmpH 诱导的保护率与全菌的保护率相当;OmpH 和全菌都能诱导高水平的 ELISA 抗体^[10]。该项研究的目的是为下一步疫苗的研制和免疫提供理论基础。

该研究联合使用亲水性方案、蛋白质表面可能性方案、Jameson-Wolf 和抗原性指数预测法,辅以 SOPMA 和 GOR 方法对 OmpH 蛋白二级结构的分析,预测 OmpH 的 B 细胞表位。推测最有可能的 B 细胞表位位于 OmpH 蛋白 N 端第 43~49 区段、100~102 区段、185~188 区段、265~271 区段、296~299 区段和 329~334 区段或它们的附近。这 6 个区域仅仅是 OmpH 蛋白中 B 细胞表位优势区段,而并不包括所有的抗原表位。该研究仅是对 OmpH 蛋白的候选表位进行初步筛选,但最终应用效果必须用实验结果来确认。

该研究通过对鹅多杀性巴氏杆菌 OmpH 蛋白氨基酸序列进行二级结构、跨膜区域、抗原性及表面可及性等进行综合分析,预测了该蛋白可能的 B 细胞优势表位。此项结果有可能为疫苗的设计、单抗和诊断试剂的研制提供候选的特异性相关表位,同时也为研究该蛋白功能提供部分线索。

参考文献:

- [1] Lin J, Huang S X, Zhang Q J. Outer membrane proteins; key players for bacterial adaptation in host niches[J]. Microbes and Infection, 2002, 4(3): 325-331.
- [2] Sette A, Fikes J. Epitope-based vaccines: an update on epitope identification, vaccine design and delivery[J]. Current Opinion in Immunology, 2003, 15(4): 461-470.
- [3] Song H H, Sandie R, Wang Y, et al. Identification of outer membrane proteins of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Tuberculosis, 2008, 88(6): 526-544.
- [4] 康立超, 黄新, 何延华, 等. 禽多杀性巴氏杆菌分离鉴定及药物敏感试验[J]. 新疆农垦科技, 2009(6): 24-25.
- [5] Hopp T P, Woods K R. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences [J]. PANS, 1981, 78(6): 3824-3828.
- [6] Zimmerman J M, Eliezer N, Simha R. The characterization of amino acid sequences in proteins by statistical methods [J]. J Theor Biol, 1968, 21(2): 170-201.
- [7] Jameson B A, Wolf H. The antigenic index; a novel algorithm for predicting antigenic determinants [J]. Comput Appl Biosci, 1988, 4(1): 181-186.
- [8] Emini E A, Hughes J V, Perlow D S, et al. Induction of hepatitis A virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide [J]. J. Virol, 1985, 55(3): 836-839.
- [9] Vasfimarandi M, Mittal K R. Role of outer membrane protein H (OmpH)-and OmpA-Specific monoclonal antibodies from hybridoma tumors in protection of mice against *Pasteurella multocida* [J]. Infection and Immunity, 1997, 65(11): 4502-4508.
- [10] Luo Y, Glisson J R, Jackwood M W, et al. Cloning and characterization of the major outer membrane protein gene (OmpH) of *Pasteurella multocida* X-73 [J]. J. Bacteriol, 1997, 179(24): 7856-7864.

美国转基因作物发展动态综述

吴俊彦

(黑龙江省农业科学院,黑河分院,黑龙江 黑河 164300)

摘要:近年来,全球转基因作物发展迅速。针对第一大转基因作物种植国美国的转基因作物种植现状、研发状况以及转基因安全法规和管理机构等进行了综述,以期为我国转基因作物的发展提供参考。

关键词:转基因作物;发展现状;安全管理;美国

中图分类号:Q943.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)02-0021-03

自1983年世界第一例转基因烟草诞生以来,全球转基因作物迅猛发展,目前美国作为世界第一大转基因作物种植国,已具有较为成熟的转基因研发机构和完善的转基因作物安全管理体系,其转基因作物商业化种植面积的迅速扩大,也为其带来了巨大的经济效益,在这场农业生物技术革命中,美国成为了最大受益者。

1 美国转基因作物种植概况

1996年,全球转基因作物商业化的第一年,美国农业部批准玉米、大豆和棉花进入商业化生

产种植。历经15a的发展,到2010年,全球种植转基因作物的国家有29个,其中以美国的种植面积最大,为0.668亿hm²,占转基因作物种植总面积的45%,其次是巴西、阿根廷、印度、加拿大和中国。目前美国种植的转基因作物主要有大豆、玉米、棉花、油菜、甜菜、苜蓿、木瓜和南瓜,其中以玉米的种植面积最大,其次是大豆、棉花和油菜。2009年,转基因玉米、大豆、棉花和油菜的种植面积分别为0.352万、0.314万、350万和34.3万hm²。美国是转基因作物种植面积增长速度最快的国家,据国际农业生物技术应用服务组织(ISAAA)统计^[1-2],美国转基因作物种植面积从1996年的150万hm²,发展到2010年的0.668亿hm²,种植面积一直呈上升趋势,2010年种植面积占世界转基因作物种植总面积的45%(见图1)。

收稿日期:2011-09-19

作者简介:吴俊彦(1984-),女,黑龙江省黑河人,在读硕士,研究实习员,主要从事科研管理工作。E-mail: wu_jun_yan@126.com。

Amplification and Sequence Analysis of *Pasteurella multocida* Outer Membrane Protein (OmpH) from Goose

ZHAO Wen-juan¹, KANG Li-chao¹, TIAN Liang², BO Xin-wen¹, MA Xun²

(1. The Breed and Biotechnology Key Laboratory of Sheep in Xinjiang Bingtuan/Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. Animal Science and Technology College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

Abstract: For amplification the *OmpH* gene of *Pasteurella multocida* and prediction its secondary structure and B-cell epitopes, PCR amplification and bioinformatics analysis were used for searching the ORF, translating the nucleotide to protein sequence, secondary structure predication and so on, which provides a theoretical basis for the study of immune mechanism and *Pasteurella multocida* subunit vaccine. The results indicated that *Pasteurella multocida* *OmpH* gene was 1 537 bp, ORF including 1 056 bp, encoding 351 amino acids. Using two methods, prediction of the secondary structure of *Pasteurella multocida* *OmpH* indicated that random coils were the main structural type of the flexible region in secondary structure, and contain a small amount of α -helix and extended strand. The *OmpH* protein was supposed contain 1 cell attachment sequence and 3 potential glycosylated sites. These results provide a theoretical basis for the further study of immune mechanisms, monoclonal antibodies preparation and epitope vaccine design.

Key words: *pasteurella multocida*; *OmpH*; secondary structure; B-cell epitope; function prediction