

19株海水鱼致病性弧菌 OmpK 基因序列及其抗原性分析

杨智慧^{1,2}, 李宁求¹, 白俊杰¹, 石存斌¹, 潘厚军¹, 叶 星¹, 劳海华¹, 吴淑勤¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东广州 510380; 2. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要:从哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)、副溶血弧菌(*V. parahaemolyticus*)克隆、测定了共19株海水鱼类致病性弧菌外膜蛋白 OmpK 基因序列, 探讨其作为海水鱼类致病性弧菌共同抗原的分子基础。根据已知的弧菌外膜蛋白 OmpK 序列设计1对简并引物, 利用聚合酶链式反应(PCR)方法从19株弧菌总DNA中分别扩增得到约800 bp 外膜蛋白 OmpK 的基因片段, 将其克隆到 pDM18-T Vector 载体筛选阳性重组子进行序列测定。结果显示, OmpK 基因分别含有 786 bp~849 bp 的开放读码框, 编码 261~282 个氨基酸, 其核苷酸序列之间的相似性在 72%~100%, 推测氨基酸序列的相似性为 71%~100%, 且种内 OmpK 氨基酸序列的相似性比种间高。序列分析还表明, 每一种弧菌 OmpK 基因都有一段特异性序列, 可用于设计核酸探针或特异性引物来诊断、检测哈维氏弧菌等海水鱼致病性弧菌。本研究不仅从基因水平上证实了外膜蛋白 OmpK 广泛存在于海水鱼致病性弧菌中, 而且证明了它们之间具有较高的相似性。由结果推测外膜蛋白 OmpK 是哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌等致病性弧菌的一种共同抗原, 是较好的亚单位疫苗候选成分, 为进一步研制广谱的海水鱼类致病性弧菌外膜蛋白基因工程亚单位疫苗提供了理论基础。[中国水产科学, 2006, 13(5): 807~813]

关键词:弧菌; 外膜蛋白 OmpK; 序列分析; 相似性; 共同抗原

中图分类号: S942 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2006)05-0807-07

弧菌(*Vibrios*)是海水养殖动物的主要病原菌之一, 可危害鱼类、甲壳类和贝类等多种水生经济动物, 给海水养殖业造成巨大的经济损失^[1-2]。弧菌的种类多且血清型复杂^[3], 各血清型之间又缺乏有效的交叉免疫保护, 使得全菌灭活疫苗或弱毒疫苗在免疫预防中很难得到推广应用。解决此问题的关键在于找出致病性弧菌的共同保护性抗原, 制备对不同种、不同血清型菌株均有保护作用的疫苗, 达到接种一种疫苗对一种或几种病原菌引起的疾病都能产生交叉免疫保护力的目的。外膜蛋白是细菌的免疫原蛋白之一, 在禽大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[3]、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)^[4]、杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)^[5]、鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)、溶藻弧菌和副溶血弧菌^[6-7]中都已经证实, 用其制备亚单位疫苗具有良好前景。弧菌的外膜蛋白 OmpK 是一种宽宿主的噬菌体受体,

广泛存在于海洋弧菌中, 位于弧菌细胞壁外膜的外层, 具有同外界广泛接触的机会。李宁求等^[1]的研究表明, 哈维氏弧菌的外膜蛋白 OmpK 具有很好的免疫原性, 可能是弧菌的一种保护性抗原, 有望作为亚单位疫苗的候选成分。为进一步研究 OmpK 基因在海水鱼主要致病性弧菌中的相似性, 寻找海洋致病弧菌的共同抗原, 本研究从哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌共19株海水鱼致病性弧菌总DNA中扩增得到外膜蛋白 OmpK 基因, 并对其序列进行分析, 比较种内、种间不同菌株的氨基酸序列的相似性, 为筛选预防海水鱼弧菌病 OmpK 亚单位疫苗的生产菌株提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株共19株。其中16株弧菌来自广东和海

