SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-252702- -00000-0000
Fecha: 2013-10-24 14:46:52 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCIÓN

TITULO: COMPOSICIONES RELACIONADAS CON UNA TOXINA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE MUTANTE Y SUS MÉTODOS.

SOLICITANTE: WYETH LLC

DIRECCIÓN: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, E. U. A.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 23 de octubre de 2013

P2013/000179

OLARTE MOURE

OLARTE MOURE &

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-252702- -00000-0000

Fecha: 2013-10-24 14:46:52 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2013/000179**

SOLICITUD DE:

(1)

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

(2)

SOLICITANTE (71)

Nombre: WYETH LLC

Dirección: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos

Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____ **Fax:** _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. [ ] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá, Colombia

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. [X] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número 79.782.747Bta

TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

(5) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/IB2012/051999 Fecha Abril 20, 2012

Publicación Internacional No. WO 2012/143902 A1 Fecha Octubre 26, 2012

(6) **Título (54) COMPOSICIONES RELACIONADAS CON UNA TOXINA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE MUTANTE Y SUS MÉTODOS**

Clasificación Internacional (51) C07K 14/33, A61K 39/08, C07K 16/12

Prioridad

SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Abril 22, 2011	61/478,474
US	Abril 25, 2011	61/478,899

(9) **Comprobante de pago No.** 13- **Fecha** _____

ANEXOS

[x]	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
[X]	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
[x]	Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple.
[ ]	Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
[X]	Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.
[x]	Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
[x]	Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
[ ]	Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
[ ]	Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
[ ]	De ser el caso, copia del contrato de acceso.
[ ]	De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
[ ]	De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
[ ]	Arte final 12 x 12.
[ ]	De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
[ ]	De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
[x]	Otros. Búsqueda Internacional

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/IB2012/051999

Maninder K. SIDHU
35 Lowell Drive,
New City, NY 10956
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Annaliesa Sybil ANDERSON
49 Hillcrest Drive,
Upper Saddle River, NJ 07458
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Británica

Robert G. K. DONALD
129 Kenneth Terrace,
South Orange, NJ 07079
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Kathrin Ute JANSEN
57 Heather Court,
Allendale, NJ 07401
Estado Unidos de América
Nacionalidad: Alemana

Narender K. KALYAN
232 North Walnut Street,
Ridgewood, NJ 07450
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Terri L. MININNI
1 Pieters Court,
New Windsor, NY 12553
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Justin Keith MORAN
682 Sierra Vista Lane,
Valley Cottage, NY 10989
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Mark E RUPPEN
6 Lea Court,
Garnerville, NY 10923
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Michael James FLINT
860 Briarcliff Road
NE, Apt 9, Atlanta, GA 30306
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Canadiense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 107417

Bogotá D.C., Octubre 23 de 2013 - 16:31:55

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	522591171	23/10/2013	8.388.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	500.000.00	500.000.00
				$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-252702- -00000-0000
Fecha: 2013-10-24 14:46:52 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA *RELACIÓN DE ANEXOS*	
Dependencia: 2020	Fecha: 13 / 10 / 24 AAAA MM DD	Recorrido: 0.3
Tipo de Radicación: Entrada: X Salida: □ Traslado: □ Convenio: □		
Radicador:		Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-252702	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	**Soporte Documental**
X	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

El CO Anexo Contiene un total de 10 Archivos. 10 en formato pdf, los cuales fueron procesados.

grisella.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☑ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-252702- -00000-0000

Fecha: 2013-10-24 14:46:52 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2013/000179**

SOLICITUD DE:

1

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

2

SOLICITANTE (71)

Nombre: WYETH LLC

Dirección: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos

Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____ **Fax:** _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. [ ] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá, Colombia

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. [X] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número 79.782.747Bta

TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2012/051999 Fecha Abril 20, 2012

Publicación Internacional No. WO 2012/143902 A1 Fecha Octubre 26, 2012

6

Título (54) COMPOSICIONES RELACIONADAS CON UNA TOXINA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE MUTANTE Y SUS MÉTODOS

Clasificación Internacional (51) C07K 14/33, A61K 39/08, C07K 16/12

Prioridad

SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Abril 22, 2011	61/478,474
US	Abril 25, 2011	61/478,899

9

Comprobante de pago No. 13- **Fecha** _____

10 **ANEXOS**

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [x] Declaraciones. Declaración bajo la Regla 417(ii) del PCT.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos). Secuencias.
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional

11 **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2013/000179**

SOLICITUD DE:

1

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

2

SOLICITANTE (71)

Nombre: WYETH LLC

Dirección: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos

Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____ **Fax:** _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. [ ] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá, Colombia

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. [X] **NIT** [ ]

C.E. [ ] **Otro** [ ]

Cual _____

Número 79.782.747Bta

TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2012/051999 Fecha Abril 20, 2012

Publicación Internacional No. WO 2012/143902 A1 Fecha Octubre 26, 2012

6

Título (54) COMPOSICIONES RELACIONADAS CON UNA TOXINA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE MUTANTE Y SUS MÉTODOS

Clasificación Internacional (51) C07K 14/33, A61K 39/08, C07K 16/12

Prioridad

SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Abril 22, 2011	61/478,474
US	Abril 25, 2011	61/478,899

9

Comprobante de pago No. 13- **Fecha** _____

10 **ANEXOS**

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [x] Declaraciones. Declaración bajo la Regla 417(ii) del PCT.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos). Secuencias.
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional

11 **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/IB2012/051999

Maninder K. SIDHU
35 Lowell Drive,
New City, NY 10956
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Annaliesa Sybil ANDERSON
49 Hillcrest Drive,
Upper Saddle River, NJ 07458
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Británica

Robert G. K. DONALD
129 Kenneth Terrace,
South Orange, NJ 07079
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Kathrin Ute JANSEN
57 Heather Court,
Allendale, NJ 07401
Estado Unidos de América
Nacionalidad: Alemana

Narender K. KALYAN
232 North Walnut Street,
Ridgewood, NJ 07450
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Terri L. MININNI
1 Pieters Court,
New Windsor, NY 12553
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Justin Keith MORAN
682 Sierra Vista Lane,
Valley Cottage, NY 10989
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Mark E RUPPEN
6 Lea Court,
Garnerville, NY 10923
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Michael James FLINT
860 Briarcliff Road
NE, Apt 9, Atlanta, GA 30306
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Canadiense

7 700037 836803

ESCRITURA PÚBLICA NÚMERO:

CINCO MIL CIENTO UNO (5101)

FECHA DE OTORGAMIENTO: 0000043

CUATRO (4) DE JUNIO DE DOS MIL DIEZ (2010)

NOTARIA TREINTA Y OCHO (38) DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C.----------

CODIGO NOTARIAL 1100100038.----------

SUPERINTENDENCIA DE NOTARIADO Y REGISTRO.----------

FORMULARIO DE CALIFICACION.----------

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION DE DOCUMENTOS. ----------

PERSONAS QUE INTERVIENEN: CARLOS REINALDO OLARTE, identificado con cedula de ciudadanía numero 79,782,747 expedida en Bogotá D.C.----------

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, Departamento de Cundinamarca, República de Colombia, a los CUATRO (04) días del mes de JUNIO de dos mil diez (2.010), ante mí EDUARDO DURAN GOMEZ. **NOTARIO TREINTA Y OCHO (38E) DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.**----------

Compareció con minuta escrita el señor **CARLOS REINALDO OLARTE,** mayor de edad, con domicilio y residencia en la ciudad de Bogotá, identificado con la cedula de ciudadanía número 79,782,747 de Bogotá D.C., de estado civil Casado, con sociedad conyugal vigente, quien manifestó su propósito de celebrar el acto que define las siguientes estipulaciones: ----------

PRIMERA.- Que presenta para su Protocolización los siguientes documentos:----

1º Traducción oficial de un documento que esta originalmente en ingles contenida en cuatro (4) folios utiles y es del siguiente tenor: ----------

PODER GENERAL.- WYETH LLC.- domiciliado en Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America.- nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la República de Bolivia, la República del Ecuador, la República del Perú y la República Bolivariana de Venezuela, ya sean

administrativas, judiciales o de policia, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconvenciones; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la presentación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestro interes.- Firma: Gregg C. Benson.- Fecha: 4 MAY 2010.- Ciudad, País: GROTON, CONNECTICUT USA.----------

CERTIFICACION NOTARIAL.- En esta fecha, May 6 2010.- el Notario Público suscrito certifica: ----------

1. Que GREGG C. BENSON mayor de edad y domiciliado en EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT USA suscribó el documento que antecede.-----

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de ATTORNEY-IN-FACT de WYETH LLC.----------

3. Que WYETH LLC con sede principal ubicada en Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.----------

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que está es legitima.----------

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2,3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténticado(s): Power of Attorney executed on November 16, 2009.- NOTARY PUBLIC (Signature): (Firmado).-

Nancy M. George.- My Commission Expires 30 June 2011.- (Sellado).----------

TRADUCCION OFICIAL DE UN DOCUMENTO QUE ESTA ORIGINALMENTE EN INGLES.- Sello: "El Distrito de Columbia: SS. Suscrito y juramentado ante mi, este día 7 de mayo de 2010 (firmado) Lisa Renee Johnson, Notario Públic, Distrito de Columbia.- Mi nombramiento expira el 14 de octubre de 2011.".- (Hay otra firma ilegible).- Apostilla adjunta: Distrito de Columbia.- APOSTILLA: (Convention de La Haye du 5 octobre 1961).----------

1. País: Estados Unidos de América.- El presente documento público.----------

2. Ha sido firmado por: Lisa Renee Johnson.- Notario Público en y para el Distrito de Columbia.----------

3. Actuando en calidad de: Lisa Renee Johnson, Notario Público en y para el Distrito de Columbia.----------

4. Lleva el sello/estampilla de: Certificado.----------

5. En: Washington D.C.----------

6. El: Día 7 de mayo de 2010.----------

7. Por: El Secretario del Distrito de Columbia.----------

8. Bajo el No.: 229806.----------

9. Sello / estampilla: Distrito de Columbia.- (Firmado).----------

10. Firma: Stephanie D.Scott.- Traductor Oficial.- JORGE E. SIERRA REYES.- Licencia 376-1993 Minjusticia.- MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES 160507 'JORGE SIERRA CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS.- NO ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO 2010 MAY 27 A 10:17 (FIRMADO) JEFE DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.----------

DISTRICT OF COLUMBIA.- APOSTILLE.- (Convention de La Haye du 5 octobre 1961).----------

1. District of Columbia United States of America.----------

2. This public document has been sogned by LISA RENEE JOHNSON.----------

3. acting on the capacity of NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA LISA RENEE JOHNSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE.--------

4. bears the seal/stamp of DISTRICT OF COLUMBIA.- CERTIFIED.----------

PAPEL DE USO EXCLUSIVO DEL PROTOCOLO NOTARIAL . NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

5. at Washington, D.C.----------

6. the 7 day of MAY 2010.----------

7. by Secretary of the District of Columbia.----------

8. No. 229806.----------

9. Seal/Stamp.----------

10. Signature.- (Firmado) Stephanie D. Scott.----------

SEGUNDA.-Que de conformidad con lo expuesto y atendiendo a las prescripciones del artículo 47 del Decreto 960 de 1970, el documento mencionado, contenidos en cuatro (4) folios útiles, quedan legalmente protocolizados ante el Notario Treinta y Ocho (38) del Círculo Bogotá, de manera que desde ahora quedan bajo su custodia y guarda para que surtan los efectos legales a que haya lugar y los interesados puedan consultarlos y obtener las copias que de el solicite.-

---------- **HASTA AQUÍ EL CONTENIDO -DE LA MINUTA** ----------

SE ADVIRTIÓ al (a los) otorgante (s) de esta Escritura de la **obligación que tiene (n) de leer la totalidad de su texto,** a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados con el fin de aclarar, modificar o corregir lo que le(s) pareciere; la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto. ----------

Se advierte igualmente la necesidad de diligenciar los espacios en blanco correspondientes a la información personal y de trabajo consignados en el espacio destinado para la firma de los suscriptores del instrumento publico, con el objeto de confrontar la información solicitada con el contenido de la escritura previo a la autorización de la misma. ----------

En consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por error o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma del (los) otorgante (s) y del notario. ----------

En tal caso, de la existencia de estos, deben ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por el (los) que intervino (eron) en la inicial y sufragada por el (ellos) mismo (s). (Articulo 35 decreto ley 960 de 1.970).----------

ADVERTENCIA PARA TODOS LOS COMPARECIENTES QUE EXTIENDAN Y OTORGUEN INSTRUMENTOS, SEGÚN ART. 34 C.N., LEY 190 DE 1995,

LEY 333 DE 1996 Y LEY 365 DE 1997. Los comparecientes bajo la gravedad del juramento manifiestan clara y expresamente que todos los dineros, bienes muebles e inmuebles contenidos en este instrumento fueron adquiridos por medios y actividades licitas. Así como el dinero con el que se efectúa el pago de lòs gastos notariales. --

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. LEÍDO EL PRESENTE INSTRUMENTO POR EL OTORGANTE Y ADVERTIDO DE SU REGISTRO DENTRO DEL TÉRMINO DE LEY, ESTUVO DE ACUERDO CON ÉL LO ACEPTÓ EN LA FORMA COMO ESTÁ REDACTADO Y EN TESTIMONIO DE QUE LE DA SU ASENTIMIENTO Y APROBACIÓN LO FIRMA POR ANTE MÍ Y CONMIGO EL NOTARIO QUE DE TODO LO EXPUESTO DOY FE Y POR ELLO LO AUTORIZO.--

CONSTANCIA: EL PRESENTE INSTRUMENTO SE EXTIENDE EN LAS SIGUIENTES HOJAS DE PAPEL NOTARIAL Nos.

/ /0003/ 8368031/ 836810/ 83682// - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

- -

DERECHOS NOTARIALES: RESOLUCIÓN No. 10301 DEL 17 DE DICIEMBRE DE 2.009. $ 42.860 -

CARLOS REINALDO OLARTE

C. C. No. 19 782 747 de Bogotá

ESTADO CIVIL: CASADO

DIRECCIÓN RESIDENCIA:

DIRECCIÓN OFICINA: Diagonal 34 Nº 5-28

TELEFONO RESIDENCIA:

TELEFONO OFICINA: 601 7700

CELULAR: 315 7901625

EL(LA) NOTARIO (A) TREINTA Y OCHO (38 cb)

DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.

EDUARDO DURAN GOMEZ.

REPUBLICA DE COLOMBIA
EDUARDO DURAN GOMEZ
NOTARIO
TREINTA Y OCHO DE BOGOTA D.C

YanethG/201005163

Traducción oficial de un documento que está originalmente en ingles

Sello: "El Distrito de Columbia: SS. Suscrito y juramentado ante mi, este día 7 de mayo de 2010 (firmado) Lisa Renee Johnson, Notario Public, Distrito de Columbia. Mi nombramiento expira el 14 de octubre de 2011."

(Hay otra firma ilegible).

Apostilla adjunta:

Distrito de Columbia

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País:	Estados Unidos de América
	El presente documento público
2. Ha sido firmado por:	Lisa Renee Johnson
3. Actuando en calidad de:	Notario Publico en y para el Distrito de Columbia
4. Lleva el sello/estampilla de:	Lisa Renee Johnson, Notario Público en y para el Distrito de Columbia
	Certificado
5. En:	Washington D.C.
6. El:	Día 7 de mayo de 2010
7. Por:	El Secretario del Distrito de Columbia
8. Bajo el No.:	229806
9. Sello / estampilla:	Distrito de Columbia
10. Firma:	(Firmado) Stephanie D. Scott.

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

160507

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

2010 MAY 27 A 10:17

LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

OLARTERAISBECK

OLARTE RAISBECK MOURE & CASTRO LTDA.

Carlos R. Olarte
J. Ian Raisbeck
Juan Guillermo Moure
Nataha Castro

Alexander Agudelo
Angela Correa
Erika Rico
Carlos A. Parra
Gina Ariis
Juan Felipe Acosta
Andres Rincón
Mariana Franco
Monica Guevara
Alvaro Sabbagh

Of Counsel
Guillermo Chahin
Graciela Melo
Jacqueline Chaparro
Cruz E. de Moncaleano

The undersigned, **General Power**

El suscrito, **Poder General**

WYETH LLC

domiciled in

domiciliado en

Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** , legal representatives with faculties to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents in patent matters, who at the same time have the faculty to represent us before the administrative, judicial or police authorities of any hierarchy of the Republic of Colombia, the Republic of Bolivia, the Republic of Ecuador, the Republic of Peru, and the Bolivarian Republic of Venezuela, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to draw up specifications; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.

nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la República de Bolivia, la República del Ecuador, la República del Perú y la República Bolivariana de Venezuela, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconvenciones; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses.

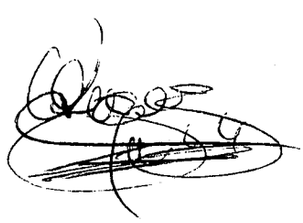
Signature/Firma: Gregg C. Benson
Attorney-in-Fact

Date/Fecha: 4 MAY 2010

City,Country/Ciudad,País: GROTON, CONNECTICUT USA

The District of Columbia: SS
subscribed and sworn to before me
this 1st day of [illegible] 20[illegible]

Lisa Renee Johnson
Notary Public, DC
My commission expires 10/14/2011



Apostille

0000-6

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
   United States of America
2. This public document has been signed by LISA RENEE JOHNSON
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA
4. bears the seal/stamp of LISA RENEE JOHNSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA

CERTIFIED

5. at Washington, D.C.
6. the 7 day of MAY 2010
7. by *Secretary of the District of Columbia*
8. No. 229806
9. Seal/Stamp

10. Signature

Stephanie D. Scott

86 - PO138

OLARTERAISBECK
OLARTE RAISBECK MOURE & CASTRO LTDA.

000048

MODEL OF NOTARIAL CERTIFICATION

Notarial Certification	**Certificación Notarial**
On this date, May 6, 2010	En esta fecha,
The undersigned Notary Public certifies:	el Notario Público suscrito certifica:
1. That	1. Que
GREGG C. BENSON	
of legal age and domiciled in	mayor de edad y domiciliado
EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT USA	
signed the foregoing document.	suscribió el documento que antecede.
2. That the grantor has executed the foregoing document as ATTORNEY-IN-FACT of **WYETH LLC**	2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de de
3. That **WYETH LLC** having its principal place of business located in Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the General Power is granted are within the scope of its corporate purposes.	4. Que con sede principal ubicada en está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.
4. That the grantor has the authority to execute the General Power and that his/her representation is legal.	4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legitima.
5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s): Power of Attorney executed on November 16, 2009	5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

NOTARY PUBLIC (Signature): Nancy M George

Nancy M. George

NANCY M. GEORGE
Notary Public
My Commission Expires 30 June 2011

GEMALT

GEMALT

ES LA COPIA (FOTOCOPIA) NÙMERO =4=DE LA ESCRITURA PÚBLICA=5101=DE FECHA =04= DE =JUNIO= DEL AÑO =2010= TOMADA DE SU ORIGINAL QUE SE EXPIDE CONFORME AL ARTÍCULO 41 DEL DECRETO 2148 DE 1983, EN =7= HOJAS ÚTILES CON DESTINO A: =INTERESADO=

DADO EN BOGOTA, D.C. 07 DE JULIO DE 2011

RODOLFO REY BERMUDEZ

NOTARIO (38E) DEL CIRCULO DE BOGOTA

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-3-1	**Declaration: Entitlement to claim priority** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)) Name	In relation to this international application WYETH LLC is entitled to claim priority of earlier application No. 61/478,474 by virtue of the following:
VIII-3-1(iv)		an assignment from ANDERSON, Annaliesa Sybil to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from DONALD, Robert G. K. to WYETH LLC, dated 15 July 2011 (15.07.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from JANSEN, Kathrin Ute to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from KALYAN, Narender K. to WYETH LLC, dated 14 July 2011 (14.07.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from MININNI, Terri L. to WYETH LLC, dated 02 September 2011 (02.09.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from MORAN, Justin Keith to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from RUPPEN, Mark E. to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from FLINT, Michael James to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)
VIII-3-1(iv)		an assignment from SIDHU, Maninder K. to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-3-2	**Declaration: Entitlement to claim priority** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)) Name	In relation to this international application WYETH LLC is entitled to claim priority of earlier application No. 61/478,899 by virtue of the following:
VIII-3-2(iv)		an assignment from SIDHU, Maninder K. to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from ANDERSON, Annaliesa Sybil to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from DONALD, Robert G. K. to WYETH LLC, dated 15 July 2011 (15.07.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from JANSEN, Kathrin Ute to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from KALYAN, Narender K. to WYETH LLC, dated 14 July 2011 (14.07.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from MININNI, Terri L. to WYETH LLC, dated 02 September 2011 (02.09.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from MORAN, Justin Keith to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from RUPPEN, Mark E. to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-3-2(iv)		an assignment from FLINT, Michael James to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-2-1	**Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application WYETH LLC, USSN No. 61/478,474, Filed April 22, 2011 is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(iv)		an assignment from SIDHU, Maninder K. to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from ANDERSON, Annaliesa Sybil to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from DONALD, Robert G. K. to WYETH LLC, dated 15 July 2011 (15.07.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from JANSEN, Kathrin Ute to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from KALYAN, Narender K. to WYETH LLC, dated 14 July 2011 (14.07.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from MININNI, Terri L. to WYETH LLC, dated 02 September 2011 (02.09.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from MORAN, Justin Keith to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from RUPPEN, Mark E. to <select name>, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-2-1(iv)		an assignment from FLINT, Michael James to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-2-2	**Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application WYETH LLC, USSN No. 61/478,899, Filed April 25, 2011 is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-2(iv)		an assignment from SIDHU, Maninder K. to SIDHU, Maninder K., dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from ANDERSON, Annaliesa Sybil to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from DONALD, Robert G. K. to WYETH LLC, dated 15 July 2011 (15.07.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from JANSEN, Kathrin Ute to WYETH LLC, dated 06 September 2011 (06.09.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from KALYAN, Narender K. to WYETH LLC, dated 14 July 2011 (14.07.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from MININNI, Terri L. to WYETH LLC, dated 02 September 2011 (02.09.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from MORAN, Justin Keith to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from RUPPEN, Mark E. to WYETH LLC, dated 25 August 2011 (25.08.2011)
VIII-2-2(iv)		an assignment from FLINT, Michael James to WYETH LLC, dated 18 July 2011 (18.07.2011)

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
26 October 2012 (26.10.2012)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2012/143902 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 14/33 (2006.01) *C07K 16/12* (2006.01)
A61K 39/08 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2012/051999

(22) International Filing Date:
20 April 2012 (20.04.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/478,474 22 April 2011 (22.04.2011) US
61/478,899 25 April 2011 (25.04.2011) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **WYETH LLC** [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **SIDHU, Maninder K.** [US/US]; 35 Lowell Drive, New City, NY 10956 (US). **ANDERSON, Annaliesa Sybil** [GB/US]; 49 Hillcrest Drive, Upper Saddle River, NJ 07458 (US). **DONALD, Robert G. K.** [US/US]; 129 Kenneth Terrace, South Orange, NJ 07079 (US). **JANSEN, Kathrin Ute** [DE/US]; 57 Heather Court, Allendale, NJ 07401 (US). **KALYAN, Narender K.** [US/US]; 232 North Walnut Street, Ridgewood, NJ 07450 (US). **MININNI, Terri L.** [US/US]; 1 Pieters Court, New Windsor, NY 12553 (US). **MORAN, Justin Keith** [US/US]; 682 Sierra Vista Lane, Valley Cottage, NY 10989 (US). **RUPPEN, Mark E.** [US/US]; 6 Lea Court, Garnerville, NY 10923 (US). **FLINT, Michael James** [CA/US]; 860 Briarcliff Road NE, Apt 9, Atlanta, GA 30306 (US).

(74) Agent: **POKRAS, Bruce A.**; Pfizer Inc., Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to the identity of the inventor (Rule 4.17(i))*

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*

[Continued on next page]

(54) Title: COMPOSITIONS RELATING TO A MUTANT *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* TOXIN AND METHODS THEREOF

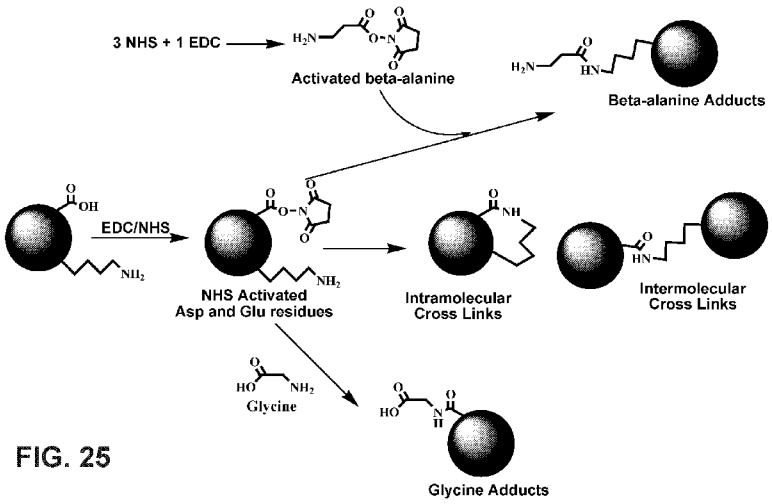


FIG. 25

(57) Abstract: In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *Clostridium difficile* toxin A and/or a mutant *Clostridium difficile* toxin B. Each mutant toxin includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. The mutant toxins may further include at least one amino acid that is chemically crosslinked. In another aspect, the invention relates to antibodies or binding fragments thereof that binds to said immunogenic compositions. In further aspects, the invention relates to isolated nucleotide sequences that encode any of the foregoing, and methods of use of any of the foregoing compositions.

WO 2012/143902 A1

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

COMPOSITIONS RELATING TO A MUTANT *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* TOXIN AND METHODS THEREOF

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

The present application claims the benefit of U.S. Provisional Patent Application 61/478,474, filed on April 22, 2011, and U.S. Provisional Patent Application 61/478,899, filed April 25, 2011. The entire contents of the aforementioned applications are herein incorporated by reference in their entireties.

FIELD

The present invention is directed to compositions concerning mutant *Clostridium difficile* toxins and methods thereof.

BACKGROUND

Clostridium difficile (*C. difficile)* is a Gram-positive anaerobic bacterium that is associated with gastrointestinal disease in humans. Colonization of *C. difficile* usually occurs in the colon if the natural gut flora is diminished by treatment with antibiotics. An infection can lead to antibiotic-associated diarrhea and sometimes pseudomembranous colitis through the secretion of the glucosylating toxins, toxin A and toxin B (308 and 270 kDa, respectively), which are the primary virulence factors of *C. difficile*.

Toxin A and toxin B are encoded within the 19 kb pathogenicity locus (PaLoc) by the genes *tcdA* and *tcdB*, respectively. Nonpathogenic strains of *C. difficile* have this locus replaced by an alternative 115 base pair sequence.

Both toxin A and toxin B are potent cytotoxins. These proteins are homologous glucosyltransferases that inactivate small GTPases of the Rho/Rac/Ras family. The resulting disruption in signaling causes a loss of cell–cell junctions, dysregulation of the actin cytoskeleton, and/or apoptosis, resulting in the profound secretory diarrhea that is associated with *Clostridium difficile* infections (CDI).

In the last decade, the numbers and severity of *C. difficile* outbreaks in hospitals, nursing homes, and other long-term care facilities increased dramatically. Key factors in this escalation include emergence of hypervirulent pathogenic strains, increased use of antibiotics, improved detection methods, and increased exposure to airborne spores in health care facilities.

Metronidazole and vancomycin represent the currently accepted standard of care for the antibiotic treatment of *C. difficile* associated disease (CDAD). However, about 20% of patients receiving such treatment experience a recurrence of infection after a

first episode of CDI, and up to about 50% of those patients suffer from additional recurrences. Treatment of recurrences represents a very significant challenge, and the majority of recurrences usually occur within one month of the preceding episode.

Accordingly, there is a need for immunogenic and/or therapeutic compositions and methods thereof directed to *C. difficile*.

SUMMARY OF THE INVENTION

These and other objectives are provided by the invention herein.

In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A. The mutant *C. difficile* toxin A includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin A. In one embodiment, at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin A is chemically crosslinked.

In one aspect, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide includes at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

In one embodiment, at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin is chemically crosslinked.

In one embodiment, the at least one amino acid amino acid is chemically crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC), N-hydroxysuccinate, or a combination of EDC and NHS.

In one embodiment, the immunogenic composition is recognized by a respective anti-toxin neutralizing antibody or binding fragment thereof.

In one embodiment, the immunogenic composition exhibits decreased cytotoxicity, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin.

In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes a glucosyltransferase domain having SEQ ID NO: 29, which has an amino acid substitution at positions 285 and 287, and a cysteine protease domain having SEQ ID NO: 32, which has an amino acid substitution at position 158, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin A,

wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin A is chemically crosslinked.

In a further aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin A is chemically crosslinked.

In yet another aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, or SEQ ID NO: 8.

In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin B. The mutant *C. difficile* toxin B includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin B.

In another aspect, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide includes an amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin B, which includes a glucosyltransferase domain having SEQ ID NO: 31, which has an amino acid substitution at positions 286 and 288, and a cysteine protease domain having SEQ ID NO: 33, which has an amino acid substitution at position 155, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin B, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin B is chemically crosslinked.

In a further aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin B is chemically crosslinked.

In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, and a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is chemically crosslinked.

In further aspects, the invention relates to a recombinant cell or progeny thereof, that includes a polynucleotide encoding any of the foregoing mutant *C. difficile* toxins, wherein the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

In another aspect, the invention relates to an antibody or antibody binding fragment thereof specific to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin.

In one aspect, the invention relates to a method of treating a *C. difficile* infection in a mammal. The method includes administering to the mammal an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, and a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is crosslinked by formaldehyde.

In another aspect, the method of treating a *C. difficile* infection in a mammal includes administering to the mammal an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, and a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and/or N-Hydroxysuccinimide (NHS).

In one aspect, the invention relates to a method of inducing an immune response to a *C. difficile* infection in a mammal. The method includes administering to the mammal an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, and a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is crosslinked by formaldehyde.

In another aspect, the method of inducing an immune response to a *C. difficile* infection in a mammal includes administering to the mammal an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4, and a mutant *C. difficile* toxin B, which includes SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and/or N-Hydroxysuccinimide (NHS).

In one embodiment, the methods of treating or the methods of inducing an immune response is in a mammal in need thereof.

In one embodiment, the methods of treating or the methods of inducing an immune response includes a mammal that has had a recurring *C. difficile* infection.

In one embodiment, the methods of treating or the methods of inducing an immune response includes parenterally administering the composition.

In one embodiment, the methods of treating or the methods of inducing an immune response includes an immunogenic composition that further includes an adjuvant.

In one embodiment, the adjuvant includes aluminum hydroxide gel and a CpG oligonucleotide. In another embodiment, the adjuvant includes ISCOMATRIX.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes at least one side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or at least one side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is chemically modified by glycine.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; and at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes a glycine moiety linked to a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes a side chain of a second lysine residue of the polypeptide is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

In one embodiment, the isolated polypeptide includes a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is linked to a glycine moiety.

In one embodiment, the isolated polypeptide has an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

In one aspect, the immunogenic composition includes an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptides have at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

In one embodiment, the polypeptide includes at least one of any of: a) a) at least one beta-alanine moiety linked to a side chain of a lysine residue of the polypeptide; b) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of an aspartic acid residue; and c) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of a glutamic acid residue.

In one embodiment, the isolated polypeptide has an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

In one aspect, the immunogenic composition includes an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and a) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a beta-alanine moiety, and b) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a beta-alanine moiety.

In one embodiment, the immunogenic composition includes a side chain of a second lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue, and wherein a second lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

In one embodiment, the immunogenic composition includes a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

In one embodiment, the immunogenic composition includes a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

In one embodiment, the isolated polypeptide has an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

In one aspect, the immunogenic composition includes an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84 and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86, wherein each polypeptide includes a) at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; b) at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; c) a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide; and d) a glycine moiety linked to a side chain of at least one aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of at least one glutamic acid residue of the polypeptide.

BRIEF DESCRIPTION OF DRAWINGS

Figure 1: Sequence alignment of wild-type *C. difficile* toxin A from strains 630, VPI10463, R20291, CD196, and mutant toxin A having SEQ ID NO: 4, using CLUSTALW alignment, default parameters.

Figure 2: Sequence alignment of wild-type *C. difficile* toxin B from strains 630, VPI10463, R20291, CD196, and mutant toxin B having SEQ ID NO: 6, using CLUSTALW alignment, default parameters.

Figure 3: Graph showing identification of wild-type toxin-negative *C. difficile* strains. Culture media of 13 *C. difficile* strains were tested by ELISA for toxin A. As illustrated, seven strains expressed toxin A and 6 strains did not (strains 1351, 3232, 7322, 5036, 4811 and VPI 11186).

Figure 4 A and B: SDS-PAGE results illustrating that triple mutant A (SEQ ID NO: 4), double mutant B (SEQ ID NO: 5), and triple mutant B (SEQ ID NO: 6) do not glucosylate Rac1 or RhoA GTPases in an *in vitro* glucosylation assays with UDP-^{14}C-glucose; whereas 10 µg to 1 ng of wild type toxin B does glucosylate Rac1.

Figure 5: Western blot indicating abrogation of cysteine protease activity in mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively), as compared to observation of cleaved fragments of wild-type toxins A and B (SEQ ID NOs: 1 and 2, respectively). See Example 13.

Figure 6: Graphs showing that triple mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) exhibit residual cytotoxicity when tested at high concentrations (e.g., about 100 µg/ml) by *in vitro* cytotoxicity assay in IMR-90 cells.

Figure 7: Graph showing that EC_{50} values are similar for the triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) and hepta mutant toxin B (SEQ ID NO: 8).

Figure 8: Graph representing results from *in vitro* cytotoxicity tests in which the ATP levels (RLUs) are plotted against increasing concentrations of the triple mutant TcdA (SEQ ID NO: 4)(top panel) and triple mutant TcdB (SEQ ID NO: 6)(bottom panel). Residual cytotoxicity of mutant toxin A and B can be completely abrogated with neutralizing antibodies specific for mutant toxin A (top panel-pAb A and mAbs A3-25 + A60-22) and mutant toxin B (bottom panel-pAb B).

Figure 9: Images of IMR-90 cell morphology at 72 hours post treatment. Panel A shows mock treated control cells. Panel B shows cell morphology following treatment with formalin inactivated mutant TcdB (SEQ ID NO: 6). Panel C shows cell morphology

following treatment with EDC inactivated mutant TcdB (SEQ ID NO: 6). Panel D shows cell morphology following treatment with wild-type toxin B (SEQ ID NO: 2). Panel E shows cell morphology following treatment with triple mutant TcdB (SEQ ID NO: 6). Similar results were observed for TcdA treatments.

Figure 10: Graph showing neutralizing antibody titers as described in Example 25 (study muCdiff2010-06).

Figure 11: Graph showing neutralizing antibody titers as described in Example 26 (study muCdiff2010-07).

Figure 12: Graph showing neutralizing antibody responses against toxins A and B in hamsters after four immunizations as described in Example 27 (study ham*C. difficile*2010-02)

Figure 13: Graph showing neutralizing antibody responses in hamsters after vaccination with chemically inactivated genetic mutant toxins and List Biological toxoids, as described in Example 27 (study ham*C. difficile*2010-02).

Figure 14: Survival curves for three immunized groups of hamsters as compared to the non-immunized controls, described in Example 28 (study ham*C. difficile*2010-02, continued).

Figure 15: Graph showing relative neutralizing antibody response against different formulations of *C. difficile* mutant toxins in hamsters (study ham*C. difficile*2010-03), as described in Example 29.

Figure 16A-B: Graphs showing strong relative neutralizing antibody response against chemically inactivated genetic mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) in cynomolgus macaques, as described in Example 30.

Figure 17: Amino acid sequences of variable regions of light (VL) and heavy (HL) chains of A3-25 mAb IgE. Signal peptide – highlighted; CDRs – italicized and underlined; Constant region – bolded and underlined (complete sequence not shown).

Figure 18: Graph showing titration of individual toxin A monoclonal antibodies in the toxin neutralization assay using ATP levels (quantified by relative light units- RLU) as an indicator of cell viability. In comparison to the toxin ($4xEC_{50}$) control, mAbs A80-29, A65-33, A60-22 and A3-25 had increasing neutralizing effects on toxin A with concentration but not to the level of the positive rabbit anti-toxin A control. mAbs A50-10, A56-33, and A58-46 did not neutralize toxin A. The cell only control was 1 -$1.5x10^6$ RLUs.

Figure 19: Mapping of 8 epitope groups of toxin B mAbs by BiaCore

Figure 20A-C: Synergistic neutralizing activities of combinations of toxin A mAbs: Adding different dilutions of neutralizing antibodies A60-22, A65-33, and A80-29 to increasing concentrations of A3-25 mAb synergistically increased the neutralization of toxin A regardless of the dilution. The RLUs of the toxin A only (4x EC_{50}) control is illustrated (<0.3x10^6) and cell only controls were 2-2.5 x10^6 RLUs as depicted in graphs shown in Figure 20B and Figure 20C.

Figure 21: Synergistic neutralizing activities of toxin B mAbs: Neutralization of toxin B by mAbs 8-26, B60-2 and B59-3 is illustrated in Figure 21A. Neutralization of toxin B is synergistically increased after combining B8-26 with dilutions of B59-3 (Figure 21B)

Figure 22: Western blot showing that Rac1 GTPase expression is reduced in genetic mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) extracts from 24 to 96 hours, but not in wild-type toxin B (SEQ ID NO: 2) treated extracts. The blot also shows that Rac1 is glucosylated in toxin B-treated extracts, but not in genetic mutant toxin B treated extracts.

Figure 23A-K: Graph representing results from *in vitro* cytotoxicity tests in which the ATP levels (RLUs) are plotted against increasing concentrations of *C. difficile* culture media and the hamster serum pool (■);crude toxin (culture harvest) from the respective strain and the hamster serum pool (●); purified toxin (commercial toxin obtained from List Biologicals) and the hamster serum pool (▲); crude toxin (▼), control; and purified toxin (◆), control. The toxins from the respective strains were added to the cells at 4xEC_{50} values. Figure 23 shows that an immunogenic composition including mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) and mutant TcdB (SEQ ID NO: 6), wherein the mutant toxins were inactivated with EDC, according to, for example, Example 29, Table 15, described herein, induced neutralizing antibodies that exhibited neutralizing activity against toxins from at least the following 16 different CDC strains of *C. difficile*, in comparison to the respective toxin only control: 2007886 (Figure 23A); 2006017 (Figure 23B); 2007070 (Figure 23C); 2007302 (Figure 23D); 2007838 (Figure 23E); 2007886 (Figure 23F); 2009292 (Figure 23G); 2004013 (Figure 23H); 2009141 (Figure 23I); 2005022 (Figure 23J); 2006376 (Figure 23K).

Figure 24: Illustration of an exemplary EDC/NHS inactivation of mutant *C. difficile* toxins, resulting in at least three possible types of modifications: crosslinks, glycine adducts, and beta-alanine adducts. Panel A illustrates crosslinking. Carboxylic

residues of triple mutant toxins are activated by the addition of EDC and NHS. The activated esters react with primary amines to form stable amide bonds, resulting in intra- and intermolecular crosslinks. Panel B illustrates formation of glycine adducts. After inactivation, residual activated esters are quenched by the addition of glycine to form stable amide bonds. Panel C illustrates formation of beta-alanine adducts. Three moles of NHS can react with one mole of EDC to form activated beta-alanine. This then reacts with primary amines to form stable amide bonds.

Figure 25: Illustration of an exemplary EDC/NHS inactivation of mutant *C. difficile* toxins, resulting in at least one of the following types of modifications: (A) crosslinks, (B) glycine adducts, and (C) beta-alanine adducts.

BRIEF DESCRIPTION OF SEQUENCES

SEQ ID NO: 1 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 630 toxin A (TcdA).

SEQ ID NO: 2 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 630 toxin B (TcdB).

SEQ ID NO: 3 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdA having a mutation at positions 285 and 287, as compared to SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 4 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdA having a mutation at positions 285, 287, and 700, as compared to SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 5 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdB having a mutation at positions 286 and 288, as compared to SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 6 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdB having a mutation at positions 286, 288, and 698, as compared to SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 7 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdA having a mutation at positions 269, 272, 285, 287, 460, 462, and 700, as compared to SEQ ID NO: 1

SEQ ID NO: 8 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdB having a mutation at positions 270, 273, 286, 288, 461, 463, and 698, as compared to SEQ ID NO: 2

SEQ ID NO: 9 sets forth a DNA sequence encoding a wild-type *C. difficile* 630 toxin A (TcdA).

SEQ ID NO: 10 sets forth a DNA sequence encoding a wild-type *C. difficile* 630 toxin B (TcdB).

SEQ ID NO: 11 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 3

SEQ ID NO: 12 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 4

SEQ ID NO: 13 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 5

SEQ ID NO: 14 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 6

SEQ ID NO: 15 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* R20291 TcdA.

SEQ ID NO: 16 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 15.

SEQ ID NO: 17 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* CD196 TcdA.

SEQ ID NO: 18 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 17.

SEQ ID NO: 19 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* VPI10463 TcdA.

SEQ ID NO: 20 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 19.

SEQ ID NO: 21 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* R20291 TcdB.

SEQ ID NO: 22 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 21.

SEQ ID NO: 23 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* CD196 TcdB.

SEQ ID NO: 24 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 23.

SEQ ID NO: 25 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* VPI10463 TcdB.

SEQ ID NO: 26 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 25.

SEQ ID NO: 27 sets forth a DNA sequence of a pathogenicity locus of wild-type *C. difficile* VPI10463.

SEQ ID NO: 28 sets forth the amino acid sequence for residues 101 to 293 of SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 29 sets forth the amino acid sequence for residues 1 to 542 of SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 30 sets forth the amino acid sequence for residues 101 to 293 of SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 31 sets forth the amino acid sequence for residues 1 to 543 of SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 32 sets forth the amino acid sequence for residues 543 to 809 of SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 33 sets forth the amino acid sequence for residues 544 to 767 of SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 34 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdA, wherein residues 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, and 700 may be any amino acid.

SEQ ID NO: 35 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdB, wherein 102, 270, 273, 286, 288, 384, 461, 463, 520, 543, 544, 587, 600, 653, 698, and 751 may be any amino acid.

SEQ ID NO: 36 sets forth the amino acid sequence for the variable light chain of a neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 37 sets forth the amino acid sequence for the variable heavy chain of a neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 38 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable light chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 39 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable light chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 40 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable light chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 41 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable heavy chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 42 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable heavy chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 43 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable heavy chain of neutralizing antibody of *C. difficile* TcdA (A3-25 mAb).
SEQ ID NO: 44 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 3.
SEQ ID NO: 45 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 4.
SEQ ID NO: 46 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 5.
SEQ ID NO: 47 sets forth a DNA sequence encoding SEQ ID NO: 6.
SEQ ID NO: 48 sets forth the nucleotide sequence of immunostimulatory oligonucleotide ODN CpG 24555.

SEQ ID NO: 49 sets forth the amino acid sequence for the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 50 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 51 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 52 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 53 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 54 sets forth the amino acid sequence for the constant region of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 55 sets forth the amino acid sequence for the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 56 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 57 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 58 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).
SEQ ID NO: 59 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 60 sets forth the amino acid sequence for the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 61 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 62 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 63 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 64 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 65 sets forth the amino acid sequence for the constant region of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 66 sets forth the amino acid sequence for the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 67 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 68 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 69 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 70 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 71 sets forth the amino acid sequence for the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 72 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 73 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 74 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 75 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 76 sets forth the amino acid sequence for the constant region of the variable heavy chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).

SEQ ID NO: 77 sets forth the amino acid sequence for the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 78 sets forth the amino acid sequence for the signal peptide of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 79 sets forth the amino acid sequence for CDR1 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 80 sets forth the amino acid sequence for CDR2 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 81 sets forth the amino acid sequence for CDR3 of the variable light chain of a C. difficile TcdB neutralizing antibody (B9-30 mAb).

SEQ ID NO: 82 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdB, wherein a residue at positions 102, 270, 273, 286, 288, 384, 461, 463, 520, 543, 544, 587, 600, 653, 698, and 751 may be any amino acid.

SEQ ID NO: 83 sets forth the amino acid sequence for a mutant TcdA having a mutation at positions 269, 272, 285, 287, 460, 462, and 700, as compared to SEQ ID NO: 1, wherein the methionine at position 1 is absent.
SEQ ID NO: 84 sets forth the amino acid sequence for a mutant *C. difficile* toxin A having a mutation at positions 285, 287, and 700, as compared to SEQ ID NO: 1, wherein the methionine at position 1 is absent.
SEQ ID NO: 85 sets forth the amino acid sequence for a mutant *C. difficile* toxin B having a mutation at positions 270, 273, 286, 288, 461, 463, and 698, as compared to SEQ ID NO: 2, wherein the methionine at position 1 is absent.
SEQ ID NO: 86 sets forth the amino acid sequence for a mutant *C. difficile* toxin B having a mutation at positions 286, 288, and 698, as compared to SEQ ID NO: 2, wherein the methionine at position 1 is absent.

SEQ ID NO: 87 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004013 TcdA.
SEQ ID NO: 88 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004111 TcdA.
SEQ ID NO: 89 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004118 TcdA.
SEQ ID NO: 90 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004205 TcdA.
SEQ ID NO: 91 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004206 TcdA.
SEQ ID NO: 92 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005022 TcdA.
SEQ ID NO: 93 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005088 TcdA.
SEQ ID NO: 94 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005283 TcdA.
SEQ ID NO: 95 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005325 TcdA.
SEQ ID NO: 96 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005359 TcdA.

SEQ ID NO: 97 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2006017 TcdA.

SEQ ID NO: 98 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007070 TcdA.

SEQ ID NO: 99 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007217 TcdA.

SEQ ID NO: 100 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007302 TcdA.

SEQ ID NO: 101 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007816 TcdA.

SEQ ID NO: 102 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007838 TcdA.

SEQ ID NO: 103 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007858 TcdA.

SEQ ID NO: 104 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007886 TcdA.

SEQ ID NO: 105 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2008222 TcdA.

SEQ ID NO: 106 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009078 TcdA.

SEQ ID NO: 107 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009087 TcdA.

SEQ ID NO: 108 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009141 TcdA.

SEQ ID NO: 109 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009292 TcdA.

SEQ ID NO: 110 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004013 TcdB.

SEQ ID NO: 111 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004111 TcdB.

SEQ ID NO: 112 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004118 TcdB.

SEQ ID NO: 113 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004205 TcdB.

SEQ ID NO: 114 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2004206 TcdB.

SEQ ID NO: 115 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005022 TcdB.

SEQ ID NO: 116 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005088 TcdB.

SEQ ID NO: 117 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005283 TcdB.

SEQ ID NO: 118 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005325 TcdB.

SEQ ID NO: 119 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2005359 TcdB.

SEQ ID NO: 120 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2006017 TcdB.

SEQ ID NO: 121 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2006376 TcdB.

SEQ ID NO: 122 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007070 TcdB.

SEQ ID NO: 123 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007217 TcdB.

SEQ ID NO: 124 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007302 TcdB.

SEQ ID NO: 125 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007816 TcdB.

SEQ ID NO: 126 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007838 TcdB.

SEQ ID NO: 127 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007858 TcdB.

SEQ ID NO: 128 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2007886 TcdB.

SEQ ID NO: 129 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2008222 TcdB.

SEQ ID NO: 130 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009078 TcdB.

SEQ ID NO: 131 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009087 TcdB.

SEQ ID NO: 132 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009141 TcdB.

SEQ ID NO: 133 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 2009292 TcdB.

SEQ ID NO: 134 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 014 TcdA.

SEQ ID NO: 135 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 015 TcdA.

SEQ ID NO: 136 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 020 TcdA.

SEQ ID NO: 137 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 023 TcdA.

SEQ ID NO: 138 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 027 TcdA.

SEQ ID NO: 139 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 029 TcdA.

SEQ ID NO: 140 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 046 TcdA.

SEQ ID NO: 141 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 014 TcdB.

SEQ ID NO: 142 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 015 TcdB.

SEQ ID NO: 143 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 020 TcdB.

SEQ ID NO: 144 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 023 TcdB.

SEQ ID NO: 145 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 027 TcdB.

SEQ ID NO: 146 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 029 TcdB.

SEQ ID NO: 147 sets forth the amino acid sequence for wild-type *C. difficile* 046 TcdB.

SEQ ID NO: 148 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 001 TcdA.

SEQ ID NO: 149 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 002 TcdA.

SEQ ID NO: 150 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 003 TcdA.

SEQ ID NO: 151 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 004 TcdA.

SEQ ID NO: 152 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 070 TcdA.

SEQ ID NO: 153 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 075 TcdA.

SEQ ID NO: 154 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 077 TcdA.

SEQ ID NO: 155 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 081 TcdA.

SEQ ID NO: 156 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 117 TcdA.

SEQ ID NO: 157 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 131 TcdA.
SEQ ID NO: 158 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 001 TcdB.
SEQ ID NO: 159 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 002 TcdB.
SEQ ID NO: 160 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 003 TcdB.
SEQ ID NO: 161 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 004 TcdB.
SEQ ID NO: 162 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 070 TcdB.
SEQ ID NO: 163 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 075 TcdB.
SEQ ID NO: 164 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 077 TcdB.
SEQ ID NO: 165 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 081 TcdB.
SEQ ID NO: 166 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 117 TcdB.
SEQ ID NO: 167 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 131 TcdB.

SEQ ID NO: 168 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 053 TcdA.
SEQ ID NO: 169 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 078 TcdA.
SEQ ID NO: 170 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 087 TcdA.
SEQ ID NO: 171 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 095 TcdA.
SEQ ID NO: 172 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 126 TcdA.

SEQ ID NO: 173 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 053 TcdB.
SEQ ID NO: 174 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 078 TcdB.
SEQ ID NO: 175 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 087 TcdB.
SEQ ID NO: 176 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 095 TcdB.
SEQ ID NO: 177 sets forth the amino acid sequence for wild-type C. difficile 126 TcdB.

DETAILED DESCRIPTION

The inventors surprisingly discovered, among other things, a mutant *C. difficile* toxin A and toxin B, and methods thereof. The mutants are characterized, in part, by being immunogenic and exhibiting reduced cytotoxicity compared to a wild-type form of the respective toxin. The present invention also relates to immunogenic portions thereof, biological equivalents thereof, and isolated polynucleotides that include nucleic acid sequences encoding any of the foregoing.

The immunogenic compositions described herein unexpectedly demonstrated the ability to elicit novel neutralizing antibodies against *C. difficile* toxins and they may have the ability to confer active and/or passive protection against a *C. difficile* challenge. The novel antibodies are directed against various epitopes of toxin A and toxin B. The inventors further discovered that a combination of at least two of the neutralizing monoclonal antibodies can exhibit an unexpectedly synergistic effect in respective *in vitro* neutralization of toxin A and toxin B.

The inventive compositions described herein may be used to treat, prevent, decrease the risk of, decrease occurrences of, decrease severity of, and/or delay the outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease (CDAD), syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition was not administered.

Moreover, the inventors discovered a recombinant asporogenic *C. difficile* cell that can stably express the mutant *C. difficile* toxin A and toxin B, and novel methods for producing the same.

Immunogenic Compositions

In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* toxin. The mutant *C. difficile* toxin includes an amino acid sequence having at least one mutation in a glucosyltransferase domain and at least one mutation in a cysteine protease domain, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin.

The term “wild-type,” as used herein, refers to the form found in nature. For example, a wild-type polypeptide or polynucleotide sequence is a sequence present in an organism that can be isolated from a source in nature and which has not been intentionally modified by human manipulation. The present invention also relates to isolated polynucleotides that include nucleic acid sequences encoding any of the foregoing. In addition, the present invention relates to use of any of the foregoing

compositions to treat, prevent, decrease the risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay the outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition is not administered, as well as methods for preparing said compositions.

As used herein, an “immunogenic composition” or “immunogen” refers to a composition that elicits an immune response in a mammal to which the composition is administered.

An “immune response" refers to the development of a beneficial humoral (antibody mediated) and/or a cellular (mediated by antigen-specific T cells or their secretion products) response directed against a *C. difficile* toxin in a recipient patient. The immune response may be humoral, cellular, or both.

The immune response can be an active response induced by administration of an immunogenic composition, an immunogen. Alternatively, the immune response can be a passive response induced by administration of antibody or primed T-cells.

The presence of a humoral (antibody-mediated) immune response can be determined, for example, by cell-based assays known in the art, such as a neutralizing antibody assay, ELISA, etc.

A cellular immune response is typically elicited by the presentation of polypeptide epitopes in association with Class I or Class II MHC molecules to activate antigen-specific CD4 + T helper cells and/or CD8 + cytotoxic T cells. The response may also involve activation of monocytes, macrophages, NK cells, basophils, dendritic cells, astrocytes, microglia cells, eosinophils or other components of innate immunity. The presence of a cell-mediated immunological response can be determined by proliferation assays (CD4 + T cells) or CTL (cytotoxic T lymphocyte) assays known in the art.

In one embodiment, an immunogenic composition is a vaccine composition. As used herein, a “vaccine composition” is a composition that elicits an immune response in a mammal to which the composition is administered. The vaccine composition may protect the immunized mammal against subsequent challenge by an immunizing agent or an immunologically cross-reactive agent. Protection can be complete or partial with regard to reduction in symptoms or infection as compared to a non-vaccinated mammal under the same conditions.

The immunogenic compositions described herein are cross-reactive, which refers to having a characteristic of being able to elicit an effective immune response (e.g., humoral immune response) against a toxin produced by another *C. difficile* strain that is different from the strain from which the composition is derived. For example, the immunogenic compositions (e.g., derived from *C. difficile* 630) described herein may elicit cross-reactive antibodies that can bind to toxins produced by multiple strains of *C. difficile* (e.g., toxins produced by *C. difficile* R20291 and VPI10463). See, for example, Example 37. Cross-reactivity is indicative of the cross-protection potential of the bacterial immunogen, and vice versa.

The term "cross-protective" as used herein refers to the ability of the immune response induced by an immunogenic composition to prevent or attenuate infection by a different bacterial strain or species of the same genus. For example, an immunogenic composition (e.g., derived from *C. difficile* 630) described herein may induce an effective immune response in a mammal to attenuate a *C. difficile* infection and/or to attenuate a *C. difficile* disease caused by a strain other than 630 (e.g., *C. difficile* R20291) in the mammal.

Exemplary mammals in which the immunogenic composition or immunogen elicits an immune response include any mammals, such as, for example, mice, hamsters, primates, and humans. In a preferred embodiment, the immunogenic composition or immunogen elicits an immune response in a human to which the composition is administered.

As described above, toxin A (TcdA) and toxin B (TcdB) are homologous glucosyltransferases that inactivate small GTPases of the Rho/Rac/Ras family. The action of TcdA and TcdB on mammalian target cells depends on a multistep mechanism of receptor-mediated endocytosis, membrane translocation, autoproteolytic processing, and monoglucosylation of GTPases. Many of these functional activities have been ascribed to discrete regions within the primary sequence of the toxins, and the toxins have been imaged to show that these molecules are similar in structure.

The wild-type gene for TcdA has about 8130 nucleotides that encode a protein having a deduced molecular weight of about 308-kDa, having about 2710 amino acids. As used herein, a wild-type *C. difficile* TcdA includes a *C. difficile* TcdA from any wild-type *C. difficile* strain. A wild-type *C. difficile* TcdA may include a wild-type *C. difficile* TcdA amino acid sequence having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to SEQ ID NO: 1 (full length) when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights.

In a preferred embodiment, the wild-type *C. difficile* TcdA includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 1, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain 630 (also disclosed in GenBank accession number YP_001087137.1 and/or CAJ67494.1). *C. difficile* strain 630 is known in the art as being a PCR-ribotype 012 strain. SEQ ID NO: 9 describes the wild-type gene for TcdA from *C. difficile* strain 630, which is also disclosed in GenBank accession number NC_009089.1.

Another example of a wild-type *C. difficile* TcdA includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 15, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain R20291 (also disclosed in GenBank accession number YP_003217088.1). *C. difficile* strain R20291 is known in the art as being a hypervirulent strain and a PCR-ribotype 027 strain. The amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain R20291 has about 98% identity to SEQ ID NO:1. SEQ ID NO: 16 describes the wild-type gene for TcdA from *C. difficile* strain R20291, which is also disclosed in GenBank accession number NC_013316.1.

An additional example of a wild-type *C. difficile* TcdA includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 17, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain CD196 (also disclosed in GenBank accession number CBA61156.1). CD196 is a strain from a recent Canadian outbreak, and it is known in the art as a PCR-ribotype 027 strain. The amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain CD196 has about 98% identity to SEQ ID NO: 1, and has about 100% identity to TcdA from *C. difficile* strain R20291. SEQ ID NO: 18 describes the wild-type gene for TcdA from *C. difficile* strain CD196, which is also disclosed in GenBank accession number FN538970.1.

Further examples of an amino acid sequence for a wild-type *C. difficile* TcdA include SEQ ID NO: 19, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain VPI10463 (also disclosed in GenBank accession number CAA63564.1). The amino acid sequence for TcdA from *C. difficile* strain VPI10463 has about 100% (99.8%) identity to SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 20 describes the wild-type

gene for TcdA from *C. difficile* strain VPI10463, which is also disclosed in GenBank accession number X92982.1.

Additional examples of a wild-type *C. difficile* TcdA include TcdA from wild-type *C. difficile* strains obtainable from the Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, GA). The inventors discovered that the amino acid sequence of TcdA from wild-type *C. difficile* strains obtainable from the CDC include at least about 99.3% to 100% identity, when optimally aligned, to amino acid residues 1 to 821 of SEQ ID NO: 1 (TcdA from *C. difficile* 630). See Table 1.

The inventors also discovered that the amino acid sequence of TcdA from wild-type *C. difficile* strains may include at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, to about 100% identity, when optimally aligned (e.g., when full, length sequences are optimally aligned) to SEQ ID NO: 1.

Table 1: wild-type *C. difficile* strains obtained from CDC and the percent identity of amino acid residues 1-821 of TcdA from the respective wild-type *C. difficile* strain to amino acid residues 1-821 of SEQ ID NO: 1, when optimally aligned.

Table 1: Wild-type *C. difficile* Strains from CDC	
C. difficile Strain ID	Approximate % Amino Acid Identity to Residues 1-821 of SEQ ID NO: 1
2004111	100
2004118	99.6
2004205	100
2004206	100
2005325	99.3
2005359	99.6
2006017	100
2007070	100
2007302	100
2007816	99.3
2007838	99.6
2007886	99.6
2008222	100
2009078	100
2009087	100
2009141	100
2009292	99.6

Accordingly, in one embodiment, the wild-type *C. difficile* TcdA amino acid sequence includes a sequence of at least about 500, 600, 700, or 800 contiguous residues, which has at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99%, or most preferably about 100% identity to a sequence of equal length between residues 1 to 900 of SEQ ID NO: 1 when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights. Examples include strains described above (e.g., R20291, CD196, etc) and those listed in Table 1.

In another embodiment, the wild-type *C. difficile* TcdA amino acid sequence includes a sequence having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, preferably about 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most

preferably about 100% identity to any sequence selected from SEQ ID NOs: 87-109 when optimally aligned. See Table 1-a.

Table 1-a: Wild-type *C. difficile* Strains	
C. difficile Strain ID	Toxin A, SEQ ID NO:
2004013	SEQ ID NO: 87
2004111	SEQ ID NO: 88
2004118	SEQ ID NO: 89
2004205	SEQ ID NO: 90
2004206	SEQ ID NO: 91
2005022	SEQ ID NO: 92
2005088	SEQ ID NO: 93
2005283	SEQ ID NO: 94
2005325	SEQ ID NO: 95
2005359	SEQ ID NO: 96
2006017	SEQ ID NO: 97
2006376	N/A
2007070	SEQ ID NO: 98
2007217	SEQ ID NO: 99
2007302	SEQ ID NO: 100
2007816	SEQ ID NO: 101
2007838	SEQ ID NO: 102
2007858	SEQ ID NO: 103
2007886	SEQ ID NO: 104
2008222	SEQ ID NO: 105
2009078	SEQ ID NO: 106
2009087	SEQ ID NO: 107
2009141	SEQ ID NO: 108
2009292	SEQ ID NO: 109
001	SEQ ID NO: 148
002	SEQ ID NO: 149
003	SEQ ID NO: 150

012 (004)	SEQ ID NO: 151
014	SEQ ID NO: 134
015	SEQ ID NO: 135
017	
020	SEQ ID NO: 136
023	SEQ ID NO: 137
027	SEQ ID NO: 138
029	SEQ ID NO: 139
046	SEQ ID NO: 140
053	SEQ ID NO: 168
059	
070	SEQ ID NO: 152
075	SEQ ID NO: 153
077	SEQ ID NO: 154
078	SEQ ID NO: 169
081	SEQ ID NO: 155
087	SEQ ID NO: 170
095	SEQ ID NO: 171
106	
117	SEQ ID NO: 156
126	SEQ ID NO: 172
131	SEQ ID NO: 157

The wild-type gene for TcdB has about 7098 nucleotides that encode a protein with a deduced molecular weight of about 270 kDa, having about 2366 amino acids. As used herein, a wild-type *C. difficile* TcdB includes a *C. difficile* TcdB from any wild-type *C. difficile* strain. A wild-type *C. difficile* TcdB may include a wild-type amino acid sequence having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to SEQ ID NO: 2 when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights. In a preferred embodiment, the wild-type *C. difficile* TcdB includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain 630 (also disclosed in GenBank accession number YP_001087135.1 and/or CAJ67492). SEQ ID NO: 10 describes the wild-type gene for TcdB from *C. difficile* strain 630, which is also disclosed in GenBank accession number NC_009089.1.

Another example of a wild-type *C. difficile* TcdB includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 21, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain R20291 (also disclosed in GenBank accession number YP_003217086.1 and/or CBE02479.1). The amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain R20291 has about 92% identity to SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 22 describes the wild-type gene for TcdB from *C. difficile* strain R20291, which is also disclosed in GenBank accession number NC_013316.1.

An additional example of a wild-type *C. difficile* TcdB includes an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 23, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain CD196 (also disclosed in GenBank accession number YP_003213639.1 and/or CBA61153.1). SEQ ID NO: 24 describes the wild-type gene for TcdB from *C. difficile* strain CD196, which is also disclosed in GenBank accession number NC_013315.1. The amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain CD196 has about 92% identity to SEQ ID NO: 2.

Further examples of an amino acid sequence for a wild-type *C. difficile* TcdB include SEQ ID NO: 25, which describes the wild-type amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain VPI10463 (also disclosed in GenBank accession number P18177 and/or CAA37298). The amino acid sequence for TcdB from *C. difficile* strain VPI10463 has 100% identity to SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 26 describes the wild-type gene for

TcdB from *C. difficile* strain VPI10463, which is also disclosed in GenBank accession number X53138.1.

Additional examples of a wild-type *C. difficile* TcdB include TcdB from wild-type *C. difficile* strains obtainable from the Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, GA). The inventors discovered that the amino acid sequence of TcdB from wild-type *C. difficile* strains obtainable from the CDC include at least about 96% to 100% identity, when optimally aligned, to amino acid residue 1 to 821 of SEQ ID NO: 2 (TcdB from *C. difficile* 630). See Table 2.

Table 2: wild-type *C. difficile* strains obtained from CDC and the % identity of amino acid residues 1-821 of TcdB from the respective wild-type *C. difficile* strain to amino acid residues 1-821 of SEQ ID NO: 2, when optimally aligned.

Table 2: Wild-type *C. difficile* Strains from CDC	
C. difficile Strain ID	Approximate % Amino Acid Identity to Residues 1-821 of SEQ ID NO: 2
2004013	96.0
2004111	100
2004118	96.0
2004206	100
2005022	100
2005325	96.7
2007302	100
2007816	96.7
2008222	100
2009078	100
2009087	100
2009141	100

Accordingly, in one embodiment, a wild-type *C. difficile* TcdB amino acid sequence includes a sequence of at least about 500, 600, 700, or 800 contiguous residues, which has at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, preferably about 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to a sequence of equal length between residues 1 to 900 of SEQ ID NO: 2 when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap

weights. Examples include strains described above (e.g., R20291, CD196, etc) and those listed in Table 2.

In another embodiment, the wild-type *C. difficile* TcdB amino acid sequence includes a sequence having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, preferably about 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to any sequence selected from SEQ ID NOs: 110-133 when optimally aligned. See Table 2-a.

Table 2-a Wild-type C. difficile Strains	
C. difficile Strain ID	Toxin B, SEQ ID NO:
2004013	SEQ ID NO: 110
2004111	SEQ ID NO: 111
2004118	SEQ ID NO: 112
2004205	SEQ ID NO: 113
2004206	SEQ ID NO: 114
2005022	SEQ ID NO: 115
2005088	SEQ ID NO: 116
2005283	SEQ ID NO: 117
2005325	SEQ ID NO: 118
2005359	SEQ ID NO: 119
2006017	SEQ ID NO: 120
2006376	SEQ ID NO: 121
2007070	SEQ ID NO: 122
2007217	SEQ ID NO: 123
2007302	SEQ ID NO: 124
2007816	SEQ ID NO: 125
2007838	SEQ ID NO: 126
2007858	SEQ ID NO: 127
2007886	SEQ ID NO: 128
2008222	SEQ ID NO: 129
2009078	SEQ ID NO: 130
2009087	SEQ ID NO: 131
2009141	SEQ ID NO: 132
2009292	SEQ ID NO: 133
001	SEQ ID NO: 158
002	SEQ ID NO: 159
003	SEQ ID NO: 160
012 (004)	SEQ ID NO: 161
014	SEQ ID NO: 141

015	SEQ ID NO: 142
017	
020	SEQ ID NO: 143
023	SEQ ID NO: 144
027	SEQ ID NO: 145
029	SEQ ID NO: 146
046	SEQ ID NO: 147
053	SEQ ID NO: 173
059	
070	SEQ ID NO: 162
075	SEQ ID NO: 163
077	SEQ ID NO: 164
078	SEQ ID NO: 174
081	SEQ ID NO: 165
087	SEQ ID NO: 175
095	SEQ ID NO: 176
106	
117	SEQ ID NO: 166
126	SEQ ID NO: 177
131	SEQ ID NO: 167

The genes for toxins A and B (*tcdA* and *tcdB*) are part of a 19.6-kb genetic locus (the pathogenicity locus, PaLoc) that includes 3 additional small open-reading frames (ORFs), *tcdD, tcdE*, and *tcdC*, and may be considered useful for virulence. The PaLoc is known to be stable and conserved in toxigenic strains. It is present at the same chromosomal integration site in all toxigenic strains that have been analyzed to date. In nontoxigenic strains, the pathogenicity locus (PaLoc) is not present. Accordingly, a characteristic of the wild-type *C. difficile* strains described herein is the presence of a pathogenicity locus. Another preferred characteristic of the wild-type *C. difficile* strains described herein is the production of both TcdA and TcdB.

In one embodiment, the wild-type *C. difficile* strain is a strain having a pathogenicity locus that is at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identical to that of *C. difficile* 630 or VPI10463. The total pathogenicity locus sequence of *C. difficile* VPI10463, is registered at the EMBL database with the sequence accession number X92982, also shown in SEQ ID NO: 26. Strains in which the PaLoc is identical to that of the reference strain VPI10463 are referred to as toxinotype 0. Strains of toxinotypes I-VII, IX, XII-XV, and XVIII-XXIV produce both TcdA and TcdB despite variations in their toxin genes.

At the N-terminus of the toxins, the glucosyltransferase domain is located. The glucosyltransferase activity of the toxins is associated with the cytotoxic function of the toxins. Without being bound by mechanism or theory, the glucosyltransferase activity in both toxins is believed to catalyze the monoglucosylation of small GTP-binding proteins in the Rho/Rac/Ras superfamily. After glucosylation of these GTP binding proteins, cellular physiology is modified dramatically, resulting in a loss of structural integrity and disruption of essential signaling pathways of the host cells infected by the toxins. The Asp-Xaa-Asp (DXD) motif, which is involved with manganese, uridine diphosphate (UDP), and glucose binding, is a typical characteristic for the glucosyltransferase domain. Without being bound by mechanism or theory, it is believed that residues critical for catalytic activity, such as the DXD motif, do not vary between a TcdB from a known “historical” strain, such as 630, and a TcdB from a hypervirulent strain, such as R20291. The DXD motif is located at residues 285 to 287 of a wild-type *C. difficile* TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1, and at residues 286 to 288 of a wild-type *C. difficile* TcdB, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

Global alignment algorithms (e.g., sequence analysis programs) are known in the art and may be used to optimally align two or more amino acid toxin sequences to determine if the toxin includes a particular signature motif (e.g., DXD in the glucosyltransferase domain, DHC in the cysteine protease domain described below, etc.). The optimally aligned sequence(s) are compared to a respective reference sequence (e.g., SEQ ID NO:1 for TcdA or SEQ ID NO: 2 for TcdB) to determine the existence of the signature motif. "Optimal alignment" refers to an alignment giving the highest percent identity score. Such alignment can be performed using known sequence analysis programs. In one embodiment, a CLUSTAL alignment (such as CLUSTALW) under default parameters is used to identify suitable wild-type toxins by comparing the query sequence against the reference sequence. The relative numbering of the conserved amino acid residues is based on the residue numbering of the reference amino acid sequence to account for small insertions or deletions (for example, five amino acids of less) within the aligned sequence.

As used herein, the term "according to the numbering of" refers to the numbering of the residues of a reference sequence when the given amino acid or polynucleotide sequence is compared to the reference sequence. In other words, the number or residue position of a given polymer is designated with respect to the reference sequence rather than by the actual numerical position of the residue within the given amino acid or polynucleotide sequence.

For example, a given amino acid sequence, such as that of a hypervirulent wild-type *C. difficile* strain, can be aligned to a reference sequence (e.g., such as that of a historical wild-type *C. difficile* strain, e.g., 630) by introducing gaps, if necessary, to optimize residue matches between the two sequences. In these cases, although the gaps are present, the numbering of the residue in the given amino acid or polynucleotide sequence is made with respect to the reference sequence to which it has been aligned. As used herein, a "reference sequence" refers to a defined sequence used as a basis for a sequence comparison.

Unless stated otherwise, all references herein to amino acid positions of a TcdA refer to the numbering of SEQ ID NO: 1. Unless stated otherwise, all references herein to amino acid positions of a TcdB refer to the numbering of SEQ ID NO: 2.

The glucosyltransferase domain of TcdA, as used herein, may begin at exemplary residue 1, 101, or 102, and may end at exemplary residue 542, 516, or 293

of a wild-type *C. difficile* TcdA, e.g., SEQ ID NO: 1. Any minimum residue position may be combined with a maximum residue position between residues 1 and 542 of TcdA to define a sequence for the glucosyltransferase domain as long as the DXD motif region is included. For example, in one embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdA includes SEQ ID NO: 27, which is identical to residues 101-293 of SEQ ID NO: 1, and it includes the DXD motif region. In another embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdA includes SEQ ID NO: 28, which is identical to residues 1-542 of SEQ ID NO: 1.

The glucosyltransferase domain of TcdB, as used herein, may begin at exemplary residue 1, 101, or 102, and may end at exemplary residue 543, 516, or 293 of a wild-type *C. difficile* TcdB, e.g., SEQ ID NO: 2. Any minimum residue position may be combined with a maximum residue position between residues 1 and 543 of TcdB to define a sequence for the glucosyltransferase domain as long as the DXD motif region is included. For example, in one embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdB includes SEQ ID NO: 29, which is identical to residues 101-293 of SEQ ID NO: 2, and it includes the DXD motif region. In another embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdB includes SEQ ID NO: 30, which is identical to residues 1-543 of SEQ ID NO: 2.

Without being bound to theory or mechanism, it is believed that the N-terminus of TcdA and/or TcdB is cleaved by an autoproteolytic process for the glucosyltransferase domain to be translocated and released into the host cell cytosol, where it can interact with Rac/Ras/Rho GTPases. Wild-type *C. difficile* TcdA has been shown to be cleaved between L542 and S543. Wild-type *C. difficile* TcdB has been shown to be cleaved between L543 and G544.

The cysteine protease domain is associated with the autocatalytic proteolytic activity of the toxin. The cysteine protease domain is located downstream of the glucosyltransferase domain and may be characterized by the catalytic triad aspartate, histidine, and cysteine (*DHC*), e.g., D589, H655, and C700 of a wild-type TcdA, and D587, H653, and C698 of a wild-type TcdB. Without being bound by mechanism or theory, it is believed that the catalytic triad is conserved between a toxin from a "historical" strain, such as 630, and a TcdB from a hypervirulent strain, such as R20291.

The cysteine protease domain of TcdA, as used herein, may begin at exemplary residue 543, and may end at exemplary residue 809 769, 768, or 767 of a wild-type TcdA, e.g., SEQ ID NO: 1. Any minimum residue position may be combined with a maximum residue position between 543 and 809 of a wild-type TcdA to define a

sequence for the cysteine protease domain as long as the catalytic triad DHC motif region is included. For example, in one embodiment, the cysteine protease domain of TcdA includes SEQ ID NO: 32, which has the DHC motif region located at residues 47, 113, and 158 of SEQ ID NO: 32, which respectively correspond to D589, H655, and C700 of a wild-type TcdA according to the numbering of SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 32 is identical to residues 543 to 809 of SEQ ID NO: 1, TcdA.

The cysteine protease domain of TcdB, as used herein, may begin at exemplary residue 544, and may end at exemplary residue 801, 767, 755, or 700 of a wild-type TcdB, e.g., SEQ ID NO: 2. Any minimum residue position may be combined with a maximum residue position between 544 and 801 of a wild-type TcdB to define a sequence for the cysteine protease domain as long as the catalytic triad DHC motif region is included. For example, in one embodiment, the cysteine protease domain of TcdB includes SEQ ID NO: 33, which includes the DHC motif region located at residues 44, 110, and 115 of SEQ ID NO: 33, which respectively correspond to D587, H653, and C698 of a wild-type TcdB according to the numbering of SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 33 is identical to residues 544 to 767 of SEQ ID NO: 2, TcdB. In another embodiment, the cysteine protease domain of TcdB includes residues 544-801 of SEQ ID NO: 2, TcdB.

In the present invention, the immunogenic composition includes a mutant *C. difficile* toxin. The term "mutant," as used herein, refers to a molecule that exhibits a structure or sequence that differs from the corresponding wild-type structure or sequence, e.g., by having crosslinks as compared to the corresponding wild-type structure and/or by having at least one mutation, as compared to the corresponding wild-type sequence when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights. The term "mutant" as used herein further includes a molecule that exhibits a functional property (e.g., abrogated glucosyltransferase and/or abrogated cysteine protease activity) that differs from the corresponding wild-type molecule.

A *C. difficile* toxin from any of the wild-type strains described above may be used as a source from which a mutant *C. difficile* toxin is produced. Preferably, *C. difficile* 630 is the source from which a mutant *C. difficile* toxin is produced.

The mutation may involve a substitution, deletion, truncation or modification of the wild type amino acid residue normally located at that position. Preferably, the mutation is a non-conservative amino acid substitution. The present invention also

contemplates isolated polynucleotides that include nucleic acid sequences encoding any of the mutant toxins described herein.

A “non-conservative” amino acid substitution, as used herein, refers to an exchange of an amino acid from one class for an amino acid from another class, according to the following Table 3:

Table 3: Amino Acid Classes

Class	Amino acid
Nonpolar:	Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Met (M), Phe (F), Trp (W)
Uncharged polar:	Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
Acidic:	Asp (D), Glu (E)
Basic:	Lys (K), Arg (R), His (H)

Examples of a non-conservative amino acid substitution include a substitution wherein an aspartic acid residue (Asp, D) is replaced by an alanine residue (Ala, A). Other examples include replacing an aspartic acid residue (Asp, D) with an asparagine residue (Asn, N); replacing an arginine (Arg, R), glutamic acid (Glu, E), lysine (Lys, K), and/or histidine (His, H) residue with an alanine residue (Ala, A).

A conservative substitution refers to an exchange between amino acids from the same class, for example, according to Table 3.

The mutant toxins of the invention may be prepared by techniques known in the art for preparing mutations, such as, for example, site-directed mutagenesis, mutagenesis using a mutagen (e.g., UV light), etc. Preferably, site-directed mutagenesis is used. Alternatively, a nucleic acid molecule having an objective sequence may be directly synthesized. Such chemical synthesis methods are known in the art.

In the present invention, the mutant *C. difficile* toxin includes at least one mutation in a glucosyltransferase domain, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. In one embodiment, the glucosyltransferase domain includes at least two mutations. Preferably, the mutation decreases or abrogates glucosyltransferase enzyme activity of the toxin, as compared to the glucosyltransferase enzyme activity of the corresponding wild-type *C. difficile* toxin.

Exemplary amino acid residues in a glucosyltransferase domain of TcdA that may undergo a mutation include at least one of the following, or any combination

thereof: W101, D269, R272, D285, D287, E460, R462, S541, and L542, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

Exemplary mutations in a glucosyltransferase domain of TcdA include at least one of the following, or any combination thereof: W101A, D269A, R272A, D285A, D287A, E460A, R462A, S541A, and L542G, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA. In a preferred embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdA includes a L542G mutation, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA. In another preferred embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdA includes a D285A and a D287A mutation, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA.

Exemplary amino acid residues in a glucosyltransferase domain of TcdB that may undergo a mutation include at least one of the following, or any combination thereof: W102, D270, R273, D286, D288, N384, D461, K463, W520, and L543, as compared to a wild-type *C. difficile* toxin B, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

Exemplary mutations in a glucosyltransferase domain of TcdB include at least one of the following, or any combination thereof: W102A, D270A, D270N, R273A, D286A, D288A, N384A, D461A, D461R, K463A, K463E, W520A, and L543A, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB. In a preferred embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdB includes a L543A, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB. In another preferred embodiment, the glucosyltransferase domain of TcdB includes a D286A and a D288A mutation, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB.

Any of the mutations described herein above may be combined with a mutation in a cysteine protease domain. In the present invention, the mutant *C. difficile* toxin includes at least one mutation in a cysteine protease domain, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. Preferably, the mutation decreases or abrogates cysteine protease activity of the toxin, as compared to the cysteine protease activity of the corresponding wild-type *C. difficile* toxin.

Exemplary amino acid residues in a cysteine protease domain of TcdA that may undergo a mutation include at least one of the following, or any combination thereof: S543, D589, H655, and C700, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1. Exemplary mutations in a glucosyltransferase domain of TcdA include at least one of the following, or any combination thereof: S543A,

D589A, D589N, H655A, C700A, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA. In a preferred embodiment, the cysteine protease domain of TcdA includes a C700A mutation, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdA.

Exemplary amino acid residues in a cysteine protease domain of TcdB that may undergo a mutation include at least one of the following, or any combination thereof: G544, D587, H653, and C698, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB, according to the numbering of SEQ ID NO: 2. Exemplary mutations in a glucosyltransferase domain of TcdB include at least one of the following, or any combination thereof: G544A, D587A, D587N, H653A, C698A, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB. In a preferred embodiment, the cysteine protease domain of TcdB includes a C698A mutation, as compared to a wild-type *C. difficile* TcdB. Additional amino acid residues in a cysteine protease domain of TcdB that may undergo a mutation include: K600 and/or R751, as compared to a wild-type TcdB. Exemplary mutations include K600E and/or R751E.

Accordingly, the inventive mutant *C. difficile* toxin includes a glucosyltransferase domain having a mutation and a cysteine protease domain having a mutation, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin.

An exemplary mutant *C. difficile* TcdA includes a glucosyltransferase domain including SEQ ID NO: 29 having an amino acid substitution at positions 285 and 287, and a cysteine protease domain comprising SEQ ID NO: 32 having an amino acid substitution at position 158, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin A. For example, such a mutant *C. difficile* TcdA includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the initial methionine is optionally not present. In another embodiment, the mutant mutant *C. difficile* toxin A includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84.

Further examples of a mutant *C. difficile* toxin A include the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 7, which has a D269A, R272A, D285A, D287A, E460A, R462A, and C700A mutation, as compared to SEQ ID NO: 1, wherein the initial methionine is optionally not present. In another embodiment, the mutant mutant *C. difficile* toxin A includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 83.

Another exemplary mutant TcdA includes SEQ ID NO: 34, wherein the residue at positions 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, and 700 may be any amino acid.

In some embodiments, the mutant *C. difficile* toxin exhibits decreased or abrogated autoproteolytic processing as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. For example, a mutant *C. difficile* TcdA may include a mutation at one of the following residues, or any combination thereof: S541, L542 and/or S543, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdA. Preferably, the mutant *C. difficile* TcdA includes at least one of the following mutations, or any combination thereof: S541A, L542G, and S543A, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdA.

Another exemplary mutant *C. difficile* TcdA includes a S541A, L542, S543 and C700 mutation, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdA.

An exemplary mutant *C. difficile* toxin B includes a glucosyltransferase domain comprising SEQ ID NO: 31 having an amino acid substitution at positions 286 and 288, and a cysteine protease domain comprising SEQ ID NO: 33 having an amino acid substitution at position 155, relative to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin B. For example, such a mutant *C. difficile* TcdB includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the initial methionine is optionally not present. In another embodiment, the mutant mutant *C. difficile* toxin A includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86.

Further examples of a mutant *C. difficile* TcdB include the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 8, which has a D270A, R273A, D286A, D288A, D461A, K463A, and C698A mutation, as compared to SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 8 wherein the initial methionine is optionally not present. In another embodiment, the mutant mutant *C. difficile* toxin A includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 85.

Another exemplary mutant TcdB includes SEQ ID NO: 35, wherein the residue at positions 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, and 700 may be any amino acid.

As another example, a mutant *C. difficile* TcdB may include a mutation at positions 543 and/or 544, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdB. Preferably, the mutant *C. difficile* TcdB includes a L543 and/or G544 mutation, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdB. More preferably, the mutant *C. difficile* TcdB includes a L543G and/or G544A mutation, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdB.

Another exemplary mutant *C. difficile* TcdB includes a L543G, G544A and C698 mutation, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* TcdB.

In one aspect, the invention relates to an isolated polypeptide having a mutation at any position from amino acid residue 1 to 1500 according to the numbering of SEQ ID NO: 2, to define an exemplary mutant *C. difficile* toxin B. For example, in one embodiment, the isolated polypeptide includes a mutation between amino acids residues 830 and 990 of SEQ ID NO: 2. Exemplary positions for mutations include positions 970 and 976 according to the numbering of SEQ ID NO: 2. Preferably, the mutation between residues 830 and 990 is a substitution. In one embodiment, the mutation is a non-conservative substitution wherein an Asp (D) and/or a Glu (E) amino acid residue is replaced by an amino acid residue that is not neutralized upon acidification, such as, for example, lysine (K), arginine (R), and histidine (H). Exemplary mutations include: E970K, E970R, E970H, E976K, E976R, E976H of SEQ ID NO: 2, to define a mutant *C. difficile* toxin B.

In another aspect, the invention relates to an isolated polypeptide having a mutation at any position from amino acid residue 1 to 1500 according to the numbering of SEQ ID NO: 1, to define an exemplary mutant *C. difficile* toxin A. For example, in one embodiment, the isolated polypeptide includes a mutation between amino acids residues 832 and 992 of SEQ ID NO: 1. Exemplary positions for mutations include positions 972 and 978 according to the numbering of SEQ ID NO: 1. Preferably, the mutation between residues 832 and 992 is a substitution. In one embodiment, the mutation is a non-conservative substitution wherein an Asp (D) and/or a Glu (E) amino acid residue is replaced by an amino acid residue that is not neutralized upon acidification, such as, for example, lysine (K), arginine (R), and histidine (H). Exemplary mutations include: D972K, D972R, D972H, D978K, D978R, D978H of SEQ ID NO: 1, to define a mutant *C. difficile* toxin A.

The polypeptides of the invention may include an initial methionine residue, in some cases as a result of a host cell-mediated process. Depending on, for example, the host cell used in a recombinant production procedure and/or the fermentation or growth conditions of the host cell, it is known in the art that the N-terminal methionine encoded by the translation initiation codon may be removed from a polypeptide after translation in cells or the N-terminal methionine may remain present in the isolated polypeptide.

Accordingly, in one aspect, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In one embodiment, the initial methionine of SEQ ID NO: 4 is absent. In one aspect, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84, which is identical to SEQ ID NO: 4, but for an absence of the initial methionine.

In another aspect, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In one embodiment, the initial methionine of SEQ ID NO: 6 is absent. In one aspect, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86, which is identical to SEQ ID NO: 6, but for an absence of the initial methionine.

In a further aspect, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 7, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In one embodiment, the invention relates to an isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 83, which is identical to SEQ ID NO: 7, but for an absence of the initial methionine. In yet another aspect, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 8, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In one embodiment, the isolated polypeptide includes the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 85, which is identical to SEQ ID NO: 8, but for an absence of the initial methionine.

In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 4, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In a further aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 7, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present. In yet another aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 8, wherein the initial methionine (at position 1) is optionally not present.

In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 83. In one aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 84. In one aspect, the invention relates to an immunogenic

composition including SEQ ID NO: 85. In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition including SEQ ID NO: 86.

In addition to generating an immune response in a mammal, the immunogenic compositions described herein also have reduced cytotoxicity compared to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. Preferably, the immunogenic compositions are safe and have minimal (e.g., about a 6-8 $\log_{10}$ reduction) to no cytotoxicity, relative to the cytotoxicity of a respective wild-type toxin, for administration in mammals.

As used herein, the term cytotoxicity is a term understood in the art and refers to apoptotic cell death and/or a state in which one or more usual biochemical or biological functions of a cell are aberrantly compromised, as compared to an identical cell under identical conditions but in the absence of the cytotoxic agent. Toxicity can be quantitated, for example, in cells or in mammals as the amount of an agent needed to induce 50% cell death (i.e., EC_{50} or ED_{50}, respectively) or by other methods known in the art.

Assays for indicating cytotoxicity are known in the art, such as cell rounding assays (see, for example, Kuehne et al. Nature. 2010 Oct 7;467(7316):711-3). The action of TcdA and TcdB causes cells to round (e.g., lose morphology) and die, and such a phenomenon is visible by light microscopy. See, for example, Figure 9.

Additional exemplary cytotoxicity assays known in the art include glucosylation assays relating to phosphorimaging of Ras labeled with [^{14}C]glucose assays (as described in Busch et al., J Biol Chem. 1998 Jul 31;273(31):19566-72), and preferably the *in vitro* cytotoxicity assay described in the Examples below wherein EC_{50} may refer to a concentration of an immunogenic composition that exhibits at least about 50% of cytopathogenic effect (CPE) in a cell, preferably a human diploid fibroblast cell (e.g., IMR90 cell (ATCC CCL-186™), as compared to an identical cell under identical conditions in the absence of the toxin. The *in vitro* cytotoxicity assay may also be used to assess the concentration of a composition that inhibits at least about 50% of a wild-type *C. difficile* toxin-induced cytopathogenic effect (CPE) in a cell, preferably a human diploid fibroblast cell (e.g., IMR90 cell (ATCC CCL-186™), as compared to an identical cell under identical conditions in the absence of the toxin. Additional exemplary cytotoxicity assays include those described in Doern et al., J Clin Microbiol. 1992 Aug;30(8):2042-6. Cytotoxicity can also be determined by measuring ATP levels in cells treated with toxin. For example, a luciferase based substrate such as

CELLTITERGLO® (Promega) may be used, which emits luminescence measured as a relative light unit (RLU). In such an assay, cell viability may be directly proportional to the amount of ATP in the cells or the RLU values.

In one embodiment, the cytotoxicity of the immunogenic composition is reduced by at least about 1000, 2000, 3000, 4000, 5000-, 6000-, 7000-, 8000-, 9000-, 10000-, 11000-, 12000-, 13000-fold, 14000-fold, 15000-fold, or more, as compared to the corresponding wild-type *C. difficile* toxin. See, for example, Table 20.

In another embodiment, the cytotoxicity of the immunogenic composition is reduced by at least about 2-$\log_{10}$, more preferably by about 3-$\log_{10}$, and most preferably by about 4-$\log_{10}$ or more, relative to the corresponding wild-type toxin under identical conditions. For example, a mutant *C. difficile* TcdB may have an EC_{50} value of about 10^{-9} g/ml as measured in a standard cytopathic effect assay (CPE), as compared to an exemplary wild-type *C. difficile* TcdB which may have an EC_{50} value of at least about 10^{-12} g/ml. See, for example, Tables 7A, 7B, 8A and 8B in the Examples section below.

In yet another embodiment, the cytotoxicity of the mutant *C. difficile* toxin has an EC_{50} of at least about 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml, 600 µg/ml, 700 µg/ml, 800 µg/ml, 900 µg/ml, 1000 µg/ml or greater, as measured by, for example, an *in vitro* cytotoxicity assay, such as one described herein. Accordingly, in a preferred embodiment, the immunogenic compositions and mutant toxins are biologically safe for administration to mammals.

Without being bound by mechanism or theory, a TcdA having a D285 and D287 mutation, as compared to a wild-type TcdA, and a TcdB having a D286 and a D288 mutation, as compared to a wild-type TcdB, were expected to be defective in glycosyltransferase activity and therefore defective in inducing a cytopathic effect. In addition, a toxin having a mutation in the DHC motif was expected to be defective in autocatalytic processing, and therefore be without any cytotoxic effects.

However, the inventors surprisingly discovered, among other things, that exemplary mutant TcdA having SEQ ID NO: 4 and exemplary mutant TcdB having SEQ ID NO: 6 unexpectedly exhibited cytotoxicity (albeit significantly reduced from wild-type *C. difficile* 630 toxins) despite exhibiting dysfunctional glucosyltransferase activity and dysfunctional cysteine protease activity. Without being bound by mechanism or theory, the mutant toxins are believed to effect cytotoxicity through a novel mechanism.

Nevertheless, the exemplary mutant TcdA having SEQ ID NO: 4 and exemplary mutant TcdB having SEQ ID NO: 6 were surprisingly immunogenic. See Examples below.

Although chemical crosslinking of a wild-type toxin has a potential to fail in inactivating the toxin, the inventors further discovered that chemically crosslinking at least one amino acid of a mutant toxin further reduced cytotoxicity of the mutant toxin, relative to an identical mutant toxin lacking chemical crosslinks, and relative to the corresponding wild-type toxin. Preferably, the mutant toxin is purified before contact with the chemical crosslinking agent.

Moreover, despite a potential of chemical crosslinking agents to alter useful epitopes, the inventors surprisingly discovered that a genetically modified mutant *C. difficile* toxin having at least one amino acid chemically crosslinked resulted in immunogenic compositions that elicited multiple neutralizing antibodies or binding fragments thereof. Accordingly, epitopes associated with neutralizing antibody molecules were unexpectedly retained following chemical crosslinking.

Crosslinking (also referred to as “chemical inactivation” or “inactivation” herein) is a process of chemically joining two or more molecules by a covalent bond. The terms “crosslinking reagents,” “crosslinking agents,” and “crosslinkers” refer to molecules that are capable of reacting with and/or chemically attaching to specific functional groups (primary amines, sulhydryls, carboxyls, carbonyls, etc) on peptides, polypeptides, and/or proteins. In one embodiment, the molecule may contain two or more reactive ends that are capable of reacting with and/or chemically attaching to specific functional groups (primary amines, sulhydryls, carboxyls, carbonyls, etc) on peptides, polypeptides, and/or proteins. Preferably, the chemical crosslinking agent is water-soluble. In another preferred embodiment, the chemical crosslinking agent is a heterobifunctional crosslinker. In another embodiment, the chemical crosslinking agent is not a bifunctional crosslinker. Chemical crosslinking agents are known in the art.

In a preferred embodiment, the crosslinking agent is a zero-length crosslinking agent. A "zero-length” crosslinker refers to a crosslinking agent that will mediate or produce a direct crosslink between functional groups of two molecules. For example, in the crosslinking of two polypeptides, a zero-length crosslinker will result in the formation of a bridge, or a crosslink between a carboxyl group from an amino acid side chain of one polypeptide, and an amino group of another polypeptide, without integrating extrinsic matter. Zero-length crosslinking agents can catalyze, for example, the

formation of ester linkages between hydroxyl and carboxyl moieties, and/or the formation of amide bonds between carboxyl and primary amino moieties.

Exemplary suitable chemical crosslinking agents include formaldehyde; formalin; acetaldehyde; propionaldehyde; water-soluble carbodiimides (RN=C=NR'), which include 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)-Carbodiimide (EDC), 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)-Carbodiimide Hydrochloride, 1-Cyclohexyl-3-(2-morpholinyl-(4-ethyl)carbodiimide metho-p-toluenesulfonate (CMC), N,N′-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), and N,N′-diisopropylcarbodiimide (DIC), and derivatives thereof; and N-hydroxysuccinimide (NHS); phenylglyoxal; and/or UDP-dialdehyde.

Preferably, the crosslinking agent is EDC. When a mutant *C. difficile* toxin polypeptide is chemically modified by EDC (e.g., by contacting the polypeptide with EDC), in one embodiment, the polypeptide includes **(a)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(b)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(c)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and the amino group of the N-terminus of the polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(d)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(e)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(f)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(g)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and the amino group of the N-terminus of a second isolated polypeptide. In one embodiment, the polypeptide includes **(h)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide. See, for example, Figure 24 and Figure 25.

The "second isolated polypeptide" refers to any isolated polypeptide that is present during the reaction with EDC. In one embodiment, the second isolated

polypeptide is a mutant *C. difficile* toxin polypeptide having an identical sequence as the first isolated polypeptide. In another embodiment, the second isolated polypeptide is a mutant *C. difficile* toxin polypeptide having a different sequence from the first isolated polypeptide.

In one embodiment, the polypeptide includes at least two modifications selected from the (a)-(d) modifications. In an exemplary embodiment, the polypeptide includes **(a)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide and **(b)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide. In a further embodiment, the polypeptide includes at least three modifications selected from the (a)-(d) modifications. In yet a further embodiment, the polypeptide includes the (a), (b), (c), and (d) modifications.

When more than one mutant polypeptide is present during chemical modification by EDC, in one embodiment, the resulting composition includes at least one of any of the (a)-(h) modifications. In one embodiment, the composition includes at least two modifications selected from the (a)-(h) modifications. In a further embodiment, the composition includes at least three modifications selected from the (a)-(h) modifications. In yet a further embodiment, the composition includes at least four modifications selected from the (a)-(h) modifications. In another embodiment, the composition includes at least one of each of the (a)-(h) modifications.

In an exemplary embodiment, the resulting composition includes **(a)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; and **(b)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide. In one embodiment, the composition further includes **(c)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and the amino group of the N-terminus of the polypeptide; and **(d)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide.

In another exemplary embodiment, the resulting composition includes **(e)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide; **(f)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a

lysine residue of a second isolated polypeptide; **(g)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and the amino group of the N-terminus of a second isolated polypeptide; and **(h)** at least one crosslink between the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide.

In a further exemplary embodiment, the resulting composition includes **(a)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; **(b)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; **(e)** at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide; and **(f)** at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of a second isolated polypeptide.

In a preferred embodiment, the chemical crosslinking agent includes formaldehyde, more preferably, an agent including formaldehyde in the absence of lysine. Glycine or other appropriate compound with a primary amine can be used as the quencher in crosslinking reactions. Accordingly, in another preferred embodiment, the chemical agent includes formaldehyde and use of glycine.

In yet another preferred embodiment, the chemical crosslinking agent includes EDC and NHS. As is known in the art, NHS may be included in EDC coupling protocols. However, the inventors surprisingly discovered that NHS may facilitate in further decreasing cytotoxicity of the mutant *C. difficile* toxin, as compared to the corresponding wild-type toxin, as compared to a genetically mutated toxin, and as compared to a genetically mutated toxin that has been chemically crosslinked by EDC. See, for example, Example 22. Accordingly, without being bound by mechanism or theory, a mutant toxin polypeptide having a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide (e.g., resulting from a reaction of the mutant toxin polypeptide, EDC, and NHS) may facilitate in further decreasing cytotoxicity of the mutant toxin, as compared to, for example, a *C. difficile* toxin (wild-type or mutant) wherein a beta-alanine moiety is absent.

Use of EDC and/or NHS may also include use of glycine or other appropriate compound with a primary amine as the quencher. Any compound having a primary

amine may be used as a quencher, such as, for example glycine methyl ester and alanine. In a preferred embodiment, the quencher compound is a non-polymeric hydrophilic primary amine. Examples of a non-polymeric hydrophilic primary amine include, for example, amino sugars, amino alcohols, and amino polyols. Specific examples of a non-polymeric hydrophilic primary amine include glycine, ethanolamine, glucamine, amine functionalized polyethylene glycol, and amine functionalized ethylene glycol oligomers.

In one aspect, the invention relates to a mutant *C. difficile* toxin polypeptide having at least one amino acid side chain chemically modified by EDC and a non-polymeric hydrophilic primary amine, preferably glycine. The resulting glycine adducts (e.g., from a reaction of triple mutant toxins treated with EDC, NHS, and quenched with glycine) may facilitate in decreasing cytotoxicity of the mutant toxin as compared to the corresponding wild-type toxin.

In one embodiment, when a mutant *C. difficile* toxin polypeptide is chemically modified by EDC and glycine, the polypeptide includes at least one modification when the polypeptide is modified by EDC (e.g., at least one of any of the (a)-(h) modifications described above), and at least one of the following exemplary modifications: **(i)** a glycine moiety linked to the carboxyl group at the C-terminus of the polypeptide; **(j)** a glycine moiety linked to a side chain of at least one aspartic acid residue of the polypeptide; and **(k)** a glycine moiety linked to a side chain of at least one glutamic acid residue of the polypeptide. See, for example, Figure 24 and Figure 25.

In one embodiment, at least one amino acid of the mutant *C. difficile* TcdA is chemically crosslinked and/or at least one amino acid of the mutant *C. difficile* TcdB is chemically crosslinked. In another embodiment, at least one amino acid of SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, and/or SEQ ID NO: 8 is chemically crosslinked. For example, the at least one amino acid may be chemically crosslinked by an agent that includes a carbodiimide, such as EDC. Carbodiimides may form a covalent bond between free carboxyl (e.g., from the side chains of aspartic acid and/or glutamic acid) and amino groups (e.g., in the side chain of lysine residues) to form stable amide bonds.

As another example, the at least one amino acid may be chemically crosslinked by an agent that includes NHS. NHS ester-activated crosslinkers may react with

primary amines (e.g., at the N-terminus of each polypeptide chain and/or in the side chain of lysine residues) to yield an amide bond.

In another embodiment, the at least one amino acid may be chemically crosslinked by an agent that includes EDC and NHS. For example, in one embodiment, the invention relates to an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein the polypeptide includes at least one amino acid side chain chemically modified by EDC and NHS. In another embodiment, the invention relates to an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein the polypeptide includes at least one amino acid side chain chemically modified by EDC and NHS. In yet another embodiment, the invention relates to an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 7, or SEQ ID NO: 8. The polypeptide is modified by contacting the polypeptide with EDC and NHS. See, for example, Figure 24 and Figure 25.

When a mutant *C. difficile* toxin polypeptide is chemically modified by (e.g., by contacting) EDC and NHS, in one embodiment, the polypeptide includes at least one modification when the polypeptide is modified by EDC (e.g., at least one of any of the (a)-(h) modifications described above), and **(l)** a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide.

In another aspect, the invention relates to a mutant *C. difficile* toxin polypeptide wherein the polypeptide includes at least one amino acid side chain chemically modified by EDC, NHS, and a non-polymeric hydrophilic primary amine, preferably glycine. In one embodiment, the polypeptide includes at least one modification when the polypeptide is modified by EDC (e.g., at least one of any of the (a)-(h) modifications described above), at least one modification when the polypeptide is modified by glycine (e.g., at least one of any of the (i)-(k) modifications described above), and (l) a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide. See, for example, Figure 24 and Figure 25.

In one aspect, the invention relates to a mutant *C. difficile* toxin polypeptide, wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety. In one embodiment, a side chain of a second lysine residue of the polypeptide is linked to a side chain of an aspartic acid residue and/or to a side chain of

a glutamic acid residue. The "second" lysine residue of the polypeptide includes a lysine residue of the polypeptide that is not linked to a beta-alanine moiety. The side chain of an aspartic acid and/or the side chain of a glutamic acid to which the second lysine residue is linked may be that of the polypeptide to form an intra-molecular crosslink, or that of a second polypeptide to form an inter-molecular crosslink. In another embodiment, a side chain of at least one aspartic acid residue and/or a side chain of at least one glutamic acid residue of the polypeptide is linked to a glycine moiety. The aspartic acid residue and/or the glutamic acid residue that is linked to a glycine moiety is not also linked to a lysine residue.

As yet another example of a chemically crosslinked mutant *C. difficile* toxin polypeptide, the at least one amino acid may be chemically crosslinked by an agent that includes formaldehyde. Formaldehyde may react with the amino group of an N-terminal amino acid residue and the side-chains of arginine, cysteine, histidine, and lysine. Formaldehyde and glycine may form a Schiff-base adduct, which may attach to primary N-terminal amino groups, arginine, and tyrosine residues, and to a lesser degree asparagine, glutamine, histidine, and tryptophan residues.

A chemical crosslinking agent is said to reduce cytotoxicity of a toxin if the treated toxin has less toxicity (e.g., about 100%, 99%, 95%, 90%, 80%, 75%, 60%, 50%, 25%, or 10% less toxicity) than untreated toxin under identical conditions, as measured, for example, by an *in vitro* cytotoxicity assay, or by animal toxicity.

Preferably, the chemical crosslinking agent reduces cytotoxicity of the mutant *C. difficile* toxin by at least about a 2-$\log_{10}$ reduction, more preferably about a 3-$\log_{10}$ reduction, and most preferably about a 4-$\log_{10}$ or more, relative to the mutant toxin under identical conditions but in the absence of the chemical crosslinking agent. As compared to the wild-type toxin, the chemical crosslinking agent preferably reduces cytotoxicity of the mutant toxin by at least about a 5-$\log_{10}$ reduction, about a 6-$\log_{10}$ reduction, about a 7-$\log_{10}$ reduction, about an 8-$\log_{10}$ reduction, or more.

In another preferred embodiment, the chemically inactivated mutant *C. difficile* toxin exhibits EC_{50} value of greater than or at least about 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml, 600 µg/ml, 700 µg/ml, 800 µg/ml, 900 µg/ml, 1000 µg/ml or greater, as measured by, for example, an *in vitro* cytotoxicity assay, such as one described herein.

Reaction conditions for contacting the mutant toxin with the chemical crosslinking agent are within the scope of expertise of one skilled in the art, and the conditions may vary depending on the agent used. However, the inventors surprisingly discovered optimal reaction conditions for contacting a mutant *C. difficile* toxin polypeptide with a chemical crosslinking agent, while retaining functional epitopes and decreasing cytotoxicity of the mutant toxin, as compared to the corresponding wild-type toxin.

Preferably, the reaction conditions are selected for contacting a mutant toxin with the crosslinking agent, wherein the mutant toxin has a minimum concentration of about 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0 mg/ml to a maximum of about 3.0, 2.5, 2.0, 1.5, or 1.25 mg/ml. Any minimum value may be combined with any maximum value to define a range of suitable concentrations of a mutant toxin for the reaction. Most preferably, the mutant toxin has a concentration of about 1.0 – 1.25 mg/ml for the reaction.

In one embodiment, the agent used in the reaction has a minimum concentration of about 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, or 50 mM, and a maximum concentration of about 100 mM, 90 mM, 80 mM, 70 mM, 60 mM, or 50 mM. Any minimum value may be combined with any maximum value to define a range of suitable concentrations of the chemical agent for the reaction.

In a preferred embodiment wherein the agent includes formaldehyde, the concentration used is preferably any concentration between about 2 mM to 80 mM, most preferably about 40 mM. In another preferred embodiment wherein the agent includes EDC, the concentration used is preferably any concentration between about 1.3 mM to about 13 mM, more preferably about 2 mM to 3 mM, most preferably about 2.6 mM.

Exemplary reaction times in which the mutant toxin is contacted with the chemical crosslinking agent include a minimum of about 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36, 48, or 60 hours, and a maximum of about 14 days, 12 days, 10 days, 7 days, 5 days, 3 days, 2 days, 1 day, or 12 hours. Any minimum value may be combined with any maximum value to define a range of suitable reaction times.

In a preferred embodiment, the step of contacting the mutant toxin with the chemical crosslinking agent occurs for a period of time that is sufficient to reduce cytotoxicity of the mutant *C. difficile* toxin to an EC_{50} value of at least about 1000 µg/ml in a suitable human cell, e.g., IMR-90 cells, in a standard *in vitro* cytotoxicity assay, as compared to an identical mutant toxin in the absence of the crosslinking agent. More

preferably, the reaction step is carried out for a time that is at least twice as long, and most preferably at least three times as long or more, as the period of time sufficient to reduce the cytotoxicity of the mutant toxin to an EC_{50} value of at least about 1000 µg/ml in a suitable human cell. In one embodiment, the reaction time does not exceed about 168 hours (or 7 days).

For example, in one embodiment wherein the agent includes formaldehyde, the mutant toxin is preferably contacted with the agent for about 12 hours, which was shown to be an exemplary period of time that was sufficient to reduce cytotoxicity of the mutant *C. difficile* toxin to an EC_{50} value of at least about 1000 µg/ml in a suitable human cell, e.g., IMR-90 cells, in a standard *in vitro* cytotoxicity assay, as compared to an identical mutant toxin in the absence of the crosslinking agent. In a more preferred embodiment, the reaction is carried out for about 48 hours, which is at least about three times as long as a sufficient period of time for the reaction. In such an embodiment, the reaction time is preferably not greater than about 72 hours.

In another embodiment wherein the agent includes EDC, the mutant toxin is preferably contacted with the agent for about 0.5 hours, more preferably at least about 1 hour, or most preferably about 2 hours. In such an embodiment, the reaction time is preferably not greater than about 6 hours.

Exemplary pH at which the mutant toxin is contacted with the chemical crosslinking agent include a minimum of about pH 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, or 7.5, and a maximum of about pH 8.5, 8.0, 7.5, 7.0, or 6.5. Any minimum value may be combined with any maximum value to define a range of suitable pH. Preferably, the reaction occurs at pH 6.5 to 7.5, preferably at pH 7.0.

Exemplary temperatures at which the mutant toxin is contacted with the chemical crosslinking agent include a minimum of about 2°C, 4°C, 10°C, 20°C, 25°C, or 37°C, and a maximum temperature of about 40°C, 37°C, 30°C, 27°C, 25°C, or 20°C. Any minimum value may be combined with any maximum value to define a range of suitable reaction temperature. Preferably, the reaction occurs at about 20°C to 30°C, most preferably at about 25°C.

The immunogenic compositions described above may include one mutant *C. difficile* toxin (A or B). Accordingly, the immunogenic compositions can occupy separate vials (e.g., a separate vial for a composition including mutant *C. difficile* toxin A and a separate vial for a composition including mutant *C. difficile* toxin B) in the preparation or

kit. The immunogenic compositions may be intended for simultaneous, sequential, or separate use.

In another embodiment, the immunogenic compositions described above may include both mutant *C. difficile* toxins (A and B). Any combination of mutant *C. difficile* toxin A and mutant *C. difficile* toxin B described may be combined for an immunogenic composition. Accordingly, the immunogenic compositions can be combined in a single vial (e.g., a single vial containing both a composition including mutant *C. difficile* TcdA and a composition including mutant *C. difficile* TcdB). Preferably, the immunogenic compositions include a mutant *C. difficile* TcdA and a mutant *C. difficile* TcdB.

For example, in one embodiment, the immunogenic composition includes SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is chemically crosslinked. In another embodiment, the immunogenic composition includes a mutant *C. difficile* toxin A, which includes SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7, and a mutant *C. difficile* toxin B, which comprises SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8, wherein at least one amino acid of each of the mutant *C. difficile* toxins is chemically crosslinked.

In another embodiment, the immunogenic composition includes any sequence selected from SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 84, and SEQ ID NO: 83, and any sequence seletected from SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 86, and SEQ ID NO: 85. In another embodiment, the immunogenic composition includes SEQ ID NO: 84 and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 86. In another embodiment, the immunogenic composition includes SEQ ID NO: 83 and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 85. In another embodiment, the immunogenic composition includes SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 86, and SEQ ID NO: 85.

It is understood that any of the inventive compositions, for example, immunogenic compositions including a mutant toxin A and/or mutant toxin B, can be combined in different ratios or amounts for therapeutic effect. For example, the mutant *C. difficile* TcdA and mutant *C. difficile* TcdB can be present in a immunogenic composition at a ratio in the range of 0.1:10 to 10:0.1, A:B. In another embodiment, for example, the mutant *C. difficile* TcdB and mutant *C. difficile* TcdA can be present in a immunogenic composition at a ratio in the range of 0.1:10 to 10:0.1, B:A. In one preferred embodiment, the ratio is such that the composition includes a greater total amount of a mutant TcdB than a total amount of mutant TcdA.

In one aspect, an immunogenic composition is capable of binding to a neutralizing antibody or binding fragment thereof. Preferably, the neutralizing antibody or binding fragment thereof is one described herein below. In one exemplary embodiment, an immunogenic composition is capable of binding to an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof, wherein the anti-toxin A antibody or binding fragment thereof includes a variable light chain having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 36 and a variable heavy chain having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 37. For example, the immunogenic composition may include a mutant *C. difficile* TcdA, SEQ ID NO: 4, or SEQ ID NO: 7. As another example, the immunogenic composition may include SEQ ID NO: 84 or SEQ ID NO: 83.

In another exemplary embodiment, an immunogenic composition is capable of binding to an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof, wherein the anti-toxin B antibody or binding fragment thereof includes a variable light chain of B8-26 and a variable heavy chain of B8-26. For example, the immunogenic composition may include a mutant *C. difficile* TcdB, SEQ ID NO: 6, or SEQ ID NO: 8. As another example, the immunogenic composition may include SEQ ID NO: 86 or SEQ ID NO: 85.

Recombinant cell

In another aspect, the invention relates to a recombinant cell or progeny thereof. In one embodiment, the cell or progeny thereof includes a polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* TcdA and/or a mutant *C. difficile* TcdB.

In another embodiment, the recombinant cell or progeny thereof includes a nucleic acid sequence that encodes a polypeptide having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to any of SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, or SEQ ID NO: 8, when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights.

In another embodiment, the recombinant cell or progeny thereof includes a nucleic acid sequence that encodes a polypeptide having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to any of SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 83, or SEQ ID NO: 85, when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights.

In an additional embodiment, the recombinant cell or progeny thereof includes nucleic acid sequence having at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to any of SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, or SEQ ID NO: 47, when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights.

The recombinant cell may be derived from any cell useful in the recombinant production of a polypeptide of the present invention, e.g., a prokaryote or a eukaryote. Preferably, the recombinant cell is derived from any cell that is suitable for expressing heterologous nucleic acid sequences greater than about 5000, 6000, preferably about 7000, and more preferably about 8000 nucleotides or more. The prokaryotic host cell may be any gram-negative or gram-positive bacterium. In exemplary embodiments, the prokaryotic host cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin and/or spore.

Gram-negative bacteria include, but are not limited to, *Campylobacter, E. coli, Flavobacterium, Fusobacterium, Helicobacter, Ilyobacter, Neisseria, Pseudomonas, Salmonella*, and *Ureaplasma.* For example, the recombinant cell may be derived from a

Pseudomonas fluorescens cell, as described in US Patent application publication 2010013762, paragraphs [0201]-[0230], which is incorporated herein by reference.

Gram-positive bacteria include, but are not limited to, *Bacillus, Clostridium, Enterococcus, Geobacillus, Lactobacillus, Lactococcus, Oceanobacillus, Staphylococcus, Streptococcus*, and *Streptomyces*. Preferably, the cell is derived from a *C. difficile* cell.

The inventors identified strains of wild-type *C. difficile* that lack an endogenous polynucleotide encoding a *C. difficile* toxin. The strains lacking endogenous toxin A and B genes include the following strains, which are available through the American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA): *C. difficile* 1351 (ATCC 43593™), *C. difficile* 3232 (ATCC BAA-1801™), *C. difficile* 7322 (ATCC 43601™), *C. difficile* 5036 (ATCC 43603™), *C. difficile* 4811 (ATCC 43602™), and *C. difficile* VPI 11186 (ATCC 700057™).

Accordingly, in one embodiment, the recombinant *C. difficile* cell is derived from a strain described herein. Preferably, the recombinant *C. difficile* cell or progeny thereof is derived from the group consisting of *C. difficile* 1351, *C. difficile* 5036, and *C. difficile* VPI 11186. More preferably, the recombinant *C. difficile* cell or progeny thereof is derived from a *C. difficile* VPI 11186 cell.

In a preferred embodiment, the sporulation gene of the recombinant *C. difficile* cell or progeny thereof is inactivated. Spores may be infective, highly resistant, and facilitate the persistence of *C. difficile* in aerobic environments outside of the host. Spores may also contribute to survival of *C. difficile* inside the host during antimicrobial therapy. Accordingly, a *C. difficile* cell lacking a sporulation gene is useful to produce a safe immunogenic composition for administration to mammals. In addition, use of such cells facilitates safety during manufacturing, e.g., safety to protect the facility, future products, and staff.

Examples of sporulation genes for targeted inactivation include, *inter alia*, *spo0A, spoIIE,* σ^E, σ^G, *and* σ^K. Preferably, the *spo0A* gene is inactivated.

Methods of inactivating a *C. difficile* sporulation gene are known in the art. For example, a sporulation gene may be inactivated by targeted insertion of a selectable marker, such as, an antibiotic resistance marker. See, for example, Heap et al., *J Microbiol Methods.* 2010 Jan;80(1):49-55; Heap et al., *J. Microbiol. Methods*, 2007 Sept; 70(3):452-464; and Underwood et al., *J Bacteriol.* 2009 Dec;191(23):7296-305.

See also, for example, Minton et al., WO2007/148091, entitled, “DNA Molecules and Methods,” incorporated herein by reference in its entirety from pages 33-66, or the corresponding US publication US 20110124109 A1, paragraphs [00137]-[0227].

Method of Producing a Mutant *C. difficile* Toxin

In one aspect, the invention relates to a method of producing a mutant *C. difficile* toxin. In one embodiment, the method includes culturing any recombinant cell or progeny thereof described above, under suitable conditions to express a polypeptide.

In another embodiment, the method includes culturing a recombinant cell or progeny thereof under suitable conditions to express a polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* toxin, wherein the cell includes the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin, and wherein the mutant includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin. In one embodiment, the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

In a further embodiment, the method includes culturing a recombinant *C. difficile* cell or progeny thereof under suitable conditions to express a polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* toxin, wherein the cell includes the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin and the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a *C. difficile* toxin.

In another aspect, the invention relates to a method of producing a mutant *C. difficile* toxin. The method includes the steps of: (a) contacting a *C. difficile* cell with a recombinant *Escherichia coli* cell, wherein the *C. difficile* cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a *C. difficile* toxin and the *E. coli* cell includes a polynucleotide that encodes a mutant *C. difficile* toxin; (b) culturing the *C. difficile* cell and the *E. coli* cell under suitable conditions for transfer of the polynucleotide from the *E. coli* cell to the *C. difficile* cell; (c) selecting the *C. difficile* cell comprising the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin; (d) culturing the *C. difficile* cell of step (c) under suitable conditions to express the polynucleotide; and (e) isolating the mutant *C. difficile* toxin.

In the inventive method, the recombinant *E. coli* cell includes a heterologous polynucleotide that encodes the mutant *C. difficile* toxin, described herein. The polynucleotide may be DNA or RNA. In one exemplary embodiment, the polynucleotide that encodes the mutant *C. difficile* toxin is codon-optimized for *E. coli* codon usage. Methods for codon-optimizing a polynucleotide are known in the art.

In one embodiment, the polynucleotide includes a nucleic acid sequence that is at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a polynucleotide

encoding a mutant *C. difficile* TcdA, as described above. An exemplary polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* toxin A includes SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 44, and SEQ ID NO: 45.

In another embodiment, the polynucleotide includes a nucleic acid sequence that is at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* TcdB, as described above. An exemplary polynucleotide encoding a mutant *C. difficile* toxin B includes SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 46, and SEQ ID NO: 47. In another embodiment, the polynucleotide encodes SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, or SEQ ID NO: 86.

In one embodiment, the *E. coli* cell that includes the heterologous polynucleotide is an *E. coli* cell that stably hosts the heterologous polynucleotide, which encodes the mutant *C. difficile* toxin. Exemplary *E. coli* cells include a cell selected from the group consisting of MAX Efficiency® Stbl2™ *E. coli* Competent Cells (Invitrogen, Carlsbad, CA), One Shot® Stbl3™ Chemically Competent*E. coli* (Invitrogen, Carlsbad, CA), ElectroMAX™ Stbl4™ *E. coli* Competent Cells (Invitrogen , and *E. coli* CA434. In a preferred embodiment, the *E. coli* cloning host cell is not DH5α. More preferably, the *E. coli* cloning host cell is a MAX Efficiency® Stbl2™ *E. coli* Competent Cell.

The inventive method further includes a step of culturing the *C. difficile* cell and the *E. coli* cell under suitable conditions for transfer of the polynucleotide from the *E. coli* cell to the *C. difficile* cell, resulting in a recombinant *C. difficile* cell. In a preferred embodiment, the culture conditions are suitable for transfer of the polynucleotide from the *E. coli* cell (the donor cell) into the *C. difficile* cell (the recipient cell), and resulting in a genetically stable inheritance.

Most preferably, the culture conditions are suitable for bacterial conjugation, which are known in the art. “Conjugation” refers to a particular process of transferring a polynucleotide in which a unidirectional transfer of a polynucleotide (e.g., from a bacterial plasmid) occurs from one bacterium cell (i.e., the “donor”) to another (i.e., the “recipient”). The conjugation process involves donor cell-to-recipient cell contact. Preferably, the donor *E. coli* cell is an *E. coli* CA434 cell.

Exemplary suitable (conjugation) conditions for transferring of the polynucleotide from the *E. coli* cell to the *C. difficile* cell include growing liquid cultures of *C. difficile* in brain heart infusion broth (BHI; Oxoid) or Schaedlers anaerobic broth (SAB; Oxoid). In

another embodiment, solid *C. difficile* cultures may be grown on fresh blood agar (FBA) or BHI agar. Preferably, the *C. difficile* is grown at 37°C in an anaerobic environment (e.g., 80% N_2, 10% CO_2, and 10% H_2 [vol/vol]). In one embodiment, the suitable condition includes growing the *E. coli* aerobically in Luria-Bertani (LB) broth or on LB agar at 37°C. For conjugative transfer to *C. difficile*, an exemplary suitable condition includes growing *E. coli* anaerobically on FBA. Antibiotics may be included in the liquid and solid media as is known in the art. Examples of such antibiotics include cycloserine (250 µg/ml), cefoxitin (8 µg/ml), chloramphenicol (12.5 µg/ml), thiamphenicol (15 µg/ml), and erythromycin (5 µg/ml).

The inventive method additionally includes a step of selecting the resulting recombinant *C. difficile* cell that includes the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin. In an exemplary embodiment, the recombinant *C. difficile* cell is a recipient of the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin from the recombinant *E. coli* cell via conjugation.

The inventive method includes a step of culturing the recombinant cell or progeny thereof under suitable conditions to express the polynucleotide encoding the mutant *C. difficile* toxin, resulting in production of a mutant *C. difficile* toxin. Suitable conditions for a recombinant cell to express the polynucleotide include culture conditions suitable for growing a *C. difficile* cell, which are known in the art. For example, suitable conditions may include culturing the *C. difficile* transformants in brain heart infusion broth (BHI; Oxoid) or Schaedlers anaerobic broth (SAB; Oxoid). In another embodiment, solid *C. difficile* cultures may be grown on FBA or BHI agar. Preferably, the *C. difficile* is grown at 37°C in an anaerobic environment (e.g., 80% N_2, 10% CO_2, and 10% H_2 [vol/vol]).

In one embodiment, the inventive method includes a step of isolating the resulting mutant *C. difficile* toxin. Methods of isolating a protein from *C. difficile* are known in the art.

In another embodiment, the method includes a step of purifying the resulting mutant *C. difficile* toxin. Methods of purifying a polypeptide, such as chromatography, are known in the art.

In an exemplary embodiment, the method further includes a step of contacting the isolated mutant *Clostridium difficile* toxin with a chemical crosslinking agent described above. Preferably, the agent includes formaldehyde, ethyl- 3-(3-

dimethylaminopropyl) carbodiimide, or a combination of EDC and NHS. Exemplary reaction conditions are described above and in the Examples section below.

In another aspect, the invention relates to an immunogenic composition including a mutant *C. difficile* toxin described herein, produced by any method, preferably by any of the methods described above.

Antibodies

Surprisingly, the inventive immunogenic compositions described above elicited novel antibodies *in vivo*, suggesting that the immunogenic compositions include a preserved native structure (e.g., a preserved antigenic epitope) of the respective wild-type *C. difficile* toxin and that the immunogenic compositions include an epitope. The antibodies produced against a toxin from one strain of *C. difficile* may be capable of binding to a corresponding toxin produced by another strain of *C. difficile*. That is, the antibodies and binding fragments thereof may by "cross-reactive," which refers to the ability to react with similar antigenic sites on toxins produced from multiple *C. difficile* strains. Cross-reactivity also includes the ability of an antibody to react with or bind an antigen that did not stimulate its production, i.e., the reaction between an antigen and an antibody that was generated against a different but similar antigen.

In one aspect, the inventors surprisingly discovered monoclonal antibodies having a neutralizing effect on *C. difficile* toxins, and methods of producing the same. The inventive antibodies can neutralize *C. difficile* toxin cytotoxicity *in vitro*, inhibit binding of *C. difficile* toxin to mammalian cells, and/or can neutralize *C. difficile* toxin enterotoxicity *in vivo*. The present invention also relates to isolated polynucleotides that include nucleic acid sequences encoding any of the foregoing. In addition, the present invention relates to use of any of the foregoing compositions to treat, prevent, decrease the risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay the outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition is not administered, as well as methods for preparing said compositions.

The inventors further discovered that a combination of at least two of the neutralizing monoclonal antibodies can exhibit an unexpectedly synergistic effect in respective neutralization of TcdA or TcdB. Anti-toxin antibodies or binding fragments thereof can be useful in the inhibition of a *C. difficile* infection.

An "antibody" is a protein including at least one or two heavy (H) chain variable regions (abbreviated herein as VH), and at least one or two light (L) chain variable regions (abbreviated herein as VL). The VH and VL regions can be further subdivided into regions of hypervariability, termed "complementarity determining regions" ("CDR"), interspersed with regions that are more conserved, termed "framework regions" (FR). The extent of the framework region and CDRs has been precisely defined (see, Kabat,

E. A., et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest* , Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991, and Chothia, C. et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987). The term "antibody" includes intact immunoglobulins of types IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (as well as subtypes thereof), wherein the light chains of the immunoglobulin may be of types kappa or lambda.

The antibody molecules can be full-length (e.g., an IgG1 or IgG4 antibody). The antibodies can be of the various isotypes, including: IgG (e.g., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA1, IgA2, IgD, or IgE. In one preferred embodiment, the antibody is an IgG isotype, e.g., IgG1. In another preferred embodiment, the antibody is an IgE antibody.

In another embodiment, the antibody molecule includes an "antigen-binding fragment" or "binding fragment," as used herein, which refers to a portion of an antibody that specifically binds to a toxin of *C. difficile* (e.g., toxin A). The binding fragment is, for example, a molecule in which one or more immunoglobulin chains is not full length, but which specifically binds to a toxin.

Examples of binding portions encompassed within the term "binding fragment" of an antibody include (i) a Fab fragment, a monovalent fragment consisting of the VL, VH, CL and CH1 domains; (ii) a $F(ab')_2$ fragment, a bivalent fragment comprising two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region; (iii) a Fd fragment consisting of the VH and CH1 domains; (iv) a Fv fragment consisting of the VL and VH domains of a single arm of an antibody, (v) a dAb fragment (Ward et al., *Nature* 341:544-546, 1989), which consists of a VH domain; and (vi) an isolated complementarity determining region (CDR) having sufficient framework to specifically bind, e.g., an antigen binding portion of a variable region.

A binding fragment of a light chain variable region and a binding fragment of a heavy chain variable region, e.g., the two domains of the Fv fragment, VL and VH, can be joined, using recombinant methods, by a synthetic linker that enables them to be made as a single protein chain in which the VL and VH regions pair to form monovalent molecules (known as single chain Fv (scFv); see e.g., Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; and Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Such single chain antibodies are also encompassed within the term "binding fragment" of an antibody. These antibody portions are obtained using techniques known in the art, and the portions are screened for utility in the same manner as are intact antibodies.

As used herein, an antibody that "specifically binds" to or is "specific" for a particular polypeptide or an epitope on a particular polypeptide is an antibody that binds to that particular polypeptide or epitope on a particular polypeptide without substantially binding to any other polypeptide or polypeptide epitope. For example, when referring to a biomolecule (e.g., protein, nucleic acid, antibody, etc.) that "specifically binds" to a target, the biomolecule binds to its target molecule and does not bind in a significant amount to other molecules in a heterogeneous population of molecules that include the target, as measured under designated conditions (e.g. immunoassay conditions in the case of an antibody). The binding reaction between the antibody and its target is determinative of the presence of the target in the heterogeneous population of molecules. For example, "specific binding" or "specifically binds" refers to the ability of an antibody or binding fragment thereof to bind to a wild-type and/or mutant toxin of *C. difficile* with an affinity that is at least two-fold greater than its affinity for a non-specific antigen.

In an exemplary embodiment, the antibody is a chimeric antibody. A chimeric antibody can be produced by recombinant DNA techniques known in the art. For example, a gene encoding the Fc constant region of a murine (or other species) monoclonal antibody molecule can be digested with restriction enzymes to remove the region encoding the murine Fc, and the equivalent portion of a gene encoding a human Fc constant region is substituted. A chimeric antibody can also be created by recombinant DNA techniques where DNA encoding murine variable regions can be ligated to DNA encoding the human constant regions.

In another exemplary embodiment, the antibody or binding fragment thereof is humanized by methods known in the art. For example, once murine antibodies are obtained, a CDR of the antibody may be replaced with at least a portion of a human CDR. Humanized antibodies can also be generated by replacing sequences of the murine Fv variable region that are not directly involved in antigen binding with equivalent sequences from human Fv variable regions. General methods for generating humanized antibodies are known in the art.

For example, monoclonal antibodies directed toward *C. difficile* TcdA or *C. difficile* TcdB can also be produced by standard techniques, such as a hybridoma technique (see, e.g., Kohler and Milstein, 1975, *Nature*, 256: 495-497). Briefly, an immortal cell line is fused to a lymphocyte from a mammal immunized with *C. difficile*

TcdA, *C. difficile* TcdB, or a mutant *C. difficile* toxin described herein, and the culture supernatants of the resulting hybridoma cells are screened to identify a hybridoma producing a monoclonal antibody that binds to *C. difficile* TcdA or *C. difficile* TcdB. Typically, the immortal cell line is derived from the same mammalian species as the lymphocytes. Hybridoma cells producing a monoclonal antibody of the invention are detected by screening the hybridoma culture supernatants for antibodies that bind *C. difficile* TcdA or *C. difficile* TcdB using an assay, such as ELISA. Human hybridomas can be prepared in a similar way.

As an alternative to producing antibodies by immunization and selection, antibodies of the invention may also be identified by screening a recombinant combinatorial immunoglobulin library with a *C. difficile* TcdA, *C. difficile* TcdB, or a mutant *C. difficile* toxin described herein. The recombinant antibody library may be an scFv library or an Fab library, for example. Moreover, the inventive antibodies described herein may be used in competitive binding studies to identify additional anti-TcdA or anti-TcdB antibodies and binding fragments thereof. For example, additional anti-TcdA or anti-TcdB antibodies and binding fragments thereof may be identified by screening a human antibody library and identifying molecules within the library that competes with the inventive antibodies described herein in a competitive binding assay.

In addition, antibodies encompassed by the present invention include recombinant antibodies that may be generated by using phage display methods known in the art. In phage display methods, phage can be used to display antigen binding domains expressed from a repertoire or antibody library (e.g., human or murine). Phage expressing an antigen binding domain that binds to an immunogen described herein (e.g., a mutant *C. difficile* toxin) can be selected or identified with antigen, e.g., using labeled antigen.

Also within the scope of the invention are antibodies and binding fragments thereof in which specific amino acids have been substituted, deleted, or added. In particular, preferred antibodies have amino acid substitutions in the framework region, such as to improve binding to the antigen. For example, a selected, small number of acceptor framework residues of the immunoglobulin chain can be replaced by the corresponding donor amino acids. Preferred locations of the substitutions include amino acid residues adjacent to the CDR, or which are capable of interacting with a CDR. Criteria for selecting amino acids from the donor are described in U.S. Pat. No.

5,585,089 (e.g., columns 12-16). The acceptor framework can be a mature human antibody framework sequence or a consensus sequence.

As used herein, a "neutralizing antibody or binding fragment thereof" refers to a respective antibody or binding fragment thereof that binds to a pathogen (e.g., a *C. difficile* TcdA or TcdB) and reduces the infectivity and/or an activity of the pathogen (e.g., reduces cytotoxicity) in a mammal and/or in cell culture, as compared to the pathogen under identical conditions in the absence of the neutralizing antibody or binding fragment thereof. In one embodiment, the neutralizing antibody or binding fragment thereof is capable of neutralizing at least about 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more of a biological activity of the pathogen, as compared to the biological activity of the pathogen under identical conditions in the absence of the neutralizing antibody or binding fragment thereof.

As used herein, the term "anti-toxin antibody or binding fragment thereof" refers to an antibody or binding fragment thereof that binds to the respective *C. difficile* toxin (e.g., a *C. difficile* toxin A or toxin B). For example, an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof refers to an antibody or binding fragment thereof that binds to TcdA.

The antibodies or binding fragments thereof described herein may be raised in any mammal, wild-type and/or transgenic, including, for example, mice, humans, rabbits, and goats.

When an immunogenic composition described above is one that has been previously administered to a population, such as for vaccination, the antibody response generated in the subjects can be used to neutralize toxins from the same strain and from a strain that did not stimulate production of the antibody. See, for example, Example 37, which shows studies relating to cross-reactivity, generated by the immunogenic composition, between the 630 strain and toxins from various wild-type *C. difficile* strains.

In one aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* TcdA. Monoclonal antibodies that specifically bind to TcdA include A65-33; A60-22; A80-29 and/or, preferably, A3-25.

In one aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to a TcdA from any wild type *C. difficile* strain, such as those described above, e.g., to SEQ ID NO: 1. In another aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to an immunogenic composition described above. For

example, in one embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7. In another embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7 is crosslinked by formaldehyde, EDC, NHS, or a combination of EDC and NHS. In another embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 84 or SEQ ID NO: 83.

Antibodies or binding fragments thereof having a variable heavy chain and variable light chain regions that are at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to the variable heavy and light chain regions of A65-33; A60-22; A80-29 and/or, preferably, A3-25 can also bind to TcdA.

In one embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 37.

In another embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 36.

In yet a further aspect, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 37, and a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 36.

In another embodiment, antibodies or binding fragments thereof having complementarity determining regions (CDRs) of variable heavy chains and/or variable

light chains of A65-33; A60-22; A80-29 and/or, preferably, A3-25 can also bind to TcdA. The CDRs of the variable heavy chain region of A3-25 are shown in Table 4, below.

Table 4: Variable Heavy Chain CDR Amino Acid Sequences

Clone	Chain	CDR	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
A3-25	Heavy	CDR1	GFTFTNYWMN	41
		CDR2	EIRLKSHNYATHFAESVKG	42
		CDR3	DYYGNPAFVY	43

The CDRs of the variable light chain region of A3-25 are shown in Table 5, below.

Table 5: Variable Light Chain CDR Amino Acid Sequences

Clone	Chain	CDR	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
A3-25	Light	CDR1	RSSQSLIHSNGNTYLH	38
		CDR2	KVSNRFS	39
		CDR3	SQTTYFPYT	40

In one embodiment, the antibody or binding fragment thereof includes amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) as shown in SEQ ID NOs: 41 (CDR H1), 42 (CDR H2) and 43 (CDR H3), and/or the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 38 (CDR L1), 39 (CDR L2) and 40 (CDR L3).

In one exemplary embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin A specifically binds to an epitope within the N-terminal region of TcdA e.g., an epitope between amino acids 1-1256 of a TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

In a preferred embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin A specifically binds to an epitope within the C-terminal region of toxin A, e.g., an epitope between amino acids 1832 to 2710 of a TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1. Examples include A3-25; A65-33; A60-22; A80-29.

In yet another embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin A specifically binds to an epitope within the “translocation” region of *C. difficile* toxin A, e.g., an epitope that preferably includes residues 956-1128 of a TcdA,

according to the numbering of SEQ ID NO: 1, such as an epitope between amino acids 659-1832 of a TcdA, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

In another aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* TcdB. For example, the antibody or binding fragment thereof may be specific to a TcdB from any wild type *C. difficile* strain, such as those described above, e.g., to SEQ ID NO: 2. In another aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to an immunogenic composition described above. For example, in one embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8.

In another embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8 is crosslinked by formaldehyde, EDC, NHS, or a combination of EDC and NHS. In another embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 86 or SEQ ID NO: 85.

Monoclonal antibodies that specifically bind to TcdB include antibodies produced by the B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; and/or, preferably, B8-26 clones described herein.

Antibodies or binding fragments thereof that can also bind to TcdB include those having a variable heavy chain and variable light chain regions that are at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to the variable heavy and light chain regions of B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6, preferably B8-26, B59-3, and/or B9-30.

In one embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 49.

In one embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 60.

In one embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 71.

In another embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 55.

In another embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 66.

In another embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of A3-25 as set forth in SEQ ID NO: 77.

The amino acid sequence for the variable heavy chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B8-26 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 49. See Table 25-a.

Table 25-a: Variable Heavy Chain Amino Acid Sequences			
Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B8-26	Signal peptide	MGWSCIILFLVATATGVHS	50
	Variable heavy chain	QVQLQQPGAELVKPGA PVKLSCKAS GYSFTSYWMN WVKQRPGRGLEWIG RIDPSNSEIYYNQKF KDKATLTVDKSSSTAYIQLSSL TSEDSAVYYCAS GHYGSIFAY WGQGTTLTVSS	49
	CDR1	GYSFTSYWMN	51
	CDR2	RIDPSNSEIYYNQKF	52
	CDR3	GHYGSIFAY	53
	Constant region (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	54

The amino acid sequence for the variable light chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B8-26 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 55. See Table 25-b.

Table25-b: Variable Light (κ) Chain Amino Acid Sequences

Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B8-26	Signal peptide	MRFQVQVLGLLLLWISGAQCD	56
	Variable light chain	VQITQSPSYLAASPGETITINC RASKSISKYLA WYQEKPGKTNKLLLY SGSTLQS GIPS RFSGSRSGTDFTLIISSLEPEDSAMYYC QQHNEYPLT FGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	55
	CDR1	RASKSISKYLA	57
	CDR2	SGSTLQS	58
	CDR3	QQHNEYPLT	59

In one embodiment, the antibody or binding fragment thereof includes amino acid sequences of the heavy chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 51 (CDR H1), 52 (CDR H2) and 53 (CDR H3), and/or the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 57 (CDR L1), 58 (CDR L2) and 59 (CDR L3).

The amino acid sequence for the variable heavy chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B59-3 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 60. See Table 26-a.

Table 26-a: Variable Heavy Chain Amino Acid Sequences

Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B59-3	Signal peptide	MGWSYIILFLVATATDVHS	61
	Variable heavy chain	QVQLQQPGAELVKPGASVKLS CKAS GYTFTSYWMH WVKQRPGQGLEWIG VINPSNGRSTYSEKF KTTATVTVDKSSSTAYMQL SILTSEDSAVYYCAR AYYSTSYYAMDY WGQGTSVTVSS	60
	CDR1	GYTFTSYWMH	62
	CDR2	VINPSNGRSTYSEKF	63
	CDR3	AYYSTSYYAMDY	64
	Constant region (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	65

The amino acid sequence for the variable light chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B59-3 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 66. See Table 26-b.

Table 26-b: Variable Light (κ) Chain Amino Acid Sequences

Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B59-3	Signal peptide	MKLPVRLLVLMFWIPASSSD	67
	Variable light chain	VLMTQSPLSLPVSLGDQASIS C RSSQNIVHSNGNTYLE WYLQKPGQSPKLLIY KVSNRFS GVPDRFSGSGSGTYFTLKISRVEAEDLGVYYC FQGSHFPFT FGTGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	66
	CDR1	RSSQNIVHSNGNTYLE	68
	CDR2	KVSNRFS	69
	CDR3	FQGSHFPFT	70

In one embodiment, the antibody or binding fragment thereof includes amino acid sequences of the heavy chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 62 (CDR H1), 63 (CDR H2) and 64 (CDR H3), and/or the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 68 (CDR L1), 69 (CDR L2) and 70 (CDR L3).

The amino acid sequence for the variable heavy chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B9-30 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 71. See Table 27-a.

Table 27-a: Variable Heavy Chain Amino Acid Sequences

Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B9-30	Signal peptide	MGWSCIILFLVATATGVHS	72
	Variable heavy chain	QVQLQQPGAEVVKPGAPVKLS CKAS GYPFTNYWMN WVKQRPGRGLEWIG RIDPSNSEIYYNQKF KDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYY CAS GHYGSIFAY WGQGTTLTVSS	71
	CDR1	GYPFTNYWMN	73
	CDR2	RIDPSNSEIYYNQKF	74
	CDR3	GHYGSIFAY	75
	Constant region (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	76

The amino acid sequence for the variable light chain of a neutralizing antibody of C. difficile TcdB (B9-30 mAb) is set forth in SEQ ID NO: 77. See Table 27-b.

Table 27-b: Variable Light (κ) Chain Amino Acid Sequences

Clone	Region	Amino Acid Sequence	SEQ ID NO:
B9-30	Signal peptide	MRFQVQVLGLLLLWISGAQCD	78
	Variable light chain	VQITQSPSYLAASPGETITINC RASKSISKYLA WYQEKPGKTNKLLIY SGSTLQS GIPS RFSGSRSGTDFTLIISSLEPEDSAMYYC QQHNEYPLT FGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	77
	CDR1	RASKSISKYLA	79
	CDR2	SGSTLQS	80
	CDR3	QQHNEYPLT	81

In one embodiment, the antibody or binding fragment thereof includes amino acid sequences of the heavy chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 73 (CDR H1), 74 (CDR H2) and 75 (CDR H3), and/or the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NOs: 79 (CDR L1), 80 (CDR L2) and 81 (CDR L3).

In one aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to a wild type *C. difficile* TcdB from any *C. difficile* strain, such as those described above, e.g., to SEQ ID NO: 2. In another aspect, the invention relates to an antibody or binding fragment thereof specific to an immunogenic composition described above. For example, in one embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8. In another embodiment, the antibody or binding fragment thereof is specific to an immunogenic composition that includes SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO: 8 is crosslinked by formaldehyde, EDC, NHS, or a combination of EDC and NHS.

Antibodies or binding fragments thereof having a variable heavy chain and variable light chain regions that are at least about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, preferably about 98%, more preferably about 99% or most preferably about 100% identity to the variable heavy and light chain regions of B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; and/or, preferably, B8-26 can also bind to TcdB.

In one embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequence of B8-26 (SEQ ID NO: 49).

In another embodiment, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of B8-26 (SEQ ID NO: 55).

In yet a further aspect, the antibody or antigen binding fragment thereof includes a variable heavy chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable heavy chain region amino acid sequenceof B8-26 (SEQ ID NO: 49), and a variable light chain region including an amino acid sequence at least about 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to a variable light chain region amino acid sequence of B8-26 (SEQ ID NO: 55).

In another embodiment, antibodies or binding fragments thereof having CDRs of variable heavy chains and/or variable light chains of B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; and/or, preferably, B8-26 can also bind to TcdB.

In one embodiment, the antibody or binding fragment thereof includes amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) of B8-26, and/or the amino acid sequences of the light chain CDRs of B8-26.

In a preferred embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin B specifically binds to an epitope within the N-terminal region of toxin B, e.g., an epitope between amino acids 1-1256 of a TcdB, according to the numbering of SEQ ID NO: 2. Examples include B2-31; B5-40; B8-26; B70-2; B6-30; and B9-30.

In an exemplary embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin B specifically binds to an epitope within the C-terminal region of toxin B, e.g., an epitope between amino acids 1832 to 2710 of a TcdB, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

In yet another embodiment, the antibody or binding fragment thereof specific to *C. difficile* toxin B specifically binds to an epitope within the "translocation" region of C. *difficile* toxin B, e.g., an epitope that preferably includes residues 956-1128 of a TcdB, according to the numbering of SEQ ID NO: 2, such as an epitope between amino acids 659-1832 of a TcdB. Examples include B59-3; B60-2; and B56-6.

Combinations of antibodies

The anti-toxin antibody or binding fragment thereof can be administered in combination with other anti- *C. difficile* toxin antibodies (e.g., other monoclonal antibodies, polyclonal gamma-globulin) or a binding fragment thereof. Combinations that can be used include an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof and an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof.

In another embodiment, a combination includes an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof and another anti-toxin A antibody or binding fragment thereof. Preferably, the combination includes a neutralizing anti-toxin A monoclonal antibody or binding fragment thereof and another neutralizing anti-toxin A monoclonal antibody or binding fragment thereof. Surprisingly, the inventors discovered that such a combination resulted in a synergistic effect in neutralization of toxin A cytotoxicity. For example, the combination includes a combination of at least two of the following neutralizing anti-toxin A monoclonal antibodies: A3-25; A65-33; A60-22; and A80-29. More preferably, the combination includes A3-25 antibody and at least one of the following neutralizing anti-toxin A monoclonal antibodies: A65-33; A60-22; and A80-29. Most preferably, the combination includes all four antibodies: A3-25; A65-33; A60-22; and A80-29.

In a further embodiment, a combination includes an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof and another anti-toxin B antibody or binding fragment thereof. Preferably, the combination includes a neutralizing anti-toxin B monoclonal antibody or binding fragment thereof and another neutralizing anti-toxin B monoclonal antibody or binding fragment thereof. Surprisingly, the inventors discovered that such a combination resulted in a synergistic effect in neutralization of toxin B cytotoxicity. More preferably, the combination includes a combination of at least two of the following neutralizing anti-toxin B monoclonal antibodies: B8-26; B9-30 and B59-3. Most preferably, the combination includes all three antibodies: B8-26; B9-30 and B59-3.

In yet another embodiment, a combination includes an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof and another anti-toxin B antibody or binding fragment thereof. As stated previously, the inventors discovered that a combination of at least two of the neutralizing monoclonal antibodies can exhibit an unexpectedly synergistic effect in respective neutralization of toxin A and toxin B.

In another embodiment, the agents of the invention can be formulated as a mixture, or chemically or genetically linked using art recognized techniques thereby resulting in covalently linked antibodies (or covalently linked antibody fragments), having both anti-toxin A and anti-toxin B binding properties. The combined formulation may be guided by a determination of one or more parameters such as the affinity, avidity, or biological efficacy of the agent alone or in combination with another agent.

Such combination therapies are preferably additive and/or synergistic in their therapeutic activity, e.g., in the inhibition, prevention (e.g., of relapse), and/or treatment of *C. difficile* - related diseases or disorders. Administering such combination therapies can decrease the dosage of the therapeutic agent (e.g., antibody or antibody fragment mixture, or cross-linked or genetically fused bispecific antibody or antibody fragment) needed to achieve the desired effect.

It is understood that any of the inventive compositions, for example, an anti-toxin A and/or anti-toxin B antibody or binding fragment thereof, can be combined in different ratios or amounts for therapeutic effect. For example, the anti-toxin A and anti-toxin B antibody or respective binding fragment thereof can be present in a composition at a ratio in the range of 0.1:10 to 10:0.1, A:B. In another embodiment, the anti-toxin A and anti-toxin B antibody or respective binding fragment thereof can be present in a composition at a ratio in the range of 0.1:10 to 10:0.1, B:A.

In another aspect, the invention relates to a method of producing a neutralizing antibody against a *C. difficile* TcdA. The method includes administering an immunogenic composition as described above to a mammal, and recovering the antibody from the mammal. In a preferred embodiment, the immunogenic composition includes a mutant *C. difficile* TcdA having SEQ ID NO: 4, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* TcdA is chemically crosslinked, preferably by formaldehyde or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide. Exemplary neutralizing antibodies against TcdA that may be produced include A65-33; A60-22; A80-29 and/or A3-25.

In yet another aspect, the invention relates to a method of producing a neutralizing antibody against a *C. difficile* TcdB. The method includes administering an immunogenic composition as described above to a mammal, and recovering the antibody from the mammal. In a preferred embodiment, the immunogenic composition includes a mutant *C. difficile* TcdB having SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* TcdB is chemically crosslinked, preferably by formaldehyde or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide. Exemplary neutralizing antibodies against TcdB that may be produced include B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; and/or B8-26.

Formulations

Compositions of the present invention (such as, e.g., compositions including a mutant *C. difficile* toxin, immunogenic compositions, antibodies and/or antibody binding fragments thereof described herein) may be in a variety of forms. These include, for example, semi-solid and solid dosage forms, suppositories, liquid forms, such as liquid solutions (e.g., injectable and infusible solutions), dispersions or suspensions, liposomes, and/or dried form, such as, for example, lyophilized powder form, freeze-dried form, spray-dried form, and/or foam-dried form. For suppositories, binders and carriers include, for example, polyalkylene glycols or triglycerides; such suppositories can be formed from mixtures containing the inventive compositions. In an exemplary embodiment, the composition is in a form that is suitable for solution in, or suspension in, liquid vehicles prior to injection. In another exemplary embodiment, the composition is emulsified or encapsulated in liposomes or microparticles, such as polylactide, polyglycolide, or copolymer.

In a preferred embodiment, the composition is lyophilized and extemporaneously reconstituted prior to use.

In one aspect, the present invention relates to pharmaceutical compositions that include any of the compositions described herein (such as, e.g., compositions including a mutant *C. difficile* toxin, immunogenic compositions, antibodies and/or antibody binding fragments thereof described herein), formulated together with a pharmaceutically acceptable carrier. "Pharmaceutically acceptable carriers" include any solvents, dispersion media, stabilizers, diluents, and/or buffers that are physiologically suitable.

Exemplary stabilizers include carbohydrates, such as sorbitol, mannitol, starch, dextran, sucrose, trehalose, lactose, and/or glucose; inert proteins, such as albumin and/or casein; and/or other large, slowly metabolized macromolecules, such as polysaccharides such as chitosan, polylactic acids, polyglycolic acids and copolymers (such as latex functionalized SEPHAROSE™ agarose, agarose, cellulose, etc/), amino acids, polymeric amino acids, amino acid copolymers, and lipid aggregates (such as oil droplets or liposomes). Additionally, these carriers may function as immunostimulating agents (i.e., adjuvants).

Preferably, the composition includes trehalose. Preferred amounts of trehalose (% by weight) include from a minimum of about 1%, 2%, 3%, or 4% to a maximum of about 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, or 5%. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the composition includes about 3% - 6% trehalose, most preferably, 4.5% trehalose, for example, per 0.5 mL dose.

Examples of suitable diluents include distilled water, saline, physiological phosphate-buffered saline, glycerol, alcohol (such as ethanol), Ringer's solutions, dextrose solution, Hanks' balanced salt solutions, and/or a lyophilization excipient.

Exemplary buffers include phosphate (such as potassium phosphate, sodium phosphate); acetate (such as sodium acetate); succinate (such as sodium succinate); glycine; histidine; carbonate, Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane), and/or bicarbonate (such as ammonium bicarbonate) buffers. Preferably, the composition includes tris buffer. Preferred amounts of tris buffer include from a minimum of about 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM to a maximum of about 100 mM, 50 mM, 20 mM,19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, or 11 mM. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the composition includes about 8 mM to 12 mM tris buffer, most preferably, 10 mM tris buffer, for example, per 0.5 mL dose.

In another preferred embodiment, the composition includes histidine buffer. Preferred amounts of histidine buffer include from a minimum of about 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM to a maximum of about 100 mM, 50 mM, 20 mM,19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, or 11 mM. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the composition includes about 8 mM to 12 mM histidine buffer, most preferably, 10 mM histidine buffer, for example, per 0.5 mL dose.

In yet another preferred embodiment, the composition includes phosphate buffer. Preferred amounts of phosphate buffer include from a minimum of about 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM to a maximum of about 100 mM, 50 mM, 20 mM,19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, or 11 mM. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the composition includes about 8 mM to 12 mM phosphate buffer, most preferably, 10 mM phosphate buffer, for example, per 0.5 mL dose.

The pH of the buffer will generally be chosen to stabilize the active material of choice, and can be ascertainable by those in the art by known methods. Preferably, the pH of the buffer will be in the range of physiological pH. Thus, preferred pH ranges are from about 3 to about 8; more preferably, from about 6.0 to about 8.0; yet more preferably, from about 6.5 to about 7.5; and most preferably, at about 7.0 to about 7.2.

In some embodiments, the pharmaceutical compositions may include a surfactant. Any surfactant is suitable, whether it is amphoteric, non-ionic, cationic or anionic. Exemplary surfactants include the polyoxyethylene sorbitan esters surfactants (e.g., TWEEN ®), such as polysorbate 20 and/or polysorbate 80; polyoxyethylene fatty ethers derived from lauryl, cetyl, stearyl and oleyl alcohols (known as Brij surfactants), such as triethyleneglycol monolauryl ether (Brij 30); Triton X 100, or t-octylphenoxypolyethoxyethanol; and sorbitan esters (commonly known as the SPANs), such as sorbitan trioleate (Span 85) and sorbitan monolaurate, and combinations thereof. Preferred surfactants include polysorbate 80 (polyoxyethylene sorbitan monooleate).

Preferred amounts of polysorbate 80 (% by weight) include from a minimum of about 0.001%, 0.005%, or 0.01%, to a maximum of about 0.010%, 0.015%, 0.025%, or 1.0%. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the composition includes about 0.005% - 0.015% polysorbate 80, most preferably, 0.01% polysorbate 80.

In an exemplary embodiment, the immunogenic composition includes trehalose and phosphate 80. In another exemplary embodiment, the immunogenic composition includes tris buffer and polysorbate 80. In another exemplary embodiment, the immunogenic composition includes histidine buffer and polysorbate 80. In yet another exemplary embodiment, the immunogenic composition includes phosphate buffer and polysorbate 80.

In one exemplary embodiment, the immunogenic composition includes trehalose, tris buffer and polysorbate 80. In another exemplary embodiment, the immunogenic composition includes trehalose, histidine buffer and polysorbate 80. In yet another exemplary embodiment, the immunogenic composition includes trehalose, phosphate buffer and polysorbate 80.

The compositions described herein may further include components of petroleum, animal, vegetable, or synthetic origin, for example, peanut oil, soybean oil, and/or mineral oil. Examples include glycols such as propylene glycol or polyethylene glycol.

In some embodiments, the pharmaceutical composition further includes formaldehyde. For example, in a preferred embodiment, a pharmaceutical composition that further includes formaldehyde has an immunogenic composition, wherein the mutant *C. difficile* toxin of the immunogenic composition has been contacted with a chemical crosslinking agent that includes formaldehyde. The amount of formaldehyde present in the pharmaceutical composition may vary from a minimum of about 0.001%, 0.002%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.006%, 0.007%, 0.008%, 0.009%, 0.010%, 0.013%, or 0.015%, to a maximum of about 0.020%, 0.019%, 0.018%, 0.017% 0.016%, 0.015%, 0.014%, 0.013%, 0.012% 0.011% or 0.010%. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. In one embodiment, the pharmaceutical composition includes about 0.010% formaldehyde.

In some alternative embodiments, the pharmaceutical compositions described herein do not include formaldehyde. For example, in a preferred embodiment, a pharmaceutical composition that does not include formaldehyde has an immunogenic composition, wherein at least one amino acid of the mutant *C. difficile* toxin is chemically crosslinked by an agent that includes EDC. More preferably, in such an embodiment, the mutant *C. difficile* toxin has not been contacted with a chemical crosslinking agent that includes formaldehyde. As another exemplary embodiment, a pharmaceutical composition that is in a lyophilized form does not include formaldehyde.

In another embodiment, the compositions described herein may include an adjuvant, as described below. Preferred adjuvants augment the intrinsic immune response to an immunogen without causing conformational changes in the immunogen that may affect the qualitative form of the immune response.

Exemplary adjuvants include 3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A (MPL™) (see GB 2220211 (GSK)); an aluminum hydroxide gel such as Alhydrogel™ (Brenntag Biosector, Denmark); aluminum salts (such as aluminum hydroxide, aluminum phosphate, aluminum sulfate), which may be used with or without an immunostimulating agent such as MPL or 3-DMP, QS-21, polymeric or monomeric amino acids such as polyglutamic acid or polylysine.

Yet another exemplary adjuvant is an immunostimulatory oligonucleotide such as a CpG oligonucleotide (see, e.g., WO 1998/040100, WO2010/067262), or a saponin and an immunostimulatory oligonucleotide, such as a CpG oligonucleotide (see, e.g., WO 00/062800). In a preferred embodiment, the adjuvant is a CpG oligonucleotide, most preferably a CpG oligodeoxynucleotides (CpG ODN). Preferred CpG ODN are of the B Class that preferentially activate B cells. In aspects of the invention, the CpG ODN has the nucleic acid sequence 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T*T 3' (SEQ ID NO: 48) wherein * indicates a phosphorothioate linkage. The CpG ODN of this sequence is known as CpG 24555, which is described in WO2010/067262. In a preferred embodiment, CpG 24555 is used together with an aluminium hydroxide salt such as Alhydrogel.

A further class of exemplary adjuvants include saponin adjuvants, such as Stimulon™ (QS-21, which is a triterpene glycoside or saponin, Aquila, Framingham, Mass.) or particles generated therefrom such as ISCOMs (immune stimulating complexes) and ISCOMATRIX ® adjuvant. Accordingly, the compositions of the present invention may be delivered in the form of ISCOMs, ISCOMS containing CTB, liposomes or encapsulated in compounds such as acrylates or poly(DL-lactide-co-glycoside) to form microspheres of a size suited to adsorption. Typically, the term "ISCOM" refers to immunogenic complexes formed between glycosides, such as triterpenoid saponins (particularly Quil A), and antigens which contain a hydrophobic region. In a preferred embodiment, the adjuvant is an ISCOMATRIX adjuvant.

Other exemplary adjuvants include RC-529, GM-CSF and Complete Freund's Adjuvant (CFA) and Incomplete Freund's Adjuvant (IFA).

Yet another class of exemplary adjuvants is glycolipid analogues including N-glycosylamides, N-glycosylureas and N-glycosylcarbamates, each of which is substituted in the sugar residue by an amino acid.

Optionally, the pharmaceutical composition includes two or more different adjuvants. Preferred combinations of adjuvants include any combination of adjuvants including, for example, at least two of the following adjuvants: alum, MPL, QS-21, ISCOMATRIX, CpG, and Alhydrogel. An exemplary combination of adjuvants includes a combination of CpG and Alhydrogel.

Alternatively, in one embodiment, the composition is administered to the mammal in the absence of an adjuvant.

Compositions described herein can be administered by any route of administration, such as, for example, parenteral, topical, intravenous, mucosal, oral, subcutaneous, intraarterial, intracranial, intrathecal, intraperitoneal, intranasal, intramuscular, intradermal, infusion, rectal, and/or transdermal routes for prophylactic and/or therapeutic applications. In a preferred embodiment, the route of administration of the composition is parenteral, more preferably, intramuscular administration. Typical intramuscular administration is performed in the arm or leg muscles.

Compositions described herein can be administered in combination with therapies that are at least partly effective in prevention and/or treatment of *C. difficile* infection. For example, a composition of the invention may be administered before, concurrently with, or after biotherapy; probiotic therapy; stool implants; immunotherapy (such as intravenous immunoglobulin); and/or an accepted standard of care for the antibiotic treatment of *C. difficile* associated disease (CDAD), such as metronidazole and/or vancomycin.

A composition of the present invention relating to toxin A and toxin B may be administered to the mammal in any combination. For example, an immunogenic composition including a mutant *C. difficile* TcdA may be administered to the mammal before, concurrently with, or after administration of an immunogenic composition including a mutant *C. difficile* TcdB. Conversely, an immunogenic composition including a mutant *C. difficile* TcdB may be administered to the mammal before, concurrently with, or after administration of an immunogenic composition including a mutant *C. difficile* TcdA.

In another embodiment, a composition including an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof may be administered to the mammal before, concurrently with, or after administration of a composition including an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof. Conversely, a composition including an anti-toxin B antibody or binding fragment thereof may be administered to the mammal before, concurrently with, or after administration of a composition including an anti-toxin A antibody or binding fragment thereof.

In a further embodiment, a composition of the present invention may be administered to the mammal before, concurrently with, or after administration of a pharmaceutically acceptable carrier. For example, an adjuvant may be administered before, concurrently with, or after administration of a composition including a mutant *C.*

difficile toxin. Accordingly, a composition of the present invention and a pharmaceutically acceptable carrier can be packaged in the same vial or they can be packaged in separate vials and mixed before use. The compositions can be formulated for single dose administration and/or multiple dose administration.

Methods of Protecting and/or Treating *C. difficile* infection in a Mammal

In one aspect, the invention relates to a method of inducing an immune response to a *C. difficile* toxin in a mammal. The method includes administering an effective amount of a composition described herein to the mammal. For example, the method may include administering an amount effective to generate an immune response to the respective *C. difficile* toxin in the mammal.

In an exemplary embodiment, the invention relates to a method of inducing an immune response to a *C. difficile* TcdA in a mammal. The method includes administering an effective amount of an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* TcdA to the mammal. In another exemplary embodiment, the invention relates to a method of inducing an immune response to a *C. difficile* TcdB in a mammal. The method includes administering an effective amount of an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* TcdB to the mammal.

In a further embodiment, the method includes administering an effective amount of an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* TcdA and an effective amount of an immunogenic composition that includes a mutant *C. difficile* TcdB to the mammal. In additional aspects, the compositions described herein may be used to treat, prevent, decrease risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition is not administered. The method includes administering an effective amount of the composition to the mammal.

Three clinical syndromes caused by *C. difficile* infection are recognized, based on the severity of the infection. The most severe form is pseudomembranous colitis (PMC), which is characterized by profuse diarrhea, abdominal pain, systemic signs of illness, and a distinctive endoscopic appearance of the colon.

Antibiotic-associated colitis (AAC) is also characterized by profuse diarrhea, abdominal pain and tenderness, systemic signs (e.g., fever), and leukocytosis. Intestinal injury in AAC is less severe than in PMC, the characteristic endoscopic appearance of the colon in PMC is absent, and mortality is low.

Finally, antibiotic-associated diarrhea (AAD, which is also known as *C. difficile* associated diarrhea (CDAD) is a relatively mild syndrome, and is characterized by mild

to moderate diarrhea, lacking both large intestinal inflammation (as characterized by, e.g., abdominal pain and tenderness) and systemic signs of infection (e.g., fever).

These three distinct syndromes typically occur in an increasing order of frequency. That is, PMC typically occurs less frequently than AAC, and AAD is typically the most frequent clinical presentation of *C. difficile* disease.

A frequent complication of *C. difficile* infection is recurrent or relapsing disease, which occurs in up to 20% of all subjects who recover from *C. difficile* disease. Relapse may be characterized clinically as AAD, AAC, or PMC. Patients who relapse once are more likely to relapse again.

As used herein, conditions of a *C. difficile* infection include, for example, mild, mild-to-moderate, moderate, and severe *C. difficile* infection. A condition of *C. difficile* infection may vary depending on presence and/or severity of symptoms of the infection.

Symptoms of a *C. difficile* infection may include physiological, biochemical, histologic and/or behavioral symptoms such as, for example, diarrhea; colitis; colitis with cramps, fever, fecal leukocytes, and inflammation on colonic biopsy; pseudomembranous colitis; hypoalbuminemia; anasarca; leukocytosis; sepsis; abdominal pain; asymptomatic carriage; and/or complications and intermediate pathological phenotypes present during development of the infection, and combinations thereof, etc. Accordingly, for example, administration of an effective amount of the compositions described herein may, for example treat, prevent, decrease risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay outset of diarrhea; abdominal pain, cramps, fever, inflammation on colonic biopsy, hypoalbuminemia, anasarca, leukocytosis, sepsis, and/or asymptomatic carriage, etc., as compared to a mammal to which the composition was not administered.

Risk factors of a *C. difficile* infection may include, for example, present or immediate future use of an antimicrobial (any antimicrobial agent with an antibacterial spectrum and/or activity against anaerobic bacteria are encompassed, including, for example, antibiotics that cause disruption of normal colonic microbiota, e.g., clindamycin, cephalosporins, metronidazole, vancomycin, fluoroquinolones (including levofloxacin, moxifloxacin, gatifloxacin, and ciprofloxacin), linezolid, etc.); present or immediate future withdrawal of prescribed metronidazole or vancomycin; present or immediate future admission to a healthcare facility (such as a hospital, chronic care facility, etc.) and healthcare workers; present or immediate future treatment with proton-

pump inhibitors, H2 antagonists, and/or methotrexate, or a combination thereof; present or risk of gastrointestinal diseases, such as inflammatory bowel disease; past, present, or immediate future gastrointestinal surgery or gastrointestinal procedure on the mammal; past or present recurrence of a *C. difficile* infection and/or a CDAD, e.g., patients who have had a *C. difficile* infection and/or a CDAD once or more than once; and humans aged at least about 65 and above.

In the methods described herein, the mammal may be any mammal, such as, for example, mice, hamsters, primates, and humans. In a preferred embodiment, the mammal is a human. According to the present invention, the human may include individuals who have exhibited a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof; individuals who are presently exhibiting a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof; and individuals who are at risk of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof.

Examples of individuals who have shown symptoms of *C. difficile* infection include individuals who have shown or are showing symptoms described above; individuals who have had or are having a *C. difficile* infection and/or a *C. difficile* associated disease (CDAD); and individuals who have a recurrence of a *C. difficile* infection and/or CDAD.

Examples of patients who are at risk of a *C. difficile* infection include individuals at risk of or are presently undergoing planned antimicrobial use; individuals at risk of or are presently undergoing withdrawal of prescribed metronidazole or vancomycin; individuals who are at risk of or are presently undergoing a planned admission to a healthcare facility (such as a hospital, chronic care facility, etc.) and healthcare workers; and/or individuals at risk of or are presently undergoing a planned treatment with proton-pump inhibitors, H2 antagonists, and/or methotrexate, or a combination thereof; individuals who have had or are undergoing gastrointestinal diseases, such as inflammatory bowel disease; individuals who have had or are undergoing gastrointestinal surgery or gastrointestinal procedures; and individuals who have had or are having a recurrence of a *C. difficile* infection and/or a CDAD, e.g., patients who have had a *C. difficile* infection and/or a CDAD once or more than once; individuals who

are about 65 years old or older. Such at-risk patients may or may not be presently showing symptoms of a *C. difficile* infection.

In asymptomatic patients, prophylaxis and/or treatment can begin at any age (e.g., at about 10, 20, or 30 years old). In one embodiment, however, it is not necessary to begin treatment until a patient reaches at least about 45, 55, 65, 75, or 85 years old. For example, the compositions described herein may be administered to an asymptomatic human who is aged 50-85 years.

In one embodiment, the method of preventing, decreasing risk of, decreasing severity of, decreasing occurrences of, and/or delaying outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal includes administering an effective amount of a composition described herein to a mammal in need thereof, a mammal at risk of, and/or a mammal susceptible to a *C. difficile* infection. An effective amount includes, for example, an amount sufficient to prevent, decrease risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition is not administered. Administration of an effective amount of the compositions described herein may, for example, prevent, decrease risk of, decrease severity of, decrease occurrences of, and/or delay outset of diarrhea; abdominal pain, cramps, fever, inflammation on colonic biopsy, hypoalbuminemia, anasarca, leukocytosis, sepsis, and/or asymptomatic carriage, etc., as compared to a mammal to which the composition was not administered. In a preferred embodiment, the method includes administering an effective amount of an immunogenic composition described herein to the mammal in need thereof, the mammal at risk of, and/or the mammal susceptible to a *C. difficile* infection.

In an additional embodiment, the method of treating, decreasing severity of, and/or delaying outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition, symptom, and/or complication thereof in a mammal includes administering an effective amount of a composition described herein to a mammal suspected of, or presently suffering from a *C. difficile* infection. An effective amount includes, for example, an amount sufficient to treat, decrease severity of, and/or delay the outset of a *C. difficile* infection, *C. difficile* associated disease, syndrome, condition,

symptom, and/or complication thereof in a mammal, as compared to a mammal to which the composition is not administered.

Administration of an effective amount of the composition may improve at least one sign or symptom of *C. difficile* infection in the subject, such as those described below. Administration of an effective amount of the compositions described herein may, for example, decrease severity of and/or decrease occurrences of diarrhea; decrease severity of and/or decrease occurrences of abdominal pain, cramps, fever, inflammation on colonic biopsy, hypoalbuminemia, anasarca, leukocytosis, sepsis, and/or asymptomatic carriage, etc., as compared to a mammal to which the composition was not administered. Optionally, the presence of symptoms, signs, and/or risk factors of an infection is determined before beginning treatment. In a preferred embodiment, the method includes administering an effective amount of an antibody and/or binding fragment thereof described herein to the mammal suspected of, or presently suffering from, a *C. difficile* infection.

Accordingly, an effective amount of the composition refers to an amount sufficient to achieve a desired effect (e.g., prophylactic and/or therapeutic effect) in the methods of the present invention. For example, the amount of an immunogen for administration may vary from a minimum of about 1 µg, 5 µg, 25 µg, 50 µg, 75 µg, 100 µg, 200 µg, 500 µg, or 1 mg to a maximum of about 2 mg, 1 mg, 500 µg, 200 µg per injection. Any minimum value can be combined with any maximum value to define a suitable range. Typically about 10, 20, 50 or 100 µg per immunogen is used for each human injection.

The amount of a composition of the invention administered to the subject may depend on the type and severity of the infection and/or on the characteristics of the individual, such as general health, age, sex, body weight and tolerance to drugs. It may also depend on the degree, severity, and type of disease. An effective amount may also vary depending upon factors, such as route of administration, target site, physiological state of the patient, age of the patient, whether the patient is human or an animal, other therapies administered, and whether treatment is prophylactic or therapeutic. The skilled artisan will be able to determine appropriate amounts depending on these and other factors.

An effective amount may include one effective dose or multiple effective doses (such as, for example, 2, 3, 4 doses, or more) for use in the methods herein. Effective dosages may need to be titrated to optimize safety and efficacy.

A combination of amount and frequency of dose adequate to accomplish prophylactic and/or therapeutic uses is defined as a prophylatically- or therapeutically-effective regimen. In a prophylactic and/or therapeutic regimen, the composition is typically administered in more than one dosage until a sufficient immune response has been achieved. Typically, the immune response is monitored and repeated dosages are given if the immune response starts to wane.

The compositions may be administered in multiple dosages over a period of time. Treatment can be monitored by assaying antibody, or activated T-cell or B-cell responses to the therapeutic agent (e.g., the immunogenic composition including a mutant *C. difficile* toxin) over time. If the response falls, a booster dosage is indicated.

EXAMPLES

Example 1: Identification of toxin-negative *C. difficile* strains

To identify *C. difficile* strains lacking toxin (A and B) genes and toxin expression, 13 *C. difficile* strains were tested. Culture media of 13 *C. difficile* strains were tested by ELISA for toxin A. Seven strains expressed toxin A: *C. difficile* 14797-2, *C. difficile* 630, *C. difficile* BDMS, *C. difficile* W1194, *C. difficile* 870, *C. difficile* 1253, and *C. difficile* 2149. See Figure 3.

Six strains did not express toxin A and lacked the entire pathogenicity locus: *C. difficile* 1351 (ATCC 43593™), *C. difficile* 3232 (ATCC BAA-1801™), *C. difficile* 7322 (ATCC 43601™), *C. difficile* 5036 (ATCC 43603™), *C. difficile* 4811 (4 ATCC 3602™), and *C. difficile* VPI 11186 (ATCC 700057™). VPI 11186 was selected based upon its effectiveness to take up plasmid DNA by conjugation.

The same 13 strains were tested in a multiplex PCR assay using primers outside of the pathogenicity locus (PaLoc; Braun et al., *Gene.* 1996 Nov 28;181(1-2):29-38.). The PCR results demonstrated the DNA from the 6 toxin A negative strains by ELISA did not amplify any genes from the PaLoc (tcdA-tcdE). The PaLoc flanking sequences (*cdd3* and *cdu2*) were present (data not shown).

Example 2: Inactivation of sporulation pathway in *C. difficile* VPI 11186

Knocking-out the spore-forming function of the *C. difficile* production strain facilitates large scale fermentation in a safe manufacturing environment. The ClosTron system was used to create an asporogenic *C. difficile* strain. See Heap et al., *J Microbiol Methods*. 2009 Jul;78(1):79-85. The ClosTron system allows targeted gene inactivation with a group II intron for site directed insertional inactivation of a *spo0A1* clostridial gene. The toxin-minus production strain VPI11186 was subjected to sporulation inactivation by the ClosTron technology. Erythromycin resistant mutants were selected and the presence of the insertional cassette was confirmed by PCR (not shown). The inability of two independent clones to form spores was confirmed.

Example 3: Genetic modification of toxin A and B genes to inactivate cytotoxicity function

Full-length mutant toxins A and B open reading frames (ORFs) based on strain 630Δ genome sequences were designed for custom synthesis at Blue Heron Biotech. See, for example, SEQ ID NOs: 9-14. The active site for the glucosyltransferase activity responsible for cellular toxicity was altered by two allelic substitutions: D285A/D287A (see SEQ ID NO: 3) for toxin A, and D286A/D288A (see SEQ ID NO: 5) for toxin B. Two nucleotides were mutated in each aspartate (D) codon to create the codon for alanine (A). See, for example, SEQ ID NOs: 9-14. In addition, a pair of vectors expressing mutant toxins lacking cysteine residues was constructed following custom synthesis at Blue Heron Biotech. Seven cysteine residues from mutant toxin A and 9 cysteine residues from mutant toxin B were replaced with alanine. The substitutions include catalytic cysteines of the A and B toxin autocatalytic protease. Also, silent mutations were introduced where necessary to eliminate restriction enzyme sites used for vector construction.

Example 4: pMTL84121*fdx* Expression Vector

The plasmid shuttle vector used for *C. difficile* mutant toxin antigen expression was selected from the pMTL8000-series modular system developed by the Minton lab (see Heap et al., *J Microbiol Methods*. 2009 Jul;78(1):79-85). The chosen vector pMTL84121*fdx* contains the *C. difficile* plasmid pCD6 Gram+ replicon, the *catP* (chloramphenicol/ thiamphenicol) selectable marker, the p15a Gram- replicon and *tra* function, and the *C. sporogenes* feredoxin promoter (*fdx*) and distal multiple cloning site (MCS). Empirical data suggested that the low-copy number p15a replicon conferred greater stability in *E. coli* than the ColE1 alternative. The *fdx* promoter was selected as it yielded higher expression than other promoters tested in experiments with CAT reporter constructs (e.g. *tcdA*, *tcdB*; or heterologous tetR or xylR) (data not shown).

Example 5: Cloning the modified toxin ORFs into pMTL84121*fdx*

Full-length mutant toxin A and B open reading frames (ORFs) based on strain 630Δ genome sequences were subcloned using pMTL84121*fdx* vector multiple cloning *Nde*I and *Bgl*II sites using standard molecular biology techniques. To facilitate cloning, the ORFs were flanked by a proximal *NdeI* site containing the start codon and a *BglII* site just downstream of the stop codon.

Example 6: Site directed mutagenesis of TcdA to create a triple mutant

The catalytic cysteine residue of the autocatalytic protease domain was substituted (i.e., C700A for TcdA and C698A for TcdB) in SEQ ID NOs: 3 and 5, i.e., in each of the "double mutants." For mutagenesis of mutant toxin A, a 2.48kb *Nde*I-*Hind*III fragment from the TcdA D285A/D287A expression plasmid was subcloned into pUC19 (cut with same) and site-directed mutagenesis was performed on this template. Once the new alleles were confirmed by DNA sequence analysis, the modified *Nde*I-*Hind*III fragments were reintroduced into the expression vector pMTL84121*fdx* to create the "triple mutants," i.e., SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6.

Example 7: Site directed mutagenesis of TcdB to create a triple mutant

For mutagenesis of mutant toxin B, a 3.29 kb *Nde*I-*Eco*NI fragment from the mutant toxin B plasmid was modified and reintroduced. As the *Eco*NI site is not present in available cloning vectors a slightly larger 3.5kb *Nde*I-*EcoR*V fragment was subcloned into pUC19 (prepared with *Nde*I-*Sma*I). After mutagenesis, the modified internal 3.3kb *Nde*I-*Eco*NI fragment was excised and used to replace the corresponding mutant toxin B expression vector pMTL84121*fdx* fragment. As the cloning efficiency of this directional strategy was found to be quite low, an alternative strategy for introducing the C698A allele involving replacement of a 1.5 kb *Dra*III was attempted in parallel. Both strategies independently yielded the desired recombinants.

Example 8: Creating additional mutant toxin variants by site-directed mutagenesis

At least twelve different *C. difficile* mutant toxin variants were constructed. Allelic substitutions were introduced into N-terminal mutant toxin gene fragments by site directed mutagenesis (Quickchange® kit). Recombinant toxins were also engineered as reference controls to evaluate the capacity of this plasmid-based system to generate protein quantitatively equivalent in biological activity to native toxins purified from wild-type *C. difficile* strains. In this case, allelic substitutions were introduced to revert the original glucosyltransferase substitutions. In addition, a pair of cysteineless mutant toxin vectors was constructed following custom synthesis at Blue Heron Biotech.

The twelve toxin variants include (1) a mutant *C. difficile* toxin A having a D285A/D287A mutation (SEQ ID NO: 3); (2) a mutant *C. difficile* toxin B having a D286A/D288A mutation (SEQ ID NO: 5); (3) a mutant *C. difficile* toxin A having a D285A/D287A C700A mutation (SEQ ID NO: 4); (4) a mutant *C. difficile* toxin B having

a D286A/D288A C698A mutation (SEQ ID NO: 6); (5) a recombinant toxin A having SEQ ID NO: 1; (6) a recombinant toxin B having SEQ ID NO: 2; (7) a mutant *C. difficile* toxin A having a C700A mutation; (8) a mutant *C. difficile* toxin B having a C698A mutation; (9) a mutant *C. difficile* toxin A having a C700A C597S, C1169S, C1407S, C1623S, C2023S, and C2236S mutation; (10) a mutant *C. difficile* toxin B having a C698A C395S, C595S, C824S, C870S, C1167S, C1625S, C1687S, and C2232S mutation; (11) a mutant *C. difficile* toxin A having a D285A, D287A, C700A, D269A, R272A, E460A, and R462A mutation (SEQ ID NO: 7); and (12) a mutant *C. difficile* toxin B having a D270A, R273A, D286A, D288A, D461A, K463A, and C698A mutation (SEQ ID NO: 8)

Example 9: Stability of Transformants

Rearranged plasmids were obtained with the commonly-used DH5α *E. coli* lab strain. In contrast, transformations using the Invitrogen Stbl2™ *E. coli* host yielded slow-growing full-length mutant toxin recombinants after three days of growth at 30°C on LB chloramphenicol (25 µg/ml) plates. Lower cloning efficiencies were obtained with related Stbl3™ and Stbl4™ *E. coli* strains, although these lines were found to be stable for plasmid maintenance. Transformants were subsequently propagated in agar or in liquid culture under chloramphenicol selection at 30°C. The use of LB (Miller's) media was also found to improve the recovery and growth of transformants compared with animal-free tryptone-soy based media.

Example 10: Transformation of *C. difficile* with pMTL84121*fdx* encoding wild-type or genetic mutant toxin genes

Transformation of *C. difficile* by *E. coli* conjugal transfer was done essentially as described in Heap et al., *Journal of Microbiological Methods*, 2009. 78(1): p. 79-85. *E. coli* host CA434 was transformed with pMTL84121 *fdx* encoding wild type or variant mutant toxin genes. *E. coli* host CA434 is the intermediate to mobilize expression plasmids into the *C. difficile* production strain VPI 11186 spo0A1. CA434 is a derivative of *E. coli* HB101. This strain harbors the Tra+ Mob+ R702 conjugative plasmid which confers resistance to Km, Tc, Su, Sm/Spe, and Hg (due to Tn1831). Chemically competent or electrocompetent CA434 cells were prepared and expression vector transformants were selected on Miller's LB CAM plates at 30°C. Slow growing colonies appearing after 3 days were picked and amplified in 3 mL LB chloramphenicol cultures until mid-log phase (~24h, 225 rpm, orbital shaker at 30°C). *E. coli* cultures were

harvested by low speed (5,000g) centrifugation to avoid breaking pili, and cell pellets were resuspended gently with a wide-bore transfer pipette in 1 mL PBS. Cells were concentrated by low speed centrifugation. Most of the PBS was removed by inversion and the drained pellets were transferred into the anaerobic chamber and resuspended with 0.2 mL of *C. difficile* culture, spotted onto BHIS agar plates and left to grow for 8h or overnight. In the case of mutant toxin A transformants, better results were achieved with overnight conjugation. Cell patches were scraped into 0.5 mL PBS and 0.1 mL was plated on BHIS selection media supplemented with 15 µg/mL thiamphenicol (more potent analog of chloramphenicol) and D-cycloserine / cefoxitin to kill *E. coli* donor cells. Transformants appearing 16-24 h later were purified by re-streaking onto a new BHIS (plus supplements) plate and subsequent cultures were tested for expression of recombinant toxins or mutant toxins. Glycerol permanents and seed stocks were prepared from clones showing good expression. Plasmid minipreps were also prepared from 2 mL cultures using a modified Qiagen kit procedure in which cells were pretreated with lysozyme (not essential). The *C. difficile* miniprep DNA was used as a template for PCR sequencing to verify clone integrity. Alternatively, plasmid maxiprep DNA was prepared from *E. coli* Stbl2™ transformants and sequenced.

Example 11: *C. difficile* expression analysis of the toxin A and B triple mutant (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) and hepta B mutant (SEQ ID NO: 8)

Transformants were grown either in 2 mL cultures (for routine analysis) or in vent-capped flasks (for time course experiments). Samples (2 mL) were centrifuged briefly (10,000 rpm, 30s) to concentrate the cells: supernatants were decanted and concentrated 10x (Amicon-ultra 30k); pellets were drained and frozen at -80°C. Cell pellets were thawed on ice, resuspended in 1mL lysis buffer (Tris-HCl pH7.5; 1mM EDTA, 15% glycerol) and sonicated (1x 20s burst with microtip). The lysate was centrifuged at 4°C and supernatant was concentrated 5-fold. Samples of supernatant and lysate were combined with sample buffer and heat treated (10 min, 80°C) before loading onto duplicate 3-8% Tris-acetate SDS-PAGE gels (Invitrogen). One gel was stained with Coomassie, the second was electroblotted for western analysis. Toxin A-specific and Toxin B-specific rabbit antisera (Fitgerald; Biodesign) were used to detect mutant toxin A and B variants. Expression of the hepta mutant toxin B (SEQ ID NO: 8) was also confirmed by western blot hybridization.

Example 12: Abrogation of glucosyltransferase activity of the mutant toxins

Genetic double mutant (DM) toxins A and B (SEQ ID NOs: 3 and 5, respectively) and triple mutant (TM) toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) did not transfer ^{14}C-glucose to 10 µg of RhoA, Rac1 and Cdc42 GTPases in *in vitro* glucosylation assays in the presence of UDP-^{14}C-glucose [30 µM], 50 mM HEPES, pH 7.2, 100 mM KCl, 4 mM $MgCl_2$, 2 mM $MnCl_2$, 1 mM DTT, and 0.1 µg/µL BSA. However, wild-type A and B toxin controls (having SEQ ID NOs: 1 and 2, respectively) transferred ^{14}C-glucose to GTPases efficiently at a low dose of 10 and 1 ng each (and lower- data not shown) (Figures 4A and 4B), even in the presence of 100 µg of mutant toxin (Figure 4B) indicating at least 100,000-fold reduction compared to respective wild-type toxins. Similar results were detected for Cdc42 GTPase (data not shown).

Specifically, in Fig. 4B, wild-type toxin A and toxin B (1ng) or triple mutant toxin A and triple mutant toxin B (100 µg) were incubated with RhoA GTPase in the presence of UDP-^{14}C-glucose for 2 hr at 30°C. As illustrated, 1 ng of wild-type TcdA and TcdB transferred ^{14}C-glucose to RhoA but 100 µg of triple mutant toxin A and triple mutant toxin B did not. When 1 ng of wild-type TcdA or TcdB was spiked into the reaction with respective 100 µg of triple mutant toxin A or triple mutant toxin B, glucosylation of RhoA was detected, indicating the lack of glucosylation inhibitors. The sensitivity of detection for the glucosylation activity was established to be 1 ng of wild-type toxin in a background of 100 µg mutant toxin (ratio of 1:100,000). The results show that the mutations in the active site of the glucosyltransferase in the triple mutant toxin A and triple mutant toxin B reduced any measurable (less than 100,000-fold lower activity compared to the activity of the respective wild-type toxins) glucosyltransferase activity. A similar assay was also developed to quantify glucosyltransferase activity by TCA precipitation of glucosylated GTPases.

Example 13: Abrogation of Auto-catalytic Cysteine Protease Activity

The function of auto-catalytic cleavage was abrogated in the triple genetic mutants A and B (TM) (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) when the cysteine protease cleavage site was mutated. As illustrated in Figure 5, the wild type (*wt*) toxins A and B (SEQ ID NOs: 3 and 5, respectively) are cleaved in the presence of inositol-6-phosphate. The double mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 3 and 5, respectively) are also cleaved in the presence of inositol-6-phosphate (data not shown), similar to that for wild-type. Toxin A (SEQ ID NO: 3) is cleaved from 308 kDa into 2 fragments of 245 and 60 kDa. Toxin B (SEQ ID NO: 5) is cleaved from 270 kDa into two fragments of 207 and 63 kDa. The triple genetic mutants A and B (TM) (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) remain unaffected at 308 and 270 kDa respectively, even in the presence of inositol-6-phosphate. See Figure 5. Therefore, the cysteine protease activity was inactivated by genetic modification.

More specifically, in figure 5, one µg of triple mutant A and triple mutant B were incubated for 90 minutes at room temperature (21 ± 5°C) in parallel with wild-type TcdA and TcdB from List Biologicals. The cleavage reaction was performed in 20 µL volume in Tris-HCl, pH 7.5, 2mM DTT in the presence or absence of inositol-6-phosphate (10mM for TcdA and 0.1 mM for Tcd B). The entire reaction volume was then loaded on a 3 -8% SDS/PAGE; the protein bands were visualized by silver staining. As illustrated, wt Tcd A and TcdB were cleaved into two protein bands of 245kD and 60kD and 207kD and 63 kD, respectively, in the presence of inositol-6-phosphate. The triple mutant toxin A and triple mutant toxin B were not cleaved, thus confirming the C700A mutation in triple mutant toxin A and C698A mutation in triple mutant toxin B blocked cleavage.

Example 14: Residual Cytotoxicity of Triple Mutant Toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively)

The genetic mutant toxins were evaluated for their cytotoxicity by an *in vitro* cytotoxicity assay in IMR90 cells, a human diploid lung fibroblast cell line. These cells are sensitive to both toxin A and B. As an alternative preferred embodiment, Vero normal kidney cells from *Cercopithecus aethiops* may be used in the cytotoxicity assay since they were observed to have reasonable sensititivities to toxin A and B. Preferably, HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells are not used in the cytotoxicity assay because they have shown significantly decreased sensititivities to the toxins, as compared to the Vero and IMR90 cell lines. See, for example, Table 6 below.

Table 6: Cell Line Sensitivities to Toxins A and B*

Cell line	Toxin 50 µg/ml	Cells/well	EC_{50} (pg/ml)	
			48 hours	72 hours
Vero (ATCC CCL-81™)	A	10000	1816	244
	B	10000	62	29
IMR90 (ATCC CCL-186TM)	A	10000	1329	1152
	B	10000	14	13
HT-29 (ATCC HTB-38™)	A	10000	>1E6	>1E6
	B	10000	11089	53313

*In vitro cytotoxicity assay was performed by measuring cellular ATP using luciferase-based substrate, CellTiter-Glo® (Promega, Madison, WI)

Serially diluted genetic mutant toxin or *wt* toxin samples were added to the cell monolayers grown in 96-well tissue culture plates. After incubation at 37°C for 72h, the plates were evaluated for metabolically active cells by measuring cellular ATP levels by addition of luciferase based CellTiterGlo® reagent (Promega, Madison, WI) generating luminescence expressed as relative luminescence units (RLUs). High RLUs show that the cells are viable, low RLUs show that the cells are not metabolically active and are dying. The level of cytotoxicity, expressed as EC_{50}, is defined as the amount of *wt* toxin or genetic mutant toxin that elicits a 50% reduction in RLUs compared to levels in cell culture controls (details of this assay are provided below). As shown in Figure 6, Tables 7A, and Table 8A, the EC_{50} values of TcdA and TcdB were about 0.92 ng/mL and 0.009 ng/mL, respectively. The EC_{50} values of triple mutant toxin A and triple mutant toxin B

were about 8600 ng/mL and 74 ng/mL, respectively. Despite an approximate 10,000-fold reduction in cytotoxicity relative to *wt* toxins, both genetic mutant toxins still demonstrated low residual levels of cytotoxicity. This residual cytotoxicity could be blocked by neutralizing antitoxin monoclonal antibodies indicating that it was specific to the triple mutant toxins but not likely related to the known enzymatic activities of the *wt* toxins (glucosylation or autoproteolysis).

Both wt toxins exhibit potent *in vitro* cytotoxicity, with small amounts of the toxins being sufficient to cause various effects on mammalian cells such as cell rounding (cytopathic effect or CPE) and lack of metabolic activity (as measured by ATP levels). Consequently, two *in vitro* assays (a CPE or cell rounding assay and an ATP assay) have been developed to verify that no residual cytotoxicity in the mutant toxin drug substances remains. The results are expressed as EC_{50}, which is the amount of toxin or mutant toxin that causes 1) 50% of the cells to develop CPE or 2) 50% reduction in ATP levels as measured in relative light units.

In the CPE assay, a sample of drug substance is serially diluted and incubated with IMR90 cells, which are observed for a potential cytopathic effect. The CPE assay is scored on a scale of 0 (normal cells) to 4 (~100 % cell rounding) and a score of 2 (~50% cell rounding) is defined as EC_{50} value of the test sample. This method is used for testing of mutant toxin drug substance at the concentration of 1000 µg /mL, which is the maximal tolerable concentration that can be tested in this assay without matrix interference. Consequently, no detectable cytotoxicity is reported as EC_{50} >1000 µg/ml.

The ATP assay is based on measurement of the amount of luminescence signal generated from ATP, which is proportional to the number of metabolically active cells. The maximal tolerable concentration that can be tested in this assay without assay interference is about 200 µg/mL. Therefore no detectable cytotoxity in this assay is reported as EC_{50} >200 µg/mL.

Different concentrations of mutant toxin A and B were added to cells in parallel with toxin controls. The endpoints of the assay were cell viability determined by cellular ATP levels using the CellTiter-Glo® (Promega). The degree of luminescence is proportional to ATP levels or viable cell number.

The *in vitro* cytotoxicity (EC_{50}) of wild type (wt) toxin A was 920 pg/mL and 9 pg/mL for toxin B. The *in vitro* cytotoxicity (EC_{50}) of mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) was 8600 ng/mL and 74 ng/mL for mutant toxin B (SEQ ID NO: 6). Although these values represent reductions of 9348 and 8222-fold, respectively, residual cytotoxicity was detected in both mutant toxins.

In other words, the cytotoxicity of triple mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) was significantly reduced in the *in vitro* cytotoxicity assay in IMR-90 cells relative to the cytotoxicity of wt toxins A and B (SEQ ID NOs: 1 and 2, respectively). As illustrated in Figure 6, although both triple mutant toxins exhibited significant reduction in cytotoxicity (10^4 fold) relative to the wt toxin, residual cytotoxicity was observed at higher concentrations of both triple mutant toxins.

Furthermore, the residual cytotoxicity of each triple mutant toxin could be completely neutralized (e.g., at least a 6-8 log_{10} reduction in toxicity, relative to the wild-type toxin toxicity) by the toxin specific antibodies. See Example 16, below.

Cell culture assays are more sensitive for detection of cytotoxicity than *in vivo* animal models. When delivered by either i.p. or i.v routes in the mouse lethal challenge model, the *wt* TcdA has an LD_{50} of ~50 ng per mouse while the *wt* TcdB is more potent with an LD_{50} of ~5 ng per mouse. In contrast, the cell culture based *in vitro* assays described above have EC_{50} values of 100 pg per well for *wt* TcdA and 2 pg per well for *wt* TcdB.

Example 15: Residual Cytotoxicity of the Genetic Hepta Mutant Toxin B (SEQ ID NO: 8)

As illustrated in Figure 7, the EC_{50} values are similar for the triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) (20.78 ng/mL) and hepta mutant toxin B (SEQ ID NO: 8) (35.9 ng/mL) mutants indicating that the four additional mutations to further modify the glucosyltransferase active site and GTPase substrate binding site did not further reduce the cytotoxicity of the genetic mutant toxins. The EC_{50} values were also similar for the double mutant toxin B (SEQ ID NO: 5) as they are for the triple and hepta mutant toxins (data not shown). This observation suggests the mechanism for cytotoxicity of the mutant toxins is surprisingly independent of the glucosyltransferase and substrate recognition mechanism.

Example 16: Residual Cytotoxicity of Triple Mutant Toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively)

To further evaluate the nature of the residual cytotoxicity, the mutant toxins (SEQ ID NOs: 4 and 6) were mixed and incubated with their respective neutralizing antibodies before and the mixture was added to IMR90 cell monolayer.

The results (Figure 8) showed that the residual cytotoxicity of mutant toxin A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) can be completely abrogated with neutralizing antibodies specific for mutant toxin A (top panel, Figure 8) and mutant toxin B (bottom panel, Figure 8). Increasing concentrations of mutant toxin A (top panel) and B (bottom panel) were incubated with rabbit anti-toxin polyclonal (pAb, 1:10 dilution) or murine monoclonal antibodies (1:50 dilution from a stock containing 3.0 mg IgG/mL) before adding to IMR90 cells. After 72-hr treatment incubation with IMR90 cells at 37°C, CellTiter-Glo® substrate was added and the relative light units (RLU) were measured in a spectrophotometer with the luminescence program to measure ATP levels. The lower the ATP level, the higher the toxicity. Controls included TcdA and TcdB added at 4 times their corresponding EC_{50} values.

Published reports suggest that mutations in the glucosyltransferase or autocatalytic protease domain of the toxins result in complete inactivation of the toxicity. However, our data do not agree with these published reports and this could be attributed to increased concentrations of the highly purified mutant toxins tested in our studies as opposed to crude culture lysates in published reports; increased time points at which cell rounding of mutant toxin-treated cells was observed (e.g., 24 hours, 48 hours, 72 hours, or 96 hours) as opposed to observations made in less than 12 hours; use of cell lines that exhibit significantly higher sensitivities to toxins in present cytotoxicity assays in contrast to HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells in cytotoxicity assays disclosed in published reports; and/or to an unknown activity or process, other than glycosylation, that could be driving the residual toxicity of the mutant toxins.

Example 17: Novel Mechanism of Cytotoxicity of Genetic Mutant Toxins

To investigate the mechanism of residual cytotoxicity of the genetic mutant toxins, IMR-90 cells were treated with wt toxin B (SEQ ID NO: 2) or genetic mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), and glucosylation of Rac1 GTPase was studied with time of treatment. Samples were collected from 24 to 96 hours and cell extracts were prepared. Glucosylated Rac1 is distinguished from non-glucosylated Rac1 by western blots with two antibodies to Rac1. One antibody recognizes both forms of Rac1 (23A8) and the other (102) only recognizes non-glucosylated Rac1. As illustrated in Figure 22, for toxin B, the total Rac1 levels stayed unchanged over time with majority of the Rac1 being glucosylated. Treatment with the genetic mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), on the other hand, resulted in significant reduction of total Rac1, however, the Rac1 was non-glucosylated at all time points. This shows that Rac1 level was negatively affected by the treatment with the genetic mutant toxin, but not by wt toxin. As illustrated in Figure 22, the level of actin was similar in toxin and genetic mutant toxin B treated cells and similar to mock treated cells at indicated time points. This showed that the genetic mutant toxins exerted cytotoxicity by a mechanism which is different than the wild-type toxin-driven glucosylation pathway.

Example 18: Chemical treatment of genetic mutant toxins

Although the genetically modified mutant toxins showed a 4-log reduction in cytotoxic activity is preferred, further reduction (2 to 4 logs) in cytotoxic activity was considered. Two chemical inactivation strategies have been evaluated.

The first method uses formaldehyde and glycine to inactivate the mutant toxins. Formaldehyde inactivation occurs by forming a Schiff base (imine) between formaldehyde and primary amines on the protein. The Schiff bases can then react with a number of amino acid residues (Arg, His, Trp, Tyr, Gln, Asn) to form either intra- or intermolecular crosslinks. This crosslinking fixates the structure of the protein rendering it inactive. In addition, formaldehyde can react with glycine to from a Schiff base. The glycyl Schiff base can then react with the amino acid residues to form intermolecular protein-glycine crosslinks. Formaldehyde reduced the cytotoxic activity of the genetic mutant toxins to below detectable limits (reduction in cytotoxicity >8 $\log_{10}$ for triple mutant B (SEQ ID NO: 6) and >6 $\log_{10}$ for triple mutant A (SEQ ID NO: 4). However, reversion was observed over time when the formaldehyde-inactivated (FI) triple mutant toxins were incubated at 25ºC. The cytotoxic reversion can be prevented by addition of a low amount of formaldehyde (0.01-0.02%) into the FI-triple mutant toxins storage solution. See Example 23.

Another method uses 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) treatment to generate inactivated mutant toxins. In this method, EDC/NHS reacts with carboxylic groups on the protein to form activated esters. The activated esters can then react with primary amines on the protein to form stable amide bonds. As with the formaldehyde reaction, this reaction results in intra- and intermolecular crosslinks. The amide bond formed by treatment with EDC/NHS is more stable and non-reversible than the labile imine bond formed by formalin inactivation. In addition to crosslinks formed by the reaction of activated esters with primary amines on the polypeptide, both glycine and beta-alanine adducts can be formed. Without being bound by mechanism or theory, glycine adducts are produced when glycine is added to quench unreacted activated esters. The amine of glycine reacts with the activated ester on the polypeptide to form stable amide bonds. Without being bound by mechanism or theory, beta-alanine adducts are formed by the reaction of activated beta-alanine with primary amines on the polypeptide. This reaction results in stable amide bonds.

Activated beta-alanine is produced by the reaction of three moles of NHS with one mole of EDC.

To achieve the 2-4 logs reduction of cytotoxic activity relative to the genetically modified mutant toxins (6-8 logs, relative to native toxins), the chemically inactivated mutant toxins should have EC_{50} values of ≥1000 µg/mL. In addition to reduction in cytotoxic activity, it would be advantageous to retain key epitopes as determined by dot-blot analysis. To date, a number of reaction conditions have been identified that meet both the reduction cytotoxicity and epitope recognition criteria. Several batches of inactivated mutant toxins have been prepared for animal studies and analytical data from a few representative batches is shown in Tables 7A and 7B, Table 8A and 8B.

Table 7A: Chemically Inactivated Mutant Toxin A is Safe and Antigenic					
Sample #	Toxin Sample ID	Treatment	CPE EC_{50} µg/mL	Reduction in toxicity Log Scale	Reactivities to mAbs
1	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44905-160A	Formalin	>1000	6.4	Medium/high
2	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44166-166	EDC	>1000	6.4	High
3	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44905-170A	Formalin	>1000	6.4	Low
CONTROLS					
4	TcdA wt (from List Bio)	none	390 pg/mL	1	High
5	TcdB wt (from List Bio)	none	3.90 pg/mL	Not applicable	None
6	rMutant TcdA TM Genetic L36901-79 (SEQ ID NO: 4)	none	12.5 µg/mL	4.5	High
7	Toxoid A List Bio	Formalin	Not Done	---	Low

Table 7B: Chemically inactivated Mutant Toxin A is Safe and Antigenic								
Sample #	Toxin Sample ID	Treatment	Reactivity with mAb (dot blot, nondenaturing conditions)					
			N-terminal mAb#6	Mid-Domain mAb # 102	C-terminal (neut)			
					A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
1	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44905-160A	Formalin	++	++	++++	++	++++	++++
2	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44166-166	EDC	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3	Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) L44905-170A	Formalin	+	+	++	++	++	+
CONTROLS								
4	TcdA wt (from List Bio)	none	++++	+++	++++	++++	++++	++++
5	TcdB wt (from List Bio)	none	—	—	—	—	—	—
6	rMutant TcdA TM Genetic L36901-79 (SEQ ID NO: 4)	none	++++	++++	++++	++++	++++	++++
7	Toxoid A List Bio	Formalin	—	—	+	—	++	+

List =List Biologicals; CPE= cytopathic effect assay; EC_{50} = the lowest concentration where 50% of the cells show cytotoxicity; mAbs= monoclonal antibodies; neut= neutralizing; ND= not done; TM= active site and cleavage mutant ("triple mutant")

Table 8A: Chemically Inactivated Mutant Toxin B is Safe and Antigenic					
Sample #	Toxin Sample ID	Treatment	CPE EC_{50} µg/mL	Reduction in toxicity Log Scale	Reactivities to mAbs
1	Mutant TcdB L44905-182 (SEQ ID NO: 6)	Formalin	>1000	8.4	Medium/high
2	Mutant TcdB L34346-38A (SEQ ID NO: 6)	EDC	>1000	8.4	High
3	Mutant TcdB L44905-170B (SEQ ID NO: 6)	Formalin	>1000	8.4	Low
CONTROLS					
4	Tcda wt (from List Bio)	none	390 pg/mL	Not applicable	None
5	TcdB wt (from List Bio)	none	3.90 pg/mL	1	High
6	rMutant toxin B TM Genetic (SEQ ID NO: 6) L34346-022	none	69 ng/mL	4.2	High
7	Toxoid A List	Formalin	Not done	---	Medium

Table 8B: Chemically Inactivated Mutant Toxin B is Safe and Antigenic						
Sample #	Toxin Sample ID	Treatment	Reactivity with mAb (dot blot, nondenaturing conditions)			
			N-terminal aa 1-543		Mid-/C-terminal aa 544-2366	
			B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
1	Mutant TcdB (SEQ ID NO: 6) L44905-160A	Formalin	+++	+++	++	++
2	Mutant TcdB (SEQ ID NO: 6) L44166-166	EDC	++++	++++	++++	++++
3	Mutant TcdB (SEQ ID NO: 6) L44905-170A	Formalin	++	+	+/-	-
CONTROLS						
4	TcdA wt (from List Bio)	none	—	—	—	—
5	TcdB wt (from List Bio)	none	++++	+++	++++	++++
6	rMutant TcdB TM Genetic L34346-022 (SEQ ID NO: 6)	none	++++	++++	++++	++++
7	Toxoid B List	Formalin	+++	+++	+++	+++

List =List Biologicals; CPE= cytopathic effect assay; EC_{50} = the concentration where 50% of the cells show cytotoxicity; mAbs= monoclonal antibodies; neut= neutralizing; ND= not done; TM= active site and cleavage mutant (“triple mutant”)

Example 19: Purification

At the end of fermentation, the fermenter is cooled. The cell slurry is recovered by continuous centrifugation and re-suspended in the appropriate buffer. Lysis of the cell suspension is achieved by high-pressure homogenization. For mutant toxin A, the homogenate is flocculated and the flocculated solution undergoes continuous centrifugation. This solution is filtered and then transferred for downstream processing. For mutant toxin B, the homogenate is clarified by continuous centrifugation, and then transferred for downstream processing.

Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) is purified using two chromatographic steps followed by a final buffer exchange. The clarified lysate is loaded onto a hydrophobic interaction chromatography (HIC) column and the bound mutant toxin is eluted using a sodium citrate gradient. The product pool from the HIC column is then loaded on a cation exchange (CEX) column and the bound mutant toxin A is eluted using a sodium chloride gradient. The CEX pool containing purified mutant toxin A is exchanged into the final buffer by diafiltration. The purified mutant toxin A is exchanged into the final drug substance intermediate buffer by diafiltration. After diafiltration, the retentate is filtered through a 0.2 micron filter prior to chemically inactivation to a final drug substance. The protein concentration is targeted to 1-3 mg/mL.

Mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) is purified using two chromatographic steps followed by a final buffer exchange. The clarified lysate is loaded onto an anion exchange (AEX) column, and the bound mutant toxin is eluted using a sodium chloride gradient. Sodium citrate is added to the product pool from the AEX column and loaded on a hydrophobic interaction chromatography (HIC) column. The bound mutant toxin is eluted using a sodium citrate gradient. The HIC pool containing purified mutant toxin polypeptide (SEQ ID NO: 6) is exchanged into the final buffer by diafiltration . The purified mutant toxin B is exchanged into the final drug substance intermediate buffer by diafiltration. After diafiltration, the retentate is filtered through a 0.2 micron filter prior to chemically inactivation to a final drug substance. The protein concentration is targeted to 1-3 mg/mL.

Example 20: Formaldehyde/Glycine Inactivation

After purification, the genetic mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) are inactivated for 48 hours at 25°C using 40 mM (1.2 mg/ml) of formaldehyde. The inactivation is carried out at pH 7.0 ± 0.5 in 10 mM phosphate, 150 mM sodium chloride buffer containing 40 mM (3 mg/ml) glycine. The inactivation period is set to exceed three times the period needed for reduction in the EC_{50} in IMR90 cells to greater than 1000 ug/mL. After 48 hours, the biological activity is reduced 7 to 8 log_{10} relative to the native toxin. Following the 48 hour incubation, the inactivated mutant toxin is exchanged into the final drug substance buffer by diafiltration. For example, using a 100 kD regenerated cellulose acetate ultrafiltration cassette, the inactivated toxin is concentrated to 1-2 mg/mL and buffer-exchanged.

Example 21: N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (EDC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) Inactivation

After purification, the genetic mutant toxins (SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6) are inactivated for 2 hours at 25°C using 0.5 mg EDC and 0.5 mg NHS per mg of purified genetic mutant toxin A and B (approximately 2.6 mM and 4.4 mM respectively). The reaction is quenched by the addition of glycine to a final concentration of 100 mM and the reactions incubate for an additional 2 hours at 25°C. The inactivation is carried out at pH 7.0 ± 0.5 in 10 mM phosphate, 150 mM sodium chloride buffer. The inactivation period is set to exceed three times the period needed for reduction in the EC_{50} in IMR90 cells to greater than 1000 ug/mL. After 2 hours, the biological activity is reduced 7 to 8 log_{10} relative to the native toxin. Following the 4 hour incubation, the inactivated mutant toxin is exchanged into the final drug substance buffer by diafiltration. For example, using a 100 kD regenerated cellulose acetate ultrafiltration cassette, the inactivated toxin is concentrated to 1-2 mg/mL and buffer-exchanged.

Unless otherwise stated, the following terms as used in the Examples section refer to a composition produced according to the present description in Example 21: "EDC/NHS-treated triple mutant toxin"; "EDC-inactivated mutant toxin"; "mutant toxin [A/B] drug substance"; "EI-mutant toxin"; "EDC/NHS-triple mutant toxin." For example, the following terms are synonymous: "EDC/NHS-treated triple mutant toxin A"; "EDC-inactivated mutant toxin A"; "mutant toxin A drug substance"; "EI-mutant toxin A"; "EDC/NHS-triple mutant toxin A." As another example, the following terms are synonymous: "EDC/NHS-treated triple mutant toxin B"; "EDC-inactivated mutant toxin B"; "mutant toxin B drug substance"; "EI-mutant toxin B"; "EDC/NHS-triple mutant toxin B."

The mutant toxin A drug substance and the mutant toxin B drug substance are each manufactured using a batch process, which includes (1) fermentation of a the toxin negative *C. difficile* strain (VPI 11186) containing a plasmid encoding the respective genetic triple mutant toxin polypeptide (in a medium including soy hydrolysate, yeast extract HY YEST™ 412 (Sheffield Bioscience), glucose, and thiamphenicol), (2) purification of the genetic mutant toxin (the "drug substance intermediate") from the cell-free lysate using ion exchange and hydrophobic interaction chromatographic procedures to at least greater than 95% purity, (3) chemical inactivation by treatment

with EDC/NHS followed by quenching/capping with glycine, and (4) exchange into the final buffer matrix.

Example 22: Studies Supporting Conditions of Inactivation and Formulation

To optimize the chemical inactivation of the genetic mutant toxins, a statistical design of experiment (DOE) was performed. Factors examined in the DOE included temperature, formaldehyde/glycine concentration, EDC/NHS concentration and time (Table 9 and 10). To monitor loss of biological activity, EC_{50} values in IMR90 cells were determined. In addition, cell morphology of IMR-90 cells various timepoints post-treatment were also observed. See Figure 9, showing morphology at 72 hours post treatment. To determine the effect on protein structure, epitope recognition was monitored using dot-blot analysis using a panel of monoclonal antibodies raised against different domains of the toxin.

Table 9: Parameters Tested Formaldehyde/Glycine DOE	
Parameters	Range tested
Time (days)	1 to 14
Temperature (°C)	4 to 37
Toxin concentration (mg/ml)	1 to 1.25
Formaldehyde concentration (mM)	2 to 80
Glycine concentration (mg/ml)	0 to 80

Table 10: Parameters Tested EDC/NHS DOE	
Parameters	Range tested
Time (hours)	1 to 4
Temperature (°C)	25 to 35
Toxin concentration (mg/ml)	1 to 1.25
EDC (mg/mg toxin)	0.25 to 2.5
NHS (mg/mg toxin)	0 to 2.5

In the formaldehyde/glycine inactivation of *C. difficile* mutant toxins, final reaction conditions were chosen such that the desired level of reduction in cytotoxic activity (7 to 8 $\log_{10}$) was achieved while maximizing epitope recognition. See Example 20 above.

In the EDC/NHS inactivation of *C. difficile* mutant toxins, final reaction conditions were chosen such that the desired level of reduction in cytotoxic activity (7 to 8 $\log_{10}$) was achieved while maximizing epitope recognition. See Example 21 above.

In an alternative embodiment, the EDC-NHS reaction was quenched by addition of alanine, which sufficiently quenched the reaction. Use of alanine may result in a modification on the mutant toxin protein that is similar to the modification when the reaction is quenched by glycine. For example, quenching by adding alanine may result in an alanine moiety on a side chain of a glutamic acid and/or aspartic acid residue of the mutant toxin. In another alternative embodiment, the EDC-NHS reaction was quenched by addition of glycine methyl ester, which sufficiently quenched the reaction.

Production of chemically inactive triple mutant *C. difficile* toxin A and toxin B under optimized conditions resulted in a further reduction of residual cytotoxicity to an undetectable level (>1000 µg/mL - the highest concentration tested via the CPE assay), while retaining antigenicity as measured by their reactivity to the toxin-specific neutralizing antibodies. The results shown in Table 28 demonstrate a stepwise reduction in cytotoxicity from wt toxin through to EDC/NHS-treated triple mutant toxins. Immunofluorescence labelling confirmed that triple mutant toxins (SEQ ID NO: 4 and 6) and mutant toxin drug substances exhibited comparable binding to the IMR-90 cells suggesting that the cytotoxicity loss was not due to reduced binding to the cells (data not shown). Compared to mutant toxin A drug substance, the mutant toxin B drug substance achieved higher fold-reduction in cytotoxicity, which is consistent with the observed ~600-fold higher potency of TcdB compared to TcdA.

Table 28. Cytotoxicity Summary

Toxin	**Sample**	**EC_{50}**	**Fold reduction in cytotoxicity**
A	TcdA (SEQ ID NO: 1)	1.6 ng/mL	1
	Triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4)	12.5 µg/mL	7800
	Mutant toxin A Drug Substance	>1000 µg/mL	>625,000
B	TcdB (SEQ ID NO: 2)	2.5 pg/mL	1
	Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)	45 ng/mL	18,000
	Mutant toxin B Drug Substance	>1000 µg/mL	>400,000,000

Cytotoxicity assay results for mutant toxin B modified by EDC alone, or by EDC and sulfo-NHS were also assessed. See Table 29.

Table 29

Sample	Cytotoxicity EC_{50}, $mg.mL^{-1}$ (CPE)	Comment
TcdB TM (SEQ ID NO: 6), unmodified	0.03	
TM TcdB-EDC 1, no NHS	<0.97	Reacted with EDC alone
TM TcdB-EDC 2, no NHS	<0.97	Duplicate preparation
TM TcdB-EDC 3, sulfo-NHS (0.5x)	125	Reacted with EDC and sulfo-NHS
TM TcdB-EDC 4, sulfo-NHS (0.5x)	125	Duplicate preparation
TM TcdB-EDC 3, sulfo-NHS (1.0x)	250	Reacted with EDC and sulfo-NHS
TM TcdB-EDC 4, sulfo-NHS (2.0x)	750	Reacted with EDC and sulfo-NHS

Conditions: Triple mutant toxin B ("TM TcdB")(SEQ ID NO: 6) was modified in the weight ratios mutant toxin B:EDC:sulfo-NHS = 1: 0.5: 0.94. This ratio is the molar equivalent (corrected for higher MW of sulfo-NHS) to the standard EDC/NHS reaction as described in Example 21. To determine the affect of sulfo-NHS, the sulfo-NHS ratio was varied from 0.5x to 2x the standard ratio. Duplicate reactions were performed in 1 x PBS pH 7.0 at 25 °C, and were initiated by addition of EDC solution. After 2 hours, reactions were quenched by the addition of 1 M glycine pH 7.0 (0.1 M final concentration) and incubated for a further 2 hours. Quenched reactions were desalted and mutant toxin B drug substance ("TM TcdB-EDC") was concentrated using Vivaspin 20 devices, and sterile filtered into sterile vials and submitted for assessment in a cytotoxicity assay.

At the same molar ratio, sulfo-NHS reduced the EC_{50} to about 250 ug/mL as compared to >1000 ug/mL for NHS. Even at twice the molar ratio, sulfo-NHS does not appear not as effective as NHS in decreasing cytotoxicity. See Table 30.

Table 30

Modification	reference Digest (TcdB EDC 004)	NHS control digest (TcdB EDC 001)	Sulfo-NHS Sample Digest
glycine adduct (+57 da)	49	29	35
beta-alanine (+71 da)	24	19	0
crosslinks (-18 da)	7	4	3
dehydroalanine (-34 da)	6	5	4
Unmodified	273	195	217

To determine the number and type of modifications, peptide mapping was performed on both EDC/NHS and EDC/sulfo-NHS inactivated triple mutant toxin B samples. Similar amounts of glycine adducts, crosslinks and dehydroalanine modifications were observed in both samples. However in the sulfo-NHS sample, no beta-alanine was observed.

Wild-type toxin B (SEQ ID NO: 2) was inactivated using the standard protocol (see Example 21); toxin B:EDC:NHS 1:0.5:0.5, 25°C for 2 hours in 1 x PBS pH 7.0, then quench with 1 M glycine (0.1 M final concentration) and incubate for an additional 2 hours. The sample was desalted, concentrated and submitted for cytotoxicity assay. The EC_{50} for this samples was <244 ng/mL.

Example 23: Reversion Studies

To determine if reversion occurs with either the formaldehyde/glycine or EDC/NHS inactivated *C. difficile* mutant toxins, samples of inactivated mutant toxins (1 mg/mL) were incubated at 25ºC for five-six weeks. Aliquots were removed each week and the EC_{50} values in IMR90 cells were determined. One formaldehyde/glycine inactivated sample contained no formaldehyde and one sample contained 0.01% formaldehyde. The EC_{50} was measured by the CPE assay.

Table 11: Results from Inactivated TcdA Reversion Study			
Time of Incubation (Days)	EC_{50} (IMR90 cell assay)		
	Formalin-inactivated		EDC/NHS
	No formaldehyde	0.01% formaldehyde	
0	1000 ug/ml	1000 ug/ml	1000 ug/ml
7	740 ug/mL	ND	1000 ug/ml
14	493 ug/mL	1000 ug/ml	1000 ug/ml
21	395 ug/mL	ND	1000 ug/ml
28	395 ug/mL	1000 ug/ml	1000 ug/ml
35	326 ug/M	ND	ND

At 25ºC in the absence of residual formaldehyde, partial reversion is observed (Table 11). After five weeks, the cytotoxic activity increased approximately 3-fold. Although the cytotoxic activity increased, after five weeks there was still a 7 log_{10} reduction relative to the native toxin. Reversion was completely prevented by inclusion of formalin at a concentration of 0.010%. No reversion was observed in the EDC/NHS inactivated sample. Throughout the 6-week incubation, EC_{50} values remained at the starting level of >1000 µg/mL for all four lots of both EDC/NHS-treated triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) and EDC/NHS-treated triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6). In contrast, the EC_{50} values of FI-treated triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) and FI-treated triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) were not stable and declined to unacceptably low EC_{50} values, indicating an increase in cytotoxicity or reversion of inactivation. See Table 11.

In addition to stably reducing the cytotoxicity to an undetectable level (>1000 µg/mL, as measured by the CPE assay), mutant toxins inactivated using EDC/NHS retained important epitopes that are targets of toxin-neutralizing mAbs. See Table 31 . FI mutant toxins showed a loss of the same antigenic determinants.

Table 31. EDC/NHS Inactivation Reduced Cytotoxicity of Genetic Mutant Toxins and Maintained Important Antigenic Determinants

Sample	EC_{50}	Reduction in cytotoxicity relative to wt toxin (log_{10})[a]	Max binding (Rmax)[b] Neut mAb[d]		
			1[c]	2	3
Triple mutant A (SEQ ID NO: 4)	12.5 µg/mL	4.5	100	100	100
FI- Triple mutant A	>1000 µg/mL	>6.4	55	59	53
EDC/NHS- Triple mutant A	>1000 µg/mL	>6.4	90	94	103
Triple mutant B (SEQ ID NO: 6)	69 ng/mL	4.3	100	100	100
FI-Triple mutant B	>1000 µg/mL	8.4	67	67	36
EDC/NHS-Triple mutant B	>1000 µg/mL	8.4	87	78	73

a cytotoxicity was measured using the CPE assay on IMR90 cells
b values determined by Biacore™ analysis using multiple neutralizing mAbs directed at various non-overlapping toxin epitopes
c values are averages of two experiments
d For the first three rows, the neut mAb "1," "2," "3" refer to mAbs A60-22, A80-29, and A65-33 for toxin A, respectively. For the bottom three rows, the neut mAb "1," "2," "3" refer to mAbs B8-26, B59-3, and B-56-15 for toxin B, respectively.

Example 24: Preclinical Immunogenicity Studies

Key preclinical objectives include testing compositions including *C. difficile* mutant toxins A and B in small animals and nonhuman primates (NHP). Mice and hamsters were immunized to determine, among other things, if the *C. difficile* compositions are capable of eliciting neutralizing antibodies against the mutant toxin A and B. The antigens were tested for induction of serum neutralization antibody responses following a series of immunizations in mice, hamsters, and cynomolgus macaques. The genetic and/or chemically-inactivated mutant toxins were formulated in either neutral buffer, aluminum phosphate buffer, or buffer containing ISCOMATRIX as an adjuvant in some embodiments. Neutralizing antibody responses were generally tested about two to four weeks after each boost or the final dose.