收稿日期: 2005-11-10; 修订日期: 2006-03-16。

基金项目: 农业部结构调整重大技术专项; 广东省科技计划项目(2004A20401001)。

作者简介: 杨智慧(1980-), 女, 硕士研究生, 从事水产动物免疫学研究。E-mail: zhyang620@163.com

通讯作者: 吴淑勤。Tel: 020-81616813。E-mail: wushuqin001@21cn.com

1) 李宁求, 白俊杰, 劳海华, 等. 斜带石斑鱼哈维氏弧菌外膜蛋白 OmpK 基因的克隆及其在大肠杆菌中的表达[C]. 第一届海洋生物高技术论坛论文集(下册), 756-761。

南,由珠江水产研究所从发病海水养殖鱼类中分离鉴定;3株弧菌来自福建,由福建省农业科学院畜牧兽医研究所林天龙研究员惠赠(具体来源及分类见表1)。大肠杆菌 DH5 α 由本实验室保存。

表1 19株海水鱼致病性弧菌菌株及其来源
Tab.1 19 strains of pathogenic *Vibrios* used in this study and their sources

菌株 Strains	地点 Location	宿主 Host	种类 Species
EcGS020802	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EcGY020401	广东阳江 Yangjiang	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
SpGY020601	广东阳江 Yangjiang	红鳍笛鲷 <i>Lutianus oryopterus</i> Bloch	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EpGS020805	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
AnGS020501	广东深圳 Shenzhen	鳗鲡 <i>Anguilla anguilla</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
BsGR021101	广东饶平 Raoping	乌塘鳢 <i>Bostrichthys sinensis</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EIGR021101	广东饶平 Raoping	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EsHD020802	海南东奥 Dong'ao	鲑点石斑鱼 <i>Epinephelus fario</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EsHS020801	海南三亚 Sanya	鲑点石斑鱼 <i>Epinephelus fario</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
TrHD020803	海南 Hainan	卵形鲳鲹 <i>Trachinotus ovatus</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
FJXUE2	福建福州 Fuzhou	鳗鲡 <i>Anguilla anguilla</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
EcGS020401	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
EcGS021001	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
TrHS020801	海南三亚 Sanya	卵形鲳鲹 <i>Trachinotus ovatus</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
TrGY020402	广东阳江 Yangjiang	卵形鲳鲹 <i>Trachinotus ovatus</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
FJ31	福建宁德 Ningde	大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
EpGS020803	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>
FJ8	福建宁德 Ningde	大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	副溶血弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>
EcGS020801	广东深圳 Shenzhen	青石斑鱼 <i>Epinephelus awoara</i>	副溶血弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>

试剂 DNA提取试剂盒 Wizard Genomic DNA Purification kit 为 Promega 公司产品, Taq DNA 聚合酶、dNTP、DNA 分子 Marker、购自华美生物工程公司, *Sal* I、*Eco*RI、pMD18-T Vector、Agarose Gel DNA Purification Kit、琼脂糖等相关试剂购自 TaKaRa 生物工程(大连)有限公司,其他为分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 弧菌总 DNA 提取 将冻干保存的 19 株弧菌菌株在 TSA 培养基上活化,经 TCBS 平板划线分离,接种 TSB 培养过夜,按 Wizard Genomic DNA Purification kit 说明进行弧菌总 DNA 的提取。

1.2.2 引物设计与 PCR 扩增 根据 GenBank 中登录的弧菌外膜蛋白 OmpK 基因的已知序列,设计 1 对简并引物用于扩增 OmpK 基因,引物由上海生物工程公司合成。其序列为:

Primer1: 5' ATG CGT AAA TCA CTT TT(T/A)(G/A)C 3'

Primer2 : 5' TTAGAA CTT GTA AGT(T/C)AC(T/A)GC 3'

在 50 μ L 体系中分别加入以下成分: 10 $\times$ PCR Buffer 5 μ L、25 mmol $\cdot$ L⁻¹ MgCl₂ 5 μ L、10 mmol $\cdot$ L⁻¹ dNTP 1 μ L、20 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 的 Primer1、Primer2 各 2 μ L、模板 DNA 1 μ L、Taq DNA 聚合酶 0.5 μ L 及 33.5 μ L ddH₂O, 混匀。以如下程序 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 90 s, 30 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min 进行 PCR 扩增。PCR 产物用 1% 的琼脂糖进行凝胶电泳。