The toxin neutralization assay demonstrates the ability of an antiserum to neutralize the cytotoxic effect mediated by *C. difficile* TcdA or TcdB and is therefore able to measure the functional activity of antibodies that are present in a sample. A toxin neutralization assay was performed on a human lung fibroblast cell line, IMR-90, which is sensitive to both TcdA and TcdB. Briefly, a 96-well microtiter plate was seeded with IMR-90 cells serving as the target of toxin-mediated cytotoxicity. Each test serum sample was analyzed separately for the ability to neutralize TcdA and TcdB. Appropriate serial dilutions of test antisera were mixed with a fixed concentrations of TcdA or TcdB and incubated at 37ºC for 90 minutes in a humidified incubator (37ºC /5% CO_2) to allow for neutralization of the toxins to occur. For quality control, all plates included a Reference standard and controls which includes antitoxin antibodies of known titer. After 90 minutes, the toxin-antisera mixture was added to the IMR-90 cell monolayer and the plates were incubated for an additional 72 hours. Subsequently, CellTiter-Glo® substrate was added to the assay plate to determine the Adenosine Triphosphate (ATP) levels present in metabolically active cells and was measured as Relative Luminescence Units (RLU). A large ATP level indicates high cell viability, and levels are directly proportional to the amount of neutralization of the toxin by the antibody present in the sample. For preclinical data, the RLU data was plotted against the dilution value of the test antisera sample to generate a Four-Parameter Logistic (4-PL) regression response fit curve. The neutralization titers were expressed as the sample dilution value which exhibited 50% reduction in cytotoxicity.

Example 25: Mouse immunogenicity study: mu*C. difficile*2010-06

The purpose of this study was to assess the immunogenicity of two forms of mutant *C. difficile* toxin B (SEQ ID NO: 6), each chemically-inactivated by different methods. In this study, the untreated mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) (genetically inactivated but not chemically inactivated) was used as a control, with and without adjuvant.

Groups of 10 mice were immunized intramuscularly with 10 µg of an immunogen according to Table 12.

Table 12. Testing chemically inactivated mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) in mice

Group	Immunogen	Dose	No.	Route	Schedule
1	Formalin-Inactivated Mutant toxin B[a] in $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8
2	Inactivated Mutant toxin B form 2[b] in $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8
3	Genetic-Inactivated Mutant toxin B unadjuvanted	10 µg	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8,
4	Genetic-Inactivated Mutant toxin B in $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8,

[a] chemical inactivation = Formalin/glycine treated 10°C for 7 days

[b] chemical inactivation = EDC/NHS treated, 30°C for 2 hours

[c] aluminum ion concentration = 0.5 mg/mL

Results: There were no adverse events in the mice following each administration of the vaccine candidates. As illustrated in Figure 10, mice in each group developed significant robust anti-toxin B neutralizing antibodies after the third dose with the respective mutant toxins.

Based on the week 12 titers, it appears that in mice the EDC-inactivated mutant toxin B (Group 2) and the formalin-inactivated mutant toxins (Group 1) generated potent neutralizing responses.

In the absence of chemical inactivation, the genetic mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) generated neutralizing responses after two doses (Groups 3-4, week 8), which were boosted after the third dose (Groups 3-4, week 12).

Example 26: Mouse immunogenicity study: mu*C. difficile*2010-07:

The purpose of this study was to assess immunogenicity of chemically inactivated *C. difficile* mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively), either alone or in combination. The immunogens for all groups were formulated with aluminum phosphate as an adjuvant.

Groups of 5 mice were immunized intramuscularly with 10 µg of an immunogen according to Table 13.

Table 13. Testing Chemically Inactivated Genetic A and B mutant toxins (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) in Mice

Group	Immunogen	Dose	No.	Group	Schedule
1	Formalin-Inactivated[a] Mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) in $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
2	EDC-Inactivated[b] Mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) in $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
3	Formalin-Inactivated Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) form 1 in $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
4	EDC-Inactivated Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) in $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
5	Formalin-Inactivated Mutant toxins A+B in $AlPO_4$[c]	10 µg each	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12

[a] Formalin-treatment = formalin/glycine treated for 2 days at 25°C; mutant toxin was not cytotoxic and retained binding to all mutant toxin-specific monoclonal antibodies tested
[b] EDC-treatment = EDC/NHS treated for 4hrs at 30°C; mutant toxin was not cytotoxic and retained binding to all mutant toxin-specific monoclonal antibodies tested
[c] aluminum ion concentration = 0.5 mg/mL

Results: There were no adverse events in the mice following each administration of the vaccine candidates. As illustrated in Figure 11, after two doses of chemically inactivated genetic mutant toxins, the anti-toxin A neutralizing antibodies (Groups 3-5) were boosted to titers between 3 and $4\log_{10}$ while the anti-toxin B neutralizing antibodies (Groups 1-2, 5) remained low to undetectable, which is consistent with the data from the mouse study described above (Figure 10). Anti-toxin B neutralizing antibodies boosted to 2-3 $\log_{10}$ in groups 1, 2, and 5 following the third dose (week 12 titers) and reached their peak two weeks following the fourth dose (week 14 titers). The anti-toxin A neutralizing antibody titers in groups 3-5 increased slightly following the third (week 12 titers) and fourth immunizations (week 14 titers).

Example 27: Hamster immunogenicity study: ham*C. difficile*2010-02:

The purpose of this study was to assess immunogenicity and protective potential of *C. difficile* triple mutant and chemically inactivated mutant toxins A and B in the Syrian golden hamster model. The Syrian golden hamster model represents the best available challenge model for simulating human CDAD. The same batches of mutant toxins A and B used in mouse study mu*C. difficile*2010-07 were used in this study. As a control, one group was given mutant toxins without aluminum-containing adjuvant.

Groups of 5 Syrian golden hamsters were immunized intramuscularly with 10 µg of an immunogen according to Table 14.

Table 14. Testing Chemically Inactivated Mutant Toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) in Hamsters (ham*C. difficile*2010-02)

Group	Immunogen	Dose	No.	Route	Schedule
1	Formalin-Inactivated[a] Mutant toxins A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6) in $AlPO_4$[c]	10 µg each	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
2	Formalin-Inactivated Mutant toxins A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6) in PBS (no adjuvant)	10 µg each	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
3	EDC-Inactivated[b] Mutant toxins A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6) in $AlPO_4$[c]	10 µg each	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12
4	List Biological toxoid in $AlPO_4$[c]	10 µg each	5	IM	Prime wk 0, Boost wks 4, 8, 12

[a] Formalin-treatment = formalin/glycine treated for 2 days at 25°C; Mutant toxin was not cytotoxic and retained binding to all mutant toxin-specific monoclonal antibodies tested
[b] EDC-treatment = EDC/NHS treated for 4hrs at 30°C; Mutant toxin was not cytotoxic and retained binding to all mutant toxin-specific monoclonal antibodies tested
[c] aluminum ion concentration = 0.5 mg/mL

1. Animals: 15 Syrian golden hamsters, female, 6-8 weeks old/ 100-130g each.
2. Vaccination: IM, 0.05 ml each, according to above schedule. Toxoids will be provided by Process Development and will be formulated in AlPO4 diluent by the Formulations Group. Group 2 will serve as a non-adjuvanted control group.
3. Bleed: All hamsters will be bled at weeks 0, 4, 8, and 12, just prior to each immunization.
4. Serum sample analysis: Neutralization assay

Results: There were no adverse events observed following immunization with the mutant toxins. As illustrated in Figure 12, after a single dose of mutant toxins, the anti-toxin A neutralizing responses were between 2-3 $\log_{10}$ for the formalin-inactivated mutant toxins (Groups 1-2) and between 3-4 $\log_{10}$ for the EDC-inactivated mutant toxins (Group 3). After the second dose, anti-toxin A antibodies boosted in all three groups. Anti-toxin A antibodies in all three groups did not appear to increase after the third dose. A similar result was observed after the fourth immunization, where an increase in titer was observed in the formalin-inactivated group that did not contain the aluminum adjuvant (Group 2).

The anti-toxin B neutralizing responses were undetectable in the formalin-inactivated mutant toxins groups (Groups 1-2) and were just over 2 $\log_{10}$ for the EDC-inactivated mutant toxins (Group 3) after a single dose. After the second dose, anti-toxin B neutralizing antibody titers in the two formalin-inactivated groups (Groups 1-2) increased to 3-4$\log_{10}$ while those in the EDC-inactivated group (Group 3) increased to 4-5 $\log_{10}$. For all three groups, increases in anti-toxin B neutralizing antibody titers were observed after the third and/or fourth doses, with all groups reaching a peak titer at week 16 (after the last dose). See Figure 12.

In Figure 13, the level of neutralizing antibody responses against chemically inactivated genetic mutant toxins (Figure 12) was compared to those elicited by List Biological Laboratories, Inc. (Campbell, California) (also referred herein as “List Bio” or “List Biologicals”) toxoids (i.e., toxoids purchased from List Biological Laboratories were prepared by formalin inactivation of wild type toxins; control reagent used to establish the hamster challenge model).

As used herein, “FI” in figures and tables refers to formalin/glycine treatment of the toxins, 2 days at 25°C, unless otherwise stated. As used herein, “EI” in figures and tables refers to EDC/NHS treatment for 4 hours at 30°C, unless otherwise stated. In Figure 13, 5 hamster animals were treated with the respective mutant toxin composition, whereas 11 hamster animals were treated with the toxoid purchased from List Biological.

The data in Figure 13 shows that, in hamsters administered according to Table 14, the respective neutralizing antibody titers against toxin A (Figure 13A) and toxin B (Figure 13B) induced by the immunogenic composition including EDC inactivated mutant toxins after two doses is higher than the respective neutralizing antibody titers elicited by the List Biologicals toxoids.

Example 28: Hamster immunogenicity study: *C. difficile* ham2010-02 (continued)

To assess protective efficacy of the mutant toxins, immunized hamsters, along with one control group of non-immunized animals, were first given an oral dose of clindamycin antibiotic (30 mg/kg) to disrupt normal intestinal flora. After five days, the hamsters were challenged with an oral dose of wild type *C. difficile* spores (630 strain, 100 cfu per animal). Animals were monitored daily for eleven days post-challenge for signs of CDAD, which in hamsters is known as wet tail. Using a system of clinical scoring a number of different parameters, animals determined to have severe CDAD were euthanized. The parameters included activity following stimulation, dehydration, excrement, temperature, and weight, etc., which are known in the art.

At day 11, the study was terminated and all surviving animals were euthanized. Figure 14 shows the survival curves for each of the three immunized groups (Groups 1-3, according to Table 14) as compared to the non-immunized controls. As can be seen, the non-immunized animals all developed severe CDAD and required euthanasia between days 1-3 post challenge (0% survival). Both groups administered with formalin-inactivated mutant toxin had 60% survival curves, with animals not requiring euthanasia until day 3 (Group 1) or day 4 (Group 2). The group administered with EDC-inactivated mutant toxin had an 80% survival curve, with 1 (out of 5) animal requiring euthanasia on day 7. Accordingly, the hamsters were protected from lethal challenge with C. difficile spores.

Example 29: Hamster immunogenicity study: ham*C. difficile*2010-03: Immunogenicity of genetic and chemically-inactivated *C. difficile* mutant toxins

The purpose of this study was to assess immunogenicity of non-adjuvanted *C. difficile* triple mutant and chemically inactivated mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) in the Syrian golden hamster model. The same batches of mutant toxins A and B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively) used in mouse study mu*C. difficile*2010-07 were used in this study. As a control, one group (Group 1) was given a phosphate-buffered saline as placebo.

Groups of five or ten Syrian golden hamsters were immunized with an immunogen according to Table 15. Animals were given three doses. In addition, animals were dosed every two weeks.

Table 15: Experimental Design of Hamster Immunization and Challenge

Group	Immunogen	Dose	No.	Route	Schedule
1	Placebo (PBS buffer)	NA	5	NA	
2	Mutant toxin A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively); Formalin-inactivated	10 µg each	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
3	Mutant toxin A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively); EDC-Inactivated	10 µg each	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
4	Mutant toxin A+B (SEQ ID NOs: 4 and 6, respectively); genetic	10 µg each	10	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4

Results: See Figure 15. No anti-toxin A or B antibodies were observed in the placebo control group. After one dose, anti-toxin A neutralizing antibodies were observed between 2-3 log_{10} for the formalin-inactivated (Group 2) and genetic mutant toxin (Group 4) groups and between 3-4log_{10} for the EDC-inactivated group (Group 3). Anti-toxin A neutralizing antibodies increased in each of these groups (2-4) after the second immunization with the relevant mutant toxins (compare titers at week 2 to week 3 in Figure 15). After the third dose of mutant toxins (given at week 4), anti-toxin A neutralizing antibody titers in Groups 2-4 increased compared to their week 4 titers.

Anti-toxin B neutralizing antibodies were detectable after the second dose, wherein the formalin-inactivated (Group 2) and EDC-inactivated (Group 3) anti-toxin B neutralizing antibodies increased to between 3-4 log_{10} and to between 2-3 log_{10} for the genetic triple mutant (Group 4). Following the third immunization (week 4), the anti-toxin B neutralizing antibody titers boosted to between 3-4 log_{10} for the formalin-inactivated mutant toxins (Group 2) and genetic mutant toxins (Group 4) and between 4-5 log_{10} for the EDC-inactivated mutant toxins (Group 3).

For both anti-toxin A and anti-toxin B neutralizing antibodies, peak titers were observed at week 6 (post-dose 3) for all vaccinated groups (Groups 2-4).

Assessment of Immunogenic Compositions Adjuvanted with Alhydrogel/CpG or ISCOMATRIX

Hamsters immunized with an immunogenic composition including a chemically inactivated mutant toxin formulated with Alhydrogel, ISCOMATRIX, or Alhydrogel/CpG24555 (Alh/CpG) developed robust neutralizing antitoxin antisera. It was observed that peak antitoxin A and antitoxin B responses were 2-3-fold higher and statistically significant in groups immunized with mutant toxins formulated in Alh/CpG or ISCOMATRIX when compared to vaccine formulated with Alhydrogel alone. See Table 32 showing 50% neutralization titers. Hamsters (n=10/ group) were immunized IM at 0, 2, and 4 weeks with 10 μg each mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance formulated with 100 μg of Alhydrogel, or 200 μg of CpG 24555 + 100 μg of Alhydrogel, or 10 U of ISCOMATRIX. Sera were collected at each time point and analyzed in the toxin neutralization assay for functional antitoxin activity. Geometric mean titers are provided in Table 32. Asterisks (*) indicate statistical significance ($p<0.05$) when compared to titers in the Alhydrogel group.

Table 32: Immunogenicity of Adjuvanted Mutant Toxin Drug Substances in Hamsters						
Antitoxin A	50% Neutralization Titer					
	Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 6
Alhydrogel Titer:	10	26	88	7425	6128	15965
Alh/CpG Titer:	10	103	*688	*34572	*23028	*62203
ISCOMATRIX Titer:	10	27	*246	*12375	8566	*36244
Antitoxin B						
Alhydrogel Titer:	10	15	10	218	1964	7703
Alh/CpG Titer:	10	10	18	*5550	*5212	*59232
ISCOMATRIX Titer:	10	12	12	*7412	*15311	*92927

Protective efficacy of the immunogenic composition including mutant toxin drug substances formulated with these adjuvants was tested. Hamsters were immunized and were given oral clindamycin (30 mg/kg) on week 5 and challenged according to the method described above. One group of unimmunized hamsters (n=5) was included as a control. Increased efficacy was observed in hamsters immunized with mutant toxin drug substances adjuvanted with either Alh/CpG or ISCOMATRIX (100% survival) as compared to Alhydrogel alone (70% survival). Accordingly, the hamsters were protected from lethal challenge with C. difficile spores.

Example 30: *Clostridium difficile* Vaccination in Cynomolgus Macaques

The purpose of this study was to test the immunogenicity of low and high doses of EDC-Inactivated and Formalin-Inactivated *C. difficile* mutant toxins in cynomolgus macaques. All mutant toxins were formulated in ISCOMATRIX® as an adjuvant except for one group, which served as the unadjuvanted control (Group 5).

Table 16: Immunization of Cynomolgus Macaques

Group	Immunogen	Number	Dose	Route	Schedule
1	FI-Mutant toxins A+B (ISCOMATRIX)	5	10 µg each	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
2	FI-Mutant toxins A+B (ISCOMATRIX)	5	100 µg each	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
3	EI-Mutant toxins A+B (ISCOMATRIX)	5	10 µg each	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
4	EI-Mutant toxins A+B (ISCOMATRIX)	5	100 µg each	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4
5	EI-Mutant toxins A+B (no adjuvant)	5	100 µg each	IM	Prime wk 0, Boost wks 2, 4

Animals: 25 cynomolgus macaques

The asterisk, "*", in figure 16 refers to having only 4 cynos in the group for week 12, one cyno in the group was terminally bled week at 8

Vaccination: IM, 0.5mL per dose, at weeks 0, 2, and 4. Mutant toxin compositions were prepared as described above. The mutant toxin compositions were formulated in ISCOMATRIX, except Group 5 was formulated in buffer without adjuvant.

Bleed: Weeks -2, 0, 2, 3, 4, 6, 8, and 12. Euthanasia and terminal bleeds on animals with highest *C. difficile* titers at week 8.

Serum sample analysis: Protein ELISA and Neutralization assays

Results: Figure 16 shows the anti-toxin neutralizing antibody responses in these animals at weeks 0, 2, 3, 4, 6, 8, and 12. Anti-toxin A titers were between 2-3 $\log_{10}$ for all five groups after a single dose (week 2 titers). These titers boosted after each subsequent dose for each group. In these animals, there was no drop in titer between weeks 3 and 4. For all groups, the peak titers were between 4-5 $\log_{10}$. At all time points, the group without ISCOMATRIX adjuvant (Group 5) had the lowest titers, indicating the utility of ISCOMATRIX at boosting the immune responses. The no-adjuvant control group (Group 5) reached peak titers at week 12, as did the group immunized with the high dose of EDC-inactivated mutant toxins (Group 4); all other groups reached peak titers at week 6, two weeks after the last dose. The titers in all groups boosted after the second dose (week 3 time point). As with the anti-toxin A responses, the anti-toxin B responses did not decrease from week 3 to week 4. After the third dose (week 6 time point), the anti-toxin B neutralizing antibody titers in all groups were between 3-4 $\log_{10}$, except in the low dose formalin-inactivated group (Group 1) and the high dose EDC-inactivated group (Group 4), both of which had titers just >4 $\log_{10}$. The peak titers were observed at week 12 for all groups except the low dose EDC-inactivated group (Group 3), which had peak titers at week 8. All groups had peak titers >4 $\log_{10}$.

Example 31: Monoclonal Antibodies Production

Although toxins A and B share a lot of structural homology, the neutralizing activities of the antibodies were found to be toxin-specific. In this invention, several antibodies were identified that are specific to individual toxin, and directed to various epitopes and functional domains, and have high affinity and potent neutralizing activity toward native toxins. Antibodies were isolated from mice that were immunized with either a commercially available formalin inactivated (FI)-mutant toxin or recombinant holo-mutant toxin (SEQ ID NOs: 4 and 6) rendered non-toxic by introducing specific mutations in its catalytic site for producing toxin A and B mAb, respectively. Epitope mapping of the antibodies showed that the vast majority of the mAb against toxin A (49 out of 52) were directed to the non-catalytic C terminal domain of the toxin.

Monoclonals against toxin B were targeted to three domains of the protein. Out of a total of 17 toxin B specific mAb, 6 were specific to N-terminus (e.g., amino acids 1-543 of a wild-type *C. difficile* TcdB, such as 630), 6 to C-terminus (e.g., amino acids 1834-2366 of a wild-type *C. difficile* TcdB, such as 630) and 5 to mid-translocation domain (e.g., amino acids 799-1833 of a wild-type *C. difficile* TcdB, such as 630). The approach of using mutant *C. difficile* toxins (e.g., SEQ ID NO: 4 and 6) as immunizing antigens thus offers a key advantage of presenting most, if not all, antigenic epitopes as compared to the formalin inactivation process that tend to adversely affect the antigenic structure of the mutant toxin.

Example 32: Characterization of toxin A mAb, A3-25, which includes a variable light chain having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 36 and a variable heavy chain having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 37.

The mAb A3-25 was of particular interest since this antibody defied all attempts to define its immunoglobulin (Ig) isotyping using the commonly available isotyping kits for IgG, IgM and IgA. Further analysis by western blot using Ig H-chain specific antisera showed that the A3-25 is of IgE isotype, a rare event in mAb production. This was further confirmed by the nucleotide sequencing of mRNA isolated from A3-25 hybridoma cells. The amino acid sequences deduced from the nucleotide sequences of the variable regions of H- and L-chain of A3-25 are shown in Figure 17.

In order to further evaluate the A3-25 mAb in animal model for *C difficile* infection and disease, its Ig isotype was changed to murine IgG1 by molecular grafting of the variable region of ε H chain onto the murine γ heavy chain according to the published methods.

Example 33: Neutralizing Ability and Epitope Mapping of Toxin Specific Antibodies

Further, in an effort to identify functional/neutralizing antibodies, all monoclonals were evaluated for the ability to neutralize wild type toxins in a standard cytopathic effect (CPE) assay or in a more stringent and quantitative assay based on measurement of ATP as cell viability indicator.

Out of a total of 52 toxin A specific antibodies, four mAb (A3-25, A65-33, A60-22 and A80-29 (Table 17 and Figure 18) exhibited varied levels of neutralizing activity. BiaCore competitive binding assay and hemagglutination inhibition (HI) assays were performed to map the antibody epitopes. Results indicated that these antibodies may be targeted to different epitopes of the toxin A protein (Table 17). To further identify the location of binding sites on the protein, the antibodies were individually evaluated in western blot or dot blot assays using toxin fragments of known sequences. All 4 neutralizing mAb were found to be directed to the C-terminus region of the toxin.

From a total of 17 toxin B specific antibodies, 9 were found to be neutralizing. Of the nine neutralizing mAb, six of them were directed to the N-terminus and the other three to the translocation domain of the B toxin (Table 18). Based on the Biacore competitive binding assay, the nine neutralizing monoclonal antibodies may be grouped into four epitope groups as shown in Figure 19.

TABLE 17: Characteristics of Selected Toxin A mAb

Epitope Group (Biacore)	mAb #	Neutralizing activity	Hemagglutination Inhibition	Binding Specificity	Ig Isotype
1	A3-25	+	-	C-teriminal	IgE, κ
2	A65-33	+	-	C-teriminal	IgG2a, κ
3	A80-29	+	+	C-teriminal	IgG1, κ
ND	A60-22	+	+	C-teriminal	IgG1, κ
4	A64-6	-	-	In progress	IgG1, κ
	A50-10	-	-	C-teriminal	IgG1, κ
	A56-33	-	-	In progress	IgG1, κ
ND	A1	-	-	N-terminal	IgG1, κ

TABLE 18: Characteristics of Selected Toxin B mAb

Epitope Group (Biacore)	mAb #	Neutralizing activity	Binding Specificity	Ig isotype
1	B2-31	+	N-terminal	IgG1, κ
	B5-40			IgG1, κ
	B8-26			IgG1, κ
	B70-2			IgG1, κ
2	B6-30	+	N-terminal	IgG1, κ
	B9-30			IgG1, κ
3	B59-3	+	Translocation domain	IgG1, κ
	B60-2			IgG1, κ
4	B56-6	+	Translocation domain	IgG1, κ
	B58-4	-		IgG1, κ
5	B12-34	-	C-terminal	IgG1, κ
	B14-23			IgG1, κ
	B80-3			IgG1, κ
6	B66-29	-	C-terminal	IgG1, κ
7	B84-3	-	C-terminal	IgG1, κ

Example 34: Identification of Novel Toxin A Antibodies Combinations with Significantly Enhanced Neutralizing Activity:

The four toxin A mAb (A3-25, A65-33, A60-22 and A80-29) showed incomplete or partial neutralization of toxin A when tested individually in the ATP based neutralization assay. The mAb A3-25 was the most potent antibody and the other three were less neutralizing with A80-29 barely above background (Figure 18). However, when A3-25 was combined with either one of the other three mAbs, a synergistic effect in neutralization was observed in all three combinations which was far greater than the sum total of neutralization of individual antibodies as shown in Figure 20A-C. In addition, all three combinations exhibited complete neutralization capability normally observed with anti-toxin A polyclonal antibodies.

Example 35: Identification of Novel Toxin B Antibodies Combinations Showing Significantly Enhanced Neutralizing Activity:

We also observed synergistic neutralization with the Toxin B mAbs from the different epitope groups identified by BiaCore analysis. Toxin B mAb B8-26, the most dominant mAb of group 1, was combined with multiple mAbs from group 3. The combinations were evaluated in a toxin B specific neutralization assay and the results are shown in Figure 21 and Table 19.

Table 19: Neutralization of Toxin B with mAbs

mAb	Neut titer	
	CPE	ATP
B8-26 alone	20,480	5,000
B59-3 alone	320	120
B60-2 alone	320	80
B8-26 + B59-3	655,360	~60,000
B8-26 + B60-2	327,680	nd
nd, not done		

The synergistic neutralizing effect was observed when B8-26 was combined with an epitope group 3 mAb (Figure 21B), but not any other mAb (data not shown).

Example 36: *In vitro* screening by mAb for Safe and Efficacious Mutant Toxin Compositions:

Genetic mutant toxins A and B of *C difficile* (e.g., SEQ ID NO: 4 and 6) generated via genetic engineering showed residual cytotoxicity using an *in vitro* cytotoxicity assay. Although we have achieved a ~4 log reduction in cytotoxicity for each mutant toxin *C. difficile* toxin (Table 20), further chemical inactivation of the mutant toxins, such as with formalin treatment was preferred. However, chemical inactivation treatments may be harsh and may adversely affect key antigenic epitopes of these toxins or mutant toxins.

Table 20: A Comparison of *In Vitro* Cytotoxicity of WT Toxin, Triple Mutant Toxin, and Formalin-Inactivated (FI, from List Biological) WT toxins (List Biological, commercial)

Tcd	Source/treatment	EC_{50} ng/mL	Fold Reduction in Cytotoxicity
TcdA			
Toxin A (SEQ ID NO: 1)	WT	0.92	1
Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4)	Triple mutant	8600	9348
Toxoid A (FI)	Formalin treated, commercial	>20,000	>21,739
TcdB			
Toxin B (SEQ ID NO: 2)	WT	0.009	1
Mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)	Triple mutant	74	8222
Toxoid B (FI)	Formalin treated, commercial	4300	477,778

For bioprocess optimization, a statistical design of experiment (DOE) was performed for the chemical inactivation of triple mutant Tcd A and B (1 mg/mL) using formalin and EDC/NHS treatment. To optimize formalin inactivation of triple mutant TcdA, we varied concentrations of formalin/glycine (20-40 mM), pH (6.5-7.5), and temperature (25-40ºC). For triple mutant TcdB, we varied the formalin/glycine concentration from 2 to 80 mM and the temperature and pH were 25 ºC and 7.0 respectively. The incubation time for all formalin treatments was 24 hours. For the formalin inactivation, "40/40" in Tables 21 and 23 represents the concentration of formalin and glycine used in the reaction. For EDC/NHS treatment, we varied the concentrations of EDC/NHS from 0.25 to 2.5 mg/mg of triple mutant TcdA and from 0.125 to 2.5 mg/mg of triple mutant TcdB and incubated for four hours at 25 ºC. At the end of the reactions, all samples were desalted in 10 mM phosphate, pH 7.0. After purification, the treated Tcds were analyzed for residual cytotoxicity and mAb recognition of epitopes by dot-blot analysis. The goal was to identify treatment conditions that reduce cytotoxicity to the desired level (EC_{50} > 1000 µg/mL) without negatively impacting epitopes recognized by a panel of neutralizing mAbs (++++ or +++). The treatment conditions (marked with a check mark "✓" in Tables 21-24) yielded potentially safe and efficacious immunogenic compositions that retained reactivity to at least four neutralizing mAbs while exhibiting 6-8 $\log_{10}$ reduction in cytotoxicity, relative to the respective wild-type toxin cytotoxicity. Select results are illustrated in Tables 21 to 24. Additional data from varying treatment conditions on the triple mutant toxins and the data from *in vitro* cytotoxicity and toxin neutralization assays are shown in Table 33 and Table 34. See also, for example, Examples 20 and 21 above, which provide further details regarding preferred crosslinking treatment conditions of the mutant toxins.

Table 21: Cytotoxicity and Neutralizing mAb Reactivity of Formalin-inactivated Triple Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4)

Chemical inactivation reaction conditions on Triple Mutant TcdA	CPE µg /mL	Reactivity with mAb (dot blot, non-denaturing conditions)					
		N-terminal Mab#6	Translocation Domain Mab# 102	C-terminal (neut)			
				A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
25°C, pH 6.5, 20/20mM	250	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25°C, pH 6.5, 40/40mM ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25°C, pH 7.5, 40/40mM ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40°C, pH 6.5, 40/40mM	>1000	++	+++	++++	++++	++++	++++
40°C, pH 7.5, 40/40mM	>1000	++	++	++++	++++	++++	+++
None, Triple mutant toxin A	18.5-25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
FI Toxoid A (List Biological)	ND	—	—	++	++	+++	+

Table 22: Cytotoxicity and Neutralizing mAb Reactivity of EDC-inactivated Triple Mutant TcdA (SEQ ID NO: 4)

		Reactivity with mAb (dot blot, non-denaturing conditions)					
Chemical inactivation reaction conditions on Triple Mutant TcdA	CPE µg /mL	N-terminal Mab#6	Translocation Domain Mab# 102	C-terminal (neut)			
				A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
25°C, 0.25mg/mg, 4hr ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25°C, 0.5mg/mg, 4hr ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25°C, 1.25mg/mg, 4hr ✓	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	++++
25°C, 2.5mg/mg, 4hr ✓	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	+++
None, Triple mutant TcdA	18.5-25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
FI Toxoid A (List Biological)	ND	—	—	++	++	+++	+

Table 23: Cytotoxicity and Neutralizing mAb Reactivity of Formalin-inactivated Triple Mutant TcdB (SEQ ID NO: 6)

Chemical inactivation reaction conditions on Triple Mutant TcdB	CPE (µg /mL)	mAb # (N-terminal aa 1 – 543)		mAb # (mid-/C-terminal aa 544 – 2366)	
		B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
25°C,pH 7.0, 80/80mM, 24hr ✓	>1000	++++	++++	++++	+++
25°C, pH 7.0, 40/40mM, 24hr ✓	>1000	++++	++++	++++	++++
25°C, pH 7.0, 10/10mM, 24hr	15.6	++++	++++	++++	++++
25°C, pH 7.0, 2/2mM, 24hr	<0.98	++++	++++	++++	++++
None, Triple mutant TcdB	0.058	++++	++++	++++	++++
FI Toxoid B (List Biological)	ND	+++	+++	+++	++

Table 24: Cytotoxicity and Neutralizing mAb Reactivity of EDC-inactivated Triple Mutant TcdB (SEQ ID NO: 6)

Chemical inactivation reaction conditions on Triple Mutant TcdB	CPE (µg /mL)	mAb # (N-terminal aa 1 – 543) 8-26 9-30		mAb # (mid-/C-terminal aa 544 – 2366) 56-6 59-3	
		B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
25°C, 0.125mg/mg, 4hr	3.9	++++	++++	++++	++++
25°C, 0.25mg/mg, 4hr	250	++++	++++	++++	++++
25°C, 0.5mg/mL, 4hr ✓	>1000	++++	++++	++++	++++
25°C, 1.25mg/mg, 4hr ✓	>1000	++++	+++	+++	+++
25°C, 2.5mg/mg, 4hr ✓	>1000	++++	+++	+++	+++
None, Triple mutant TcdB	0.058	++++	++++	++++	++++
FI Toxoid B (List Biological)	ND	+++	+++	+++	++

Table 33

		Cyto Assay (EC50)		Reactivity with mAb (dot blot, non-denaturing conditions)					
Sample #	Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) Sample ID	CPE; 24h µg /mL	CPE, 72h µg /mL	N-terminal Mab#6	Translocation Domain Mab# 102	C-terminal (neut)			
						80-29	3-25	60-22	65-33
1	L44166-157A	>1000	>1000	++++	++++	++++	+++	++++	++++
2	L44166-157B	>1000	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	++++
3	L44166-157C	>1000	>1000	+++	+++	++++	+++	++++	++++
4	L44166-157D	>1000	>1000	+++	+++	++++	+++	++++	++++
5	L44905-160A	>1000	>1000	++	++	++++	++	++++	++++
6	L44166-166	>1000	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
7	L44905-170A	ND	>1000	+	+	++	++	++	+
8	L44897-61	>1000	ND	+++	++	++++	++++	++++	++++
9	L44897-63	>1000	ND	++++	+++	++++	+++	++++	++++
10	L44897-72 Tube#1	250	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
11	L44897-72 Tube#2	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
12	L44897-72 Tube#3	>1000	ND	+++	+++	++++	++++	++++	++++
13	L44897-72 Tube#4	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
14	L44897-72 Tube#5	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
15	L44897-75 Tube#6	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
16	L44897-75 Tube#7	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
17	L44897-75 Tube#8	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
18	L44897-75 Tube#9	>1000	ND	++	+++	++++	++++	++++	++++
19	L44897-75 Tube#10	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
20	L44897-75 Tube#11	>1000	ND	++	++	++++	++++	++++	+++
21	L44897-101 (pre-modification) TxA control	23.4	<7.8	++++	++++	++++	++++	++++	++++
22	L44897-101, 2 hr	187.5	155.9	+++	++++	++++	++++	++++	++++
23	L44897-101, 4 hr	375	380.3	+++	++++	++++	++++	++++	++++
24	L44897-101, 6 hr	500	429.6	+++	++++	++++	++++	++++	++++

25	L44897 102, 24 hr	>1000	>1000	++	++++	++++	++++	++++	++++
26	L44897-103, 51 hr	>1000	>1000	+	+++	+++	++++	++++	+++
27	L44897-104, 74 hr	>1000	>1000	—	+++	+++	+++	+++	+++
28	L44897-105, 120 hr	>1000	>1000	—	++	++	+++	+++	++
29	L44980-004	>1000	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
30	Reaction #1 Week 0, 25C	750 ug/mL	ND	ND	++	++	+++	+++	++
31	Reaction #1 Week 1, 25C	375 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
32	Reaction #1 Week 2, 25C	375 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
33	Reaction #1 Week 3, 25C	375 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
34	Reaction #1 Week 4, 25C	250 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
35	Reaction #1 Week 3, 37C	93.8 ug/mL	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
36	Reaction #2 Week 0, 25C	375 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
37	Reaction #2 Week 1, 25C	375 ug/mL	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
38	Reaction #2 Week 2, 25C	750 ug/mL	ND	ND	++	++	++	+++	++
39	Reaction #2 Week 3, 25C	250 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	++++	+++
40	Reaction #2 Week 4, 25C	250 ug/mL	ND	ND	+++	+++	+++	++++	+++
41	Reaction #2 Week 3, 37C	187.5 ug/mL	ND	ND	+++	+++	++++	++++	+++
42	TxA Control Week 3, 25C	18.8 ug/mL	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
43	TxA Control Week 3, 37C	25 ug/mL	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
44	L44897-116-6 29.5 hrs	> 2000 ug/mL	ND	ND	++	++	++	+++	++
45	L44897-116-7 57.5 hrs	> 2000 ug/mL	ND	ND	++	++	++	+++	++
46	L44897-116 -8 79.5 hrs	> 2000 ug/mL	ND	ND	+	+	+	+++	+
47	L44897-116-9 123.5 hrs	> 2000 ug/mL	ND	ND	++	++	++	+++	++
48	L44897-139	>1000	ND	++	++++	++++	++++	++++	++++
49	L44166-204	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Chemical crosslinking reaction conditions for the samples of triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) referenced in Table 33

Samples 1-4 were modified with EDC/NHS. Conditions: 30°C, 20 mM MES/150 mM NaCl pH 6.5. Reactions were initiated by addition of EDC. After 2 hours reaction, samples A, B, and C had 1 M glycine added to 50 mM glycine final concentration. Sample D had no glycine added. The reactions were set up with different weight ratios of Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS as indicated below.

1 L44166-157A 1: 0.25: 0.25 w: w: w

2 L44166-157B 1: 1.25: 1.25

3 L44166-157C 1: 2.5: 2.5

4 L44166-157D 1: 2.5: 2.5

Sample 5 L44905-160A 80 mM HCHO, 80 mM glycine, 80mM NaPO4 pH 7, 1mg/mL Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) Protein, 48 hrs reaction at 25 °C.

Sample 6 L44166-166 EDC/NHS modification of Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) at 25 °C in 20 mM MES/150mM NaCl pH 6.5. Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0.5:0.5. Reaction initiated by addition of EDC. After 2 hours reaction, 1M glycine added to 0.1 M glycine final concentration and further 2 hour incubation. After this time, reaction buffer exchanged into 1 X PBS on Sephadex G25.

Sample 7 L44905-170A 80 mM HCHO, 80 mM glycine, 80mM $NaPO_4$ pH 7, 1mg/mL Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) Protein, 48 hrs reaction at 35 C. This formalin reaction was directed at producing excessive crosslinking so that antigen binding would be severely diminished.

Sample 8 L44897-61 32 mM HCHO/80 mM glycine, 72 hrs reaction at 25 °C.

Sample 9 L44897-63 80 mM HCHO/80 mM glycine, 72 hrs reaction at 25 °C.

The following reactions all had 24 hrs reaction time.

Sample 10 L44897-72 Tube#1 25°C, 80 mM NaPi pH 6.5, 20 mM HCHO/20 mM glycine

Sample 11 L44897-72 Tube#2 25 °C, 80 mM NaPi pH 6.5, 40 mM HCHO/40 mM glycine

Sample 12 L44897-72 Tube#3 32.5 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 30 mM HCHO/30 mM glycine

Sample 13 L44897-72 Tube#4 32.5 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 30 mM HCHO/30 mM glycine

Sample 14 L44897-72 Tube#5 32.5 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 30 mM HCHO/30 mM glycine

Sample 15 L44897-75 Tube#6 25 °C, 80 mM NaPi pH 7.5, 20 mM HCHO/20 mM glycine

Sample 16 L44897-75 Tube#7 25 °C, 80 mM NaPi pH 7.5, 40 mM HCHO/40 mM glycine

Sample 17 L44897-75 Tube#8 40 °C, 80 mM NaPi pH 6.5, 20 mM HCHO/20 mM glycine

Sample 18 L44897-75 Tube#9 40 °C, 80 mM NaPi pH 6.5, 40 mM HCHO/40 mM glycine

Sample 19 L44897-75 Tube#10 40 °C, 80 mM NaPi pH 7.5, 20 mM HCHO/20 mM glycine

Sample 20 L44897-75 Tube#11 40 °C, 80 mM NaPi pH 7.5, 40 mM HCHO/40 mM glycine

The following 8 samples were reacted at 25 °C for the indicated times in 80 mM NaPi pH 7.0 containing 78 mM HCHO and 76 mM glycine

Sample 21 L44897-101 (pre-modification) TxA control time zero control sample, not modified or exposed to HCHO/glycine

Sample 22 L44897-101, 2 hr

Sample 23 L44897-101, 4 hr

Sample 24 L44897-101, 6 hr

Sample 25 L44897 102, 24 hr

Sample 26 L44897-103, 51 hr

Sample 27 L44897-104, 74 hr

Sample 28 L44897-105, 120 hr

Sample 29 (L44980-004) was EDC/NHS modified Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) (triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4)-EDC). Reaction conditions are: 25 °C, buffer was 20 mM MES/150 mM NaCl pH 6.6. Triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0.5:0.5 w:w:w. Reaction initiated by addition of EDC. After 2 hours reaction, glycine added to 0.1 M final concentration and reacted further 2 hours at 25 C. Reaction terminated by desalting on Sephadex G25.

The following 12 samples and 2 controls were reversion experiments where samples were incubated at 25°C and 37 °C.

Reaction 1 = 25 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 40 mM HCHO only (no glycine), 24 hour reaction.

Reaction 2 = 25 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 40 mM HCHO/40 mM glycine, 24 hour reaction

Sample	Reaction
30	Reaction #1 Week 0, 25°C
31	Reaction #1 Week 1, 25°C
32	Reaction #1 Week 2, 25°C
33	Reaction #1 Week 3, 25°C
34	Reaction #1 Week 4, 25°C
35	Reaction #1 Week 3, 37°C
36	Reaction #2 Week 0, 25°C
37	Reaction #2 Week 1, 25°C
38	Reaction #2 Week 2, 25°C
39	Reaction #2 Week 3, 25°C
40	Reaction #2 Week 4, 25°C
41	Reaction #2 Week 3, 37°C
42	TxA Control Week 3, 25°C
43	TxA Control Week 3, 37°C

The next 4 samples were generated by reaction for the indicated times at 25 °C in 80 mM NaPi pH 7.0, 40 mM HCHO/40 mM glycine

44	L44897-116-6 29.5 hrs
45	L44897-116-7 57.5 hrs
46	L44897-116 -8 79.5 hrs
47	L44897-116-9 123.5 hrs

Sample 48 L44897-139 48 hrs reaction at 25 °C, 80 mM NaPi pH 7.0, 40 mM HCHO/ 40 mM glycine.

Sample 49 L44166-204 EDC/NHS modification of Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4). 25 C, buffer 1 x PBS pH7.0. Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0.5:0.5 w:w:w. 2 hours reaction with EDC/NHS, then 1 M glycine added to 0.1 M final concentration and further 2 hours reaction. Buffer exchanged on Sephadex G25 into 20 mM L-histidine/100 mM NaCl pH 6.5.

Table 34

	Cyto Assay (EC50)		Reactivity with neut mAb (dot blot, non-denaturing conditions)				Strong reactivities to all 4 mAbs
Mutant toxin B Sample ID	CPE; 24h	ATP, 72h	mAb # (N-terminal aa 1 – 543) 8-26 9-30		mAb # (mid-/C-terminal aa 544 – 2366) 56-6 59-3		
L44905-86-01 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Untreated Control	<0.1 µg /mL	<0.1µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-02 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10°C, day1	≥100 µg/mL	2.2µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-03 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25°C, day1	>100 µg/mL	>100 µg/mL	+++	++++	++	+++	√*
L44905-86-04 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10°C, day1	>100 µg/mL	5.2 µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-05 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25°C, day1	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	++++	++	+++	√*

L44905-86-06 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10°C, day1	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	-	++++	+++	
L44905-86-07 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25°C, day1	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	-	++++	+++	
L44905-86-08 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	++++	++++	+++	√
L44905-86-09 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++	++	-	+	
L44905-86-10 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-11 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++	++++	-	+	
L44905-86-12 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	-	++++	+++	
L44905-86-13 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25°C, day5	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	-	++++	++++	

L44905-86-14 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-15 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	+++	++++	-	+	
L44905-86-16 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	+++	++++	+++	++++	√
L44905-86-17 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++	++	-	+	
L44905-86-18 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	-	++++	++++	
L44905-86-19 Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25°C, day7	>100 µg/mL	>100 µg/mL	+++	-	++	++	
L34346-30A	>100 µg/mL	>100 µg/mL	++++	++++	++++	++++	√
L34346-30B	>100 µg/mL	>100 µg/mL	+++	++++	++++	++++	√
Commercial, FI Toxoid B (List Biologicals)	ND	ND	++++	++++	++++	++++	√

Commercial, Control Toxin B wt (List Biologicals)	22.5 pg/ mL	7.8 pg/mL	+++	++	+++	+++	√
Control, recombinant triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)	78 ng/mL	72 ng/ml	+++	++	++++	+++	√

Chemical crosslinking reaction conditions for the samples of mutant toxin B referenced in Table 34

Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) was chemically crosslinked and tested according to the following reaction conditions. The L44905-86 samples were tested in an experiment involving three formalin reaction variations and two incubation temperatures. Each day, 6 samples were taken for a total of 18 samples. The first sample in the list is the untreated control (which makes 19 samples total). The untreated control included an untreated triple mutant toxin B polypeptide (SEQ ID NO: 6).

Reaction1 ("Rxn1") = 80 mM HCHO, 80 mM glycine, 80mM NaPO4 pH 7, 1mg/mL Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) Protein

Reaction2 ("Rxn2") = 80 mM HCHO, No glycine, 80mM NaPO4 pH 7, 1mg/mL Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) Protein

Reaction3 ("Rxn3") = 80 mM HCHO, No glycine, 80mM NaPO4 pH 7, 1mg/mL Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) Protein + Cyanoborohydride capping. Cyanoborohydride Capping involved 80mM $CNBrH_4$ added to desalted final reaction and incubated 24 hr at 36°C.

For Sample L34346-30A 0.5g EDC and NHS per gram of triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), 4 hours at 30°C,in 20 mM MES, 150mM NaCl, pH 6.5.

For Sample L34346-30B 0.5g EDC and NHS per gram of triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6), 2 hours at 30°C followed by addition of glycine (final concentration of g/L) and incubated another 2 hours at 30°C, in 20 mM MES, 150mM NaCl, pH 6.5. The only difference between the two reactions for L34346-30A and L34346-30B is the addition of glycine to reaction L34346-30B.

Example 37: Antibodies Induced by Immunogenic Compositions are Capable of Neutralizing Toxins from Various *C. difficile* Strains

To assess whether antibodies induced by the immunogenic compositions including the mutant toxin drug substances can neutralize a broad spectrum of diverse toxin sequences, strains representing diverse ribotypes and toxinotypes were sequenced to identify the extent of genetic diversity among the various strains compared to the mutant toxin drug substances. Culture supernatants containing secreted toxins from the various strains were then tested in an *in vitro* neutralization assay using sera from immunized hamsters to determine the coverage of the immunogenic composition and to determine the ability of the immunogenic composition to protect against diverse toxins from circulating clinical strains.

Both HT-29 cells (colon carcinoma cell line) and IMR-90 cells were used to test the neutralization of toxins expressed from CDC strains. HT-29 cells are more sensitive to TcdA; the EC_{50} of the purified TcdA in these cells is 100 pg/mL as compared to 3.3 ng/mL for TcdB. On the other hand IMR-90 cells are more sensitive to TcdB; the EC_{50} of the purified TcdB in these cells ranges between 9-30 pg/mL as compared to 0.92-1.5 ng/mL for TcdA. The assay specificity for both TcdA and TcdB in these cell lines was confirmed by using both polyclonal and monoclonal toxin-specific antibodies. For assay normalization, culture filtrates of the 24 CDC isolates were tested at a concentration four times their respective EC_{50} value. Three of the strains had toxin levels that were too low for testing in the neutralization assay.

Twenty-four strains representing diverse ribotypes/ toxinotypes covering greater than 95% of the circulating strains of *C. difficile* in the USA and Canada were obtained from the CDC. Among these isolates were strains representing ribotypes 027, 001 and 078, three epidemic strains of CDAD in the United States, Canada and UK. Strains 2004013 and 2004118 represented ribotype 027; strain 2004111 represented ribotype 001 and strains 2005088, 2005325 and 2007816 represented ribotype 078. To identify the extent of genetic diversity between the disease-causing clinical isolates and the 630 strain, the toxin genes (*tcdA* and *tcdB*) from these clinical strains were fully sequenced. See Table 35. The amino acid sequences of the toxins were aligned using ClustalW in the Megalign™ program (DNASTAR® Lasergene®) and analyzed for sequence identity. For *tcdA*, genomic alignment analysis showed that all of the clinical isolates and strain 630 shared overall about 98-100% amino acid sequence identity. The C-terminal

portion of the *tcdA* gene was slightly more divergent. The same analysis was performed for the *tcdB* gene which exhibited greater sequence divergence. Notably strains 2007838/NAP7/126 and 2007858/NAP1/unk5 displayed the most divergent patterns from the 630 strain in the N terminal (79-100%) and the C terminal domains (88-100%; data not shown).

A hamster serum pool (HS) was collected from the Syrian golden hamsters that were immunized with an immunogen including mutant TcdA (SEQ ID NO: 4) and mutant TcdB (SEQ ID NO: 6), wherein the mutant toxins were inactivated with EDC, according to, for example, Example 29, Table 15, described above, and formulated with aluminum phosphate. The results in Table 35 show that at least toxin B from the respective culture supernatants were neutralized, in an *in vitro* neutralization assay, by sera from the immunized hamsters.

Table 35. Description of *C. difficile* strains from CDC and Ability of Immune Hamster Sera to Neutralize Various Toxins

Strain	PFGE Type	Ribotype	Neutralized by Hamster Sera
2005088	NAP7	78	yes
2007816	NAP7-related	78	yes
2005325	NAP7	78	yes
2004013	NAP1	27	yes
2007886	NAP1		yes
2008222	NAP4	77	yes
2004206	NAP4	154	yes
2005283	NAP5	Unk3	Not tested[b]
2009141	NAP2		yes
2007838	NAP7	126	yes
2004111	NAP2	1	yes
2007070	NAP10	70	yes
2006017	NAP12	15	yes
2009078	NAP11	106	Not tested[b]
2007217	NAP8	126	yes
2006376	NAP9	17	yes
2007302	NAP11	Unk2	yes
2004118	NAP1	27	yes
2005022	NAP3	53	yes
2009292	NAP1		yes
2004205	NAP6	2	yes
2007858	NAP1	Unk5	yes
2009087	NAP11	106	Not tested[b]
2005359	NAP1-related		yes

b Toxin levels were too low to perform the neutralization assay.

Figure 23 depicts the results of the neutralization assay using toxin preparations from various *C. difficile* strains on IMR-90 cells. The data show TcdB neutralizing antibodies in the hamster antisera were capable of neutralizing toxins from all 21 isolates tested, including hypervirulent strains and a TcdA-negative, TcdB-positive strain. At least 16 different strains of *C. difficile* were obtained from the CDC (Atlanta, GA)(previously described) and were cultured in *C. difficile* culture media under suitable conditions as known in the art and as described above. Culture supernatants containing the secreted toxins were analyzed to determine their cytotoxicity (EC_{50}) on IMR-90 monolayers and subsequently tested in a standard *in vitro* neutralization assay at 4 times the EC_{50} using various dilutions of sera from hamsters immunized with mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance, formulated with aluminium phosphate. Crude toxin obtained from culture supernatants of each strain and purified toxin (commercial toxin obtained from List Biologicals)(not purified from respective supernatants) were tested for cytotoxicity to IMR-90 cells using the *in vitro* cytotoxicity assay described above.

In Figures 23A-K, the graphs show results from *in vitro* cytotoxicity tests (previously described) in which the ATP levels (RLUs) are plotted against increasing concentrations of: *C. difficile* culture media and the hamster serum pool (■); crude toxin and the hamster serum pool (●); purified toxin and the hamster serum pool (▲); crude toxin (▼), control; and purified toxin (◆), control. The toxins from the respective strains were added to the cells at 4xEC_{50} values.

As shown in Figures 23A-K, the hamsters that received the described immunogen surprisingly developed neutralizing antibodies that exhibited neutralizing activity against toxins from at least the following 16 different CDC strains of *C. difficile*, in comparison to the respective toxin only control: 2007886 (Figure 23A); 2006017 (Figure 23B); 2007070 (Figure 23C); 2007302 (Figure 23D); 2007838 (Figure 23E); 2007886 (Figure 23F); 2009292 (Figure 23G); 2004013 (Figure 23H); 2009141 (Figure 23I); 2005022 (Figure 23J); 2006376 (Figure 23K). See also Table 35 for additional *C. difficile* strains from which toxins were tested and were neutralized by the immunogenic composition including a mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance, formulated in aluminum phosphate.

In another study, culture supernatants containing secreted toxins from the various *C. difficile* strains (obtained from the CDC and from Leeds Hospital, UK) were tested in the *in vitro* neutralization assay using sera from hamsters that were administered with mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance, formulated with Alhydrogel. See Table 36 for the experimental design. The results are shown in Table 37 and Table 38.

Table 36: Experimental design

Assay Control	In assay using HT-29 cells: Rabbit anti-serum (Anti-Toxin A polyclonal Fitzgerald Industries, #70-CR65) and Reference Toxin A (wild-type toxin A from List Biologicals) In assay using IMR-90 cells: Rabbit anti-serum (Anti-Toxin B polyclonal Meridian Life Science, #B01246R) and Reference Toxin B (wild-type toxin B from List Biologicals)
Sample Controls	In assay using HT-29 cells: HS serum + Reference Toxin A In assay using IMR-90 cells: HS serum + Reference Toxin B
	HS serum+630 wt toxin
	HS serum+ Culture media of IMR-90 or HT-29 cell line
	HS serum+ culture supernatant of VPI11186
Test Sample	HS + respective *C. difficile* culture supernatant
Source of Hamster antiserum (HS)	Animals administered with mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance formulated with Alhydrogel

Table 37: Immunogenic Composition-induced Antibodies Neutralized Toxin A and Toxin B from Various Wild-type *C. difficile* Strains from the CDC, including Hypervirulent strains

Cdiff Strain	PFGE Type	Ribotype	Toxinotype	Other Typing Method	Neutralized by HS (IMR-90, Toxin B)	Neutralized by HS (HT-29, Toxin A)
2004111	NAP2	1	0	Respective toxin sequence has 100% Homology to toxin from Strain 630	Yes	Yes
2009141	NAP2		0		Yes	Yes
2006017	NAP12	15	0		Yes	Yes
2007302	NAP11	Unk2	0		Yes	Yes
2009087	NAP11	106	0		Yes	Yes
2005022	NAP3	53	0		Yes	Yes
2005283	NAP5	Unk3	0		Yes	Yes
2009078	NAP5	53	0		Yes	Yes
2004206	NAP4	154	0		Yes	Yes
2008222	NAP4	77	0		Yes	Yes
2004205	NAP6	2	0		Yes	Yes
2007070	NAP10	70	0		Yes	Yes
2006376	NAP9	17	VIII	txnA-/txnB+	Yes	N/A
2007816	NAP7-related	78	V	Increasing prevalence in US and Europe	Yes	Yes
2007838	NAP7	126			Yes	Yes
2005088	NAP7	78			Yes	Yes
2005325	NAP7	78			Yes	Yes
2007217	NAP8	126			Yes	Yes
2004013	NAP1	27	III	Hypervirulent NAP1/027/III	Yes	Yes
2004118	NAP1	27			Yes	Yes
2009292	NAP1				Yes	Yes
2005359	NAP1-related				Yes	Yes
2007858	NAP1	Unk5	IX/XXIII	Other	Yes	Yes
2007886	NAP1		IX/XXIII		Yes	Yes

Table 38: Immunogenic Composition-induced Antibodies Neutralized Toxin A and Toxin B from Various Wild-type *C. difficile* Strains from Europe, including Hypervirulent strains

Cdiff Strain	PFGE Type	Other Typing Method	Toxin type	Neutralized by HS (IMR-90, Toxin B)	Neutralized by HS (HT-29, Toxin A)
001	NAP2	Toxinotype 0 Strains	0	Yes	Yes
002	NAP6			Yes	Yes
012 (004)	NAPCR1			Yes	Yes
014	UK			Yes	Yes
015	NAP12			Yes	Yes
020	NAP4			Yes	Yes
029	UK			Yes	Yes
046	UK			Yes	Yes
053	NAP5			Yes	Yes
059	UK			Yes	Yes
077	UK			Yes	Yes
078	UK			Yes	Yes
081	UK			Yes	Yes
087	UK			Yes	Yes
095	UK			Yes	Yes
106	UK			Yes	Yes
117	UK			Yes	Yes
017	NAP9	txnA-/txnB+	VIII	Yes	NA
027	NAP1	Hypervirulent	III	Yes	Yes
075	UK			Yes	Yes
003	NAP10	Other	I	Yes	Yes
023	UK		IV	Yes	Yes
070	UK		XIII	Yes	Yes
126	UK		UK	Yes	Yes
131	UK		UK	In Progress	Yes

Wild-type *C. difficile* strains obtained from Leeds Hospital, UK.

"UK" = unknown status

NA, not applicable; strain does not make toxin A; was not tested in Toxin A neutralization assay

Example 38: Peptide mapping of EDC/NHS triple mutant toxins

To characterize the EDC/NHS inactivated triple mutant toxins, peptide mapping experiments were performed on four lots of EDC/NHS-treated triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) and four lots of EDC/NHS-treated triple mutant B (SEQ ID NO: 6). After digesting the mutant toxins with trypsin, the resulting peptide fragments were separated using reverse-phase HPLC. Mass spectral analysis was used to identify modifications that occur as a result of the inactivation process. For both mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance, greater than 95% of the theoretical tryptic peptides were identified. Crosslinks and glycine adducts (glycine was used as the capping agent) were identified. In both mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance, beta-alanine adducts were also observed. Without being bound by mechanism or theory, the beta-alanine adducts appear to result from the reaction of three moles of NHS with one mole of EDC which forms NHS activated beta-alanine. This molecule can then react with lysine groups to form beta-alanine adducts (+70 Da). In the EDC/NHS-treated triple mutant toxin B samples, low levels (0.07 moles/mole protein) of dehydroalanine (-34 Da) were also observed. Dehydroalanine is a result of de-sulfonation of a cysteine residue. The same type and degree of modification was observed in all four batches of each mutant toxin, indicating that the process produces a consistent product. Peptide mapping (at greater than 95% sequence coverage) confirms that modifications are present. A summary of the modifications are shown in Table 39. See also Figures 24-25. In addition, the size and charge heterogeneity of the triple mutant toxin A drug substance and of the triple mutant toxin B drug substance increased, as compared to the size and charge heterogeneity of the respective triple mutant toxin A and triple mutant toxin B in the absence of chemical inactivation. As a result, the size-exclusion chromatography (SEC) and anion-exchange chromatography (AEX) profiles had relatively broad peaks (data not shown).

Table 39. Summary of Modifications Observed in Mutant Toxin Drug Substances

Modification	# of Modified Residues	Total # of Residues	Degree of Modification	Moles modified/ mole protein
Mutant toxin A drug substance				
Crosslink	2	313 Asp/Glu	16-40%	0.6
Glycine moiety	8	313 Asp/Glu	10-53%	2.2
Beta Alanine moiety	19	233 Lys	10-60%	4.7
Mutant toxin B drug substance				
Crosslink	3	390 Asp/Glu	11-63%	0.8
Glycine moiety	23	390 Asp/Glu	10-31%	3.9
Beta Alanine moiety	10	156 Lys	12-42%	2.6
dehydroalanine	2	8 Cys	1.0-3.5%	.07

The degree of modification is calculated by dividing the HPLC area of modified peptide by the HPLC area of the native + modified peptide.

Example 39: Drug Product Production

The *C. difficile* immunogenic composition (drug product) contains two active pharmaceutical ingredients (mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance):. An exemplary drug product is a lyophilized formulation containing 10 mM Tris buffer pH 7.4, 4.5% (w/w) trehalose dihydrate, and 0.01% (w/v) polysorbate 80, including each of a mutant toxin A drug substance and a mutant toxin B drug substance. See Table 40. The immunogenic composition is prepared for injection by resuspending the lyophilized vaccine either with diluent or with diluent containing Alhydrogel. The placebo will include a sterile normal saline solution for injection (0.9% sodium chloride).

Table 40

Component	**Selected**
Formulation dosage form	Lyophilized
Antigen dose per 0.5 mL	25, 50, 100 µg of each EDC/NHS-treated triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) and EDC/NHS-treated triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)
pH	7.4 ± 0.5
Buffer	10 mM Tris
Stabilizer/Bulking agent	4.5% Trehalose dihydrate (3 – 6%)
Surfactant	0.01% Polysorbate 80 (0.005 – 0.015%)
Container closures	2 mL 13 mm Type 1 flint glass Vial, Blowback, West - Flurotec

Buffer preparation

Water for injection (WFI) is added to a compounding vessel. While mixing, the excipients are added and dissolved until into solution. The pH is measured. If required, the pH is adjusted to 7.4 ± 0.1 with HCl. The solution is diluted to the final weight with WFI then filtered using a 0.22 µm Millipore Express SHC XL150 filter. A pre-filtration bioburden reduction sample is taken prior to filtration. The filtered buffer is sampled for osmolality and pH.

Formulation preparation

The thawed mutant toxin Drug Substances are pooled in the formulation vessel based on the precalculated amounts in the following order of operation: 50% of the target dilution buffer volume to achieve 0.6 mg/mL is added to the vessel first, followed by addition of mutant toxin A drug substance and mixed for 5 minutes at 100 rpm. Mutant toxin B drug substance is then added to the vessel and the solution is further diluted to 0.6 mg/mL dilution point and then mixed for another 5 minutes at 100 rpm. A sample is removed and tested for total mutant toxin concentration. The solution is diluted to 100 percent volume based on the in-process mutant toxin concentration value then mixed for 15 minutes at 100 rpm. The formulated drug product is sampled for pH and bioburden pre-filtration. The formulated drug product is then filtered using a Millipore Express SHC XL150 for overnight storage, or brought to the filling line for sterile filtration.

The formulated bulk is brought to the filling area, sampled for bioburden, and then sterile filtered with two in-series Millipore Express SHC XL150 filters. The formulated bulk is filled into depyrogenated glass vials at a target fill volume of 0.73 mL. The filled vials are partially stoppered and then loaded into the freeze dryer. The lyophilization cycle is executed as shown in Table 41. At the completion of cycle, the lyophilization chamber is back-filled with nitrogen to 0.8 atm and then the stoppers are fully seated. The chamber is unloaded and the vials are capped using flip-off seals.

Table 41. *C. difficile* Drug Product Lyophilization Cycle Set Points

Step	Temperature (ºC)	Ramp (minutes)	Soak (minutes)	Pressure
Loading	5°C	N/A	60	-
Freezing 1	-50°C	183	60	-
Annealing	-10°C	133	180	
Freezing 2	-45°C	117	90	
Vacuum Initiation	-45°C	-	60	50
Primary Drying	-30°C	75	3420	50
Secondary Drying	30°C	300	600	50
Storage	5°C	50	-	50

Drug product stability data is summarized in Table 42. The data suggest that the drug product is physically and chemically stable during storage at 2-8°C for at least 3 months or at least 1 month at 25° or 40°C. Under both storage conditions, the level of impurities detected by size exclusion chromatography (SEC) did not change, nor were there changes in *in vitro* antigenicity through the latest timepoints tested.

Table 42: Stability of Lyophilized Drug Product [a]

	Drug Product Formulation 200 µg/mL mutant toxin A drug substance, 200 µg/mL mutant toxin B drug substance, 4.5% Trehalose dihydrate, 0.01% Polysorbate 80, 10mM Tris buffer pH 7.4			
Test	**t=0**	**1 Month@25ºC**	**1 Month@40ºC**	**3 months @2-8°C**
Appearance before Reconstitution.	White cake essentially free from visible foreign particulate matter	White cake essentially free from visible foreign particulate matter	White cake essentially free from visible foreign particulate matter	White cake essentially free from visible foreign particulate matter
Appearance after Reconstitution.	Clear colorless solution	Clear colorless solution	Clear colorless solution	Clear colorless solution
pH	7.5	7.6	7.6	7.5
Strength by AEX (µg/mL)	• mutant toxin A drug substance 212 • mutant toxin B drug substance 235	• Mutant toxin A drug substance 193 • mutant toxin B drug substance 223	• Mutant toxin A drug substance 191 • Mutant toxin B drug substance 222	• Mutant toxin A drug substance 193 • mutant toxin B drug substance 230
Impurity by SEC	< 2.5%	2.8%	2.8%	2.9%
Characterization by SEC	HMMS: 29.6% Monomer: 68.0%	HMMS: 30.2% Monomer: 67.1%	HMMS: 30.2% Monomer: 67.1%	HMMS: 28.5% Monomer: 68.7%
Moisture	0.5	NA	NA	NA

a Lyophilized DP is reconstituted with 60 mM NaCl diluent for these tests.

Example 40: Vaccine diluents

For saline, 60 mM NaCl is used as a diluent for the lyophilized drug product without any adjuvant to ensure an isotonic solution upon reconstitution.

Alhydrogel: Alhydrogel "85" 2% (Brenntag) is a commercially available Good Manufacturing Practice (GMP) grade product composed of octahedral crystalline sheets of aluminum hydroxide. An exemplary Alhydrogel diluent formulation is shown in Table 43. The exemplary formulation may be used in combination with the drug product described above.

Table 43. Formulation Rationale for Alhydrogel Diluent

Component	Selected
Formulation dosage form	Liquid Suspension
Adjuvant dose per 0.5 mL	0.5 mg Al
pH	6.5 ± 0.5
Buffer	10 mM His
Salt	60 mM NaCl
Container closures	2 mL 13 mm Type 1 Flint Glass Vial, Blowback, West - Flurotec

Studies with the Alhydrogel adjuvant show 100% binding of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance to 1 mg Al/mL Alhydrogel from pH 6.0 to 7.5. Maximum binding of both drug substances was seen at the highest protein concentration tested (300 µg/mL each).

The binding of the proteins to Alhydrogel was also tested with the lyophilized drug product formulation containing 200 µg/mL of each drug substance and Alhydrogel ranging from 0.25 to 1.5 mg/ml. The drug product was reconstituted with diluents containing the varying concentrations of Alhydrogel and the percent of each mutant toxin bound was measured. All tested concentrations of Alhydrogel demonstrated 100% binding of the antigens.

The binding kinetics of the proteins to Alhydrogel at the target dose of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance (200 µg/mL each) were also assessed. The results show that 100% of the mutant toxin drug substances were bound to Alhydrogel throughout the 24-hour RT time course.

CpG 24555 and Alhydrogel: CpG 24555 is a synthetic 21-mer oligodeoxynucleotide (ODN) having a sequence 5-TCG TCG TTTTTC GGT GCT TTT-3 (SEQ ID NO: 48). An exemplary formulation for a combination of CpG 24555 and Alhydrogel diluents is shown in Table 44. The exemplary formulation may be used in combination with the drug product described above.

Table 44: Formulation Rationale for CpG/Alhydrogel Diluent

Component	Selected
Formulation dosage form	Liquid Suspension
Adjuvant dose per 0.5 mL	0.5 mg Al and 1mg cpG
pH	6.5 ± 0.5
Buffer	10 mM His
Salt	60 mM NaCl
Container closures	2 mL 13 mm Type 1 Flint Glass Vial, Blowback, West - Flurotec

ISCOMATRIX®: The ISCOMATRIX® adjuvant is a saponin-based adjuvant known in the art. An exemplary formulation for the ISCOMATRIX® adjuvant formulation is shown in Table 45. The exemplary formulation may be used in combination with the drug product described above.

Table 45: Formulation Rationale for ISCOMATRIX® Diluent

Component	Selected
Formulation dosage form	Liquid Suspension
Adjuvant dose per 0.5 mL	45units
pH	6.2 ± 0.5
Buffer	10 mM phosphate
Salt	60 mM NaCl
Container closures	2 mL 13 mm Type 1 Flint Glass Vial, Blowback, West - Flurotec

Example 41: Immunogenicity of Mutant Toxin Drug Substance Compositions Adjuvanted with Alhydrogel in NHP Model and Preclinical Proof of Concept

The immunogenicity of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance compositions adjuvanted with Alhydrogel in NHPs was assessed, specifically cynomolgus macaques. NHPs immunized at two-week intervals (weeks 0, 2, 4) with 10µg of each mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance compositions (formulated with Alhydrogel) per dose, developed robust neutralizing antitoxin responses. See Table 46. Both antitoxin A and antitoxin B neutralizing responses reached a protective range after the third immunization and remained within or above the protective range at least through week 33 (last timepoint studied).

Cynomolgus macaques (n=8) were immunized IM at 0, 2 and 4 weeks with 10 µg each of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance formulated in 250 µg of Alhydrogel. Sera was collected at each time point and analyzed in the toxin neutralization assay for functional antitoxin activity. GMTs are provided in Table 46. The protective titer range provided in the table depicts the neutralizing antibody titer range which correlates to significant reduction in recurrence of C. difficile infection in the Merck monoclonal antibody therapy trial.

Table 46: Immunogenicity of Mutant Toxin A Drug Substance and Mutant Toxin B Drug Substance (Formulated in 250 µg Alhydrogel) in Cynomolgus Monkeys (50% Neutralization Titer)

Antitoxin A (Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A)

Week:	**Wk 0**	**Wk 1**	**Wk 2**	**Wk 3**	**Wk 4**	**Wk 5**	**Wk 6**	**Wk 8**	**Wk 12**	**Wk 25**	**Wk 29**	**Wk 33**
Titer:	15	19	129	382	336	2469	3069	2171	1599	1520	1545	2178

Antitoxin B (Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B)

Titer:	10	10	10	10	20	311	410	446	676	1631	2970	3510

Correlation of Human Protective Antibody Titers from Merck mAb Therapy Trial to Titers Induced by Pfizer's Vaccine Candidate in NHPs

The Phase 2 efficacy study with Merck/Medarex mAbs (Lowy et al., *N Engl J Med.* 2010 Jan 21;362(3):197-205) seemed to demonstrate a correlation between the level of neutralizing antitoxin mAbs in the serum and the prevention of recurrence of CDAD. After administration of the toxin-specific mAbs to humans, serum antibody levels in human recipients in the range of 10 to 100 μg/mL appear to protect against recurrences (70% reduction in the recurrence of CDAD).

Immunogenic compositions including the mutant toxin drug substances were tested to gauge whether the immunogenic compositions are capable of inducing a potentially efficacious neutralizing antibody responses in humans by comparing published data from the Merck/Medarex Phase 2 study to the levels of antibody induced by the immunogenic compositions in the NHP model. This was accomplished by utilizing previously published characteristics of the Merck/Medarex mAbs to convert the range of these mAbs in the serum obtained from subjects that displayed no sign of recurrences (10-100 μg/mL) into 50% neutralization titers and comparing these titers ("protective titer range") to the titers observed in the preclinical models described herein. As shown in Table 46, the immunogenic compositions including the mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance adjuvanted with Alhydrogel generated immune responses in NHPs that reached the "protective range" after the third dose and have remained within or above this range through week 33. The level of toxin-neutralizing antibodies induced in NHPs by the inventive *C. difficile* immunogenic composition is comparable to the serum antibody levels in the Merck/Medarex trial subjects who appeared to be protected from recurrences of CDAD.

Example 42: Immunogenicity of Mutant Toxin Drug Substance Compositions Adjuvanted with ISCOMATRIX or Alhydrogel/CpG 24555 (Alh/CpG) in NHP Model

In NHPs, both ISCOMATRIX and Alh/CpG statistically significantly enhanced antitoxin A and B neutralization titers when compared to vaccine administered with Alhydrogel alone (Table 47). Antitoxin responses above background were elicited at earlier time points by vaccine administered with either Alh/CpG or ISCOMATRIX (week 2-4) as compared to Alhydrogel alone (week 4-6), which may have an important effect on protection from recurrence of CDAD in humans. Compared to Alhydrogel, the immunogenic composition adjuvanted with Alh/CpG or with ISCOMATRIX generated antitoxin neutralization titers that reached the protective range (see also Example 41) more swiftly and that have remained within or above this range through week 33.

As shown in Table 47, Cynomolgus macaques were immunized IM at weeks 0, 2, and 4 with 10μg each of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance formulated in 250μg of Alhydrogel (n=8), or 500 μg of CpG + 250 μg of Alhydrogel (n=10), or 45 U of ISCOMATRIX (n=10). Sera were collected at each time point and analyzed in the toxin neutralization assay described above for functional antitoxin activity. GMTs are listed in the tables. Asterisks (*) indicate statistical significance ($p<0.05$) when compared to titers in the Alhydrogel group. The protective titer range represents the neutralizing antibody titer range which correlates to significant reduction in recurrence of *C. difficile* infection according to the Merck/Medarex mAb therapy trial.

Table 47: Immunogenicity of Adjuvanted Mutant Toxin Drug Substances in NHPs (50% Neutralization Titer)

Antitoxin A (Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A)

Week:	**Wk 0**	**Wk 2**	**Wk 4**	**Wk 6**	**Wk 12**	**Wk 25**	**Wk 33**
Alhydrogel Titer:	15	129	336	3069	1599	1520	2178
Alhydrogel + CpG Titer:	17	*1004	*2162	*15989	*7179	*5049	*7023
ISCOMATRIX Titer:	25	*1283	*3835	*19511	*12904	*6992	*7971
Antitoxin B (Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B)							
Alhydrogel Titer:	10	10	20	410	676	1631	3510
Alhydrogel + CpG Titer:	10	13	*136	*2163	*5076	*9057	*27971
ISCOMATRIX Titer:	10	10	*269	*5325	*9161	*19479	*25119

The dose of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance administered, in the presence of ISCOMATRIX or Alh/CpG adjuvants, on neutralizing antitoxin antibody titers generated in NHPs was also evaluated. In one study, NHPs were administered a low (10μg) or a high (100μg) dose of each mutant toxin drug substance formulated in ISCOMATRIX. Responses were compared at each time point after immunization. As shown in Table 48, antitoxin neutralization titers were robust in both treatment groups. The antitoxin A titers were nearly equivalent at most time points between the low dose and high dose groups, while there was a trend for the antitoxin B titers to be higher in the high dose group.

Table 48: Neutralizing Antitoxin Titers in NHPs Following Immunization with Either 10µg or 100µg of Each of Mutant Toxin Drug Substance and Mutant Toxin Drug Substance Administered with ISCOMATRIX (50% Neutralization Titer)

Antitoxin A (Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A)

Week	**Wk 0**	**Wk 2**	**Wk 3**	**Wk 4**	**Wk 6**	**Wk 8**	**Wk 12**
10µg Titer:	11	585	3522	4519	19280	10225	12084
100 µg Titer:	11	400	1212	2512	9944	10283	18337
Antitoxin B (Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B)							
10µg Titer:	10	10	112	266	3710	2666	7060
100 µg Titer:	10	10	303	469	6016	4743	20683

As shown in Table 48, Cynomolgus macaques (n=5) were immunized IM at weeks 0, 2, and 4 with 10 µg or 100 µg each of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance formulated with 45U of ISCOMATRIX. Sera were collected at each time point and analyzed in the toxin neutralization assay for functional antitoxin activity. GMTs are listed in the table. The protective titer range represents the neutralizing antibody titer range which correlates to significant reduction in recurrence of *C. difficile* infection in the Merck/Medarex mAb therapy trial.

In an effort to enhance the kinetics of antitoxin B responses, NHPs were immunized with a constant dose of mutant toxin A drug substance (10 µg) that was mixed with an increasing dose of mutant toxin B drug substance (10, 50, or 100 µg) in the presence of ISCOMATRIX or Alh/CpG adjuvants. Regardless of adjuvant, there was a trend for groups that received higher doses of mutant toxin B drug substance (either 50 or 100 µg) to induce higher antitoxin B neutralizing responses in comparison to the 10 µg dose of mutant toxin B drug (Table 50, marked by * to indicate statistically significant increases). This trend was observed at most time points after the final immunization. However, in some cases, antitoxin A neutralizing responses showed a statistically significant decrease (marked by ^ in Table 49) when the amount of mutant toxin B was increased.

As shown in Table 49 and Table 50, NHPs (10 per group) were immunized IM at weeks 0, 2, and 4 with different ratios of mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance (10µg of mutant toxin A drug substance plus either 10, 50, or 100 µg of mutant toxin B drug substance; designated 10A:10B, 10A:50B and 10A:100B, respectively, in Table 49 and Table 50), formulated with ISCOMATRIX (45U per dose) or with Alh/CpG/ (250 µg / 500 µg per dose). Table 49 shows Antitoxin A titers. Table 50 shows Antitoxin B titers. GMTs are listed in the tables. The protective titer range represents the neutralizing antibody titer range which correlates to significant reduction in recurrence of *C. difficile* infection in the Merck mAb therapy trial. The symbol **^**, represents statistically significant decrease in neutralizing titers ($p<0.05$) compared to the 10A: 10B group. The asterisk symbol, *, represents statistically significant increase in neutralizing titers ($p<0.05$) compared to the 10A: 10B group.

Table 49: Neutralizing Antitoxin Titers in NHPs Following Immunization with 10µg Mutant Toxin A Drug Substance Combined with 10, 50, or 100 µg Mutant Toxin B Drug Substance using ISCOMATRIX or Alh/CpG as Adjuvants (50% Neutralization Titer)

Antitoxin A (Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A)
ISCOMATRIX

Week:	**Wk 0**	**Wk 2**	**Wk 4**	**Wk 6**	**Wk 12**	**Wk 25**	**Wk 33**
10A:10B Titer:	25	1283	3835	19511	12904	6992	7971
10A:50B Titer:	29	906	2917	16126	^7756	^4208	5965
10A:100B Titer:	20	982	2310	^5034	^5469	^4007	3780

Antitoxin A (Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A)
Alh/CpG

10A:10B Titer:	17	1004	2162	15989	7179	5049	7023
10A:50B Titer:	20	460	1728	16600	6693	6173	8074
10A:100B Titer:	27	^415	1595	13601	6465	5039	6153

Table 50: Neutralizing Antitoxin Titers in NHPs Following Immunization with 10µg Mutant Toxin A Drug Substance Combined with 10, 50, or 100 µg Mutant Toxin B Drug Substance using ISCOMATRIX or Alh/CpG as Adjuvants (50% Neutralization Titer)

Antitoxin B (Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B)

Week:	**Wk 0**	**Wk 2**	**Wk 4**	**Wk 6**	**Wk 12**	**Wk 25**	**Wk 33**
ISCOMATRIX Titer:	10	10	269	5325	9161	19479	25119
Titer:	13	*20	*604	4861	10801	20186	*57565
Titer:	10	*23	*862	*10658	10639	*33725	*56073
Antitoxin B (Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B)							
Alh/CpG Titer:	10	13	136	2163	5076	9057	27971
Titer:	10	15	*450	*5542	*9843	15112	50316
Titer:	11	17	*775	*13533	*11708	*17487	26600

Example 43: Five-Week Repeat-Dose IM Toxicity Study with an Immunogenic Composition in Cynomolgus Monkeys, with a 4-Week Recovery Period

The 5-week IM repeat-dose toxicity study with PF-06425095 (an immunogenic composition including triple mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin B drug substance in a combination with adjuvants aluminum hydroxide and CpG 24555) in Cynomolgus monkeys was conducted to assess the potential toxicity and immunogenicity of *C. difficile* triple mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin B drug substance in a combination with the adjuvants aluminum hydroxide and CpG 24555 (PF-06425095). PF-06425095 at 0.2 or 0.4 mg/dose triple mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin B drug substance (low- and high-dose immunogenic composition groups, respectively), 0.5 mg aluminum as aluminum hydroxide, and 1 mg CpG 24555 and the adjuvant combination alone (aluminum hydroxide + CpG 24555; PF-06376915) were administered IM to cynomolgus monkeys (6/sex/group) as a prime dose followed by 3 booster doses (Days 1, 8, 22, and 36). A separate group of animals (6/sex) received 0.9% isotonic saline at an approximate pH of 7.0. The immunogenic composition vehicle was composed of 10 mM Tris buffer at pH 7.4, 4.5% trehalose dihydrate, and 0.1% polysorbate 80. The adjuvant control vehicle was composed of 10 mM histidine buffer with 60 nM NaCl at pH 6.5. The total dose volume was 0.5 mL per injection. All doses were administered into the left and/or right quardriceps muscle. Selected animals underwent a 4-week dose-free observation period to assess for reversibility of any effects observed during the dosing phase of the study.

There were no adverse findings in this study. PF-06425095 was well-tolerated and produced only local inflammatory reaction without evidence of systemic toxicity. During the dosing phase, dose-dependent increases from pretest in fibrinogen (23.1% to 2.3x) on Days 4 and 38 and C-reactive protein on Days 4 (2.1x to 27.5x) and 38 (2.3x to 101.5x), and globulin (11.1% to 24.1%) on Day 36 and/or 38, were seen in immunogenic composition-treated groups and were consistent with the expected inflammatory response to administration of an adjuvanted immunogenic composition.

The increases in fibrinogen and C-reactive protein noted on Day 4 had partially recovered by Day 8 with increases in fibrinogen (25.6% to 65.5%) and C-reactive protein (4.5x and 5.6x) in the high-dose immunogenic composition group only. Increases in interleukin (IL)-6 were observed in the low- and high-dose immunogenic composition groups on Day 1, Hour 3 (8.3x to 127.2x individual values Day 1, Hour 0, dose responsive) and Day 36, Hour 3 (9.4x to 39.5x individual values Day 36, Hour 0). There were no changes observed in the other cytokines (IL-10, IL-12, Interferon-Inducible Protein (IP-10), and Tumor Necrosis Factor α (TNF-α). Increases in these acute phase proteins and cytokine were part of the expected normal physiologic response to the administration of foreign antigen. There were no PF 06425095-related or adjuvant-related alterations in these clinical pathology parameters in the recovery phase (cytokines were not evaluated during the recovery phase). In addition, there were localized changes at the injection sites, which were of similar incidence and severity in the adjuvant control group and the low- and high-dose immunogenic composition groups; hence, they were not directly related to PF-06425095. During the dosing phase, the changes included minimal to moderate chronic-active inflammation that was characterized by separation of muscle fibers by infiltrates of macrophages, which often contained basophilic granular material (interpreted as aluminum-containing adjuvant), lymphocytes, plasma cells, neutrophils, eosinophils, necrotic debris, and edema. The basophilic granular material was also present extracellularly within these foci of chronic-active inflammation. At the end of the recovery phase, there was minimal to moderate chronic inflammation and mononuclear cell infiltrate, and minimal fibrosis. These injection site findings represent a local inflammatory response to the adjuvant. Other microscopic changes included minimal to moderate increased lymphoid cellularity in the iliac (draining) lymph node and minimal increased cellularity in germinal centers in the spleen that were noted during the dosing phase in the adjuvant control group and the low- and high-dose immunogenic composition groups. At the end of the recovery phase, these microscopic findings were of lower severity. These effects represent an immunologic response to antigenic stimulation, and were a pharmacologic response to the adjuvant or PF-06425095. There was no test article-related increase in anti-DNA antibodies.

Based on absence of adverse findings, the no observed adverse effect level (NOAEL) in this study is the high-dose immunogenic composition group (0.4 mg of triple mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin B drug substance/dose as PF-06425095) administered as two 0.5 mL injections for four doses.

Example 44: Efficacy of Seropositive NHP Sera Passively Transferred to Hamsters

Groups of 5 Syrian golden hamsters were administered an oral dose of clindamycin antibiotic (30 mg/kg) to disrupt normal intestinal flora. After five days, the hamsters were challenged with an oral dose of wild type *C. difficile* spores (630 strain, 100 cfu per animal), and administered intraperitoneally (IP) with NHP sera according to Table 51. Without being bound by mechanism or theory, disease symptoms following challenge with the spores typically manifest beginning about 30-48 hours post-challenge.

The NHP sera that were administered to the hamsters were pooled from NHP serum samples exhibiting the highest titer (anti-toxin A sera and anti-toxin B sera) following three immunizations with mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance (10:10, 10:50, and 10:100 A:B ratios), formulated with ISCOMATRIX (see Example 42, Table 49, and Table 50). The NHP sera were collected from timepoints at weeks 5, 6, and 8 (immunizations occurred at weeks 0, 2, and 4), as described in Examine 42. Results are shown in Tables 52-54 below. The symbol "+" indicates a Geometric mean (GM) in () that does not include animal #3, non-responder. "*TB" represents terminal bleed, the day the animal was euthanized, which is not the same for all animals.

Table 51: Experimental design

Group	Administered composition	No. animals	Route	Schedule
1 "1 dose"	Seropositive NHP sera (unconcentrated)	5	IP	Challenge Day 0 Dose day 0 Bleed days 0, 1, 2, TB on day11
2 "2 dose"	Seropositive NHP sera (unconcentrated)	5	IP	Challenge Day 0 Dose days 0, 1 Bleed days 0, 1, 2, TB on day11

Table 52: Anti-toxin A Neutralization Titers in Hamster Sera Following 1 or 2 IP doses of NHP Sera (50% Neutralization Titer in RLU)								
	Day	Hamster 1	Hamster 2	Hamster 3	Hamster 4	Hamster 5	GM	SE
1 dose	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	2877	4008	2617	4917	1872	**3081**	538
	D2	1983	3009	2750	2902	1117	**2214**	357
	TB*	3239 (d4)	537 (d9)	155 (d11)	977 (d9)	972 (d2)	**762**	538
2 dose	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1154	2819	50	429	1174	**606 (1131)$^{+}$**	475
	D2	4119	4674	1899	545		**2113**	862
	TB*	1236 (d9)	1267 (d8)	1493 (d4)	50 (d11)	1877 (d9)	**738**	306
Input NHP sera = 41976								

Table 53: Anti-toxin B Neutralization Titers in Hamster Sera Following 1 or 2 IP doses of NHP Sera (50% Neutralization Titer in RLU)								
	Day	Hamster 1	Hamster 2	Hamster 3	Hamster 4	Hamster 5	GM	SE
1 dose	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1846	4254	1347	5178	406	**1859**	904
	D2	992	1795	2585	2459	1145	**1669**	327
	TB*	1744 (d4)	50 (d9)	50 (d11)	265 (d9)	544 (d2)	**229**	317
2 dose	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1189	2229	50	550	3920	**778 (1546)+**	687
	D2	2288	2706	1452	287		**1268**	477
	TB*	301 (d9)	694 (d8)	682 (d4)	50 (d11)	1334 (d9)	**394**	217
Input NHP sera = 23633								

Table 54: Percentage of hamsters protected from severe CDAD following 1 or 2 IP doses of NHP sera							
Days post-infection	0	2	4	6	8	10	11
1 dose NHP Sera	100%	80%	60%	60%	60%	20%	20%
2 dose NHP Sera	100%	100%	80%	80%	60%	20%	20%
Placebo	100%	75%	50%	25%	0%	n/a	n/a

In another study, Syrian golden hamsters were administered an oral dose of clindamycin antibiotic (30 mg/kg) to disrupt normal intestinal flora. After five days, the hamsters were challenged with an oral dose of wild type *C. difficile* spores (630 strain, 100 cfu per animal), and administered intraperitoneally (IP) NHP sera according to Table 55. Without being bound by mechanism or theory, disease symptoms following challenge with the spores typically manifest beginning about 30-48 hours post-challenge.

The NHP sera that were administered to the hamsters were pooled from samples collected from NHPs following three immunizations with mutant toxin A drug substance and mutant toxin B drug substance (10:10, 10:50, and 10:100 A:B ratios), formulated with Alhydrogel and CpG 24555 (see Example 42, Table 49, and Table 50). The NHP sera were collected from timepoints at weeks 5, 6, 8, and 12 as described in Examine 42 (NHPs were immunized on weeks 0, 2, and 4). Results are shown in Tables 56-59 below. Sera from the hamsters were further investigated to determine inhibitory concentration (IC_{50}) value, which were determined using the toxin neutralization assay described above. The level of toxin-neutralizing antibodies induced in hamsters by the inventive *C. difficile* immunogenic composition is comparable to the serum antibody levels in the Merck/Medarex trial subjects who appeared to be protected from recurrences of CDAD.

Table 55: Experimental Design

Group	Administered Composition	No.	Route	Schedule
1	Seropositive NHP sera	5	IP	Challenge D0 Dose D0, 1, 3, 5, 7
2	Seropositive NHP sera	5	IP	no challenge Dose D0, 1, 3, 5, 7,
3	Seropositive NHP sera	10	IP	Challenge D0 Dose D0, 1, 3, 5, 7
4	Placebo	5	IM	Challenge D0

Table 56: Anti-toxin A Neutralization Titers[a] in Hamster Sera Following 1 or 2 IP doses of NHP Sera (50% Neutralization Titer in RLU)			
Day	**Challenged (Groups 1 and 3)**	**Not Challenged (Group 2)**	**p Value**
0	11	12	0.5933
1	380	720	0.034*
3	666	1220	0.0256*
5	864	1367	0.0391*
7	564	1688	0.0411*
11	263	1281	0.001*
Input NHP sera pool = 9680 a, titers expressed as geometric means for each group (n=15 at day 0 for "challenged" group, n=5 for "not challenged" group) Merck/Medarex protective range: 666- 6,667 for antitoxin A The asterisk "*" indicates a significant difference.			

Table 57: Anti-toxin B Neutralization Titers[a] in Hamster Sera Following 1 or 2 IP doses of NHP Sera (50% Neutralization Titer in RLU)			
Day	**Challenged (Groups 1 and 3)**	**Not Challenged (Group 2)**	**p Value**
0	10	10	0.3343
1	465	828	0.0579
3	765	1400	0.0273*
5	941	1734	0.0226*
7	611	1877	0.0498*
11	194	1436	0.0047*
Input NHP sera pool = 19631 a, titers expressed as geometric means for each group (n=15 at day 0 for "challenged" group, n=5 for "not challenged" group) Merck/Medarex protective range: 222- 2,222 for antitoxin B The asterisk "*" indicates a significant difference.			

Table 58: Percentage of hamsters protected from severe CDAD following IP dose of NHP sera							
Days post-infection	0	2	4	6	8	10	11
Groups 1 and 3	100%	73%	53%	53%	47%	33%	33%
Placebo (Group 2)	100%	50%	0%				

Table 59: IC_{50} values from Toxin-specific 50% Neutralization Titers														
		IC_{50} of Anti Toxin A							**IC_{50} of Anti Toxin B**					
		Day of Post Dose							**Day of Post Dose**					
	Animal ID	0	1	3	5	7	11	Animal ID	0	1	3	5	7	11
	1-1	10	50	338	died D4			1-1	10	50	254	died D4		
	1-2	10	614	579	777	605	192	1-2	10	720	659	896	475	157
	1-3	10	710	1035	845	548	Died D10	1-3	10	867	1017	988	694	
	1-4	10	850	588	942	1116	296	1-4	10	1158	555	1158	1806	250
	1-5	10	780	895*				1-5	10	910	687*			
	3-1	10	647	Died D2				3-1	10	598	Died D2			
	3-2	10	331	Died D2				3-2	10	290	Died D2			
Challenged	3-3	10	660	1273	849	692	640	3-3	10	717	1623	870	791	574
	3-4	10	536	493	1102	1314	Died D9	3-4	10	618	598	977	1478	Died D9
	3-5	10	817	807	774	1077	187	3-5	10	772	1260	850	913	243
	3-6	10	117	649	803	50	186	3-6	10	1038	773	883	50	50
	3-7	10	50	Died D2				3-7	10	50	Died D2			
	3-8	10	149	659	650*			3-8	10	121	1010	517*		
	3-9	30	797	1170*				3-9	10	1008	1720*			
	3-10	10	792	Died D2				3-10	10	835	Died D2			
	GeoMean	**11**	**380**	**666**	**864**	**564**	**263**	GeoMean	**10**	**465**	**765**	**941**	**611**	**194**
	Std Error	**1**	**78**	**86**	**41**	**163**	**88**	Std Error	**0**	**94**	**125**	**38**	**224**	**88**
	2-1	10	697	1634	1597	2219	1709	2-1	10	890	1777	1910	3229	1355
	2-2	10	779	1207	1322	1755	1327	2-2	10	939	1378	1564	1897	1379
Not	2-3	10	581	669	722	1401	1118	2-3	10	828	837	865	1484	1404
Challenged	2-4	26	856	1540	1875	1830	1826	2-4	10	748	1780	2939	1880	2650

	2-5	10	715	1331	1668	1374	744	2-5	10	752	1475	2064	1364	880
	GeoMean	**12**	**720**	**1220**	**1367**	**1688**	**1281**	GeoMean	**10**	**828**	**1400**	**1734**	**1877**	**1436**
	Std Error	**3**	**46**	**169**	**199**	**156**	**197**	Std Error	**0**	**38**	**173**	**338**	**332**	**296**

*= deceased on that day

Example 45: Characterization of Mutant Toxin Drug Substances

The primary structure of triple mutant toxin A is shown in SEQ ID NO: 4. The NH_2-terminal Met residue at position 1 of SEQ ID NO: 4 is originated from the initiation codon of SEQ ID NO: 12 and is absent in isolated protein (e.g., see SEQ ID NO: 84). Accordingly, in Example 12 to Example 45, "SEQ ID NO: 4" refers to SEQ ID NO: 4 wherein the initial methionine (at position 1) is absent. Both purified triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4) (Drug Substance Intermediate - Lot L44993-132) and EDC/NHS treated triple mutant toxin A (SEQ ID NO: 4)("mutant toxin A Drug Substance" - Lot L44898-012) displayed a single NH_2-terminal sequence starting at SLISKEELIKLAYSI (positions 2-16 of SEQ ID NO: 4).

The primary structure of triple mutant toxin B is shown in SEQ ID NO: 6. The NH_2-terminal Met residue at position 1 of SEQ ID NO: 6 is originating from the initiation codon and is absent in isolated protein (e.g., see SEQ ID NO: 86). Accordingly, in Example 12 to Example 45, "SEQ ID NO: 6" refers to SEQ ID NO: 6 wherein the initial methionine (at position 1) is absent. Both purified triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) (Drug Substance Intermediate - Lot 010) and EDC/NHS treated triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)("mutant toxin B Drug Substance" - Lot L44906-153) displayed a single NH_2-terminal sequence starting at SLVNRKQLEKMANVR (positions 2-16 of SEQ ID NO: 6).

Circular dichroism (CD) spectroscopy was used to assess secondary and tertiary structure of triple mutant A (SEQ ID NO: 4) and mutant toxin A drug substance. CD spectroscopy was also used to assess secondary and tertiary structure of the triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) and the mutant toxin B drug substance. CD spectroscopy was also used to assess potential effects of pH on structure. The effect of EDC treatment on triple mutant toxin A was analyzed by comparing CD data obtained for mutant toxin A drug substance to the data obtained for triple mutant toxin A. The effects of EDC treatment on triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6) were analyzed by comparing CD data obtained for mutant toxin B drug substance to the data obtained for triple mutant toxin B.

Mutant toxin A drug substance far-UV CD data were obtained at various pH. Spectra recorded at pH 5.0-7.0 are indicative of high proportion of α-helices in the secondary structure, suggesting that polypeptide backbone of the protein adopts well-defined conformation dominated by α-helices.

Near-UV CD spectra of mutant toxin A drug substance were also obtained. Strong negative ellipticity between 260 and 300 nm is an indication that aromatic side chains are in the unique rigid environment, i.e. mutant toxin A drug substance possesses tertiary structure. In fact, characteristic features arising from individual types of aromatic side chains can be distinguished within the spectrum: shoulder at ~290 nm and largest negative peak at ~283 nm are due to absorbance of the polarized light by ordered tryptophan side chains, negative peak at 276 nm is from the tyrosine side chains, and minor shoulders at 262 and 268 nm are indicative of the phenylalanine residues participating in tertiary contacts. Far- and near-UV results provide evidence that mutant toxin A drug substance retains compactly folded structure at physiological pH. Nearly identical far- and near-UV CD spectra observed at pH 5.0 - 7.0 indicate that no detectable structural changes are taking place within this pH range. CD data could not be collected at pH 3.0 and 4.0, since the protein was insoluble at these pH points.In comparing far- and near-UV CD spectra of mutant toxin A drug substance with those of the triple mutant toxin A, spectra of both proteins are essentially identical under all of the experimental conditions studied, indicating that EDC treatment had no detectable effects on secondary and tertiary structure of the triple mutant toxin A. This finding is in agreement with the gel-filtration and analytical ultracentrifugation results, which show no detectable changes in Stokes radii and sedimentation/frictional coefficients, respectively.

Mutant toxin A drug substance (as well as triple mutant toxin A) contains 25 tryptophan residues that are spread throughout the primary sequence and can serve as convenient intrinsic fluorescence probes. Fluorescence emission spectra of mutant toxin A drug substance between 300 and 400 nm as a function of temperature were obtained. At 6.8°C mutant toxin A drug substance shows characteristic tryptophan fluorescence emission spectrum upon excitation at 280 nm. Fluorescence emission maximum is observed at ~335 nm, indicating that tryptophan residues are in non-polar environment, typical of protein interiors rather than of polar aqueous environments. The fluorescence emission spectra results, together with the results of the CD experiments presented in this report, confirm that mutant toxin A drug substance retains compact folded structure.

Fluorescence of the extrinsic probe 8-anilino-1-naphtalene sulfonic acid (ANS) was used to characterize possible conformational changes in mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin A upon changes in pH. As can be seen from the results, there is essentially no increase in ANS fluorescence intensity when either mutant toxin A drug substance or triple mutant toxin A are titrated with the probe at pH 7.0, suggesting that no hydrophobic surfaces are exposed on the proteins under these conditions. Shifting pH to 2.6 leads to a dramatic increase in ANS fluorescence quantum yield upon increase in probe's concentration, until fluorescence quantum yield reaches apparent saturation. This increase in ANS fluorescence quantum yield indicates that at low pH (2.6), both mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin A undergo pH-induced conformational change that exposes hydrophobic surfaces. Such conformational changes indicate that EDC-induced modification and inactivation of triple mutant toxin A did not restrict conformational plasticity of mutant toxin A drug substance (DS).

Effect of EDC treatment on hydrodynamic properties of triple mutant toxin A was evaluated using size-exclusion chromatography on a G4000 SWXL column. Mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin A were injected onto the G4000 SWXL column equilibrated at pH 7.0, 6.0, and 5.0. The data indicate that no differences in the Stoke's radius of mutant toxin A drug substance and triple mutant toxin A can be detected using size exclusion chromatography. Therefore, EDC treatment has not dramatically affected hydrodynamic properties and, correspondingly, overall molecular shape of the triple mutant toxin A.

Further analysis of triple mutant toxin A and mutant toxin A drug substance was performed using multi-angle laser light scattering (MALLS) technique. Treatment of triple mutant toxin A with EDC resulted in generation of heterogeneous mixture composed of various multimeric and monomeric species. Such heterogeneity reflects introduction of a large number of EDC-induced inter- and intra-molecular covalent bonds between carboxyls and primary amines of the protein.

Obtained data provide physical and chemical characteristics of triple mutant toxin A andmutant toxin A drug substance (triple mutant toxin A treated with EDC) and describe the key features of their primary, secondary, and tertiary structure. Generated data demonstrate that treatment of triple mutant toxin A with EDC resulted in covalent modification of its polypeptide chain but did not affect secondary and tertiary structures of the protein. Treatment with EDC leads to intra- and intermolecular cross-linking. The biochemical and biophysical parameters obtained for mutant toxin A drug substance (as well as triple mutant toxin A) are presented in Table 60.

Table 60: Major Biochemical and Biophysical Parameters Obtained for Triple Mutant Toxin A (SEQ ID NO: 4) and Mutant Toxin A Drug Substance		
Parameter	**Triple Mutant toxin A (SEQ ID NO: 4)**	**Mutant Toxin A Drug Substance**
Number of amino acid residues	2709	2709
N-terminal sequence	SLISKEELIKLAYSI (positions 2-16 of SEQ ID NO: 4)	SLISKEELIKLAYSI (positions 2-16 of SEQ ID NO: 4)
Mol mass (from AA sequence)	308 kDa	308 kDa
Mol mass (from SEC-MALLS)	299 kDa	300 kDa and 718 -1139 kDa
Extinction coefficient at 280 nm	1.292 or 1.275 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$	1.292 or 1.275 275 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$
Theoretical pI	5.57	ND
Partial specific mol volume at 20 °C	0.735 cm^3/g	0.735 cm^3/g
Anhydrous volume/monomer	$3.8x10^{-19}cm^3$	$3.8x10^{-19}cm^3$
Sedimentation coefficient/monomer	9.2S	9.2S
Frictional coefficient ratio (f/f_0)	1.69	1.69
Stokes radius /monomer	78.4±1.1	77.9
Fluorescence max (λex = 280 nm)	334-335 nm	334-335 nm
Near-UV CD spectrum minima	284 nm and 278 nm	284 nm and 278 nm
Mean res ellipticity at 284 & 278 nm	-138±7 & -130±7	-138±8 & 131±10
Mean res ellipticity at 222 nm	-8989±277	-7950±230
DSC unfolding transitions maxima (PBS, pH 7.4)	47.3 °C and 53.6 °C	47.9±0.2 °C and 54.1±0.2 °C

Mutant toxin B drug substance far-UV CD data were obtained at various pH. Spectra recorded at pH 5.0-7.0 are indicative of high proportion of α-helices in the secondary structure, suggesting that polypeptide backbone of the protein adopts well-defined conformation dominated by α-helices.

Near-UV CD spectra of mutant toxin B drug substance were also obtained. Strong negative ellipticity between 260 and 300 nm is an indication that aromatic side chains are in the unique rigid environment, i.e. mutant toxin B drug substance possesses tertiary structure. In fact, characteristic features arising from individual types of aromatic side chains can be distinguished within the spectrum: shoulder at ~290 nm and largest negative peak at ~283 nm are due to absorbance of the polarized light by ordered tryptophan side chains, negative peak at 276 nm is from the tyrosine side chains, and minor shoulders at 262 and 268 nm are indicative of the phenylalanine residues participating in tertiary contacts. Far- and near-UV CD spectra provide evidence that mutant toxin B drug substance retains compactly folded structure at physiological pH. Very similar far- and near-UV CD spectra observed at pH 5.0 - 7.0 indicate that no detectable secondary or tertiary structural changes are taking place within this pH range. CD data could not be collected at pH 3.0 and 4.0, since the protein was insoluble at these pH points.

In comparing far- and near-UV CD spectra of mutant toxin B drug substance with those of the triple mutant toxin B, spectra of both proteins are very similar between pH 5.0 and 7.0, indicating that EDC treatment had no detectable effects on secondary and tertiary structure of the protein.

Triple mutant toxin B contains 16 tryptophan residues that are spread throughout the primary sequence and can serve as convenient intrinsic fluorescence probes. Fluorescence emission spectra of mutant toxin B drug substance between 300 and 400 nm as a function of temperature were obtained. At 7°C mutant toxin B drug substance shows characteristic tryptophan fluorescence emission spectrum upon excitation at 280 nm. Fluorescence emission maximum is observed at ~335 nm, indicating that tryptophan residues are in non-polar environment, typical of protein interiors rather than of polar aqueous environments. This result, together with the results of the CD experiments (see above), confirm that mutant toxin B drug substance retains compact folded structure.

Fluorescence of the extrinsic probe 8-anilino-1-naphtalene sulfonic acid (ANS) was used to characterize possible conformational changes in mutant toxin B drug substance and triple mutant toxin B upon changes in pH. As can be seen from the results, there is essentially no increase in ANS fluorescence intensity when either mutant toxin B drug substance or triple mutant toxin B are titrated with the probe at pH 7.0, suggesting that no hydrophobic surfaces are exposed on the proteins under these conditions. Shifting pH to 2.6 leads to a dramatic increase in ANS fluorescence quantum yield upon increase in probe's concentration in the presence of mutant toxin B drug substance, until fluorescence quantum yield reaches apparent saturation. This increase in ANS fluorescence quantum yield indicates that at low pH (2.6), mutant toxin B drug substance undergoes pH-induced conformational change that exposes hydrophobic surfaces. Such conformational changes indicate that EDC-induced modification and inactivation of triple mutant toxin B did not restrict conformational plasticity of mutant toxin B drug substance (DS).

Effect of EDC treatment on hydrodynamic properties of triple mutant toxin B was evaluated using size-exclusion chromatography on a G4000 SWXL column. mutant toxin B drug substance and triple mutant toxin B were injected onto the G4000 SWXL column equilibrated at pH 7.0, 6.0, 5.0. The data indicate that no differences in the Stoke's radius of mutant toxin B drug substance and triple mutant toxin B can be detected using size-exclusion chromatography, therefore EDC treatment has not dramatically affected hydrodynamic properties and, correspondingly, overall molecular shape of the protein.

Further analysis of triple mutant toxin B and mutant toxin B drug substance was performed using multi-angle laser light scattering (MALLS) technique. Treatment of triple mutant toxin B with EDC resulted in generation of more heterogeneous mixture that is composed of various multimeric and monomeric species. Such heterogeneity reflects introduction of a large number of EDC-induced inter- and intra-molecular covalent bonds between carboxyls and primary amines of the protein.

Obtained data provide physical and chemical characteristics of triple mutant toxin B and mutant toxin B drug substance (triple mutant toxin B treated with EDC) and describe the key features of their primary, secondary, and tertiary structure. Generated data demonstrate that treatment of triple mutant toxin B with EDC resulted in covalent modification of its polypeptide chain but did not affect secondary and tertiary structures of the protein. Treatment with EDC leads to intra- and intermolecular cross-linking. The major biochemical and biophysical parameters obtained for mutant toxin B drug substance (as well as triple mutant toxin B) are presented in Table 61.

Table 61: Major Biochemical and Biophysical Parameters Obtained for Triple Mutant Toxin B (SEQ ID NO: 6) and Mutant Toxin B Drug Substance		
Parameter	**Triple mutant toxin B (SEQ ID NO: 6)**	**Mutant Toxin B Drug Substance**
Number of amino acid residues	2365	2365
N-terminal sequence	SLVNRKQLEKMANVR (positions 2-16 of SEQ ID NO: 6)	SLVNRKQLEKMANVR (positions 2-16 of SEQ ID NO: 6)
Mol mass (from AA sequence)	269.5 kDa	269.5 kDa
Mol mass (from SEC-MALLS)	255 kDa and ~1,754 kDa	264, 268, 706, and 2,211 kDa
Extinction coefficient at 280 nm	1.067 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$	1.067 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$
Theoretical pI	4.29	ND
Partial specific mol volume at 20 °C	0.734 cm^3/g	0.734 cm^3/g
Anhydrous volume/monomer	$3.3x10^{-19}cm^3$	$3.3x10^{-19}cm^3$
Sedimentation coefficient/monomer	9.1±0.2S	9.4S
Frictional coefficient ratio (f/f_0)	1.58±0.03	1.53
Stokes radius /monomer	76.2	76.2
Fluorescence max (λex = 280 nm)	335 nm	335 nm
Near-UV CD negative bands	290, 283, 276, 268, 262 nm	290, 283, 276, 268, 262 nm
Far-UV CD negative bands	208 and 222 nm	208 and 222 nm
DSC unfolding transition midpoints T_{m1} and T_{m2} (PBS, pH 7.0)	48.8±0.0 °C and 52.0±0.1 °C	48.2±0.3 °C and 54.3±0.2 °C

Aspects of the Invention

The following clauses describe additional embodiments of the invention:

C1. An isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide includes at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

C2. An isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide includes an amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

C3. The isolated polypeptide according to clause C1 or C2, wherein at least one side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or at least one side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is chemically modified by glycine.

C4. The isolated polypeptide according to any of clause C1-C3, wherein the polypeptide includes:

a) at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; and

b) at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide.

C5. The isolated polypeptide according to any of clause C1-C4, wherein the polypeptide includes a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide.

C6. The isolated polypeptide according to clause C4, wherein the polypeptide includes a glycine moiety linked to a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide.

C7. An isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

C8. An isolated polypeptide including the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and

wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

C9. The isolated polypeptide according to clause C7 or C8, wherein a side chain of a second lysine residue of the polypeptide is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

C10. The isolated polypeptide according to any of clause C7-C9, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is linked to a glycine moiety.

C11. The isolated polypeptide as in any of clause C1-C10, wherein the polypeptide has an EC50 of at least about 100 µg/ml.

C12. An immunogenic composition including an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptides have at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

C13. The immunogenic composition according to clause C12, wherein the polypeptide includes at least one of any of:

a) at least one beta-alanine moiety linked to a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

b) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of an aspartic acid residue; and

c) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of a glutamic acid residue.

C14. The immunogenic composition according to clause C12, wherein the polypeptides have an EC50 of at least about 100 µg/ml.

C15. An immunogenic composition including an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and

a) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a beta-alanine moiety, and

b) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a beta-alanine moiety.

C16. The immunogenic composition according to clause C15, wherein a side chain of a second lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue, and wherein a second lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

C17. The immunogenic composition according to any of clause C12-C16, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

C18. The immunogenic composition according to any of clause C12-C16, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

C19. The immunogenic composition according to any of clause C12-C18, wherein the polypeptide has an EC50 of at least about 100 μg/ml.

C20. An immunogenic composition including an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84 and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86, wherein each polypeptide includes

a) at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

b) at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

c) a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide; and

d) a glycine moiety linked to a side chain of at least one aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of at least one glutamic acid residue of the polypeptide.

C21. An immunogenic composition including a mutant Clostridium difficile toxin A, which includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a

cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin A.

C22. The composition according to clause C21, wherein the mutation is a non-conservative amino acid substitution.

C23. The composition according to clause C22, wherein the substitution includes an alanine substitution.

C24. The composition according to any of clause C21-C23, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin A includes a sequence having at least 95% identity to SEQ ID NO: 1.

C25. The composition according to clause C24, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin A includes a sequence having at least 98% identity to SEQ ID NO: 1.

C26. The composition according to clause C25, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin A includes SEQ ID NO: 1.

C27. The composition according to any of clause C21-C26, wherein the glucosyltransferase domain includes at least two mutations.

C28. The composition according to clause C27, wherein the at least two mutations are present at amino acid positions 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, or 542, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

C29. The composition according to any of clause C21-C26, wherein the glucosyltransferase domain includes SEQ ID NO: 29.

C30. The composition according to clause C29, wherein the glucosyltransferase domain includes at least two non-conservative mutations present at amino acid positions 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, or 542, or any combination thereof, of SEQ ID NO: 29.

C31. The composition according to any of clause C21-C26, wherein the cysteine protease domain includes a mutation present at positions 700, 589, 655, 543, or any combinations thereof, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

C32. The composition according to any of clause C21-C26, wherein the cysteine protease domain includes SEQ ID NO: 32.

C33. The composition according to clause C32, wherein the cysteine protease domain includes a non-conservative mutation present at positions 1, 47, 113, 158, or any combinations thereof, of SEQ ID NO: 32.

C34. The composition according to clause 21, wherein the mutant Clostridium difficile toxin A includes SEQ ID NO: 4.

C35. The composition according to clause 21, wherein the mutant Clostridium difficile toxin A includes SEQ ID NO: 84.

C36. The composition according to clause 21, wherein the mutant Clostridium difficile toxin A includes SEQ ID NO: 7.

C37. The composition according to clause 21, wherein the mutant Clostridium difficile toxin A includes SEQ ID NO: 83.

C38. The composition according to any of clause C21-C33, wherein at least one amino acid of the mutant Clostridium difficile toxin A is chemically crosslinked.

C39. The composition according to clause C38, wherein the amino acid is chemically crosslinked by formaldehyde.

C40. The composition according to clause C38, wherein the amino acid is chemically crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C41. The composition according to clause C38 or C40, wherein the amino acid is chemically crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

C42. The composition according to any of clause C21-C41, wherein the composition is recognized by an anti-toxin A neutralizing antibody or binding fragment thereof.

C43. An immunogenic composition including a mutant Clostridium difficile toxin A, which includes a glucosyltransferase domain including SEQ ID NO: 29 having an amino acid substitution at positions 285 and 287, and a cysteine protease domain including SEQ ID NO: 32 having an amino acid substitution at position 158, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin A, wherein at least one amino acid of the mutant Clostridium difficile toxin A is chemically crosslinked.

C44. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7 is chemically crosslinked.

C45. The composition according to clause C43 or C44, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

C46. The composition according to clause C43 or C44, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C47. The composition according to clause C43, C44, or C46, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

C48. The composition according to clause C43 or C44, wherein the composition is recognized by an anti-toxin A neutralizing antibody or binding fragment thereof.

C49. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 4.

C50. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 84.

C51. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 7.

C52. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 83.

C53. The composition according to any of clause C49-C52, wherein at least one amino acid is chemically crosslinked.

C54. The composition according to any of clause C21-C51, wherein the composition exhibits decreased cytotoxicity, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin A.

C55. An isolated polypeptide including SEQ ID NO: 84.

C56. An isolated polypeptide including SEQ ID NO: 86.

C57. An isolated polypeptide including SEQ ID NO: 83.

C58. An isolated polypeptide including SEQ ID NO: 85.

C59. An immunogenic composition including a mutant Clostridium difficile toxin B, which includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin B.

C60. The composition according to clause C59, wherein the mutation is a non-conservative amino acid substitution.

C61. The composition according to clause C60, wherein the substitution includes an alanine substitution.

C62. The composition according to any of clause C59-C61, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin B includes a sequence having at least 95% identity to SEQ ID NO: 2.

C63. The composition according to clause C62, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin B includes a sequence having at least 98% identity to SEQ ID NO: 2.

C64. The composition according to clause C63, wherein the wild-type Clostridium difficile toxin B includes SEQ ID NO: 2.

C65. The composition according to any of clause C59-C64, wherein the glucosyltransferase domain includes at least two mutations.

C66. The composition according to clause C65, wherein the at least two mutations are present at amino acid positions 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, or 543, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

C67. The composition according to any of clause C59-C64, wherein the glucosyltransferase domain includes SEQ ID NO: 31.

C68. The composition according to clause C67, wherein the glucosyltransferase domain includes at least two non-conservative mutations present at amino acid positions 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, or 543 of SEQ ID NO: 31.

C69. The composition according to any of clause C59-C64, wherein the cysteine protease domain includes a mutation present at positions 698, 653, 587, 544, or any combinations thereof, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

C70. The composition according to any of clause C59-C64, wherein the cysteine protease domain includes SEQ ID NO: 33.

C71. The composition according to clause C70, wherein the cysteine protease domain includes a non-conservative mutation present at positions 1, 44, 110, 155, or any combinations thereof, of SEQ ID NO: 33.

C72. The composition according to clause C59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B includes SEQ ID NO: 6.

C73. The composition according to clause C59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B includes SEQ ID NO: 86.

C74. The composition according to clause C59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B includes SEQ ID NO: 8.

C75. The composition according to clause C59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B includes SEQ ID NO: 85.

C76. The composition according to any of clause C59-C71, wherein at least one amino acid of the mutant Clostridium difficile toxin B is chemically crosslinked.

C77. The composition according to clause C76, wherein the amino acid is chemically crosslinked by formaldehyde.

C78. The composition according to clause C76, wherein the amino acid is chemically crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C79. The composition according to clause C76 or C78, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

C80. The composition according to any of clause C59-C79, wherein the composition is recognized by an anti-toxin B neutralizing antibody or binding fragment thereof.

C81. An immunogenic composition including a mutant Clostridium difficile toxin B, which includes a glucosyltransferase domain including SEQ ID NO: 31 having an amino acid substitution at positions 286 and 288, and a cysteine protease domain including SEQ ID NO: 33 having an amino acid substitution at position 155, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin B, wherein at least one amino acid of the mutant Clostridium difficile toxin B is chemically crosslinked.

C82. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO:8, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO:8 is chemically crosslinked.

C83. The composition according to clause C81 or C82, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

C84. The composition according to clause C81 or C82, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C85. The composition according to clause C81, C82, or C84, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

C86. The composition according to clause C81 or C82, wherein the composition is recognized by an anti-toxin B neutralizing antibody or binding fragment thereof.

C87. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 6.

C88. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 86.

C89. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 8.

C90. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 85.

C91. The composition according to any of clause C59-C89, wherein the composition exhibits decreased cytotoxicity, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin B.

C92. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 4 and 6 is chemically crosslinked.

C93. An immunogenic composition including SEQ ID NO: 84 and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 84 and 86 is chemically crosslinked.

C94. The composition according to clause C92 or C93, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

C95. The composition according to clause C92 or C93, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C96. The composition according to clause C92, C93, or C95, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

C97. A recombinant cell or progeny thereof, including SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, or SEQ ID NO: 47.

C98. A recombinant cell or progeny thereof, including a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, or SEQ ID NO: 8.

C99. A recombinant cell or progeny thereof, including a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 84.

C100. A recombinant cell or progeny thereof, including a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 86.

C101. A recombinant cell or progeny thereof, including a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 83.

C102. A recombinant cell or progeny thereof, including a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 85.

C103. The recombinant cell of clause C97 or C98, wherein said cell is derived from a Gram positive bacterium cell.

C104. The recombinant cell of clause C97, C98, or C99, wherein the cell is derived from a Clostridium difficile cell.

C105. The recombinant cell of any of clause C97- C104, wherein the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

C106. The cell according to any of clause C104, or C105 wherein the cell is derived from a Clostridium difficile cell selected from the group consisting of Clostridium difficile 1351, Clostridium difficile 3232, Clostridium difficile 7322, Clostridium difficile 5036, Clostridium difficile 4811, and Clostridium difficile VPI 11186.

C107. The cell according to clause C106, wherein the cell is a Clostridium difficile VPI 11186 cell.

C108. The cell according to clause C106, or C107, wherein a sporulation gene of the Clostridium difficile cell is inactivated.

C109. The cell according to clause C108, wherein the sporulation gene includes an spo0A gene or an spoIIE gene.

C110. A method of producing a mutant Clostridium difficile toxin, including culturing a recombinant cell or progeny thereof under suitable conditions to express a polynucleotide encoding a mutant Clostridium difficile toxin, wherein the cell includes the polynucleotide encoding the mutant Clostridium difficile toxin, and wherein the mutant includes a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type Clostridium difficile toxin.

C111. The method according to clause C110, wherein the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

C112. The method according to clause C110, wherein the recombinant cell or progeny thereof includes a cell according to any of clause C97-C111.

C113. The method according to clause C110, further including isolating the mutant Clostridium difficile toxin.

C114. The method according to clause C113, further including contacting the isolated mutant Clostridium difficile toxin with formaldehyde.

C115. The method according to clause C114, wherein the contacting occurs for at most 14 days.

C116. The method according to clause C115, wherein the contacting occurs for at most 48 hours.

C117. The method according to clause C114, wherein the contacting occurs at about 25°C.

C118. The method according to clause C113, further including contacting the isolated mutant Clostridium difficile toxin with ethyl- 3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

C119. The method according to clause C118, wherein the contacting occurs for at most 24 hours.

C120. The method according to clause C120, wherein the contacting occurs for at most 4 hours.

C121. The method according to clause C118, wherein the contacting occurs at about 25°C.

C122. The method according to clause C118, further including contacting the isolated mutant Clostridium difficile toxin with N-hydroxysuccinimide.

C123. An immunogenic composition produced by the method according to any of clause C110- C122.

C124. A method of producing a neutralizing antibody against a Clostridium difficile toxin A, including administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

C125. A method of producing a neutralizing antibody against a Clostridium difficile toxin A, including administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 84, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 84 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

C126. A method of producing a neutralizing antibody against a Clostridium difficile toxin B, including administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

C127. A method of producing a neutralizing antibody against a Clostridium difficile toxin A, including administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 86 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

C128. An antibody or antibody binding fragment thereof specific to an immunogenic composition, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 7 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present,.

C129. The antibody or antibody binding fragment thereof according to clause C128, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 7 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C130. An antibody or antibody binding fragment thereof including the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 41 (CDR H1), SEQ ID NO: 42 (CDR H2) and SEQ ID NO: 43 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 38 (CDR L1), SEQ ID NO: 39 (CDR L2) and SEQ ID NO: 40 (CDR L3).

C131. The antibody or antibody binding fragment thereof according to clause C128, C129, or C130, wherein the antibody or antibody binding fragment thereof includes a heavy chain, which includes the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 37, and a light chain, which includes the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 36.

C132. A composition including a combination of two or more antibodies or antibody binding fragments thereof selected from any according to any of clause C128-C131.

C133. An antibody or antibody binding fragment thereof specific to an immunogenic composition, said immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 8 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present.

C134. The antibody or antibody binding fragment thereof according to clause C133, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 8 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C135. An antibody or antibody binding fragment thereof including the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 51 (CDR H1), SEQ ID NO: 52 (CDR H2) and SEQ ID NO: 53 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 57 (CDR L1), SEQ ID NO: 58 (CDR L2) and SEQ ID NO: 59 (CDR L3).

C136. An antibody or antibody binding fragment thereof including the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 61 (CDR H1), SEQ ID NO: 62 (CDR H2) and SEQ ID NO: 63 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 68 (CDR L1), SEQ ID NO: 69 (CDR L2) and SEQ ID NO: 70 (CDR L3).

C137. An antibody or antibody binding fragment thereof including the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 73 (CDR H1), SEQ ID NO: 74 (CDR H2) and SEQ ID NO: 75 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 79 (CDR L1), SEQ ID NO: 80 (CDR L2) and SEQ ID NO: 81 (CDR L3).

C138. A composition including a combination of two or more antibodies or antibody binding fragments thereof selected from any of clause C133-C137.

C139. A method of treating a Clostridium difficile infection in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 4 and 6 is crosslinked by formaldehyde.

C140. A method of treating a Clostridium difficile infection in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C141. A method of treating a Clostridium difficile infection in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID NO: 84, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 84 and SEQ ID NO: 86 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C142. A method of inducing an immune response to Clostridium difficile in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID

NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by formaldehyde.

C143. A method of inducing an immune response to Clostridium difficile in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C144. A method of inducing an immune response to Clostridium difficile in a mammal, including administering to the mammal an immunogenic composition including SEQ ID NO: 84, and an immunogenic composition including SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 84 and SEQ ID NO: 86 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

C145. The method according to any of clause C139-C144, wherein the mammal is a mammal in need thereof.

C146. The method according to any of clause C139-C144, wherein the mammal has a recurring Clostridium difficile infection.

C147. The method according to any of clause C139-C144, wherein the composition is administered parenterally.

C148. The method according to any of clause C139-C144, wherein the composition further includes an adjuvant.

C149. The method according to clause C148, wherein the adjuvant includes aluminum.

C150. The method according to clause C148, wherein the adjuvant includes aluminum hydroxide gel and a CpG oligonucleotide.

C151. The method according to clause C148, wherein the adjuvant includes ISCOMATRIX®.

CLAIMS:

1. An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide comprises at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

2. An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptide comprises an amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

3. The isolated polypeptide according to claims 1 or 2, wherein at least one side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or at least one side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is chemically modified by glycine.

4. The isolated polypeptide according to any of claims 1-3, wherein the polypeptide comprises:

   a) at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide; and

   b) at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide.

5. The isolated polypeptide according to any of claims 1-4, wherein the polypeptide comprises a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide.

6. The isolated polypeptide according to claim 4, wherein the polypeptide comprises a glycine moiety linked to a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide.

7. An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and

wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

8. An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide is linked to a beta-alanine moiety.

9. The isolated polypeptide according to claims 7 or 8, wherein a side chain of a second lysine residue of the polypeptide is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

10. The isolated polypeptide according to any of claims 7-9, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide is linked to a glycine moiety.

11. The isolated polypeptide as in any of claims 1-10, wherein the polypeptide has an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

12. An immunogenic composition comprising an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and wherein the polypeptides have at least one amino acid side chain chemically modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) (EDC) and N-Hydroxysuccinimide (NHS).

13. The immunogenic composition according to claim 12, wherein the polypeptide comprises at least one of any of:

a) at least one beta-alanine moiety linked to a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

b) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of an aspartic acid residue; and

c) at least one crosslink between a side chain of a lysine residue of the polypeptide and a side chain of a glutamic acid residue.

14. The immunogenic composition according to claim 12, wherein the polypeptides have an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

15. An immunogenic composition comprising an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and

a) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a beta-alanine moiety, and

b) wherein a side chain of at least one lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a beta-alanine moiety.

16. The immunogenic composition according to claim 15, wherein a side chain of a second lysine residue of SEQ ID NO: 4 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue, and wherein a second lysine residue of SEQ ID NO: 6 is linked to a side chain of an aspartic acid residue or to a side chain of a glutamic acid residue.

17. The immunogenic composition according to any of claims 12-16, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

18. The immunogenic composition according to any of claims 12-16, wherein a side chain of an aspartic acid residue or a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is linked to a glycine moiety.

19. The immunogenic composition according to any of claims 12-18, wherein the polypeptide has an EC_{50} of at least about 100 µg/ml.

20. An immunogenic composition comprising an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 84 and an isolated polypeptide having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86, wherein each polypeptide comprises

    a) at least one crosslink between a side chain of an aspartic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

    b) at least one crosslink between a side chain of a glutamic acid residue of the polypeptide and a side chain of a lysine residue of the polypeptide;

    c) a beta-alanine moiety linked to a side chain of at least one lysine residue of the polypeptide; and

    d) a glycine moiety linked to a side chain of at least one aspartic acid residue of the polypeptide or to a side chain of at least one glutamic acid residue of the polypeptide.

21. An immunogenic composition comprising a mutant *Clostridium difficile* toxin A, which comprises a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin A.

22. The composition according to claim 21, wherein the mutation is a non-conservative amino acid substitution.

23. The composition according to claim 22, wherein the substitution comprises an alanine substitution.

24. The composition according to any of claims 21-23, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin A comprises a sequence having at least 95% identity to SEQ ID NO: 1.

25. The composition according to claim 24, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin A comprises a sequence having at least 98% identity to SEQ ID NO: 1.

26. The composition according to claim 25, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin A comprises SEQ ID NO: 1.

27. The composition according to any of claims 21-26, wherein the glucosyltransferase domain comprises at least two mutations.

28. The composition according to claim 27, wherein the at least two mutations are present at amino acid positions 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, or 542, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

29. The composition according to any of claims 21-26, wherein the glucosyltransferase domain comprises SEQ ID NO: 29.

30. The composition according to claim 29, wherein the glucosyltransferase domain comprises at least two non-conservative mutations present at amino acid positions 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, or 542, or any combination thereof, of SEQ ID NO: 29.

31. The composition according to any of claims 21-26, wherein the cysteine protease domain comprises a mutation present at positions 700, 589, 655, 543, or any combinations thereof, according to the numbering of SEQ ID NO: 1.

32. The composition according to any of claims 21-26, wherein the cysteine protease domain comprises SEQ ID NO: 32.

33. The composition according to claim 32, wherein the cysteine protease domain comprises a non-conservative mutation present at positions 1, 47, 113, 158, or any combinations thereof, of SEQ ID NO: 32.

34. The composition according to claim 21, wherein the mutant *Clostridium difficile* toxin A comprises SEQ ID NO: 4.

35. The composition according to claim 21, wherein the mutant *Clostridium difficile* toxin A comprises SEQ ID NO: 84.

36. The composition according to claim 21, wherein the mutant *Clostridium difficile* toxin A comprises SEQ ID NO: 7.

37. The composition according to claim 21, wherein the mutant *Clostridium difficile* toxin A comprises SEQ ID NO: 83.

38. The composition according to any of claims 21-33, wherein at least one amino acid of the mutant *Clostridium difficile* toxin A is chemically crosslinked.

39. The composition according to claim 38, wherein the amino acid is chemically crosslinked by formaldehyde.

40. The composition according to claim 38, wherein the amino acid is chemically crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

41. The composition according to claim 38 or 40, wherein the amino acid is chemically crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

42. The composition according to any of claims 21-41, wherein the composition is recognized by an anti-toxin A neutralizing antibody or binding fragment thereof.

43. An immunogenic composition comprising a mutant *Clostridium difficile* toxin A, which comprises a glucosyltransferase domain comprising SEQ ID NO: 29 having an amino acid substitution at positions 285 and 287, and a cysteine protease domain comprising SEQ ID NO: 32 having an amino acid substitution at position 158, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin A, wherein at least one amino acid of the mutant *Clostridium difficile* toxin A is chemically crosslinked.

44. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 or SEQ ID NO: 7 is chemically crosslinked.

45. The composition according to claim 43 or 44, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

46. The composition according to claim 43 or 44, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

47. The composition according to claim 43, 44, or 46, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

48. The composition according to claim 43 or 44, wherein the composition is recognized by an anti-toxin A neutralizing antibody or binding fragment thereof.

49. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4.

50. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 84.

51. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 7.

52. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 83.

53. The composition according to any of claims 49-52, wherein at least one amino acid is chemically crosslinked.

54. The composition according to any of claims 21-51, wherein the composition exhibits decreased cytotoxicity, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin A.

55. An isolated polypeptide comprising SEQ ID NO: 84.

56. An isolated polypeptide comprising SEQ ID NO: 86.

57. An isolated polypeptide comprising SEQ ID NO: 83.

58. An isolated polypeptide comprising SEQ ID NO: 85.

59. An immunogenic composition comprising a mutant *Clostridium difficile* toxin B, which comprises a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin B.

60. The composition according to claim 59, wherein the mutation is a non-conservative amino acid substitution.

61. The composition according to claim 60, wherein the substitution comprises an alanine substitution.

62. The composition according to any of claims 59-61, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin B comprises a sequence having at least 95% identity to SEQ ID NO: 2.

63. The composition according to claim 62, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin B comprises a sequence having at least 98% identity to SEQ ID NO: 2.

64. The composition according to claim 63, wherein the wild-type *Clostridium difficile* toxin B comprises SEQ ID NO: 2.

65. The composition according to any of claims 59-64, wherein the glucosyltransferase domain comprises at least two mutations.

66. The composition according to claim 65, wherein the at least two mutations are present at amino acid positions 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, or 543, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

67. The composition according to any of claims 59-64, wherein the glucosyltransferase domain comprises SEQ ID NO: 31.

68. The composition according to claim 67, wherein the glucosyltransferase domain comprises at least two non-conservative mutations present at amino acid positions 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, or 543 of SEQ ID NO: 31.

69. The composition according to any of claims 59-64, wherein the cysteine protease domain comprises a mutation present at positions 698, 653, 587, 544, or any combinations thereof, according to the numbering of SEQ ID NO: 2.

70. The composition according to any of claims 59-64, wherein the cysteine protease domain comprises SEQ ID NO: 33.

71. The composition according to claim 70, wherein the cysteine protease domain comprises a non-conservative mutation present at positions 1, 44, 110, 155, or any combinations thereof, of SEQ ID NO: 33.

72. The composition according to claim 59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B comprises SEQ ID NO: 6.

73. The composition according to claim 59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B comprises SEQ ID NO: 86.

74. The composition according to claim 59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B comprises SEQ ID NO: 8.

75. The composition according to claim 59, wherein the mutant Clostridium difficile toxin B comprises SEQ ID NO: 85.

76. The composition according to any of claims 59-71, wherein at least one amino acid of the mutant *Clostridium difficile* toxin B is chemically crosslinked.

77. The composition according to claim 76, wherein the amino acid is chemically crosslinked by formaldehyde.

78. The composition according to claim 76, wherein the amino acid is chemically crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

79. The composition according to claims 76 or 78, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

80. The composition according to any of claims 59-79, wherein the composition is recognized by an anti-toxin B neutralizing antibody or binding fragment thereof.

81. An immunogenic composition comprising a mutant *Clostridium difficile* toxin B, which comprises a glucosyltransferase domain comprising SEQ ID NO: 31 having an amino acid substitution at positions 286 and 288, and a cysteine protease domain comprising SEQ ID NO: 33 having an amino acid substitution at position 155, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin B, wherein at least one amino acid of the mutant *Clostridium difficile* toxin B is chemically crosslinked.

82. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO:8, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 or SEQ ID NO:8 is chemically crosslinked.

83. The composition according to claim 81 or 82, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

84. The composition according to claim 81 or 82, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

85. The composition according to claim 81, 82, or 84, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

86. The composition according to claim 81 or 82, wherein the composition is recognized by an anti-toxin B neutralizing antibody or binding fragment thereof.

87. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6.

88. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 86.

89. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 8.

90. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 85.

91. The composition according to any of claims 59-89, wherein the composition exhibits decreased cytotoxicity, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin B.

92. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 4 and 6 is chemically crosslinked.

93. An immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 84 and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 84 and 86 is chemically crosslinked.

94. The composition according to claim 92 or 93, wherein the at least one amino acid is crosslinked by formaldehyde.

95. The composition according to claim 92 or 93, wherein the at least one amino acid is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

96. The composition according to claims 92, 93, or 95, wherein the at least one amino acid is crosslinked by N-hydroxysuccinimide.

97. A recombinant cell or progeny thereof, comprising SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, or SEQ ID NO: 47.

98. A recombinant cell or progeny thereof, comprising a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, or SEQ ID NO: 8.

99. A recombinant cell or progeny thereof, comprising a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 84.

100. A recombinant cell or progeny thereof, comprising a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 86.

101. A recombinant cell or progeny thereof, comprising a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 83.

102. A recombinant cell or progeny thereof, comprising a nucleic acid sequence that encodes SEQ ID NO: 85.

103. The recombinant cell of claim 97 or 98, wherein said cell is derived from a Gram positive bacterium cell.

104. The recombinant cell of claims 97, 98, or 99, wherein the cell is derived from a *Clostridium difficile* cell.

105. The recombinant cell of any of claims 97- 104, wherein the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

106. The cell according to any of claims 104, or 105 wherein the cell is derived from a *Clostridium difficile* cell selected from the group consisting of *Clostridium difficile* 1351, *Clostridium difficile* 3232, *Clostridium difficile* 7322, *Clostridium difficile* 5036, *Clostridium difficile* 4811, and *Clostridium difficile* VPI 11186.

107. The cell according to claim 106, wherein the cell is a *Clostridium difficile* VPI 11186 cell.

108. The cell according to claim 106, or 107, wherein a sporulation gene of the *Clostridium difficile* cell is inactivated.

109. The cell according to claim 108, wherein the sporulation gene comprises an *spo0A* gene or an *spoIIE* gene.

110. A method of producing a mutant *Clostridium difficile* toxin, comprising

culturing a recombinant cell or progeny thereof under suitable conditions to express a polynucleotide encoding a mutant *Clostridium difficile* toxin, wherein the cell comprises the polynucleotide encoding the mutant *Clostridium difficile* toxin, and wherein the mutant comprises a glucosyltransferase domain having at least one mutation and a cysteine protease domain having at least one mutation, relative to the corresponding wild-type *Clostridium difficile* toxin.

111. The method according to claim 110, wherein the cell lacks an endogenous polynucleotide encoding a toxin.

112. The method according to claim 110, wherein the recombinant cell or progeny thereof comprises a cell according to any of claims 97-111.

113. The method according to claim 110, further comprising isolating the mutant *Clostridium difficile* toxin.

114. The method according to claim 113, further comprising contacting the isolated mutant *Clostridium difficile* toxin with formaldehyde.

115. The method according to claim 114, wherein the contacting occurs for at most 14 days.

116. The method according to claim 115, wherein the contacting occurs for at most 48 hours.

117. The method according to claim 114, wherein the contacting occurs at about 25°C.

118. The method according to claim 113, further comprising contacting the isolated mutant *Clostridium difficile* toxin with ethyl- 3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide.

119. The method according to claim 118, wherein the contacting occurs for at most 24 hours.

120. The method according to claim 120, wherein the contacting occurs for at most 4 hours.

121. The method according to claim 118, wherein the contacting occurs at about 25°C.

122. The method according to claim 118, further comprising contacting the isolated mutant *Clostridium difficile* toxin with N-hydroxysuccinimide.

123. An immunogenic composition produced by the method according to any of claims 110- 122.

124. A method of producing a neutralizing antibody against a *Clostridium difficile* toxin A, comprising administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

125. A method of producing a neutralizing antibody against a *Clostridium difficile* toxin A, comprising administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 84, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 84 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

126. A method of producing a neutralizing antibody against a *Clostridium difficile* toxin B, comprising administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6, wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-

dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

127. A method of producing a neutralizing antibody against a *Clostridium difficile* toxin A, comprising administering an immunogenic composition to a mammal, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 86 is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide, and recovering the antibody from the mammal.

128. An antibody or antibody binding fragment thereof specific to an immunogenic composition, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 7 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present,.

129. The antibody or antibody binding fragment thereof according to claim 128, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 7 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

130. An antibody or antibody binding fragment thereof comprising the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 41 (CDR H1), SEQ ID NO: 42 (CDR H2) and SEQ ID NO: 43 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 38 (CDR L1), SEQ ID NO: 39 (CDR L2) and SEQ ID NO: 40 (CDR L3).

131. The antibody or antibody binding fragment thereof according to claims 128, 129, or 130, wherein the antibody or antibody binding fragment thereof comprises a heavy chain, which comprises the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 37, and a light chain, which comprises the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 36.

132. A composition comprising a combination of two or more antibodies or antibody binding fragments thereof selected from any according to any of claims 128-131.

133. An antibody or antibody binding fragment thereof specific to an immunogenic composition, said immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 8 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present,.

134. The antibody or antibody binding fragment thereof according to claim 133, wherein at least one amino acid of SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, or SEQ ID NO: 8 wherein the methionine residue

at position 1 is optionally not present, is crosslinked by formaldehyde, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

135. An antibody or antibody binding fragment thereof comprising the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 51 (CDR H1), SEQ ID NO: 52 (CDR H2) and SEQ ID NO: 53 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 57 (CDR L1), SEQ ID NO: 58 (CDR L2) and SEQ ID NO: 59 (CDR L3).

136. An antibody or antibody binding fragment thereof comprising the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 61 (CDR H1), SEQ ID NO: 62 (CDR H2) and SEQ ID NO: 63 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 68 (CDR L1), SEQ ID NO: 69 (CDR L2) and SEQ ID NO: 70 (CDR L3).

137. An antibody or antibody binding fragment thereof comprising the amino acid sequences of the heavy chain complementarity determining regions (CDRs) set forth in SEQ ID NO: 73 (CDR H1), SEQ ID NO: 74 (CDR H2) and SEQ ID NO: 75 (CDR H3), and the amino acid sequences of the light chain CDRs as shown in SEQ ID NO: 79 (CDR L1), SEQ ID NO: 80 (CDR L2) and SEQ ID NO: 81 (CDR L3).

138. A composition comprising a combination of two or more antibodies or antibody binding fragments thereof selected from any of claims 133-137.

139. A method of treating a *Clostridium difficile* infection in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NOs: 4 and 6 is crosslinked by formaldehyde.

140. A method of treating a *Clostridium difficile* infection in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

141. A method of treating a *Clostridium difficile* infection in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 84, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 84 and SEQ ID NO: 86 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

142. A method of inducing an immune response to *Clostridium difficile* in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by formaldehyde.

143. A method of inducing an immune response to *Clostridium difficile* in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 4 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 6 wherein the methionine residue at position 1 is optionally not present, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 6 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, N-hydroxysuccinimide, or a combination of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

144. A method of inducing an immune response to *Clostridium difficile* in a mammal, comprising administering to the mammal an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 84, and an immunogenic composition comprising SEQ ID NO: 86, wherein at least one amino acid of each of SEQ ID NO: 84 and SEQ ID NO: 86 is crosslinked by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide.

145. The method according to any of claims 139-144, wherein the mammal is a mammal in need thereof.

146. The method according to any of claims 139-144, wherein the mammal has a recurring *Clostridium difficile* infection.

147. The method according to any of claims 139-144, wherein the composition is administered parenterally.

148. The method according to any of claims 139-144, wherein the composition further comprises an adjuvant.

149. The method according to claim 148, wherein the adjuvant comprises aluminum.

150. The method according to claim 148, wherein the adjuvant comprises aluminum hydroxide gel and a CpG oligonucleotide.

151. The method according to claim 148, wherein the adjuvant comprises ISCOMATRIX®.

FIG. 1A

```
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
**************************************************

LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKNSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKNSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
************.*************************************

WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
**************************************************

EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
**************************************************

IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
******************:*******************************

LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLAVAMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
********************************* * *************

SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
PRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
PRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
.*************************************************
```

FIG. 1B

```
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
**************************************************

QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
**************************************************

PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
**************************************************

KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
**************************************************

NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
**************************************************

SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
**************************************************

TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGA 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
**************************************************.
```

FIG. 1C

```
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRINS 750
************************************:***************

EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
************************************************

SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
************************************************

HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
************************************************

RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
************************************************

QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
************************************************

NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
************************************************
```

FIG. 1D

```
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
**************************************************

ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKEYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKEYGPLKTEDDKILVPID 1150
**********************************:***************

DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIP 1200
****************************************** ******

SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGT 1250
SLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGT 1250
***:******:************************************:**

RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
KLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFI 1300
KLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFI 1300
:********************************** ************

MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNID 1350
******:***************************** **************

NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
****************:**:******************************
```

FIG. 1E

```
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
**************************************** ******

LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNGST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNGST 1500
**********************************************.**

LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
**************************************************

KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENI 1600
**********************************:***************

NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
**************************************************

RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
**************************************************

INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
**************************************************
```

FIG. 1F

```
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
**************************************************

NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIESNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIESNL 1850
********************************************** **


VTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPD 1900
********************  **************:************

GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
************************************:***********

NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
**************************************************

DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
****************************** ******************

GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
**************************** ******************
```

FIG. 1G

```
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKY 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKY 2150
************************************:************:

FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGK 2200
*************** ************. ************:*******

KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
**********:***: *:.************* *****************

LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
************************************************

AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQ 2350
********************************.********** *.****

TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTGYTIINGKHFY 2400
TIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTGYTIINGKHFY 2400
****:**********************:*******:******* *******

FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
***************:**********. **********************
```

FIG. 1H

```
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIA 2500
********************************************** **

STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
**************************************************

YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
*****************:*******.************************

NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLL 2650
******************.***************:**************

GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
********************.****************************

DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 1, 630)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 4)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 19, VPI10463)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 15, R20291)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 17, CD196)
**********
```

Fig. 2A

```
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
******************.****************************************

DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
************************************************************

VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTIVESATNDTLESFRENLNDPRFDYNKFYRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTIVESATNDTLESFRENLNDPRFDYNKFYRKRMEIIY 180
************************:**** *********************:********

DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKIYLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDV 240
DKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKIYLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDV 240
***********:******:******** ********:*****:********:*:******

RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLAVAMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEVGGVYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEVGGVYLDVDMLPGIQPDLFES 300
*******.****:*****************************:**:** * ************

IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
**************.************* ******************************

SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
************************************************************

DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
```

FIG. 2B

```
DNDFNTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
*********:**************************************************

LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFE 540
**************************************************:****

GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNTVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNTVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
************** ********************************************

TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
************************************************************

DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGANMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSVNVEETYPGKLLLRVK 720
DIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSVNVEETYPGKLLLRVK 720
*****:**********:********************.******:************:**

DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKVSELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKVSELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
**:********************************************************

NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEGR 840
NPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEGR 840
******* ********************************:************:** *

IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRF 900
IEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRF 900
*****.**********:************ *********:********* **********
```

FIG. 2C

```
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
IDKETGESIFVETEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLN 960
IDKETGESIFVETEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLN 960
*:*************:*************************************:********

AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
************************************************************

LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIIT 1080
**********:*************************************:*******

SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLD 1140
*********************************:************.*:**.*:**.** **

DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
**********************.************************************

SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
************************************************************

EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
****************************************:*******************

GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
```

FIG. 2D

```
GTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDN 1380
GTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDN 1380
************.*****.*.*.*:************************.***.****:*

KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANS 1440
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANS 1440
****:.******* :**.***************:***********:******* ** **

NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMD 1500
NSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMD 1500
* :********:************:*.:******** ***********.***********

DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
NSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDEN 1560
NSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDEN 1560
:*** *** **:**********:* ****************:*:***:*****.*:***.

GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ 1620
**********:**.*******************:* **** *:***:************

FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
******:::**************:************************************

LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRY 1740
**********:**************:**:***********:***.****:*********

VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFT 1800
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFT 1800
******.*******.***********.****.:*::::*:**********.:.::* :**
```

FIG. 2E

```
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIG 1860
PSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIG 1860
**** :**:.*****:******************:***********::******.*:*

DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG 1920
DDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG 1920
******** ******:******.*****.*.*********************:********

EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFN 1980
EAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFN 1980
********* ****:***.****.*:**: **.*::***.:**:********** *:***

SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFA 2040
SDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFA 2040
***:******.***:..********* ********:**************** *******

HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
**:********* :**********************************************

LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
ISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIG 2160
ISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIG 2160
:*:****:*****.****:******::*********:***:***********:**:****

VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
************************************************************
```

Fig 2F

```
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIED 2280
KYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIED 2280
****:****** ****:**********:********:**:*:*****:* **:**:****

KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
* ***.***:**************************************************

AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 2, 630)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 25, VPI10463)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 6)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 21, R20291)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 23, CD196)
**************************
```

FIG. 3

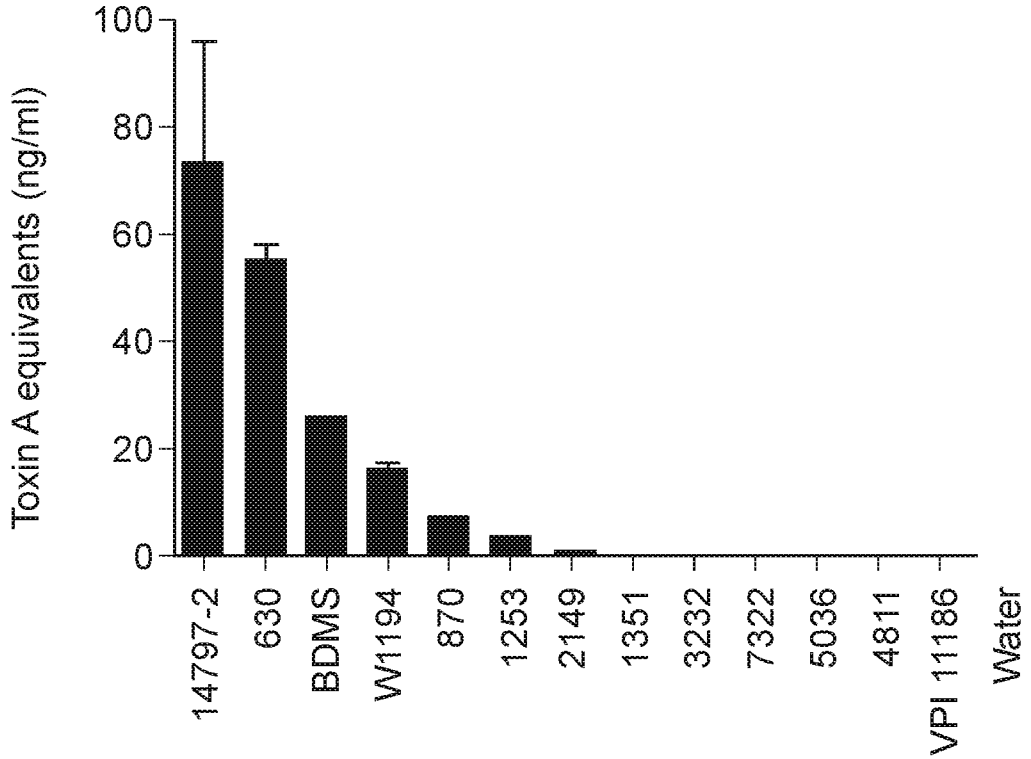

Toxin A equivalents (ng/ml)
100
80
60
40
20
0
14797-2
630
BDMS
W1194
870
1253
2149
1351
3232
7322
5036
4811
VPI 11186
Water

FIG. 4A

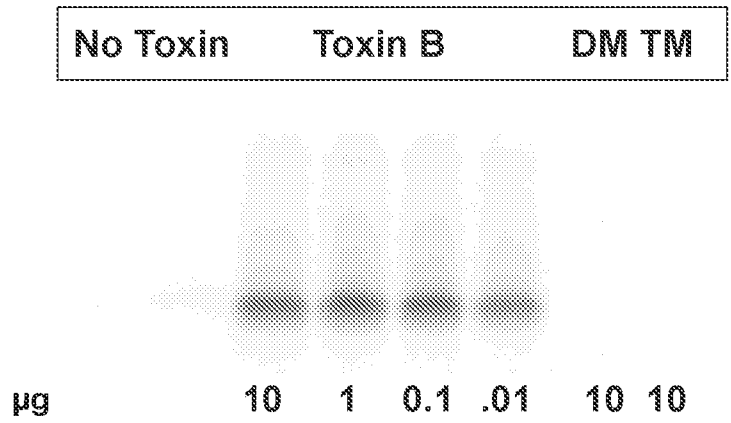

No Toxin
Toxin B
DM TM
µg
10
1
0.1
.01
10
10

FIG. 4B

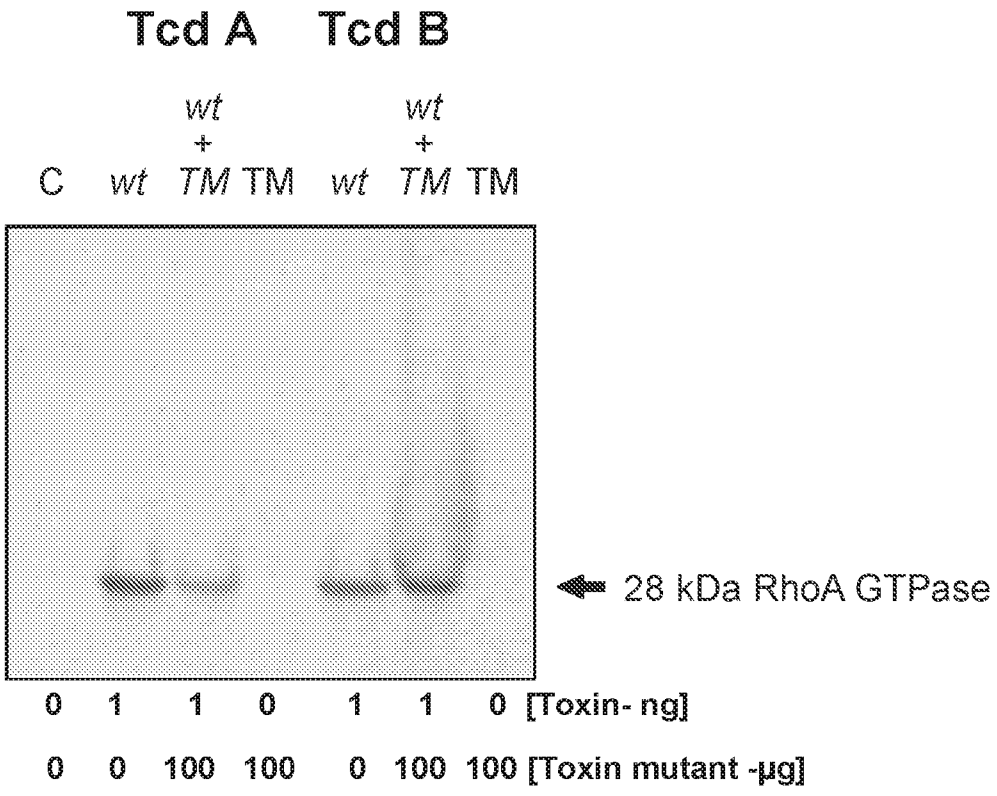

Tcd A
Tcd B
C
wt
wt + TM
TM
wt
wt + TM
TM
28 kDa RhoA GTPase
0 1 1 0 1 1 0 [Toxin- ng]
0 0 100 100 0 100 100 [Toxin mutant -µg]

FIG. 5

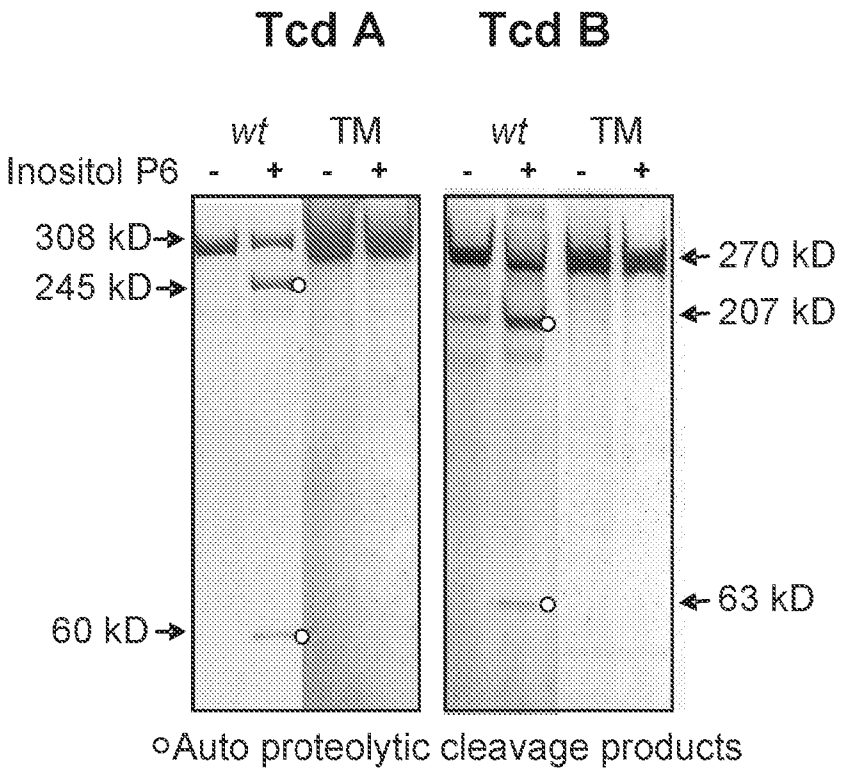

Tcd A
Tcd B
wt
TM
wt
TM
Inositol P6
- + - + - + - +
308 kD
245 kD
60 kD
270 kD
207 kD
63 kD
Auto proteolytic cleavage products

FIG. 6

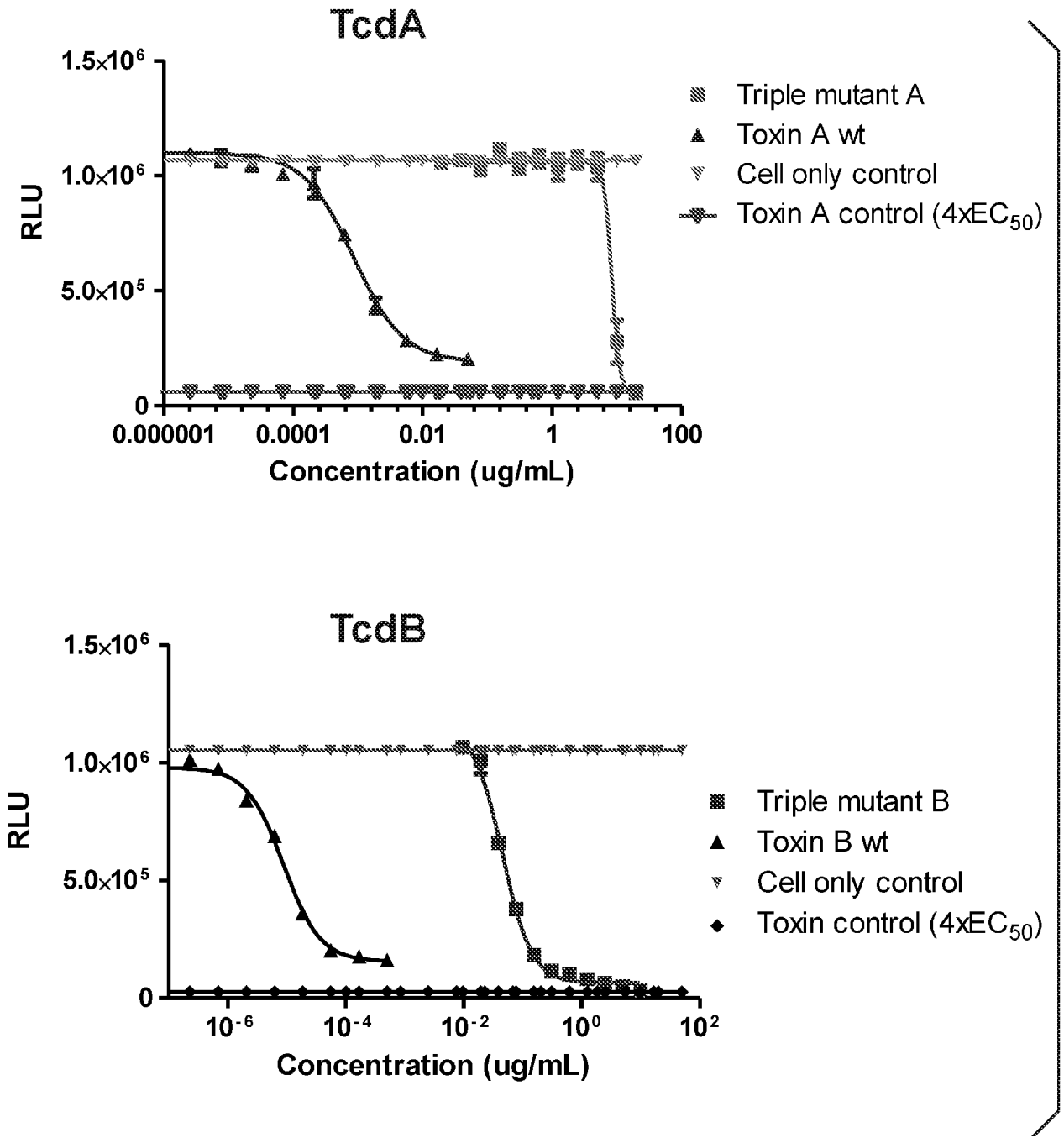
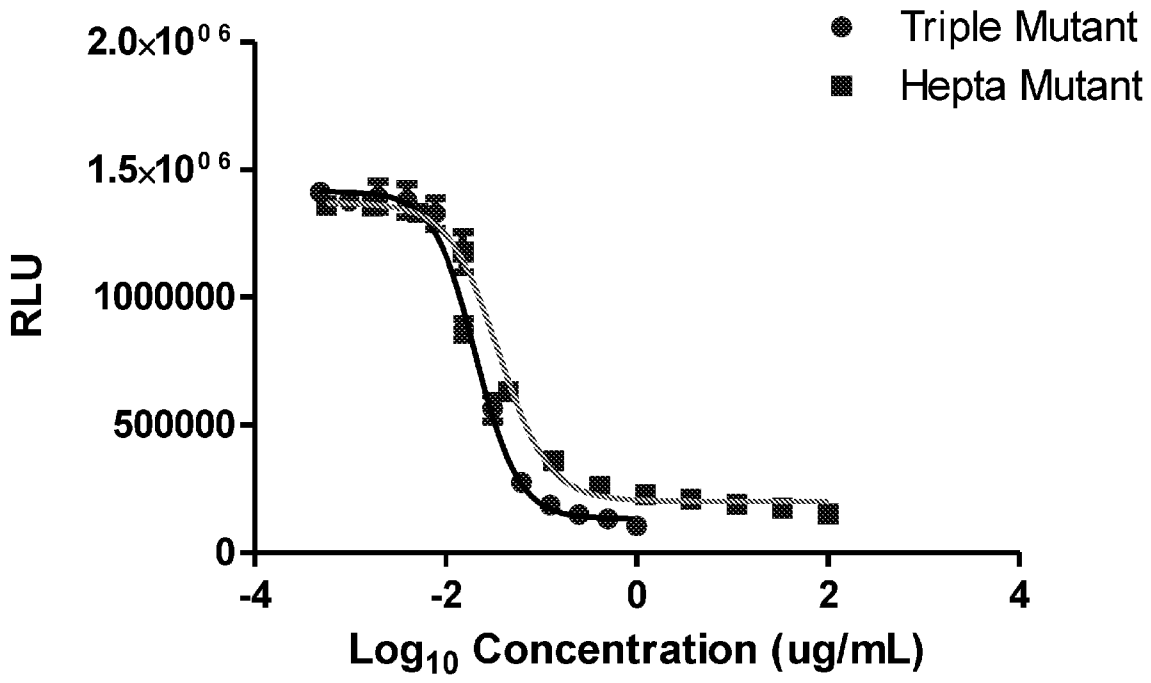

TcdA
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
RLU
0.000001
0.0001
0.01
1
100
Concentration (ug/mL)
Triple mutant A
Toxin A wt
Cell only control
Toxin A control (4xEC50)
TcdB
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
RLU
10^-6
10^-4
10^-2
10^0
10^2
Concentration (ug/mL)
Triple mutant B
Toxin B wt
Cell only control
Toxin control (4xEC50)

FIG. 7



	Triple Mutant	Hepta Mutant
EC_{50}	0.02078	0.03590

FIG. 8

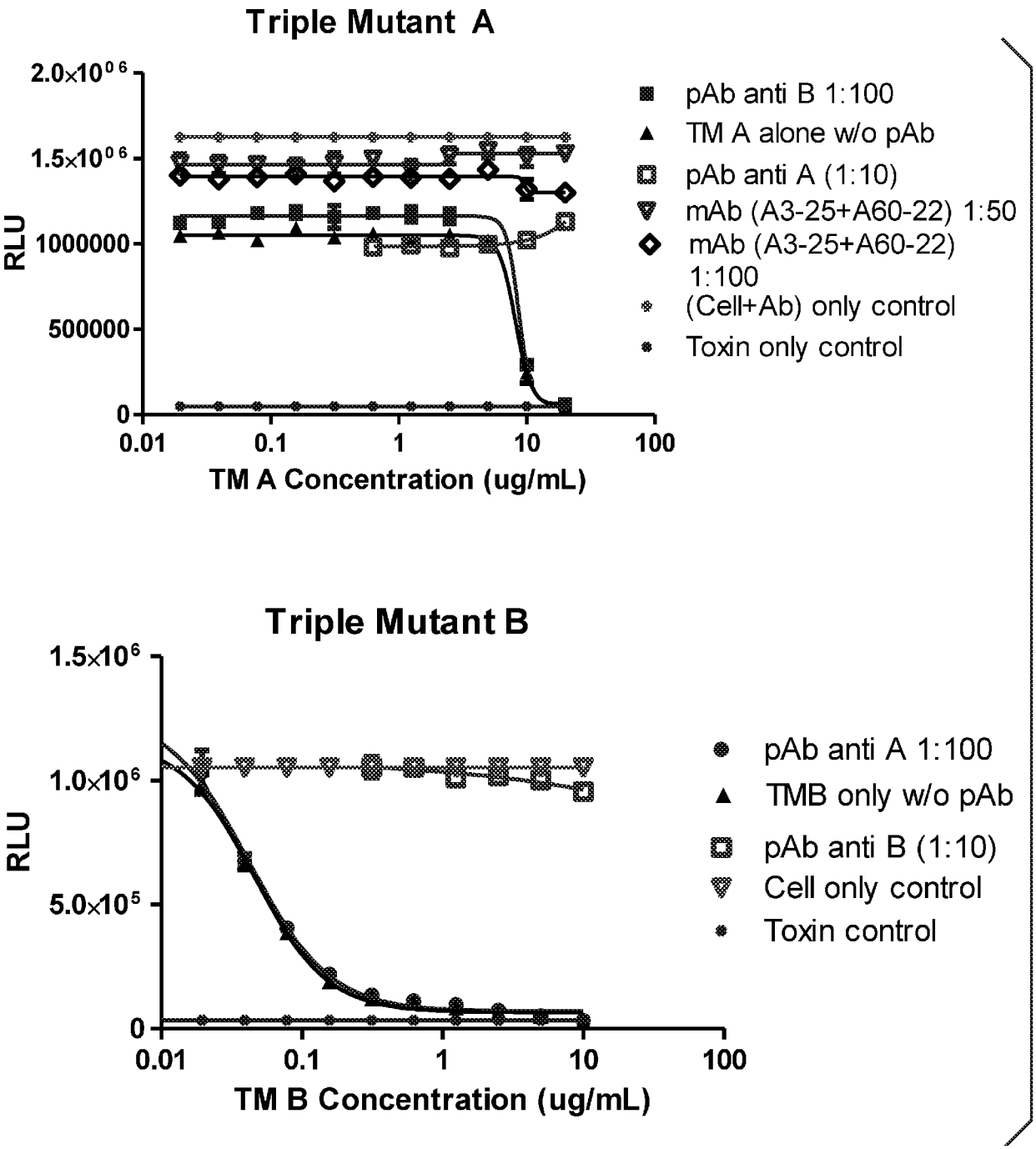

Triple Mutant A
2.0x10^06
1.5x10^06
1000000
500000
0
RLU
0.01
0.1
1
10
100
TM A Concentration (ug/mL)
pAb anti B 1:100
TM A alone w/o pAb
pAb anti A (1:10)
mAb (A3-25+A60-22) 1:50
mAb (A3-25+A60-22) 1:100
(Cell+Ab) only control
Toxin only control
Triple Mutant B
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
RLU
0.01
0.1
1
10
100
TM B Concentration (ug/mL)
pAb anti A 1:100
TMB only w/o pAb
pAb anti B (1:10)
Cell only control
Toxin control

FIG. 9

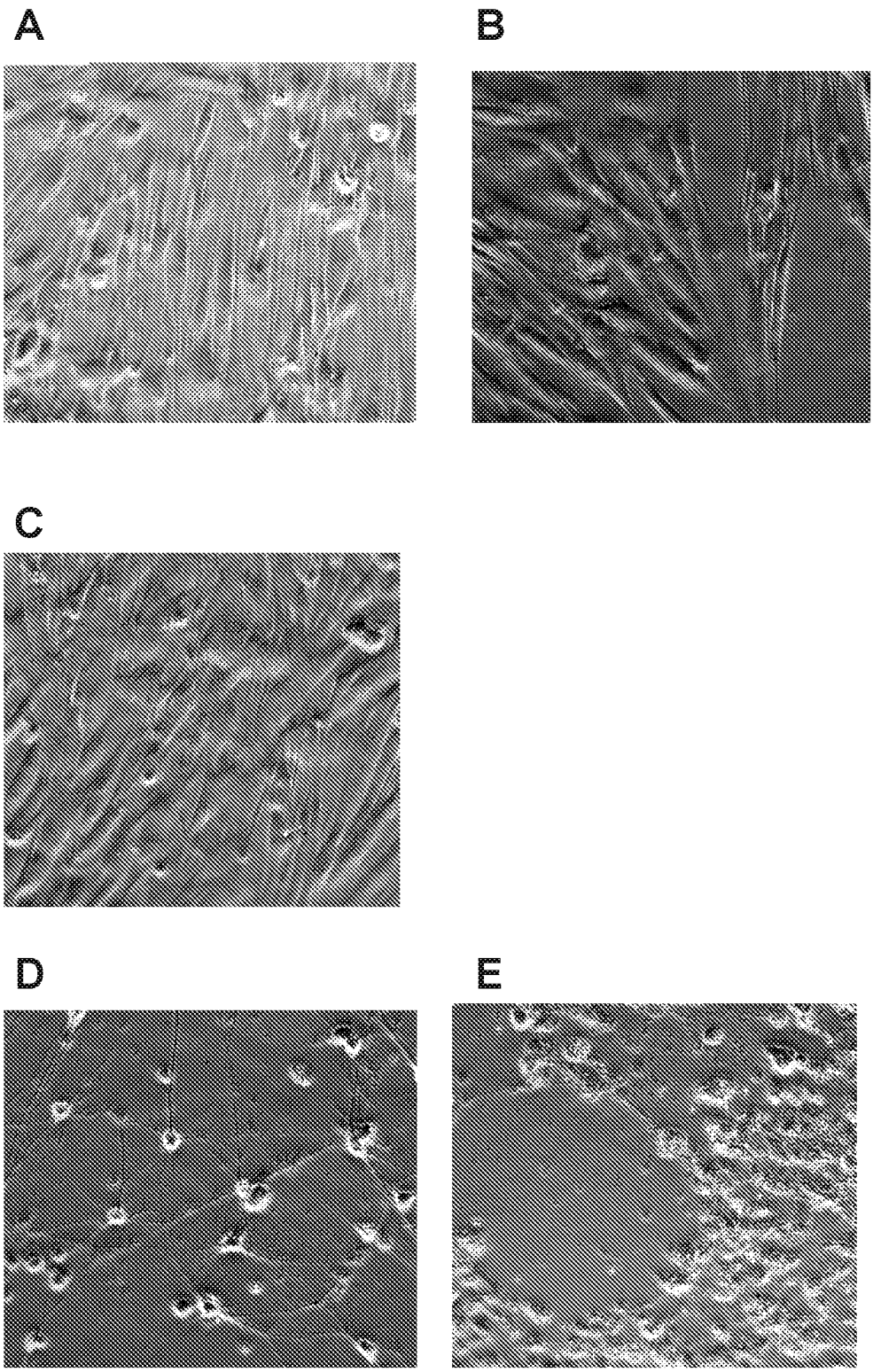


FIG. 10

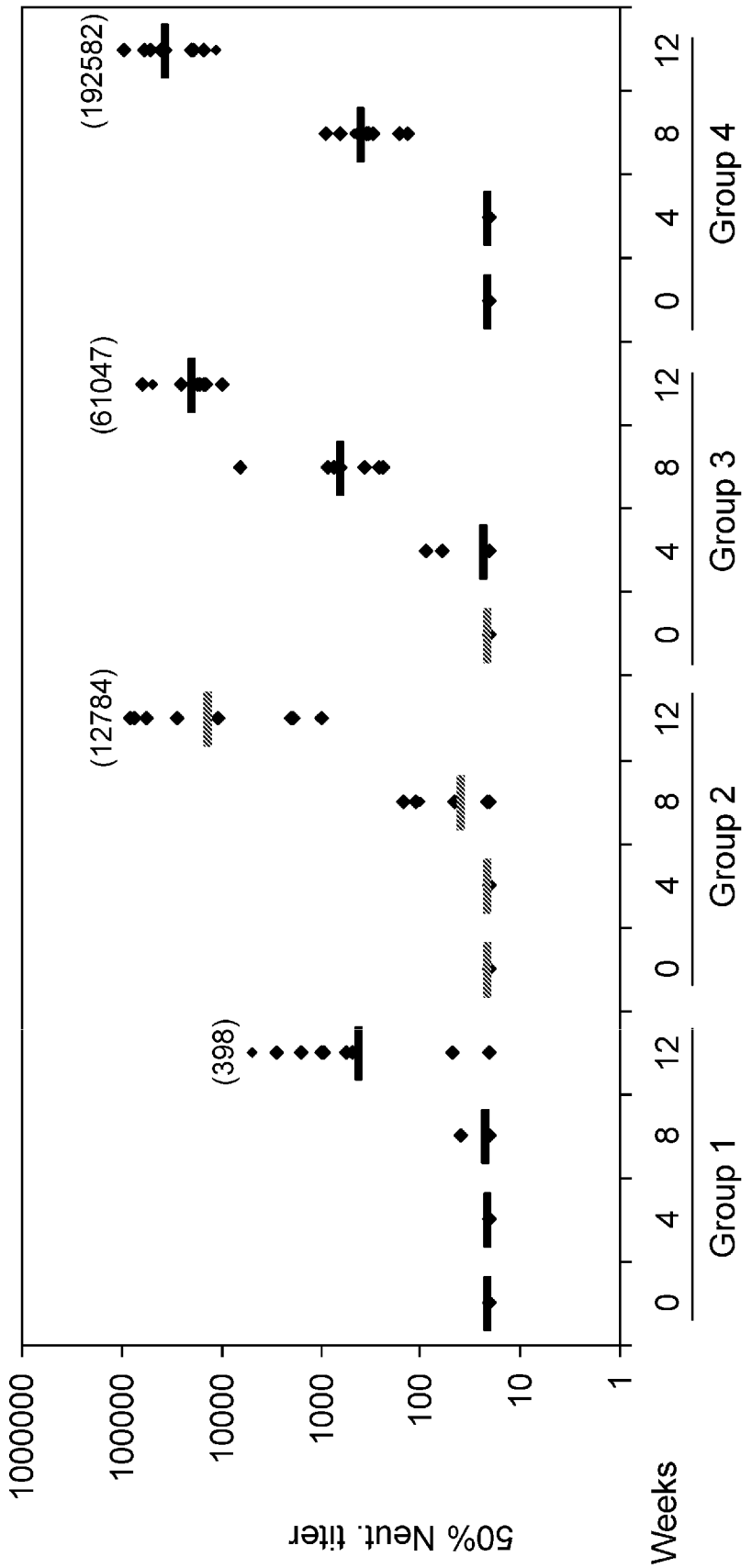

1000000
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut. titer
(398)
(12784)
(61047)
(192582)
0
4
8
12
0
4
8
12
0
4
8
12
0
4
8
12
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4

FIG. 11A

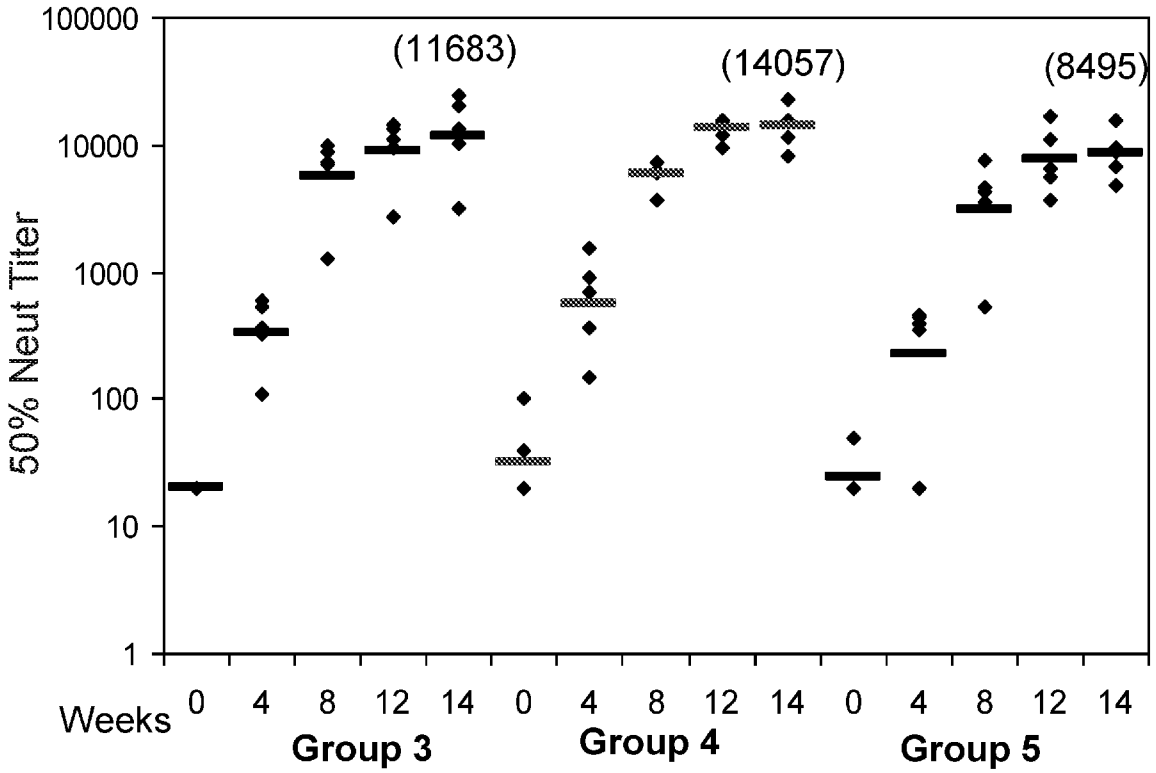


FIG. 11B

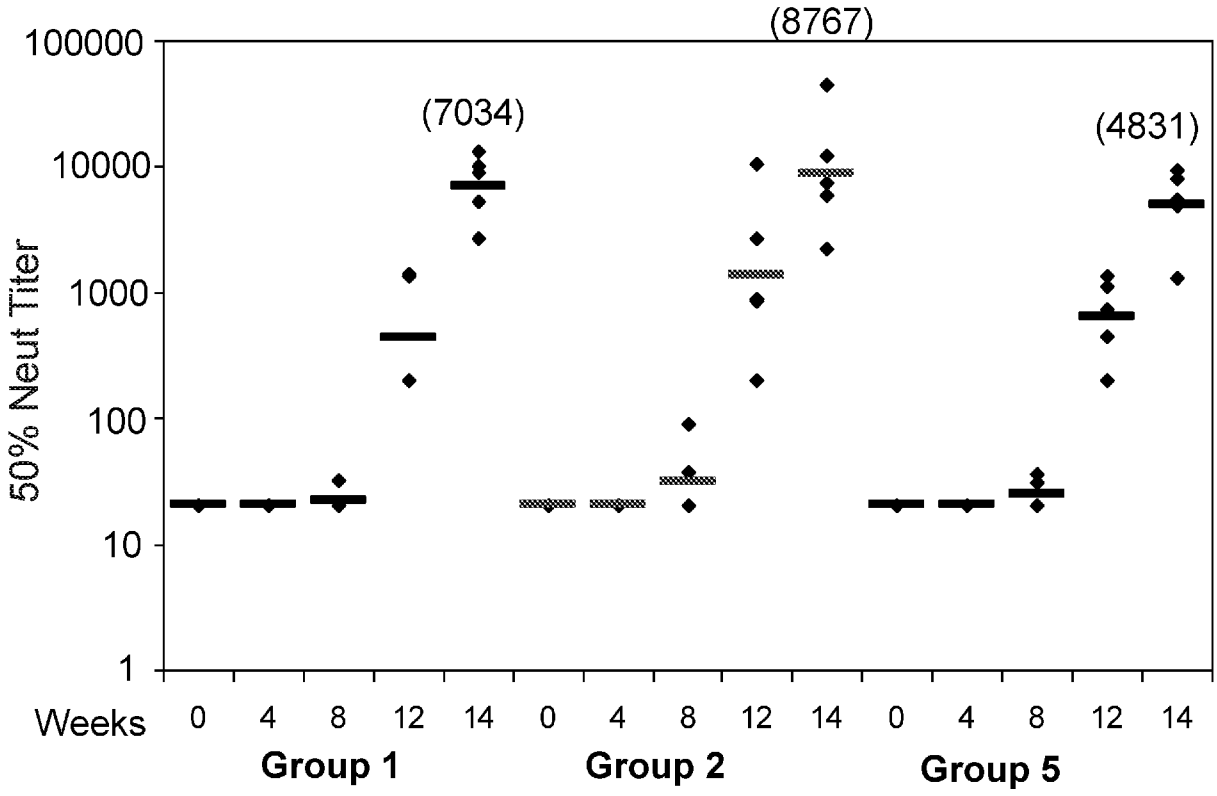


FIG. 12

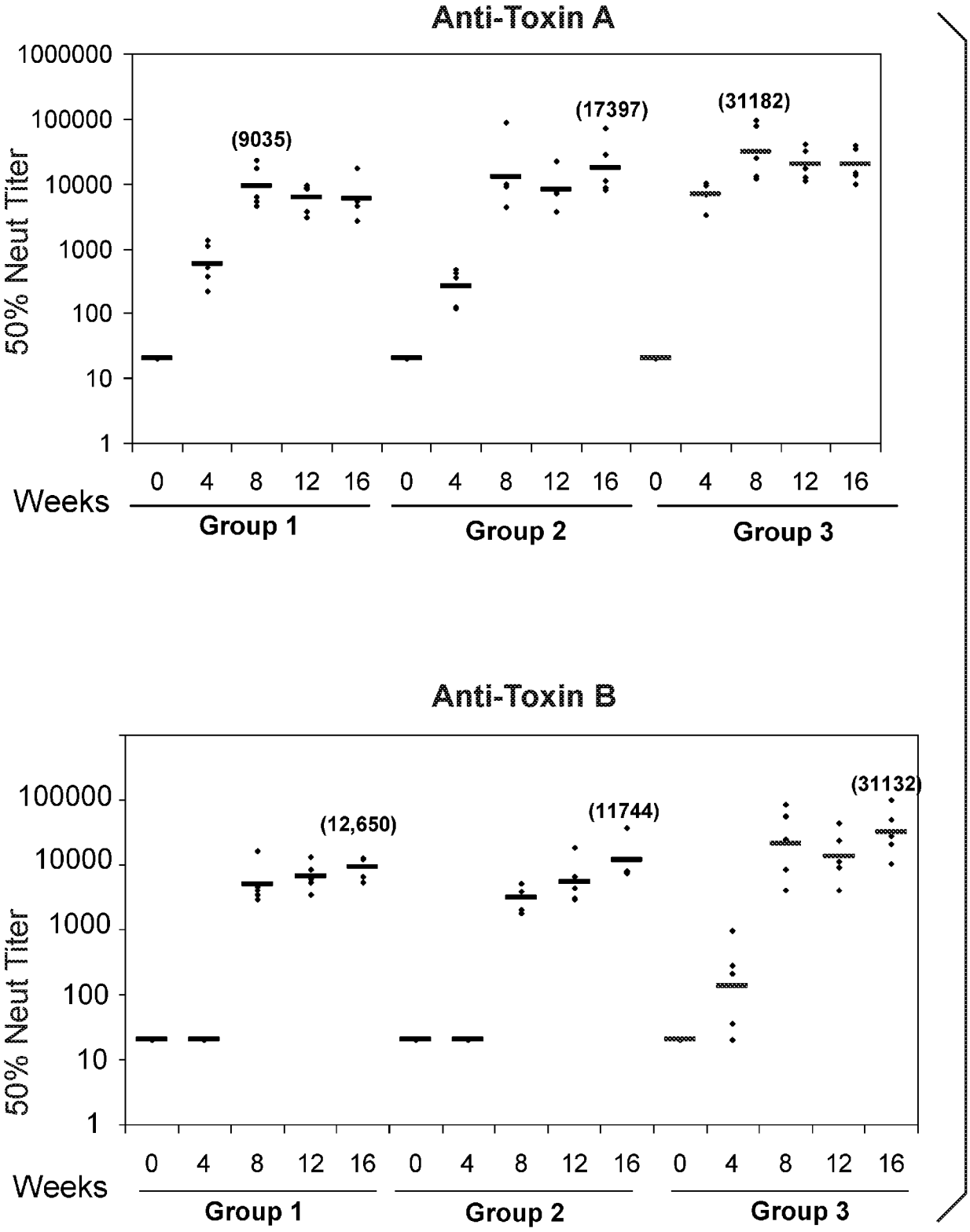

Anti-Toxin A
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut Titer
(9035)
(17397)
(31182)
0 4 8 12 16 0 4 8 12 16 0 4 8 12 16
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3
Anti-Toxin B
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut Titer
(12,650)
(11744)
(31132)
0 4 8 12 16 0 4 8 12 16 0 4 8 12 16
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3

FIG. 13A

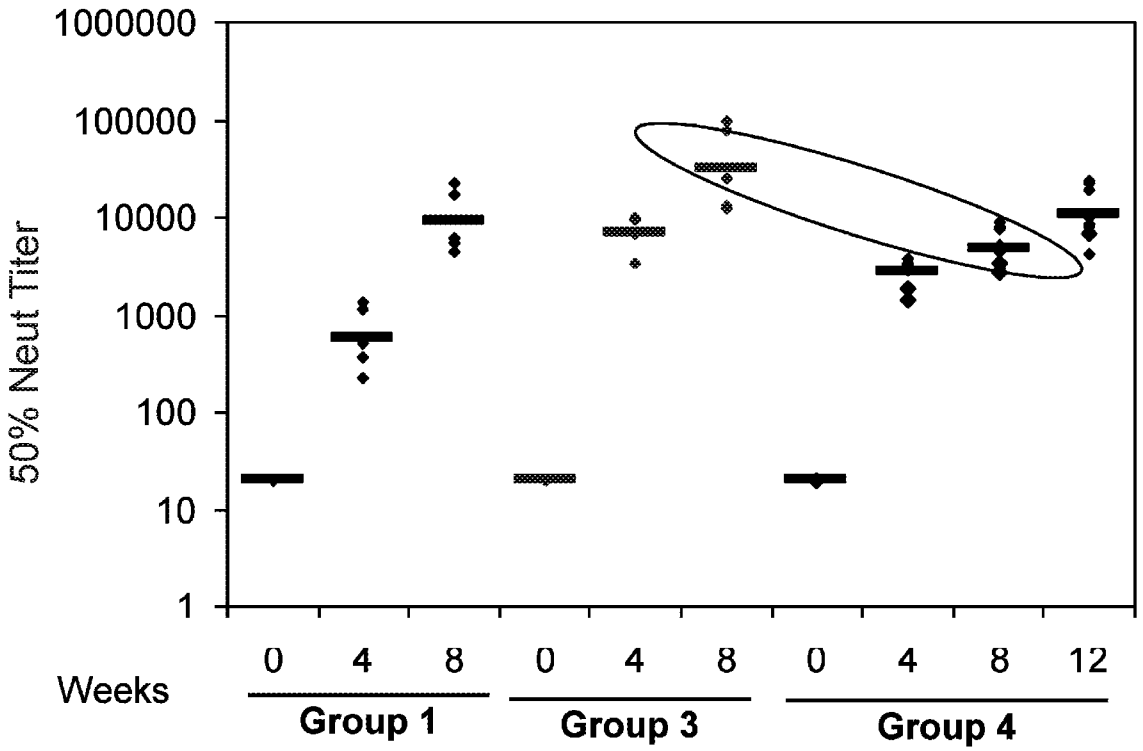


FIG. 13B

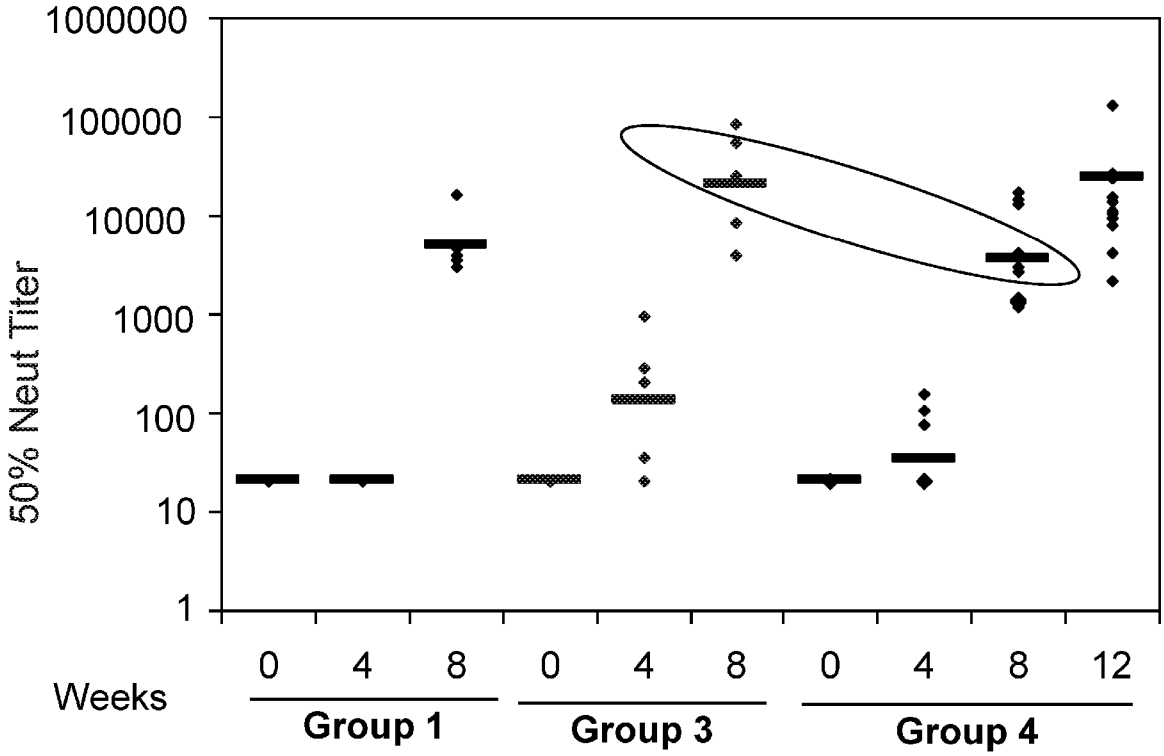


FIG. 14

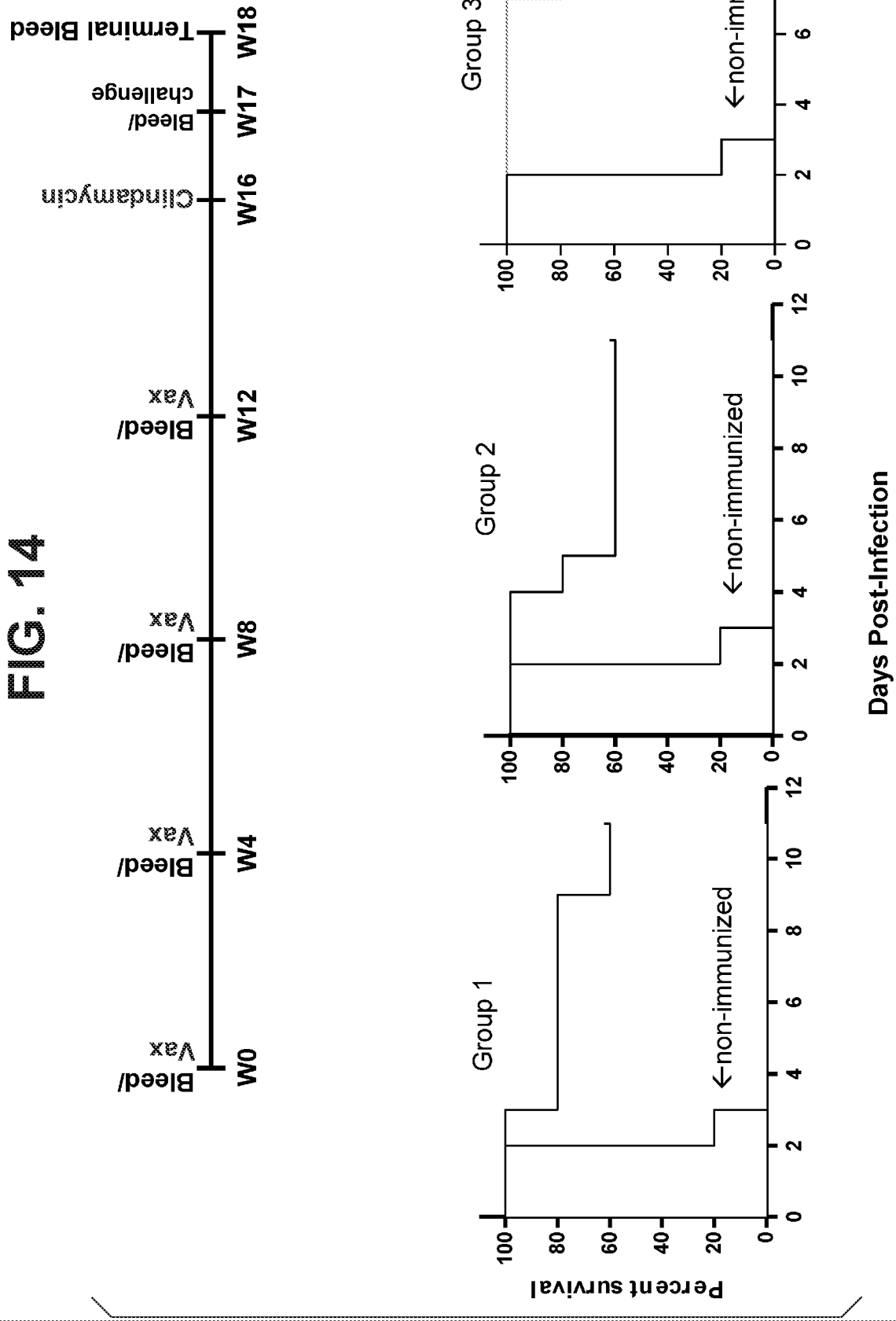

Bleed/ Vax
W0
Bleed/ Vax
W4
Bleed/ Vax
W8
Bleed/ Vax
W12
Clindamycin
W16
Bleed/ challenge
W17
Terminal Bleed
W18
Group 1
Group 2
Group 3
←non-immunized
Percent survival
Days Post-Infection
0
20
40
60
80
100
0
2
4
6
8
10
12

FIG. 15

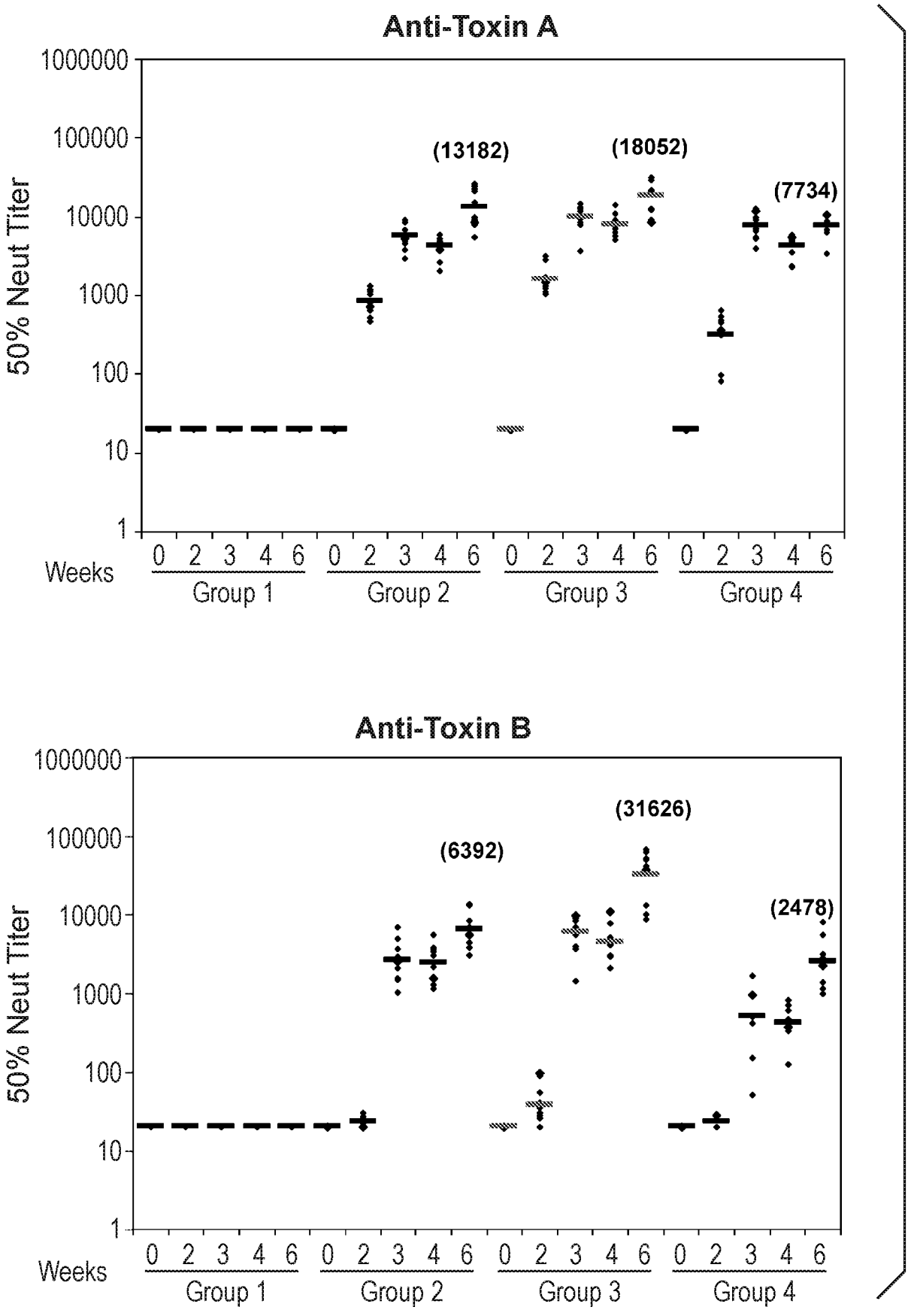

Anti-Toxin A
50% Neut Titer
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
(13182)
(18052)
(7734)
Weeks
0 2 3 4 6 0 2 3 4 6 0 2 3 4 6 0 2 3 4 6
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4
Anti-Toxin B
50% Neut Titer
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
(6392)
(31626)
(2478)
Weeks
0 2 3 4 6 0 2 3 4 6 0 2 3 4 6 0 2 3 4 6
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4

FIG. 16A

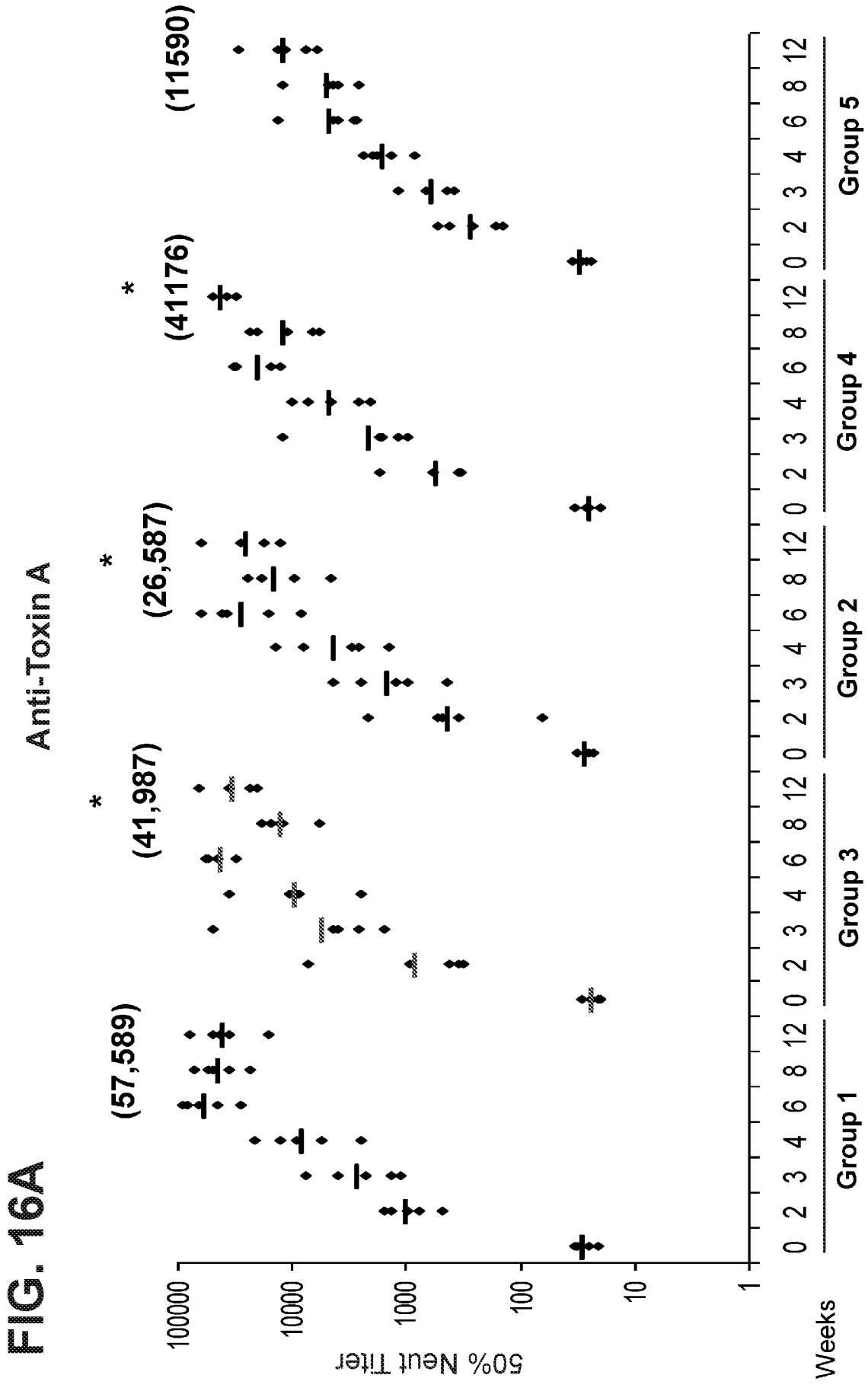

Anti-Toxin A
(57,589)
(41,987)
(26,587)
(41176)
(11590)
*
*
*
50% Neut Titer
100000
10000
1000
100
10
1
Weeks
0 2 3 4 6 8 12
Group 1
0 2 3 4 6 8 12
Group 3
0 2 3 4 6 8 12
Group 2
0 2 3 4 6 8 12
Group 4
0 2 3 4 6 8 12
Group 5

FIG. 16B

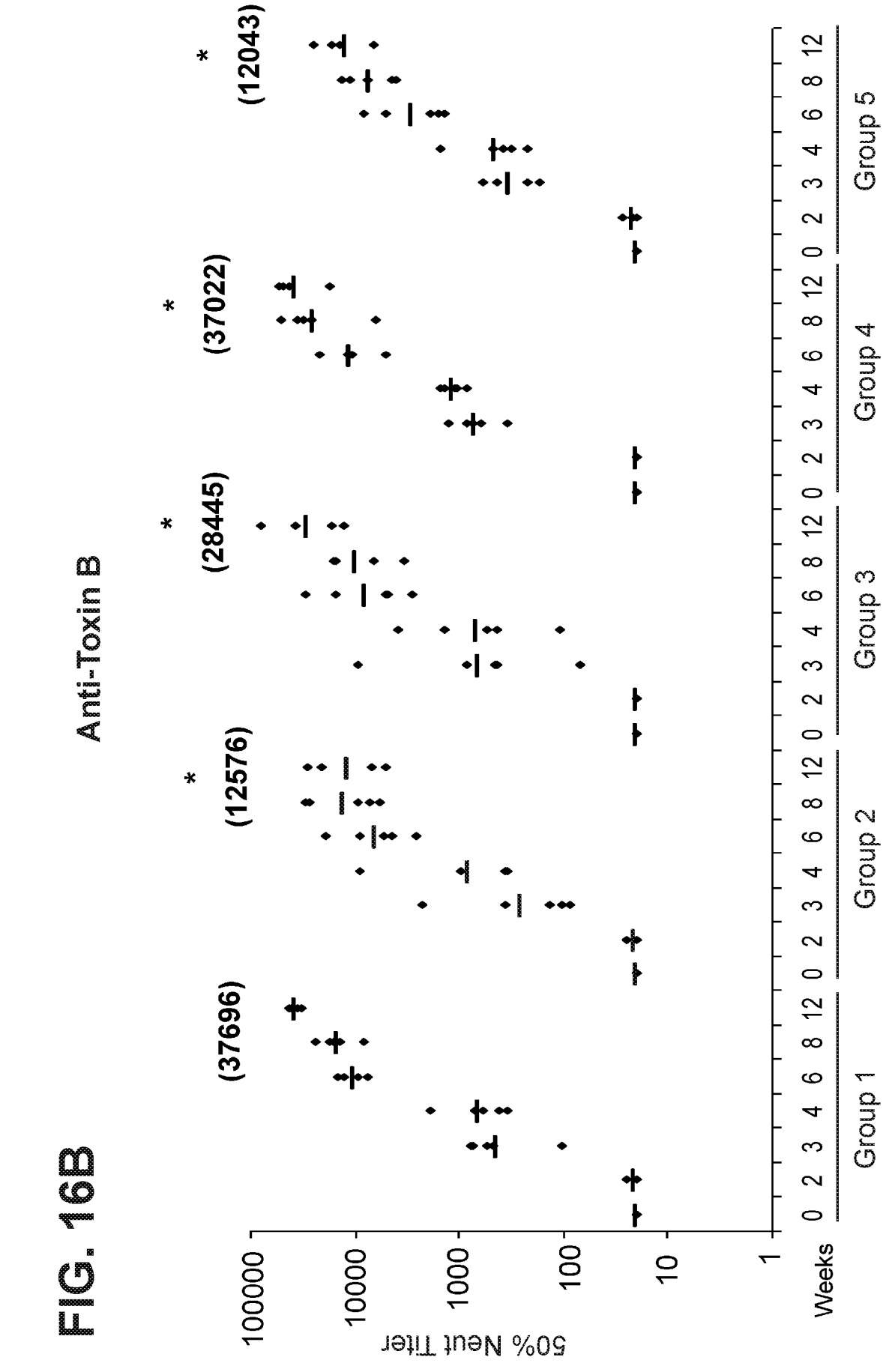

Anti-Toxin B
(37696)
(12576)
(28445)
(37022)
(12043)
*
50% Neut Titer
100000
10000
1000
100
10
1
Weeks
0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4
Group 5

FIG. 17

Variable Light Chain (muK)

MKLPVRLLVLMFWIPGSSSDVVMTHTPLSLPVSLGDQASMSC*RS*
*SQSLIHSNGNTYLH*WYLQKPGQSPKLLIS*KVSNRFS*GVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC*SQTTYFPY*TFGGGTREIK**RAD**
AAPTVSIFPPSS (SEQ ID NO: 36)

Variable Heavy Chain (mIgE)

MYLGLNCVFIVFLLKGVQSEVNLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS
*GFTFTNYWMN*WVRQSPEKGLEWIA*EIRLKSHNYATHFAESVKG*
RFTISRDDSKSAVSLQMTNLTPEDTGIFYCTW*DYYGNPAFVY*WG
QGTLVTVSA**ASIRNPQLYPLKPCKGTASMTLGCLVKDYFPGPVT**
VTWYSDSLNMSTVN (SEQ ID NO: 37)

FIG. 18

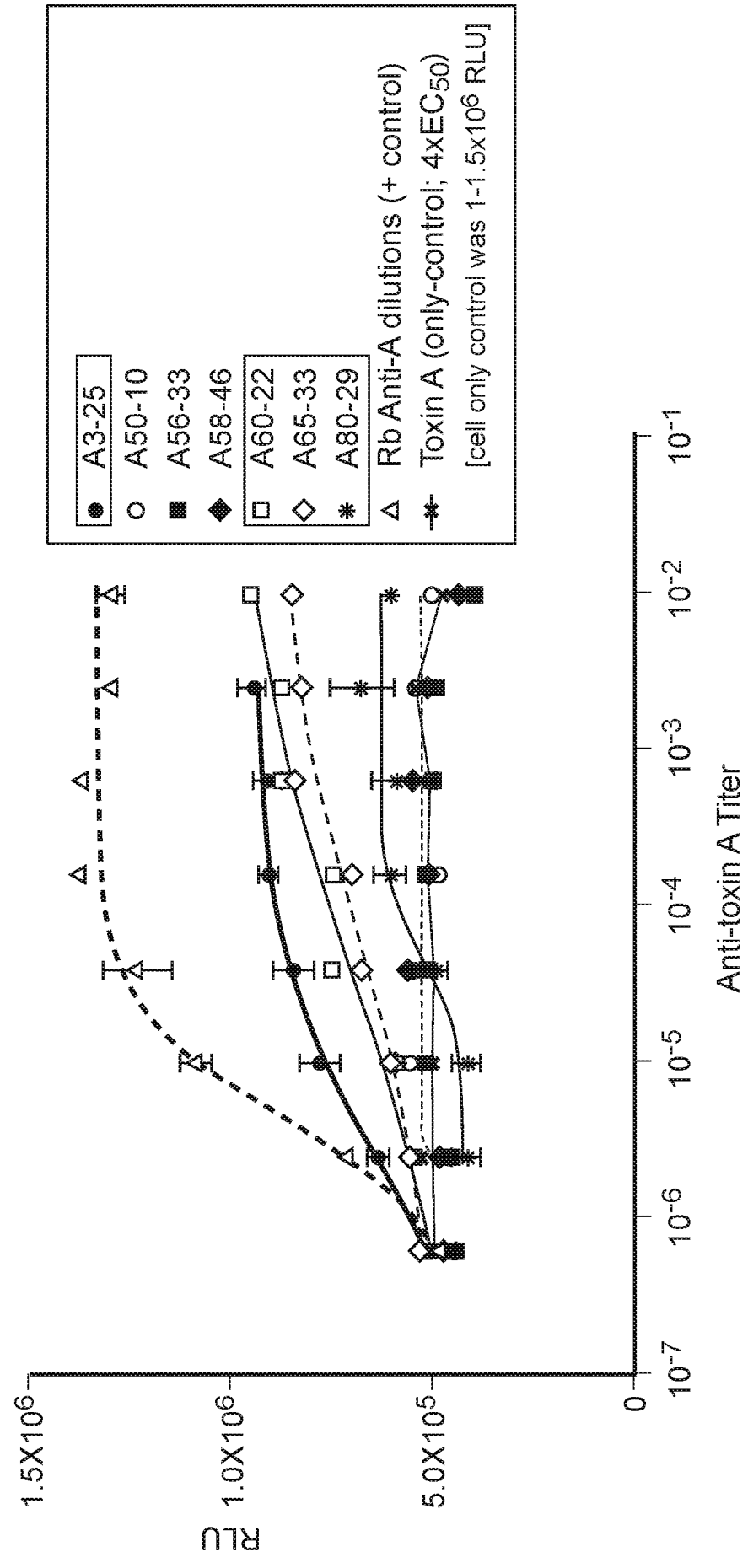

A3-25
A50-10
A56-33
A58-46
A60-22
A65-33
A80-29
Rb Anti-A dilutions (+ control)
Toxin A (only-control; 4xEC50)
[cell only control was 1-1.5x10^6 RLU]
RLU
1.5X10^6
1.0X10^6
5.0X10^5
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
Anti-toxin A Titer

FIG. 19

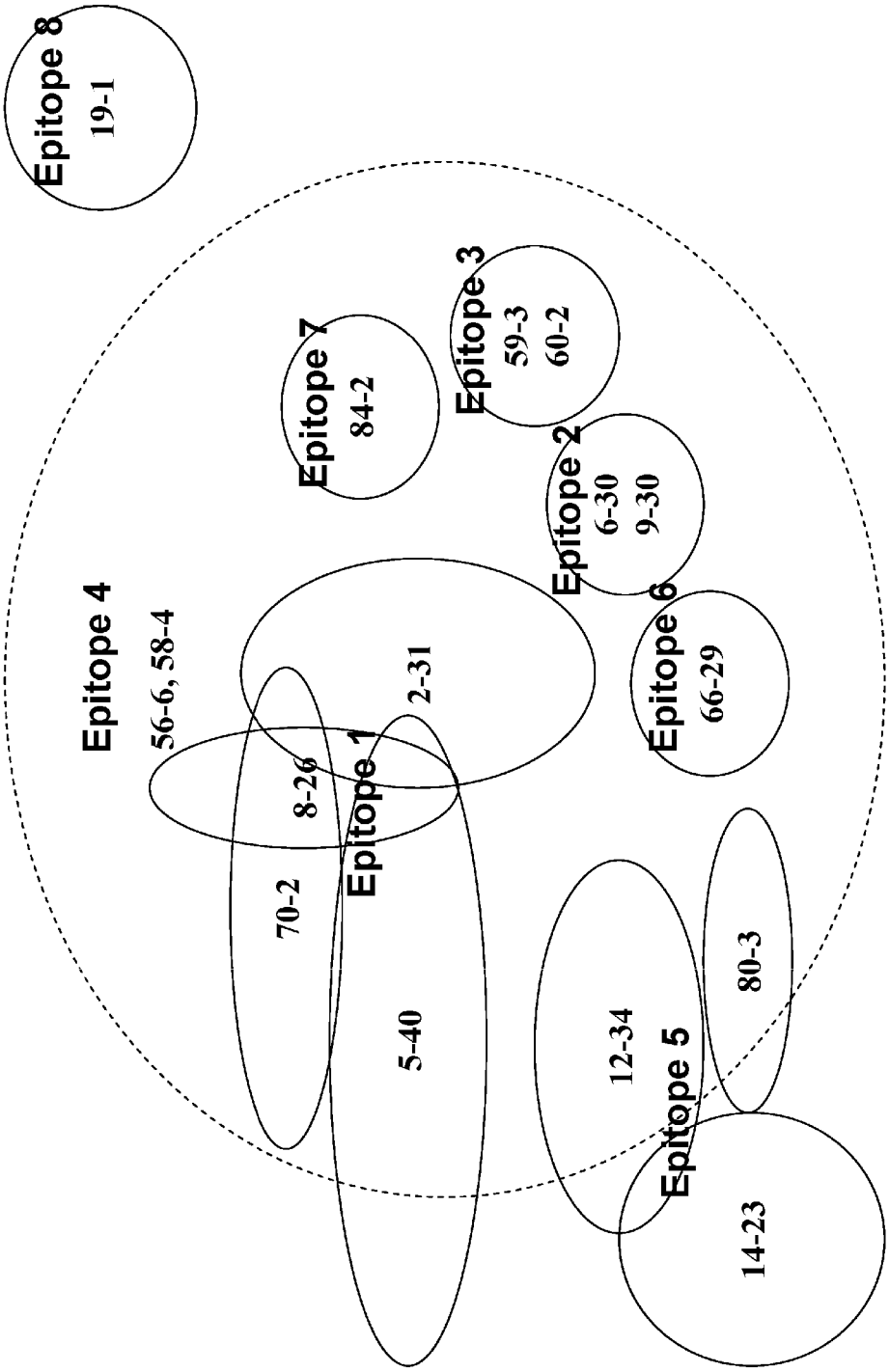

Epitope 8
19-1
Epitope 7
84-2
Epitope 3
59-3
60-2
Epitope 2
6-30
9-30
Epitope 6
66-29
Epitope 4
56-6, 58-4
8-26
70-2
Epitope 1
2-31
5-40
12-34
80-3
Epitope 5
14-23

FIG. 20A

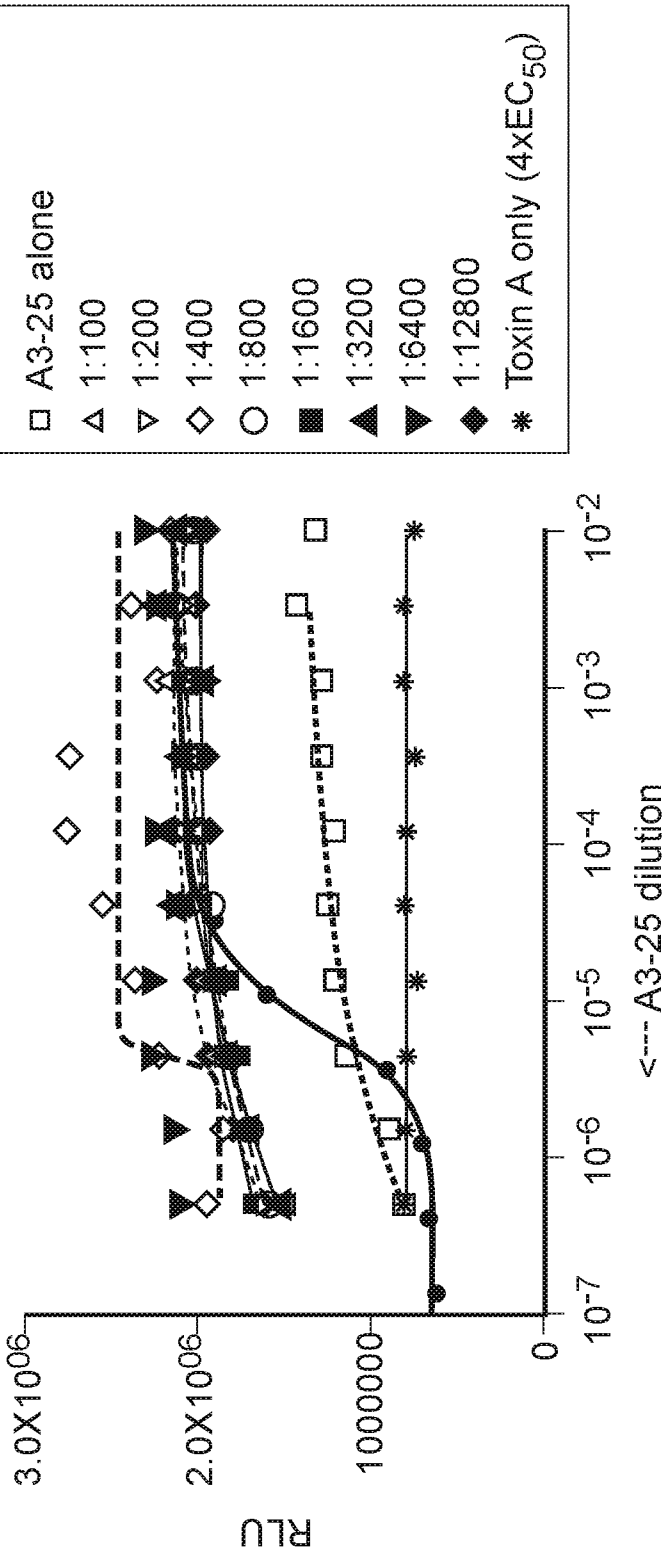

Rab Anti-A
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
RLU
3.0X10^06
2.0X10^06
1000000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
<--- A3-25 dilution