1.2.3 弧菌 OmpK 基因的克隆与序列分析 扩增产物用 PCR Clean Up Kit 纯化回收后,与 pMD18-T Vector 载体连接,转化至大肠杆菌 DH5 α ,用蓝白斑法筛选重组子,并用双酶切法进一步鉴定后用 ABI

377 全自动荧光测序仪测序。DNA 序列分析软件 Vector NTI suite 8.0 进行同源性分析和系统进化树构建。

1.3 数据处理

数据分析在 EXCEL 和 SPSS 11.0 上进行。采用单尾方差分析(One-Way ANOVA)比较不同种弧菌之间的相似性。

2 结果

2.1 PCR 扩增弧菌 OmpK 基因

分别以 19 株弧菌总 DNA 为模板进行 PCR 扩增,得到 1 条约 800 bp 的特异带(图 1)。



图1 OmpK 基因 PCR 扩增产物电泳结果

1:100 bp 分子量标准;2、3:菌株 EcGS020802、EcGY020401 OmpK 基因 PCR 扩增产物。

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of the OmpK gene's PCR products

1:100 bp Marker;2、3:PCR products of OmpK gene of strain EcGS020802、EcGY020401 V. *harveyi*.

2.2 弧菌 OmpK 基因的克隆

PCR 产物经纯化后克隆至 pMD18-T Vector 载体,转化至大肠杆菌 DH5α,挑选白色菌落,提取质粒经 *Sal* I 和 *Eco* R I 双酶切后,得到大约 800 bp 的目的带(图 2),与预期结果相符,表明此质粒是含插入片段的阳性重组子。挑选 2 个重组子进行序列测定。

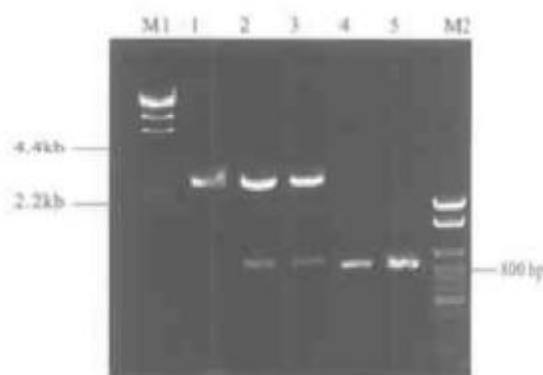


图2 重组子 pMD18-T-OmpK 的酶切鉴定

M1:λ DNA/*Hind* III 分子量标准;M2:100 bp DNA 分子量标准;1:pMD18-T Vector *Eco* R I/*Sal* I 酶切;2、3:pMD18-T-OmpK 重组质粒 *Eco* R I/*Sal* I 酶切;4、5:OmpK 基因的 PCR 扩增产物。

Fig.2 The restriction mapping analysis of the recombinant plasmids pMD18-T-OmpK

M1:λ DNA/*Hind* III marker; M2:100 bp DNA marker; 1:pMD18-T Vector digestion by restriction enzyme *Eco* R I/*Sal* I; 2、3:Recombinant pMD18-T-OmpK of strain digestion by restriction enzyme *Eco* R I/*Sal* I; 4、5:PCR products of Gene OmpK.