FIG. 20B

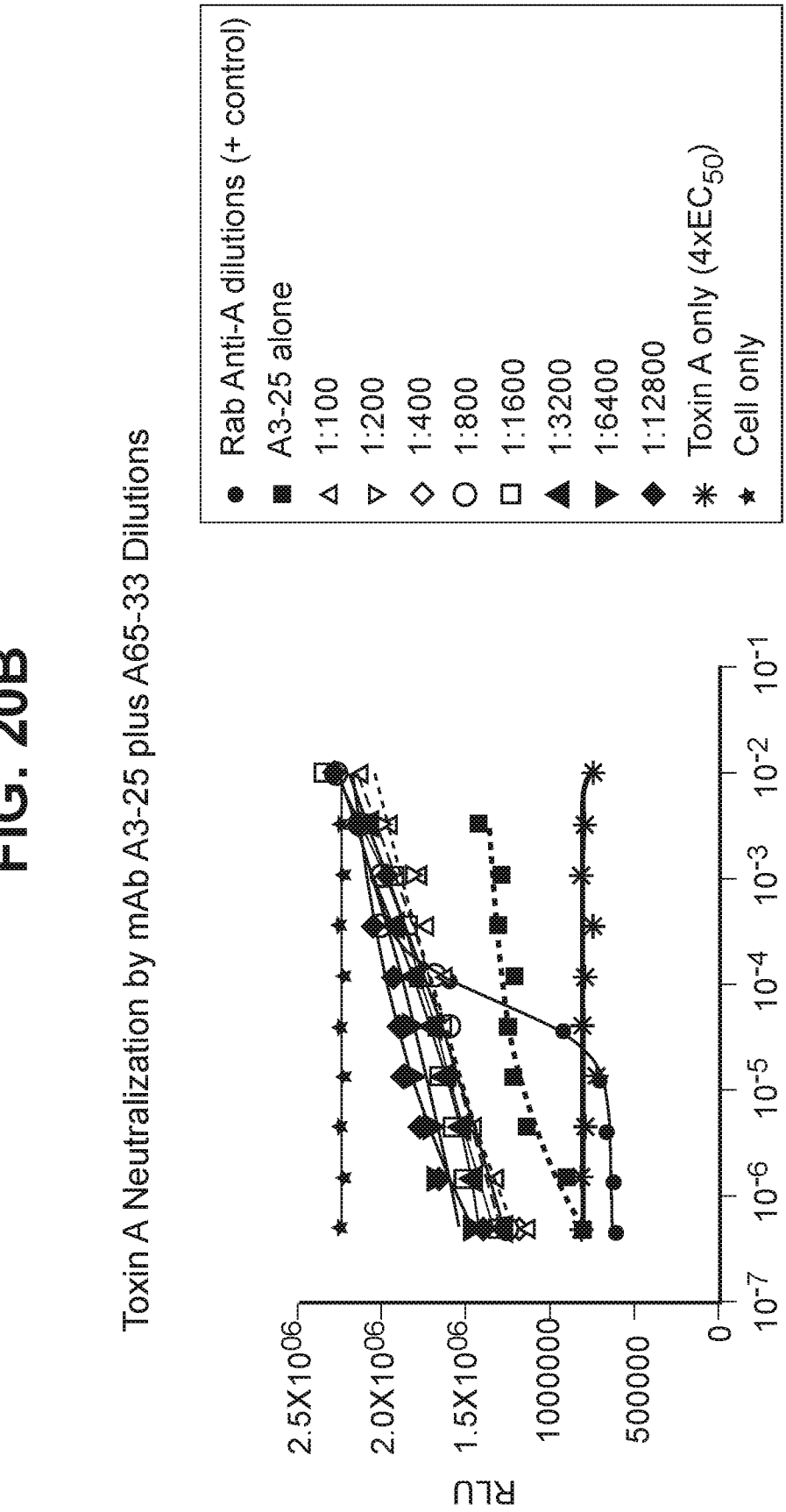

Toxin A Neutralization by mAb A3-25 plus A65-33 Dilutions
Rab Anti-A dilutions (+ control)
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
Cell only
RLU
2.5X10^06
2.0X10^06
1.5X10^06
1000000
500000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
<--- A3-25 dilution

FIG. 20C

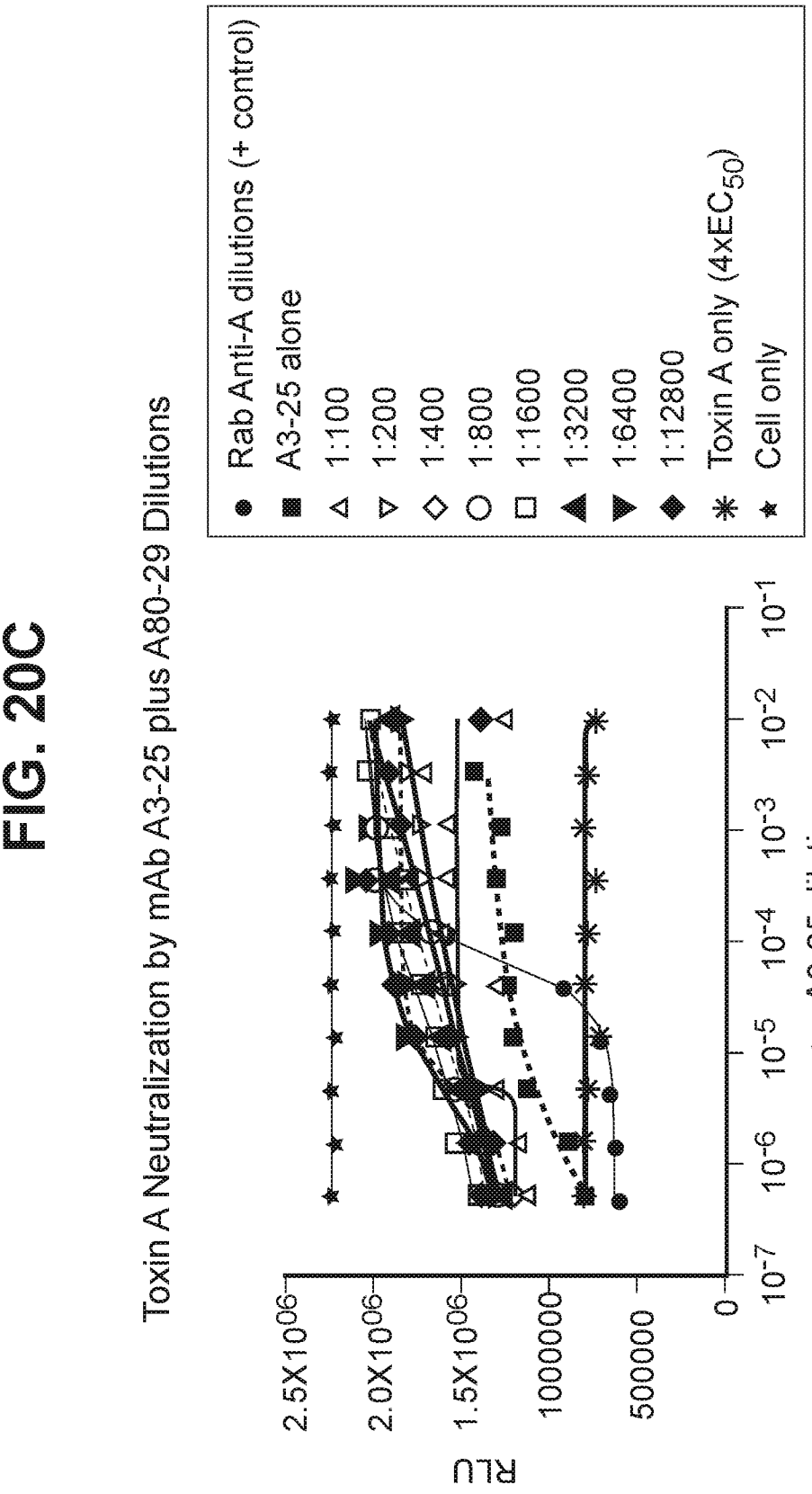

Toxin A Neutralization by mAb A3-25 plus A80-29 Dilutions
Rab Anti-A dilutions (+ control)
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
Cell only
RLU
2.5X10^06
2.0X10^06
1.5X10^06
1000000
500000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
<--- A3-25 dilution

FIG. 21A

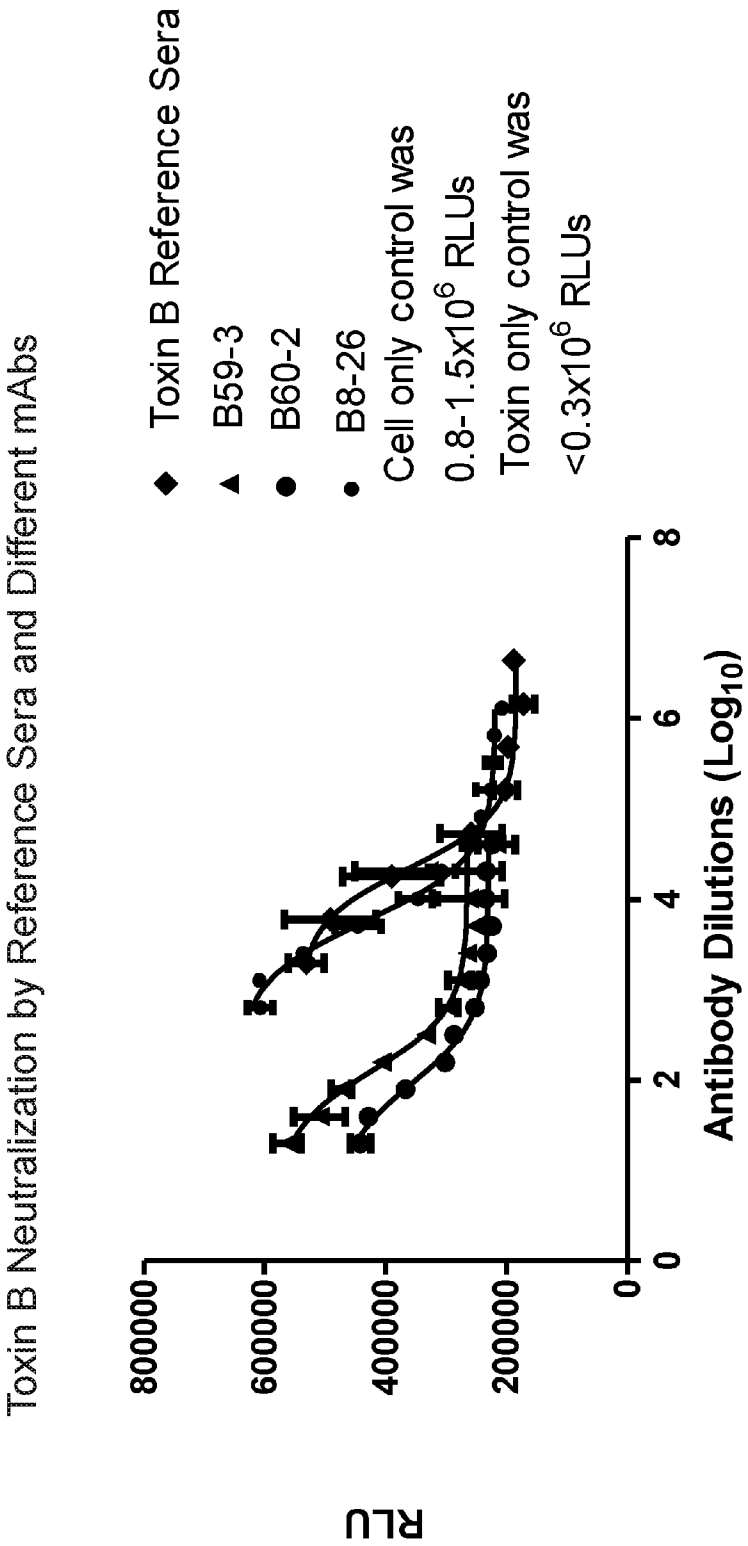

Toxin B Neutralization by Reference Sera and Different mAbs
Toxin B Reference Sera
B59-3
B60-2
B8-26
Cell only control was
0.8-1.5x10^6 RLUs
Toxin only control was
<0.3x10^6 RLUs
RLU
800000
600000
400000
200000
0
0
2
4
6
8
Antibody Dilutions (Log10)

FIG. 21B

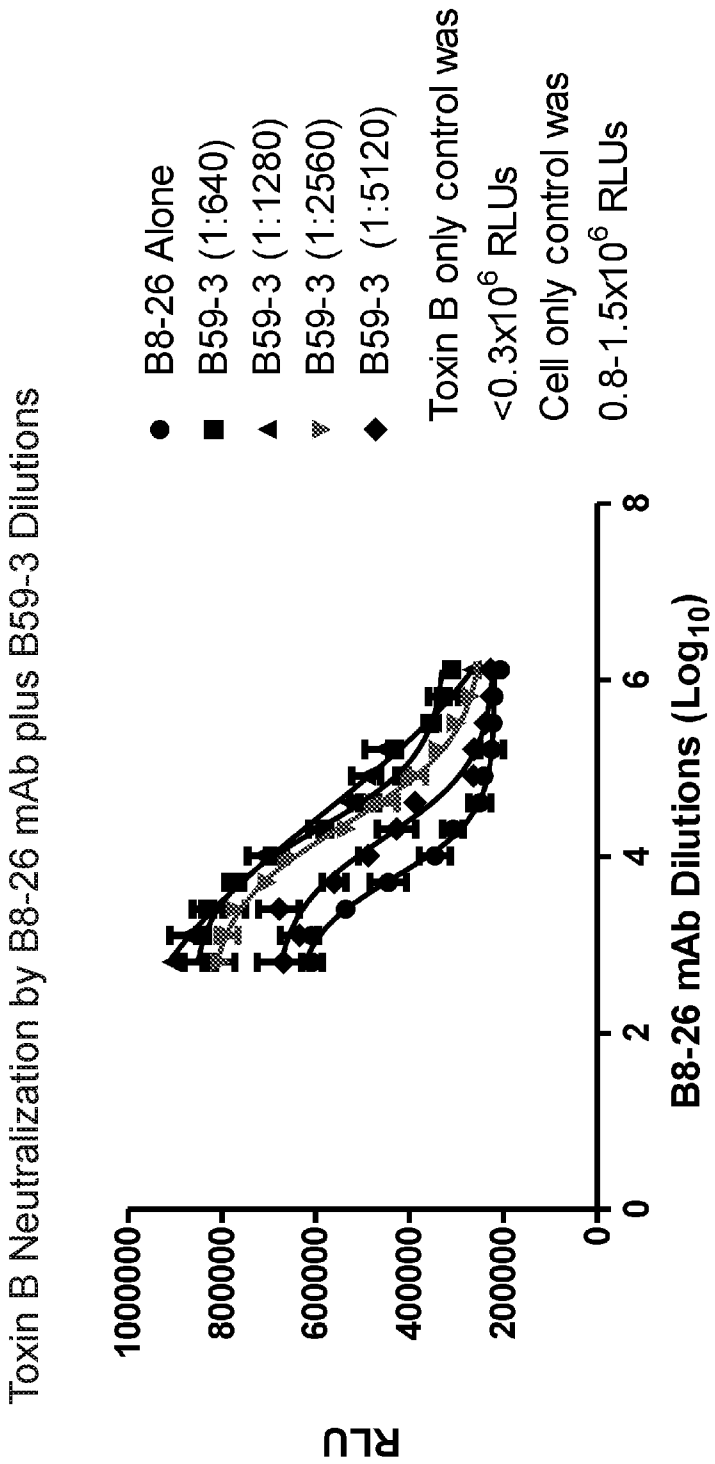

Toxin B Neutralization by B8-26 mAb plus B59-3 Dilutions
B8-26 Alone
B59-3 (1:640)
B59-3 (1:1280)
B59-3 (1:2560)
B59-3 (1:5120)
Toxin B only control was
<0.3x10^6 RLUs
Cell only control was
0.8-1.5x10^6 RLUs
RLU
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0
2
4
6
8
B8-26 mAb Dilutions (Log10)

FIG. 22

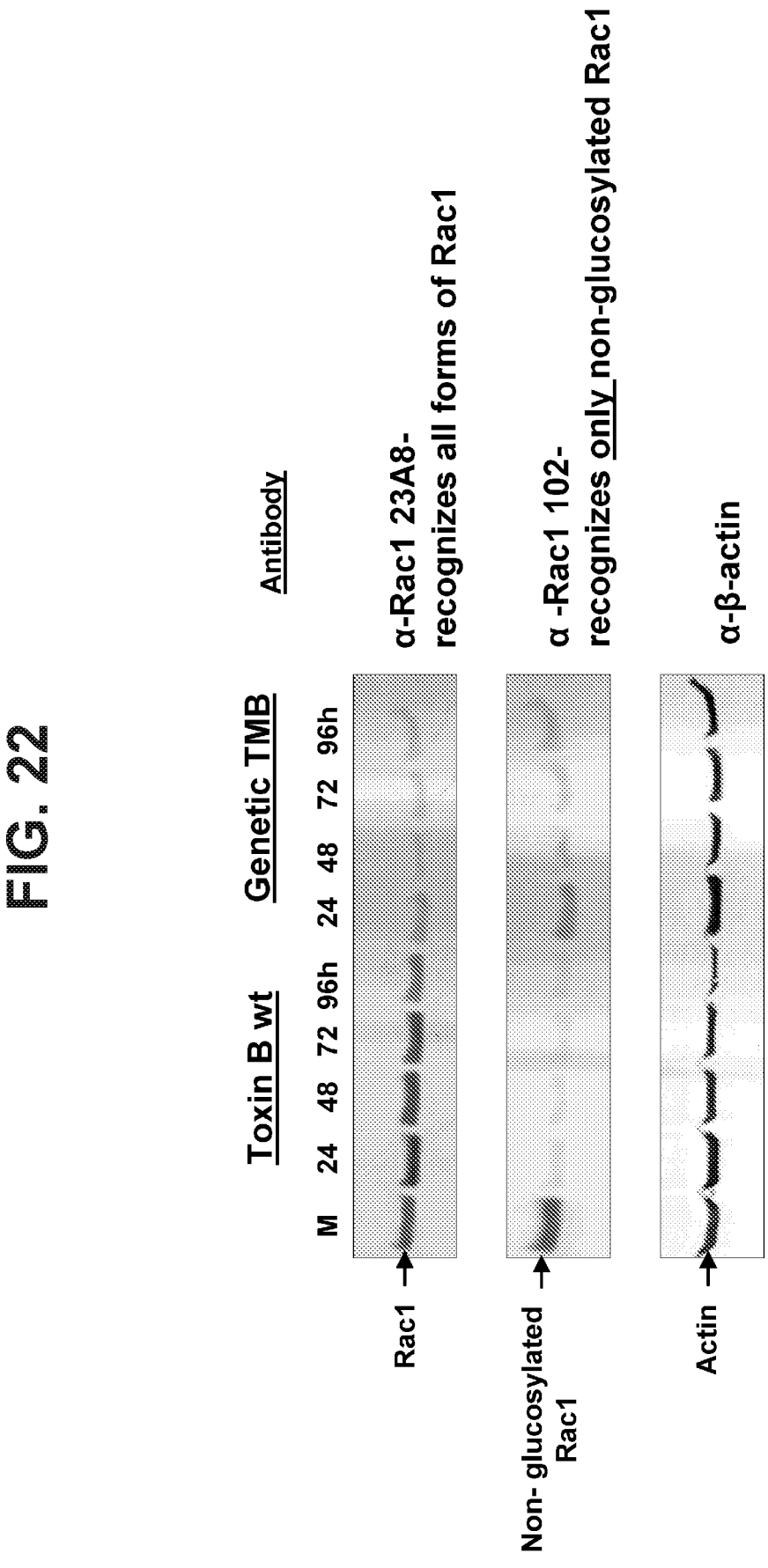
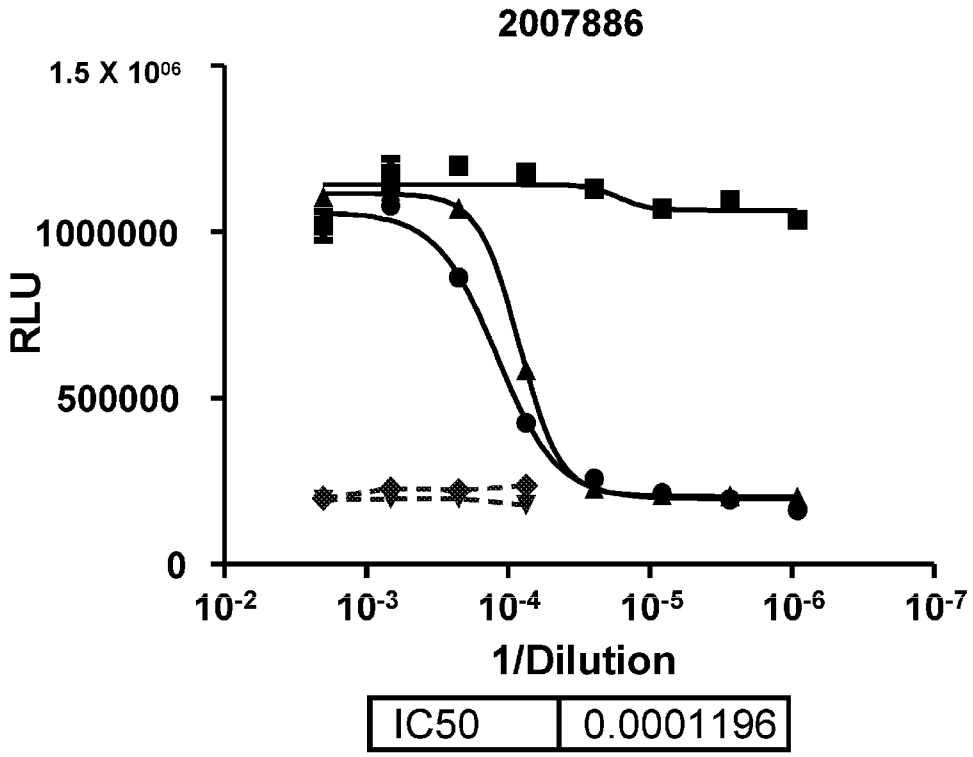

Toxin B wt
Genetic TMB
Antibody
M 24 48 72 96h 24 48 72 96h
α-Rac1 23A8- recognizes all forms of Rac1
α -Rac1 102- recognizes only non-glucosylated Rac1
α-β-actin
Rac1
Non- glucosylated Rac1
Actin

FIG. 23A



IC50	0.0001196

FIG. 23B

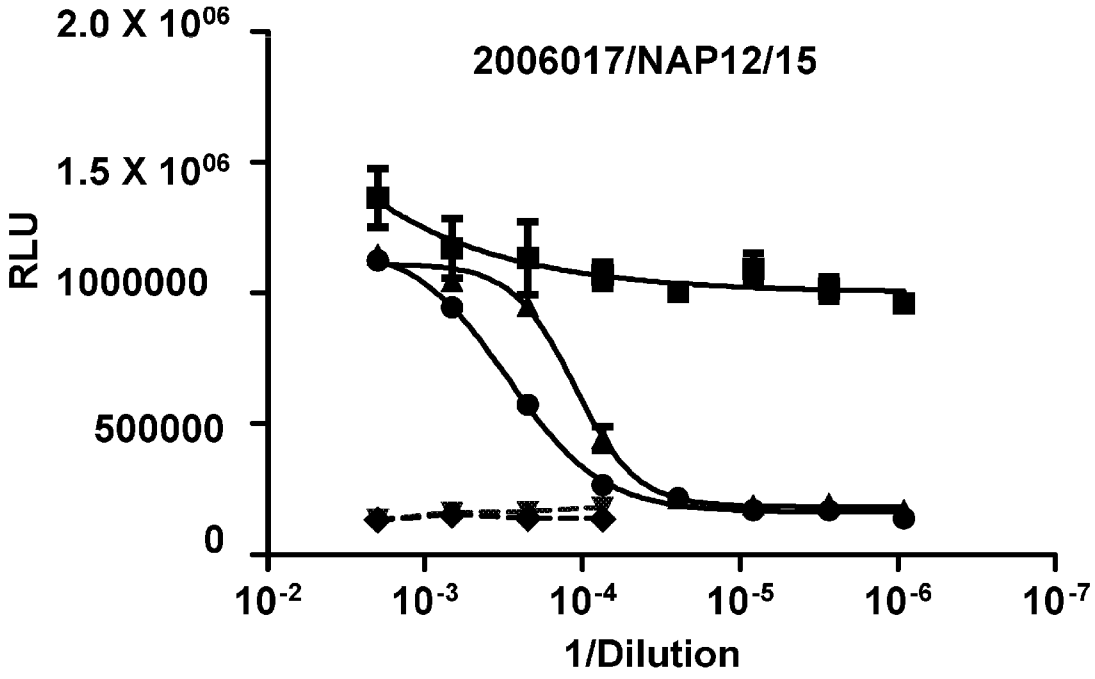


FIG. 23C

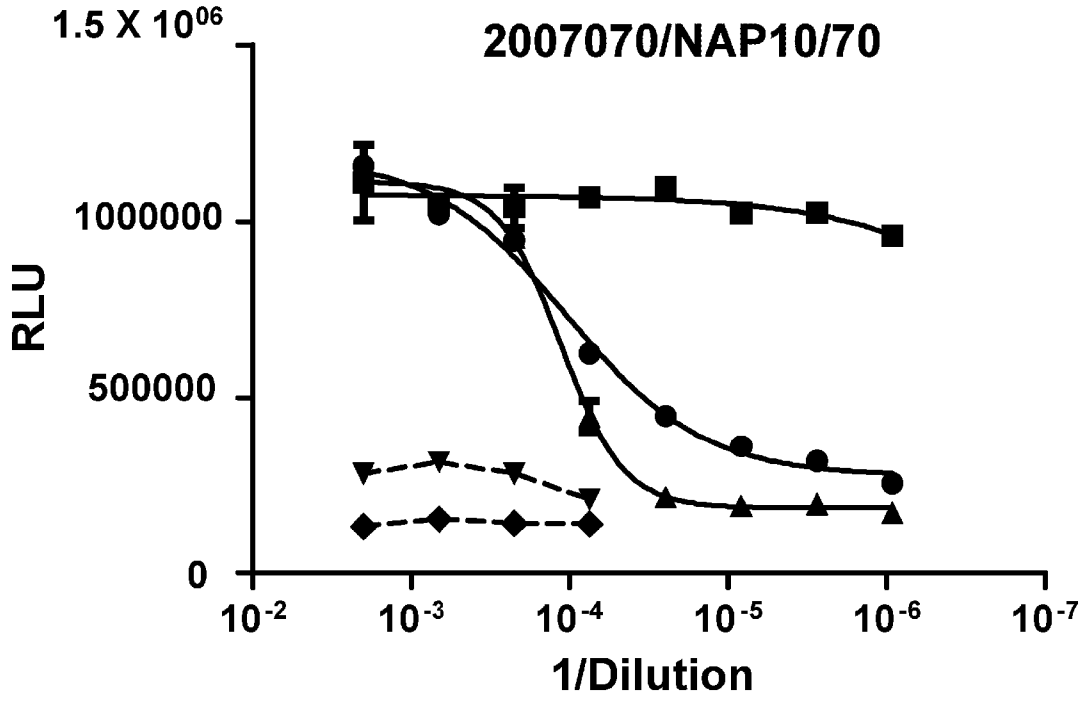


FIG. 23D

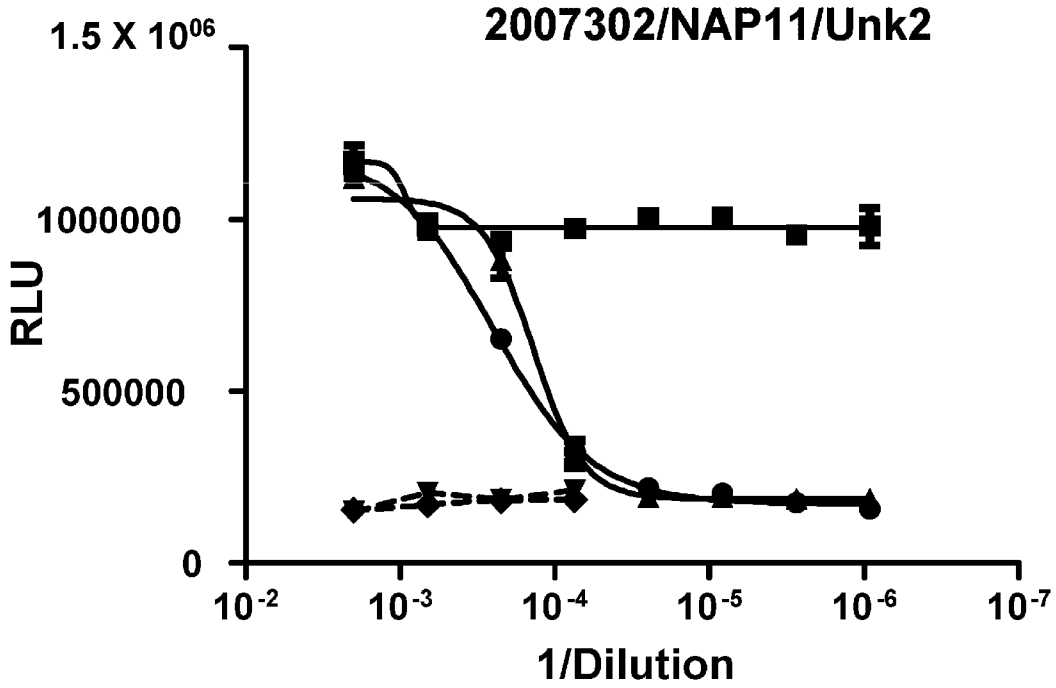


FIG. 23E

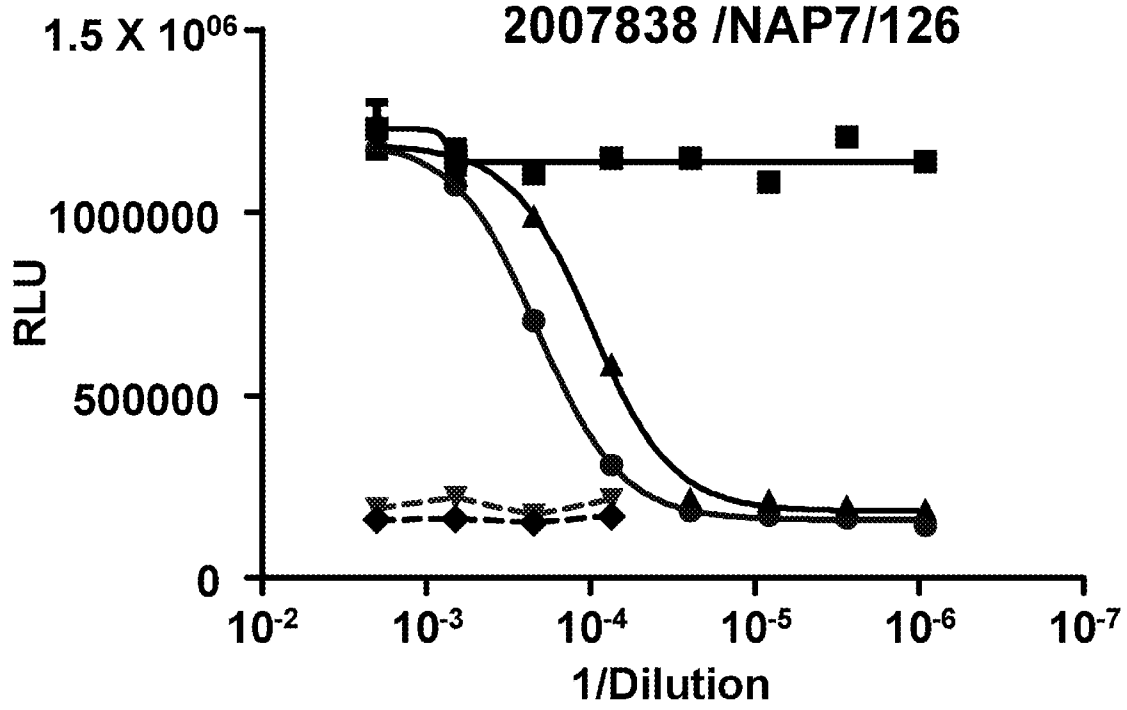


FIG. 23F

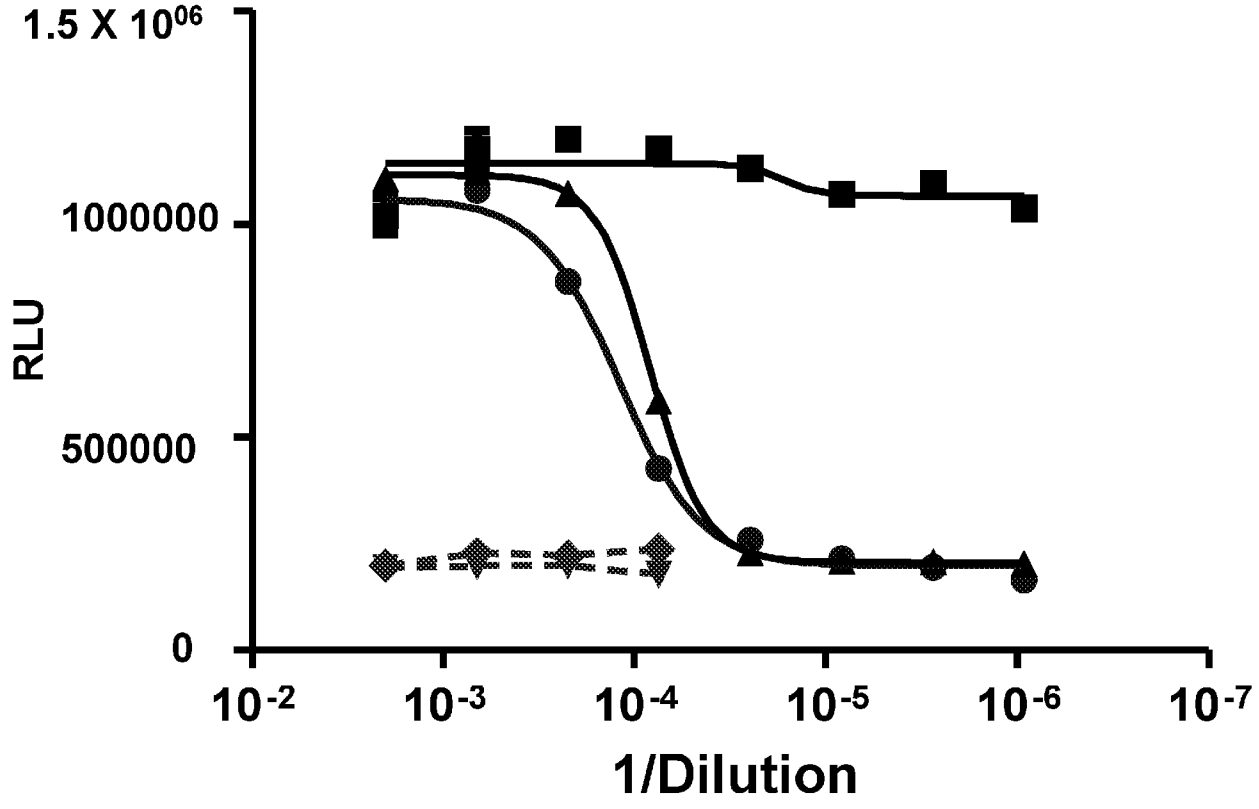


FIG. 23G

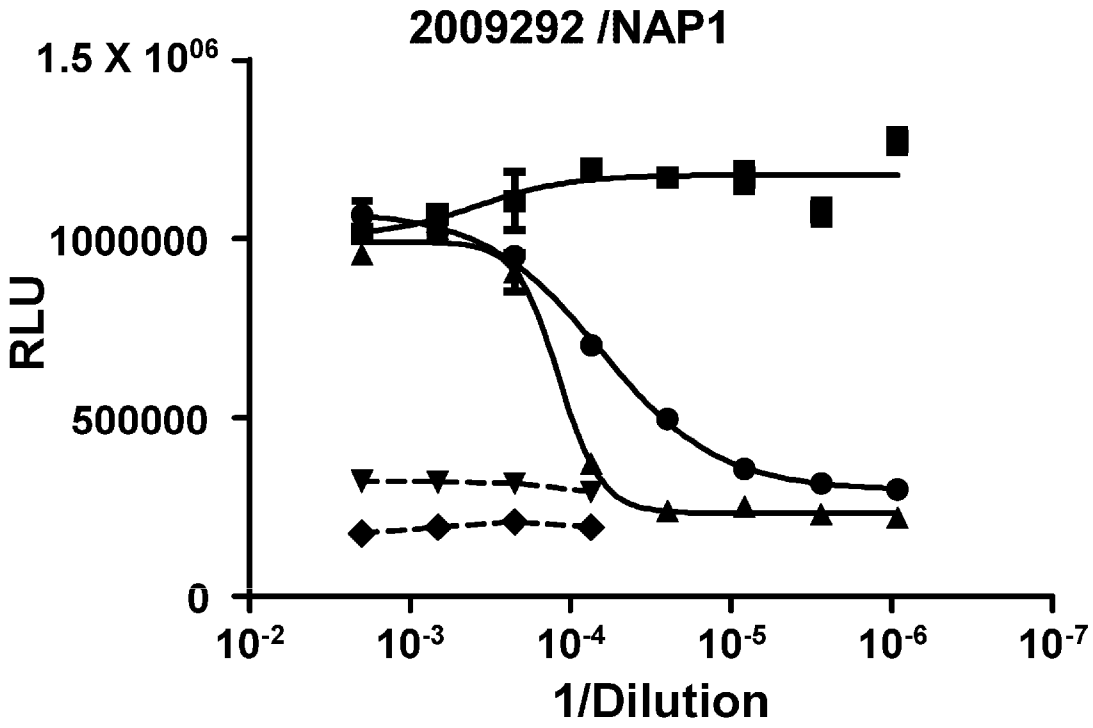


FIG. 23H

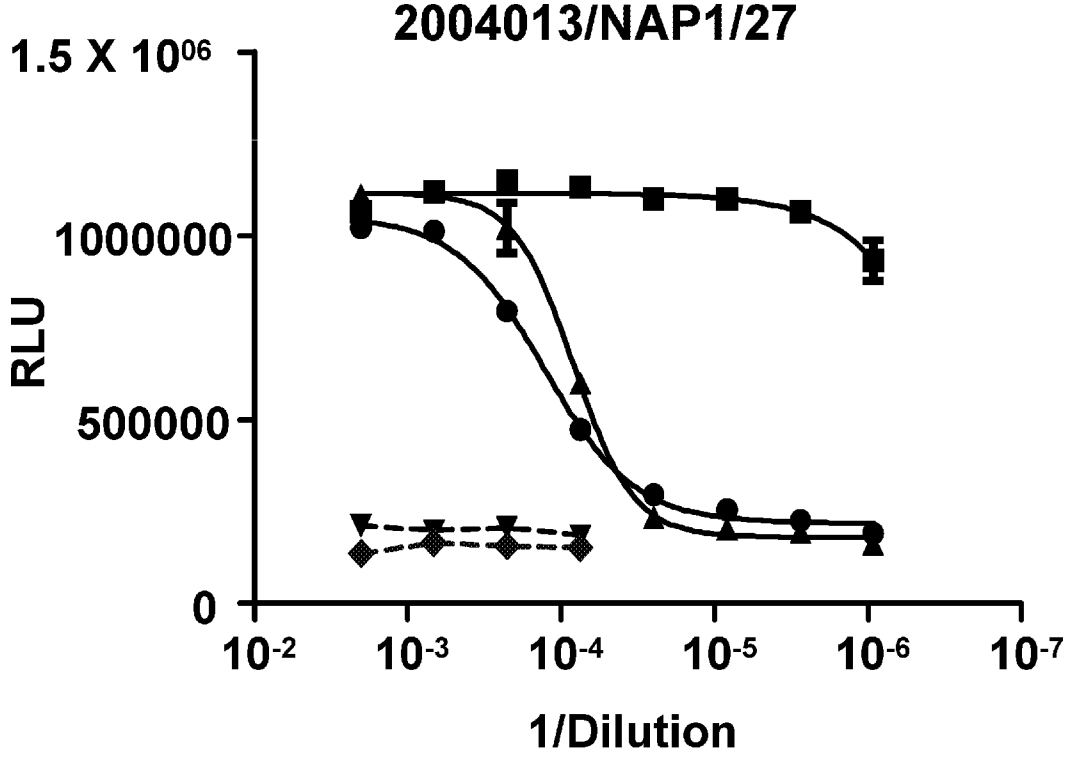


FIG. 23 I

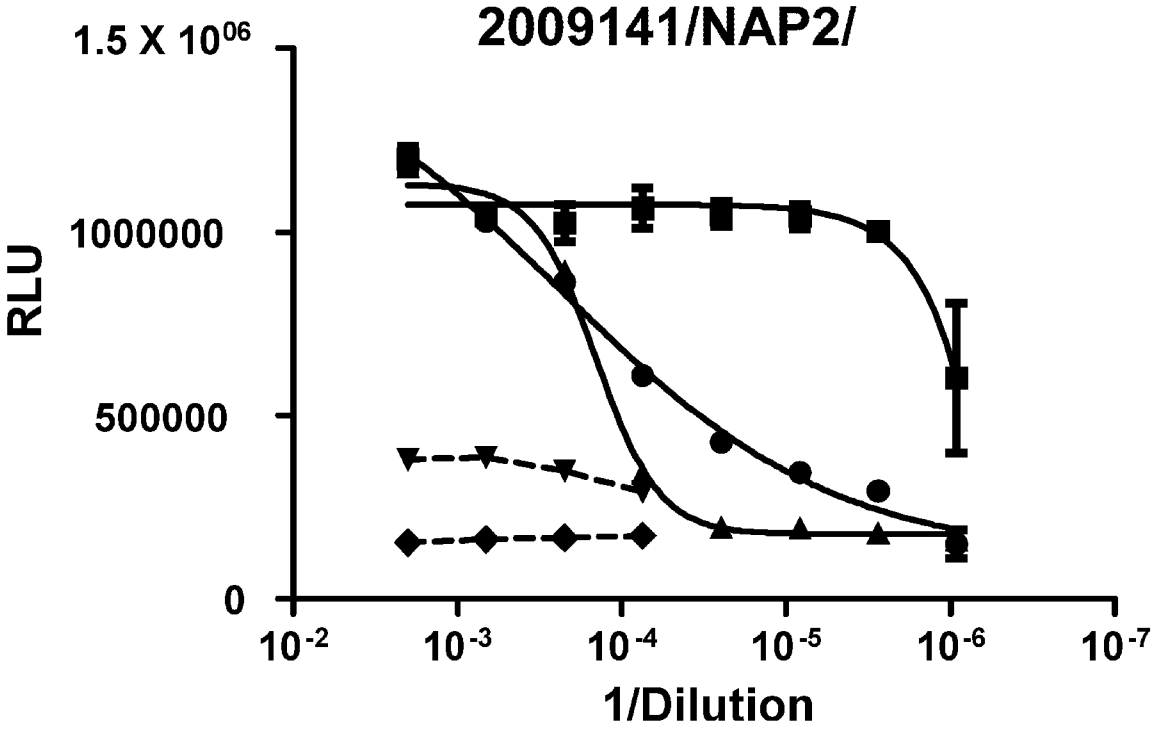


FIG. 23J

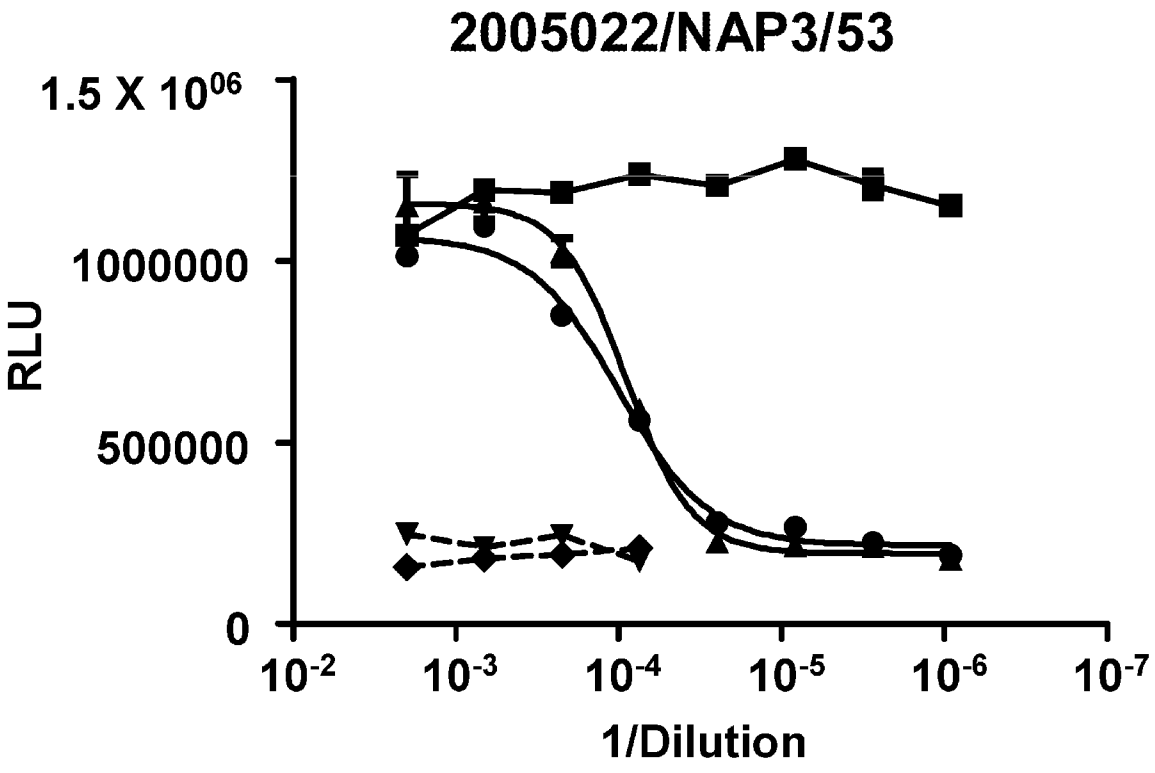


FIG. 23K

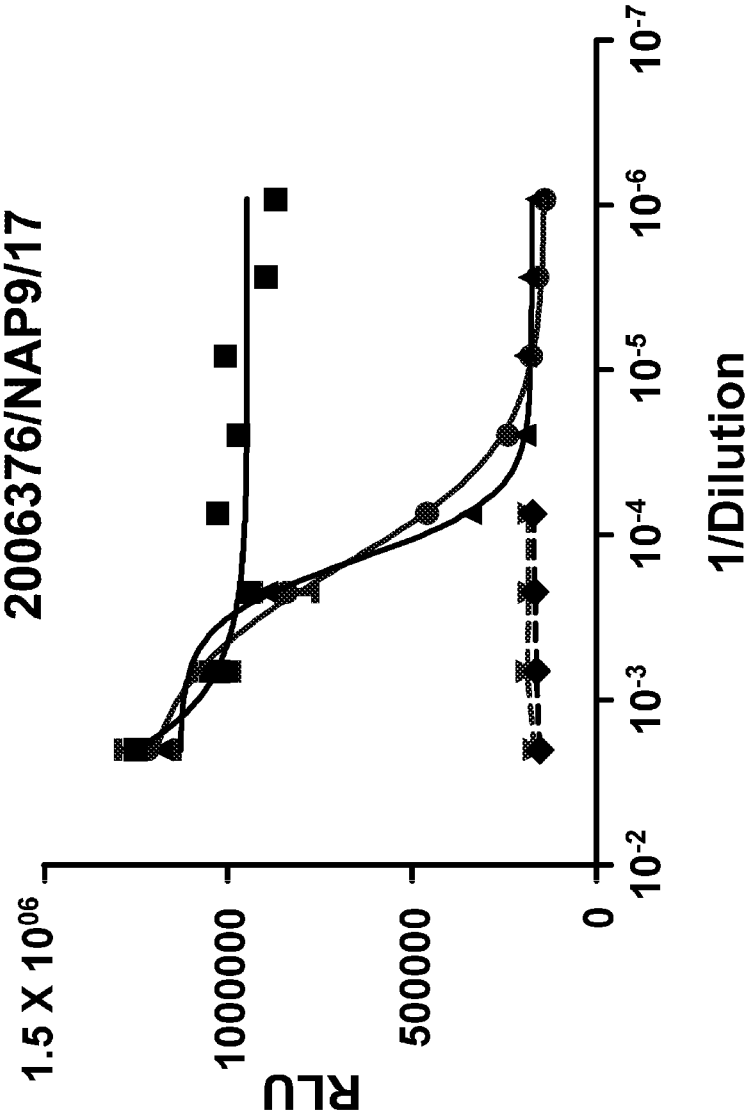

2006376/NAP9/17
RLU
1.5 X 10^06
1000000
500000
0
10^-2
10^-3
10^-4
10^-5
10^-6
10^-7
1/Dilution

FIG. 24A

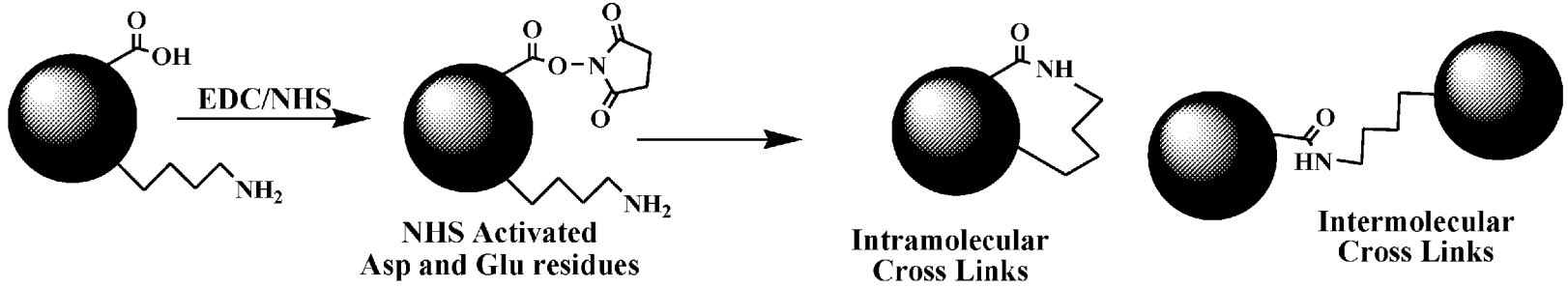


FIG. 24B

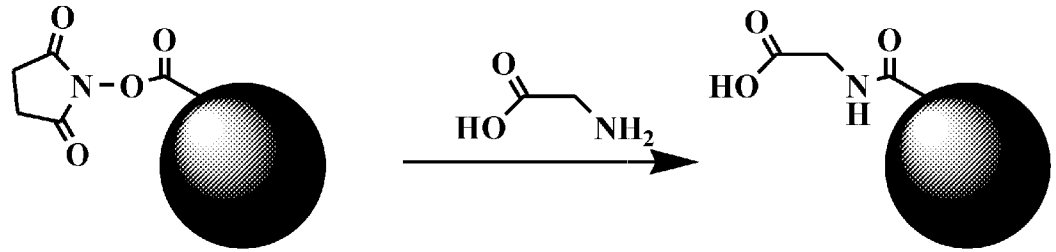
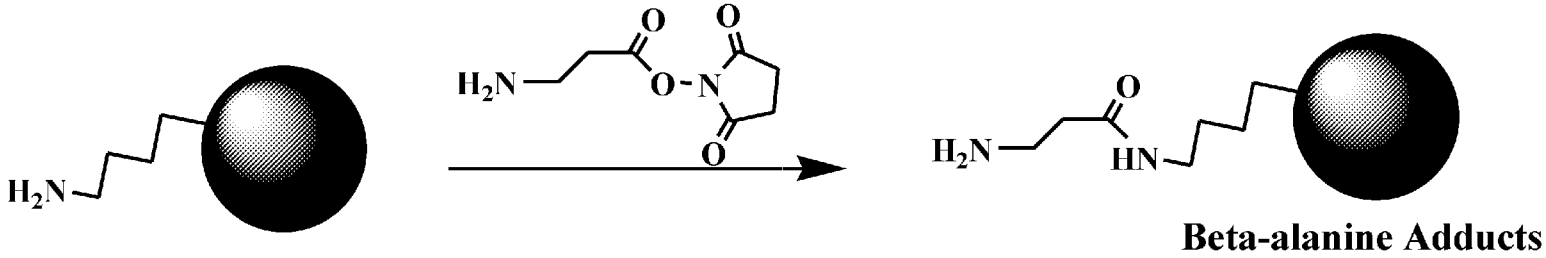


FIG. 24C



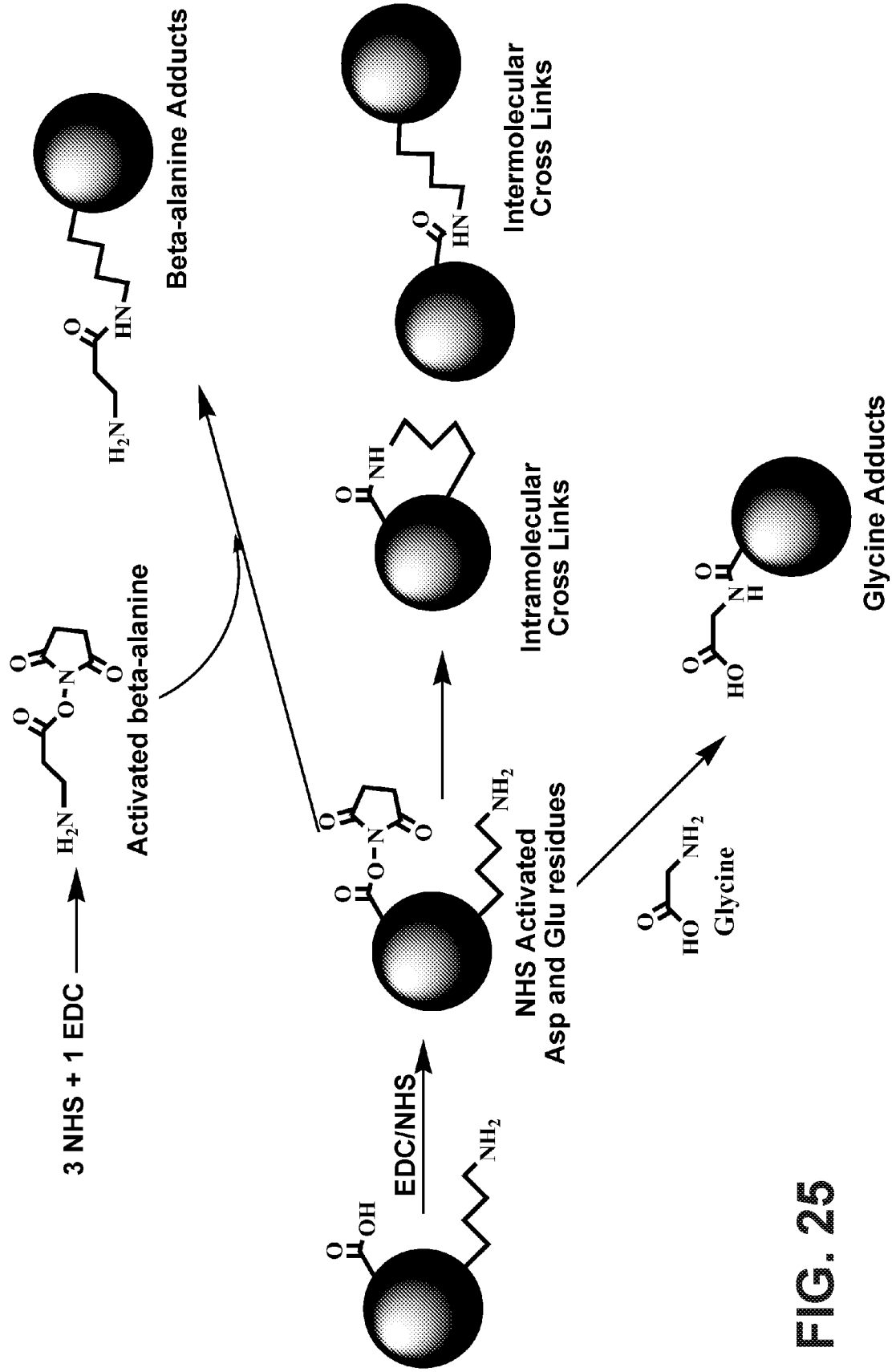

3 NHS + 1 EDC
Activated beta-alanine
Beta-alanine Adducts
EDC/NHS
NHS Activated
Asp and Glu residues
Intramolecular
Cross Links
Intermolecular
Cross Links
Glycine
Glycine Adducts

FIG. 25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/051999

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/33 A61K39/08 C07K16/12
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/094970 A1 (HEALTH PROT AGENCY [GB]; MICROPHARM LTD [GB]; SHONE CLIFFORD [GB]; LAN) 26 August 2010 (2010-08-26)	128,129, 133,134
Y	page 9, paragraph 3; claims	1-151
Y	US 2011/053244 A1 (OYLER GEORGE A [US] ET AL) 3 March 2011 (2011-03-03) paragraphs [0031], [0032], [0034]; sequences 1, 3, 5, 7	1-151
Y,P	WO 2011/068953 A2 (UNIV TUFTS [US]; FENG HANPING [US]; WANG HAIYING [US]; TZIPORI SAUL [U) 9 June 2011 (2011-06-09) claims; figure 4	1-151

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 July 2012	26/07/2012

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Huber, Angelika

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/051999

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	M. EGERER ET AL: "Autocatalytic Processing of Clostridium difficile Toxin B: BINDING OF INOSITOL HEXAKISPHOSPHATE", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 284, no. 6, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 3389-3395, XP55032301, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M806002200 page 3391, right-hand column, paragraph 3; figure 1b	1-151
Y	M. TEICHERT ET AL: "Application of Mutated Clostridium difficile Toxin A for Determination of Glucosyltransferase-Dependent Effects", INFECTION AND IMMUNITY, vol. 74, no. 10, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 6006-6010, XP55032296, ISSN: 0019-9567, DOI: 10.1128/IAI.00545-06 the whole document	1-151
Y	WOODY M A ET AL: "Modification of carboxyl groups in botulinum neurotoxin types A and E", TOXICON, ELMSFORD, NY, US, vol. 27, no. 10, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 1143-1150, XP025508940, ISSN: 0041-0101, DOI: 10.1016/0041-0101(89)90008-1 [retrieved on 1989-01-01] abstract	1-20, 38-48, 53,54, 76-86, 92-96, 114-127, 129,134, 139-151
Y	ROBINSON ET AL: "Tetanus toxin. The effect of chemical modifications on toxicity, immunogenicity, and conformation.", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 250, no. 18, 1 September 1975 (1975-09-01), pages 7435-7442, XP55032273, ISSN: 0021-9258 abstract	1-20, 38-48, 53,54, 76-86, 92-96, 114-127, 129,134, 139-151
A	US 2004/028705 A1 (BALLARD JIMMY D [US] ET AL) 12 February 2004 (2004-02-12) claims	1-151

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2012/051999

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010094970 A1	26-08-2010	AU 2010215275 A1	28-07-2011
		CA 2752815 A1	26-08-2010
		CN 102365097 A	29-02-2012
		EP 2405940 A1	18-01-2012
		US 2012121607 A1	17-05-2012
		WO 2010094970 A1	26-08-2010
US 2011053244 A1	03-03-2011	CA 2772400 A1	17-03-2011
		EP 2470664 A2	04-07-2012
		US 2011053244 A1	03-03-2011
		WO 2011031568 A2	17-03-2011
WO 2011068953 A2	09-06-2011	NONE	
US 2004028705 A1	12-02-2004	AU 2003299527 A1	07-06-2004
		US 2004028705 A1	12-02-2004
		US 2008107673 A1	08-05-2008
		WO 2004041857 A2	21-05-2004

FIG. 1A

```
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKK 50
**************************************************

LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKNSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
LNESIDVFMNKYKNSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFV 100
**********.***********************************

WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
WIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKKAIVESSTT 150
**************************************************

EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
EALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPT 200
**************************************************

IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
IDDIIKSHLVSEYNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQEL 250
******************:*******************************

LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLAVAMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
LNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTI 300
********************************** * *************

SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
PRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
PRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIE 350
.*************************************************
```

FIG. 1B

```
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
SKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIE 400
**************************************************

QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
QVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIA 450
**************************************************

PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
PYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEF 500
**************************************************

KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
KFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDF 550
**************************************************

NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
NKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLF 600
**************************************************

SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
SKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKV 650
**************************************************

TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGA 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
TFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGC 700
**************************************************.
```

FIG. 1C

```
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRINS 750
NMFSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRINS 750
**********************************:***************

EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
EGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLA 800
************************************************

SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
SISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNII 850
************************************************

HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
HNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV 900
************************************************

RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNI 950
************************************************

QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
QLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL 1000
************************************************

NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKEL 1050
************************************************
```

FIG. 1D

```
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
LDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAG 1100
************************************************

ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKEYGPLKTEDDKILVPID 1150
ISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKEYGPLKTEDDKILVPID 1150
*********************************:**************

DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIP 1200
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIP 1200
****************************************** ******

SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT 1250
SLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGT 1250
SLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGT 1250
***:******:*************************************:**

RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFI 1300
KLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFI 1300
KLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFI 1300
:********************************** ************

MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNID 1350
MPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNID 1350
******:***************************** ***************

NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
NEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKD 1400
****************:**:******************************
```

FIG. 1E

```
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
RYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINT 1450
**************************************** ******

LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNGST 1500
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNGST 1500
*********************************************.**

LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
LEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQV 1550
**************************************************

KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENI 1600
KVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENI 1600
***********************************:**************

NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
NFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG 1650
**************************************************

RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLIN 1700
**************************************************

INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
INTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVR 1750
**************************************************
```

FIG. 1F

```
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
YLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSF 1800
**************************************************

NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIESNL 1850
NSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIESNL 1850
********************************************** **


VTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPD 1900
VTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPD 1900
********************  **************:*************

GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
GFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN 1950
**************************************:************

NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT 2000
**************************************************

DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIE 2050
****************************** ******************

GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATG 2100
**************************** ******************
```

FIG. 1G

```
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKY 2150
WQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKY 2150
************************************:************:

FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGK 2200
FYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGK 2200
*************** ************. ************:*******

KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
KYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGI 2250
**********:***: *:.************* *****************

LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ 2300
************************************************

AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQ 2350
AIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQ 2350
********************************.********** *.****

TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFY 2400
TIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTGYTIINGKHFY 2400
TIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTGYTIINGKHFY 2400
****:**********************:*******:******* *******

FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
FNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY 2450
***************:**********. **********************
```

FIG. 1H

```
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIA 2500
YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIA 2500
********************************************* **

STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR 2550
************************************************

YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
YQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTID 2600
*****************:*******.************************

NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLL 2650
NKNFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLL 2650
******************.***************:**************

GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
GKIYYFGNNSKAVTGWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV 2700
********************.******************************

DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 1, 630)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 4)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 19, VPI10463)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 15, R20291)
DGVKAPGIYG 2710 (SEQ ID NO: 17, CD196)
**********
```

Fig. 2A

```
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYI 60
******************.****************************************

DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
DTYKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKD 120
************************************************************

VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTIVESATNDTLESFRENLNDPRFDYNKFYRKRMEIIY 180
VNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTIVESATNDTLESFRENLNDPRFDYNKFYRKRMEIIY 180
************************:**** ********************:********

DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDV 240
DKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKIYLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDV 240
DKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKIYLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDV 240
***********:******:******** ********:*****:********:*:******

RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLAVAMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEVGGVYLDVDMLPGIQPDLFES 300
RNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEVGGVYLDVDMLPGIQPDLFES 300
*******.****:****************************:**:** * ************

IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
IEKPSSVTVDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIF 360
**************.************* ******************************

SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
SSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISE 420
************************************************************

DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
```

FIG. 2B

```
DNDFNTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
DNDFNTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQD 480
*********:**************************************************

LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFE 540
LLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFE 540
**************************************************:****

GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNTVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
GSLGEDDNLDFSQNTVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAK 600
************** ******************************************

TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
TPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNT 660
************************************************************

DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGANMFSYSINVEETYPGKLLLKVK 720
DIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSVNVEETYPGKLLLRVK 720
DIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFSYSVNVEETYPGKLLLRVK 720
*****:**********:********************.******:************:**

DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKVSELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
DKVSELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISF 780
**:********************************************************

NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEER 840
NPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEGR 840
NPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEGR 840
******* ********************************:*************:** *

IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF 900
IEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRF 900
IEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRF 900
*****.**********:************ *********:********* **********
```

FIG. 2C

```
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
INKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLN 960
IDKETGESIFVETEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLN 960
IDKETGESIFVETEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLN 960
*:**************:************************************:********

AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
AAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETID 1020
************************************************************

LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIIT 1080
LLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIIT 1080
**********:*************************************************

SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLD 1140
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLD 1140
*********************************:************.*:**.*:**.** **

DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
DKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL 1200
**********************.************************************

SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG 1260
************************************************************

EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSG 1320
****************************************:*******************

GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
GTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEEN 1380
```

FIG. 2D

```
GTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDN 1380
GTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDN 1380
************.*****.*.*.*:************************.***.****:*

KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS 1440
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANS 1440
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANS 1440
****:.******* :**.****************:***********:******* ** **

NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMD 1500
NSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMD 1500
NSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMD 1500
* :********:************:*.:******** ***********.***********

DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
DSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDES 1560
NSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDEN 1560
NSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDEN 1560
:*** *** **:**********:* ****************:*:***:*****.*:***.

GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ 1620
GVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ 1620
**********:**.********************:* **** *:***:************

FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
FEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKY 1680
******:::**************:************************************

LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRY 1740
LYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRY 1740
**********:**************:**:***********:***.****:*********

VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT 1800
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFT 1800
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFT 1800
******.*******.***********.****.:*:::*:**********.:.::* :**
```

FIG. 2E

```
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVG 1860
PSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIG 1860
PSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIG 1860
**** :**:.*****:******************:***********::******.*:*

DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG 1920
DDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG 1920
DDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG 1920
******** ******:******.*****.*.*********************:********

EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFN 1980
EAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFN 1980
EAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFN 1980
********* ****:***.****.*:**: **.*::***.:**:********** *:***

SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFA 2040
SDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFA 2040
SDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFA 2040
***:******.***:..********* ********:*************** *******

HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
HHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIG 2100
**:********* :**********************************************

LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
LSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIG 2160
ISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIG 2160
ISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIG 2160
:*:****:*****.****:******::*********:***:**********:**:****

VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
VFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESD 2220
************************************************************
```

Fig 2F

```
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED 2280
KYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIED 2280
KYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIED 2280
****:****** ****:**********:********:**:*:*****:* **:**:****

KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
KTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYI 2340
* ***.***:**************************************************

AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 2, 630)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 25, VPI10463)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 6)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 21, R20291)
AATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE 2366 (SEQ ID NO: 23, CD196)
*************************
```

FIG. 3

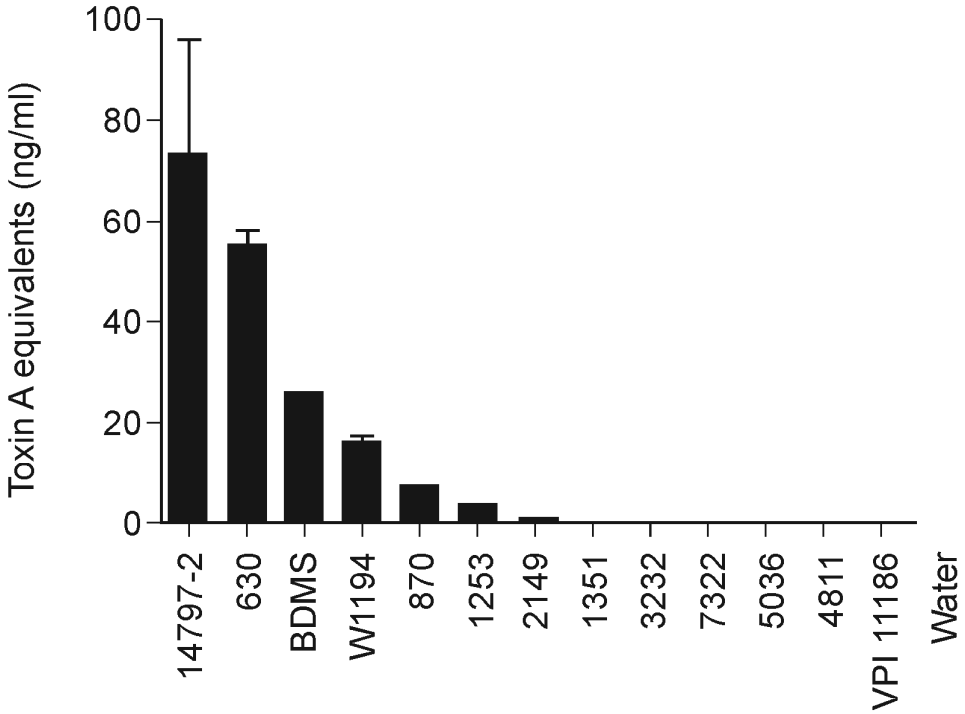

Toxin A equivalents (ng/ml)
100
80
60
40
20
0
14797-2
630
BDMS
W1194
870
1253
2149
1351
3232
7322
5036
4811
VPI 11186
Water

FIG. 4A

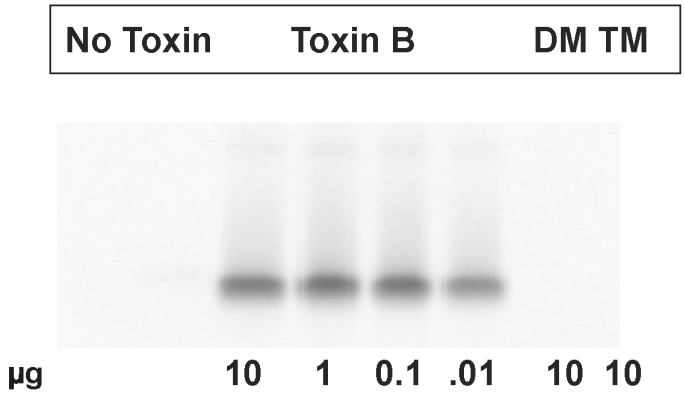

No Toxin
Toxin B
DM TM
µg
10
1
0.1
.01
10
10

FIG. 4B

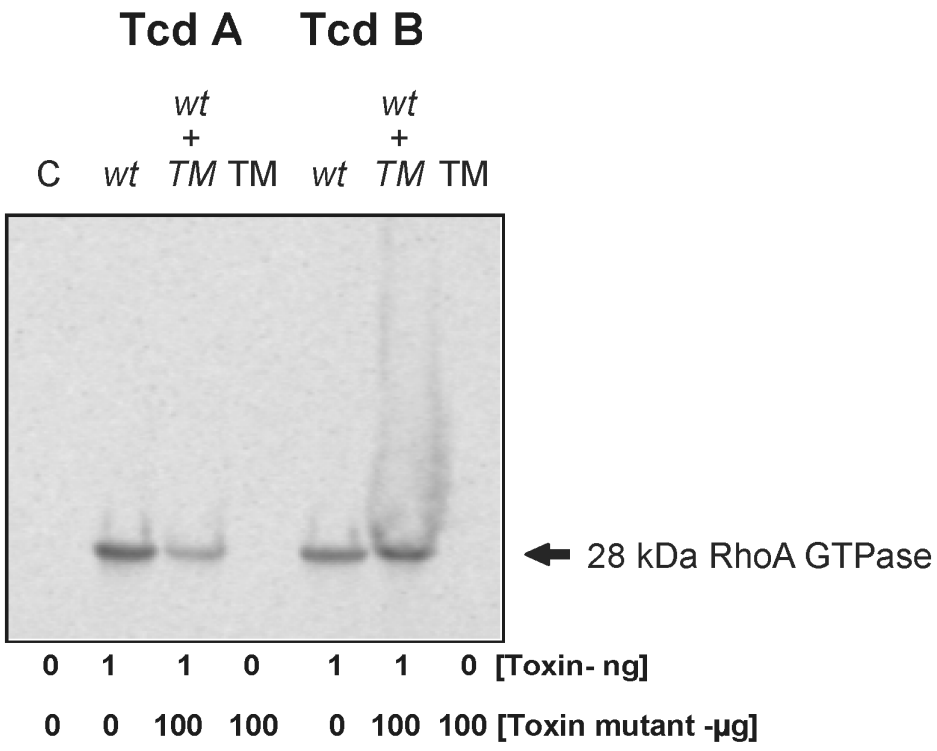

Tcd A
Tcd B
C
wt
wt + TM
TM
wt
wt + TM
TM
28 kDa RhoA GTPase
0 1 1 0 1 1 0 [Toxin- ng]
0 0 100 100 0 100 100 [Toxin mutant -µg]

FIG. 5

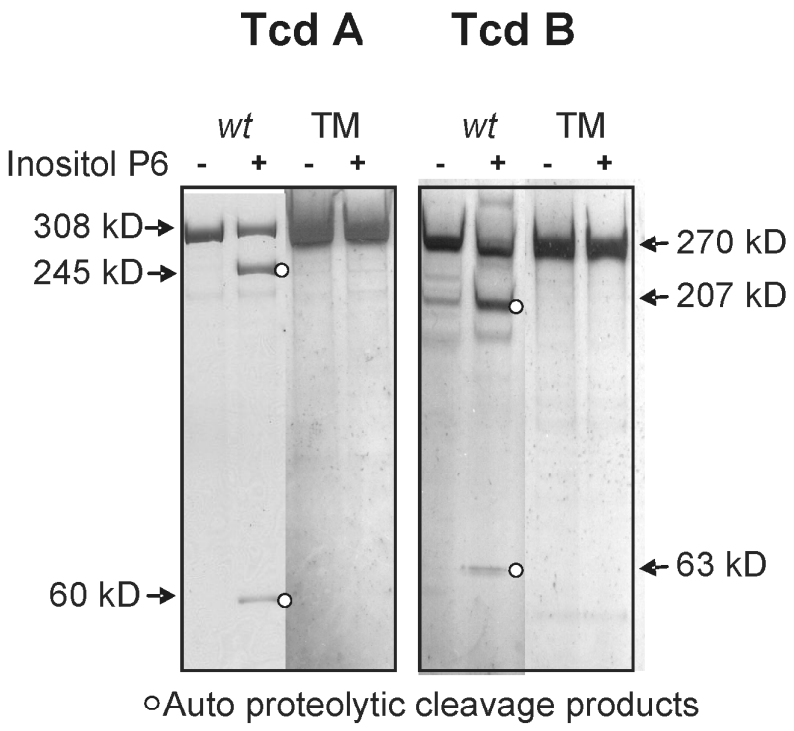

Tcd A
Tcd B
wt
TM
wt
TM
Inositol P6 - + - + - + - +
308 kD
245 kD
60 kD
270 kD
207 kD
63 kD
○Auto proteolytic cleavage products

FIG. 6

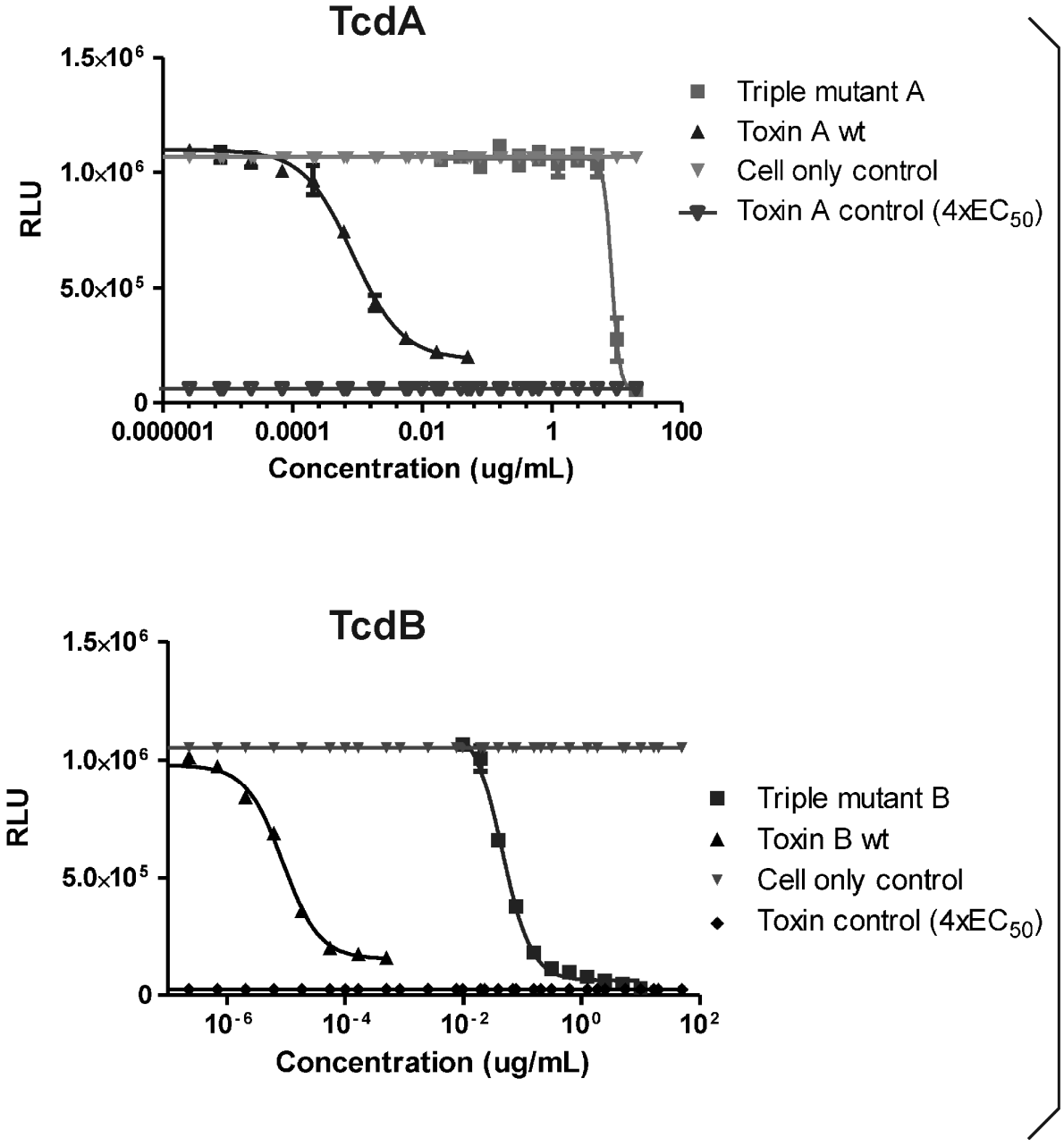
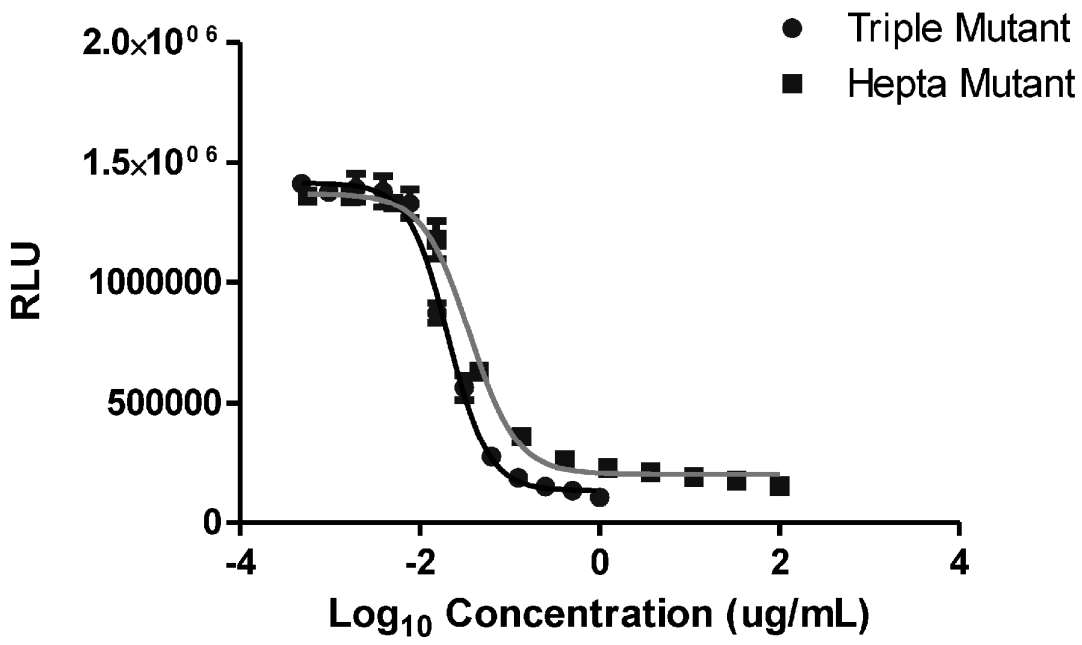

TcdA
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
RLU
0.000001
0.0001
0.01
1
100
Concentration (ug/mL)
Triple mutant A
Toxin A wt
Cell only control
Toxin A control (4xEC50)
TcdB
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
RLU
10^-6
10^-4
10^-2
10^0
10^2
Concentration (ug/mL)
Triple mutant B
Toxin B wt
Cell only control
Toxin control (4xEC50)

FIG. 7



	Triple Mutant	Hepta Mutant
EC_{50}	0.02078	0.03590

FIG. 8

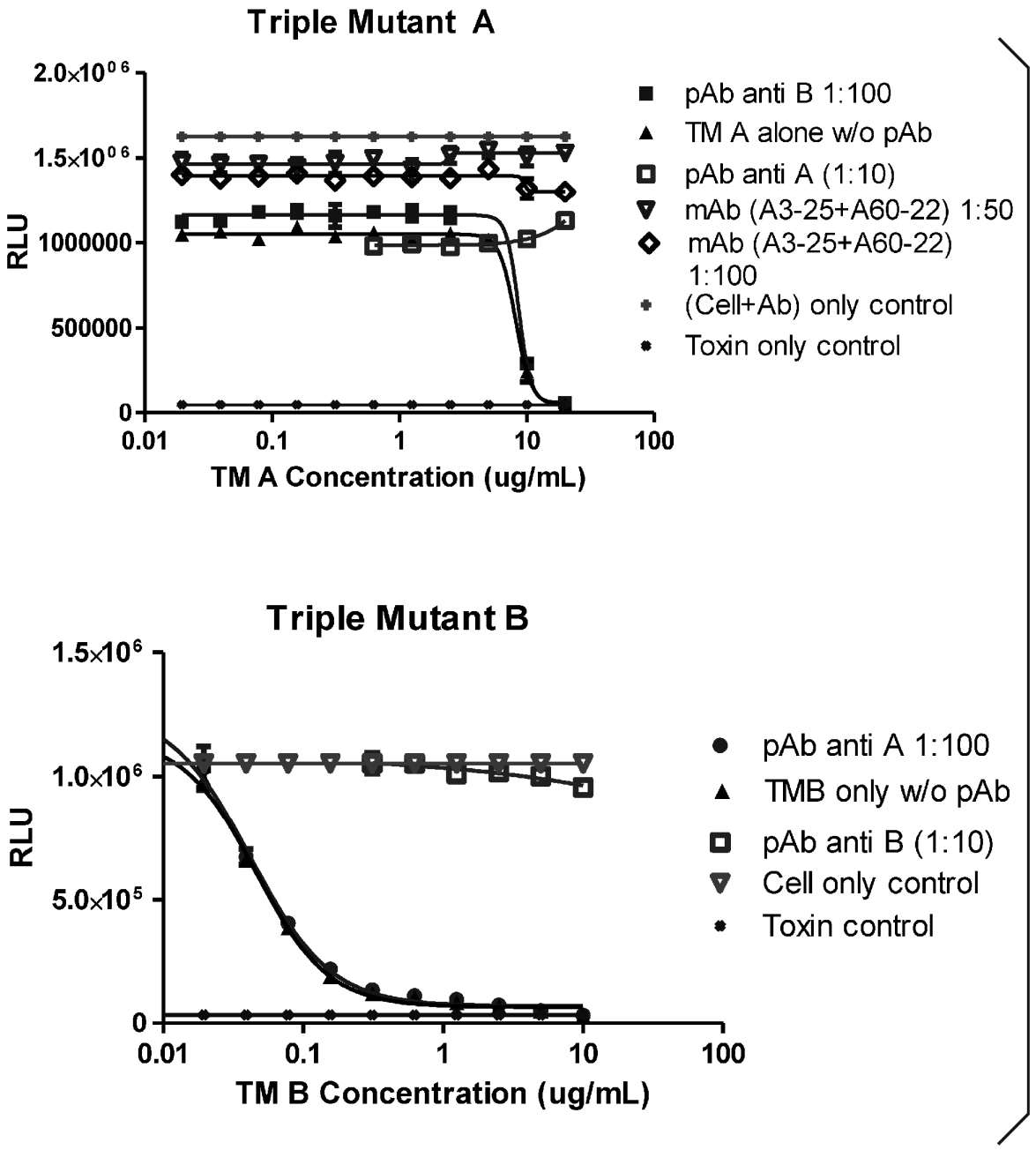

Triple Mutant A
2.0×10^06
1.5×10^06
1000000
500000
0
RLU
0.01
0.1
1
10
100
TM A Concentration (ug/mL)
pAb anti B 1:100
TM A alone w/o pAb
pAb anti A (1:10)
mAb (A3-25+A60-22) 1:50
mAb (A3-25+A60-22) 1:100
(Cell+Ab) only control
Toxin only control
Triple Mutant B
1.5×10^6
1.0×10^6
5.0×10^5
0
RLU
0.01
0.1
1
10
100
TM B Concentration (ug/mL)
pAb anti A 1:100
TMB only w/o pAb
pAb anti B (1:10)
Cell only control
Toxin control

FIG. 9

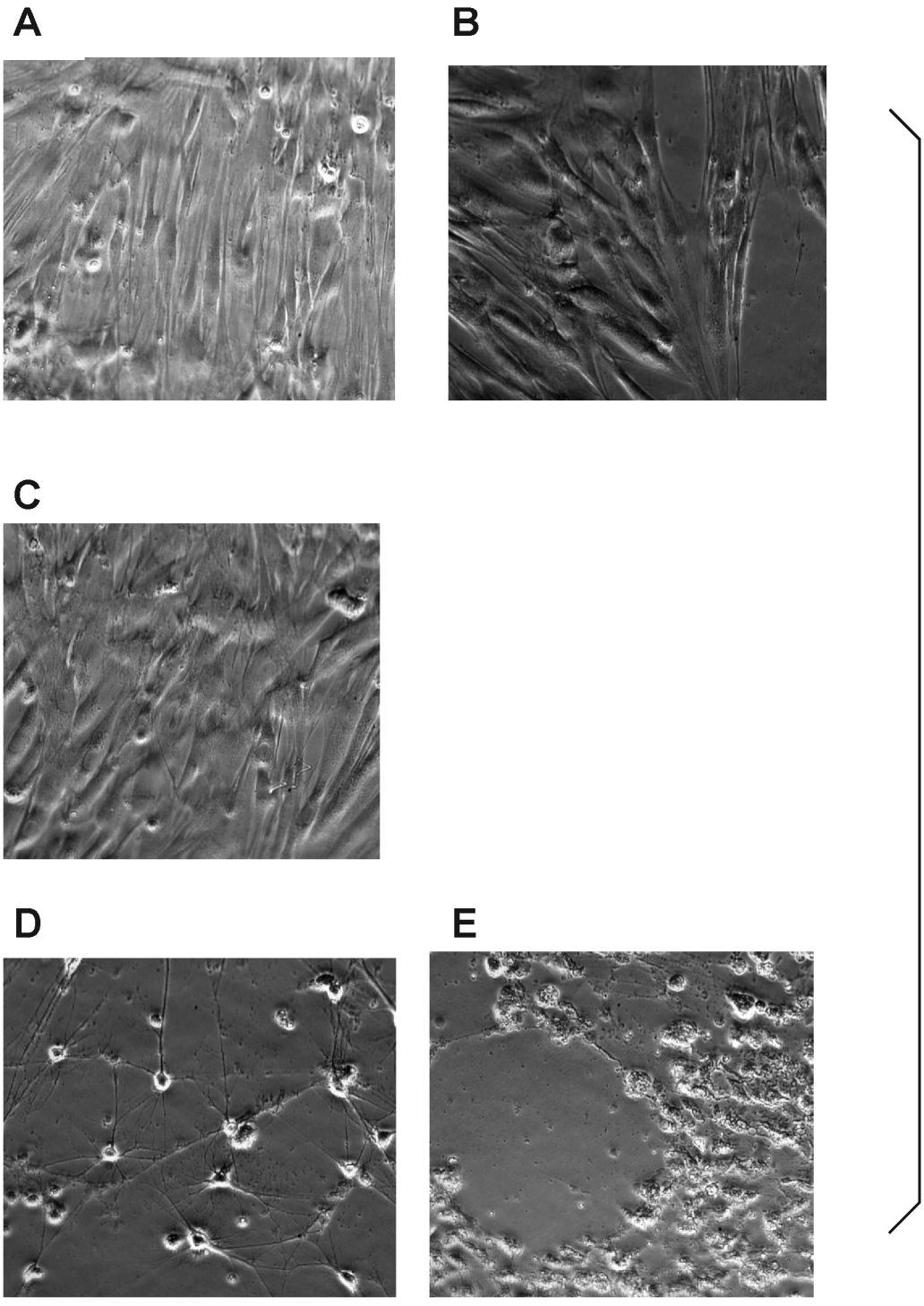


FIG. 10

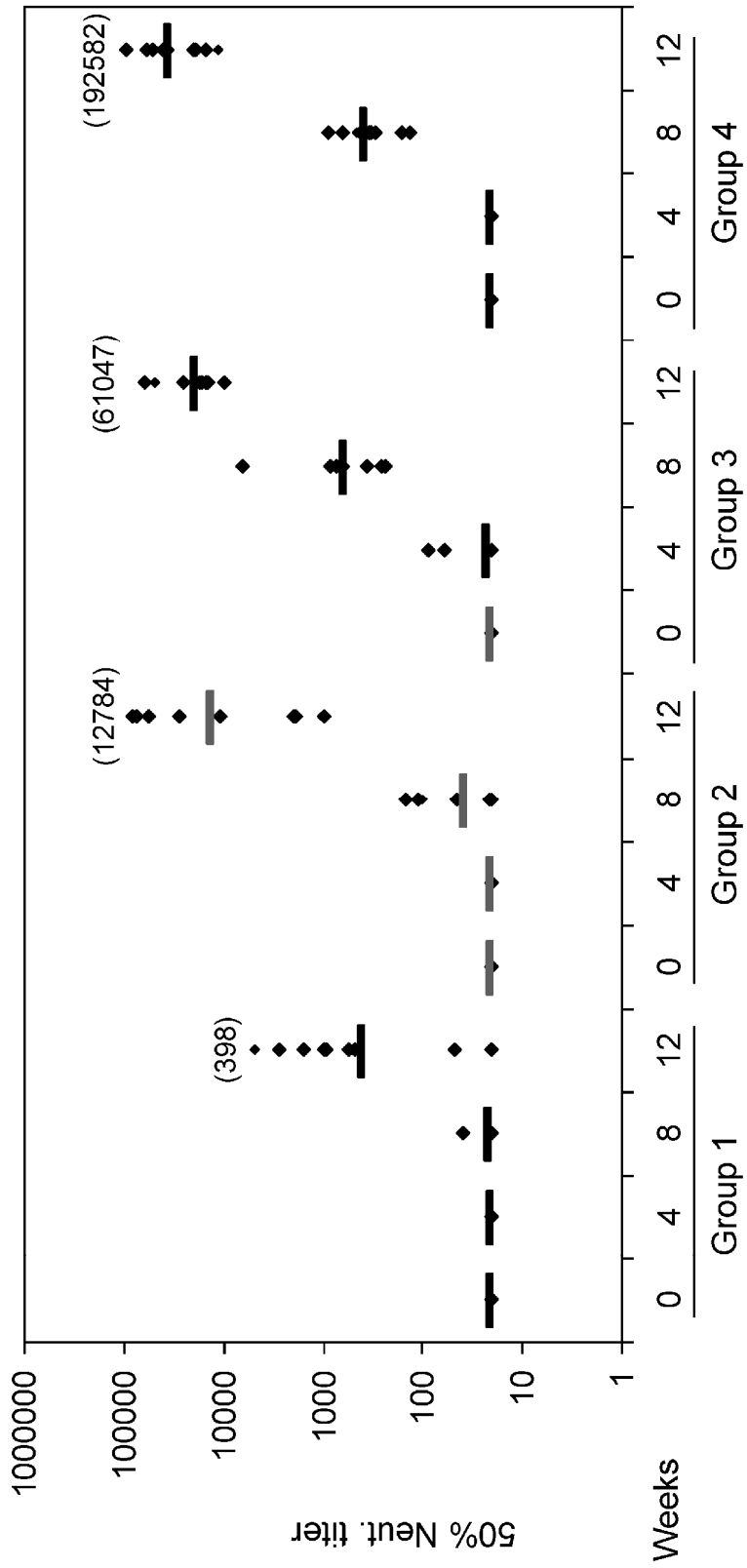

1000000
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut. titer
(398)
(12784)
(61047)
(192582)
0
4
8
12
0
4
8
12
0
4
8
12
0
4
8
12
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4

FIG. 11A

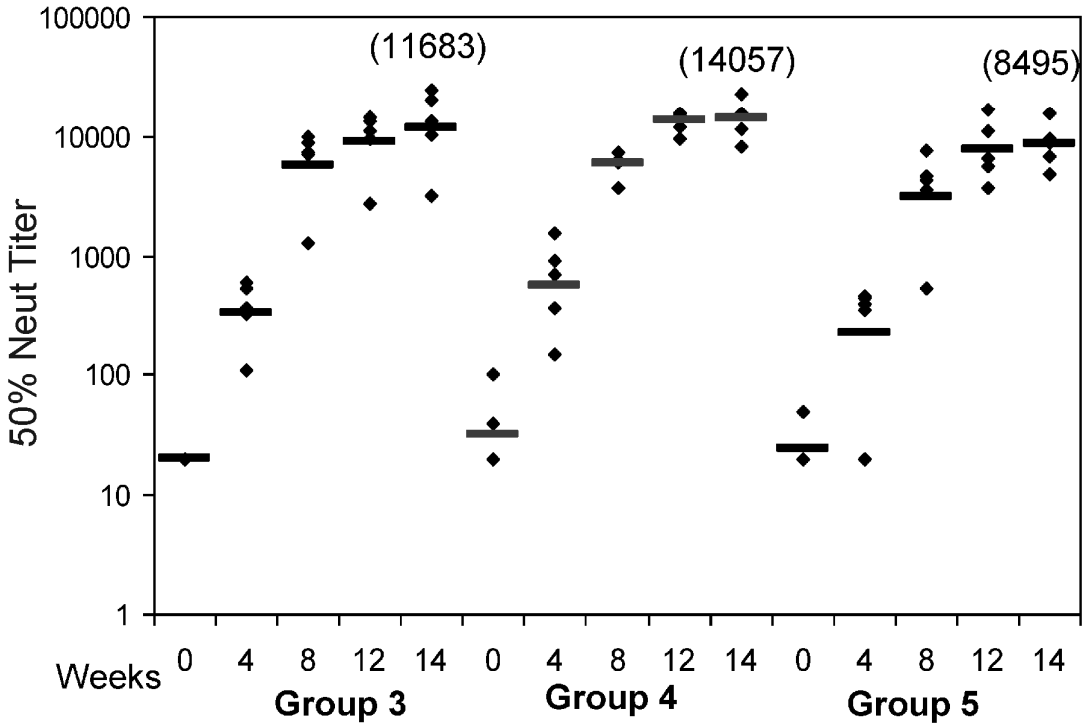


FIG. 11B

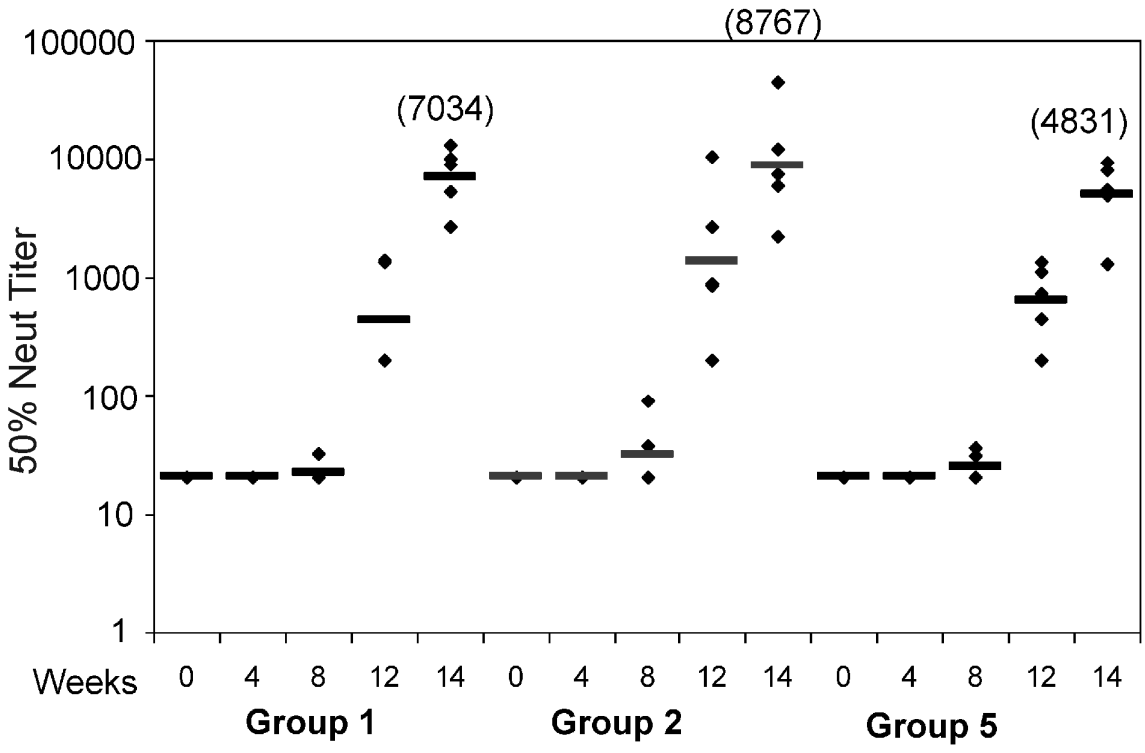


FIG. 12

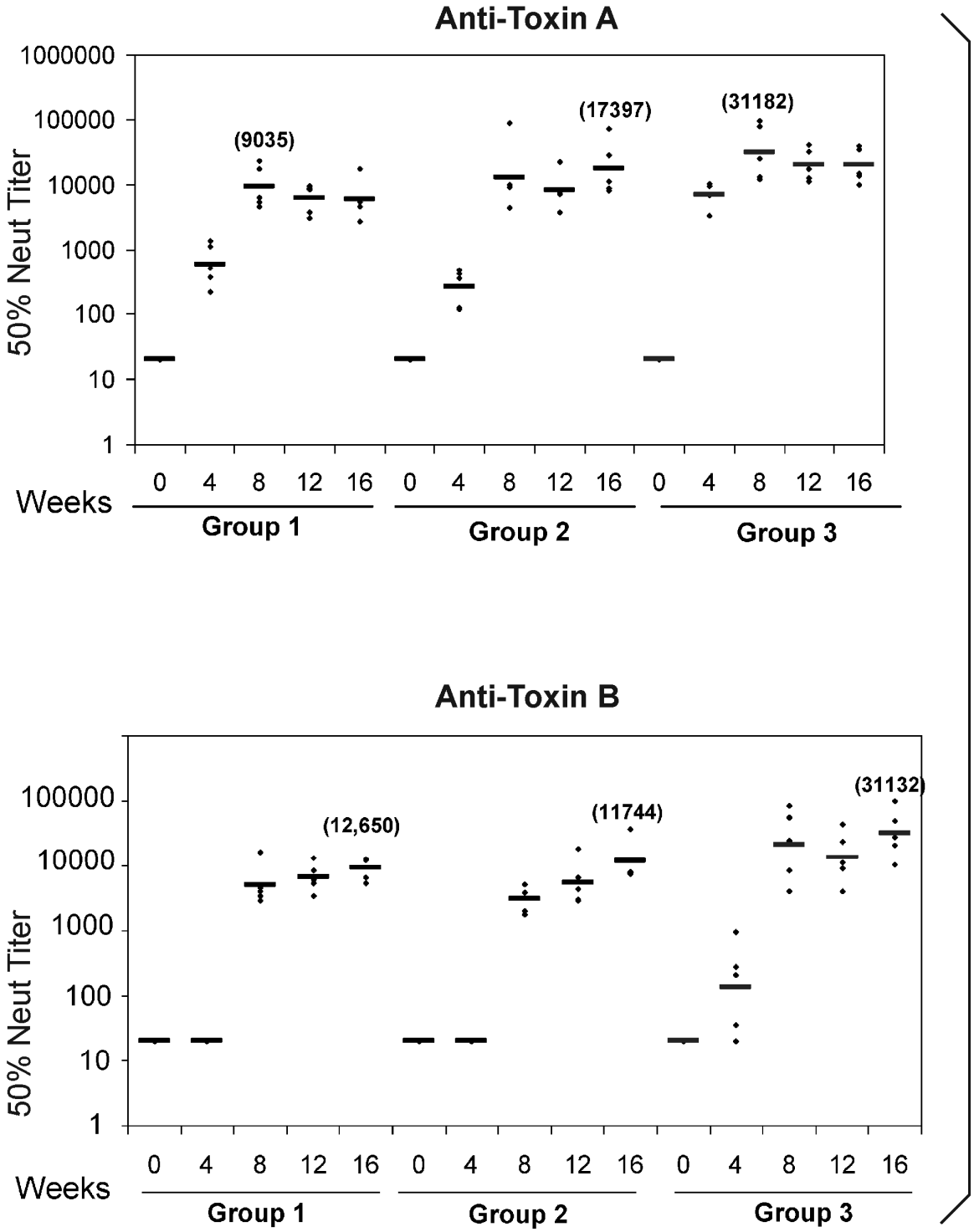

Anti-Toxin A
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut Titer
(9035)
(17397)
(31182)
0 4 8 12 16 0 4 8 12 16 0 4 8 12 16
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3
Anti-Toxin B
100000
10000
1000
100
10
1
50% Neut Titer
(12,650)
(11744)
(31132)
0 4 8 12 16 0 4 8 12 16 0 4 8 12 16
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3

FIG. 13A

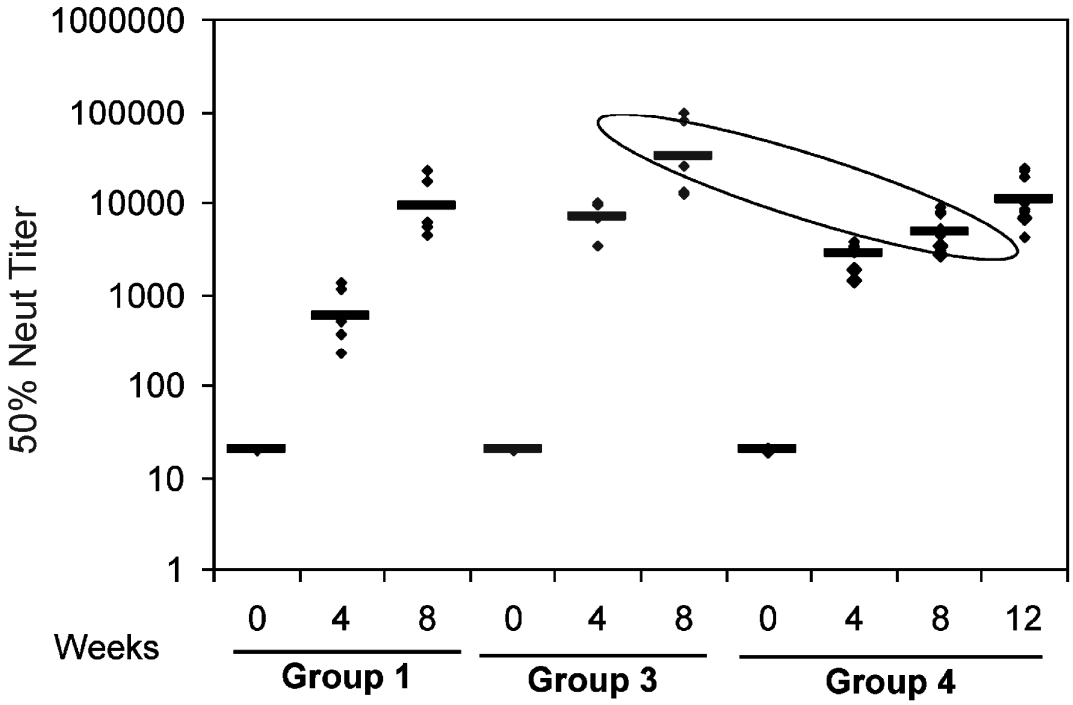


FIG. 13B

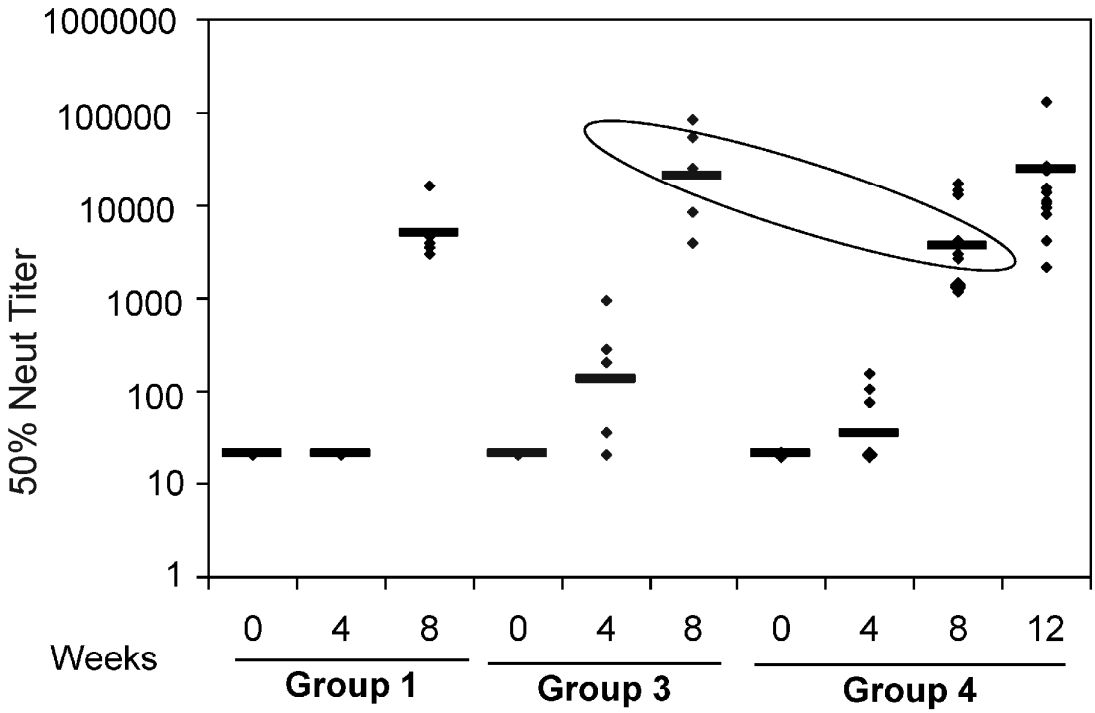
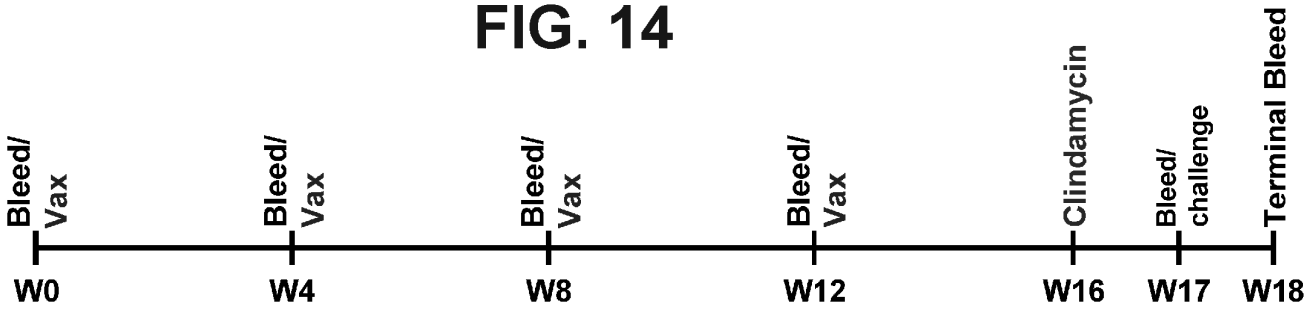


FIG. 14


Bleed/ Vax
Bleed/ Vax
Bleed/ Vax
Bleed/ Vax
Clindamycin
Bleed/ challenge
Terminal Bleed
W0
W4
W8
W12
W16
W17
W18

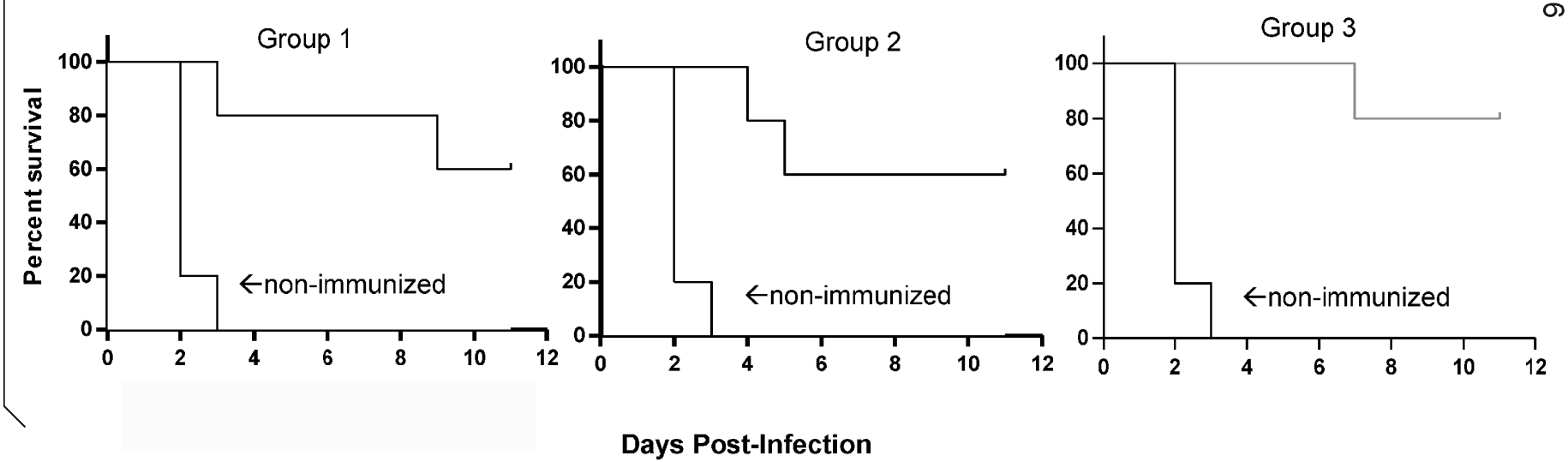

Group 1
Group 2
Group 3
Percent survival
100
80
60
40
20
0
←non-immunized
0
2
4
6
8
10
12
Days Post-Infection

FIG. 15

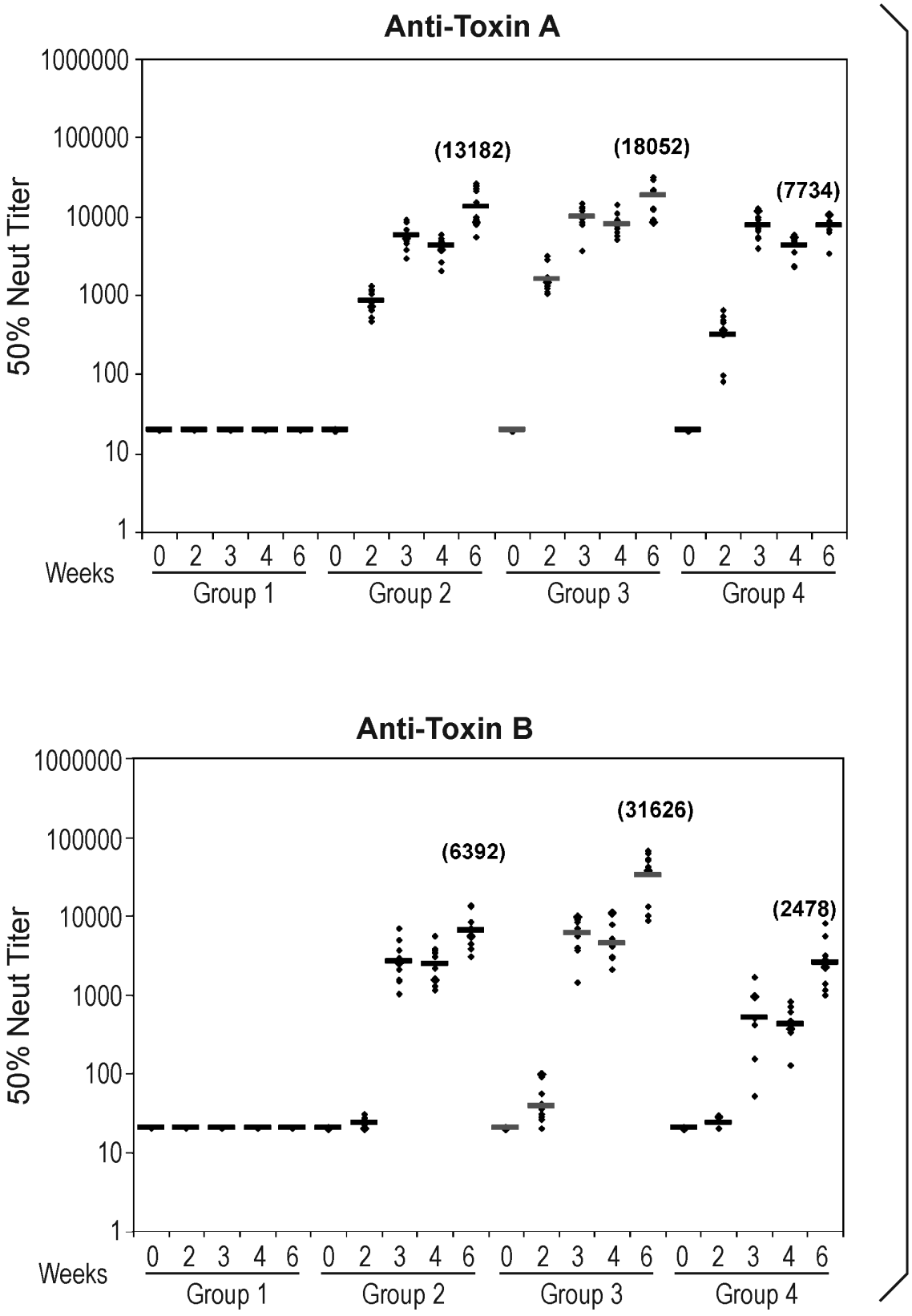

Anti-Toxin A
50% Neut Titer
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
(13182)
(18052)
(7734)
Weeks
0 2 3 4 6
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4
Anti-Toxin B
50% Neut Titer
(6392)
(31626)
(2478)
Weeks
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4

FIG. 16A

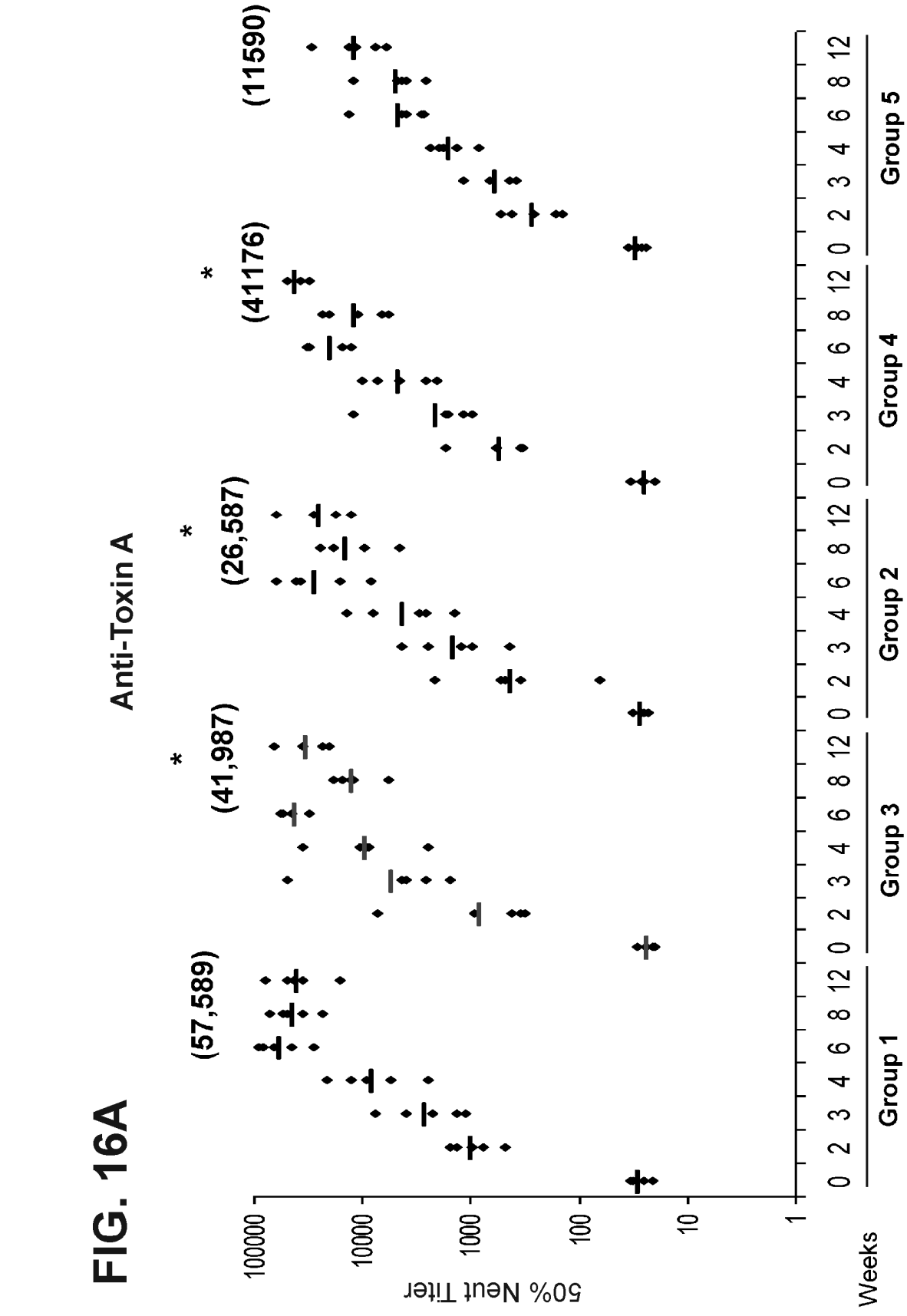

Anti-Toxin A
(57,589)
(41,987)
(26,587)
(41176)
(11590)
*
*
*
50% Neut Titer
100000
10000
1000
100
10
1
Weeks
0 2 3 4 6 8 12
Group 1
Group 3
Group 2
Group 4
Group 5

FIG. 16B

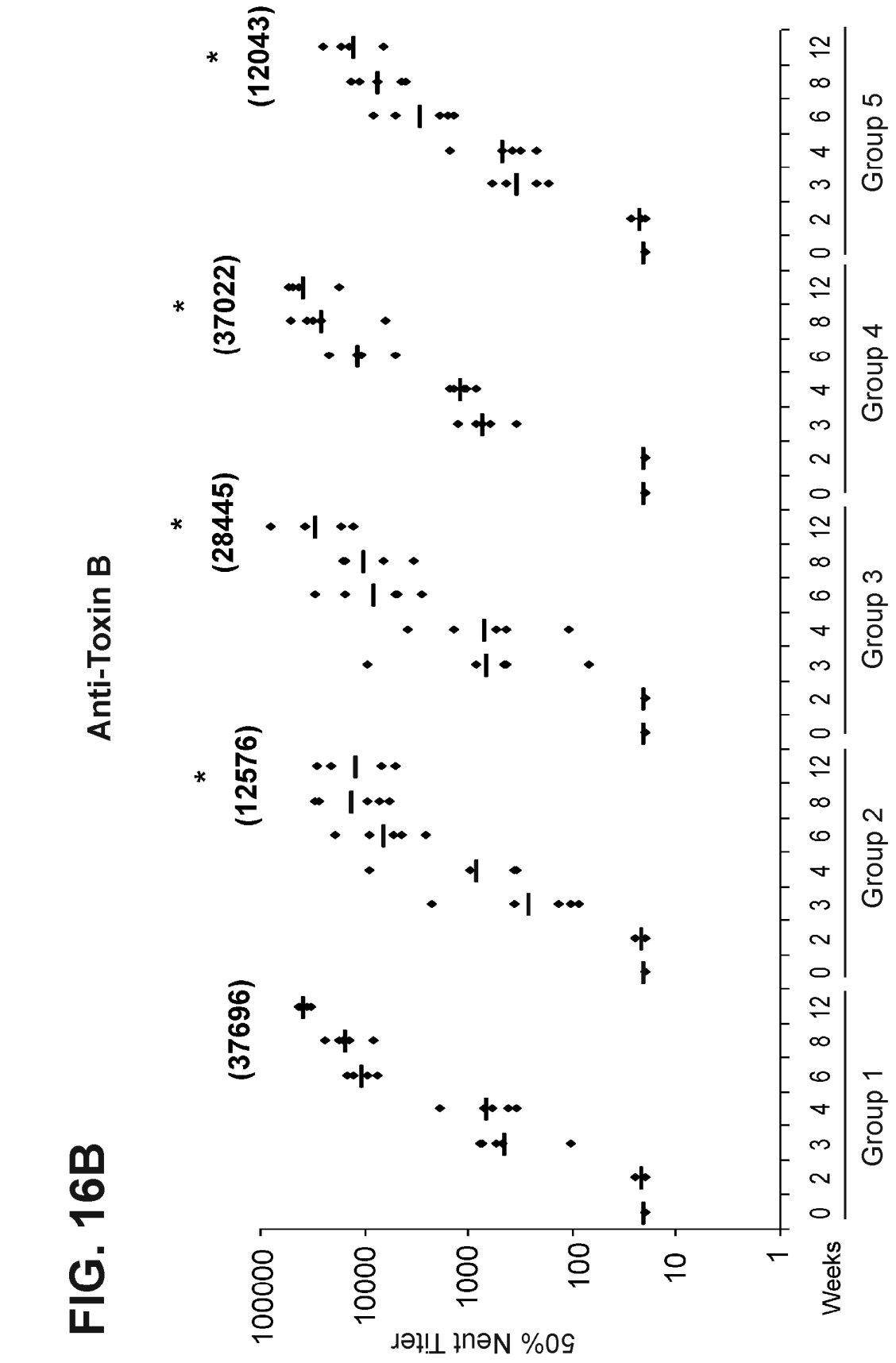

Anti-Toxin B
(37696)
(12576)
(28445)
(37022)
(12043)
*
*
*
*
*
50% Neut Titer
100000
10000
1000
100
10
1
Weeks
0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12 0 2 3 4 6 8 12
Group 1
Group 2
Group 3
Group 4
Group 5

FIG. 17

Variable Light Chain (muK)

MKLPVRLLVLMFWIPGSSSDVVMTHTPLSLPVSLGDQASMSC*RS*
*SQSLIHSNGNTYLH*WYLQKPGQSPKLLIS*KVSNRFS*GVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC*SQTTYFPY*TFGGGTREIK**RAD**
AAPTVSIFPPSS (SEQ ID NO: 36)

Variable Heavy Chain (mIgE)

MYLGLNCVFIVFLLKGVQSEVNLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS
*GFTFTNYWMN*WVRQSPEKGLEWIA*EIRLKSHNYATHFAESVKG*
RFTISRDDSKSAVSLQMTNLTPEDTGIFYCTW*DYYGNPAFVY*WG
QGTLVTVSA**ASIRNPQLYPLKPCKGTASMTLGCLVKDYFPGPVT**
VTWYSDSLNMSTVN (SEQ ID NO: 37)

FIG. 18

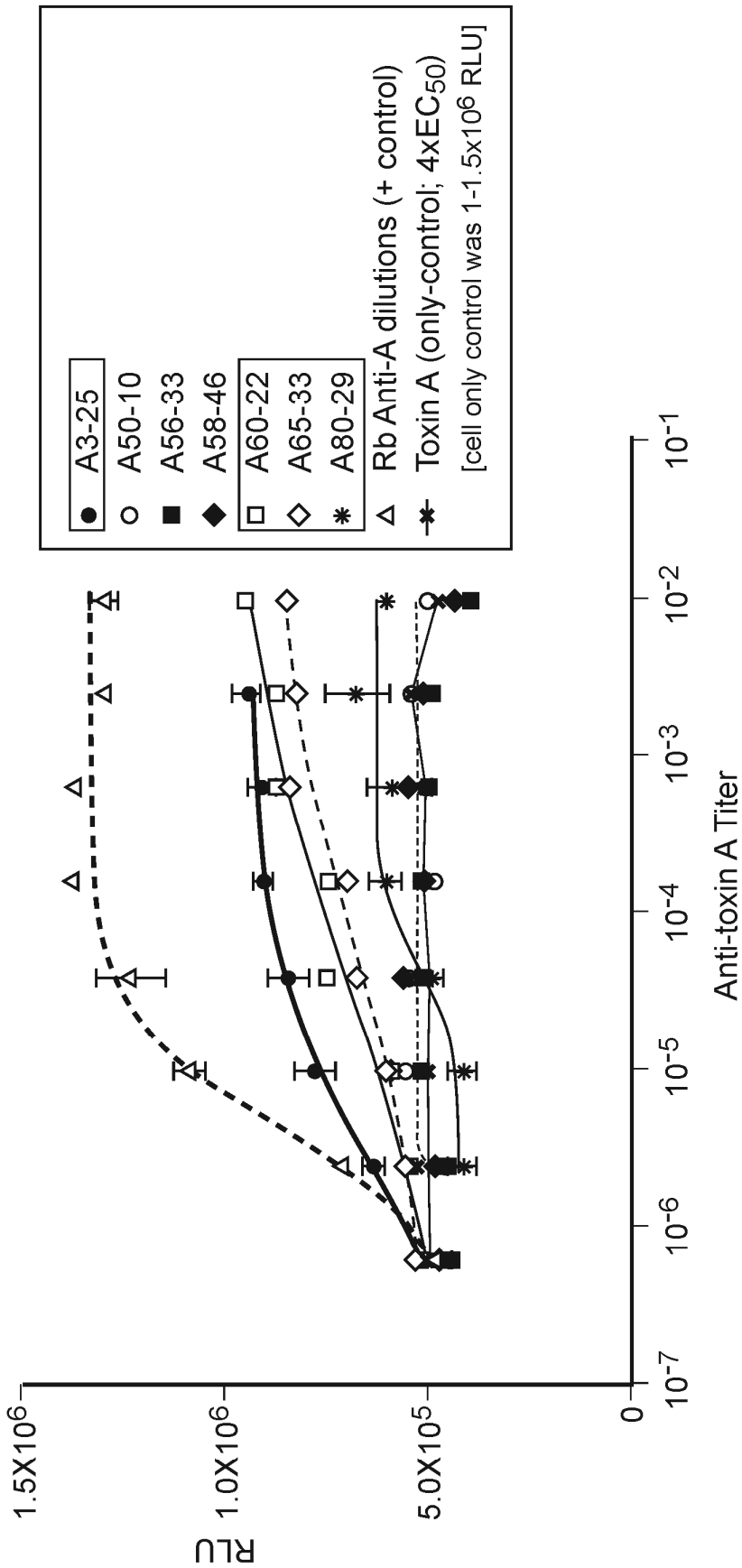

A3-25
A50-10
A56-33
A58-46
A60-22
A65-33
A80-29
Rb Anti-A dilutions (+ control)
Toxin A (only-control; 4xEC50)
[cell only control was 1-1.5x10^6 RLU]
RLU
1.5X10^6
1.0X10^6
5.0X10^5
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
Anti-toxin A Titer

FIG. 19

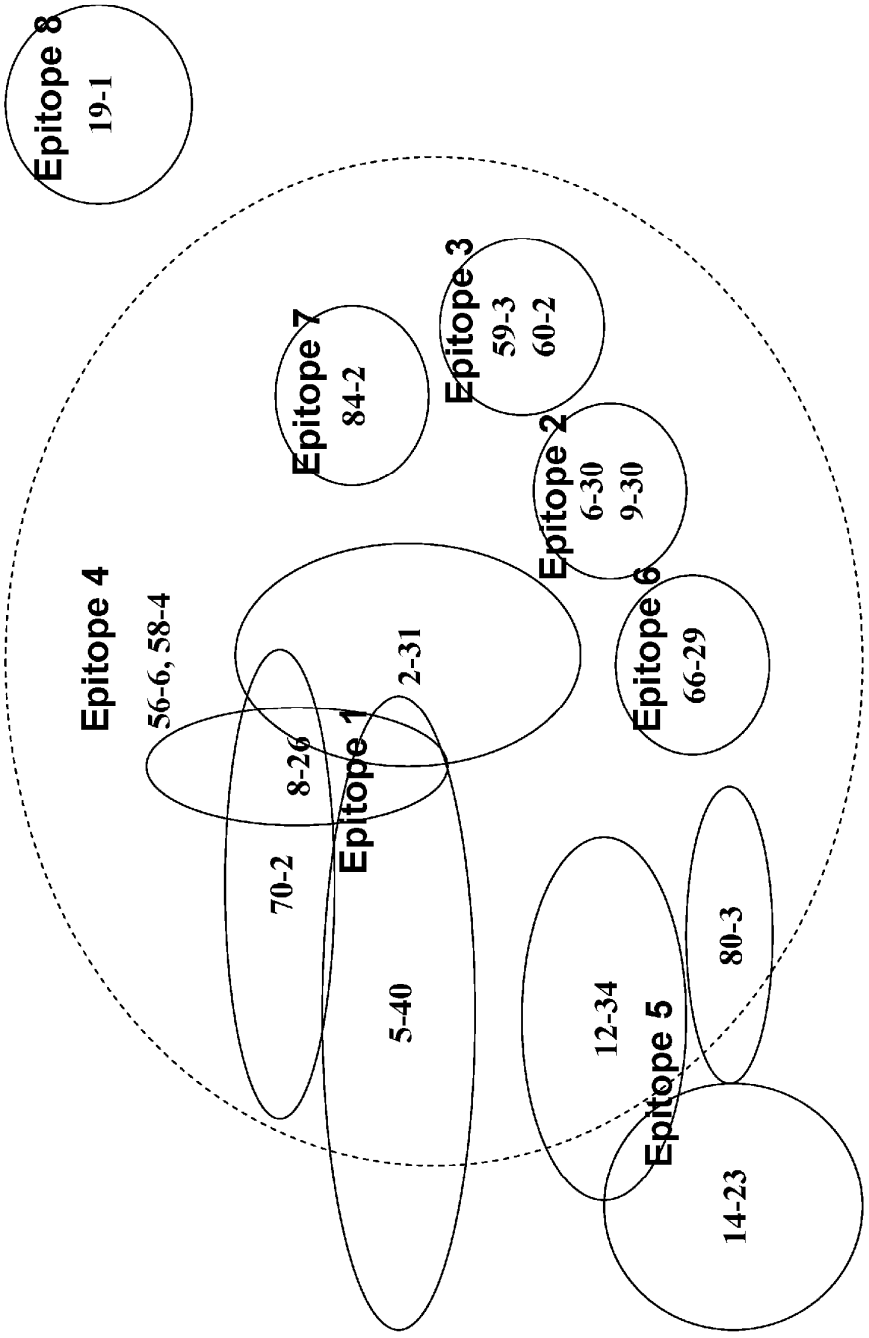

Epitope 8
19-1
Epitope 7
84-2
Epitope 3
59-3
60-2
Epitope 2
6-30
9-30
Epitope 6
66-29
Epitope 4
56-6, 58-4
8-26
70-2
Epitope 1
2-31
5-40
12-34
Epitope 5
80-3
14-23

FIG. 20A

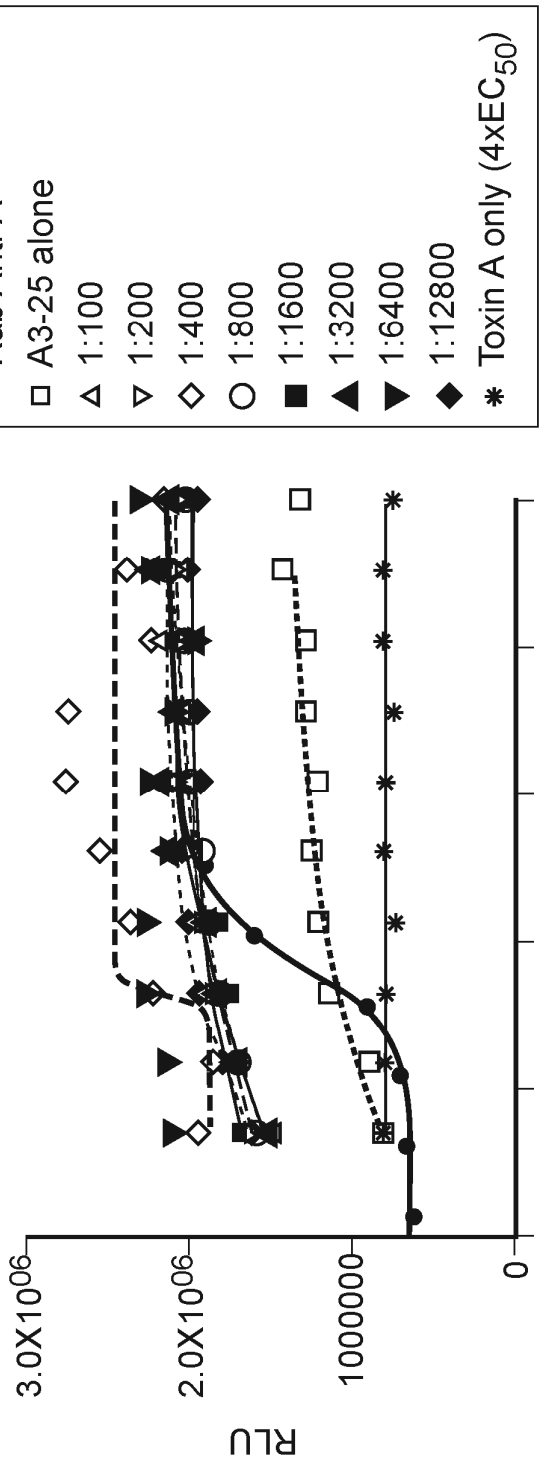

Rab Anti-A
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
RLU
3.0X10^06
2.0X10^06
1000000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
<--- A3-25 dilution

FIG. 20B

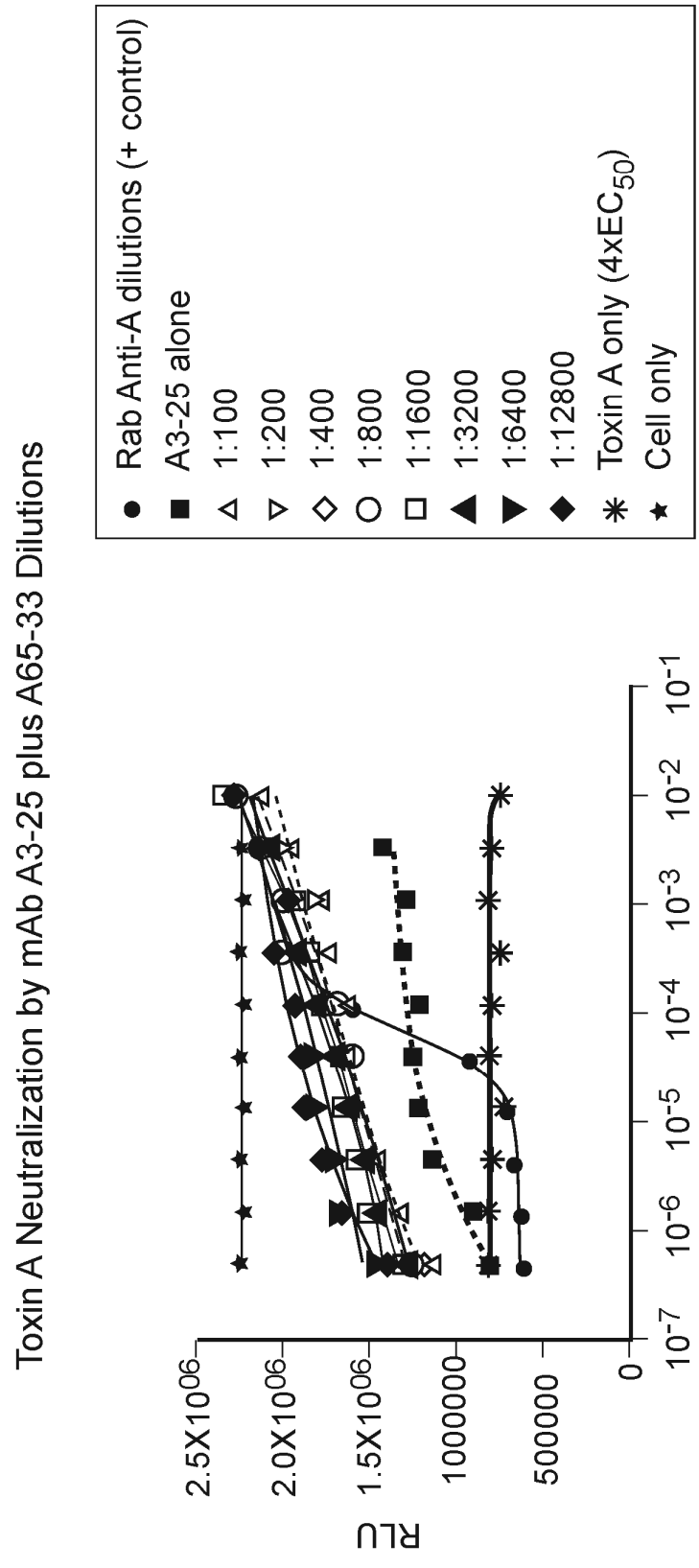

Toxin A Neutralization by mAb A3-25 plus A65-33 Dilutions
Rab Anti-A dilutions (+ control)
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
Cell only
RLU
2.5X10^06
2.0X10^06
1.5X10^06
1000000
500000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
<--- A3-25 dilution

FIG. 20C

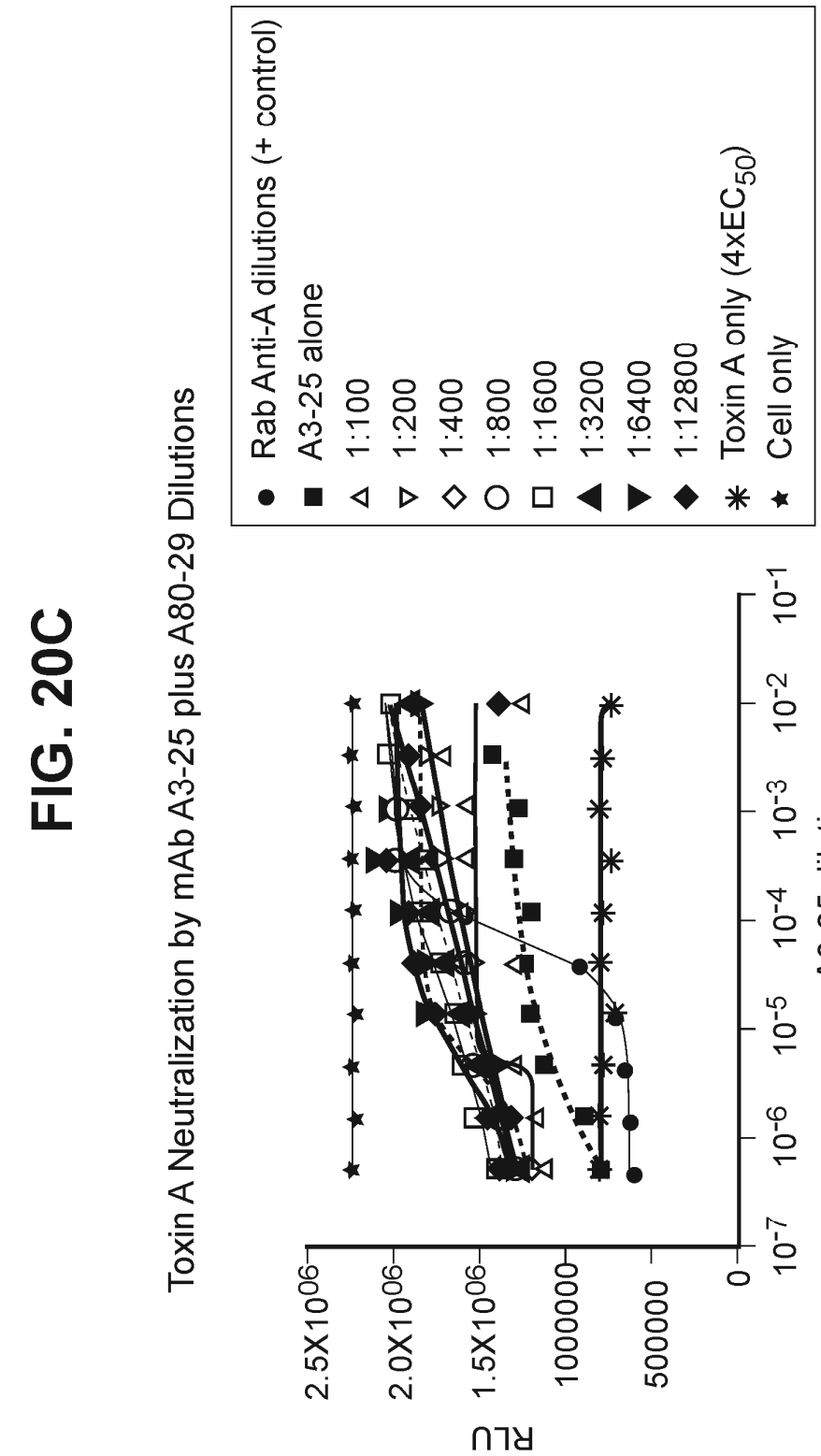

Toxin A Neutralization by mAb A3-25 plus A80-29 Dilutions
RLU
2.5X10^06
2.0X10^06
1.5X10^06
1000000
500000
0
10^-7
10^-6
10^-5
10^-4
10^-3
10^-2
10^-1
<--- A3-25 dilution
Rab Anti-A dilutions (+ control)
A3-25 alone
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
Toxin A only (4xEC50)
Cell only

FIG. 21A

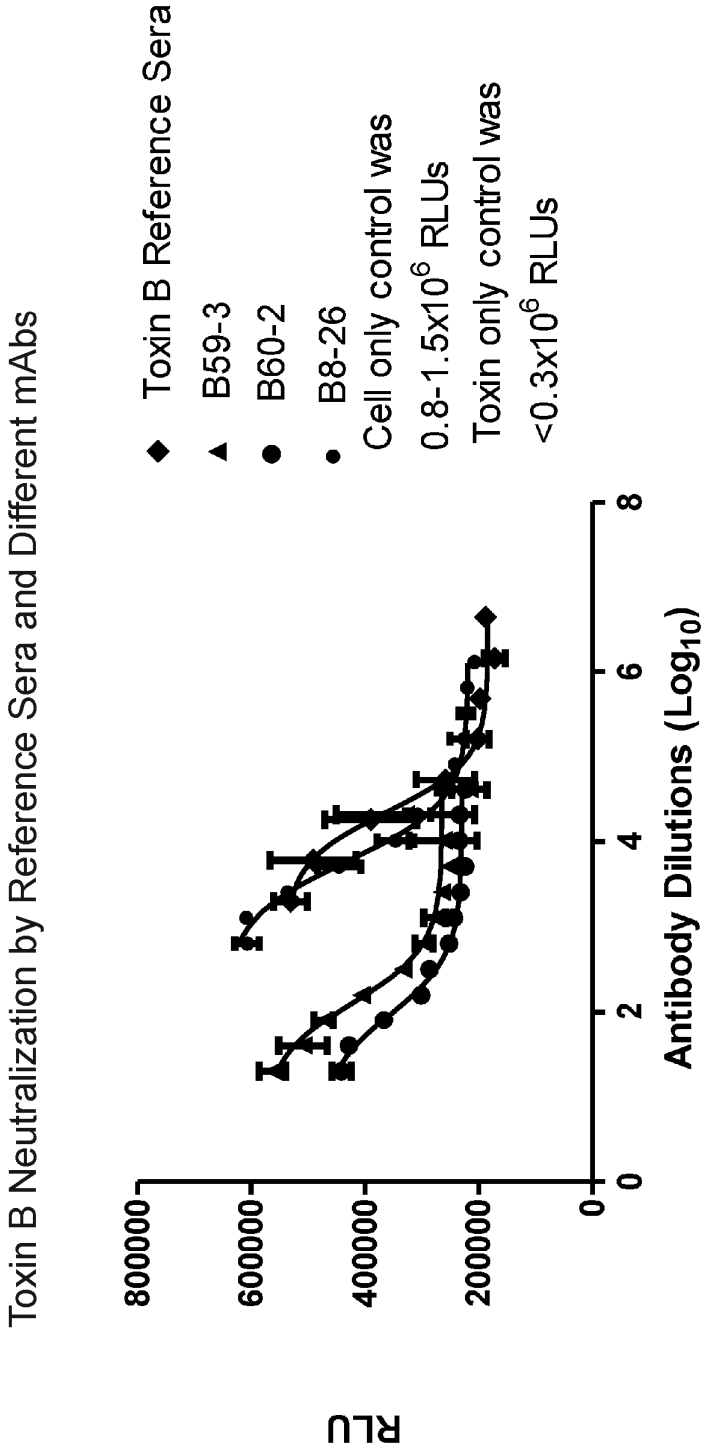

Toxin B Neutralization by Reference Sera and Different mAbs
Toxin B Reference Sera
B59-3
B60-2
B8-26
Cell only control was
0.8-1.5x10^6 RLUs
Toxin only control was
<0.3x10^6 RLUs
RLU
800000
600000
400000
200000
0
0
2
4
6
8
Antibody Dilutions (Log10)

FIG. 21B

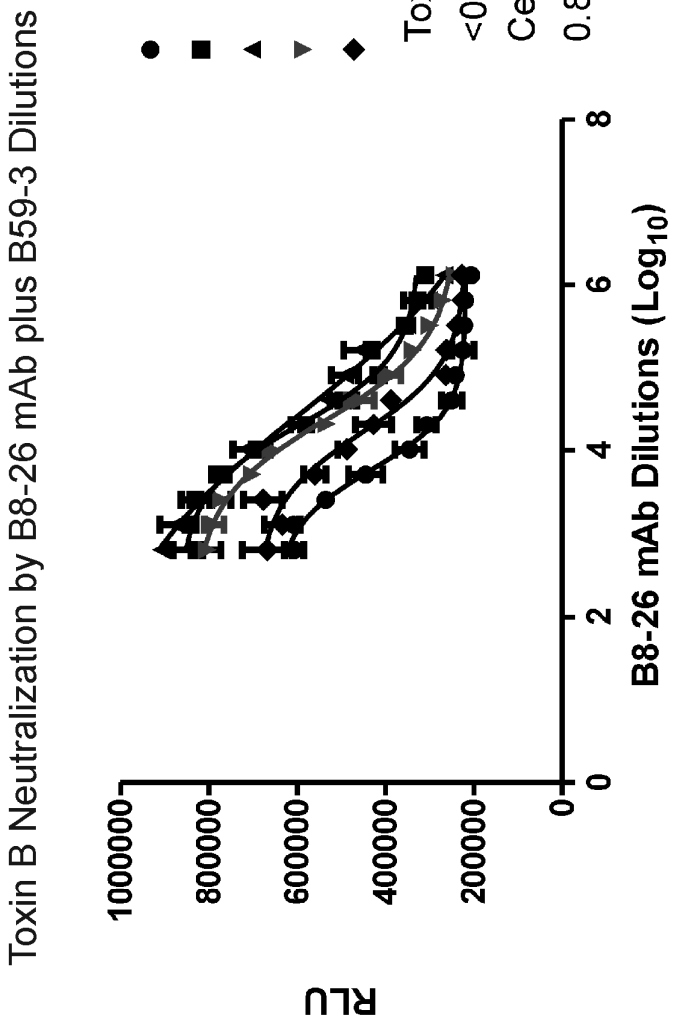

Toxin B Neutralization by B8-26 mAb plus B59-3 Dilutions
B8-26 Alone
B59-3 (1:640)
B59-3 (1:1280)
B59-3 (1:2560)
B59-3 (1:5120)
Toxin B only control was
<0.3x10^6 RLUs
Cell only control was
0.8-1.5x10^6 RLUs
RLU
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0
2
4
6
8
B8-26 mAb Dilutions (Log10)

FIG. 22

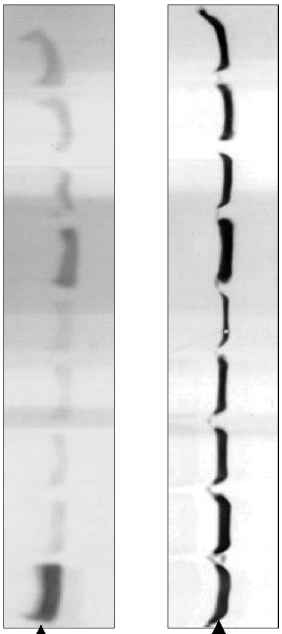
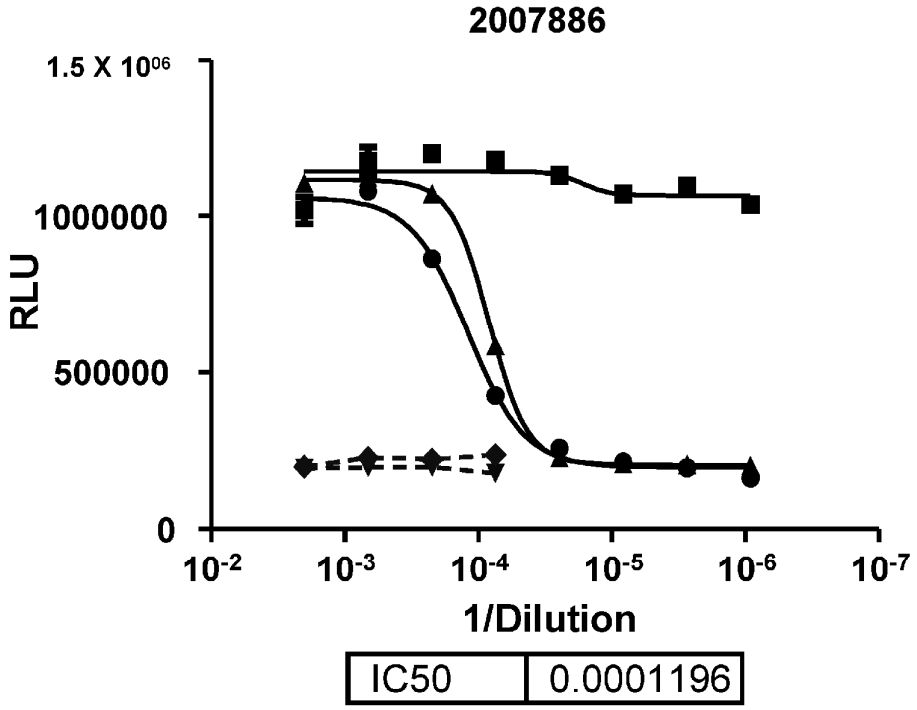

Toxin B wt
Genetic TMB
Antibody
M 24 48 72 96h 24 48 72 96h
α-Rac1 23A8-
recognizes all forms of Rac1
α -Rac1 102-
recognizes only non-glucosylated Rac1
α-β-actin
Rac1
Non- glucosylated
Rac1
Actin

FIG. 23A



IC50	0.0001196

FIG. 23B

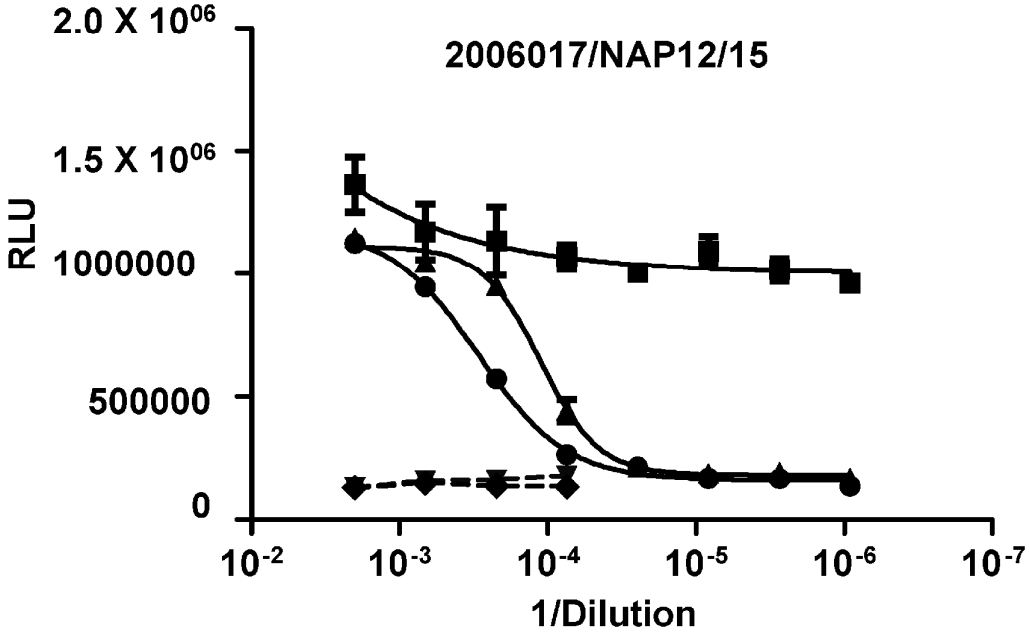


FIG. 23C

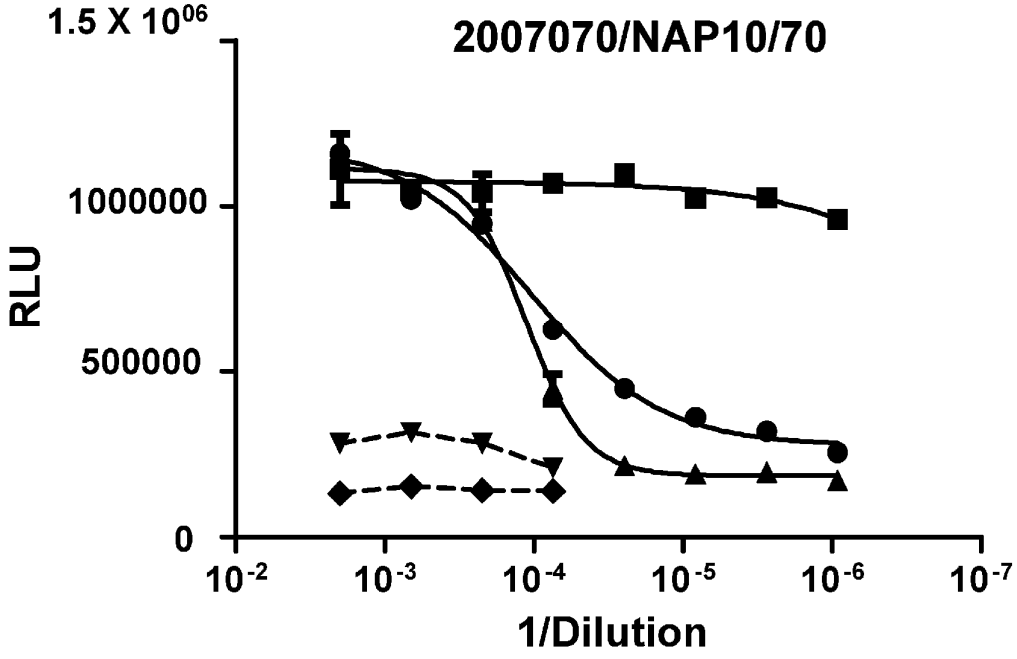


FIG. 23D

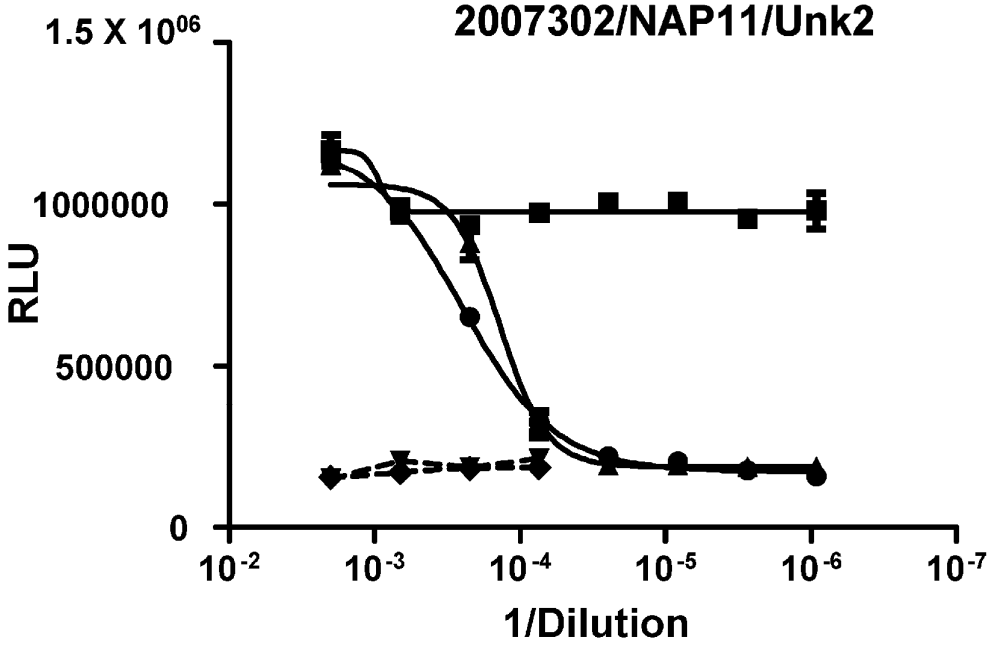


FIG. 23E

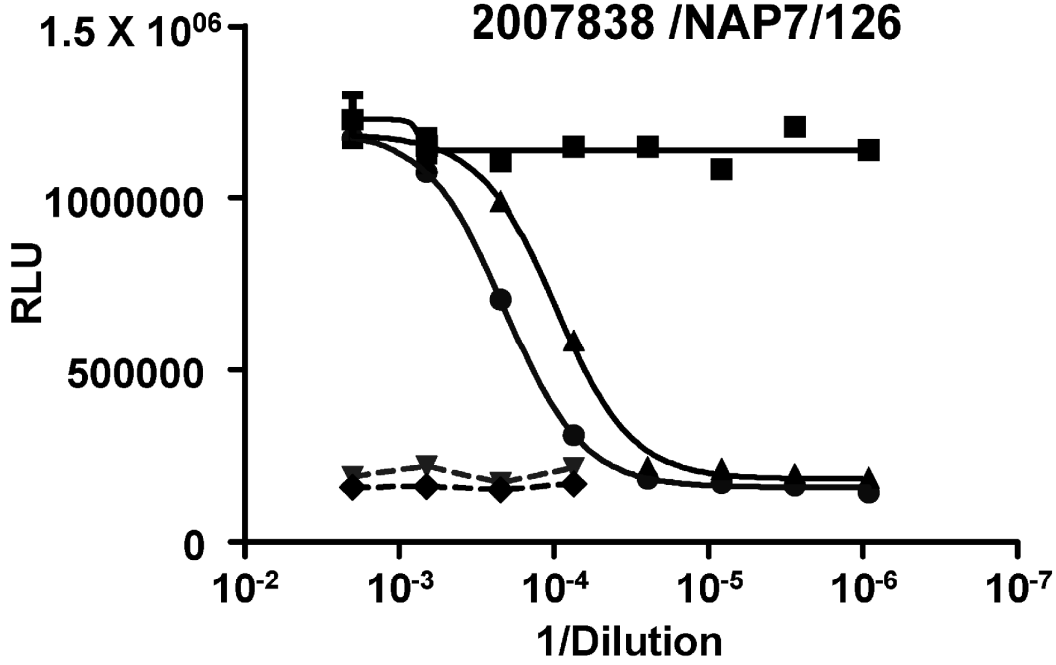


FIG. 23F

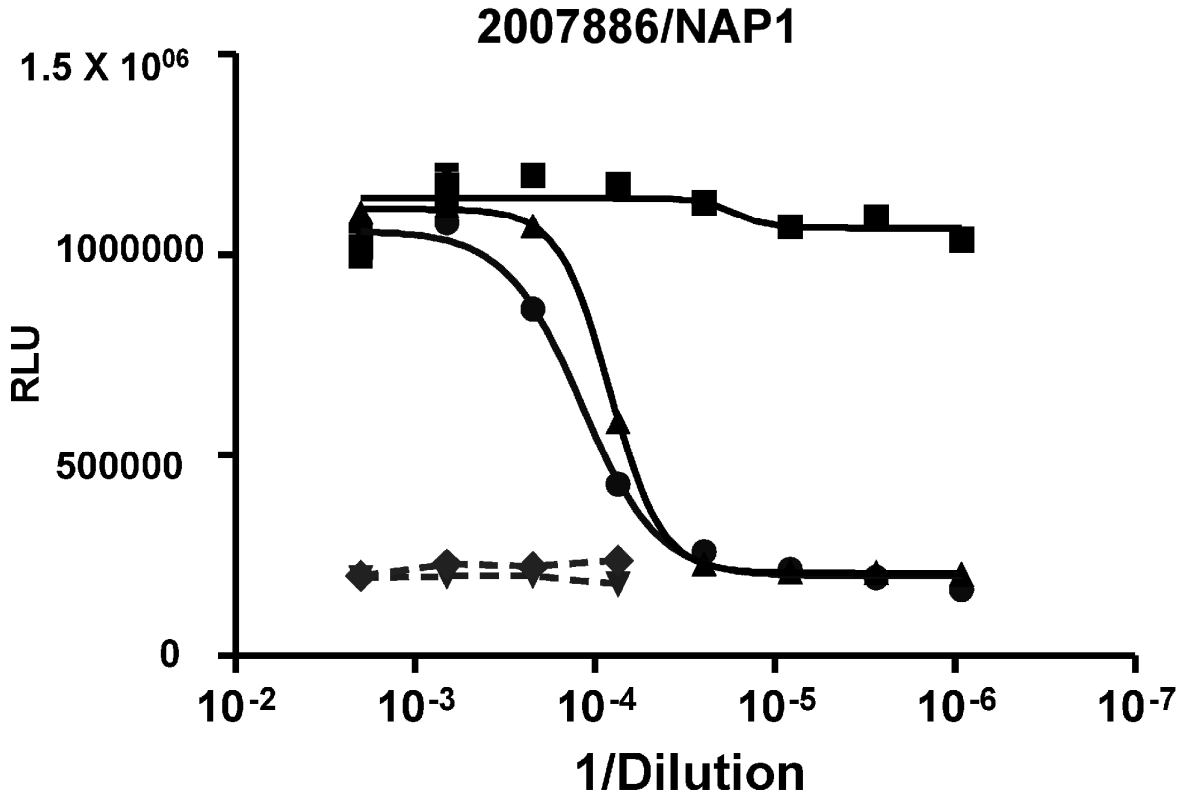


FIG. 23G

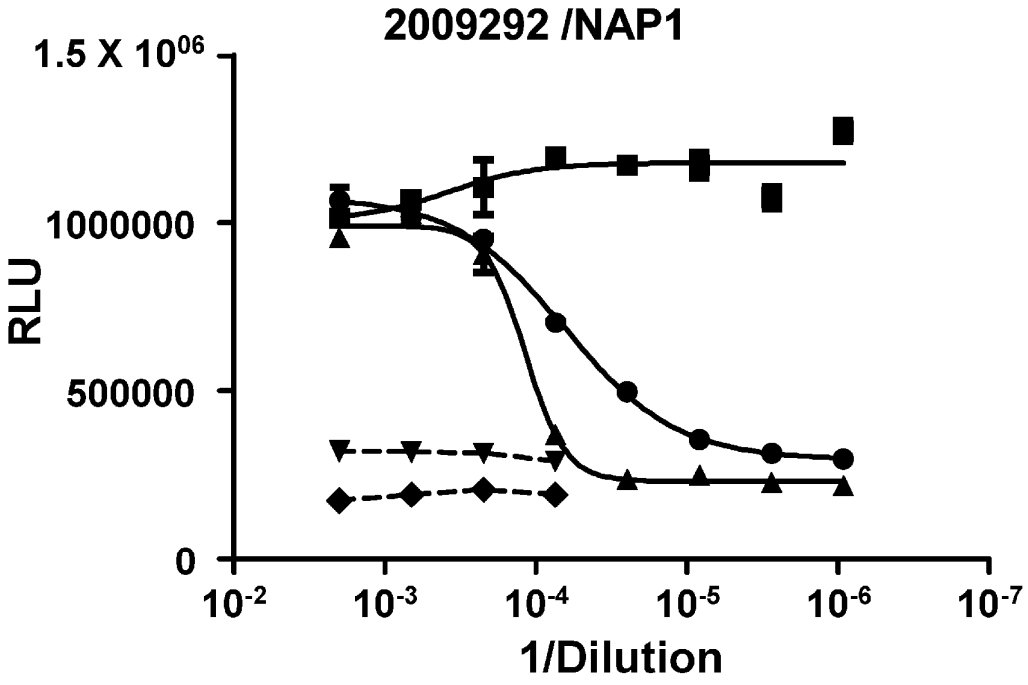


FIG. 23H

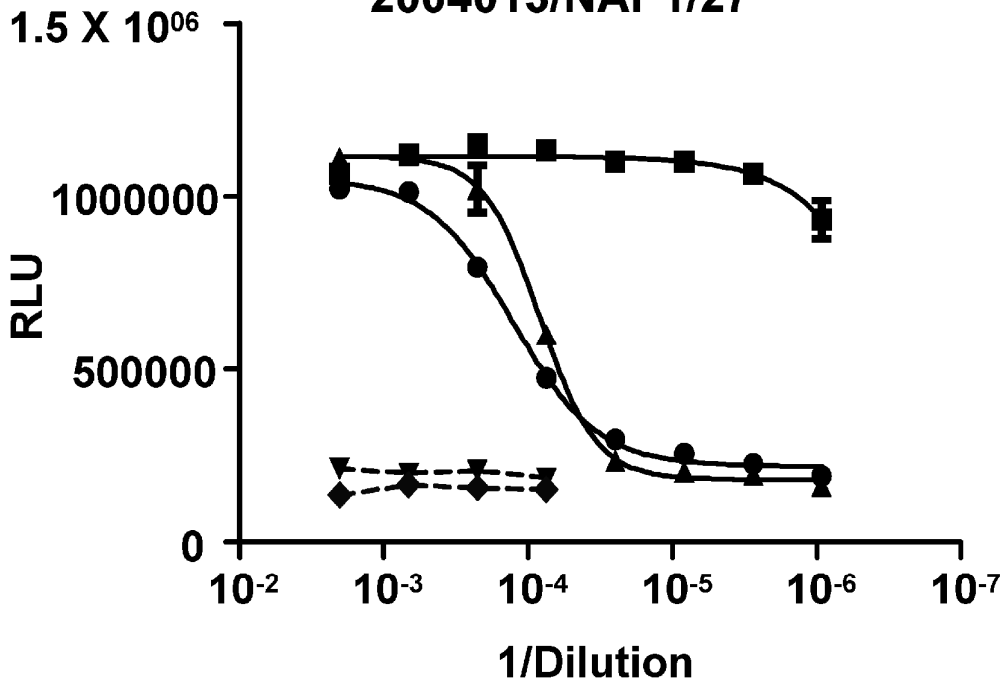


FIG. 23 I

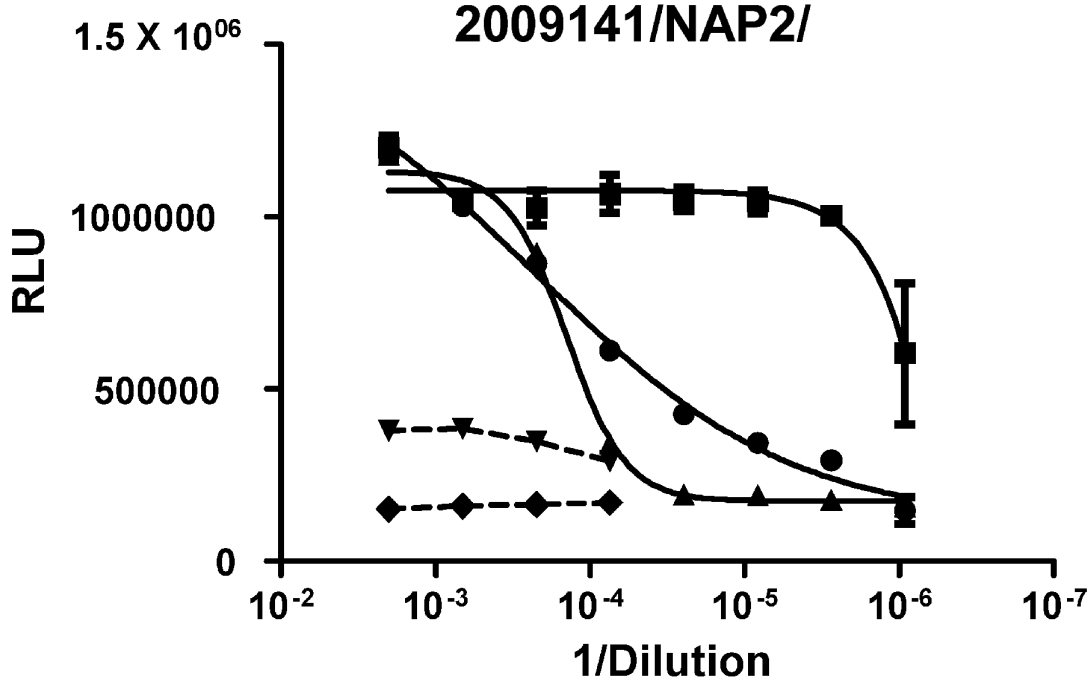


FIG. 23J

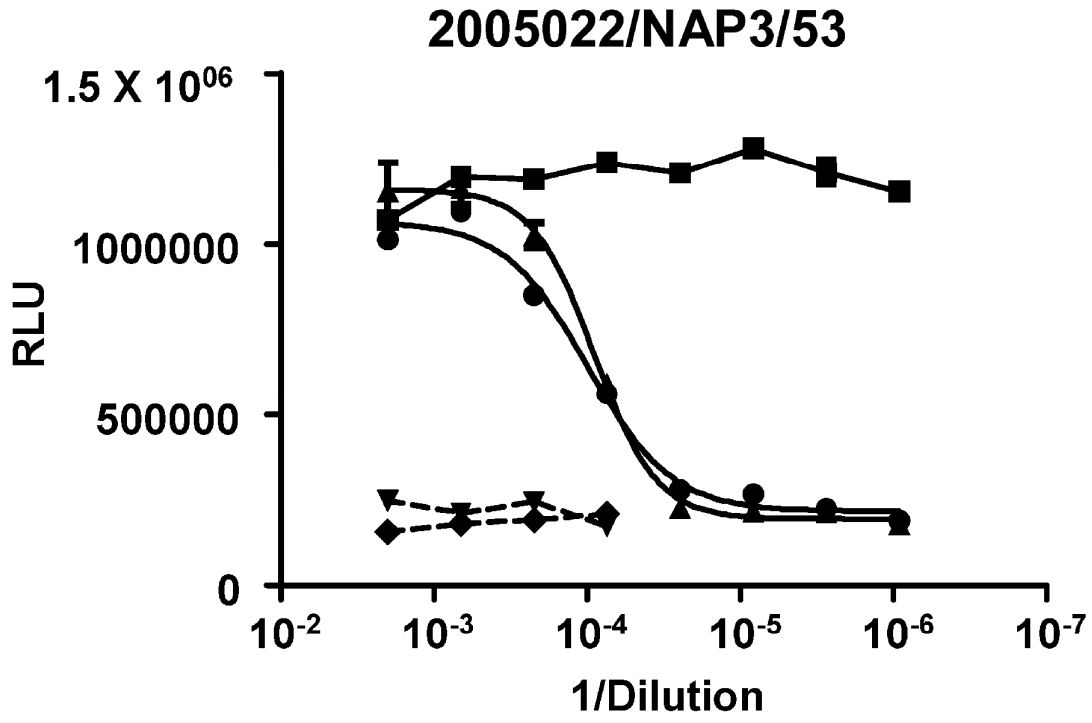


FIG. 23K

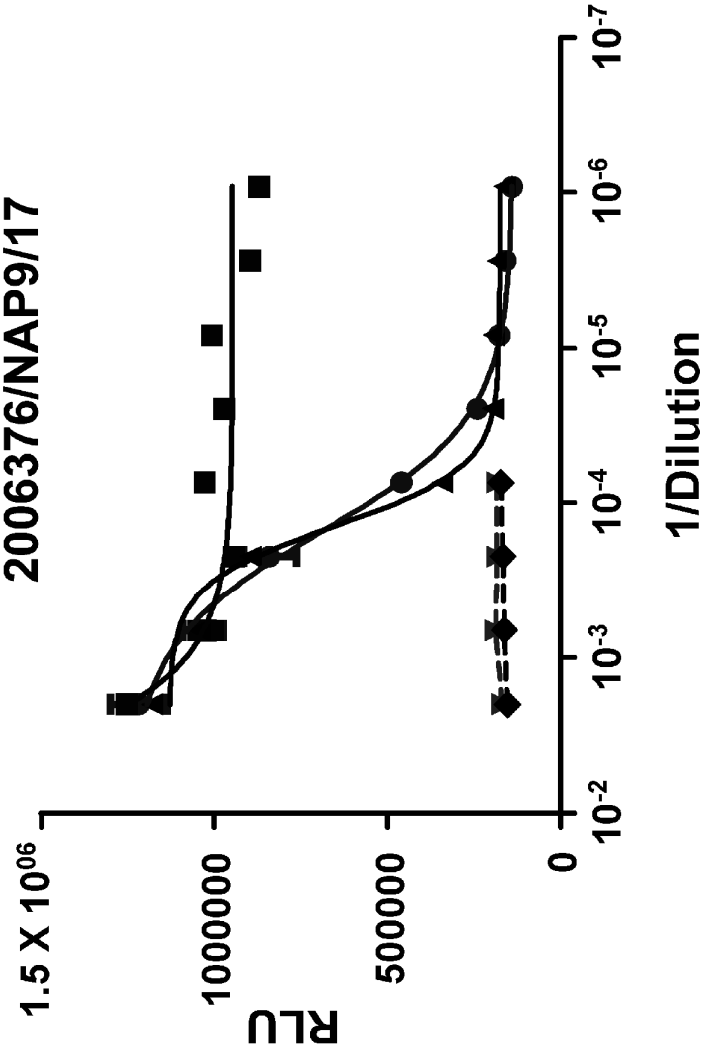

2006376/NAP9/17
RLU
1.5 X 10^06
1000000
500000
0
10^-2
10^-3
10^-4
10^-5
10^-6
10^-7
1/Dilution

FIG. 24A

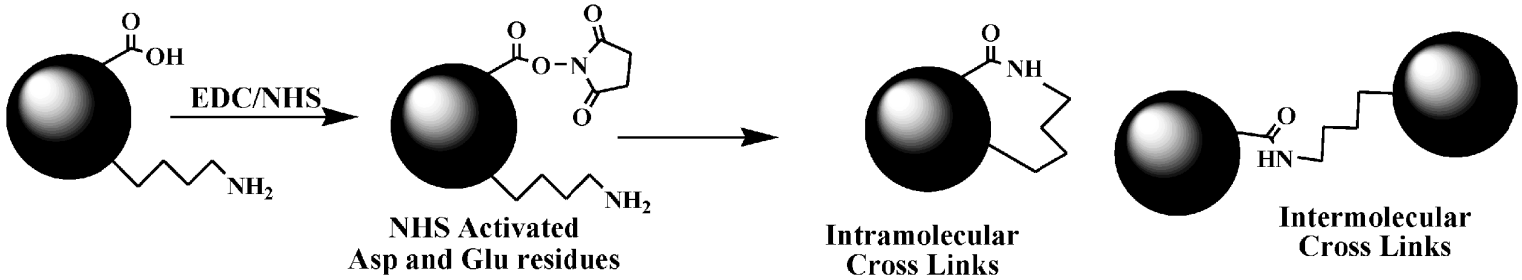


FIG. 24B

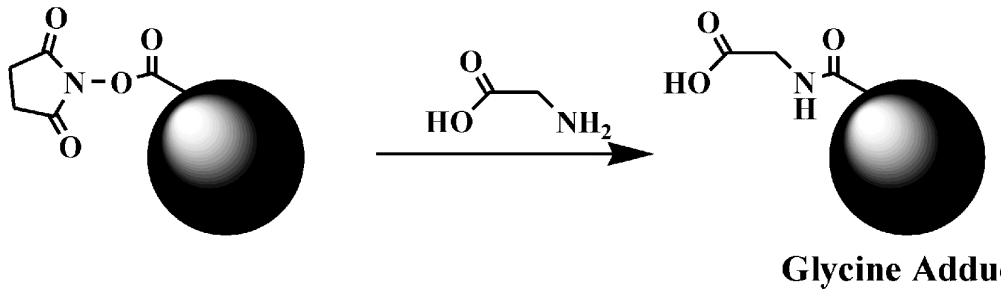
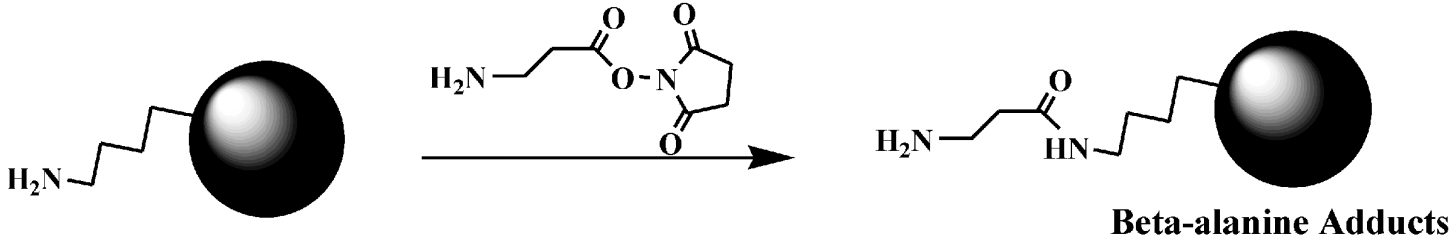


FIG. 24C



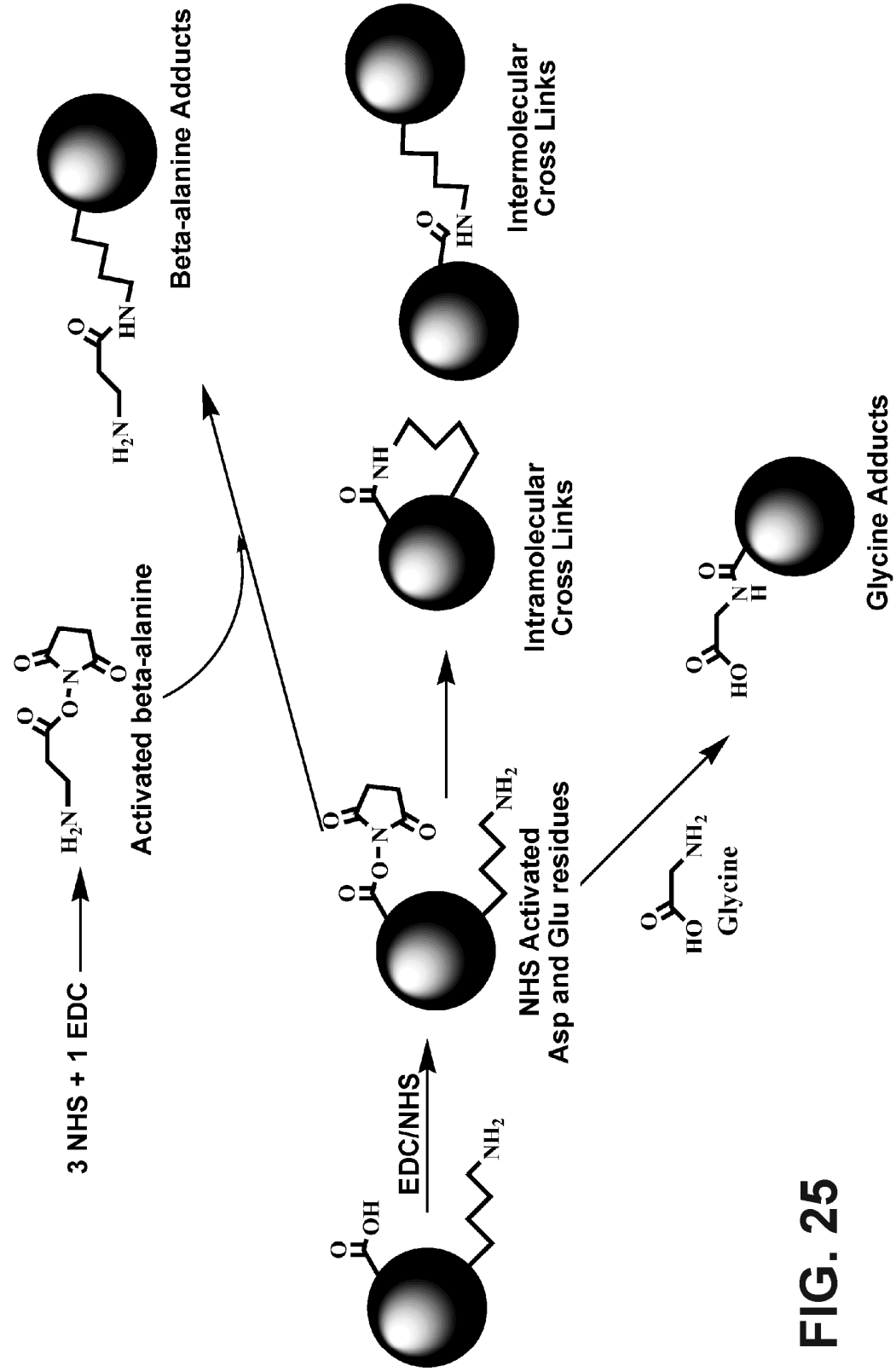

3 NHS + 1 EDC
Activated beta-alanine
Beta-alanine Adducts
EDC/NHS
NHS Activated
Asp and Glu residues
Intramolecular
Cross Links
Intermolecular
Cross Links
Glycine
Glycine Adducts

FIG. 25

PC71726A

COMPOSICIONES RELACIONADAS CON UNA TOXINA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE MUTANTE Y SUS MÉTODOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud provisional de la patente estadounidense 61/478,474, presentada el 22 de abril de 2011, y la Solicitud provisional de la patente estadounidense 61/478,899, presentada el 25 de abril de 2011. Los contenidos completos de las solicitudes mencionadas anteriormente se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.

CAMPO

La presente invención se refiere a composiciones referidas a toxinas de *Clostridium difficile* mutante y sus métodos.

ANTECEDENTES

Clostridium difficile (*C. difficile)* es una bacteria anaeróbica grampositiva que se asocia con enfermedad gastrintestinal en los seres humanos. La colonización de un *C. difficile* se produce usualmente en el colon si la flora intestinal natural está disminuida por el tratamiento con antibióticos. Una infección puede llevar a una diarrea asociada con antibiótico y algunas veces a colitis pseudomembranosa a través de la secreción de las toxinas glicosilantes, toxina A y toxina B (308 y 270 kDa, respectivamente), que son los factores de virulencia primarios del *C. difficile*.

La toxina A y toxina B están codificadas dentro del locus de patogenicidad de 19 kb (PaLoc) por los genes *tcdA* y *tcdB*, respectivamente. Las cepas no patogénicas del *C. difficile* tiene este locus reemplazado con una secuencia del par de bases 115 alternativa.

La toxina A y toxina B son citotoxinas potentes. Estas proteínas son glucosiltransferasas homólogas que inactivan GTPasas pequeñas de la familia Rho/Rac/Ras. La alteración resultante de la señalización causa una pérdida de uniones célula–célula, desregulación del citoesqueleto de actina, y/o apoptosis, que producen diarrea secretora profunda que se asocia con las infecciones con *Clostridium difficile* (CDI).

En la última década, las cantidades y gravedad de los brotes de *C. difficile* en los hospitales, hogares de ancianos y otros servicios de atención de largo plazo aumentaron drásticamente. Los factores clave en esta escala incluyen la aparición de cepas patogénicas hipervirulentas, aumento de uso de antibióticos, mejores métodos

de detección y aumento de la exposición a las esporas trasmitidas en el aire en los servicios de atención de la salud.

Metronidazol y vancomica representan el estándar de atención aceptado actualmente para el tratamiento antibiótico de la enfermedad asociada con *C. difficile* (CDAD). Sin embargo, aproximadamente 20% de los pacientes que reciben tal tratamiento experimentan una recurrencia de la infección después de un primer episodio de CDI, y hasta aproximadamente 50% de los pacientes que sufren de recurrencias adicionales. El tratamiento de las recurrencias representa un desafío muy importante, y la mayor parte de las recurrencias usualmente se produce dentro de un mes del episodio precedente.

Por consiguiente, se necesitas composiciones inmunogénicas y/o terapéuticas y los métodos de estas dirigidos al *C. difficile*.

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

Estos y otros objetivos son provistos por la invención en la presente.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante. La toxina A de C. difficile mutante incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje A. En una forma de realización, al menos un aminoácido de la toxina A de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente.

En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptido incluye al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

En una forma de realización, al menos un aminoácido de la toxina de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente.

En una forma de realización, el al menos un aminoácido aminoácido está entrecruzado químicamente por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), N-hidroxisuccinate, o una combinación de EDC y NHS.

En una forma de realización, la composición inmunogénica es reconocida por un anticuerpo neutralizante anti-toxina correspondiente o fragmento de unión de este.

En una forma de realización, la composición inmunogénica exhibe disminución de la citotoxicidad, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene la SEQ ID NO: 29, que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 285 y 287, y un dominio de cisteína proteasa que tiene la SEQ ID NO: 32, que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 158, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje A, donde al menos un aminoácido de la toxina A de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, donde al menos un aminoácido de la toxina A de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente.

En aún otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO: 8.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante B. La toxina de C. difficile mutante B incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje B.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptido incluye una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante B, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene la SEQ ID NO: 31, que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 286 y 288, y un dominio de cisteína proteasa que tiene la SEQ ID NO: 33, que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 155, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje B, donde al menos un aminoácido de la toxina de C. difficile mutante B está entrecruzado químicamente.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de la toxina de C. difficile mutante B está entrecruzado químicamente.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, y una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada toxina de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente.

En un aspectos adicionales, la invención se refiere a una célula recombinante o su progenie, que incluye un polinucleótido que codifica cualquiera de las toxinas de C. difficile mutantes precedentes, donde la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

En otro aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este específico para una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante.

En un aspecto, la invención se refiere a un método de tratar una infección con C. difficile en un mamífero. El método incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, y una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada de las toxinas de C. difficile mutantes está entrecruzado por formaldehído.

En otro aspecto, el método de tratar una infección con C. difficile en un mamífero incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, y una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada de las toxinas de C. difficile mutantes está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y/o N-hidroxisuccinimida (NHS).

En un aspecto, la invención se refiere a un método de inducir una respuesta inmune a una infección con C. difficile en un mamífero. El método incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, y una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada de las toxinas de C. difficile mutantes está entrecruzado por formaldehído.

En otro aspecto, el método de inducir una respuesta inmune a una infección con C. difficile en un mamífero incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4, y una toxina de C. difficile mutante B, que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada de las toxinas de C. difficile mutantes está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y/o N-hidroxisuccinimida

(NHS).

En una forma de realización, los métodos de tratar o los métodos de inducir una respuesta inmune en un mamífero que lo necesita.

En una forma de realización, los métodos de tratar o los métodos de inducir una respuesta inmune incluyen un mamífero que ha tenido una infección recurrente con C. difficile.

En una forma de realización, los métodos de tratar o los métodos de inducir una respuesta inmune incluye la administración parenteral de la composición.

En una forma de realización, los métodos de tratar o los métodos de inducir una respuesta inmune incluyen una composición inmunogénica que también incluye un adyuvante.

En una forma de realización, el adyuvante incluye gel de hidróxido de aluminio y un oligonucleótido de Cpg. En otra forma de realización, el adyuvante incluye ISCOMATRIX.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye al menos una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o al menos una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido está modificada químicamente por glicina.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; y al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye un resto de glicina ligada a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos

un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye una cadena lateral de un segundo residuo de lisina del polipéptido está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido está ligada a un resto de glicina.

En una forma de realización, el polipéptido aislado tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

En un aspecto, la composición inmunogénica incluye un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde los polipéptidos tienen al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

En una forma de realización, el polipéptido incluye al menos uno cualquiera de: a) al menos un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico; y c) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

En una forma de realización, el polipéptido aislado tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

En un aspecto, la composición inmunogénica incluye un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y a) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a un resto de beta-alanina, y b) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a un resto de beta-alanina.

En una forma de realización, la composición inmunogénica incluye una cadena lateral de un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a una cadena

lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico, y donde un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

En una forma de realización, la composición inmunogénica incluye una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

En una forma de realización, la composición inmunogénica incluye una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

En una forma de realización, el polipéptido aislado tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

En un aspecto, la composición inmunogénica incluye un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84 y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86, donde cada polipéptido incluye a) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; c) un resto de beta-alanina ligada a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido; y d) un resto de glicina ligada a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido glutámico del polipéptido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1: Alineamiento de secuencia de la toxina de C. difficile tipo salvaje A de las cepas 630, VPI10463, R20291, CD196, y toxina A mutante que tiene la SEQ ID NO: 4, usando el alineamiento CLUSTALW, parámetros predeterminados.

Figura 2: Alineamiento de secuencia de la toxina de C. difficile tipo salvaje B de las cepas 630, VPI10463, R20291, CD196, y toxina B mutante que tiene la SEQ ID NO: 6, usando el alineamiento CLUSTALW, parámetros predeterminados.

Figura 3: Gráfico que muestra identificación de cepas de C. difficile negativas

para la toxina tipo salvaje. Los medios de cultivo de 13 cepas de C. difficile se analizaron por ELISA para la toxina A. Como se ilustra, siete cepas expresaron la toxina A y 6 cepas no (cepas 1351, 3232, 7322, 5036, 4811 y VPI 11186).

Figura 4 A y B: Resultados de SDS-PAGE que ilustran que la triple mutante A (SEQ ID NO: 4), doble mutante B (SEQ ID NO: 5), y triple mutante B (SEQ ID NO: 6) no glucosilan las Rac1 o RhoA GTPasas en un ensayo de glucosilación *in vitro* con UDP-^{14}C-glucosa; mientras que 10 µg a 1 ng de la toxina B tipo salvaje glucosila Rac1.

Figura 5: Transferencia Western que indica anulación de la actividad de cisteína proteasa en las toxinas A y B mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente), en comparación con la observación de fragmentos escindidos de toxinas A y B de tipo salvaje (SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente). Ver Ejemplo 13.

Figura 6: Gráficos que muestran que las triples toxinas A y B mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) exhiben citotoxicidad residual cuando se analizan a altas concentraciones (por ejemplo, aproximadamente 100 µg/ml) en un ensayo de citotoxicidad in vitro en las células IMR-90.

Figura 7: Gráfico que muestra que los valores de EC_{50} son similares para la triple toxina B mutante (SEQ ID NO: 6) y hepta toxina B mutante (SEQ ID NO: 8).

Figura 8: Gráfico que representa resultados de las pruebas de citotoxicidad *in vitro* en que los niveles de ATP (RLUs) se grafican contra concentraciones crecientes de la triple mutante TcdA (SEQ ID NO: 4)(panel superior) y triple mutante TcdB (SEQ ID NO: 6)(panel inferior). La citotoxicidad residual de las toxinas A y B mutantes se puede anular completamente con anticuerpos neutralizantes específicos para toxina A mutante (panel superior-pAb A y mAbs A3-25 + A60-22) y toxina B mutante (panel inferior-pAb B).

Figura 9: Imágenes de morfología celular de IMR-90 a 72 horas pos tratamiento. El panel A muestra célula control tratados simulados. El panel B muestra la morfología celular después del tratamiento con la mutante TcdB inactivada con formalina (SEQ ID NO: 6). El panel C muestra la morfología celular después del tratamiento con mutante TcdB inactivado de EDC (SEQ ID NO: 6). El panel D muestra la morfología celular después del tratamiento con toxina B tipo salvaje (SEQ ID NO: 2). El panel E muestra la morfología celular después del tratamiento con triple mutante TcdB (SEQ ID NO: 6). Se observaron resultados similares para los tratamientos con TcdA.

Figura 10: Gráfico que muestra títulos de anticuerpo neutralizante como se describe en el Ejemplo 25 (estudio muCdiff2010-06).

Figura 11: Gráfico que muestra títulos de anticuerpo neutralizante como se describe en el Ejemplo 26 (estudio muCdiff2010-07).

Figura 12: Gráfico que muestra las respuestas de anticuerpo neutralizante contra las toxinas A y B en hámsteres después de cuatro inmunizaciones como se describe en el Ejemplo 27 (estudio ham*C. difficile*2010-02)

Figura 13: Gráfico que muestra las respuestas de anticuerpo neutralizante en hámsteres después de la vacunación con toxinas mutantes genéticas inactivadas químicamente y Lista Biológica de toxoides, como se describe en el Ejemplo 27 (estudio ham*C. difficile*2010-02).

Figura 14: Curvas de supervivencia para tres grupos de hámsteres inmunizados en comparación con los controles no inmunizados, como se describe en el Ejemplo 28 (estudio ham*C. difficile*2010-02, continuación).

Figura 15: Gráfico que muestra la respuesta de anticuerpo neutralizante relativa contra diferentes formulaciones de toxinas mutantes de C. difficile en hámsteres (estudio ham*C. difficile*2010-03), como se describe en el Ejemplo 29.

Figura 16A-B: Gráficos que muestran respuesta de anticuerpo neutralizante relativa fuerte contra toxinas A y B mutantes genéticas químicamente modificadas (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) en cynomolgus macaques, como se describe en el Ejemplo 30.

Figura 17: Secuencias de aminoácidos de regiones variables de las cadenas liviana (VL) y pesada (HL) de A3-25 mAb IgE. Péptido señal – destacado; CDR – itálica y subrayado; Región constante – negrita y subrayado (secuencia completa no mostrada).

Figura 18: Gráfico que muestra titulación de los anticuerpos monoclonales de la toxina A individual en el ensayo de neutralización de toxina usando niveles de ATP (cuantificados por unidades luz relativas- RLU) como un indicador de viabilidad celular. En comparación con la toxina ($4xEC_{50}$) control, los mAb A80-29, A65-33, A60-22 y A3-25 tuvieron efectos neutralizantes crecientes sobre la toxina A con la concentración pero no para el nivel del control de anti-toxina A positivo de conejo. Los mAbs A50-10, A56-33, y A58-46 no neutralizaron la toxina A. La célula solo control fue 1 -1,5x10^6 RLUs.

Figura 19: Mapeo de 8 grupos de epitopes de los mAbs de la toxina B por BiaCore

Figura 20A-C: Actividades neutralizantes sinérgicas de combinaciones de mAb de toxina A: la adición de diferentes diluciones de anticuerpos neutralizantes A60-22,

A65-33, y A80-29 a las concentraciones crecientes de mAb A3-25 aumentaron sinérgicamente la neutralización de la toxina A independientemente de la dilución. Las RLU de la toxina A solo (4x EC_{50}) control se ilustra (<0,3x10^6) y los controles solo células fueron 2-2,5 x10^6 RLU descriptos en los gráficos mostrados en la Figura 20B y Figura 20C.

Figura 21: Actividades neutralizantes sinérgicas de los mAb de la toxina B: la neutralización de la toxina B por los mAbs 8-26, B60-2 y B59-3 se ilustra en la Figura 21A. La neutralización de la toxina B aumenta sinérgicamente después de la combinación de B8-26 con las diluciones de B59-3 (Figura 21B)

Figura 22: Transferencia Western que muestra que la expresión de Rac1 GTPasa se reduce en los extractos de toxina B mutante genética (SEQ ID NO: 6) de 24 a 96 horas, pero no los extractos tratados con la toxina B tipo salvaje (SEQ ID NO: 2). La transferencia también muestra que Rac1 se glucosila en los extractos tratados con toxina B, pero no en los extractos tratados con la toxina B mutante.

Figura 23A-K: Gráfico que representa los resultados de las pruebas de citotoxicidad *in vitro* en que los niveles de ATP (RLU) se grafican contra las concentraciones crecientes de medio de cultivo de *C. difficile* y la mezcla de suero de hámster (▪); toxina bruta (recolección de cultivo) de la cepa respectiva y la mezcla de suero de hámster (●); toxina purificada (toxina comercial obtenida de la Lista de productos biológicos) y la mezcla de suero de hámster (▲); toxina bruta (▼), control; y toxina purificada (◆), control. Las toxinas de las cepas respectivas se añadieron a las células en valores de 4xEC_{50}. La Figura 23 muestra que una composición inmunogénica que incluye la mutante TcdA (SEQ ID NO: 4) y mutante TcdB (SEQ ID NO: 6), donde las toxinas mutantes se inactivaron con EDC, de acuerdo con, por ejemplo, Ejemplo 29, Tabla 15, que se describe en la presente, indujo los anticuerpos neutralizantes que exhibieron actividad neutralizante contra las toxinas de al menos las siguientes 16 diferentes cepas CDC de *C. difficile*, en comparación con la respectivo control solo toxina: 2007886 (Figura 23A); 2006017 (Figura 23B); 2007070 (Figura 23C); 2007302 (Figura 23D); 2007838 (Figura 23E); 2007886 (Figura 23F); 2009292 (Figura 23G); 2004013 (Figura 23H); 2009141 (Figura 23I); 2005022 (Figura 23J); 2006376 (Figura 23K).

Figura 24: Ilustración de un ejemplo de inactivación de EDC/NHS de las toxinas de C. difficile mutantes, que producen al menos tres posibles tipos de modificaciones: entrecruzamientos, aductos de glicina, y aductos de beta-alanina. El panel A ilustra el entrecruzamiento. Los residuos carboxílicos de las toxinas triple mutantes se activan

por la adición de EDC y NHS. Los ésteres activados reaccionan con aminas primarias para formar enlaces amida estables, lo que produce entrecruzamientos intra- e intermoleculares. El panel B ilustra la formación de aductos de glicina. Después de la inactivación, los ésteres activados residuales se inactivan por la adición de glicina para formar enlaces amida estables. El panel C ilustra la formación de aductos de beta-alanina. Tres moles de NHS pueden reaccionar con un mol de EDC para formar beta-alanina activada. Esta luego reacciona con las aminas primarias para formar enlaces amida estables.

Figura 25: Ilustración de un ejemplo de inactivación de EDC/NHS de las toxinas de C. difficile mutantes, que producen al menos uno de los siguientes tipos de modificaciones: (A) entrecruzamientos, (B) aductos de glicina, y (C) aductos de beta-alanina.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 expone la secuencia de aminoácidos para la toxina A de *C. difficile 630* tipo salvaje (TcdA).

SEQ ID NO: 2 expone la secuencia de aminoácidos para la toxina B de *C. difficile 630* tipo salvaje (TcdB).

SEQ ID NO: 3 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdA mutante que tiene una mutación de las posiciones 285 y 287, en comparación con SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 4 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdA mutante que tiene una mutación de las posiciones 285, 287, y 700, en comparación con SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 5 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdB mutante que tiene una mutación de las posiciones 286 y 288, en comparación con SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 6 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdB mutante que tiene una mutación de las posiciones 286, 288, y 698, en comparación con SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 7 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdA mutante que tiene una mutación de las posiciones 269, 272, 285, 287, 460, 462, y 700, en comparación con SEQ ID NO: 1

SEQ ID NO: 8 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdB mutante que tiene una mutación de las posiciones 270, 273, 286, 288, 461, 463, y 698, en comparación con SEQ ID NO: 2

SEQ ID NO: 9 expone una secuencia de ADN que codifica una toxina A de *C. difficile 630* (TcdA) tipo salvaje.

SEQ ID NO: 10 expone una secuencia de ADN que codifica una toxina B de *C. difficile 630* (TcdB) tipo salvaje.

SEQ ID NO: 11 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 3

SEQ ID NO: 12 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 4

SEQ ID NO: 13 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 5

SEQ ID NO: 14 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 6

SEQ ID NO: 15 expone la secuencia de aminoácidos para *C. difficile* R20291 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 16 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 15.

SEQ ID NO: 17 expone la secuencia de aminoácidos para *C. difficile* CD196 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 18 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 17.

SEQ ID NO: 19 expone la secuencia de aminoácidos *C. difficile* VPI10463 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 20 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 19.

SEQ ID NO: 21 expone la secuencia de aminoácidos *C. difficile* R20291 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 22 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 21.

SEQ ID NO: 23 expone la secuencia de aminoácidos *C. difficile* CD196 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 24 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 23.

SEQ ID NO: 25 expone la secuencia de aminoácidos *C. difficile* VPI10463 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 26 expone una secuencia de ADN que codifica SEQ ID NO: 25.

SEQ ID NO: 27 expone una secuencia de ADN de un locus de patogenicidad de *C. difficile* VPI10463 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 28 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 101 a 293 de la SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 29 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 1 a 542 de la SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 30 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 101 a 293 de la SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 31 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 1 a 543 de la SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 32 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 543 a 809 de la SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 33 expone la secuencia de aminoácidos para los residuos 544 a 767 de la SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 34 expone la secuencia de aminoácidos para una mutante TcdA, donde los residuos 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, y 700 pueden ser cualquier aminoácido.

SEQ ID NO: 35 expone la secuencia de aminoácidos para una mutante TcdB, donde 102, 270, 273, 286, 288, 384, 461, 463, 520, 543, 544, 587, 600, 653, 698, y 751 pueden ser cualquier aminoácido.

SEQ ID NO: 36 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante del TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 37 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 38 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena liviana variable del anticuerpo neutralizante de TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 39 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena liviana variable del anticuerpo neutralizante del TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 40 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena liviana variable del anticuerpo neutralizante del TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 41 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena pesada variable del anticuerpo neutralizante de TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 42 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena pesada variable del anticuerpo neutralizante del TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 43 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena pesada variable del anticuerpo neutralizante del TcdA de C. difficile (A3-25 mAb).

SEQ ID NO: 44 expone una secuencia de ADN que codifica la SEQ ID NO: 3.

SEQ ID NO: 45 expone una secuencia de ADN que codifica la SEQ ID NO: 4.

SEQ ID NO: 46 expone una secuencia de ADN que codifica la SEQ ID NO: 5.

SEQ ID NO: 47 expone una secuencia de ADN que codifica la SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 48 expone la secuencia de nucleótidos del oligonucleótido inmunoestimulatorio ODN CpG 24555.

SEQ ID NO: 49 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante del TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 50 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 51 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 52 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 53 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena

pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 54 expone la secuencia de aminoácidos para la región constante de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 55 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 56 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 57 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 58 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 59 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb).

SEQ ID NO: 60 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 61 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 62 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 63 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 64 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 65 expone la secuencia de aminoácidos para la región constante de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 66 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 67 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).

SEQ ID NO: 68 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena

liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 69 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 70 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B59-3 mAb).
SEQ ID NO: 71 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 72 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 73 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 74 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 75 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 76 expone la secuencia de aminoácidos para la región constante de la cadena pesada variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 77 expone la secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 78 expone la secuencia de aminoácidos para el péptido señal de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 79 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR1 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 80 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR2 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 81 expone la secuencia de aminoácidos para la CDR3 de la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B9-30 mAb).
SEQ ID NO: 82 expone la secuencia de aminoácidos para un mutante TcdB, donde un residuo de las posiciones 102, 270, 273, 286, 288, 384, 461, 463, 520, 543, 544, 587, 600, 653, 698, y 751 puede ser cualquier aminoácido.
SEQ ID NO: 83 expone la secuencia de aminoácidos para una TcdA mutante que tiene una mutación de las posiciones 269, 272, 285, 287, 460, 462, y 700, en comparación

con SEQ ID NO: 1, donde la metionina de la posición 1 está ausente.

SEQ ID NO: 84 expone la secuencia de aminoácidos para una toxina A de C. difficile mutante que tiene una mutación de las posiciones 285, 287, y 700, en comparación con SEQ ID NO: 1, donde la metionina de la posición 1 está ausente.

SEQ ID NO: 85 expone la secuencia de aminoácidos para una toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación de las posiciones 270, 273, 286, 288, 461, 463, y 698, en comparación con SEQ ID NO: 2, donde la metionina de la posición 1 está ausente.

SEQ ID NO: 86 expone la secuencia de aminoácidos para una toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación de las posiciones 286, 288, y 698, en comparación con SEQ ID NO: 2, donde la metionina de la posición 1 está ausente.

SEQ ID NO: 87 expone la secuencia de aminoácidos para *TcdA de C. difficile* 2004013 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 88 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2004111 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 89 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA de C. difficile 2004118 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 90 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA de C. difficile 2004205 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 91 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA de C. difficile 2004206. tipo salvaje

SEQ ID NO: 92 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2005022 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 93 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2005088 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 94 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2005283 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 95 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2005325 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 96 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2005359 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 97 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2006017 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 98 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007070 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 99 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007217 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 100 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007302 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 101 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007816 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 102 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007838 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 103 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007858 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 104 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2007886 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 105 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2008222 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 106 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2009078 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 107 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2009087 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 108 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2009141 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 109 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 2009292 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 110 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2004013 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 111 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2004111 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 112 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2004118 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 113 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2004205 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 114 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2004206 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 115 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2005022 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 116 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2005088

tipo salvaje.
SEQ ID NO: 117 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2005283 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 118 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2005325 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 119 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2005359 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 120 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2006017 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 121 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2006376 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 122 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007070 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 123 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007217 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 124 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007302 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 125 expone la secuencia de aminoácidos para C. difficile 2007816 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 126 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007838 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 127 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007858 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 128 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2007886 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 129 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2008222 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 130 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2009078 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 131 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2009087 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 132 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2009141 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 133 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 2009292 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 134 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 014 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 135 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 015 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 136 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 020 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 137 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 023 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 138 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 027 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 139 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 029 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 140 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 046 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 141 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 014 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 142 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 015 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 143 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 020 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 144 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 023 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 145 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 027 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 146 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 029 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 147 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 046 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 148 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 001 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 149 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 002 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 150 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 003 tipo salvaje.
SEQ ID NO: 151 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 004 tipo

salvaje.

SEQ ID NO: 152 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 070 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 153 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 075 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 154 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 077 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 155 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 081 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 156 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 117 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 157 expone la secuencia de aminoácidos para TcdA C. difficile 131 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 158 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 001 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 159 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 002 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 160 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 003 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 161 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 004 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 162 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 070 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 163 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 075 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 164 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 077 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 165 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 081 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 166 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 117 tipo salvaje.

SEQ ID NO: 167 expone la secuencia de aminoácidos para TcdB C. difficile 131 tipo salvaje.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los inventores descubrieron de modo sorprendente, entre otras cosas, una toxina A y toxina B de C. difficile mutante, y los métodos de estas. Las mutantes se caracterizan, en parte, por ser inmunogénica y exhibir citotoxicidad reducida en comparación con una forma de tipo salvaje de la toxina respectiva. La presente invención también se refiere a porciones inmunogénicas de estas, equivalentes biológicos de estos y polinucleótidos aislados que incluyen las secuencias de ácidos nucleicos que codifican alguna de las precedentes.

Las composiciones inmunogénicas descriptas en la presente demuestran de modo inesperado la capacidad de inducir nuevos anticuerpos neutralizantes contra las toxinas de *C. difficile* y pueden tener la capacidad de conferir protección activa y/o pasiva frente a la exposición a *C. difficile*. Los nuevos anticuerpos se dirigen contra varios epitopes de la toxina A y toxina B. Los inventores también descubrieron que una combinación de al menos dos de los anticuerpos monoclonales neutralizantes pueden exhibir un efecto inesperadamente sinérgico en la respectiva neutralización *in vitro* de la toxina A y toxina B.

Las composiciones de la invención descriptas en la presente, se pueden usar para tratar, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir las apariciones de, disminuir la gravedad de, y/o retrasar el comienzo de una infección con C. difficile, enfermedad asociada con *C. difficile* (CDAD), síndrome, afección, síntoma, y/o complicación de esta en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administró la composición.

Además, los inventores descubrieron una célula de *C. difficile* esporogénica recombinante que puede expresar en forma estable la toxina A y toxina B mutante de C. difficile, y nuevos métodos para producirlas.

Composiciones inmunogénicas

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante. La toxina de C. difficile mutante incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una mutación en un dominio de glucosiltransferasa y al menos una mutación en un dominio de cisteína proteasa, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje.

El término “tipo salvaje” como se usa en la presente, se refiere a la forma hallada en la naturaleza. Por ejemplo, una secuencia de polipéptidos o polinucleótidos tipo salvaje es una secuencia presente en un organismo que se puede aislar de una fuente de la naturaleza y que no se ha modificado intencionalmente por manipulación

humana. La presente invención también se refiere a los polinucleótidos aislados que incluyen las secuencias de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las precedentes. Además, la presente invención se refiere al uso de cualquiera de las composiciones precedentes para tratar, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma de *C. difficile* y/o sus complicaciones en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administra la composición, así como métodos para preparar dichas composiciones.

Como se usa en la presente, una “composición inmunogénica” o “inmunógeno” se refiere a una composición que induce una respuesta inmune en un mamífero al que se administra la composición.

Una “respuesta inmune" se refiere al desarrollo de una respuesta humoral (mediada por anticuerpo) y/o a celular (mediada por células T especificas del antígeno o sus productos de secreción) beneficiosa dirigida a una toxina de *C. difficile* en un paciente receptor. La respuesta inmune puede ser humoral, celular, o ambos.

La respuesta inmune puede ser una respuesta activa inducida por la administración de una composición inmunogénica, un inmunógeno. De modo alternativo, la respuesta inmune puede ser una respuesta pasiva inducida por la administración de anticuerpo o células T activadas.

La presencia de una respuesta inmune humoral (mediada por anticuerpo) se puede determinar, por ejemplo, por ensayos basados en células conocidos en la técnica, tal como un ensayo de anticuerpo neutralizante, ELISA, etc.

Una respuesta inmune celular normalmente es inducida por la presentación de epitopes polipeptídicos en asociación con moléculas de MHC Clase I o Clase II para activar células auxiliares T específicas del antígeno CD4 + y/o células T citotóxicas CD8+. La respuesta también puede involucrar la activación de monocitos, macrófagos, células NK, basófilos, células dendríticas, astrocitos, células microgliales, eosinófilos u otros componentes de la inmunidad innata. La presencia de una respuesta inmunológica mediada por células se puede determinar por ensayos de proliferación (células CD4+ T) o ensayos CTL (linfocitos T citotóxicos) conocidos en la técnica.

En una forma de realización, una composición inmunogénica es una composición de vacuna. Como se usa en la presente, una “composición de vacuna” es una composición que induce una respuesta inmune en un mamífero al que se administra la composición. La composición de vacuna puede proteger el mamífero inmunizado frente a la posterior exposición con un agente inmunizante o un agente de

reacción cruzada inmunológica. La protección puede ser completa o parcial con respecto a la reducción de los síntomas o la infección en comparación con un mamífero no vacunado en las mismas condiciones.

Las composiciones inmunogénicas descriptas en la presente con reactividad cruzada, la que se refiere a la una característica de poder inducir una respuesta inmune efectiva (por ejemplo, respuesta inmune humoral) contra una toxina producida por otra cepa de *C. difficile* que es diferente de la cepa de que se deriva de la composición. Por ejemplo, las composiciones inmunogénicas (por ejemplo, derivadas de *C. difficile* 630) que se describen en la presente pueden inducir anticuerpos con reactividad cruzada que se unen a las toxinas producidas por múltiples cepas de *C. difficile* (por ejemplo, toxinas producidas por *C. difficile* R20291 y VPI10463). Ver, por ejemplo, Ejemplo 37. La reactividad cruzada es indicativa de la potencial protección cruzada del inmunógeno bacteriano, y viceversa.

El término "protección cruzado" como se usa en la presente se refiere a la capacidad de la respuesta inmune inducida por una composición inmunogénica para prevenir o atenuar la infección por una cepa bacteriana diferente o especies del mismo género. Por ejemplo, una composición inmunogénica (por ejemplo, derivada de *C. difficile* 630) que se describe en la presente puede inducir una respuesta inmune efectiva en un mamífero para atenuar una infección con C. difficile y/o atenuar una enfermedad con *C. difficile* causada por una cepa diferente de 630 (por ejemplo, *C. difficile* R20291) en el mamífero.

Los ejemplos de mamíferos en que la composición inmunogénica o inmunógeno induce una respuesta inmune incluye cualquier mamífero, tal como, por ejemplo, ratones, hámsteres, primates, y seres humanos. En una forma de realización preferida, la composición inmunogénica o inmunógeno induce una respuesta inmune en un ser humano al que se administra la composición.

Como se describió anteriormente, la toxina A (TcdA) y toxina B (TcdB) son glucosiltransferasas homólogas que inactivan GTPasas pequeñas de la familia Rho/Rac/Ras. La acción de TcdA y TcdB sobre las células blanco de mamífero depende de un mecanismo multietapa de endocitosis mediada por receptor, translocación de membrana, procesamiento autoproteolítico, y monoglucosilación de GTPasas. Muchas de estas actividades funcionales se han asignado a regiones diferenciadas dentro de la secuencia primaria de las toxinas, y las toxinas se han visualizado para mostrar que estas moléculas son de estructura similar.

El gen tipo salvaje para TcdA tiene aproximadamente 8130 nucleótidos que

codifica una proteína que tiene un peso molecular deducida de aproximadamente 308-kDa, que tiene aproximadamente 2710 aminoácidos. Como se usa en la presente, una TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una TcdA de C. difficile de cualquier cepa de C. difficile tipo salvaje. Una TcdA de C. difficile tipo salvaje puede incluir una secuencia de aminoácidos de TcdA de C. difficile tipo salvaje que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con la SEQ ID NO: 1 (longitud completa) cuando se alinean óptimamente, tal como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas.

En una forma de realización preferida, la TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdA de la cepa de C. difficile 630 (también con el Número de acceso a GenBank YP_001087137,1 y/o CAJ67494,1). La cepa de C. difficile 630 es conocida en la técnica por ser una cepa PCR-ribotipo 012. La SEQ ID NO: 9 describe el gen tipo salvaje para la TdcA de la cepa de C. difficile 630, que también se describe en el número de acceso a GenBank NC_009089,1.

Otro ejemplo de una TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 15, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdA de la cepa de C. difficile R20291 (que también se describe en el número de acceso a GenBank YP_003217088,1). La cepa de C. difficile R20291 es conocida en la técnica por ser una cepa hipervirulenta y una cepa PCR-ribotipo 027. La secuencia de aminoácidos para TcdA de la cepa de C. difficile R20291 tiene aproximadamente 98% de identidad con la SEQ ID NO:1. La SEQ ID NO: 16 describe el gen tipo salvaje para la TdcA de cepa de C. difficile R20291, que también se describe en el número de acceso a GenBank NC_013316,1.

Un ejemplo adicional de una TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 17, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdA de la cepa de C. difficile CD196 (que también se describe en el número de acceso a GenBank CBA61156,1). CD196 es una cepa de un brote canadiense reciente, y es conocida en la técnica como una cepa PCR-ribotipo 027. La secuencia de aminoácidos para TcdA de la cepa de C. difficile CD196 tiene aproximadamente 98% de identidad con la SEQ ID NO: 1, y tiene aproximadamente 100% de identidad con TcdA de la cepa de C. difficile R20291. SEQ ID NO: 18 describe el gen tipo salvaje para la TdcA de cepa de C. difficile CD196, que también se

describe en el número de acceso a GenBank FN538970,1.