2.3 OmpK 基因序列分析

所克隆的 19 株弧菌外膜蛋白 OmpK 基因都含有一个完整的开放读码框(ORF),都是以 ATG 起始密码子 TAA 为终止密码,读码框大小为 786~849 个碱基,其相似性为 72%~100%。各菌株 OmpK 基因推测氨基酸序列相似性也比较高,在 71%~100%(表 2)。从 19 株弧菌外膜蛋白 OmpK 氨基酸序列图可以看出每种弧菌都有一段特殊序列,包括 6~9 个氨基酸(图 3)。根据氨基酸序列构建系统进化树(图 4)并比较 OmpK 氨基酸序列种内和种间相似性(表 3)。结果显示,哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌分别聚类(除菌株 BsGR021101 外),同种弧菌不同菌株 OmpK 氨基酸序列之间的平均相似性为:哈维氏弧菌 95.8%,溶藻弧菌 87.6%,副溶血弧菌 100%;不同种弧菌 OmpK 从统计学的角度分析,溶藻弧菌种内 OmpK 氨基酸序列相似性与副溶血弧菌和哈维氏弧菌种间差异不显著,哈维氏弧菌与其他两种弧菌种间差异显著($P<0.05$),副溶血弧菌与其他两种弧菌种间差异显著($P<0.05$)。

表 2 19 株海水鱼致病性弧菌外膜蛋白 OmpK 氨基酸序列相似性列表
Tab.2 Similarities of amino acid sequences of OmpK gene of 19 strains *Vibrios*

菌株编号 Strain NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1. EcGS020401	100																		
2. TrGY020402	100	100																	
3. FJ31	100	100	100																
4. EcGS021001	98	98	98	100															
5. EpGS020803	78	78	78	76	100														
6. TrHS020801	78	78	78	76	100	100													
7. BaGR021101	78	78	78	76	100	99	100												
8. EcGS020801	86	86	85	84	78	78	78	100											
9. FJ8	86	86	85	84	78	78	78	100	100										
10. EcGY020401	89	89	88	90	73	72	72	82	82	100									
11. EiGR021101	87	87	87	85	74	74	74	80	80	89	100								
12. FJXUE2	85	85	85	84	72	72	72	79	79	87	96	100							
13. EpGS020802	86	86	86	85	71	71	71	79	79	87	93	93	100						
14. EpGS020805	86	86	85	84	71	71	71	79	79	86	93	93	99	100					
15. AnGS020501	85	85	85	84	71	70	71	79	79	86	93	93	99	99	100				
16. EaHD020802	86	86	86	84	71	71	71	80	80	87	94	93	99	99	99	100			
17. EaHS020801	86	86	86	84	71	71	71	80	80	87	94	93	99	99	99	100	100		
18. SpGY020601	86	86	86	84	71	71	71	80	80	87	94	93	99	99	99	100	100	100	
19. TrH020803	86	86	86	84	71	71	71	80	80	87	94	93	99	99	99	100	100	100	100

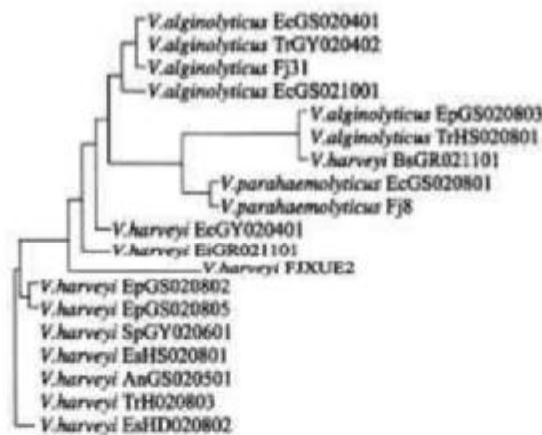


图 4 19 株海水鱼致病性弧菌外膜蛋白 OmpK 氨基酸序列构建的系统进化树

Fig.4 Molecular phylogenetic tree based on amino acid sequences of OmpK gene s of 19 stains *Vibrios*

3 讨论

以细菌的外膜蛋白作为主要的保护性抗原,可对一种病原的多个亚型或血清型,甚至多种病原产生交叉免疫保护力已有报道。Kenji Kawai 等^[8]研究表明:大小为 37 kD 的外膜蛋白是不同血清型迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)的共同抗原,以

此蛋白作为疫苗的主要抗原能预防由不同血清型迟钝爱德华氏菌引起的疾病。周丽等^[9]分离鳃弧菌和溶藻胶弧菌的外膜蛋白并通过免疫印迹对其特性进行分析,发现分子量大小为 51 kD 的外膜蛋白可能是鳃弧菌和溶藻胶弧菌共有的抗原。Chart^[10]等从鳃弧菌分离的 2 个小分子量的外膜蛋白能有效的刺激机体的免疫反应,说明外膜蛋白也是鳃弧菌很

好的保护性抗原。董传甫等^[7]发现分子量为 36 kD 的主要外膜蛋白(MOMP)是副溶血弧菌和溶藻弧菌具有强免疫性的主要抗原。本研究从 19 株海水鱼致病性弧菌总 DNA 中扩增得到 OmpK 基因,从基因水平上证实外膜蛋白 OmpK 在海水鱼致病性弧菌中的普遍存在性,这与 Tetsuyoshi Inoue^[11-12]应用免疫印迹的方法发现外膜蛋白 OmpK 普遍存在于弧菌属的种类中的结论相符。序列分析表明,19 株弧菌外膜蛋白 OmpK 基因之间的碱基序列、推导氨基酸序列的相似性较高,进而从分子水平说明

外膜蛋白 OmpK 是哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌等鱼类致病性弧菌的共同抗原,是亚单位疫苗很好的候选成分,为进一步研制广谱的海水鱼类致病性弧菌外膜蛋白基因工程亚单位疫苗提供了科学依据。序列分析还表明,同种弧菌的外膜蛋白 OmpK 基因并未因不同地区、不同宿主而出现显著的差异,但不同种弧菌之间的 OmpK 基因序列有所差异,且都存在着一段特异性的序列。可利用此段特异序列设计核酸探针或特异性引物应用于弧菌病的快速诊断。

表 3 三种弧菌外膜蛋白 OmpK 氨基酸序列种内、种间相似性列表

Tab.3 Similarities of amino acid sequences of OmpK gene among different species of *Vibrios* %

种类 Species	菌株 Strains	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	副溶血弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>
溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	EcGS020401	90.8	86.0	86.2
	TrGY020402	90.8	86.0	86.2
	FJ31	90.8	85.0	86.0
	EcGS021001	89.2	84.0	84.8
	EpGS020803	82.0	78.0	71.6
	TrHS020801	82.0	78.0	71.4
总体平均 Total average		87.6	82.8	81.0
副溶血弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>	EcGS020801	82.8	100.0	79.8
	FJ8	82.8	100.0	79.8
	总体平均 Total average	82.8 ^a	100.0 ^b	79.8 ^c
哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>	EcGY020401	83.5	82.0	87.0
	EtGR021101	82.3	80.0	93.3
	FJXUE2	80.5	79.0	92.7
	EpGS020802	80.8	79.0	96.3
	EpGS020805	80.5	79.0	96.2
	AnGS020501	80.0	79.0	96.2
	EsHD020802	80.7	80.0	96.8
	EsHS020801	80.7	80.0	96.8
	SpGY020601	80.7	80.0	96.8
	TrH020803	80.7	80.0	96.8
总体平均 Total average		81.0 ^a	79.8 ^b	95.8 ^c

注:同行中不同字母表示差异显著($P < 0.05$).

Note: Different superscripts mean significant difference in the same line.

参考文献:

- [1] 吴后波, 潘金培. 弧菌属细菌及其所致海水养殖动物疾病[J]. 中国水产科学, 2001, 8(1): 89-93.
- [2] 陈 梅. 弧菌(*Vibrio*)与渔业生物及与人类病害评述[J]. 海洋湖沼通报, 1999, (1): 62-68.
- [3] 毛芝娟, 楼 丹, 吴雄飞, 等. 哈维氏弧菌的血清型与疫苗抗原性的关系[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(6): 588-590.
- [4] 高 崧, 吴晓东, 张 扬, 等. 禽大肠杆菌外膜蛋白、脂多糖疫苗免疫保护试验[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(5): 457-459.
- [5] Habibur M, Kenji K. Outer membrane proteins of *Aeromonas hydrophila* induce protective immunity in goldfish[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2000, 10: 379-382.
- [6] Peter L, Anrice M E, Oberter W H, et al. A Conserve *Aeromonas salmonicida* porin provided protective immunity to rainbow trout[J]. Infect and Immun, 1995, 63(8): 1317-1322.