Otro ejemplos de una secuencia de aminoácidos para una TcdA de C. difficile tipo salvaje incluyen la SEQ ID NO: 19, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdA de la cepa de C. difficile VPI10463 (que también se describe en el número de acceso a GenBank CAA63564,1). La secuencia de aminoácidos para TcdA de la cepa de C. difficile VPI10463 tiene aproximadamente 100% (99,8%) de identidad con la SEQ ID NO: 1. La SEQ ID NO: 20 describe el gen tipo salvaje para la TdcA de cepa de C. difficile VPI10463, que también se describe en el número de acceso a GenBank X92982,1.

Los ejemplos adicionales de una TcdA de C. difficile tipo salvaje incluyen TcdA de las cepas de C. difficile tipo salvaje que se pueden obtener de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, GA). Los inventores descubrieron que la secuencia de aminoácidos de la TcdA de las cepas de C. difficile tipo salvaje que se pueden obtener de los CDC incluyen al menos aproximadamente 99,3% a 100% de identidad con, cuando se alinean óptimamente, a los residuos de aminoácidos 1 a 821 de la SEQ ID NO: 1 (TcdA de *C. difficile* 630). Ver Tabla 1.

Los inventores también descubrieron que la secuencia de aminoácidos de TcdA de las cepas de C. difficile tipo salvaje pueden incluir al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, a aproximadamente 100% de identidad con, cuando se alinean óptimamente (por ejemplo, cuando se alinean óptimamente las secuencias de longitud completa) a la SEQ ID NO: 1.

Tabla 1: Cepas de C. difficile tipo salvaje obtenidas de los CDC y el por ciento de identidad de los residuos de aminoácidos 1-821 de TcdA de la respectiva cepa de C. difficile tipo salvaje a los residuos de aminoácidos 1-821 de la SEQ ID NO: 1, cuando se alinean óptimamente.

Tabla 1: Cepas de *C. difficile* tipo salvaje de CDC	
Cepa *C. difficile* ID	% de identidad de aminoácidos aproximada a los residuos 1-821 de la SEQ ID NO: 1
2004111	100
2004118	99,6
2004205	100
2004206	100
2005325	99,3
2005359	99,6
2006017	100
2007070	100
2007302	100
2007816	99,3

2007838	99,6
2007886	99,6
2008222	100
2009078	100
2009087	100
2009141	100
2009292	99,6

Por consiguiente, en una forma de realización, la secuencia de aminoácidos de TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una secuencia de al menos aproximadamente 500, 600, 700, o 800 residuos contiguos, que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99%, o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con una secuencia de igual longitud entre los residuos 1 a 900 de la SEQ ID NO: 1 cuando se alinean óptimamente, tal como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas. Los ejemplos incluyen las cepas descriptas anteriormente (por ejemplo, R20291, CD196, etc) y las listadas en la Tabla 1.

En otra forma de realización, la secuencia de aminoácidos de TcdA de C. difficile tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, con preferencia aproximadamente 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con alguna de las secuencias seleccionadas de las SEQ ID NOs: 87-109 cuando se alinean óptimamente. Ver Tabla 1-a.

Tabla 1-a: Cepas de *C. difficile* tipo salvaje	
ID de cepa de C. difficile	Toxina A, SEQ ID NO:
2004013	SEQ ID NO: 87
2004111	SEQ ID NO: 88
2004118	SEQ ID NO: 89
2004205	SEQ ID NO: 90
2004206	SEQ ID NO: 91
2005022	SEQ ID NO: 92
2005088	SEQ ID NO: 93
2005283	SEQ ID NO: 94
2005325	SEQ ID NO: 95
2005359	SEQ ID NO: 96
2006017	SEQ ID NO: 97
2006376	N/A
2007070	SEQ ID NO: 98
2007217	SEQ ID NO: 99

Tabla 1-a: Cepas de *C. difficile* tipo salvaje	
ID de cepa de C. difficile	Toxina A, SEQ ID NO:
2007302	SEQ ID NO: 100
2007816	SEQ ID NO: 101
2007838	SEQ ID NO: 102
2007858	SEQ ID NO: 103
2007886	SEQ ID NO: 104
2008222	SEQ ID NO: 105
2009078	SEQ ID NO: 106
2009087	SEQ ID NO: 107
2009141	SEQ ID NO: 108
2009292	SEQ ID NO: 109
001	SEQ ID NO: 148
002	SEQ ID NO: 149
003	SEQ ID NO: 150
012 (004)	SEQ ID NO: 151
014	SEQ ID NO: 134
015	SEQ ID NO: 135
017	
020	SEQ ID NO: 136
023	SEQ ID NO: 137
027	SEQ ID NO: 138
029	SEQ ID NO: 139
046	SEQ ID NO: 140
053	
059	
070	SEQ ID NO: 152
075	SEQ ID NO: 153
077	SEQ ID NO: 154
078	
081	SEQ ID NO: 155
087	
095	
106	
117	SEQ ID NO: 156
126	
131	SEQ ID NO: 157

El gen tipo salvaje para TcdB tiene aproximadamente 7098 nucleótidos que codifican una proteína un peso molecular deducido de aproximadamente 270 kDa, que tiene aproximadamente 2366 aminoácidos. Como se usa en la presente, una TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una TcdB de C. difficile de cualquier cepa de C. difficile tipo salvaje. Una TcdB de C. difficile de tipo salvaje puede incluir una secuencia de aminoácidos tipo salvaje que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con la SEQ ID NO: 2 cuando se alinean óptimamente, tal como por

los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas. En una forma de realización preferida, la TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdB de la cepa de C. difficile 630 (que también se describe en el número de acceso a GenBank YP_001087135,1 y/o CAJ67492). La SEQ ID NO: 10 describes el gen tipo salvaje para la TcdB de la cepa de C. difficile 630, que también se describe en el número de acceso a GenBank NC_009089,1.

Otro ejemplo de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 21, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdB de la cepa de C. difficile R20291 (que también se describe en el número de acceso a GenBank YP_003217086.1 y/o CBE02479.1). La secuencia de aminoácidos para TcdB de la cepa de C. difficile R20291 tiene aproximadamente 92% de identidad con la SEQ ID NO: 2. La SEQ ID NO: 22 describes el gen tipo salvaje para la TcdB de la cepa de C. difficile R20291, que también se describe en el número de acceso a GenBank NC_013316,1.

Un ejemplo adicional de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 23, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdB de la cepa de C. difficile CD196 (que también se describe en el número de acceso a GenBank YP_003213639,1 y/o CBA61153.1). La SEQ ID NO: 24 describe el gen tipo salvaje para la TcdB de la cepa de C. difficile CD196, que también se describe en el número de acceso a GenBank NC_013315.1. La secuencia de aminoácidos para TcdB de la cepa de C. difficile CD196 tiene aproximadamente 92% de identidad con la SEQ ID NO: 2.

Otros ejemplos de una secuencia de aminoácidos para una TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluyen la SEQ ID NO: 25, que describe la secuencia de aminoácidos tipo salvaje para TcdB de la cepa de C. difficile VPI10463 (que también se describe en el número de acceso a GenBank P18177 y/o CAA37298). La secuencia de aminoácidos para TcdB de la cepa de C. difficile VPI10463 tiene 100% de identidad con la SEQ ID NO: 2. La SEQ ID NO: 26 describe el gen tipo salvaje para la TcdB de la cepa de C. difficile VPI10463, que también se describe en el número de acceso a GenBank X53138.1.

Ejemplos adicionales de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluyen la TcdB de las cepas de C. difficile tipo salvaje que se pueden obtener de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, GA). Los inventores descubrieron que la secuencia de aminoácidos de TcdB las cepas de C. difficile tipo salvaje que se

pueden obtener de los CDC incluyen al menos aproximadamente 96% a 100% de identidad con, cuando se alinean óptimamente, a los residuos de aminoácido 1 a 821 de la SEQ ID NO: 2 (TcdB de *C. difficile* 630). Ver Tabla 2.

Tabla 2: Cepas de C. difficile tipo salvaje obtenidos de los CDC y el % de identidad de los residuos de aminoácidos 1-821 de TcdB de la respectiva cepa de C. difficile tipo salvaje a los residuos de aminoácidos 1-821 de la SEQ ID NO: 2, cuando se alinean óptimamente.

Tabla 2: Cepas de C. difficile tipo salvaje de CDC	
ID de cepa de C. difficile	% de identidad de aminoácido aproximada a los residuos 1-821 de la SEQ ID NO: 2
2004013	96,0
2004111	100
2004118	96,0
2004206	100
2005022	100
2005325	96,7
2007302	100
2007816	96,7
2008222	100
2009078	100
2009087	100
2009141	100

Por consiguiente, en una forma de realización, una Secuencia de aminoácidos de TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una secuencia de al menos aproximadamente 500, 600, 700, o 800 residuos contiguos, que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, con preferencia aproximadamente 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con una secuencia de igual longitud entre los residuos 1 a 900 de la SEQ ID NO: 2 cuando se alinean óptimamente, tal como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas. Los ejemplos incluyen las cepas descriptas anteriormente (por ejemplo, R20291, CD196, etc.) y los listados en la Tabla 2.

En otra forma de realización, la secuencia de aminoácidos de TcdB de C. difficile de tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, con preferencia aproximadamente 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con cualquier secuencia

seleccionada de las SEQ ID NOs: 110-133 cuando se alinean óptimamente. Ver Tabla 2-a.

Tabla 2-a Cepas de C. difficile tipo salvaje	
ID de cepa de C. difficile	Toxina B, SEQ ID NO:
2004013	SEQ ID NO: 110
2004111	SEQ ID NO: 111
2004118	SEQ ID NO: 112
2004205	SEQ ID NO: 113
2004206	SEQ ID NO: 114
2005022	SEQ ID NO: 115
2005088	SEQ ID NO: 116
2005283	SEQ ID NO: 117
2005325	SEQ ID NO: 118
2005359	SEQ ID NO: 119
2006017	SEQ ID NO: 120
2006376	SEQ ID NO: 121
2007070	SEQ ID NO: 122
2007217	SEQ ID NO: 123
2007302	SEQ ID NO: 124
2007816	SEQ ID NO: 125
2007838	SEQ ID NO: 126
2007858	SEQ ID NO: 127
2007886	SEQ ID NO: 128
2008222	SEQ ID NO: 129
2009078	SEQ ID NO: 130
2009087	SEQ ID NO: 131
2009141	SEQ ID NO: 132
2009292	SEQ ID NO: 133
001	SEQ ID NO: 158
002	SEQ ID NO: 159
003	SEQ ID NO: 160
012 (004)	SEQ ID NO: 161
014	SEQ ID NO: 141
015	SEQ ID NO: 142
017	
020	SEQ ID NO: 143
023	SEQ ID NO: 144
027	SEQ ID NO: 145
029	SEQ ID NO: 146
046	SEQ ID NO: 147
053	
059	
070	SEQ ID NO: 162
075	SEQ ID NO: 163
077	SEQ ID NO: 164
078	
081	SEQ ID NO: 165
087	
095	
106	

Tabla 2-a Cepas de C. difficile tipo salvaje	
ID de cepa de C. difficile	Toxina B, SEQ ID NO:
117	SEQ ID NO: 166
126	
131	SEQ ID NO: 167

Los genes para las toxinas A y B (*tcdA* y *tcdB*) son parte de un locus genético de 19,6-kb (el locus de patogenicidad, PaLoc) que incluye 3 pequeños marcos de lectura abiertos (ORF) adicionales, *tcdD, tcdE*, y *tcdC*, y se pueden considerar útiles para determinar la virulencia. El PaLoc es conocido por ser estable y conservado en las cepas toxigénicas. Está presente en el mismo sitio de integración cromosómico en todas las cepas toxigénicas que se han analizado hasta la fecha. En cepas no toxigénicas, el locus de patogenicidad (PaLoc) no está presente. Por consiguiente, una característica de las cepas de C. difficile tipo salvaje que se describen en la presente es la presencia de un locus de patogenicidad. Otra característica preferida de las cepas de C. difficile tipo salvaje que se describen en la presente es la producción de TcdA y TcdB.

En una forma de realización, la cepa de C. difficile tipo salvaje es una cepa que tiene un locus de patogenicidad que es al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% idéntico al *C. difficile* 630 o VPI10463. La secuencia del locus de patogenicidad total del *C. difficile* VPI10463, se registra en la base de datos EMBL con el número de acceso de secuencia X92982, también mostrada en la SEQ ID NO: 26. Las cepas en que el PaLoc es idéntico al de la cepa de referencia VPI10463 se denominan como toxinotipo 0. Las cepas de toxinotipos I-VII, IX, XII-XV, y XVIII-XXIV producen TcdA y TcdB a pesar de las variaciones en sus genes de toxina.

En el extremo N-terminal de las toxinas, se ubica el dominio de glucosiltransferasa. La actividad de glucosiltransferasa de las toxinas se asocia con la función citotóxica de las toxinas. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, se considera que la actividad de glucosiltransferasa en ambas toxinas cataliza la monoglucosilación de proteínas de unión a GTP pequeñas en la superfamilia de Rho/Rac/Ras. Después de la glucosilación de estas proteínas de unión de GTP, la fisiología celular se modifica drásticamente, lo que produce una pérdida de integridad estructural y alteración de las vías de señalización esencial de las células huésped infectadas por las toxinas. El motivo Asp-Xaa-Asp (DXD), que está involucrado con la unión de manganeso, uridina difosfato (UDP), y la glucosa, es una característica típica para el dominio de

glucosiltransferasa. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, se considera que los residuos críticos para la actividad catalítica, tales como el motivo DXD, no varía entre una TcdB de una cepa "histórica" conocida, tal como 630, y una TcdB de una cepa hipervirulenta, tal como R20291. El motivo DXD se ubica en los residuos 285 a 287 de una TcdA de C. difficile tipo salvaje, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1, y en los residuos 286 a 288 de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

Los algoritmos de alineamiento global (por ejemplo, programas de análisis de secuencia) son conocidos en la técnica y se pueden usar para alinear óptimamente dos o más secuencias de aminoácidos de la toxina para determinar si la toxina incluye un motivo distintivo particular (por ejemplo, DXD en el dominio de glucosiltransferasa, DHC en el dominio de cisteína proteasa que se describe a continuación, etc.). Las secuencias alineadas óptimamente(s) se comparan con una secuencia de referencia respectiva (por ejemplo, SEQ ID NO:1 para la TcdA o SEQ ID NO: 2 para TcdB) para determinar la existencia del motivo distintivo. "Alineamiento óptimo" se refiere a un alineamiento que da la puntación de por ciento de identidad más alto. Tal alineamiento se puede realizar usando programas de análisis de secuencia conocidos. En una forma de realización, un alineamiento CLUSTAL (tales como CLUSTALW) con parámetros predeterminados se usa para identificar toxinas tipo salvaje adecuadas por la comparación de la secuencia incógnita contra la secuencia de referencia. La numeración relativa de los residuos de aminoácidos conservados se basa en la numeración de residuos de la secuencia de aminoácidos de referencia para tomar en cuenta las inserciones o supresiones pequeñas (por ejemplo, cinco aminoácidos o menos) dentro de la secuencia alineada.

Como se usa en la presente, el término "de acuerdo con la numeración de" se refiere a la numeración de los residuos de una secuencia de referencia cuando la secuencia de aminoácidos o polinucleótidos dada se compara con la secuencia de referencia. En otras palabras, el número o posición del residuo de un polímero dado se denomina con respecto a la secuencia de referencia más que por la posición numérica real de los residuos dentro de la secuencia de aminoácidos o polinucleótidos dada.

Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos dada, tal como la de una cepa hipervirulenta de C. difficile tipo salvaje, se puede alinear a una secuencia de referencia (por ejemplo, tal como la de una cepa histórica de C. difficile tipo salvaje, por ejemplo, 630) por la introducción de brechas, si es necesario, para optimizar las coincidencias de residuos entre las dos secuencias. En estos casos, aunque estén

presentes las brechas, la numeración del residuo en la secuencia de aminoácidos o polinucleótidos dada se realiza con respecto a la secuencia de referencia a la que se ha alineado. Como se usa en la presente, una “secuencia de referencia” se refiere a una secuencia definida usada como una base para la comparación de secuencia.

A menos que se indique de otro modo, todas las referencias de la presente a las posiciones de aminoácidos de una TcdA se refieren a la numeración de la SEQ ID NO: 1. A menos que se indique de otro modo, todas las referencias de la presente a las posiciones de aminoácidos de una TcdB se refieren a la numeración de la SEQ ID NO: 2.

El dominio de glucosiltransferasa de TcdA, como se usa en la presente, puede comenzar en un residuo ejemplificativo 1, 101, o 102, y puede terminar en un residuo ejemplificativo 542, 516, o 293 de una TcdA de C. difficile tipo salvaje, por ejemplo, SEQ ID NO: 1. Cualquier posición de residuo mínima se puede combinar con una posición de residuo máxima entre los residuos 1 y 542 de TcdA para definir una secuencia para el dominio de glucosiltransferasa siempre que se incluya la región del motivo DXD. Por ejemplo, en una forma de realización, el dominio de glucosiltransferasa de TcdA incluye la SEQ ID NO: 27, que es idéntico a los residuos 101-293 de la SEQ ID NO: 1, e incluye la región del motivo DXD. En otra forma de realización, el dominio de glucosiltransferasa de TcdA incluye la SEQ ID NO: 28, que es idéntico a residuos 1-542 de la SEQ ID NO: 1.

El dominio de glucosiltransferasa de TcdB, como se usa en la presente, puede comenzar en un residuo ejemplificativo 1, 101, o 102, y puede terminar en un residuo ejemplificativo 543, 516, o 293 de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje, por ejemplo, SEQ ID NO: 2. Cualquier posición de residuo mínima se puede combinar con una posición de residuo máxima entre residuos 1 y 543 de TcdB para definir una secuencia para el dominio de glucosiltransferasa siempre que se incluya la región del motivo DXD. Por ejemplo, en una forma de realización, el dominio de glucosiltransferasa del TcdB incluye la SEQ ID NO: 29, que es idéntico a residuos 101-293 de la SEQ ID NO: 2, e incluye la región del motivo DXD. En otra forma de realización, el dominio de glucosiltransferasa de TcdB incluye la SEQ ID NO: 30, que es idéntico a residuos 1-543 de la SEQ ID NO: 2.

Sin esta ligado por teoría o mecanismo, se considera que el extremo N--terminal TcdA y/o TcdB es escinde por un proceso autoproteolítico para el dominio de glucosiltransferasa que transloca y libera en el citosol de la célula huésped, donde interactúa con Rac/Ras/Rho GTPasas. Se ha mostrado que la TcdA de C. difficile tipo

salvaje se escinde entre L542 y S543. Se ha demostrado que la TcdB de C. difficile de tipo salvaje se escinde entre L543 y G544.

El dominio de cisteína proteasa se asocia con la actividad proteolítica autocatalítica de la toxina. El dominio de cisteína proteasa se ubica corriente abajo del dominio de glucosiltransferasa y se puede caracterizar por la triada catalítica aspartato, histidina, y cisteína (*DHC*), por ejemplo, D589, H655, y C700 de una TdcA tipo salvaje, y D587, H653, y C698 de una TdcB tipo salvaje. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, se considera que la triada catalítica están conservada entre una toxina de una cepa "histórica", tal como 630, y una TcdB de una cepa hipervirulenta, tales como R20291.

El dominio de cisteína proteasa de la TcdA, como se usa en la presente, puede comenzar en un residuo ejemplificativo 543, y puede terminar en un residuo ejemplificativo 809 769, 768, o 767 de una TdcA tipo salvaje, por ejemplo, SEQ ID NO: 1. Cualquier posición de residuo mínima se puede combinar con una posición de residuo máxima entre 543 y 809 de una TdcA tipo salvaje para definir una secuencia para el dominio de cisteína proteasa siempre que se incluya la región del motivo de DHC de la triada catalítica. Por ejemplo, en una forma de realización, el dominio de cisteína proteasa de la TcdA incluye la SEQ ID NO: 32, que tiene la región del motivo de DHC ubicada en los residuos 47, 113, y 158 de la SEQ ID NO: 32, que corresponde respectivamente a D589, H655, y C700 de una TdcA tipo salvaje de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1. La SEQ ID NO: 32 es idéntica a los residuos 543 a 809 de la SEQ ID NO: 1, TcdA.

El dominio de cisteína proteasa de la TcdB, como se usa en la presente, puede comenzar en un residuo ejemplificativo 544, y puede terminar en un residuo ejemplificativo 801, 767, 755, o 700 de una TdcB tipo salvaje, por ejemplo, SEQ ID NO: 2. Cualquier posición de residuo mínima se puede combinar con una posición de residuo máxima entre 544 y 801 de una TdcB tipo salvaje para definir una secuencia para el dominio de cisteína proteasa siempre que se incluya la región del motivo de DHC de la triada catalítica. Por ejemplo, en una forma de realización, el dominio de cisteína proteasa de la TcdB incluye la SEQ ID NO: 33, que incluye la región del motivo de DHC ubicada en los residuos 44, 110, y 115 de la SEQ ID NO: 33, que corresponde respectivamente a D587, H653, y C698 de una TdcB tipo salvaje de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 33 es idéntica a residuos 544 a 767 de la SEQ ID NO: 2, TcdB. En otra forma de realización, el dominio de cisteína proteasa de la TcdB incluye residuos 544-801 de la SEQ ID NO: 2, TcdB.

En la presente invención, la composición inmunogénica incluye una toxina de C. difficile mutante. El término “mutante,” como se usa en la presente, se refiere a una molécula que exhibe una estructura o secuencia que difiere de la correspondiente estructura o secuencia tipo salvaje, por ejemplo, por tener entrecruzamientos en comparación con la correspondiente estructura tipo salvaje y/o por tener al menos una mutación, en comparación con la correspondiente secuencia tipo salvaje cuando se alinean óptimamente, tales como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas. El término “mutante” como se usa en la presente también incluye una molécula que exhibe una propiedad funcional (por ejemplo, actividad de glucosiltransferasa anulada y/o de cisteína proteasa anulada) que difiere de la correspondiente molécula tipo salvaje.

Una toxina de C. difficile de cualquiera de las cepas tipo salvaje cepas descriptas antes se puede usar como una fuente de la cual se produce una toxina de C. difficile mutante. Con preferencia, *C. difficile* 630 es la fuente de la cual se produce una toxina de C. difficile mutante.

La mutación puede involucrar una sustitución, supresión, truncamiento o modificación del residuo de aminoácido tipo salvaje normalmente localizado en esta posición. Con preferencia, la mutación es una sustitución no conservadora de aminoácidos. La presente invención también contempla polinucleótidos aislados que incluyen las secuencias de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las toxinas mutantes que se describen en la presente.

Una sustitución “no conservadora” de aminoácidos, como se usa en la presente, se refiere a un intercambio de un aminoácido de una clase para un aminoácido de otra clase, de acuerdo con la siguiente Tabla 3:

Tabla 3: Clases de aminoácido	
Clase	Aminoácido
No polar:	Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Met (M), Phe (F), Trp (W)
Polar no cargado:	Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
Ácido:	Asp (D), Glu (E)
Básico:	Lys (K), Arg (R), His (H)

Los ejemplos de una sustitución no conservadora de aminoácidos incluyen una sustitución donde un residuo de ácido aspártico (Asp, D) se reemplaza con un residuo de alanina (Ala, A). Otros ejemplos incluyen el reemplazo de un residuo de ácido aspártico (Asp, D) con un residuo de asparagina (Asn, N); reemplazo con un residuo de arginina (Arg, R), ácido glutámico (Glu, E), lisina (Lys, K), y/o histidina (His, H) con un residuo de alanina (Ala, A).

Una sustitución conservadora se refiere a un intercambio entre los aminoácidos de la misma clase, por ejemplo, de acuerdo con la Tabla 3.

Las toxinas mutantes de la invención se pueden preparar por técnicas conocidas en la técnica para preparar mutaciones, tales como, por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis usando un mutágeno (por ejemplo, luz UV), etc. Con preferencia, se usa mutagénesis dirigida al sitio. De modo alternativo, una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia objetiva se puede sintetizar directamente. Tales métodos de síntesis química son conocidos en la técnica.

En la presente invención, la toxina de C. difficile mutante incluye al menos una mutación en un dominio de glucosiltransferasa, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. En una forma de realización, el dominio de glucosiltransferasa incluye al menos dos mutaciones. Con preferencia, la mutación disminuye o anula la actividad de enzima glucosiltransferasa de la toxina, en comparación con la actividad de la enzima glucosiltransferasa de la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje.

Los ejemplos de residuos de aminoácidos en un dominio de glucosiltransferasa de TcdA que pueden experimentar una mutación incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: W101, D269, R272, D285, D287, E460, R462, S541, y L542, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

Los ejemplos de mutaciones en un dominio de glucosiltransferasa de TcdA incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: W101A, D269A, R272A, D285A, D287A, E460A, R462A, S541A, y L542G, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje. En una forma de realización preferida, el dominio de glucosiltransferasa de TcdA incluye una mutación L542G, en comparación con una TcdA de C. difficile tipo salvaje. En otra forma de realización preferida, el dominio de glucosiltransferasa de la TcdA incluye una mutación D285A y una D287A, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje.

Los ejemplos de residuos de aminoácidos en un dominio de glucosiltransferasa de la TcdB que puede experimentar una mutación incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: W102, D270, R273, D286, D288, N384, D461, K463, W520, y L543, en comparación con a toxina de C. difficile tipo salvaje B, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

Los ejemplos de mutaciones en un dominio de glucosiltransferasa de TcdB incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: W102A,

D270A, D270N, R273A, D286A, D288A, N384A, D461A, D461R, K463A, K463E, W520A, y L543A, en comparación con una TcdB de C. difficile de tipo salvaje. En una forma de realización preferida, el dominio de glucosiltransferasa de la TcdB incluye a L543A, en comparación con una TcdB de C. difficile de tipo salvaje. En otra forma de realización preferida, el dominio de glucosiltransferasa de la TcdB incluye una Mutación D286A y una D288A, en comparación con una TcdB de C. difficile de tipo salvaje.

Alguna de las mutaciones que se describieron anteriormente en la presente se puede combinar con una mutación en un dominio de cisteína proteasa. En la presente invención, la toxina de C. difficile mutante incluye al menos una mutación en un dominio de cisteína proteasa, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. Con preferencia, la mutación disminuye o anula la actividad de cisteína proteasa de la toxina, en comparación con la actividad de cisteína proteasa de la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje.

Los ejemplos de residuos de aminoácidos en un dominio de cisteína proteasa de la TcdA que pueden experimentar una mutación incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: S543, D589, H655, y C700, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1. Los ejemplos de mutaciones en un dominio de glucosiltransferasa de la TcdA incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: S543A, D589A, D589N, H655A, C700A, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje. En una forma de realización preferida, el dominio de cisteína proteasa de la TcdA incluye una mutación C700A, en comparación con a TcdA de C. difficile tipo salvaje.

Los ejemplos de residuos de aminoácidos en un dominio de cisteína proteasa de la TcdB que pueden experimentar una mutación incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: G544, D587, H653, y C698, en comparación con a TcdB de C. difficile de tipo salvaje, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2. Los ejemplos de mutaciones en un dominio de glucosiltransferasa de la TcdB incluyen al menos uno de los siguientes, o cualquier combinación de estos: G544A, D587A, D587N, H653A, C698A, en comparación con una TcdB de C. difficile de tipo salvaje. En una forma de realización preferida, el dominio de cisteína proteasa de TcdB incluye una mutación C698A, en comparación con una TcdB de C. difficile de tipo salvaje. Los residuos de aminoácidos adicionales en un dominio de cisteína proteasa de la TcdB que pueden experimentar una mutación incluyen: K600 y/o R751,

en comparación con una TdcB tipo salvaje. Los ejemplos de mutaciones incluyen K600E y/o R751E.

Por consiguiente, la toxina de C. difficile mutante de la invención incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje.

Un ejemplo de TcdA de C. difficile mutante incluye un dominio de glucosiltransferasa que incluye la SEQ ID NO: 29 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 285 y 287, y un dominio de cisteína proteasa que comprende la SEQ ID NO: 32 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 158, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje A. Por ejemplo, tal TcdA de C. difficile mutante incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde la metionina inicial opcionalmente no está presente. En otra forma de realización, la toxina A de C. difficile mutante de la invención incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84.

Otros ejemplos de una toxina A de C. difficile mutante incluyen la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7, que tiene una mutación D269A, R272A, D285A, D287A, E460A, R462A, y C700A, en comparación con la SEQ ID NO: 1, donde la metionina inicial opcionalmente no está presente. En otra forma de realización, la toxina A de C. difficile mutante de la invención incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 83.

Otro ejemplo de TcdA mutante incluye la SEQ ID NO: 34, donde el residuo de las posiciones 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, y 700 puede ser cualquier aminoácido.

En algunas formas de realización, la toxina de C. difficile mutante exhibe procesamiento autoproteolítico disminuido o anulado en comparación con la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. Por ejemplo, una TcdA de C. difficile mutante puede incluir una mutación en uno de los siguientes residuos, o cualquier combinación de estos: S541, L542 y/o S543, en comparación con la correspondiente TcdA de C. difficile tipo salvaje. Con preferencia, la TcdA de C. difficile mutante incluye al menos una de las siguientes mutaciones, o cualquier combinación de estos: S541A, L542G, y S543A, en comparación con la correspondiente TcdA de C. difficile tipo salvaje.

Otro ejemplo de TcdA de C. difficile mutante incluye una mutación S541A, L542, S543 y C700, en comparación con la correspondiente TcdA de C. difficile tipo

salvaje.

Un ejemplo de toxina de C. difficile mutante B incluye un dominio de glucosiltransferasa que comprende la SEQ ID NO: 31 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 286 y 288, y un dominio de cisteína proteasa que comprende la SEQ ID NO: 33 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 155, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje B. Por ejemplo, tal mutante TcdB de C. difficile incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde la metionina inicial opcionalmente no está presente. En otra forma de realización, la toxina A de C. difficile mutante de la invención incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86.

Otros ejemplos de una mutante TcdB de C. difficile incluyen la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8, que tiene una mutación D270A, R273A, D286A, D288A, D461A, K463A, y C698A, en comparación con la SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 8 donde la metionina inicial opcionalmente no está presente. En otra forma de realización, la toxina A de C. difficile mutante de la invención incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 85.

Otro ejemplo de mutante TcdB incluye la SEQ ID NO: 35, donde el residuo de las posiciones 101, 269, 272, 285, 287, 460, 462, 541, 542, 543, 589, 655, y 700 puede ser cualquier aminoácido.

A modo de otro ejemplo, una mutante TcdB de C. difficile puede incluir una mutación de las posiciones 543 y/o 544, en comparación con la correspondiente TcdB de C. difficile de tipo salvaje. Con preferencia, la TcdB de C. difficile mutante incluye una mutación L543 y/o G544, en comparación con la correspondiente TcdB de C. difficile de tipo salvaje. Con más preferencia, la TcdB de C. difficile mutante incluye una mutación L543G y/o G544A, en comparación con la correspondiente TcdB de C. difficile de tipo salvaje.

Otro ejemplo de mutante TcdB de C. difficile incluye una mutación L543G, G544A y C698 en comparación con la correspondiente TcdB de C. difficile de tipo salvaje.

En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene una mutación en cualquier posición del residuo de aminoácido 1 a 1500 de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2, para definir un ejemplo de toxina de C. difficile mutante B. Por ejemplo, en una forma de realización, el polipéptido aislado incluye una mutación entre los residuos de aminoácidos 830 y 990 de la SEQ ID NO: 2. Los ejemplos de posiciones para las mutaciones incluyen las posiciones 970 y 976 de

acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2. Con preferencia, la mutación entre los residuos 830 y 990 es una sustitución. En una forma de realización, la mutación es una sustitución no conservadora donde un residuo de aminoácido Asp (D) y/o Glu (E) se reemplazan con un residuo de aminoácido que no está neutralizado después de la acidificación, tales como, por ejemplo, lisina (K), arginina (R), e histidina (H). Los ejemplos de mutaciones incluyen: E970K, E970R, E970H, E976K, E976R, E976H de la SEQ ID NO: 2, para definir una toxina de C. difficile mutante B.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene una mutación en cualquier posición del residuo de aminoácido 1 a 1500 de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1, para definir un ejemplo de toxina A de C. difficile mutante. Por ejemplo, en una forma de realización, el polipéptido aislado incluye una mutación entre los residuos de aminoácidos 832 y 992 de la SEQ ID NO: 1. Los ejemplos de posiciones para las mutaciones incluyen las posiciones 972 y 978 de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1. Con preferencia, la mutación entre los residuos 832 y 992 es una sustitución. En una forma de realización, la mutación es una sustitución no conservadora donde un residuo de aminoácido Asp (D) y/o Glu (E) se reemplazan con un residuo de aminoácido que no está neutralizado después de la acidificación, tales como, por ejemplo, lisina (K), arginina (R), e histidina (H). Los ejemplos de mutaciones incluyen: D972K, D972R, D972H, D978K, D978R, D978H de la SEQ ID NO: 1, para definir una toxina A de C. difficile mutante.

Los polipéptidos de la invención pueden incluir un residuo de metionina inicial, en algunos casos como resultado de un proceso mediado por la célula huésped. De acuerdo con, por ejemplo, la célula huésped usada en un procedimiento de producción recombinante y/o condiciones de fermentación o cultivo de la célula huésped, se sabe en la técnica que la metionina N-terminal codificada por el codón de iniciación de traducción se puede eliminar de un polipéptido después de la traducción en las células o la metionina N-terminal puede permanecer presente en el polipéptido aislado.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En una forma de realización, la metionina inicial de la SEQ ID NO: 4 está ausente. En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84, que es idéntico a SEQ ID NO: 4, excepto por la ausencia de la metionina inicial.

En otro aspecto, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos

expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En una forma de realización, la metionina inicial de la SEQ ID NO: 6 está ausente. En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86, que es idéntico a SEQ ID NO: 6, excepto por la ausencia de la metionina inicial.

En un aspecto adicional, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En una forma de realización, la invención se refiere a un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 83, que es idéntico a SEQ ID NO: 7, excepto por la ausencia de la metionina inicial. En aún otro aspecto, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En una forma de realización, el polipéptido aislado incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 85, que es idéntico a SEQ ID NO: 8, excepto por la ausencia de la metionina inicial.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 7, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente. En aún otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 8, donde la metionina inicial (de la posición 1) opcionalmente no está presente.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 83. En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84. En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 85. En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86.

Además de generar una respuesta inmune en un mamífero, las composiciones inmunogénicas que se describen en la presente también tienen citotoxicidad reducida en comparación con la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. Con preferencia, las composiciones inmunogénicas son seguras y tienen mínima (por ejemplo, aproximadamente una reducción de 6-8 $\log_{10}$) a ninguna citotoxicidad, con respecto al citotoxicidad de una respectiva toxina tipo salvaje, para administración en

mamíferos.

Como se usa en la presente, el término citotoxicidad es un término conocido en la técnica y se refiere a la muerte celular apoptótica y/o un estado en que una o más funciones bioquímicas o biológicas usuales de una célula están comprometidas de modo aberrante, en comparación con una célula idéntica en condiciones idénticas pero en ausencia del agente citotóxico. La toxicidad se puede cuantificar, por ejemplo, en las células o en mamíferos como la cantidad un agente necesaria para inducir 50% de muerte celular (es decir, EC_{50} o ED_{50}, respectivamente) o por métodos conocidos en la técnica.

Los ensayos para indicar citotoxicidad son conocidos en la técnica, tales como ensayos de redondeado celular (ver, por ejemplo, Kuehne et al. Nature. 2010 Oct 7;467(7316):711-3). La acción de TcdA y TcdB causa que las células se redondeen (por ejemplo, pierden morfología) y mueran, tal fenómeno es visible por microscopía óptica. Ver, por ejemplo, Figura 9.

Los ejemplos de ensayo de citotoxicidad adicionales conocidos en la técnica incluyen ensayo de glucosilación relacionado con los ensayos de fósforo para visualización de imágenes de Ras marcado con [^{14}C]glucosa (descriptos en Busch et al., J Biol Chem. 1998 Jul 31;273(31):19566-72), y con preferencia el ensayo de citotoxicidad in vitro descripto en los siguientes Ejemplos donde la EC_{50} puede referirse a una concentración de una composición inmunogénica que exhibe al menos aproximadamente 50% del efecto citopatogénico (CPE) en una célula, con preferencia una célula de fibroblastos diploide humana (por ejemplo, célula IMR90 (ATCC CCL-186™), en comparación con una célula idéntica en condiciones idénticas en ausencia de la toxina. El ensayo de citotoxicidad in vitro también se puede usar para evaluar la concentración de una composición que inhibe al menos aproximadamente 50% de un efecto citopatogénico inducido por C. difficile tipo salvaje (CPE) en una célula, con preferencia una célula de fibroblastos diploide humana (por ejemplo, célula IMR90 (ATCC CCL-186™), en comparación con una célula idéntica en condiciones idénticas en ausencia de la toxina. Los ejemplos de ensayos de citotoxicidad adicionales incluyen los descriptos en Doern et al., J Clin Microbiol. 1992 Aug;30(8):2042-6. La citotoxicidad también se puede determinar por la medición de los niveles de ATP en células tratadas con toxina. Por ejemplo, se puede usar un sustrato basado en luciferasa tal como CELLTITERGLO® (Promega), que emite luminiscencia medida como una unidad luminosa relativa (RLU). En tal ensayo, la viabilidad celular puede ser directamente proporcional a la cantidad de ATP en las células o los valores de

RLU.

En una forma de realización, la citotoxicidad de la composición inmunogénica se reduce en al menos aproximadamente 1000, 2000, 3000, 4000, 5000-, 6000-, 7000-, 8000-, 9000-, 10000-, 11000-, 12000-, 13000 veces, 14000 veces, 15000 veces, o más, en comparación con la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. Ver, por ejemplo, Tabla 20.

En otra forma de realización, la citotoxicidad de la composición inmunogénica se reduce en al menos aproximadamente 2-$\log_{10}$, con más preferencia en aproximadamente 3-$\log_{10}$, y con máxima preferencia en aproximadamente 4-$\log_{10}$ o más, con respecto a la correspondiente toxina tipo salvaje en condiciones idénticas. Por ejemplo, una TcdB de C. difficile mutante puede tener un valor de EC_{50} de aproximadamente 10^{-9} g/ml medido en un ensayo de efecto citopático estándar (CPE), en comparación con un ejemplo de TcdB de C. difficile de tipo salvaje que puede tener un valor de EC_{50} de al menos aproximadamente 10^{-12} g/ml. Ver, por ejemplo, Tablas 7A, 7B, 8A y 8B en la siguiente sección de Ejemplos.

En otra forma de realización más, la citotoxicidad de la toxina de C. difficile mutante tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml, 600 µg/ml, 700 µg/ml, 800 µg/ml, 900 µg/ml, 1000 µg/ml o mayor, medida por ejemplo, por un ensayo de citotoxicidad in vitro, tal como uno que se describe en la presente. Por consiguiente, en una forma de realización preferida, las composiciones inmunogénicas y toxinas mutantes son biológicamente seguras para la administración a los mamíferos.

Sin estar ligado por mecanismo o teoría, se esperó que una TcdA que tiene una mutación D285 y D287, en comparación con una TdcA tipo salvaje, y una TcdB que tiene una mutación D286 y a D288 en comparación con una TdcB tipo salvaje, sea deficientes en cuanto a la actividad de glicosiltransferasa y en consecuencia deficientes en la inducción de un efecto citopático. Además, se esperó que una toxina que tiene una mutación en el motivo DHC sea deficiente para el procesamiento autoacatalitico, y en consecuencia sin ningún efecto citotóxico.

Sin embargo, los inventores descubrieron de modo sorprendente, entre otras cosas, que el ejemplo de TcdA mutante que tiene la SEQ ID NO: 4 y el ejemplo de mutante TcdB que tiene la SEQ ID NO: 6 inesperadamente exhibieron citotoxicidad (aunque significativamente reducida respecto de las toxinas de *C. difficile* 630 tipo salvaje) a pesar de exhibir actividad de glucosiltransferasa disfuncional y actividad de cisteína proteasa disfuncional. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, se consideran

que las toxinas mutantes producen citotoxicidad a través de un mecanismo nuevo. No obstante, el ejemplo de TcdA mutante que tiene la SEQ ID NO: 4 y el ejemplo de la TcdB mutante que tiene la SEQ ID NO: 6 fueron sorprendentemente inmunogénicas. Ver Ejemplos siguientes.

Si bien el entrecruzamiento químico de una toxina tipo salvaje tiene potencial para fracasar en la inactivación de la toxina, los inventores también descubrieron que el entrecruzamiento químico de al menos un aminoácido de una toxina mutante también redujo la citotoxicidad de la toxina mutante, con respecto a una toxina mutante idéntica que carece de entrecruzamientos químicos, y con respecto a la correspondiente a la toxina tipo salvaje. Con preferencia, la toxina mutante se purifica antes del contacto con el agente de entrecruzamiento químico.

Además, a pesar del potencial de los agentes de entrecruzamiento químico de alterar los epitopes útiles, los inventores descubrieron de modo sorprendente que una toxina modificada genéticamente de C. difficile mutante que tiene al menos un aminoácido entrecruzado químicamente produjo composiciones inmunogénicas que indujeron múltiples anticuerpos neutralizantes o fragmentos de unión de estos. Por consiguiente, los epitopes asociados con las moléculas de anticuerpo neutralizante fueron inesperadamente retenidos después del entrecruzamiento químico.

El entrecruzamiento (también denominado como “inactivación química” o “inactivación” en la presente) es un proceso de unión química de dos o más moléculas por un enlace covalente. Los términos “reactivos de entrecruzamiento,” “agentes de entrecruzamiento” y “entrecruzadores” se refieren a moléculas que son capaces de reaccionar con y/o fijar químicamente a grupos funcionales específicos (aminas primarias, sulfhidrilos, carboxilos, carbonilos, etc) en péptidos, polipéptidos, y/o proteínas. En una forma de realización, la molécula puede contener do o más extremos reactivos que son capaces de reaccionar con y/o fijar químicamente a grupos funcionales específicos (aminas primarias, sulfhidrilos, carboxilos, carbonilos, etc.) en péptidos, polipéptidos, y/o proteínas. Con preferencia, el agente de entrecruzamiento químico es soluble en agua. En otra forma de realización preferida, el agente de entrecruzamiento químico es un agente de entrecruzamiento heterobifuncional. En otra forma de realización, el agente de entrecruzamiento químico no es un agente de entrecruzamiento bifuncional. Los agentes de entrecruzamiento químico son conocidos en la técnica.

En una forma de realización preferida, el agente de entrecruzamiento es un agente de entrecruzamiento de longitud cero. Un agente de entrecruzamiento de

"longitud cero" se refiere a un agente de entrecruzamiento que mediará o producirá un entrecruzamiento directo entre los grupos funcionales de dos moléculas. Por ejemplo, en el entrecruzamiento de dos polipéptidos, un agente de entrecruzamiento de longitud cero producirá la formación de un puente, o un entrecruzamiento entre un grupo carboxilo de una cadena lateral de aminoácidos de un polipéptido, y un grupo amino de otro polipéptido, sin integrar la materia intrínseca. Los agentes de entrecruzamiento de longitud cero pueden catalizar, por ejemplo, la formación de uniones éster entre restos hidroxilo y carboxilo y/o la formación de enlaces amida entre los restos carboxilo y amino primario.

Los ejemplos de agentes de entrecruzamiento químico adecuados incluyen formaldehído; formalina; acetaldehído; propionaldehído; carbodiimidas hidrosolubles (RN=C=NR'), que incluyen 1-Etil-3-(3-Dimetilaminopropil)-Carbodiimida (EDC), clorhidrato de 1-Etil-3-(3-Dimetilaminopropil)-Carbodiimida, meto-p-toluensulfonato de 1-Ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)carbodiimida (CMC), N,N′-diciclohexilcarbodiimida (DCC), y N,N′-diisopropilcarbodiimida (DIC), y sus derivados; y N-hidroxisuccinimida (NHS); fenilglioxal; y/o UDP-dialdehído.

Con preferencia, el agente de entrecruzamiento es EDC. Cuando un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante está modificado químicamente por EDC (por ejemplo por el contacto del polipéptido con EDC), en una forma de realización, el polipéptido incluye **(a)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(b)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(c)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo del extremo C-terminal del polipéptido y el grupo amino del extremo N-terminal del polipéptido. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(d)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(e)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(f)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado. En una forma de realización, el polipéptido incluye

(g) al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y el grupo amino del extremo N--terminal a segundo polipéptido aislado. En una forma de realización, el polipéptido incluye **(h)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado. Ver, por ejemplo, Figura 24 y Figura 25.

El "segundo polipéptido aislado" se refiere a cualquier polipéptido aislado que está presente durante la reacción con EDC. En una forma de realización, el segundo polipéptido aislado es una polipéptido de la toxina de C. difficile mutante que tiene una secuencia idéntica al primer polipéptido aislado. En otra forma de realización, el segundo polipéptido aislado es un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante que tiene una secuencia diferente del primer polipéptido aislado.

En una forma de realización, el polipéptido incluye al menos dos modificaciones seleccionadas de las modificaciones (a)-(d). En un ejemplo de forma de realización, el polipéptido incluye **(a)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y **(b)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido. En una forma de realización adicional, el polipéptido incluye al menos tres modificaciones seleccionadas de las modificaciones (a)-(d). En otra forma de realización adicional, el polipéptido incluye las modificaciones (a), (b), (c), y (d).

Cuando más de un polipéptido mutante está presente durante la modificación química con el EDC, en una forma de realización, la composición resultante incluye al menos una de cualquiera de las modificaciones (a)-(h). En una forma de realización, la composición incluye al menos dos modificaciones seleccionadas de las modificaciones (a)-(h). En una forma de realización adicional, la composición incluye al menos tres modificaciones seleccionadas de las modificaciones (a)-(h). En otra forma de realización adicional, la composición incluye al menos cuatro modificaciones seleccionadas de las modificaciones (a)-(h). En otra forma de realización, la composición incluye al menos una de cada una las modificaciones (a)-(h).

En un ejemplo de forma de realización, la composición resultante incluye **(a)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; y **(b)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido. En una

forma de realización, la composición también incluye **(c)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo del extremo C-terminal del polipéptido y el grupo amino del extremo N-terminal del polipéptido; y **(d)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido.

En otro ejemplo de forma de realización, la composición resultante incluye **(e)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado; **(f)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado; **(g)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y el grupo amino del extremo N-terminal al segundo polipéptido aislado; y **(h)** al menos un entrecruzamiento entre el grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado.

En un ejemplo de forma de realización adicional, la composición resultante incluye **(a)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; **(b)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; **(e)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado; y **(f)** al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina de un segundo polipéptido aislado.

En una forma de realización preferida, el agente de entrecruzamiento químico incluye formaldehído, con más preferencia, un agente que incluye formaldehído en ausencia de lisina. Se puede usar glicina u otro compuesto apropiado con una amina primaria como el inactivador de las reacciones de entrecruzamiento. Por consiguiente, en otra forma de realización preferida, el agente químico incluye formaldehído y uso de glicina.

En otra forma de realización preferida más, el agente de entrecruzamiento químico incluye EDC y NHS. Tal como es conocido en la técnica, se puede incluir NHS en los protocolos de acoplamiento de EDC. Sin embargo, los inventores descubrieron de modo sorprendente que NHS puede facilitar la posterior disminución de

citotoxicidad de la toxina de C. difficile mutante, en comparación con la correspondiente toxina tipo salvaje, en comparación con una toxina mutada genéticamente, y en comparación con una toxina mutada genéticamente que se ha entrecruzado químicamente con EDC. Ver, por ejemplo, Ejemplo 22. Por consiguiente, sin estar ligado por mecanismo o teoría, una polipéptido mutante de la toxina que tiene un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido (por ejemplo, resultante de una reacción del polipéptido mutante de la toxina, EDC, y NHS) puede facilitar la posterior disminución de la citotoxicidad de la toxina mutante, en comparación con, por ejemplo, una toxina de C. difficile (tipo salvaje o mutante) donde un resto de beta-alanina está ausente.

El uso de EDC y/o NHS también puede incluir el uso de glicina u otro compuesto apropiado con una amina primaria como el inactivador. Cualquier compuesto que tiene una amina primaria se puede usar como un inactivador, tal como, por ejemplo metil éster de glicina y alanina. En una forma de realización preferida, el compuesto inactivador es una amina primaria hidrofílica no polimérica. Los ejemplos de una amina primaria hidrofílica no polimérica incluyen, por ejemplo, amino azúcares, amino alcoholes, y amino polioles. Los ejemplos específicos de una amina primaria hidrofílica no polimérica incluyen glicina, etanolamina, glucamina, polietilenglicol funcionalizado con amina, y oligómeros de etilenglicol funcionalizado con amina.

En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante que tiene al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por EDC y una amina primaria hidrofílica no polimérica, con preferencia glicina. Los aductos de glicina resultantes (por ejemplo, de una reacción de toxinas triple mutantes tratadas con EDC, NHS, e inactivadas con glicina) pueden facilitar la disminución de citotoxicidad de las toxinas A mutantes en comparación con la correspondiente toxina tipo salvaje.

En una forma de realización, cuando un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante se modifica químicamente por EDC y glicina, el polipéptido incluye al menos una modificación cuando el polipéptido está modificado por EDC (por ejemplo, al menos una de cualquiera de las modificaciones (a)-(h) descriptas antes), y al menos una de las siguientes modificaciones ejemplificativas: **(i)** un resto de glicina ligado al grupo carboxilo en el extremo C-terminal del polipéptido; **(j)** un resto de glicina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido aspártico del polipéptido; y **(k)** un resto de glicina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido glutámico del polipéptido. Ver, por ejemplo, Figura 24 y Figura 25.

En una forma de realización, al menos un aminoácido de la TcdA de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente y/o al menos un aminoácido de la TcdB de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente. En otra forma de realización, al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, y/o SEQ ID NO: 8 está entrecruzado químicamente. Por ejemplo, el al menos un aminoácido puede estar entrecruzado químicamente con un agente que incluye una carbodiimida, tal como EDC. Las carbodiimidas pueden formar un enlace covalente entre carboxilo libre (por ejemplo, de las cadenas laterales de ácido aspártico y/o ácido glutámico) y grupos amino (por ejemplo, en la cadena lateral de los residuos de lisina) para formar enlaces amida estables.

A modo de otro ejemplo, el al menos un aminoácido se puede entrecruzar químicamente con un agente que incluye NHS. Los agentes de entrecruzamiento activado de NHS pueden reaccionar con las aminas primarias (por ejemplo, en el extremo N-terminal cada cadena de polipéptido y/o en la cadena lateral de los residuos de lisina) para producir un enlace amida.

En otra forma de realización, el al menos un aminoácido puede estar entrecruzado químicamente con un agente que incluye EDC y NHS. Por ejemplo, en una forma de realización, la invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde el polipéptido incluye al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por EDC y NHS. En otra forma de realización, la invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde el polipéptido incluye al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por EDC y NHS. En otra forma de realización más, la invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO: 8. El polipéptido se modifica por el contacto del polipéptido con EDC y NHS. Ver, por ejemplo, Figura 24 y Figura 25.

Cuando un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante está modificado químicamente por (por ejemplo, por el contacto) EDC y NHS, en una forma de realización, el polipéptido incluye al menos una modificación cuando el polipéptido está modificado por EDC (por ejemplo, al menos una de cualquiera de las modificaciones (a)-(h) descriptas anteriormente), y **(l) un** resto de beta-alanina ligado a una cadena

lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido.

En otro aspecto, la invención se refiere un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante donde el polipéptido incluye al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por EDC, NHS, y una amina primaria hidrofílica no polimérica, con preferencia glicina. En una forma de realización, el polipéptido incluye al menos una modificación cuando el polipéptido está modificado por EDC (por ejemplo, al menos una de cualquiera de las modificaciones (a)-(h) descriptas anteriormente), al menos una modificación cuando el polipéptido está modificado por glicina (por ejemplo, al menos una de cualquiera de las modificaciones (i)-(k) descriptas anteriormente), y (l) un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido. Ver, por ejemplo, Figura 24 y Figura 25.

En un aspecto, la invención se refiere a un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante, donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina. En una forma de realización, una cadena lateral de un segundo residuo de lisina del polipéptido está ligada a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico y/o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico. El “segundo” residuo de lisina del polipéptido incluye un residuo de lisina del polipéptido que no está ligado a un resto de beta-alanina. La cadena lateral de un ácido aspártico y/o la cadena lateral de un ácido glutámico al que está ligado el segundo residuo de lisina pueden ser el del polipéptido para formar un entrecruzamiento intra-molecular, o el de un segundo polipéptido para formar un entrecruzamiento inter-molecular. En otra forma de realización, una cadena lateral de al menos un residuo de ácido aspártico y/o una cadena lateral de al menos un residuo de ácido glutámico del polipéptido está ligado a un resto de glicina. El residuo de ácido aspártico y/o el residuo de ácido glutámico que está ligado a un resto de glicina tampoco están ligados a un residuo de lisina.

A modo de otro ejemplo más de un polipéptido entrecruzado químicamente de la toxina de C. difficile mutante, el al menos un aminoácido puede estar entrecruzado químicamente por un agente que incluye formaldehído. El formaldehído puede reaccionar con el grupo amino de un residuo de aminoácido N-terminal y las cadenas laterales de arginina, cisteína, histidina, y lisina. El formaldehído y glicina pueden formar un aducto de la base de Schiff, que puede unirse a los grupos amino N-terminal primarios, residuos de arginina, y tirosina, y en menor grado residuos de asparagina, glutamina, histidina, y triptofano.

Se dice que un agente de entrecruzamiento químico reduce la citotoxicidad de

una toxina su la toxina tratada tiene menos toxicidad (por ejemplo, aproximadamente 100%, 99%, 95%, 90%, 80%, 75%, 60%, 50%, 25%, o 10% menos toxicidad) que la toxina no tratada en condiciones idénticas, medida, por ejemplo, por un ensayo de citotoxicidad in vitro, o por toxicidad animal.

Con preferencia, el agente de entrecruzamiento químico reduce la citotoxicidad de la toxina de C. difficile mutante en al menos aproximadamente una reducción de 2-log_{10}, con más preferencia aproximadamente una reducción de 3-log_{10}, y con máxima preferencia aproximadamente una reducción de 4-log_{10} o más, con respecto a la toxina mutante en condiciones idénticas pero en ausencia del agente de entrecruzamiento químico. En comparación con la toxina tipo salvaje, el agente de entrecruzamiento químico con preferencia reduce la citotoxicidad de la toxina B mutante y al menos aproximadamente una reducción de 5-$log_{10,}$ aproximadamente una reducción de 6-log_{10}, aproximadamente una reducción de 7-log_{10}, aproximadamente una reducción de 8-log_{10}, o más.

En otra forma de realización preferida, la toxina de C. difficile mutante inactivada químicamente exhibe un valor de EC_{50} mayor de o al menos aproximadamente 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml, 600 µg/ml, 700 µg/ml, 800 µg/ml, 900 µg/ml, 1000 µg/ml o mayor medido, por ejemplo, por un ensayo de citotoxicidad in vitro, tal como en el que se describe en la presente.

Las condiciones de reacción para poner en contacto la toxina mutante con el agente de entrecruzamiento químico están dentro del alcance de la habilidad de los expertos en la técnica, y las condiciones pueden variar de acuerdo con el agente usado. Sin embargo, los inventores descubrieron de modo sorprendente las condiciones de reacción óptimas para poner en contacto un polipéptido de la toxina de C. difficile mutante con un agente de entrecruzamiento químico, mientras que retiene los epitopes funcionales y disminuye la citotoxicidad de la toxina mutante, en comparación con la correspondiente toxina tipo salvaje.

Con preferencia, las condiciones de reacción se seleccionan para poner en contacto una toxina mutante con el agente de entrecruzamiento, donde la toxina mutante tiene una concentración mínima de aproximadamente 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0 mg/ml a una máxima de aproximadamente 3,0, 2,5, 2,0, 1,5, o 1,25 mg/ml. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango de concentraciones adecuadas de una toxina mutante para la reacción. Con máxima preferencia, la toxina mutante tiene una concentración de aproximadamente 1,0 – 1,25 mg/ml para la reacción.

En una forma de realización, el agente usado en la reacción tiene una concentración mínima de aproximadamente 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, o 50 mM, y una concentración máxima de aproximadamente 100 mM, 90 mM, 80 mM, 70 mM, 60 mM, o 50 mM. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango de concentraciones adecuadas del agente químico para la reacción.

En una forma de realización preferida donde el agente incluye formaldehído, la concentración usada es con preferencia cualquier concentración entre aproximadamente 2 mM a 80 mM, con máxima preferencia aproximadamente 40 mM. En otra forma de realización preferida donde el agente incluye EDC, la concentración usada es con preferencia cualquier concentración entre aproximadamente 1,3 mM a aproximadamente 13 mM, con más preferencia aproximadamente 2 mM a 3 mM, con máxima preferencia aproximadamente 2,6 mM.

Los ejemplos de tiempos de reacción en los que la toxina mutante se pone en contacto con el agente de entrecruzamiento químico incluyen un mínimo de aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36, 48, o 60 horas, y un máximo de aproximadamente 14 días, 12 días, 10 días, 7 días, 5 días, 3 días, 2 días, 1 día, o 12 horas. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango de tiempos de reacción adecuados.

En una forma de realización preferida, la etapa de poner en contacto la toxina mutante con el agente de entrecruzamiento químico se produce durante un período de tiempo que es suficiente para reducir la citotoxicidad de la toxina de C. difficile mutante a un valor de EC_{50} de al menos aproximadamente 1000 µg/ml en una célula humana adecuada, por ejemplo, células IMR-90, en un ensayo de citotoxicidad in vitro estándar, en comparación con una toxina mutante idéntica en ausencia del agente de entrecruzamiento. Con más preferencia, la etapa de reacción se realiza durante un tiempo que es al menos dos veces de duración y con máxima preferencia al menos tres veces de duración o más, que el período de tiempo suficiente para reducir la citotoxicidad de la toxina mutante a un valor de EC_{50} de al menos aproximadamente 1000 µg/ml en una célula humana adecuada. En una forma de realización, el tiempo de reacción no excede aproximadamente 168 horas (o 7 días).

Por ejemplo, en una forma de realización donde el agente incluye formaldehído, la toxina mutante con preferencia se pone en contacto con el agente durante aproximadamente 12 horas, que se ha mostrado que es un ejemplo de período de tiempo suficiente para reducir la citotoxicidad de la toxina de C. difficile

mutante a un valor de EC_{50} de al menos aproximadamente 1000 µg/ml en una célula humana adecuada, por ejemplo, células IMR-90, en un ensayo de citotoxicidad estándar in vitro, en comparación con una toxina mutante idéntica en ausencia del agente de entrecruzamiento. En una forma de realización más preferida, la reacción se lleva a cabo durante aproximadamente 48 horas, que es al menos aproximadamente tres veces tan largo como un período de tiempo suficiente para la reacción. En tal forma de realización, el tiempo de reacción con preferencia no es mayor que aproximadamente 72 horas.

En otra forma de realización donde el agente incluye EDC, la toxina mutante con preferencia se pone en contacto con el agente durante aproximadamente 0,5 horas, con más preferencia al menos aproximadamente 1 hora, o con máxima preferencia aproximadamente 2 horas. En tal forma de realización, el tiempo de reacción con preferencia es no mayor de aproximadamente 6 horas.

Los ejemplos de pH en que la toxina mutante se pone en contacto con el agente de entrecruzamiento químico incluye un mínimo de aproximadamente pH 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, o 7,5, y un máximo de aproximadamente pH 8,5, 8,0, 7,5, 7,0, o 6,5. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango de pH adecuado. Con preferencia, la reacción ocurre a pH 6,5 a 7,5, con preferencia a pH 7,0.

Los ejemplos de temperaturas a las que la toxina mutante se pone en contacto con el agente de entrecruzamiento químico incluyen un mínimo de aproximadamente 2ºC, 4ºC, 10ºC, 20ºC, 25ºC, o 37ºC, y una temperatura máxima de aproximadamente 40ºC, 37ºC, 30ºC, 27ºC, 25ºC, o 20ºC. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango de temperatura de reacción adecuada. Con preferencia, la reacción ocurre a aproximadamente 20ºC a 30ºC, con máxima preferencia a aproximadamente 25ºC.

Las composiciones inmunogénicas descriptas anteriormente pueden incluir una toxina de C. difficile mutante (A o B). Por consiguiente, las composiciones inmunogénicas pueden ocupar viales separados (por ejemplo, un vial separado para una composición que incluye la toxina A de C. difficile mutante y un vial separado para una composición que incluyen la toxina de C. difficile mutante B) en la preparación o el kit. Las composiciones inmunogénicas pueden estar destinadas al uso simultáneo, secuencial o separado.

En otra forma de realización, las composiciones inmunogénicas descriptas anteriormente pueden incluir las toxinas de C. difficile mutantes (A y B). Cualquier

combinación de la toxina A de C. difficile mutante y toxina de C. difficile mutante B descriptas se pueden combinar para una composición inmunogénica. Por consiguiente, las composiciones inmunogénicas se pueden combinar en un vial único (por ejemplo, un vial único que contiene una composición que incluye TcdA de C. difficile mutante y una composición que incluye TcdB de C. difficile mutante). Con preferencia, las composiciones inmunogénicas incluyen una TcdA de C. difficile mutante y una TcdB de C. difficile mutante.

Por ejemplo, en una forma de realización, la composición inmunogénica incluye la SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado químicamente. En otra forma de realización, la composición inmunogénica incluye una toxina A de C. difficile mutante, que incluye la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7, y una toxina de C. difficile mutante B, que comprende la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8, donde al menos un aminoácido de cada de las toxinas de C. difficile mutantes está entrecruzado químicamente.

En otra forma de realización, la composición inmunogénica incluye cualquier secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 84, y SEQ ID NO: 83, y cualquier secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 86, y SEQ ID NO: 85. En otra forma de realización, la composición inmunogénica incluye la SEQ ID NO: 84 y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86. En otra forma de realización, la composición inmunogénica incluye la SEQ ID NO: 83 y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 85. En otra forma de realización, la composición inmunogénica incluye la SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 86, y SEQ ID NO: 85.

Se considera que cualquiera de las composiciones de la invención, por ejemplo, las composiciones inmunogénicas que incluyen una toxina A mutante y/o toxina B mutante, se pueden combinar en diferentes relaciones o cantidades para el efecto terapéutico. Por ejemplo, la TcdA de C. difficile mutante y TcdB de C. difficile mutante pueden estar presenten en una composición inmunogénica en una relación en el rango de 0,1:10 a 10:0,1, A:B. En otra forma de realización, por ejemplo, la TcdB de C. difficile mutante y TcdA de C. difficile mutante pueden estar presentes en una composición inmunogénica en una relación en el rango de 0,1:10 a 10:0,1, B:A. En una forma de realización preferida, la relación es tal que la composición incluye una cantidad total mayor de una mutante TcdB que una cantidad total de la TcdA mutante.

En un aspecto, una composición inmunogénica es capaz de unirse a un anticuerpo neutralizante o fragmento de unión de este. Con preferencia, el anticuerpo

neutralizante o fragmento de unión de este es uno que se describe en la presente más adelante. En un ejemplo de forma de realización, una composición inmunogénica es capaz de unirse a un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este, donde el anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este incluye una cadena liviana variable que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36 y una cadena pesada variable que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37. Por ejemplo, la composición inmunogénica puede incluir una TcdA de C. difficile mutante, SEQ ID NO: 4, o SEQ ID NO: 7. A modo de otro ejemplo, la composición inmunogénica puede incluir las SEQ ID NO: 84 o SEQ ID NO: 83.

En otro ejemplo de forma de realización, una composición inmunogénica es capaz de unirse a un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este, donde el anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este incluye una cadena liviana variable de B8-26 y una cadena pesada variable de B8-26. Por ejemplo, la composición inmunogénica puede incluir una TcdB de C. difficile mutante, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 8. A modo de otro ejemplo, la composición inmunogénica puede incluir SEQ ID NO: 86 o SEQ ID NO: 85.

Célula recombinante

En otro aspecto, la invención se refiere a una célula recombinante o su progenie. En una forma de realización, la célula o su progenie incluye un polinucleótido que codifica una TcdA de C. difficile mutante y/o una TcdB de C. difficile mutante.

En otra forma de realización, la célula recombinante o su progenie incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un polipéptido que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con algunas de las SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO: 8, cuando se alinean óptimamente, tales como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas.

En otra forma de realización, la célula recombinante o su progenie incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un polipéptido que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con algunas de las SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85, cuando se alinean óptimamente, tales como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha

predeterminadas.

En una forma de realización adicional, la célula recombinante o su progenie incluye secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con algunas de las SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, o SEQ ID NO: 47, cuando se alinean óptimamente, tales como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminadas.

La célula recombinante puede derivar de cualquier célula útil en la producción recombinante de un polipéptido de la presente invención, por ejemplo, un procariota o eucariota. Con preferencia, la célula recombinante deriva de cualquier célula es adecuada para expresar secuencias de ácidos nucleicos heterólogas mayores que aproximadamente 5000, 6000, con preferencia aproximadamente 7000, y con más preferencia aproximadamente 8000 nucleótidos o más. La célula huésped procariótica puede ser cualquier bacteria gramnegativa o grampositiva. En ejemplos de formas de realización, la célula huésped procariótica carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina y/o espora.

Las bacterias gramnegativas incluyen, pero sin limitación, *Campilobacter, E. coli, Flavobacterium, Fusobacterium, Helicobacter, Ilyobacter, Neisseria, Pseudomonas, Salmonella*, y *Ureaplasma.* Por ejemplo, la célula recombinante puede deriva de una célula de *Pseudomonas fluorescens*, como se describe en la publicación de la solicitud de Patente US 2010013762, párrafos [0201]-[0230], que se incorpora en la presente por referencia.

Las bacterias grampositivas incluyen, pero sin limitación, *Bacillus, Clostridium, Enterococcus, Geobacillus, Lactobacillus, Lactococcus, Oceanobacillus, Staphylococcus, Streptococcus*, y *Streptomyces*. Con preferencia, la célula deriva de una célula de *C. difficile*.

Los inventores identificaron cepas de *C. difficile* de tipo salvaje que carecen de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina de C. difficile. Las cepas que carecen de los genes endógenos de la toxina A y B incluyen las siguientes cepas, que están disponibles en a través de la American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA): *C. difficile* 1351 (ATCC 43593™), *C. difficile* 3232 (ATCC BAA-1801™), *C. difficile* 7322 (ATCC 43601™), *C. difficile* 5036 (ATCC 43603™), *C. difficile* 4811 (ATCC 43602™), y *C. difficile* VPI 11186 (ATCC 700057™).

Por consiguiente, en una forma de realización, la célula de C. difficile recombinante deriva de una cepa que se describe en la presente. Con preferencia, la célula de C. difficile recombinante o su progenie deriva del grupo que consiste en *C. difficile* 1351, *C. difficile* 5036, y *C. difficile* VPI 11186. Con más preferencia, la célula de C. difficile recombinante o su progenie deriva de una célula de *C. difficile* VPI 11186.

En una forma de realización preferida, el gen de esporulación de la célula de C. difficile recombinante o su progenie está inactivado. Las esporas pueden ser infectivas, altamente resistentes y facilitar la persistencia del *C. difficile* en ambientes aeróbicos fuera del huésped. Las esporas también puede contribuir a la supervivencia del *C. difficile* dentro del huésped durante la terapia antimicrobiana. Por consiguiente, una célula de *C. difficile* que carece de un gen de esporulación es útil para producir una composición inmunogénica segura para la administración a los mamíferos. Además, el uso de tales células facilita la seguridad durante la fabricación, por ejemplo, seguridad para proteger la instalación, productos futuros y personal.

Los ejemplos de los genes de esporulación para la inactivación dirigida incluyen, entre otros *spo0A, spoIIE,* σ^E*,* σ^G*, y* σ^K*.* Con preferencia, el gen *spo0A* está inactivado.

Los métodos de inactivar un gen de esporulación de *C. difficile* son conocidos en la técnica. Por ejemplo, un gen de esporulación se puede inactivar por la inserción dirigida de un marcador seleccionable, tal como, un marcador de resistencia a antibióticos. Ver, por ejemplo, Heap et al., *J Microbiol Methods.* 2010 Jan;80(1):49-55; Heap et al., *J. Microbiol. Methods*, 2007 Sept; 70(3):452-464; y Underwood et al., *J Bacteriol.* 2009 Dec;191(23):7296-305. Ver también, por ejemplo, Minton et al., WO2007/148091, titulado, “DNA Molecules and Methods,” incorporada en la presente por referencia en su totalidad en las páginas 33-66, o la correspondiente publicación US 20110124109 A1, párrafos [00137]-[0227].

Método de producir una toxina de C. difficile mutante

En un aspecto, la invención se refiere a un método de producir una toxina de C. difficile mutante. En una forma de realización, el método incluye cultivar cualquier célula recombinante o su progenie descripta anteriormente, en condiciones adecuadas para expresar un polipéptido.

En otra forma de realización, el método incluye cultivar una célula recombinante o su progenie en condiciones adecuadas para expresar un polinucleótido que codifica una toxina de C. difficile mutante, donde la célula incluye el

polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante, y donde la mutante incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de Clostridium difficile de tipo salvaje. En una forma de realización, la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

En una forma de realización adicional, el método incluye cultivar una célula de C. difficile recombinante o su progenie en condiciones adecuadas para expresar un polinucleótido que codifica una toxina de C. difficile mutante, donde la célula incluye el polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante y la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina de C. difficile.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método de producir una toxina de C. difficile mutante. El método incluye las etapas de: (a) poner en contacto una célula de C. difficile con una célula de *Escherichia coli* recombinante, donde la célula de C. difficile carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina de C. difficile y la célula de E. coli incluye un polinucleótido que codifica una toxina de C. difficile mutante; (b) cultivar la célula de C. difficile y la célula de E. coli en condiciones adecuadas para la transferencia del polinucleótido desde la célula de E. coli a la célula de C. difficile; (c) seleccionar la célula de C. difficile que comprende el polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante; (d) cultivar la célula de C. difficile de la etapa (c) en condiciones adecuadas para expresar el polinucleótido; y (e) aislar la toxina de C. difficile mutante.

En el método de la invención, la célula de E. coli recombinante incluye un polinucleótido heterólogo que codifica la toxina de C. difficile mutante, que se describe en la presente. El polinucleótido puede ser ADN o ARN. En un ejemplo de la forma de realización, el polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante está optimizado por codón por el uso del codón de *E. coli*. Los métodos para optimizar por codón un polinucleótido son conocidos en la técnica.

En una forma de realización, el polinucleótido incluye una secuencia de ácidos nucleicos que es menos de aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a un polinucleótido que codifica una TcdA de C. difficile mutante, que se describió anteriormente. Un ejemplo de polinucleótido que codifica una toxina A de C. difficile mutante incluye las SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 44, y SEQ ID NO: 45.

En otra forma de realización, el polinucleótido incluye una secuencia de ácidos

nucleicos que es al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a un polinucleótido que codifica una TcdB de C. difficile mutante, como se describió anteriormente. Un ejemplo de polinucleótido que codifica una toxina de C. difficile mutante B incluye la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 46, y SEQ ID NO: 47. En otra forma de realización, el polinucleótido codifica la SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, o SEQ ID NO: 86.

En una forma de realización, la célula de E. coli que incluye el polinucleótido heterólogo es una célula de *E. coli* que aloja en forma estable el polinucleótido heterólogo, que codifica la toxina de C. difficile mutante. Los ejemplos de células de *E. coli* incluyen una célula seleccionada del grupo que consiste en células competentes de E. coli MAX Efficiency® Stbl2™ (Invitrogen, Carlsbad, CA), One Shot® Stbl3™ Chemically Competent*E. coli* (Invitrogen, Carlsbad, CA), células competentes de E. coli ElectroMAX™ Stbl4™ (Invitrogen , y *E. coli* CA434. En una forma de realización preferida, la célula huésped de clonación de *E. coli* no es DH5α. Con más preferencia, la célula huésped de clonación de *E. coli* es una célula competente de E. coli MAX Efficiency® Stbl2™.

El método de la invención además incluye una etapa de cultivar la célula de C. difficile y la célula de E. coli en condiciones adecuadas para la transferencia del polinucleótido desde la célula de E. coli a la célula de C. difficile, lo que produce una célula de C. difficile recombinante. En una forma de realización preferida, las condiciones de cultivo son adecuadas para la transferencia del polinucleótido desde la célula de E. coli (la célula dadora) en la célula de C. difficile (la célula receptora), y que produce una herencia genéticamente estable.

Con máxima preferencia, las condiciones de cultivo son adecuadas para la conjugación bacteriana, que son conocidas en la técnica. La “conjugación” se refiere a un proceso particular de transferencia de un polinucleótido en que se produce la transferencia unidireccional de un polinucleótido (por ejemplo, de un plásmido bacteriano) desde una célula bacteriana (es decir, la “dadora”) a otra (es decir, la “receptora”). El proceso de conjugación involucra el contacto célula dadora a célula receptora. Con preferencia, la célula de *E. coli* dadora es una célula *E. coli* CA434.

Los ejemplos de condiciones (conjugación) adecuadas para la transferencia del polinucleótido de la célula de E. coli a la célula de C. difficile incluyen cultivos líquidos de crecimiento de *C. difficile* en caldo de infusión de corazón y cerebro (BHI; Oxoide) o caldo anaeróbico Schaedlers (SAB; Oxoid). En otra forma de realización, los cultivos

de *C. difficile* sólidos se pueden cultivar en agar sangre fresco (FBA) o agar BHI. Con preferencia, el *C. difficile* se cultiva a 37°C en un ambiente anaeróbico (por ejemplo, 80% de N_2, 10% de CO_2, y 10% de H_2 [vol/vol]). En una forma de realización, la condición adecuada incluye cultivara la *E. coli* en forma aeróbica en caldo de Luria-Bertani (LB) o en caldo LB a 37°C. Para la transferencia de conjugación al *C. difficile*, un ejemplo de condición adecuada incluye cultivar *E. coli* en forma anaeróbica en FBA. Los antibióticos se pueden incluir los medios líquidos y sólidos como es conocido en la técnica. Los ejemplos de tales antibióticos incluyen cicloserina (250 µg/ml), cefoxitina (8 µg/ml), cloramfenicol (12,5 µg/ml), tiamfenicol (15 µg/ml), y eritromicina (5 µg/ml).

El método de la invención incluye adicionalmente una etapa de seleccionar la célula de C. difficile recombinante resultante que incluye el polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante. En un ejemplo de forma de realización, la célula de C. difficile recombinante es receptora del polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante de la célula de E. coli recombinante por medio de conjugación.

El método de la invención incluye una etapa de cultivar la célula recombinante o su progenie en condiciones adecuadas para expresar el polinucleótido que codifica la toxina de C. difficile mutante, lo que origina la producción de una toxina de C. difficile mutante. Las condiciones adecuadas para que una célula recombinante exprese el polinucleótido incluyen las condiciones de cultivo adecuadas para cultivar una célula de C. difficile, que son conocidas en la técnica. Por ejemplo, las condiciones adecuadas pueden incluir cultivar los transformantes de *C. difficile* en caldo de infusión de corazón y cerebro (BHI; Oxoid) o caldo anaeróbico de Schaedlers (SAB; Oxoid). En otra forma de realización, los cultivos sólidos de *C. difficile* se pueden cultivar en agar FBA o BHI. Con preferencia, el *C. difficile* se cultiva a 37°C en un ambiente anaeróbico (por ejemplo, 80% de N_2, 10% de CO_2, y 10% de H_2 [vol/vol]).

En una forma de realización, el método de la invención incluye una etapa de aislar la toxina de C. difficile mutante resultante. Los métodos de aislar una proteína de *C. difficile* son conocidos en la técnica.

En otra forma de realización, el método incluye una etapa de purificar la toxina de C. difficile mutante resultante. Los métodos de purificar un polipéptido, tal como cromatografía, son conocidos en la técnica.

En un ejemplo de forma de realización, el método también incluye una etapa de poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con un agente de entrecruzamiento químico descripto anteriormente. Con preferencia, el agente incluye formaldehído, etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, o una combinación de EDC y

NHS. Los ejemplos de condiciones de reacción se describieron anteriormente y la siguiente sección de Ejemplos.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante que se describe en la presente, producida por cualquier método, con preferencia por alguno de los métodos descriptos antes.

Anticuerpos

De modo sorprendente, las composiciones inmunogénicas de la invención descriptas anteriormente indujeron nuevos anticuerpos *in vivo*, lo que sugiere que las composiciones inmunogénicas incluyen una estructura nativa conservada (por ejemplo, un epitope antigénico preservado) de la respectiva toxina C. difficile tipo salvaje y que las composiciones inmunogénicas incluyen un epitope. Los anticuerpos producidos contra una toxina de una cepa de *C. difficile* pueden ser capaces de unirse a una correspondiente toxina producida por otra cepa de *C. difficile*. Es decir, los anticuerpos y fragmentos de unión a estos pueden tener "reactividad cruzada" que se refiere a la capacidad de reaccionar con sitios antigénicos similares en las toxinas producidas de múltiples cepas de C. difficile. La reactividad cruzada también incluye la capacidad de un anticuerpo para reaccionar con o unirse a un antígeno que no estimuló su producción, es decir, la reacción entre un antígeno y un anticuerpo que se generó contra un antígeno diferente pero similar.

En un aspecto, los inventores descubrieron de modo sorprendente anticuerpos monoclonales que tienen un efecto neutralizante sobre las toxinas de *C. difficile*, y los métodos de producir los mismos. Los anticuerpos de la invención pueden neutralizar la citotoxicidad de la toxina de C. difficile *in vitro*, inhibir la unión de la toxina de C. difficile a las células de mamífero, y/o puede neutralizar la enterotoxicidad de la toxina de C. difficile *in vivo*. La presente invención también se refiere a los polinucleótidos aislados que incluyen secuencias de ácidos nucleicos que codifica alguna de las anteriores. Además, la presente invención se refiere al uso de las composiciones precedentes para tratar, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de una infección con enfermedad. síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o complicación de estos en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administra la composición, así como los métodos para preparar dichas composiciones.

Los inventores también descubrieron que una combinación de al menos dos de los anticuerpos monoclonales neutralizantes puede exhibir un inesperado efecto sinérgico en la respectiva neutralización de TcdA o TcdB. Los anticuerpos anti-toxina o

fragmentos de unión de estos pueden ser útiles en la inhibición de una infección con C. difficile.

Un “anticuerpo” es una proteína que incluye al menos una o dos regiones variables de cadena pesada (H) (abreviadas en la presente como VH), y al menos una o dos regiones variables de cadena liviana (L) (abreviada en la presente como VL). Las regiones VH y VL también se pueden subdividir en regiones de hipervariabilidad, denominadas “regiones determinantes de complementariedad” (“CDR”), intercaladas con las regiones que están más conservadas, denominadas “regiones estructurales” (FR). La extensión de la región estructural y las CDR ha sido definida con precisión (ver, Kabat, E. A., et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publicación No. 91-3242, 1991, y Chothia, C. et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987). El término “anticuerpo” incluye inmunoglobulinas intactas de los tipos IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (así como sus subtipos), donde las cadenas livianas de la inmunoglobulina pueden ser de los tipos kappa o lambda.

Las moléculas de anticuerpo pueden ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 o IgG4). Los anticuerpos pueden ser de diversos isotipos, que incluyen IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA1, IgA2, IgD, o IgE. En una forma de realización preferida, el anticuerpo es un isotipo IgG, por ejemplo, IgG1. En otra forma de realización preferida, el anticuerpo es un anticuerpo IgE.

En otra forma de realización, la molécula de anticuerpo incluye un “fragmento de unión al antígeno” o “fragmento de unión” como se usa en la presente, que se refiere a una porción de un anticuerpo que se une específicamente a una toxina de *C. difficile* (por ejemplo, toxina A). El fragmento de unión es, por ejemplo, una molécula en que una o más cadenas de inmunoglobulina no es de longitud completa, pero que se une específicamente a una toxina.

Los ejemplos de porciones de unión abarcadas dentro del término “fragmento de unión” de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento de Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento $F(ab')_2$, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab ligados por un puente disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de una rama simple de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., *Nature* 341:544-546, 1989), que consiste en un dominio VHn; y (vi) una región determinante de complementariedad aislada (CDR) que tiene estructura suficiente para unir específicamente, por ejemplo,

una porción de unión del antígeno de una región variable.

Un fragmento de unión de una región variable de la cadena liviana y un fragmento de unión de una región variable de la cadena pesada, por ejemplo, los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, se pueden unir, usando métodos recombinantes, con un ligador sintético que les permite formase como una cadena de proteína simple en que las regiones VL y VH se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena simple (scFv); ver por ejemplo, Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; y Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Tales anticuerpos de cadena simple también están comprendidos dentro del término "fragmento de unión" de un anticuerpo. Estas porciones del anticuerpo se obtienen usando técnicas conocidas en la materia y las porciones se seleccionan por utilidad de la misma manera que en los anticuerpos intactos.

Como se usa en la presente, un anticuerpo que se "se une específicamente" a o es "específico" para un polipéptido particular o un epitope de un polipéptido particular es un anticuerpo que se une a este polipéptido particular o epitope de un polipéptido particular sin unirse sustancialmente a ningún otro polipéptido o epitope de polipéptido. Por ejemplo, cuando se refiere a una biomolécula (por ejemplo, proteína, ácido nucleico, anticuerpo, etc.) que "se une específicamente" a un blanco, la biomolécula se une a su molécula blanco y no se une e una cantidad significativa a otras moléculas en una población heterogénea de moléculas que incluyen el blanco, medido en las condiciones designadas (por ejemplo, condiciones de inmunoensayo en el caso de un anticuerpo). La reacción de unión entre el anticuerpo y su blanco es determinante de la presencia del blanco en la población heterogénea de moléculas. Por ejemplo, "unión específica" o "se une específicamente" se refiere a la capacidad de un anticuerpo o fragmento de unión de este para unirse a una toxina de *C. difficile* tipo salvaje y/o mutante con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad por un antígeno no específico.

En un ejemplo de forma de realización, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. Un anticuerpo quimérico se puede producir por técnicas de ADN recombinante conocidas en la materia. Por ejemplo, un gene que codifica la región constante de Fc de una molécula de anticuerpo monoclonal murino (u otra especie) se puede digerir con enzimas de restricción para eliminar la región que codifica la Fc murina, y se sustituye la porción equivalente de un gen que codifica una región constante Fc humana. Un anticuerpo quimérico también se puede crear por técnicas de ADN recombinante donde el ADN que codifica las regiones variables murinas se

puede ligar al ADN que codifica las regiones constantes humanas.

En otro ejemplo de forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este se humaniza por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, una vez que se obtienen los anticuerpos murinos, una CDR del anticuerpo se puede reemplazar con al menos una porción de una CDR humana. Los anticuerpos humanizados también se pueden generar por el reemplazo de secuencias de la región variable Fv murina que no están directamente involucradas en la unión del antígeno con secuencias equivalentes de las regiones variables Fv humanas. Los métodos generales para generar anticuerpos humanizados son conocidos en la técnica.

Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales dirigidos a TcdA de C. difficile o TcdB de C. difficile también se pueden producir por técnicas estándares, tales como una técnica de hibridoma (ver, por ejemplo, Kohler y Milstein, 1975, *Nature*, 256: 495-497). En breves palabras, una línea celular inmortal se fusiona a un linfocito de un mamífero inmunizado con TcdA de C. difficile, TcdB de C. difficile, o una toxina de C. difficile mutante que se describen en la presente, y los sobrenadantes del cultivo de las células de hibridoma resultantes se analizan para identificar un hibridoma productor de un anticuerpo monoclonal que se une a TcdA de C. difficile o TcdB de C. difficile. Normalmente, la línea de células inmortales se deriva de la misma especie que los linfocitos. Las células del hibridoma productoras de un anticuerpo monoclonal de la invención se detectan por el análisis de los sobrenadantes del cultivo del hibridoma para los anticuerpos que unen TcdA de C. difficile o TcdB de C. difficile usando un ensayo, tal como ELISA. Los hibridomas humanos se pueden preparar de una manera similar.

A modo de una alternativa para producir anticuerpos por inmunización y selección, los anticuerpos de la invención también se pueden identificar por el análisis de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante con una TcdA de C. difficile, TcdB de C. difficile, o a toxina de C. difficile mutante que se describen en la presente. La biblioteca de anticuerpos recombinantes puede ser, por ejemplo, una biblioteca de scFv o una biblioteca de Fab. Además, los anticuerpos de la invención que se describen en la presente se pueden usar en estudios de unión competitiva para identificar anticuerpos anti-TcdA o anti-TcdB adicionales y fragmentos de unión de estos. Por ejemplo, los anticuerpos anti-TcdA o anti-TcdB adicionales y fragmentos de unión de estos se pueden identificar por la selección de una biblioteca de anticuerpos humanos y la identificación de moléculas dentro de la biblioteca que compite con los anticuerpos de la invención que se describen en la presente en un ensayo de unión

competitiva.

Además, los anticuerpos abarcados por la presente invención incluyen anticuerpos recombinantes que se pueden generar por el uso de métodos de despliegue en fagos conocidos en la técnica. En los métodos de despliegue en fago, se pueden usar fagos para desplegar dominios de unión del antígeno expresados a partir de un repertorio o biblioteca de anticuerpos (por ejemplo, humano o murino). El fago que expresa un dominio de unión al antígeno que se une a un inmunógeno descripto en la presente (por ejemplo, una toxina de C. difficile mutante) se puede seleccionar o identificar con el antígeno, por ejemplo, usando antígeno marcado.

También dentro del alcance de la invención están los anticuerpos y fragmentos de unión de estos en que se han sustituido, suprimido o añadido los aminoácidos específicos. En particular, los anticuerpos preferidos tienen sustituciones de aminoácidos en la región estructural, tal como para mejorar la unión al antígeno. Por ejemplo, un número pequeño, seleccionado de residuos estructurales aceptores de la cadena de inmunoglobulina se pueden reemplazar con los correspondientes aminoácidos dadores. Las localizaciones preferidas de las sustituciones incluyen residuos de aminoácidos adyacentes a la CDR, o que son capaces de interactuar con una CDR. Los criterios para seleccionar los aminoácidos del dador se describen en la Patente U.S. No. 5.585.089 (por ejemplo, columnas 12-16). La estructura aceptora puede ser una secuencia estructural o secuencia de consenso del anticuerpo humano maduro.

Como se usa en la presente, un “anticuerpo neutralizante o fragmento de unión de este” se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este respectivo que se une a un patógeno (por ejemplo, una TcdA de C. difficile o TcdB) y reduce la infectividad y/o una actividad del patógeno (por ejemplo, reduce la citotoxicidad) en un mamífero y/o en cultivo celular, en comparación con el patógeno en condiciones idénticas en ausencia del anticuerpo neutralizante o fragmento de unión de este. En una forma de realización, el anticuerpo neutralizante o fragmento de unión de este es capaz de neutralizar al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, o más de una actividad biológica del patógeno, en comparación con la actividad biológica del patógeno en condiciones idénticas en ausencia de el anticuerpo neutralizante o fragmento de unión de este.

Como se usa en la presente, el término "anticuerpo anti-toxina o fragmento de unión de este" se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este que se une a la respectiva toxina de C. difficile (por ejemplo, una toxina de C. difficile A o toxina B). Por

ejemplo, un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este que se une a TcdA.

Los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que se describen en la presente se pueden originar en cualquier mamífero, tipo salvaje y/o transgénico, que incluye, por ejemplo, ratones, seres humanos, conejos y cabras.

Cuando una composición inmunogénica descripta anteriormente es una que se ha administrado previamente a una población, tales como para vacunación, la respuesta del anticuerpo generada en los sujetos se puede usar para neutralizar toxinas de la misma cepa y de una cepa que no estimuló la producción del anticuerpo. Ver, por ejemplo, Ejemplo 37, que muestra estudios relacionados con la reactividad cruzada, generados por la composición inmunogénica, entre la cepa 630 y las toxinas de varias cepas de C. difficile tipo salvaje.

En un aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la TcdA de C. difficile. Los anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a TcdA incluyen A65-33; A60-22; A80-29 y/o, con preferencia, A3-25.

En un aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para una TcdA de cualquier cepa de C. difficile tipo salvaje, tal como las descriptas anteriormente, por ejemplo, para la SEQ ID NO: 1. En otro aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para una composición inmunogénica descripta anteriormente. Por ejemplo, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7. En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7 está entrecruzado por formaldehído, EDC, NHS, o una combinación de EDC y NHS. En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84 o SEQ ID NO: 83.

Los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que tienen regiones variables de cadena pesada y cadena liviana que tienen al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con las regiones variables de cadena pesada y cadena liviana de A65-33; A60-22; A80-29 y/o, con preferencia, A3-25 también se puede unir a TcdA.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de

este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de A3-25 como se expone en la SEQ ID NO: 37.

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 36.

En un aspecto adicional más, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada expuesta en la SEQ ID NO: 37, y a región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana expuesta en la SEQ ID NO: 36.

En otra forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que tienes regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadenas pesadas variables y/o cadenas livianas variables de A65-33; A60-22; A80-29 y/o, con preferencia, A3-25 también se puede unir a TcdA. Las CDR de la región variable de la cadena pesada de A3-25 se muestran en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4: Secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada variable

Clon	Cadena	CDR	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
A3-25	Pesada	CDR1	GFTFTNYWMN	41
		CDR2	EIRLKSHNYATHFAESVKG	42
		CDR3	DYYGNPAFVY	43

Las CDR de la región variable de la cadena liviana de A3-25 se muestran en la siguiente Tabla 5.

Tabla 5: Cadena liviana variable CDR Secuencias de aminoácidos

Clon	Cadena	CDR	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
A3-25	Liviana	CDR1	RSSQSLIHSNGNTILH	38
		CDR2	KVSNRFS	39

		CDR3	SQTTYFPYT	40

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este incluye las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) como se muestra en las SEQ ID NOs: 41 (CDR H1), 42 (CDR H2) y 43 (CDR H3), y/o las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NOs: 38 (CDR L1), 39 (CDR L2) y 40 (CDR L3).

En un ejemplo de forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile A se une específicamente a un epitope dentro de la región N-terminal de TcdA por ejemplo, un epitope entre los aminoácidos 1-1256 de una TcdA, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

En una forma de realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile A se une específicamente a un epitope dentro de la región C-terminal de la toxina A, por ejemplo, un epitope entre los aminoácidos 1832 a 2710 de una TcdA, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1. Los ejemplos incluyen A3-25; A65-33; A60-22; A80-29.

En otra forma de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile A se une específicamente a un epitope dentro de la región de “translocación” de la toxina de C. difficile A, por ejemplo, un epitope que con preferencia incluyen los residuos 956-1128 de una TcdA, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1, tales como un epitope entre aminoácidos 659-1832 de una TcdA, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

En otro aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para TcdB de C. difficile. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión de este puede ser específico para una TcdB de cualquier cepa de C. difficile de tipo salvaje, tal como los descriptos anteriormente, por ejemplo, a la SEQ ID NO: 2. En otro aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para una composición inmunogénica descripta anteriormente. Por ejemplo, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8.

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8 está entrecruzado por formaldehído, EDC, NHS, o una combinación de EDC y NHS. En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico

para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86 o SEQ ID NO: 85.

Los anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a la TcdB incluyen anticuerpos producidos por los clones B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; y/o, con preferencia, B8-26 que se describen en la presente.

Los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que también se pueden unir a TcdB incluyen los que tienen regiones de cadena pesada variable y cadena liviana variable que son al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con las regiones variables de la cadena pesada y liviana de B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6, con preferencia B8-26, B59-3, y/o B9-30.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 49.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 60.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 71.

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 55.

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 66.

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de A3-25 que se expone en la SEQ ID NO: 77.

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de TcdB de C. difficile (B8-26 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 49. Ver Tabla 25-a.

Tabla 25-a: Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada variable

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B8-26	Péptido señal	MGWSCIILFLVATATGVHS	50
	Cadena pesada variable	QVQLQQPGAELVKPGA PVKLSCKAS GYSFTSYWMN WVKQRPGRGLEWIG RIDPSNSEIYYNQKF KDKATLTVDKSSSTAYIQLSSL TSEDSAVYYCAS GHYGSIFAY WGQGTTLTVSS	49
	CDR1	GYSFTSYWMN	51
	CDR2	RIDPSNSEIYYNQKF	52
	CDR3	GHYGSIFAY	53
	Región constante (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	54

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de la TcdB de C. difficile (B8-26 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 55. Ver Tabla 25-b.

Tabla 25-b: Secuencias de aminoácidos de la cadena liviana (κ) variable

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B8-26	Péptido señal	MRFQVQVLGLLLLWISGAQCD	56
	Cadena liviana variable	VQITQSPSILAASPGETITINC RASKSISKILA WYQEKPGKTNKLLLY SGSTLQS GIPS	55

		RFSGSRSGTDFTLIISSLEPEDSAMYYC QQHNEYPLT FGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	
	CDR1	RASKSISKILA	57
	CDR2	SGSTLQS	58
	CDR3	QQHNEYPLT	59

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este incluye las secuencias de aminoácidos de las CDR de cadena pesada como se muestra en las SEQ ID NOs: 51 (CDR H1), 52 (CDR H2) y 53 (CDR H3), y/o las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NOs: 57 (CDR L1), 58 (CDR L2) y 59 (CDR L3).

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de la TcdB de C. difficile (B59-3 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 60. Ver Tabla 26-a.

Tabla 26-a: Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada variable

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B59-3	Péptido señal	MGWSYIILFLVATATDVHS	61
	Cadena pesada variable	QVQLQQPGAELVKPGASVKLS CKAS GYTFTSYWMH WVKQRPGQGLEWIG VINPSNGRSTYSEKF KTTATVTVDKSSSTAYMQL SILTSEDSAVYYCAR AYYSTSYYAMDY WGQGTSVTVSS	60
	CDR1	GYTFTSYWMH	62
	CDR2	VINPSNGRSTYSEKF	63
	CDR3	AYYSTSYYAMDY	64
	Región constante (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	65

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de un anticuerpo neutralizante de la TcdB de C. difficile (B59-3 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 66. Ver Tabla 26-b.

Tabla 26-b: Secuencias de aminoácidos de la cadena liviana variable (κ)

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B59-3	Péptido señal	MKLPVRLLVLMFWIPASSSD	67
	Cadena liviana variable	VLMTQSPLSLPVSLGDQASIS C RSSQNIVHSNGNTILE WILQKPGQSPKLLIY KVSNRFS GVPDRFSGSGSGTYFTLKISRVEAEDLGVYYC	66

		FQGSHFPFT FGTGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	
	CDR1	RSSQNIVHSNGNTILE	68
	CDR2	KVSNRFS	69
	CDR3	FQGSHFPFT	70

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este incluye las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena pesada como se muestra en las SEQ ID NOs: 62 (CDR H1), 63 (CDR H2) y 64 (CDR H3), y/o las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NOs: 68 (CDR L1), 69 (CDR L2) y 70 (CDR L3).

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana pesada de un anticuerpo neutralizante de la TcdB de C. difficile (B9-30 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 71. Ver Tabla 27-a.

Tabla 27-a: Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada variable

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B9-30	Péptido señal	MGWSCIILFLVATATGVHS	72
	Cadena pesada variable	QVQLQQPGAEVVKPGAPVKLS CKAS GYPFTNYWMN WVKQRPGRGLEWIG RIDPSNSEIYYNQKF KDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYY CAS GHYGSIFAY WGQGTTLTVSS	71
	CDR1	GYPFTNYWMN	73
	CDR2	RIDPSNSEIYYNQKF	74
	CDR3	GHYGSIFAY	75
	Región constante (IgG1)	AKTTPPSVYPLAPGNSK	76

La secuencia de aminoácidos para la cadena liviana variable de a anticuerpo neutralizante de la TcdB de C. difficile (B9-30 mAb) se expone en la SEQ ID NO: 77. Ver Tabla 27-b.

Tabla 27-b: Variable Liviana (κ) Cadena Secuencias de aminoácidos

Clon	Región	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
B9-30	Péptido señal	MRFQVQVLGLLLLWISGAQCD	78
	Cadena liviana variable	VQITQSPSILAASPGETITINC RASKSISKILA WYQEKPGKTNKLLIY SGSTLQS GIPS RFSGSRSGTDFTLIISSLEPEDSAMYYC QQHNEYPLT FGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEEFQ	77
	CDR1	RASKSISKILA	79
	CDR2	SGSTLQS	80
	CDR3	QQHNEYPLT	81

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este incluye las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena pesada como se muestra en las SEQ ID NOs: 73 (CDR H1), 74 (CDR H2) y 75 (CDR H3), y/o las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NOs: 79 (CDR L1), 80 (CDR L2) y 81 (CDR L3).

En un aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para una TcdB de C. difficile tipo salvaje de cualquier cepa de C. difficile, tales como los descriptos anteriormente, por ejemplo, a la SEQ ID NO: 2. En otro aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión de este específico para una composición inmunogénica descripta anteriormente. Por ejemplo, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8. En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este es específico para una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8 está entrecruzado por formaldehído, EDC, NHS, o una combinación de EDC y NHS.

Los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que tiene a cadena pesada variable y región variable de la cadena livianas que son al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, con preferencia aproximadamente 98%, con más preferencia aproximadamente 99% o con máxima preferencia aproximadamente 100% de identidad con la regiones de cadena pesada y liviana variables de B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; y/o, con preferencia, B8-26 también se puede unir a TcdB.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de B8-26 (SEQ ID NO: 49).

En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de

B8-26 (SEQ ID NO: 55).

En un aspecto adicional más, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este incluye una región variable de la cadena pesada que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de B8-26 (SEQ ID NO: 49), y a región variable de la cadena liviana que incluye una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de B8-26 (SEQ ID NO: 55).

En otra forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de unión de estos que tienen las CDR de las cadenas pesadas variables y/o cadenas livianas variables de B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; y/o, con preferencia, B8-26 también se puede unir a la TcdB.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este incluye las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) de B8-26, y/o las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana de B8-26.

En una forma de realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile B se une específicamente a un epitope dentro de la región N-terminal de la toxina B, por ejemplo, un epitope entre los aminoácidos 1-1256 de una TcdB, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2. Los ejemplos incluyen B2-31; B5-40; B8-26; B70-2; B6-30; y B9-30.

En un ejemplo de forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile B se une específicamente a un epitope dentro de la región C-terminal de toxina B, por ejemplo, un epitope entre los aminoácidos 1832 a 2710 de una TcdB, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

En otra forma de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión de este específico para la toxina de C. difficile B se une específicamente a un epitope dentro de la región de “translocación” de la toxina de C. difficile B, por ejemplo, un epitope que con preferencia incluye residuos 956-1128 de una TcdB, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2, tales como un epitope entre los aminoácidos 659-1832 de una TcdB. Los ejemplos incluyen B59-3; B60-2; y B56-6.

Combinaciones de anticuerpos

El anticuerpo anti-toxina o fragmento de unión de este se puede administrar en combinación con otros anticuerpos anti-toxina de C. difficile (por ejemplo, otros anticuerpos monoclonales, gamma-globulina policlonal) o un fragmento de unión de este. Las combinaciones que se pueden usar incluyen un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este y un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este.

En otra forma de realización, una combinación incluye un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este y otro anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este. Con preferencia, la combinación incluye un anticuerpo monoclonal neutralizante anti-toxina A o fragmento de unión de este y otro anticuerpo monoclonal neutralizante anti-toxina A o fragmento de unión de este. De modo sorprendente, los inventores descubrieron que tal combinación produjo un efecto sinérgico en la neutralización de la citotoxicidad de la toxina A. Por ejemplo, la combinación incluye una combinación de al menos dos de los siguientes anticuerpos monoclonales neutralizantes anti-toxina A: A3-25; A65-33; A60-22; y A80-29. Con más preferencia, la combinación incluye Anticuerpo A3-25 y al menos uno de los siguientes anticuerpos monoclonales neutralizantes anti-toxina A: A65-33; A60-22; y A80-29. Con máxima preferencia, la combinación incluye los cuatro anticuerpos: A3-25; A65-33; A60-22; y A80-29.

En una forma de realización adicional, una combinación incluye un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este y otro anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este. Con preferencia, la combinación incluye un anticuerpo monoclonal neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este y otro anticuerpo monoclonal neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este. De modo sorprendente, los inventores descubrieron que tal combinación produjo un efecto sinérgico en la neutralización de citotoxicidad de la toxina B. Con más preferencia, la combinación incluye una combinación de al menos dos de los siguientes anticuerpos monoclonales neutralizantes anti-toxina B: B8-26; B9-30 y B59-3. Con máxima preferencia, la combinación incluye los tres anticuerpos: B8-26; B9-30 y B59-3.

En otra forma de realización más, una combinación incluye un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este y otro anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este. Como se indicó previamente, los inventores descubrieron que una combinación de al menos dos de los anticuerpos monoclonales neutralizantes pueden exhibir un inesperado efecto sinérgico en la respectiva neutralización de la toxina A y toxina B.

En otra forma de realización, los agentes de la invención se pueden formular como una mezcla, o ligada química o genéticamente usando técnicas reconocidas en la técnica de este modo se produce anticuerpos ligados en forma covalente (o fragmentos de anticuerpo ligados covalentemente), que tienen propiedades de unión a anti-toxina A y anti-toxina B. La formulación combinada se puede guiar por una determinación de uno o más parámetros tales como la afinidad, avidez, o eficacia biológica del agente solo o en combinación con otro agente.

Tales terapias de combinación son con preferencia aditivos y/o sinérgicos en su actividad terapéutica, por ejemplo, en la inhibición, prevención (por ejemplo, de recaída), y/o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con *C. difficile*. La administración de tales terapias de combinación pueden disminuir la dosis del agente terapéutico (por ejemplo, anticuerpo o mezcla de fragmento de anticuerpo, anticuerpo biespecífico entrecruzado o genéticamente fusionado o fragmento de anticuerpo) necesario para obtener el efecto deseado.

Se entiende que ninguna de las composiciones de la invención, por ejemplo, un anticuerpo anti-toxina A y/o anti-toxina B o fragmento de unión de este, se puede combinar en diferentes relaciones o cantidades para el efecto terapéutico. Por ejemplo, el anticuerpo anti-toxina A y anti-toxina B o fragmento de unión de este respectivo pueden estar presentes en una composición en una relación en el rango de 0,1:10 a 10:0,1, A:B. En otra forma de realización, el anticuerpo anti-toxina A y anti-toxina B o fragmento de unión de este respectivo pueden estar presentes en una composición en una relación en el rango de 0,1:10 a 10:0,1, B:A.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una TcdA de C. difficile. El método incluye administrar una composición inmunogénica como se describió anteriormente a un mamífero, y recuperar el anticuerpo del mamífero. En una forma de realización preferida, la composición inmunogénica incluye una TcdA de C. difficile mutante que tiene la SEQ ID NO: 4, donde al menos un aminoácido de la TcdA de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente, con preferencia por formaldehído o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. Los ejemplos de anticuerpos neutralizantes contra la TcdA que se pueden producir incluyen A65-33; A60-22; A80-29 y/o A3-25.

En aún otro aspecto, la invención se refiere a un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una TcdB de C. difficile. El método incluye administrar una composición inmunogénica como se describió anteriormente a un mamífero, y recuperar el anticuerpo del mamífero. En una forma de realización preferida, la

composición inmunogénica incluye a TcdB de C. difficile mutante que tiene la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de la TcdB de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente, con preferencia por formaldehído o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. Los ejemplos de anticuerpos neutralizantes contra la TcdB que pueden producir incluyen B2-31; B5-40, B70-2; B6-30; B9-30; B59-3; B60-2; B56-6; y/o B8-26.

Formulaciones

Las composiciones de la presente invención (tales como, por ejemplo, composiciones que incluye una toxina de C. difficile mutante, composiciones inmunogénicas, anticuerpos y/o sus fragmentos de unión del anticuerpo que se describen en la presente) pueden estar en una variedad de formas. Estos incluyen, por ejemplo, formas de dosis semisólidas y sólidas, supositorios, formas líquidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infundibles), dispersiones o suspensiones, liposomas, y/o forma seca, tales como, por ejemplo, forma de polvo liofilizado, forma liofilizada, forma secada por aspersión, y/o forma secada por espuma. Para los supositorios, aglutinantes y portadores incluyen, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; tales supositorios se pueden formar a partir de las mezclas que contienen las composiciones de la invención. En un ejemplo de forma de realización, la composición está en una forma que es adecuada para la solución en, o suspensión en, vehículos líquidos antes de la inyección. En otro ejemplo de forma de realización, la composición se emulsiona o encapsula en liposomas o micropartículas, tales como poliláctido, poliglicólido, o copolímero.

En una forma de realización preferida, la composición se liofiliza y reconstituye en forma extemporánea antes de usar.

En un aspecto, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen algunas de las composiciones que se describen en la presente (tales como, por ejemplo, composiciones que incluye una toxina de C. difficile mutante, composiciones inmunogénicas, anticuerpos y/o sus fragmentos de unión del anticuerpo que se describen en la presente), formulados junto con un portador farmacéuticamente aceptable. “Portadores farmacéuticamente aceptables” incluyen algunos solventes, medios de dispersión, estabilizantes, diluyentes y/o buffer que son fisiológicamente adecuados.

Los ejemplos de estabilizantes incluyen carbohidratos, tales como sorbitol, manitol, almidón, dextrano, sacarosa, trehalosa, lactosa, y/o glucosa; proteínas inertes, tales como albúmina y/o caseína; y/o otras macromoléculas grandes, metabolizadas

lentamente, tales como polisacáridos tales como chitosano, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y copolímeros (tales como agarosa SEPHAROSE™ funcionalizada con látex, agarosa, celulosa, etc.), aminoácidos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácido, y agregados de lípidos (tales como, microgotas de aceite o liposomas). Adicionalmente, estos portadores pueden actuar como agentes inmunoestimulantes (es decir, adyuvantes).

Con preferencia, la composición incluye trehalosa. Las cantidades preferidas de trehalosa (% en peso) incluyen de un mínimo de aproximadamente 1%, 2%, 3%, o 4% a un máximo de aproximadamente 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, o 5%. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición incluye aproximadamente 3% - 6% de trehalosa, con máxima preferencia, 4,5% de trehalosa por 0,5 ml de dosis.

Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen agua destilada, solución salina, solución salina regulada con fosfato fisiológica, glicerol, alcohol (tales como etanol), soluciones de Ringer, solución de dextrosa, soluciones de sal equilibrada de Hank, y/o un excipiente de liofilización.

Los ejemplos de buffer incluyen buffer fosfato (tal como fosfato de potasio, fosfato de sodio); acetato (tal como acetato de sodio); succinato (tal como succinato de sodio); glicina; histidina; carbonato, Tris (tris(hidroximetil)aminometano), y/o bicarbonato (tales como bicarbonato de amonio). Con preferencia, la composición incluye buffer tris. Las cantidades preferidas de buffer tris incluyen desde un mínimo de aproximadamente 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM a un máximo de aproximadamente 20 mM,19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, o 11 mM. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición incluye aproximadamente buffer tris 8 mM a 12 mM, con máxima preferencia, buffer tris 10 mM por 0,5 ml de dosis.

En otra forma de realización preferida, la composición incluye buffer de histidina. Las cantidades preferidas de buffer de histidina incluyen de un mínimo de aproximadamente 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM a un máximo de aproximadamente 20 mM, 19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, o 11 mM. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición incluye aproximadamente buffer de histidina 8 mM a 12 mM, con máxima preferencia, buffer de histidina 10 mM por 0,5 ml de dosis.

En otra forma de realización preferida más, la composición incluye buffer de fosfato. Las cantidades preferidas de buffer de fosfato incluye de un mínimo de aproximadamente 1 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM a un máximo de aproximadamente 20 mM,19 mM, 18 mM, 17 mM, 16 mM, 15 mM, 14 mM, 13 mM, 12 mM, o 11 mM. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición incluye aproximadamente buffer de fosfato 8 mM a 12 mM, con máxima preferencia, buffer de fosfato 10 mM por 0,5 ml de dosis.