- [7] 董传甫,林天龙,许斌福,等.电泳和免疫印迹分析副溶血弧菌和溶藻弧菌主要外膜蛋白和多糖抗原[J].中国人兽共患病杂志,2004,20(7):619-623.
- [8] Kenji Kawai, Ying Liu, Kouhei Ohnishi, et al. A conserved 37-kDa outer membrane protein of *Edwardsiella ictaluri* is an effective vaccine candidate[J]. Vaccine, 2004, 22: 3411-3418.
- [9] 周丽,刘洪明,战文斌,等.鳃弧菌、溶藻弧菌外膜蛋白的分离及特性[J].中国水产科学,2003,10(1):31-35.
- [10] Chart H, Trust T J. Characterization of the surface antigens of the marine fish Pathogens, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1984, 30: 703-710.
- [11] Inoue T, Matsuzaki S, Tanaka S. A 26-kDa outer membrane protein, OmpK, common to *Vibrio* species is the receptor for a broad-host-range vibriophage, KVP40 [J]. FEMS Microbiol Lett, 1995, 125: 101-106.
- [12] Inoue T, Matsuzaki S, Tanaka S. Cloning and sequence analysis of *Vibrio parahaemolyticus* OmpK gene encoding a 26-kDa outer membrane protein, OmpK, that serves as receptor for a broad-host-range vibriophage, KVP40 [J]. FEMS Microbiol Lett, 1995, 134: 245-249.

Sequence analysis on OmpK genes and antigenicity of pathogenic *Vibrios* isolated from marine fishes

YANG Zhi-hui^{1,2}, LI Ning-qiu¹, BAI Jun-jie¹, SHI Cun-bin¹, PAN Hou-jun¹, YE Xing¹, LAO Hai-hua¹, WU Shu-qin¹

(1. Pearl River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China; 2. College of Aquaculture Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Outer membrane protein OmpK was a kind of receptor for broad-host-range vibriophage. To study whether the OmpK was the common antigen of different Pathogenic *Vibrios* in marine fish at molecular level, the OmpK genes of *V. harveyi*, *V. alginolyticus* and *V. parahaemolyticus* were cloned and sequenced. 19 strains of Pathogenic *Vibrios* were isolated from different marine fish in Guangdong, Hainan and Fujian province. A pair of degenerate primers were designed and synthesized according to the nucleotide sequence of the OmpK gene of *Vibrio* reported. Using the total genomes of 19 strains *Vibrio* as templates, OmpK genes fragments were obtained by PCR amplification and cloned into pMD18-T Vector. Recombinants were confirmed by digesting with restriction enzyme, *EcoR* I and *Sal* I, and then the inserts were sequenced. The result showed that OmpK genes contained an open reading frame of 786 bp-849 bp that coded 261-282 amino acids in 19 strains of *Vibrios*. The similarities of the nucleotide sequences of OmpK genes were 72%-100% and the deduced amino acid sequences were 71%-100% among 19 strains of *Vibrios*. As a result, the OmpK genes not only were distributed widely in all tested *Vibrios*, but also shared quite high similarity in nucleotide sequences and deduced amino acid sequences. So OmpK could be a kind of effective protective common antigen and an effective potential vaccine candidate against different *Vibrios*. It suggested that the OmpK would be a candidate for subunit vaccine to prevent the disease caused by different *Vibrios* in marine fish. Among the deduced amino acid sequences of three species of *Vibrios*, each had a special sequences of 6-9 amino acids which were different from each other. The special sequences would lead to further studies of a rapid and sensitive method to diagnose the pathogenic *V. harveyi*, *V. alginolyticus* or *V. parahaemolyticus*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(5): 807-813]

Key words: *Vibrio*; Outer membrane protein OmpK; sequence analyzing; similarity; common antigen

Corresponding author: WU Shu-qin. E-mail: wushuqin001@21cn.com