El pH del buffer generalmente se elegirá para estabilizar el material activo de elección, y puede ser comprobable por los de la técnica por métodos conocidos. Con preferencia, el pH del buffer estará en el rango del pH fisiológico. En consecuencia, los rangos de pH preferidos son de aproximadamente 3 a aproximadamente 8; con más preferencia, de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0; aún con más preferencia, de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5; y con máxima preferencia, a aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,2.

En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas pueden incluir un tensioactivo. Cualquier tensioactivo es adecuado, sea anfotérico, no iónico, catiónico o aniónico. Los ejemplos de tensioactivos incluyen los tensioactivos de ésteres de polioxitilen sorbitano (por ejemplo, TWEEN ®), tales como polisorbato 20 y/o polisorbato 80; éteres grasos polioxietileno derivados de alcoholes laurílicos, cetílicos, estearílicos y oleílicos (conocidos como tensioactivos Brij), tales como éter trietilenglicol monolaurílico (Brij 30); Triton X 100, o t-octilfenoxipolietoxietanol; y ésteres de sorbitano (comúnmente conocidos como los SPAN), tales como trioleato de sorbitano (Span 85) y monolaurato de sorbitano, y sus combinaciones. Los tensioactivos preferidos incluyen polisorbato 80 (monoleato de polioxietilen sorbitano).

Las cantidades preferidas de polisorbato 80 (% en peso) incluyen desde un mínimo de aproximadamente 0,001%, 0,005%, o 0,01%, a un máximo de aproximadamente 0,010%, 0,015%, 0,025%, o 1,0%. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición incluye aproximadamente 0,005% - 0,015% de polisorbato 80, con máxima preferencia, 0,01% de polisorbato 80 por 0,5 ml de dosis.

En un ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye trehalosa y fosfato 80. En otro ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye buffer tris y polisorbato 80. En otro ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye buffer de histidina y polisorbato 80.

En aún otro ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye buffer de fosfato y polisorbato 80.

En un ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye trehalosa, buffer tris y polisorbato 80. En otro ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye trehalosa, buffer de histidina y polisorbato 80. En aún otro ejemplo de forma de realización, la composición inmunogénica incluye trehalosa, buffer de fosfato y polisorbato 80.

Las composiciones que se describen en la presente también pueden incluir componentes de aceite, de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de maní, aceite de soja y/o aceite mineral. Los ejemplos incluyen glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica también incluye formaldehído. Por ejemplo, en una forma de realización preferida, una composición farmacéutica que también incluye formaldehído tiene una composición inmunogénica, donde la toxina de C. difficile mutante de la composición inmunogénica se ha puesto en contacto con un agente de entrecruzamiento químico que incluye formaldehído. La cantidad de formaldehído presente en la composición farmacéutica puede variar de un mínimo de aproximadamente 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,010%, 0,013%, o 0,015%, a un máximo de aproximadamente 0,020%, 0,019%, 0,018%, 0,017% 0,016%, 0,015%, 0,014%, 0,013%, 0,012% 0,011% o 0,010%. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En una forma de realización, la composición farmacéutica incluye aproximadamente 0,010% de formaldehído.

En algunas formas de realización alternativas, las composiciones farmacéuticas que se describen en la presente no incluyen formaldehído. Por ejemplo, en una forma de realización preferida, una composición farmacéutica que no incluye formaldehído tiene una composición inmunogénica, donde al menos un aminoácido de la toxina de C. difficile mutante está entrecruzado químicamente con un agente que incluye EDC. Con más preferencia, en tal forma de realización, la toxina de C. difficile mutante no se ha puesto en contacto con un agente de entrecruzamiento químico que incluye formaldehído. A modo de otro ejemplo de forma de realización, una composición farmacéutica que está en una forma liofilizada no incluye formaldehído.

En otra forma de realización, las composiciones que se describen en la presente pueden incluir un adyuvante, como se describe a continuación. Los adyuvantes preferidos aumentan la respuesta inmune intrínseca a un inmunógeno sin

causar cambios conformacionales en el inmunógeno que pueden afectar la forma cualitativa de la respuesta inmune.

Los ejemplos de adyuvantes incluyen monofosforil lípido A 3 des-O-acilado (MPL™) (ver GB 2220211 (GSK)); un gel de hidróxido de aluminio tales como Alhydrogel™ (Brenntag Biosector, Dinamarca); sales de aluminio (tales como, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, sulfato de aluminio), que se puede usar con o sin un agente inmunoestimulante tal como MPL o 3-DMP, QS-21, aminoácidos poliméricos o monoméricos tales como ácido poliglutámico o polilisina.

Aún otro ejemplo de adyuvante es un oligonucleótido inmunoestimulante tales como un oligonucleótido de Cpg (ver, por ejemplo, WO 1998/040100, WO2010/067262), o una saponina y un oligonucleótido inmunoestimulante, tales como un oligonucleótido de Cpg (ver, por ejemplo, WO 00/062800). En una forma de realización preferida, el adyuvante es un oligonucleótido de Cpg, con máxima preferencia un oligodesoxinucleótidos CpG (CpG ODN). Los CpG ODN preferidos son de la Clase B que activan en forma preferencial las células B. En aspectos de la invención, la CpG ODN tiene la secuencia de ácidos nucleicos 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T*T 3' (SEQ ID NO: 48) donde * indica una ligadura fosforotioato. El CpG ODN de esta secuencia es conocido como CpG 24555, que se describe en WO2010/067262. En una forma de realización preferida, CpG 24555 se usa junto con una sal de hidróxido de aluminio tal como Alhydrogel.

Una clase adicional de adyuvantes ejemplificativos incluyen adyuvantes de saponina, tales como Stimulon™ (QS-21, que es un glicósido de triterpeno o saponina, Aquila, Framingham, Mass.) o partículas generadas de estas tales como ISCOMs (complejos inmunoestimulantes) y adyuvante ISCOMATRIX®. Por consiguiente, las composiciones de la presente invención se pueden administrar en la forma de ISCOM, ISCOMS que contienen CTB, liposomas o encapsulados en compuestos tales como acrilatos o poli(DL-láctido-co-glicósido) para formar microesferas de un tamaño adecuado para la adsorción. Normalmente, el término "ISCOM" se refiere a complejos inmunogénicos formados entre glicósidos, tales como saponinas triterpenoides (particularmente Quil A), y antígenos que contienen una región hidrofóbica. En una forma de realización preferida, el adyuvante es un adyuvante ISCOMATRIX.

Otros ejemplos de adyuvantes incluyen RC-529, GM-CSF y adyuvante de Freund completo (CFA) y adyuvante de Freund incompleto (IFA).

Aún otra clase de ejemplos de adyuvantes es análogos de glicolípidos que incluyen N-glicosilamidas, N-glicosilureas y N-glicosilcarbamatos, cada uno de los

cuales está sustituido en el residuo azúcar por un aminoácido.

Opcionalmente, la composición farmacéutica incluye dos o más adyuvantes diferentes. Las combinaciones preferidas de adyuvantes incluyen cualquier combinación de adyuvantes que incluyen, por ejemplo, al menos dos de los siguientes adyuvantes: alúmina, MPL, QS-21, ISCOMATRIX, CpG, y Alhydrogel. Un ejemplo de combinación de adyuvantes incluye una combinación de CpG y Alhydrogel.

Alternativamente, en una forma de realización, la composición se administra al mamífero en ausencia de un adyuvante.

Las composiciones que se describen en la presente se pueden administrar por cualquier vía de administración, tales como, por ejemplo, vías parenteral, tópica, intravenosa, mucosa, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneana, intratecal, intraperitoneal, intranasal, intramuscular, intradérmica, infusión, rectal, y/o transdérmica para aplicaciones profilácticas y/o terapéuticas. En una forma de realización preferida, la vía de administración de la composición es administración parenteral, con más preferencia, intramuscular. La administración intramuscular típica se realiza en el brazo de músculos de la pierna.

Las composiciones que se describen en la presente se pueden administrar en combinación con terapias que son al menos parcialmente efectivas en la prevención y/o tratamiento de la infección con C. difficile. Por ejemplo, una composición de la invención se puede administrar antes, concurrentemente con, o después de la bioterapia; terapia probiótica; implantes fecales, inmunoterapia (tal como inmunoglobulina intravenosa); y/o un estándar de atención aceptado para el tratamiento antibiótico de la enfermedad asociada con *C. difficile* (CDAD), tales como metronidazol y/o vancomicina.

Una composición de la presente invención relacionada con la toxina A y toxina B se puede administrar al mamífero en cualquier combinación. Por ejemplo, una composición inmunogénica que incluye una TcdA de C. difficile mutante se puede administrar al mamífero antes, en forma concurrente con o después de la administración de una composición inmunogénica que incluye una TcdB de C. difficile mutante. A la inversa, una composición inmunogénica que incluye una TcdB de C. difficile mutante se puede administrar al mamífero antes, en forma concurrente con o después de la administración de una composición inmunogénica que incluye a TcdA de C. difficile mutante.

En otra forma de realización, una composición que incluye un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este se puede administrar al mamífero antes, en

forma concurrente con o después de la administración de a composición que incluye un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este. A la inversa, una composición que incluye un anticuerpo anti-toxina B o fragmento de unión de este se puede administrar al mamífero antes, en forma concurrente con o después de la administración de a composición que incluye un anticuerpo anti-toxina A o fragmento de unión de este.

En una forma de realización adicional, una composición de la presente invención se puede administrar al mamífero antes, en forma concurrente con o después de la administración de a portador farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, un adyuvante se puede administrar antes, en forma concurrente con o después de la administración de a composición que incluye a toxina de C. difficile mutante. Por consiguiente, una composición de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable se pueden envasar en el mismo vial o se pueden envasar en viales separados y mezclar antes de usar. Las composiciones se pueden formular para la administración de dosis única y/o administración de dosis múltiple.

Métodos de proteger y/o tratar la infección con C. difficile en un mamífero

En un aspecto, la invención se refiere a un método de inducir una respuesta inmune a una toxina de C. difficile en un mamífero. El método incluye administrar una cantidad efectiva de una composición que se describen en la presente al mamífero. Por ejemplo, el método puede incluir administrar una cantidad efectiva para generar una respuesta inmune a la respectiva toxina de C. difficile en el mamífero.

En un ejemplo de forma de realización, la invención se refiere a un método de inducir una respuesta inmune a una TcdA de C. difficile en un mamífero. El método incluye administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica que incluye una TcdA de C. difficile mutante al mamífero. En otro ejemplo de forma de realización, la invención se refiere a un método de inducir una respuesta inmune a una TcdB de C. difficile en un mamífero. El método incluye administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica que incluye a TcdB de C. difficile mutante al mamífero.

En una forma de realización adicional, el método incluye administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica que incluye a TcdA de C. difficile mutante y una cantidad efectiva de una composición inmunogénica que incluye una TcdB de C. difficile mutante al mamífero. En aspectos adicionales, las composiciones que se describen en la presente se puede usar para tratar, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de

una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o complicación estos en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administra la composición. El método incluye administrar una cantidad efectiva de la composición al mamífero.

Se reconocen tres síndromes clínicos causados por la infección con C. difficile, sobre la base de la gravedad de la infección. La forma más grave es la colitis pseudomembranosa (PMC), que se caracteriza por diarrea profusa, dolor abdominal, signos sistémicos de enfermedad, y un aspecto endoscópico distintivo del colon.

La colitis asociada con antibiótico (AAC) también se caracteriza por diarrea profusa, dolor abdominal y sensibilidad a la palpación, signos sistémicos (por ejemplo, fiebre), y leucocitosis. La lesión intestinal en la AAC es menos grave que en la PMC, el característico aspecto endoscópico del colon en la PMC está ausente, y la mortalidad es baja.

Finalmente, la diarrea asociada con antibióticos (AAD, que también se conoce como diarrea asociada con *C. difficile* (CDAD) es un síndrome relativamente leve y se caracteriza por diarrea leve a moderada, carece de inflamación intestinal grande (caracterizada, por ejemplo, por dolor abdominal y sensibilidad a la palpación) y signos sistémicos de la infección (por ejemplo, fiebre).

Estos tres síndromes distintos se producen normalmente en un orden de frecuencia creciente. Es decir, la PMC normalmente ocurre con menos frecuencia que AAC, y AAD es normalmente la presentación clínica más frecuente de la enfermedad de *C. difficile*.

Una complicación frecuente de la infección con C. difficile es la enfermedad recurrente o recidivante, que se produce en hasta 20% de los sujetos que se recuperan de la enfermedad de *C. difficile*. La recidiva se puede caracterizar clínicamente como AAD, AAC, o PMC. Los pacientes que recidivan una vez es más probable que recidiven de nuevo.

Como se usa en la presente, las condiciones de una infección con C. difficile incluyen, por ejemplo, infección leve, leve a moderada, moderada, y grave con C. difficile. Una condición de infección con C. difficile puede variar de acuerdo con la presencia y/o gravedad de los síntomas de la infección.

Los síntomas de una infección con C. difficile pueden incluir síntomas fisiológicos, bioquímicos, histológicos y/o conductuales tales como, por ejemplo, diarrea; colitis; colitis con calambres, fiebre, leucocitos fecales e inflamación en biopsia colónica, colitis pseudomembranosa; hipoalbuminemia; anasarca; leucocitosis; sepsis;

dolor abdominal; transporte asintomático; y/o complicaciones y fenotipos patológicos intermedios presentes durante el desarrollo de la infección, y sus combinaciones, etc. Por consiguiente, por ejemplo, la administración de una cantidad efectiva de las composiciones que se describen en la presente, por ejemplo pueden tratar, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de la diarrea; dolor abdominal, calambres, fiebre, inflamación en la biopsia colónica, hipoalbuminemia, anasarca, leucocitosis, sepsis y/o transporte asintomático, etc., en comparación con un mamífero al que no se administró la composición.

Los factores de riesgo de una infección con C. difficile pueden incluir, por ejemplo, el uso futuro presente o inmediato de un antimicrobiano (está comprendidos cualquier agente antimicrobiano con espectro antibacteriano y/o actividad contra las bacterias anaeróbicas, que incluyen, por ejemplo, antibióticos que causan alteración de la microflora colónica normal, por ejemplo, clindamicina, cefalosporinas, metronidazol, vancomicina, fluoroquinolonas (que incluye levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina, y ciprofloxacina), linezolida, etc.); retiro presente o futuro inmediato del metronidazol o vancomicina prescripto; admisión presente o inmediata en una servicio de salud (tal como un hospital, servicio de atención crónica, etc.) y trabajadores de la salud; tratamiento presente o futuro inmediato con inhibidores de la bomba de protones, antagonistas de H2, y/o metotrexato, o una combinación de estos; presente o riesgo de enfermedades gastrointestinales, tales como enfermedad intestinal inflamatoria; cirugía gastrintestinal o procedimiento gastrointestinal pasado, presente o futuro inmediato en el mamífero; recurrencia pasada o presente de una infección con C. difficile y/o a CDAD, por ejemplo, pacientes que presentaron una infección con C. difficile y/o a CDAD una vez o más de una vez; y seres humanos de al menos aproximadamente 65 años y mayores.

En los métodos que se describen en la presente, el mamífero puede ser cualquier mamífero, tales como, por ejemplo, ratones, hámsteres, primates, y seres humanos. En una forma de realización preferida, el mamífero es un ser humano. De acuerdo con la presente invención, el ser humano puede incluir individuos que han presentado una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o complicación de esta; individuos que están exhibiendo actualmente una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o sus complicaciones; e individuos que tienen riesgo de una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C.

difficile, y/o sus complicaciones.

Los ejemplos de individuos que muestran síntomas de infección con C. difficile incluyen individuos que han mostrado o están mostrando los síntomas descriptos anteriormente; individuos que han tenido o están teniendo una infección con C. difficile y/o a enfermedad asociada a *C. difficile* (CDAD); e individuos que presentan una recurrencia de una infección con C. difficile y/o CDAD.

Los ejemplos de pacientes que están en riesgo de una infección con C. difficile incluyen individuos con riesgo o que están sometidos actualmente al uso antimicrobiano planificado; individuos en riesgo de o sometidos actualmente al retiro de metronidazol o vancomicina prescripto; individuos que tienen riesgo de o actualmente sometidos a una admisión planificada a un servicio de salud (tal como un hospital, servicio de atención crónica, etc.) y trabajadores de la salud; y/o individuos en riesgo de o experimentando actualmente un tratamiento planificado con inhibidores de la bomba de protones, antagonistas de H2, y/o metotrexato, o una combinación de estos; individuos que han tenido o están experimentado enfermedades gastrointestinales, tales como enfermedad intestinal inflamatoria; individuos que han tenido o están sometidos a cirugía gastrointestinal o procedimiento gastrointestinal; e individuos que han tenido o están teniendo una recurrencia de una infección con C. difficile y/o una CDAD, por ejemplo, pacientes que han tenido una infección con C. difficile y/o una CDAD una vez o más de una vez; individuos que tienen aproximadamente 65 años o más. Tales pacientes en riesgo pueden están mostrando o no en el presente síntomas de una infección con C. difficile.

En pacientes asintomáticos, la profilaxis y/o tratamiento pueden comenzar a cualquier edad (por ejemplo, a aproximadamente 10, 20, o 30 años). En una forma de realización, sin embargo, no es necesario comenzar el tratamiento hasta que un paciente alcance al menos aproximadamente 45, 55, 65, 75, u 85 años. Por ejemplo, las composiciones que se describen en la presente se pueden administrar a un ser humano asintomático que tiene 50-85 años.

En una forma de realización, el método de prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o sus complicaciones en un mamífero incluye administrar una cantidad efectiva de una composición descripta en la presente a un mamífero que lo necesita, un mamífero en riesgo de, y/o un mamífero sensible a una infección con C. difficile. Una cantidad efectiva incluye, por ejemplo, una cantidad suficiente para prevenir,

disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de a infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o sus complicaciones en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administra la composición. La administración de una cantidad efectiva de las composiciones que se describen en la presente puede, por ejemplo, prevenir, disminuir el riesgo de, disminuir la gravedad de, disminuir las apariciones de, y/o retrasar el comienzo de diarrea; dolor abdominal, calambres, fiebre, inflamación en la biopsia colónica, hipoalbuminemia, anasarca, leucocitosis, sepsis y/o transporte asintomático, etc., en comparación con un mamífero al que no se administró la composición. En una forma de realización preferida, el método incluye administrar una cantidad efectiva de una composición inmunogénica que se describen en la presente al mamífero que lo necesita, el mamífero en riesgo de, y/o el mamífero sensible a una infección con C. difficile.

En una forma de realización adicional, el método de tratar, disminuir la gravedad de, y/o retrasar el comienzo de una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o sus complicaciones en un mamífero incluye administrar una cantidad efectiva de una composición descripta en la presente a un mamífero sospechado de o que padece actualmente de una infección con C. difficile. Una cantidad efectiva incluye, por ejemplo, una cantidad suficiente para tratar, disminuir la gravedad de, y/o retrasar el comienzo de una infección con C. difficile, enfermedad, síndrome, afección, síntoma asociado a C. difficile, y/o sus complicaciones en un mamífero, en comparación con un mamífero al que no se administra la composición.

La administración de una cantidad efectiva de la composición puede mejorar al menos un signo o síntoma de la infección con C. difficile en el sujeto, tal como los que se describen a continuación. La administración de una cantidad efectiva de las composiciones que se describen en la presente, por ejemplo, pueden disminuir la gravedad de y/o disminuir las apariciones de diarrea; disminuir la gravedad de y/o disminuir las apariciones de dolor abdominal, calambres, fiebre, inflamación en la biopsia colónica, hipoalbuminemia, anasarca, leucocitosis, sepsis y/o transporte asintomático, etc., en comparación con un mamífero al que no se administró la composición. Opcionalmente, la presencia de síntomas, signos, y/o factores de riesgo de una infección se determina antes de comenzar el tratamiento. En una forma de realización preferida, el método incluye administrar una cantidad efectiva de un anticuerpo y/o fragmento de unión de este que se describe en la presente al mamífero

sospechado de o que está padeciendo actualmente de, una infección con C. difficile.

Por consiguiente, una cantidad efectiva de la composición se refiere a una cantidad suficiente para obtener un efecto deseado (por ejemplo, efecto profiláctico y/o terapéutico) en los métodos de la presente invención. Por ejemplo, la cantidad de un inmunógeno para la administración puede variar de un mínimo de aproximadamente 1 µg, 5 µg, 25 µg, 50 µg, 75 µg, 100 µg, 200 µg, 500 µg, o 1 mg a un máximo de aproximadamente 2 mg, 1 mg, 500 µg, 200 µg por inyección. Cualquier valor mínimo se puede combinar con cualquier valor máximo para definir un rango adecuado. En general se usa aproximadamente 10, 20, 50 o 100 µg por inmunógeno para cada inyección humana.

La cantidad de a composición de la invención administrada al sujeto puede depender del tipo y gravedad de la infección y/o de las características del individuo, tal como salud general, edad, sexo, peso corporal y tolerando a los fármacos. También puede depender del grado, gravedad, y tipo de enfermedad. Una cantidad efectiva también puede variar de acuerdo los factores, tales como vía de administración, sitio blanco, estado fisiológico del paciente, edad del paciente, si el paciente es ser humano o un animal, otras terapias administradas, y si el tratamiento es profiláctico o terapéutica. Los profesionales expertos podrán determinar las cantidades apropiadas de acuerdo con estos y otros factores.

Una cantidad efectiva puede incluir una dosis efectiva o dosis efectivas múltiples (tales como, por ejemplo, 2, 3, 4 dosis o más) para usar en los métodos en la presente. Las dosis efectivas pueden necesitar titular para optimizar la seguridad y eficacia.

Una combinación de cantidad y frecuencia dosis adecuadas para obtener usos profilácticos y/o terapéuticos como un régimen efectivo para uso profiláctico o terapéutico. En un régimen profiláctico y/o terapéutico, la composición se administra normalmente en más de una dosis hasta que se ha obtenido una respuesta inmune suficiente. Normalmente, se controla la respuesta inmune y se dan dosis repetidas si la respuesta inmune comienza a declinar.

Las composiciones se pueden administrar en dosis múltiples durante un período de tiempo. El tratamiento se puede controlar por el ensayo del anticuerpo, o respuestas de células T o células B activadas al agente terapéutico (por ejemplo, la composición inmunogénica que incluye una toxina de C. difficile mutante) durante el tiempo. Si fracasa la respuesta, se indica una dosis de refuerzo.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Identificación de cepas de C. difficile con toxina negativa

Para identificar cepas de C. difficile que carecen de expresión de los genes de toxina (A y B) y toxina, se analizaron 13 cepas de C. difficile. Se analizaron medios de cultivo de 13 cepas de C. difficile por ELISA para la toxina A. Siete cepas expresaron toxina A: *C. difficile* 14797-2, *C. difficile* 630, *C. difficile* BDMS, *C. difficile* W1194, *C. difficile* 870, *C. difficile* 1253, y *C. difficile* 2149. Ver Figura 3.

Seis cepas no expresaron la toxina A y carecieron el locus de patogenicidad entero: *C. difficile* 1351 (ATCC 43593™), *C. difficile* 3232 (ATCC BAA-1801™), *C. difficile* 7322 (ATCC 43601™), *C. difficile* 5036 (ATCC 43603™), *C. difficile* 4811 (4 ATCC 3602™), y *C. difficile* VPI 11186 (ATCC 700057™). VPI 11186 se seleccionó sobre la base de su efectividad para captar el ADn del plásmido por la conjugación.

Las mismas 13 cepas se analizaron en un ensayo de PCR multiplex usando cebadores exteriores del locus de patogenicidad (PaLoc; Braun et al., *Gene.* 1996 Nov 28;181(1-2):29-38.). Los resultados de PCR demostraron que el ADN de 6 cepas negativas para toxina A por ELISA no amplificaron ninguno de los genes del PaLoc (tcdA-tcdE). Las secuencias flanqueantes del PaLoc (*cdd3* y *cdu2*) estaban presentes (datos no mostrados).

Ejemplo 2: Inactivación de la vía de esporulación en *C. difficile* VPI 11186

La inactivación de la función de formadora de esporas de la cepa productora de *C. difficile* facilita la fermentación en gran escala en un ambiente de fabricación seguro. El sistema ClosTron se usó para crear una cepa esporogénica de C. difficile. Ver Heap et al., *J Microbiol Methods*. 2009 Jul; 78(1):79-85. El sistema ClosTron permite la inactivación del gen dirigido con un intrón del grupo II para la inactivación de inserción dirigido al sitio de un gen clostridial *spo0A1*. La cepa de producción de menos toxina VPI11186 se sometió a la inactivación de la esporulación por la tecnología de ClosTron. Se seleccionaron las mutantes resistentes a eritromicina y la presencia del casete de inserción se confirmó por PCR (no mostrado). Se confirmó la incapacidad de dos clones independientes para formar esporas.

Ejemplo 3: Modificación genética de los genes de toxina A y B para inactivar la función de citotoxicidad

Los marcos de lectura abierta de las toxinas A y B mutantes (ORF) de longitud completa basados en las secuencias genómicas de la cepa 630Δ se diseñaron para la síntesis habitual en Blue Heron Biotech. Ver, por ejemplo, SEQ ID NO: 9-14. El sitio activo para la actividad de glucosiltransferasa responsable para la toxicidad celular se

alteró por dos sustituciones alélicas: D285A/D287A (ver SEQ ID NO: 3) para la toxina A, y D286A/D288A (ver SEQ ID NO: 5) para la toxina B. Dos nucleótidos mutaron en cada codón de aspartato (D) para crear el codón para alanina (A). Ver, por ejemplo, SEQ ID NOs: 9-14. Además, se construyó un par de vectores que expresan toxinas mutantes que carecen de residuos de cisteína siguiendo la síntesis habitual en Blue Heron Biotech. Siete residuos de cisteína de la toxina A mutante y 9 residuos de cisteína de la toxina B mutante se reemplazaron con alanina. Las sustituciones incluyen cisteínas catalíticas de la proteasa autocatalítica de la toxina A y B. Asimismo, se introdujeron mutaciones silentes cuando sea necesario para eliminar los sitios de enzima de restricción usados para la construcción del vector.

Ejemplo 4: Vector de expresión de pMTL84121*fdx*

El vector de lanzadera del plásmido usado para la expresión del antígeno de la toxina de C. difficile mutante se seleccionó del sistema modular de serie pMTL8000 desarrollado por Minton lab (ver Heap et al., *J Microbiol Methods*. 2009 Jul;78(1):79-85). El vector pMTL84121*fdx* elegido contiene el plásmido de *C. difficile* pCD6 Gram+ replicón, el marcador seleccionable *catP* (cloramfenicol/ tiamfenicol), el p15a Gram- replicón y función *tra*, y el promotor de ferredoxina de *C. sporogenes* (*fdx*) y el sitio de clonación múltiple distal (MCS). Los datos empíricos sugirieron que el replicón p15a de número de copias bajas confirió mayor estabilidad en *E. coli* que la alternativa ColE1. El promotor *fdx* se seleccionó ya que produjo expresión más alta que otros promotores analizados en los experimentos con constructos del indicador CAT (por ejemplo *tcdA*, *tcdB*; o tetR o xilR heterólogos) (datos no mostrados).

Ejemplo 5: Clonación de las ORF de la toxina modificada eno pMTL84121*fdx*

Los marcos de lectura abiertos (ORF) de la toxina Ay B mutante de longitud completa sobre la base de las secuencias genómicas de la cepa 630Δ se subclonaron usando sitios *Nde*I y *Bgl*II de clonación múltiple del vector pMTL84121*fdx* usando técnicas de biología molecular estándares. Para facilitar la clonación, los ORF se flanquearon un sitio *NdeI* próximo que contienen el codón de inicio y un sitio *BglII* justo corriente abajo del codón de detención.

Ejemplo 6: Mutagénesis dirigida al sitio de la TcdA para crear una triple mutante

El residuo de cisteína catalítico del dominio de proteasa autocatalítico se sustituyó (es decir, C700A para TcdA y C698A para TcdB) en las SEQ ID NOs: 3 y 5, es decir, en cada una de las “mutantes dobles”. Para la mutagénesis de la toxina A mutante, un fragmento *Nde*I-*Hind*III de 2,48kb del plásmido de expresión de la TcdA D285A/D287A se subclonó en pUC19 (cortado con el mismo) y se realizó la

mutagénesis dirigida al sitio en este molde. Una vez que se confirmaron los nuevos alelos por el análisis de la secuencia de ADN, los fragmentos de *Nde*I-*Hind*III modificados se reintrodujeron el vector de expresión pMTL84121*fdx* para crear las "mutantes triples" es decir, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6.

Ejemplo 7: Mutagénesis dirigida al sitio de la TcdB para crear una triple mutante

Para la mutagénesis de la toxina B mutante, un fragmento *Nde*I-*Eco*NI de 3,29 kb del plásmido de la toxina B mutante se modificó y se reintrodujo. Como el sitio de *Eco*NI no está presente en vectores de clonación disponibles se subclonó un fragmento *Nde*I-*EcoR*V de 3,5 kb ligeramente más grande en pUC19 (preparado con *Nde*I-*Sma*I). Después de la mutagénesis, se escindió el fragmento *Nde*I-*Eco*NI de 3,3kb interno modificado y se usó para reemplazar el correspondiente fragmento del vector pMTL84121*fdx* de expresión de la toxina B mutante. Debido a que se halló que la eficiencia de la clonación de esta estrategia direccional es relativamente baja, se intentó una estrategia alternativa en paralelo para introducir el alelo C698A que involucra el reemplazo de una *Dra*III de 1,5 kb. Ambas estrategias produjeron de modo independiente los recombinantes deseados.

Ejemplo 8: Creación de variación de toxina mutante adicional por mutagénesis dirigida al sitio

Se construyeron al menos doce variantes de la toxina mutante de *C. difficile*. Las sustituciones alélicas se introdujeron en fragmentos del gen de la toxina mutante N-terminal por mutagénesis dirigida al sitio (Quickchange® kit). Las toxinas recombinantes también se manipularon genéticamente como controles de referencia para evaluar la capacidad de este sistema basado en plásmido para generar proteína de actividad biológica cuantitativamente equivalente a las toxinas nativas purificadas de las cepas de C. difficile tipo salvaje. En este caso, las sustituciones alélicas se introdujeron para revertir las sustituciones de la glucosiltransferasa original. Además, se construyó un par de vectores de la toxina mutante sin cisteína siguiendo la síntesis habitual en Blue Heron Biotech.

Las doce variantes de la toxina incluyen (1) una toxina A de C. difficile mutante que tiene una mutación de D285A/D287A (SEQ ID NO: 3); (2) una toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación de D286A/D288A (SEQ ID NO: 5); (3) una toxina A de C. difficile mutante que tiene una mutación de D285A/D287A C700A (SEQ ID NO: 4); (4) una toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación de D286A/D288A C698A (SEQ ID NO: 6); (5) una toxina A recombinante que tiene la SEQ ID NO: 1; (6) una toxina B recombinante que tiene la SEQ ID NO: 2; (7) una toxina A de C. difficile

mutante que tiene una mutación C700A; (8) una toxina B C. difficile mutante que tiene una mutación C698A; (9) una toxina A de C. difficile mutante que tiene a C700A C597S, C1169S, C1407S, C1623S, C2023S, y C2236S mutación; (10) a toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación C698A C395S, C595S, C824S, C870S, C1167S, C1625S, C1687S, y C2232S; (11) una toxina A de C. difficile mutante que tiene una mutación D285A, D287A, C700A, D269A, R272A, E460A, y R462A (SEQ ID NO: 7); y (12) una toxina de C. difficile mutante B que tiene una mutación D270A, R273A, D286A, D288A, D461A, K463A, y C698A (SEQ ID NO: 8)

Ejemplo 9: Estabilidad de transformantes

Se obtuvieron plásmidos reordenados con la cepa de laboratorio DH5 *E. coli* comúnmente usado. En contraste, las transformaciones que usan el huésped Invitrogen Stbl2™ *E. coli* produjo toxinas mutantes recombinantes de longitud completa de crecimiento lento después de tres días de crecimiento a 30°C en placas de LB cloramfenicol (25 µg/ml). Se obtuvieron eficiencias de clonación más bajas con las cepas de E. coli relacionadas Stbl3™ y Stbl4™, si bien se halló que estas líneas son estables para el mantenimiento del plásmido. Los transformantes se propagaron posteriormente en medio de cultivo de agar o líquido bajo selección de cloramfenicol a 30°C. También se halló que el uso del medio LB (de Miller) mejora la recuperación y crecimiento de los transformantes en comparación con el medio basado tristona-soja libre de animal.

Ejemplo 10: Transformación de *C. difficile* con pMTL84121*fdx* que codifica genes de toxina mutante tipo salvaje o genética

La transformación de *C. difficile* por la transferencia de conjugación de *E. coli* se realizó esencialmente como se describe en Heap et al., *Journal of Microbiological Methods*, 2009. 78(1): p. 79-85. El huésped de *E. coli* CA434 se transformó con pMTL84121 *fdx* que codifica genes de toxina mutante de tipo salvaje o variante. El huésped de *E. coli* CA434 es el intermedio para movilizar los plásmidos de expresión en la cepa de producción de *C. difficile* VPI 11186 spo0A1. CA434 es un derivado de *E. coli* HB101. Esta cepa aloja el plásmido de conjugación Tra+ Mob+ R702 que confiere resistencia a Km, Tc, Su, Sm/Spe, y Hg (debido a Tn1831). Se prepararon células CA434 competentes químicamente o electrocompetentes y se seleccionaron los transformantes del vector de expresión en las placas CAM de LB de Millar a 30°C. Se seleccionaron las colonias de crecimiento lento que aparecen 3 días después y se amplificaron 3 ml de cultivos de LB cloranfenicol hasta fase semilog (~24 horas, 225 rpm, agitador orbital a 30°C). Los cultivos de *E. coli* se recolectaron por centrifugación

a velocidad baja (5.000 g) para evitar la ruptura de vellosidades, y los pellet celulares se resuspendieron suavemente con una pipeta de transferencia de perforación amplia en 1 ml de PBS. Las células se concentraron por centrifugación de velocidad baja. La mayor parte del PBS se extrajo por inversión y los pellet drenados se transfirieron a la cámara anaeróbica y se resuspendieron con 0,2 ml de cultivo de *C. difficile*,

Se sembraron en placas de agar BHIS y se dejaron crecer durante 8 horas o toda la noche. En el caso de los transformantes de la toxina A mutante, se obtuvieron mejores resultados con la conjugación durante toda la noche. Los parches celulares se rasparon en 0,5 ml de PBS y 0,1 ml se sembraron en medio de selección BHIS suplementado con 15 µg/ml de tiamfenicol (análogo más potente de cloramfenicol) y D-cicloserina / cefoxitina para destruir las células dadoras de *E. coli*. Los transformantes que aparecen 16-24 h más tarde se purificaron por el re-estriado en una nueva placa BHIS (más suplementos) y se analizaron cultivos posteriores para determinar la expresión de las toxinas recombinantes o toxinas mutantes. Se prepararon patrones permanentes y de semilla con glicerol de los clones que muestran buena expresión. Las minipreparaciones del plásmido también se prepararon a partir de 2 ml de cultivos usando un procedimiento del kit de Qiagen modificados en que las células se pretrataron con lisozima (no esencial). El ADN de minipreparación de *C. difficile* se usó como un molde para la secuenciación de PCR para verificar la integridad del clon. De modo alternativo, el ADN de maxipreparación del plásmido se preparó a partir de los transformantes de *E. coli* Stbl2™ y se secuenciaron.

Ejemplo 11: Análisis de la expresión de *C. difficile* de la toxina A y B triple mutante (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) y hepta B mutante (SEQ ID NO: 8)

Los transformantes se cultivaron en 2 ml de cultivos (para el análisis de rutina) o en matraces con tapa de ventilación (para los experimentos de curso de tiempo). Las muestras (2 ml) se centrifugaron brevemente (10.000 rpm, 30 s) para concentrar las células: los sobrenadantes se decantaron y concentraron 10x (Amicon-ultra 30k); los pellet se drenaron y congelaron a -80ºC. Los pellet celulares luego se descongelaron en hielo, se resuspendieron en 1 ml de buffer de lisis (Tris-HCl pH 7,5; 1 mM de EDTA, 15% de glicerol) y se sometieron a sonicación (1x 20s estallido con microtip). El lisado se centrifugó a 4ºC y el sobrenadante se concentró 5 veces. Las muestras del sobrenadante y el lisado se combinaron con buffer de muestra y se trataron con calor (10 min, 80ºC) antes de cargar en 3-8% de geles de SDS-PAGE Tris-acetato por duplicado (Invitrogen). Un gel se tiñó con Coomassie, el segundo se electrotransfirió para el análisis western. Se usaron antisueros de conejos específicos de la Toxina A y

específicos de Toxina B (Fitgerald; Biodesign) para detectar las variantes de la toxina A y B mutantes. La expresión de la hepta toxina B mutante (SEQ ID NO: 8) también se confirmó por hibridación por transferencia Western.

Ejemplo 12: Anulación de la actividad de glucosiltransferasa de las toxinas mutantes

Las toxinas mutantes dobles genéticas (DM) A y B (SEQ ID NOs: 3 y 5, respectivamente) y las toxinas A y B triple mutantes (TM) (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) no transfirieron ^{14}C-glucosa a 10 µg de RhoA, Rac1 y Cdc42 GTPasas en ensayos de glucosilación *in vitro* en presencia de UDP-^{14}C-glucosa [30 µM], 50 mM de HEPES, pH 7,2, 100 mM de KCl, 4 mM de $MgCl_2$, 2 mM de $MnCl_2$, 1 mM de DTT, y 0,1 µg/µL de BSA. Sin embargo, los controles de toxina A y B tipo salvaje (que tienen la SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente) transfirieron ^{14}C-glucosa a las GTPasas en forma eficiente a una dosis baja de 10 y 1 ng cada una (y los datos más bajos no mostrados) (Figuras 4A y 4B), incluso en presencia de 100 µg de toxina mutante (Figura 4B) lo que indica menos de 100.000 veces de reducción en comparación con las respectivas toxinas tipo salvaje. Se detectaron resultados similares para Cdc42 GTPasa (datos no mostrados).

Específicamente, en la Fig. 4B, la toxina A y B tipo salvaje (1 ng) o triple toxina A mutante y triple toxina B mutante (100 µg) se incubaron con RhoA GTPasa en presencia de UDP-^{14}C-glucosa durante 2 horas a 30ºC. Como se ilustra, 1 ng de TdcA y TcdB tipo salvaje transfirieron ^{14}C-glucosa a RhoA pero 100 µg de toxina A triple mutante y toxina B triple mutante no. Cuando 1 ng de TdcA o TcdB tipo salvaje se adicionó en la reacción con respectivos 100 µg de toxina A triple mutante o toxina B triple mutante, se detectó la glucosilación de RhoA, lo que indica la carencia de inhibidores de la glucosilación. La sensibilidad de detección para la actividad de glucosilación se estableció que es 1 ng de toxina tipo salvaje en un umbral de 100 µg toxina mutante (relación de 1:100,000). Los resultados muestran que las mutaciones en el sitio activo de la glucosiltransferasa en la toxina A triple mutante y toxina B triple mutante redujeron cualquier actividad de glucosiltransferasa medible (actividad menor de 100.000 veces más baja en comparación con la actividad de las toxinas tipo salvaje respectivas). Un ensayo similar también se desarrolló para cuantificar la glucosiltransferasa por precipitación con TCA de las GTPasas glucosiladas.

Ejemplo 13: Anulación de actividad autocatalítica de la cisteína proteasa

La función de la escisión auto-catalítica se anuló en las mutantes A y B genéticas triple (TM) (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) cuando se mutó el sitio de

escisión de la cisteína proteasa. Como se ilustra en la Figura 5, las toxinas A y B tipo salvaje (*wt*) (SEQ ID NOs: 3 y 5, respectivamente) se escinden en presencia de inositol-6-fosfato. Las toxinas A y B mutantes doble (SEQ ID NOs: 3 y 5, respectivamente) también se escinden en presencia de inositol-6-fosfato (datos no mostrados), similares a las de tipo salvaje. La toxina A (SEQ ID NO: 3) se escinde de 308 kDa en 2 fragments de 245 y 60 kDa. La toxina B (SEQ ID NO: 5) se escinde de 270 kDa en dos fragmentos de 207 y 63 kDa. Las mutantes A y B genéticas triple (TM) (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) permancen sin afectar a 308 y 270 kDa respectivamente, aun en la presencia de inositol-6-fosfato. Ver Figura 5. En consecuencia, la actividad de cisteína proteasa se inactivó por modificación genética.

Más específicamente, en la figura 5, un µg de la triple mutante A y triple mutante B se incubaron durante 90 minutes a temperatura ambiente (21 ± 5ºC) en paralelo con TcA y TcdB tipo salvaje de la Lista de productos biológicos. La reacción de escisión se realizó en 20 µL de volumen en Tris-HCl, pH 7,5, 2 mM DTT en presencia o ausencia de inositol-6-fosfato (10 mM para TcdA y 0,1 mM para Tcd B). El volumen de reacción completo luego se cargó en un SDS/PAGE 3-8%; las bandas de proteína se visualizaron por tinción con plata. Como se ilustra, TdcA y TcdB wt se escindieron en dos bandas de proteína de 245 kD y 60 kD y 207kD y 63 kD, respectivamente, en la presencia de inositol-6-fosfato. La toxina A triple mutante y toxina B triple mutante no se escindieron, en consecuencia se confirma la mutación C700A en la toxina A triple mutante y la mutación C698A en toxina B triple mutante bloqueó la escisión.

Ejemplo 14: Citotoxicidad residual de las toxinas A y B triple mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente)

Las toxinas mutantes genéticas se evaluaron en cuanto a su citotoxicidad por un ensayo de citotoxicidad in vitro en las células IMR90, una línea celular de fibroblastos de pulmón diplomes humanos. Estas células son sensibles a la toxina A y B. A modo de forma de realización preferida alternativa, las células renales normales Vero de *Cercopithecus aethiops* se pueden usar en el ensayo de citotoxicidad ya que se observó que tenían sensibilidades razonables para la toxina A y B. Con preferencia, las células de adenocarcinoma colorrectal humano HT-29 no se usan en el ensayo de citotoxicidad porque han mostrado sensibilidades disminuidas a las toxinas, en comparación con las líneas celulares Vero e IMR90. Ver, por ejemplo, la siguiente Tabla 6.

Tabla 6: Sensibilidades de la línea celular a las toxinas A y B*				
Línea celular	Toxina 50 µg/ml	Células/pocillo	EC_{50} (pg/ml)	
			48 horas	72 horas
Vero (ATCC CCL-81™)	A	10000	1816	244
	B	10000	62	29
IMR90 (ATCC CCL-186TM)	A	10000	1329	1152
	B	10000	14	13
HT-29 (ATCC HTB-38™)	A	10000	>1E6	>1E6
	B	10000	11089	53313
*El ensayo de citotoxicidad in vitro se realizó por la medición de ATP celular usando sustrato basado en luciferasa, CellTiter-Glo® (Promega, Madison, WI)				

Las muestras de toxina mutante genética o toxina *wt* diluidas en forma seriada se añadieron a las monocapas celulares cultivadas en placas de cultivo tisular de 96 pocillos. Después de la incubación a 37°C durante 72 horas, las placas se evaluaron para determinar células metabólicamente activas por la medición de niveles de ATP celular por la adición de reactivo CellTiterGlo® basado en luciferasa (Promega, Madison, WI) que generan luminiscencia expresada como unidades de luminiscencia relativas (RLU). Las RLU altas muestran que las células son viables, las RLU bajas muestra que las células no son metabólicamente activas y se mueren. El nivel de citotoxicidad, expresado como EC_{50}, se define como la cantidad de toxina *wt* o toxina mutante genética que induce un 50% de reducción en las RLU en comparación con los niveles en los controles del cultivo celular (los detalles de este ensayo se proporcionan a continuación). Como se muestra en las Figuras 6, Tablas 7A, y Tabla 8A, los valores de EC_{50} de TcdA y TcdB fueron aproximadamente 0,92 ng/ml y 0,009 ng/ml, respectivamente. Los valores de EC_{50} de la toxina A triple mutante y toxina B triple mutante fueron aproximadamente 8600 ng/ml y 74 ng/ml, respectivamente. A pesar de una reducción aproximada de 10.000 veces de la citotoxicidad con respecto a las toxinas wt, amabas toxinas mutantes genéticas todavía demostraban bajos niveles residuales de citotoxicidad. Esta citotoxicidad residual se puede bloquear con anticuerpos monoclonales antitoxina neutralizantes lo que indica que era específica paras las triple toxinas mutantes pero probablemente no relacionadas con las actividades enzimáticas conocidas de las toxinas wt (glucosilación o autoproteólisis).

Ambas toxinas wt exhiben citotoxicidad in vitro potente, pequeñas cantidades de las toxinas son suficientes para causar varios efectos sobre las células mamíferas tales como redondeado celular (efecto citopático o CPE) y carencia de actividad metabólica (medida por los niveles de ATP). En consecuencia, se han desarrollado dos ensayos *in vitro* (un ensayo CPE o redondeado celular y un ensayo de ATP) para

verificar que no queda citotoxicidad residual las los principios activos de la toxina mutante. Los resultados se expresan como EC_{50}, que es la cantidad de toxina o toxina mutante que causa 1) 50% de las células desarrollen CPE o 2) 50% de reducción de los niveles de ATP medidos en unidades luminosas relativas.

En el ensayo de CPE, una muestra de principio activo se diluye en forma seriada y se incuba con células IMR90, que se observan para determinar un potencial efecto citopático. El ensayo CPE se califica en una escala de 0 (células normales) a 4 (~100% de redondeado celular) y una puntuación de 2 (~50% de redondeado celular) se define como un valor de EC_{50} de la muestra de ensayo. Este método se usa para analizar el principio activo de la toxina mutante a la concentración de 1000 µg /ml, que es la concentración tolerable máxima que se puede analizar en este ensayo sin interferencia de la matriz. En consecuencia, se informa citotoxicidad no detectable como EC_{50} >1000 µg/ml.

El ensayo de ATP se basa en la medición de la cantidad de señal de luminiscencia generada del ATP, que es proporcional al número de células metabólicamente activas. La concentración tolerable máxima que se puede analizar en este ensayo sin interferencia del ensayo es aproximadamente 200 µg/ml. En consecuencia se informa citotoxicidad no detectable en este ensayó como EC_{50} >200 µg/ml.

Diferentes concentraciones de toxina A y B mutantes se añadieron a las células en paralelo con los controles de toxina. Los criterios de valoración del ensayo fueron viabilidad celular determinada por niveles de ATP celular usando el CellTiter-Glo® (Promega). El grado de luminiscencia es proporcional a los niveles de ATP o número de células viables.

La citotoxicidad in vitro (EC_{50}) de la toxina A tipo salvaje (wt) fue 920 pg/ml y 9 pg/ml para la toxina B. La citotoxicidad in vitro (EC_{50}) de la toxina A mutante (SEQ ID NO: 4) fue 8600 ng/ml y 74 ng/ml para la toxina B mutante (SEQ ID NO: 6). Si bien estos valores representan reducciones de 9348 y 8222 veces, respectivamente, se detectó citotoxicidad residual en ambas toxinas mutantes.

En otras palabras, la citotoxicidad de las toxinas A y B triple mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) se redujo significativamente en el ensayo de citotoxicidad in vitro en las células IMR-90 respecto de la citotoxicidad de las toxinas A y B wt (SEQ ID NOs: 1 y 2, respectivamente). Como se ilustra en la Figura 6, si bien las toxinas mutantes triple exhibieron significativa reducción de la citotoxicidad (10^4 veces) con respecto a la toxina wt, se observó citotoxicidad residual en

concentraciones más altas de ambas triple toxinas mutantes.

Además, la citotoxicidad residual de cada toxina mutante triple se puede neutralizar completamente (por ejemplo, al menos una reducción de 6-8 log_{10} de la toxicidad, con respecto a la toxicidad de la toxina tipo salvaje) por los anticuerpos específicos de toxina. Ver Ejemplo 16, a continuación.

Los ensayos de cultivo celular son más sensibles para la detección de citotoxicidad que los modelos animales *in vivo.* Cuando se administran por vías i.p. o i.v en el modelo de exposición letal de ratón, la TcdA wt tiene una LD_{50} de ~50 ng por ratón mientras que la TcdB wt es más potente con una LD_{50} de ~5 ng por ratón. En contraste, el cultivo celular basado en los ensayos *in vitro* descriptos antes tienen valores de EC_{50} de 100 pg por pocillo para TcdA wt y 2 pg por pocillo para TcdB wt.

Ejemplo 15: Citotoxicidad residual de la Toxina B hepta mutante genética (SEQ ID NO: 8)

Como se ilustra en la Figura 7, los valores de EC_{50} son similares para la toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) (20,78 ng/ml) y toxina B hepta mutante (SEQ ID NO: 8) (35,9 ng/ml) que indican que las cuatro mutaciones adicionales para modificar adicionalmente el sitio activo de glucosiltransferasa y el sitio de unión del sustrato de GTPasa no redujeron adicionalmente la citotoxicidad de la toxinas mutantes genéticas. Los valores de EC_{50} también fueron similares para la toxina B doble mutante (SEQ ID NO: 5) como para las toxinas triple y hepta mutantes (datos no mostrados). Esta observación sugiere que el mecanismo de la citotoxicidad de las toxinas mutantes es de modo sorprendente independiente del mecanismo de reconocimiento de la glucosiltransferasa y el sustrato.

Ejemplo 16: Citotoxicidad residual de las toxinas A y B triple mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente)

Para evaluar adicionalmente la naturaleza de la citotoxicidad residual, las toxinas mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6) se mezclaron e incubaron con sus respectivos anticuerpos neutralizantes antes y la mezcla se añadió a la monocapa celular IMR90.

Los resultados (Figura 8) mostraron que la citotoxicidad residual de la toxinas A y B mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) se puede anular por completo con anticuerpos neutralizantes específicos para toxina A mutante (panel superior, Figura 8) y toxina B mutante (panel inferior, Figura 8). Concentraciones crecientes de toxina A mutante (panel superior) y B (panel inferior) se incubaron con anticuerpos policlonal anti-toxina de conejo (pAb, dilución 1:10) o anticuerpos monoclonales murinos (1:50 de dilución un patrón que contiene 3,0 mg de IgG/ml) antes de añadir a las células IMR90.

Después de 72 horas de incubación del tratamiento con las células IMR90 a 37ºC, se añadió sustrato CellTiter-Glo® y se midieron unidades luminosas relativas (RLU) en un espectrofotómetro con el programa de luminiscencia para medir niveles de ATP. A menor nivel de ATP, mayor toxicidad. Los controles incluyeron TcdA y TcdB añadidos a razón de 4 veces sus correspondientes valores de EC_{50}.

Los informes publicados sugieren que las mutaciones en el dominio de glucosiltransferasa o proteasa autocatalítica de las toxinas producen inactivación completa de la toxicidad. Sin embargo, nuestros datos no concuerdan con estos informes publicados y esto se puede atribuir a las concentraciones aumentadas de las toxinas mutantes altamente purificadas analizadas en nuestros estudios en oposición a los lisados de cultivo bruto de los informes publicados; se observaron puntos de tiempo aumentados en los se observó redondeado celular de las células tratadas con toxina mutante (por ejemplo, 24 horas, 48 horas, 72 horas, o 96 horas) en oposición a las observaciones realizadas en menos de 12 horas; el uso de líneas celulares que exhiben sensibilidades significativamente más altas en los ensayos de citotoxicidad presentes en contraste con las células de adenocarcinoma colorrectal humano HT-29 en los ensayos de citotoxicidad descriptos en los informes publicados; y/o a una actividad o proceso desconocido, diferente de la glicosilación, que pueden conducir la toxicidad residual de las toxinas mutantes.

Ejemplo 17: Nuevo mecanismo de citotoxicidad de las toxinas mutantes genéticas

Para investigar el mecanismo de citotoxicidad residual de las toxinas mutantes genéticas, las células IMR-90 se trataron con toxina B wt (SEQ ID NO: 2) o toxina B mutante genética (SEQ ID NO: 6), y se estudió la glucosilación de la Rac1 GTPasa con el tiempo de tratamiento. Las muestras se recolectaron de 24 a 96 horas y se prepararon extractos celulares. La Rac1 glucosilada se distingue de la Rac1 no glucosilada por transferencias Western con dos anticuerpos para Rac1. Un anticuerpo reconoce ambas formas de Rac1 (23A8) y el otro (102) solo reconoce Rac1 no glucosilada. Como se ilustra en Figura 22, para la toxina B, los niveles de Rac1 totales permanecieron sin cambios con el tiempo con la mayor parte de la Rac1 que está glucosilada. El tratamiento con la toxina B mutante genética (SEQ ID NO: 6), a la inversa, produjo una reducción significativa de la Rac1 total, sin embargo Rac1 no fue glucosilada en todos los puntos de tiempo. Esto muestra que el nivel de Rac1 fue afectado negativamente por el tratamiento con la toxina mutante genética, pero no la toxina wt. Como se ilustra en Figura 22, el nivel de actina fue similar en las células

tratadas con toxina y toxina B mutante genética y similar a las células tratadas simuladas en los puntos de tiempo indicados. Esto mostró que las toxinas mutantes genéticas ejercieron la citotoxicidad por un mecanismo que es diferente de la vía de glucosilación conducida por la toxina tipo salvaje.

Ejemplo 18: Tratamiento químico de las toxinas mutantes genéticas

Si bien se prefieren las toxinas mutantes modificadas genéticamente que muestran una reducción 4-log en la actividad citotóxica, se consideró la reducción adicional (2 a 4 log) de la actividad citotóxica. Se ha evaluado dos estrategias de inactivación química.

El primer método usa formaldehído y glicina para inactivar las toxinas mutantes. La inactivación con formaldehído ocurre por la formación de una base de Schiff (imina) entre formaldehído y las aminas primarias de la proteína. Las bases de Schiff luego pueden reaccionar con numerosos residuos de aminoácidos (Arg, His, Trp, Tyr, Gln, Asn) para formar entrecruzamientos intra- o intermoleculares. Este entrecruzamiento fija la estructura de la proteína volviéndola inactiva. Además, el formaldehído puede reaccionar con glicina para formar una base de Schiff. La base de Schiff de glicilo luego puede reaccionar con los residuos de aminoácidos para formar entrecruzamientos intermoleculares proteína-glicina. El formaldehído redujo la actividad citotóxica de las toxinas mutantes genéticas por debajo de los límites detectables (reducción de la citotoxicidad >8 $\log_{10}$ para toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) y >6 $\log_{10}$ para la toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4). Sin embargo, se observó la inversión con el tiempo cuando las toxinas triple mutantes tratadas con formaldehído (FI) se incubaron a 25ºC. La inversión citotóxica se puede evitar por la adición de una cantidad baja de formaldehído (0,01-0,02%) en solución de conservación de las toxinas triple mutantes-FI. Ver Ejemplo 23.

Otro método usa el tratamiento con 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC)/N-hidroxisuccinimida (NHS) para generar toxinas mutantes inactivadas. En este método, EDC/NHS reacciona con los grupos carboxílicos de la proteína para formar ésteres activados. Los ésteres activados luego pueden reaccionar con las amina primarias de la proteína para formar enlaces amida estables. Como en la reacción de formaldehído, esta reacción produce entrecruzamientos intra- o intermoleculares. El enlace amida formado por el tratamiento con EDC/NHS es más estable y no reversible que el enlace imina lábil formado por la inactivación con formalina. Además de entrecruzamientos formados por la reacción de ésteres activados con las aminas primarias del polipéptido, se pueden formar aductos de glicina y beta-alanina. Sin estar

ligado por mecanismo o teoría, los aductos de glicina se producen cuando se añade glicina para inactivar los ésteres activados sin reaccionar. La amina de la glicina reacciona con el éster activado del polipéptido para formar enlaces amida estables. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, los aductos de beta-alanina se forman por la reacción de beta-alanina activada con las aminas primarias del polipéptido. Esta reacción produce enlaces amida estables. La beta-alanina activada se produce por la reacción de tres moles de NHS con un mol de EDC.

Para obtener la reducción de 2-4 log de la actividad citotóxica con respecto a las toxinas mutantes modificadas genéticamente (6-8 log, con respecto a las toxinas nativas), las toxinas mutantes inactivadas químicamente deben tener valores de EC_{50} de ≥1000 µg/ml. Además de la reducción de la actividad citotóxica, puede ser ventajoso retener los epitopes clave determinados por el análisis de transferencia de mancha. Hasta la fecha, se han identificado numerosas condiciones de reacción que cumplen tanto los criterios de reducción de citotoxicidad como de reconocimiento del epitope. Se han preparado varios lotes de toxinas mutantes inactivadas para los estudios de animales y los datos analíticos de algunos lotes representativos se muestran en las Tablas 7A y 7B, Tabla 8A y 8B.

Tabla 7A: La Toxina A mutante inactivada químicamente es segura y antigénica

Muestra #	Muestra de toxina ID	Tratamiento	CPE EC_{50} µg/ml	Reducción de la toxicidad Escala log	Reactividades para mAbs
1	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44905-160A	Formalina	>1000	6,4	Media/alta
2	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44166-166	EDC	>1000	6,4	Alta
3	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44905-170A	Formalina	>1000	6,4	Baja
CONTROLES					
4	TcdA wt (de la lista de prod biol))	ninguno	390 pg/ml	1	Alta
5	TcdB wt (de la lista de prod biol))	ninguno	3,90 pg/ml	No aplicable	Ninguno
6	TcdA rMutante TM Genética L36901-79 (SEQ ID NO: 4)	ninguno	12,5 µg/ml	4,5	Alta
7	Toxoide A Lista proa Biol	Formalina	No realizado	---	Baja

Tabla 7B: la toxina A mutante inactivada químicamente es segura y antigénica								
Muestra #	Muestra de toxina ID	Tratamiento	Reactividad con mAb (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)					
			N-terminal mAb#6	MAb de dominio medio # 102	C-terminal (neut)			
					A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
1	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44905-160A	Formalina	++	++	++++	++	++++	++++
2	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44166-166	EDC	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3	TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) L44905-170A	Formalina	+	+	++	++	++	+
CONTROLES								
4	TcdA wt (de la lista de prod biol))	ninguno	++++	+++	++++	++++	++++	++++
5	TcdB wt (de la lista de prod biol))	ninguno	—	—	—	—	—	—
6	TdcA rmutante genética TML36901-79 (SEQ ID NO: 4)	ninguno	++++	++++	++++	++++	++++	++++
7	Toxoide A lista de prod biol	Formalina	—	—	+	—	++	+

Lista =Lista de productos biológicos; CPE= ensayo del efecto citopático; EC_{50} = la concentración mínima donde 50% de las células muestran citotoxicidad; mAbs= anticuerpos monoclonales; neut= neutralizantes; ND= no realizado; TM= mutante de sitio activo y escisión (“triple mutante”)

Tabla 8A: La toxina B mutante inactivada químicamente es segura y antigénica					
Muestra #	Muestra de toxina ID	Tratamiento	CPE EC_{50}	Reducción de la toxicidad	Reactividades para los mAb
			µg/ml	Escala log	
1	Mutante TcdB L44905-182 (SEQ ID NO: 6)	Formalina	>1000	8,4	Medio/alta
2	Mutante TcdB L34346-38A (SEQ ID NO: 6)	EDC	>1000	8,4	Alta
3	Mutante TcdB L44905-170B (SEQ ID NO: 6)	Formalina	>1000	8,4	Baja
CONTROLES					
4	Tcda wt (de la lista de prod biol))	ninguno	390 pg/ml	No aplicable	Ninguno
5	TcdB wt (de la lista de prod biol))	ninguno	3,90 pg/ml	1	Alta
6	Toxina B rmutante TM Genética (SEQ ID NO: 6) L34346-022	ninguno	69 ng/ml	4,2	Alta
7	Toxoide A List	Formalina	No realizado	---	Medio

Tabla 8B: La toxina B mutante inactivada químicamente es segura y antigénica						
Muestra #	Muestra de toxina ID	Tratamiento	Reactividad con mAb (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)			
			N-terminal aa 1-543		Medio-/C-terminal aa 544-2366	
			B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
1	Mutante TcdB (SEQ ID NO: 6) L44905-160A	Formalina	+++	+++	++	++
2	Mutante TcdB (SEQ ID NO: 6) L44166-166	EDC	++++	++++	++++	++++
3	Mutante TcdB (SEQ ID NO: 6) L44905-170A	Formalina	++	+	+/-	-
CONTROLES						
4	TcdA wt (de la lista de prod biol))	ninguno	__	__	__	__
5	TcdB wt (de la lista de prod biol))	ninguno	++++	+++	++++	++++
6	TcdB rMutante TM Genética L34346-022 (SEQ ID NO: 6)	ninguno	++++	++++	++++	++++
7	Toxoide B Lista	Formalina	+++	+++	+++	+++

Lista =Lista de productos biológicos; CPE= ensayo de efecto citopático; EC_{50} = la concentración donde 50% de las células muestran citotoxicidad; mAbs= anticuerpos monoclonales; neut= neutralizantes; ND= no realizado; TM= mutante de sitio activo y escisión ("triple mutante")

Ejemplo 19: Purificación

Al final de la fermentación, el fermentador se enfría. La suspensión celular se recupera por centrifugación continua y se resuspende en el buffer apropiado. La lisis de la suspensión celular se obtiene por la homogenización de alta presión. Para la toxina A mutante, el homogenizado flocula y la solución floculada se somete a centrifugación continua. Esta solución se filtra y luego se transfiere para el procesamiento posterior. Para la toxina B mutante, el homogenizado se clarifica por centrifugación continua, y luego se transfiere para el procesamiento posterior.

La toxina A mutante (SEQ ID NO: 4) se purifica usando dos etapas cromatográficas seguidas por un intercambio de buffer final. El lisado clarificado se carga sobre una columna de interacción hidrofóbica (HIC) y la toxina mutante unida se eluye usando un gradiente de citrato de sodio. La mezcla de producto de la columna HIC luego se carga en una columna de intercambio catiónico (CEX) y la toxina A mutante unida se eluye usando un gradiente de cloruro de sodio. La mezcla CEX que contiene toxina A mutante purificada se intercambia en el buffer final por y diafiltración. La toxina A mutante purificada se intercambia con el buffer intermedio del principio activo final por diafiltración. Después de la diafiltración, el retenido se filtra a través de un filtro de 0,2 micrones antes de inactivar químicamente un principio activo final. La concentración de proteína se dirige a 1-3 mg/ml.

La toxina B mutante (SEQ ID NO: 6) se purifica usando dos etapas cromatográficas seguidas por un intercambio de buffer final. El lisado clarificado se carga en una columna de intercambio aniónico (AEX), y la toxina mutante unida se eluye usando un gradiente de cloruro de sodio. Se añade citrato de sodio a la mezcla de producto de la columna AEX y se carga en una columna de interacción hidrofóbica (HIC). La toxina mutante unida se eluye usando un gradiente de citrato de sodio. La mezcla HIC que contiene el polipéptido de la toxina mutante purificada (SEQ ID NO: 6) se intercambia en el buffer final por diafiltración. La toxina B mutante purificada se intercambia con el buffer intermedio del principio activo final por diafiltración. Después de la diafiltración, el retenido se filtra a través de un filtro de 0,2 micrones antes de inactivar químicamente un principio activo final. La concentración de proteína se dirige a 1-3 mg/ml.

Ejemplo 20: Inactivación con formaldehído/glicina

Después de la purificación, las toxinas A y B mutantes genéticas (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) se inactivan durante 48 horas a 25°C usando 40 mM (1,2 mg/ml) de formaldehído. La inactivación se lleva a cabo a pH 7,0 ± 0,5 en 10 mM de fosfato, 150 mM de buffer de cloruro de sodio que contiene 40 mM (3 mg/ml) de glicina. El período de inactivación se ajusta para exceder tres veces el período necesario para la reducción de la EC_{50} en las células IMR90 a más de 1000 ug/ml. Después de 48 horas, la actividad biológica se reduce 7 a 8 $\log_{10}$ con respecto a la toxina nativa. Después de 48 horas de incubación, la toxina mutante inactivada se intercambia en el buffer de principio activo final por diafiltración. Por ejemplo, usando un casete de ultrafiltración de acetato de celulosa regenerada de 100 kD, la toxina inactivada se concentra a 1-2 mg/ml y se intercambia con el buffer.

Ejemplo 21: Inactivación de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC)/N-hidroxisuccinimida (NHS)

Después de la purificación, las toxinas mutantes genéticas (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6) se inactivan durante 2 horas a 25°C usando 0,5 mg de EDC y 0,5 mg de NHS por mg de toxinas A y B mutantes genéticas purificadas (aproximadamente 2,6 mM y 4,4 mM respectivamente). La reacción se inactiva con la adición de glicina a una concentración final de 100 mM y las reacciones se incuban durante 2 horas adicionales a 25°C. La inactivación se lleva a cabo a pH 7,0 ± 0,5 en 10 mM de fosfato, 150 mM de buffer de cloruro de sodio. El período de inactivación se ajusta para exceder tres veces el período necesario para la reducción de la EC_{50} en las células IMR90 a más de 1000 ug/ml. Después de 2 horas, la actividad biológica se

reduce 7 a 8 log_{10} con respecto a la toxina nativa. Después de 4 horas de incubación, la toxina mutante inactivada se intercambia en el buffer de principio activo final por diafiltración. Por ejemplo, usando un casete de ultrafiltración de acetato de celulosa regenerada de 100 kD, la toxina inactivada se concentra a 1-2 mg/ml y se intercambia con el buffer.

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos usados en la sección de Ejemplos se refieren a una composición producida de acuerdo con la presente descripción del Ejemplo 21: "toxina triple mutante tratada con EDC/NHS"; "toxina mutante inactivada con EDC"; "principio activo [A/B] de la toxina mutante"; "toxina mutante EI"; "toxina triple mutante EDC/NHS." Por ejemplo, los siguientes términos son sinónimos: "toxina A triple mutante tratada con EDC/NHS"; "toxina A mutante inactivada con EDC"; "principio activo de la toxina A mutante"; "toxina A mutante EI"; "toxina triple mutante EDC/NHS." A modo de otro ejemplo, los siguientes términos son sinónimos: "Toxina B triple mutante tratada con EDC/NHS"; "Toxina B mutante inactivada con EDC"; "principio activo de la toxina B mutante"; "toxina B mutante EI"; "toxina B triple mutante EDC/NHS."

El principio activo de la toxina A mutante y la principio activo de la toxina B mutante se fabrican usando un proceso discontinuo, que incluye (1) fermentación de la cepa de C. difficile negativa para toxina (VPI 11186) que contiene un plásmido que codifica el respectivo polipéptido de la toxina triple mutante genética (en un medio que incluye hidrolizado de soja, extracto de levaduras HY YEST™ 412 (Sheffield Bioscience), glucosa, y tiamfenicol), (2) purificación de la toxina mutante genética (el "intermediario del principio activo") del lisado libre de células usando procedimientos cromatográficos de intercambio iónico e interacción hidrofóbica a al menos más de 95% de pureza, (3) inactivación química por tratamiento con EDC/NHS seguido por inactivación/finalización con glicina, y (4) intercambio en la matriz del buffer final.

Ejemplo 22: Estudios que avalan las condiciones de inactivación y formulación

Para optimizar la inactivación química de las toxinas mutantes genéticas, se realizó un diseño estadístico del experimento (DOE). Los factores examinados en el DOE incluyeron temperatura, concentración de formaldehído/glicina, concentración de EDC/NHS y tiempo (Tabla 9 y 10). Para controlar la pérdida de actividad biológica, se determinaron los valores de EC_{50} de las células IMR90. Además, la morfología celular de las células IMR-90 también se observaron varios puntos de tiempo pos-tratamiento. Ver Figura 9, que muestra la morfología a 72 horas pos-tratamiento. Para determinar el efecto sobre la estructura de la proteína, se controló el reconocimiento usando

análisis de transferencia de mancha mediante un panel de anticuerpos monoclonales originados contra diferentes dominios de la toxina.

Tabla 9: Parámetros analizados Formaldehído/Glicina DOE	
Parámetros	Rango analizado
Tiempo (días)	1 a 14
Temperatura (°C)	4 a 37
Toxina concentración (mg/ml)	1 a 1,25
Formaldehído concentración (mM)	2 a 80
Glicina concentración (mg/ml)	0 a 80

Tabla 10: Parámetros analizados EDC/NHS DOE	
Parámetros	Rango analizado
Tiempo (horas)	1 a 4
Temperatura (°C)	25 a 35
Toxina concentración (mg/ml)	1 a 1,25
EDC (mg/mg toxina)	0,25 a 2,5
NHS (mg/mg toxina)	0 a 2,5

En la inactivación con formaldehído/glicina de las toxinas mutantes de C. difficile, se eligieron las condiciones de reacción finales de modo de que se obtuvo el nivel de reducción deseado de la actividad citotóxica (7 a 8 $\log_{10}$) mientras que se maximiza el reconocimiento del epitope. Ver Ejemplo 20 anterior.

En la inactivación con EDC/NHS de las toxinas mutantes de C. difficile, se eligieron las condiciones de reacción finales de modo de que se obtuvo el nivel de reducción deseado de la actividad citotóxica (7 a 8 $\log_{10}$) mientras que se maximiza el reconocimiento del epitope. Ver Ejemplo 21 anterior.

En una forma de realización alternativa, la reacción de EDC-NHS se inactivó por la adición de alanina, que inactivó suficientemente la reacción. El uso de alanita puede producir una modificación de la toxina mutante proteína que es similar a la modificación cuando la reacción es inactivada por la glicina. Por ejemplo, la inactivación por la adición de alanita puede producir un resto de alanina en una cadena lateral de un ácido glutámico y/o residuo de ácido aspártico de la toxina mutante. En otra forma de realización alternativa, la reacción de EDC-NHS se inactivó por la adición de metil éster de glicina, que inactivó suficientemente la reacción.

La producción de toxina A y toxina B triple mutante de C. difficile inactivada químicamente en condiciones optimizadas produjo en una reducción adicional de citotoxicidad residual a un nivel no detectable (>1000 µg/ml – la concentración más alta analizada por medio del ensayo CPE), a la vez que retienen la antigenicidad medido por su reactividad a los anticuerpos neutralizantes específicos de antígeno.

Los resultados mostrados en la Tabla 28 demuestran una reducción gradual en la citotoxicidad de la toxina wt a través de las toxinas triple mutantes tratadas con EDC/NHS. La marcación con inmunofluorescencia confirmó que las toxinas triple mutantes (SEQ ID NO: 4 y 6) y los principios activo de la toxina mutante exhibieron unión comparable a las células IMR-90 lo que sugiere que la pérdida de citotoxicidad no se debió a la reducción de la unión a las células (datos no mostrados. El comparación con el principio activo de la toxina A mutante, el principio activo de la toxina B mutante obtuvo una reducción de la citotoxicidad mayor, que es compatible con la potencias ~600 veces más alta observada de la TcdB en comparación con TcdA.

Tabla 28. Síntesis de citotoxicidad

Toxina	**Muestra**	**EC_{50}**	**Veces de reducción de la citotoxicidad**
A	TcdA (SEQ ID NO: 1)	1,6 ng/ml	1
	Toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4)	12,5 µg/ml	7800
	Principio activo de la toxina A mutante	>1000 µg/ml	>625,000
B	TcdB (SEQ ID NO: 2)	2,5 pg/ml	1
	Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6)	45 ng/ml	18,000
	Principio activo de la toxina B mutante	>1000 µg/ml	>400,000,000

Los resultados del ensayo de citotoxicidad para la toxina B mutante modificado por EDC solo, o por EDC y sulfo-NHS también se evaluaron. Ver Tabla 29.

Tabla 29

Muestra	Citotoxicidad EC_{50}, $mg.ml^{-1}$ (CPE)	Comentario
TcdB TM (SEQ ID NO: 6), no modificada	0,03	
TM TcdB-EDC 1, no NHS	<0,97	Reaccionó con EDC solo
TM TcdB-EDC 2, no NHS	<0,97	Preparación duplicada
TM TcdB-EDC 3, sulfo-NHS (0,5x)	125	Reaccionó con EDC y sulfo-NHS
TM TcdB-EDC 4, sulfo-NHS (0,5x)	125	Preparación duplicada
TM TcdB-EDC 3, sulfo-NHS (1,0x)	250	Reaccionó con EDC y sulfo-NHS
TM TcdB-EDC 4, sulfo-NHS (2,0x)	750	Reaccionó con EDC y sulfo-NHS

Condiciones: La toxina B triple mutante ("TM TcdB")(SEQ ID NO: 6) se modificó en las relaciones de peso de toxina B mutante:EDC:sulfo-NHS = 1: 0,5: 0,94. Esta relación es el equivalente molar (corregido para MW más alta de sulfo-NHS) a la reacción de EDC/NHS estándar descripta en el Ejemplo 21. Para determinar el efecto de sulfo-NHS, la relación de sulfo-NHS varió de 0,5x a 2x la relación estándar. Las reacciones duplicadas se realizaron en 1 x PBS pH 7,0 a 25 ℃, y se iniciaron por la adición de solución de EDC. Después de 2 horas, las reacciones se inactivaron por la adición de glicina 1 M pH 7,0 (0,1 M concentración final) y se incubaron durante 2 horas adicionales. Las reacciones inactivadas se desalinizaron y el principio activo de la toxina B mutante ("TM TcdB-EDC") se concentró usando dispositivos Vivaspin 20, y se filtraron en forma estéril en viales estériles y se remitieron para la evaluación en un ensayo de citotoxicidad.

En la misma relación molar, sulfo-NHS redujo la EC_{50} a aproximadamente 250 ug/ml en comparación con >1000 ug/ml para NHS. Aun a dos veces la relación molar, sulfo-NHS no parecer ser tan efectivo como NHS para disminuir la citotoxicidad. Ver Tabla 30.

Tabla 30

Modificación	Digesto de referencia (TcdB EDC 004)	Digesto control de NHS (TcdB EDC 001)	Digesto de muestra con Sulfo-NHS
aducto de glicina (+57 da)	49	29	35
beta-alanina (+71 da)	24	19	0
entrecruzamientos (-18 da)	7	4	3
dehidroalanina (-34 da)	6	5	4
No modificada	273	195	217

Para determinar el número y tipo de modificaciones, se realizó el mapeo peptídico en muestras de toxinas B triple mutante inactivadas con EDC/NHS y EDC/sulfo-NHS. Se observaron cantidades similares de aductos de glicina, entrecruzamientos y modificaciones de dehidroalanina en ambas muestras. Sin embargo en la muestra de sulfo-NHS muestra, no se observó beta-alanina.

La toxina B tipo salvaje (SEQ ID NO: 2) se inactivó usando el protocolo estándar (ver Ejemplo 21); toxina B:EDC:NHS 1:0,5:0,5, 25ºC durante 2 horas in 1 x PBS pH 7,0, luego se inactivó con glicina 1 M (0,1 M de concentración final) y se incubó durante 2 horas adicionales. La muestra se desalinizó, concentró y remitió para

el ensayo de citotoxicidad. La EC_{50} para estas muestras fue <244 ng/ml.

Ejemplo 23: Estudios de inversión

Para determinar si la inversión se produce con las toxinas mutantes de C. difficile inactivadas de formaldehído/glicina o EDC/NHS, muestras de toxinas mutantes inactivadas (1 mg/ml) se incubaron a 25ºC durante cinco-seis semanas. Se extrajeron alícuotas cada semana y se determinaron los valores de EC_{50} en las células IMR90. Una muestra inactivada de formaldehído/glicina no contenía formaldehído y una muestra contenía 0,01% de formaldehído. La EC_{50} se midió con el ensayo CPE.

Tabla 11: Resultados del estudio de inversión de TcdA inactivada

Tiempo de incubación (Días)	EC_{50} (ensayo de células IMR90)		
	Inactivado de formalina		EDC/NHS
	Sin formaldehído	0,01% de formaldehído	
0	1000 ug/ml	1000 ug/ml	1000 ug/ml
7	740 ug/ml	ND	1000 ug/ml
14	493 ug/ml	1000 ug/ml	1000 ug/ml
21	395 ug/ml	ND	1000 ug/ml
28	395 ug/ml	1000 ug/ml	1000 ug/ml
35	326 ug/M	ND	ND

A 25ºC en ausencia de formaldehído residual, se observa inversión parcial (Tabla 11). Después de cinco semanas, la actividad citotóxica aumentó aproximadamente 3 veces. Si bien la actividad citotóxica aumentó, después de cinco semanas hubo aún una reducción de 7 log_{10} con respecto a la toxina nativa. La inversión se evitó por completo por la inclusión de formalina a una concentración de 0,010%. No se observó inversión en la muestra inactivada por EDC/NHS. A lo largo de 6 semanas de incubación, los valores de EC_{50} quedaron en el nivel inicial de >1000 µg/ml para los cuatro lotes de toxina A triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 4) y toxina B triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 6). En contraste, los valores de EC_{50} de la toxina A triple mutante tratada con FI (SEQ ID NO: 4) y toxina B triple mutante tratada con Fi (SEQ ID NO: 6) no fueron estables y declinaron a valores de EC_{50} inaceptablemente bajos, lo que indica un aumento de la citotoxicidad o inversión de la inactivación. Ver Tabla 11.

Además de reducir en forma estable la citotoxicidad a un nivel no detectable (>1000 µg/ml, medido por el ensayo CPE), las toxinas mutantes inactivadas usando EDC/NHS retuvieron epitopes importantes que son blancos de los Amb neutralizantes de toxina. Ver Tabla 31. Las toxinas mutantes FI mostraron una pérdida de los mismos determinantes antigénicos.

Tabla 31. La inactivación por EDC/NHS redujo la citotoxicidad de las toxinas mutantes genéticas y mantuvieron determinantes antigénicos importantes

Muestra	EC_{50}	Reducción de la citotoxicidad con respecto a la toxina wt (log_{10})[a]	Unión máxima de (Rmax)[b] Neut mAb[d]		
			1[c]	2	3
Triple mutante A (SEQ ID NO: 4)	12,5 µg/ml	4,5	100	100	100
FI- Triple mutante A	>1000 µg/ml	>6,4	55	59	53
EDC/NHS- Triple mutante A	>1000 µg/ml	>6,4	90	94	103
Triple mutante B (SEQ ID NO: 6)	69 ng/ml	4,3	100	100	100
FI-Triple mutante B	>1000 µg/ml	8,4	67	67	36
EDC/NHS-Triple mutante B	>1000 µg/ml	8,4	87	78	73

a la citotoxicidad se midió usando el ensayo CPE en las células IMR90

b valores determinados por análisis Biacore™ usando mAbs neutralizantes múltiples dirigidos a varios epitopes de toxina no superpuestos

c los valores son promedios de dos experimentos

d Para las primeras tres hileras, el mAb neut “1”, “2,”, “3” se refieren a los mAb A60-22, A80-29, y A65-33 para la toxina A, respectivamente. Para las tres hileras inferiores, el mAb neut “1”, “2” y “3” se refieren a los mAb B8-26, B59-3, y B-56-15 para la toxina B, respectivamente.

Ejemplo 24: Estudios de inmunogenicidad preclínica

Los objetivos preclínicos clave incluyen analizar las composiciones que incluyen toxinas A y B mutantes de C. difficile en animales pequeños y primates no humanos (NHP). Los ratones y hámsteres se inmunizaron para determinar, entre otras cosas, si las composiciones de *C. difficile* son capaces de inducir anticuerpos neutralizantes contra las toxinas A y B mutantes. Los antígenos se analizaron para determinar la inducción de respuestas de los anticuerpos de neutralización séricos después de una serie de inmunizaciones en ratones, hámsteres, y cynomolgus macaques. Las toxinas mutantes genéticas y/o inactivadas genéticamente se formularon en buffer neutro, buffer de fosfato de aluminio, o buffer que contiene ISCOMATRIX como un adyuvante en algunas formas de realización. Las respuestas de anticuerpo neutralizante se analizaron en general aproximadamente dos a cuatro

semanas después de cada refuerzo o la dosis final.

El ensayo de neutralización de toxina demuestra la capacidad de un antisuero para neutralizar el efecto citotóxico mediado por TcdA o TcdB de C. difficile y en consecuencia es capaz de medir la actividad funcional de los anticuerpos que están presentes en una muestra. Se realizó un ensayo de neutralización de la toxina en una línea celular de fibroblastos pulmonares humanos, IMR-90, que es sensible a TcdA y TcdB. En breves palabras, una placa de microtitulación de 96 pocillos se sembró en las células IMR-90 que sirve como el blanco de citotoxicidad mediada por toxina. Cada muestra de suero de ensayo se analizó por separado para determinar la capacidad de neutralizar la TcdA y TcdB. Las diluciones seriadas de los antisueros de ensayo se mezclaron con concentraciones fijas de TcdA o TcdB e incuban a 37ºC durante 90 minutos en un incubador humidificado (37ºC /5% de CO_2) para permitir que ocurra la neutralización de las toxinas. Para control de calidad, todas las placas incluyeron un estándar de referencia y controles que incluyen anticuerpos antitoxina de título conocido. Después de 90 minutos, la mezcla de toxina-antisuero se añadió a la monocapa de células de IMR-90 y las placas se incubaron durante unas 72 horas adicionales. Posteriormente, el sustrato CellTiter-Glo® se añadió a la placa de ensayo para determinar los niveles de trifosfato de adenosina (ATP) presentes en células metabólicamente activas y se midió como unidades de luminiscencia relativa (RLU). Un gran nivel de ATP indica alta viabilidad celular, y los niveles son directamente proporcionales a la cantidad de neutralización de la toxina por el anticuerpo presente en la muestra. Para los datos preclínicos, los datos de RLU se graficaron contra el valor de dilución de la muestra de antisuero de ensayo para generar una curva de ajuste de regresión logística de cuatro parámetros (4-PL). Los títulos de neutralización se expresaron como el valor de la dilución de la muestra que exhibió el 50% de reducción de la citotoxicidad.

Ejemplo 25: Estudio de inmunogenicidad del ratón: mu*C. difficile*2010-06

El fin de este estudio fue evaluar la inmunogenicidad de dos formas de la toxina B de C. difficile mutante (SEQ ID NO: 6), cada uno inactivado químicamente por métodos diferentes. En este estudio, la toxina B mutante no tratada (SEQ ID NO: 6) (genéticamente inactivada pero no inactivada químicamente) se usó como un control, con y sin adyuvante.

Los grupos de 10 ratones se inmunizaron por vía intramuscular con 10 µg de un inmunógeno de acuerdo con la Tabla 12.

Tabla 12. Análisis de toxina B mutante inactivada químicamente (SEQ ID NO: 6) en ratones

Grupo	Inmunógeno	Dosis	No.	Vía	Esquema
1	Toxina B mutante inactivada con formalina[a] en $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8
2	Forma de Toxina B mutante inactivada 2[b] en $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8
3	Toxina B mutante inactivada genética sin adyuvante	10 µg	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8,
4	Toxina B mutante inactivada genética en $AlPO_4$ [c]	10 µg	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8,

[a] inactivación química = Tratados con formalina/glicina 10°C durante 7 días
[b] inactivación química = Tratados con EDC/NHS, 30°C durante 2 horas
[c] concentración de ion aluminio= 0,5 mg/ml

Resultados: No hubo eventos adversos en los ratones después de cada administración de los candidatos vacuna. Como se ilustra en Figura 10, los ratones en cada grupo desarrollaron anticuerpos neutralizantes anti-toxina B robustos significativas después de la tercera dosis con las respectivas toxinas mutantes.

Sobre la base de los títulos de la semana 12, parece que en los ratones la toxina B mutante inactivada con EDC (Grupo 2) y las toxinas mutantes inactivadas por la formalina (Grupo 1) generó respuestas neutralizantes potentes.

En ausencia de inactivación química, la toxina B mutante genética (SEQ ID NO: 6) generó respuestas neutralizantes después de dos dosis (Grupos 3-4, semana 8), que se reforzaron después de la tercera dosis (Grupos 3-4, semana 12).

Ejemplo 26: Estudio de inmunogenicidad de ratones: mu*C. difficile*2010-07:

El fin de este estudio fue para evaluar la inmunogenicidad de toxinas de A y B mutantes de C. difficile inactivadas químicamente (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente), solos o en combinación. Los inmunógenos para todos los grupos se formularon con fosfato de aluminio fosfato como adyuvante.

Los grupos de 5 ratones se inmunizaron por vía intramuscular con 10 µg de un inmunógeno de acuerdo con la Tabla 13.

Tabla 13. Análisis de las toxinas A y B genéticas mutantes inactivadas químicamente (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) en ratones

Grupo	Inmunógeno	Dosis	No.	Grupo	Esquema
1	Toxina B mutante inactivada con formalina[a] (SEQ ID NO: 6) en $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
2	Toxina B mutante inactivada EDC[b] (SEQ ID NO: 6) en $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
3	Toxina A mutante inactivada con formalina[a] (SEQ ID NO: 4) forma 1 en $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
4	Toxina A mutante inactivada con EDC (SEQ ID NO: 4) en $AlPO_4$[c]	10 µg	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
5	Toxinas mutantes A+B inactivadas en formalina $AlPO_4$[c]	10 µg cada uno	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12

[a] Tratamiento con formalina= tratado con formalina/glicina durante 2 días a 25°C; la toxina mutante no era citotóxica y retuvo la unión de todos los anticuerpos monoclonales específicos de la toxina mutante analizados
[b] Tratamiento con EDC = Tratados con EDC/NHS durante 4 horas a 30°C; la toxina mutante no era citotóxica y estuvo la unión de todos los anticuerpos monoclonales específicos de la toxina mutante analizados
[c] concentración de ion aluminio = 0,5 mg/ml

Resultados: No hubo eventos adversos en los ratones después de cada administración de las vacunas candidatas. Como se ilustra en Figura 11, después de dos dosis de toxinas mutantes genéticas inactivadas químicamente, los anticuerpos anti-toxina A neutralizantes (Grupos 3-5) se reforzaron a títulos entre 3 y 4$\log_{10}$ mientras que los anticuerpos anti-toxina B neutralizantes (Grupos 1-2, 5) permanecieron bajos a no detectables, lo que es compatible con los datos del estudio de ratones descripto antes (Figura 10). Los anticuerpos anti-toxina B neutralizantes reforzados a 2-3 $\log_{10}$ en los grupos 1, 2, y 5 después de la tercera dosis (títulos de la semana 12) y alcanzaron su pico dos semanas después de la cuarta dosis (títulos de la semana 14). Los títulos de anticuerpo neutralizante de anti-toxina A en los grupos 3-5 aumentaron levemente después de la tercera (títulos de la semana 12) y cuarta inmunizaciones (títulos de la semana 14).

Ejemplo 27: Estudio de inmunogenicidad del hámster: ham*C. difficile*2010-02:

El fin de este estudio fue evaluar la inmunogenicidad y potencial protector de toxinas A y B triple mutante de *C. difficile* inactivadas químicamente en el modelo de hámster dorado Sirio. El modelo de hámster dorado Sirio representa el mejor modelo de exposición disponible para simular la CDAD humana. Se usaron los mismos lotes de toxinas A y B mutantes utilizadas en el estudio de ratón mu*C. difficile*2010-07 en este estudio. Como un control, un grupo administró toxinas mutantes sin adyuvante que contiene aluminio.

Los grupos de 5 hámsteres dorados sirios se inmunizaron por vía intramuscular con 10 µg de un inmunógeno de acuerdo con la Tabla 14.

Tabla 14. Análisis de toxinas A y B mutantes inactivada químicamente (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) en hámsteres (ham*C. difficile*2010-02)

Grupo	Inmunógeno	Dosis	No.	Vía	Esquema
1	Toxinas mutantes A+B inactivada con formalina[a] (SEQ ID NOs: 4 y 6) en $AlPO_4$[c]	10 µg cada uno	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
2	Toxinas mutantes A+B inactivadas con formalina (SEQ ID NOs: 4 y 6) en PBS (no adyuvante)	10 µg cada uno	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
3	Toxinas mutantes A+B inactivada con EDC[b] (SEQ ID NOs: 4 y 6) en $AlPO_4$[c]	10 µg cada uno	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12
4	Lista de prod biológicos de toxoide en $AlPO_4$[c]	10 µg cada uno	5	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 4, 8, 12

[a] Tratamiento con formalina = tratados con formalina/glicina durante 2 días a 25ºC; La toxina mutante no era citotóxica y retuvo la unión a todos los anticuerpos monoclonales específicos de la toxina mutante

[b] Tratamiento con EDC = tratado con EDC/NHS durante 4 horas a 30ºC; la toxina mutante no era citotóxica y retuvo la unión a todos los anticuerpos monoclonales específicos de la toxina mutante

[c] concentración de ion aluminio = 0,5 mg/ml

1. Animales: 15 Hámsteres dorados sirios, hembra, 6-8 semanas/ 100-130 g cada uno.
2. Vacunación: IM, 0,05 ml cada uno, de acuerdo con el anterior esquema. Los toxoides serán provistos por el desarrollo del proceso y se formularán en diluyente AlPO4 por el grupo de formulaciones. El Grupo 2 servirá como un grupo control sin adyuvante.
3. Sangrado: Todos los hámsteres se sangrarán en las semanas 0, 4, 8, y 12, justo antes de cada inmunización.
4. Análisis de muestra de suero: Ensayo de neutralización

Resultados: No se observaron eventos adversos después de la inmunización con las toxinas mutantes. Como se ilustra en Figura 12, después de una dosis única de

toxinas mutantes, las respuestas neutralizantes anti-toxina A estuvieron entre 2-3 log_{10} para las toxinas mutantes inactivadas con formalina (Grupos 1-2) y entre 3-4 log_{10} para las toxinas mutantes inactivadas con EDC (Grupo 3). Después de la segunda dosis, se administró refuerzo de los anticuerpos anti-toxina A en los tres grupos. Los anticuerpos anti-toxina A de los tres grupos no parecieron aumentar después de la tercera dosis. Se observó un resultado similar después de la cuarta inmunización, donde se observó un aumento del título en el grupo inactivado con formalina que no contenía el aluminio adyuvante (Grupo 2).

Las respuestas neutralizantes anti-toxina B fueron n detectables en los grupos de toxinas mutantes inactivadas con formalina (Grupos 1-2) y estaban solo por encima 2 log_{10} para las toxinas mutantes inactivadas con EDC (Grupo 3) después de una dosis única. Después de la segunda dosis, los títulos de anticuerpo neutralizante anti-toxina B en los grupos de dosis inactivados con formalina (Grupos 1-2) aumentaron a 3-4log_{10} mientras en el grupo inactivado con EDC (Grupo 3) aumentaron a 4-5 log_{10}. Para los tres grupos, se observaron aumentos en los títulos de anticuerpo neutralizante anti-toxina B después de la tercera y/o cuarta dosis, todos los grupos que alcanzan un título de pico en la semana 16 (después de la última dosis). Ver Figura 12.

En la Figura 13, el nivel de las respuestas de anticuerpo neutralizante contra las toxinas mutantes genéticas inactivadas químicamente (Figura 12) se comparó con los inducidos por la List Biological Laboratories, Inc. (Campbell, California) (también denominado en la presente como “lista de prod biol” o “Lista de productos biológicos”) toxoides (es decir, se prepararon por la inactivación de formalina de toxinas tipo salvaje; reactivo control usado para establecer el modelo de exposición del hámster).

Como se usa en la presente, “FI” en las figuras y tablas se refieren al tratamiento de formalina/glicina de las toxinas, 2 días a 25ºC, a menos que se indique lo contrario. Como se usa en la presente, “EI” en figuras y tablas se refiere al tratamiento con EDC/NHS durante 4 horas a 30ºC, a menos que se indique lo contrario. En la Figura 13, 5 animales hámster se trataron con la respectiva composición de la toxina mutante, mientras que 11 animales hámster se trataron con el toxoide comercializado de la lista de productos biológicos.

Los datos de la Figura 13 muestran que, en hámsteres administrados de acuerdo con la Tabla 14, los títulos de anticuerpo neutralizante respectivos contra la toxina A (Figura 13A) y toxina B (Figura 13B) inducidos por la composición inmunogénica que incluye las toxinas mutantes inactivada con EDC después de dosis es más alta que los respectivos títulos del anticuerpo neutralizante inducidos por los

toxoides de la Lista de productos biológicos.

Ejemplo 28: Estudio de inmunogenicidad de hámster: *C. difficile* ham2010-02 (continuación)

Para evaluar la eficacia protectora de las toxinas mutantes, a los hámsteres inmunizados, junto con un grupo control de los animales no inmunizados, se administraron primero una dosis oral de antibiótico clindamicina (30 mg/kg) para alterar la flora intestinal normal. Después de cinco días, los hámsteres se expusieron con una dosis oral de las esporas de *C. difficile* tipo salvaje (cepa 630, 100 cfu por animal). Los animales se controlaron diariamente durante once días pos-exposición para los signos de la CDAD, que en los hámsteres se conoce como cola húmeda. Usando un sistema de puntuación clínica de numerosos parámetros diferentes, se sacrificaron los animales que se determinó que tenían severa CDAD. Los parámetros incluyeron actividad después de la estimulación, deshidratación, excremento, temperatura, y peso, etc., que son conocidos en la técnica.

En el día 11, el estudio se terminó y se sacrificaron todos los animales supervivientes. La Figura 14 muestra las curvas de supervivencia para cada uno de los tres grupos inmunizados (Grupos 1-3, de acuerdo con la Tabla 14) en comparación con los controles no inmunizados. Como se puede observar, los animales no inmunizados desarrollaron CDAD severa y requirieron eutanasia entre los días 1-3 pos exposición (0% de supervivencia). Ambos grupos tratados con toxina mutante inactivada con formalina presentaron, curvas de supervivencia 60% con animales que no requieren eutanasia hasta el día 3 (Grupo 1) o día 4 (Grupo 2). El grupo tratado con toxina mutante inactivada con EDC presentó una curva de supervivencia 80%, con 1 (fuera de 5) animal que requiere eutanasia en el día 7. Por consiguiente, los hámsteres se protegieron de la exposición letal con las esporas de C. difficile.

Ejemplo 29: Estudio de inmunogenicidad de hámster: ham*C. difficile*2010-03: Inmunogenicidad de toxinas mutantes de C. difficile genéticas y químicamente inactivadas

El fin de este estudio fue evaluar la inmunogenicidad de las toxinas A y B triple mutantes de *C. difficile* inactivada químicamente sin adyuvantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) en el modelo de hámster dorado sirio. Los mismos lotes de las toxinas A y B mutantes (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente) usados en el estudio mu*C. difficile*2010-07 de ratón se usaron en este estudio. Como control, a un grupo (Grupo 1) se administró una solución salina regulada con fosfato.

Grupos de cinco o diez hámsteres dorados sirios se inmunizaron con un

inmunógeno de acuerdo con la Tabla 15. A los animales se administraron tres dosis. Además, los animales se dosificaron cada dos semanas.

Tabla 15: Diseño experimental de inmunización y exposición de hámsteres					
Grupo	Inmunógeno	Dosis	No.	Vía	Esquema
1	Placebo (buffer de PBS)	NA	5	NA	
2	Toxina A mutante+B (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente); inactivada con formalina	10 µg cada uno	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
3	Toxina A mutante+B (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente); inactivada con EDC	10 µg cada uno	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
4	Toxina A mutante+B (SEQ ID NOs: 4 y 6, respectivamente); genética	10 µg cada uno	10	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4

Resultados: Ver Figura 15. No se observaron anticuerpos anti-toxina A o B en el grupo control placebo. Después de una dosis, los anticuerpos anti-toxina A neutralizantes se observaron entre 2-3 $\log_{10}$ para los grupos toxina mutante inactivada con formalina (Grupo 2) y genética (Grupo 4) y entre 3-4$\log_{10}$ para el grupo inactivado con EDC (Grupo 3). Los anticuerpos anti-toxina A neutralizantes aumentaron en cada uno de estos grupos (2-4) después de la segunda inmunización con las toxinas mutantes relevantes (comparar títulos en la semana 2 a semana 3 en la Figura 15). Después de la tercera dosis de las toxinas mutantes (dadas en la semana 4), los títulos de anticuerpos neutralizantes de anti-toxina A en los Grupos 2-4 aumentaron en comparación con sus títulos de la semana 4.

Los anticuerpos anti-toxina B neutralizantes fueron detectables después de la segunda dosis, donde los anticuerpos anti-toxina B neutralizantes inactivada con formalina (Grupo 2) e inactivada con EDC (Grupo 3) aumentaron entre 3-4 $\log_{10}$ y a entre 2-3 $\log_{10}$ para la triple mutante genética (Grupo 4). Después de la tercera inmunización (semana 4), los títulos de anticuerpo neutralizante anti-toxina B aumentaron a entre 3-4 $\log_{10}$ para las toxinas mutantes inactivadas con formalina (Grupo 2) y toxinas mutantes genéticas (Grupo 4) y entre 4-5 $\log_{10}$ para las toxinas mutantes inactivadas con EDC (Grupo 3).

Para los anticuerpos anti-toxina A y anti-toxina B neutralizantes, se observaron títulos del pico en la semana 6 (pos-dosis 3) para los grupos vacunados (Grupos 2-4).

Evaluación de las composiciones inmunogénicas con adyuvante Alhydrogel/CpG o ISCOMATRIX

Los hámsteres inmunizados con una composición inmunogénica que incluye una toxina mutante inactivada químicamente formulada con Alhydrogel, ISCOMATRIX, o Alhydrogel/CpG24555 (Alh/CpG) desarrollaron antisueros antitoxina neutralizantes robustos. Se observó que las respuestas pico antitoxina A y antitoxina B fueron 2-3 veces más altas y estadísticamente significativos en grupos inmunizados con toxinas mutantes formuladas en Alh/CpG o ISCOMATRIX cuando se comparan con la vacuna formulada con Alhydrogel solo. Ver Tabla 32 que muestra 50% de títulos de neutralización. Los hámsteres (n=10/grupo) se inmunizaron IM a 0, 2, y 4 semanas con 10 µg cada principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante formulado con 100 µg de Alhydrogel, o 200 µg de CpG 24555 + 100 µg de Alhydrogel, o 10 U de ISCOMATRIX. Los sueros se recolectaron en cada punto de tiempo y se analizaron en el ensayo de neutralización de la toxina para la actividad de antitoxina funcional. Las medias geométricas de los títulos se proporcionan en la Tabla 32. Los asteriscos (*) indican significación estadística ($p<0,05$) cuando se compararon con los títulos en el grupo Alhydrogel.

Tabla 32: Inmunogenicidad del principios activos de la toxina mutante con adyuvante en los hámsteres

Antitoxina A	50% de título de neutralización					
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 6
Título de Alhydrogel:	10	26	88	7425	6128	15965
Título de Alh/CpG:	10	103	*688	*34572	*23028	*62203
Título de ISCOMATRIX:	10	27	*246	*12375	8566	*36244
Antitoxina B						
Título de Alhydrogel:	10	15	10	218	1964	7703
Título de Alh/CpG:	10	10	18	*5550	*5212	*59232
Título de ISCOMATRIX:	10	12	12	*7412	*15311	*92927

Se analizó la eficacia protectora de la composición inmunogénica que incluye los principios activos de la toxina mutante formulados con estos adyuvantes. Los hámsteres se inmunizaron y se administró clindamicina oral (30 mg/kg) en la semana 5 y se expusieron de acuerdo con el método descripto antes. Un grupo de hámsteres no inmunizados (n=5) se incluyó como control. Se observó aumento de eficacia en los hámsteres inmunizados los principios activos de la toxina mutante con adyuvante Alh/CpG o ISCOMATRIX (100% de supervivencia) en comparación con Alhydrogel solo (70% de supervivencia). Por consiguiente, los hámsteres se protegieron de la

exposición letal con esporas C. difficile.

Ejemplo 30: Vacunación con *Clostridium difficile* en Cynomolgus Macaques

El fin de este estudio para analizar la inmunogenicidad de dosis bajas y altas de Toxinas mutantes inactivadas con EDC e inactivadas con formalina de C. difficile en cynomolgus macaques. Todas las toxinas mutantes se formularon en ISCOMATRIX® como un adyuvante excepto para un grupo, que actuó como el control sin adyuvante (Grupo 5).

Tabla 16: Inmunización de Cynomolgus Macaques

Grupo	Inmunógeno	Número	Dosis	Vía	Esquema
1	FI-Toxinas mutantes A+B (ISCOMATRIX)	5	10 µg cada uno	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
2	FI-Toxinas mutantes A+B (ISCOMATRIX)	5	100 µg cada uno	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
3	EI-Toxinas mutantes A+B (ISCOMATRIX)	5	10 µg cada uno	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
4	EI-Toxinas mutantes A+B (ISCOMATRIX)	5	100 µg cada uno	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4
5	EI-Toxinas mutantes A+B (no adyuvante)	5	100 µg cada uno	IM	Semana de activación 0, Semanas de refuerzo 2, 4

Animales: 25 cynomolgus macaques
El asterisco, "*", de la figura 16 se refiere al que tiene solo 4 cynos en el grupo para semana 12, un cyno en el grupo se sangró en forma terminal en la semana 8
Vacunación: IM, 0,5 mL por dosis, en las semanas 0, 2, y 4. Se prepararon composiciones de toxina mutante como se describió anteriormente. Las composiciones de toxina mutante se formularon en ISCOMATRIX, excepto el Grupo 5 que se formuló en el buffer sin adyuvante.
Sangrado: Semanas -2, 0, 2, 3, 4, 6, 8, y 12. Eutanasia y sangrados terminales en los animales con títulos más altos de *C. difficile* en la semana 8.
Análisis de la muestra de suero: Ensayos ELISA de proteína y de neutralización

Resultados: La Figura 16 muestra las respuestas de anticuerpo neutralizante anti-toxina en estos animales en las semanas 0, 2, 3, 4, 6, 8, y 12. Los títulos anti-toxina A estuvieron entre 2-3 $\log_{10}$ para los cinco grupos después de una dosis única (títulos de la semana 2). Estos títulos aumentaron después de cada dosis posterior para cada grupo. En estos animales, no hubo caída del título entre las semanas 3 y 4. En todos los grupos, los títulos pico estaban entre 4-5 $\log_{10}$. En todos los puntos de tiempo, el

grupo sin adyuvante ISCOMATRIX (Grupo 5) presentó los títulos más bajos, lo que indica la utilidad de ISCOMATRIX para reforzar las respuestas inmunes. El grupo control sin adyuvante (Grupo 5) alcanzó títulos pico en la semana 12, como lo hizo el grupo inmunizado con las dosis altas de las toxinas mutantes inactivadas con EDC (Grupo 4); los otros grupos alcanzaron títulos pico en la semana 6, dos semanas después de la última dosis. Los títulos en todos los grupos aumentaron después de la segunda dosis (punto de tiempo semana 3). Al igual que con las respuestas anti-toxina A, las respuestas anti-toxina B no disminuyeron de la semana 3 a la semana 4. Después de la tercera dosis (punto de tiempo semana 6), los títulos del anticuerpo neutralizante anti-toxina B en todos los grupos estuvieron entre 3-4 $\log_{10}$, excepto en el grupo inactivado con formalina a baja dosis (Grupo 1) y el grupo inactivado con EDC a dosis alta (Grupo 4), los cuales tenían títulos exactamente >4 $\log_{10}$. Los títulos pico se observaron en la semana 12 para todos los grupos excepto el grupo inactivado con EDC a baja dosis (Grupo 3), que tenía títulos pico en la semana 8. Todos los grupos tenían títulos pico >4 $\log_{10}$.

Ejemplo 31: Producción de anticuerpos monoclonales

Si bien las toxinas A y B comparten mucha homología estructural, se halló que las actividades neutralizantes de los anticuerpos son específicas de la toxina. En esta invención, se identificaron varios anticuerpos que son específicos para la toxina individual y se dirigieron a varios epitopes y dominios funcionales, y tienen alta afinidad y potente actividad neutralizante hacia las toxinas nativas. Los anticuerpos se aislaron de ratones que fueron inmunizados con una toxina mutante inactivada con formalina (FI) disponible en el comercio o toxina holomutante recombinante (SEQ ID NOs: 4 y 6) convertida en no tóxica por la introducción de mutaciones específicas en su sitio catalítico para producir la toxina A y B mAb, respectivamente. El mapeo de epitope de los anticuerpos mostró que la vasta mayoría del mAb contra la toxina A (49 de 52) se dirigió al dominio C-terminal no catalítico de la toxina.

Los anticuerpos monoclonales contra la toxina B se dirigieron a tres dominios de la proteína. De un total de 17 anticuerpos específicos de la toxina B, 6 fueron específicos para el extremo N-terminal (por ejemplo, aminoácidos 1-543 de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje, tales como 630), 6 para el extremo C-terminal (por ejemplo, aminoácidos 1834-2366 de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje, tales como 630) y 5 para un dominio de mitad de translocación (por ejemplo, aminoácidos 799-1833 de una TcdB de C. difficile de tipo salvaje, tales como 630). El método de usar las toxinas de C. difficile mutante (por ejemplo, SEQ ID NO: 4 y 6) como

antígenos inmunizantes en consecuencia ofrece una ventaja clave de presentación de la mayor parte, si no todos, los epitopes antigénicos en comparación con el proceso de inactivación de formalina inactivación que tienden a afectar adversamente la estructura antigénica de la toxina mutante.

Ejemplo 32: Caracterización del mAb de la toxina A, A3-25, que incluye una cadena liviana variable que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36 y una cadena pesada variable que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37.

El mAb A3-25 fue de interés particular ya que este anticuerpo desafió todos los intentos para definir su isotipificación de inmunoglobulina (Ig) usando los kit de isotipificación comúnmente disponibles para IgG, IgM y IgA. El análisis posterior por transferencia Western mediante antisueros específicos de la cadena H de Ig mostró que el A3-25 es del isotipo IgE, un evento rato de la producción de mAb. Esto se confirmó adicionalmente por la secuenciación de nucleótidos del ARNm aislado de las células del hibridoma A3-25. Las secuencias de aminoácidos deducidas de las secuencias de nucleótidos de las regiones variables de la cadena H- y L de A3-25 se muestran en la Figura 17.

A fin de evaluar adicionalmente el mAb A3-25 en el modelo, animal para la infección y enfermedad con *C difficile*, su isotipo Ig cambió a IgG1 murino por injerto molecular de la región variable de la cadena ε H sobre la cadena murina y pesada de acuerdo con los métodos publicados.

Ejemplo 33: Capacidad de neutralización y mapeo epitópico de los anticuerpos específicos de toxina

Además, en un esfuerzo por identificar anticuerpos funcionales/neutralizantes, se evaluaron todos los anticuerpos monoclonales en cuanto a la capacidad de neutralizar las toxinas tipo salvaje en un ensayo de efecto citopático (CPE) estándar o en un ensayo más estricto y cuantitativo basado en la medición del ATP como un indicador de la viabilidad celular.

Del total de 52 anticuerpos específicos de la toxina A, cuatro mAb (A3-25, A65-33, A60-22 y A80-29 (Tabla 17 y Figura 18) exhibieron variados niveles de actividad neutralizante. Se realizaron los ensayos de unión competitiva BiaCore e inhibición de la hemaglutinación (HI) para mapear los epitopes del anticuerpo. Los resultados indicaron que estos anticuerpos se pueden dirigir a diferentes epitopes de la proteína de la toxina A (Tabla 17). Para identificar adicionalmente la ubicación de sitios de unión en la proteína, los anticuerpos se evaluaron en forma individual en ensayos de

transferencia Western o transferencia de mancha usando fragmentos de toxina de secuencias conocidas. Se halló que los 4 mAb neutralizantes se dirigen a la región del extremo C-terminal de la toxina.

A partir de un total de 17 anticuerpos específicos de la toxina B, se halló que 9 son neutralizantes. De los nueve mAb neutralizantes, seis de ellos se dirigieron al extremo N-terminal y los otros tres al dominio de translocación de la toxina B (Tabla 18). Sobre la base del ensayo de unión competitivo Biacore, los nueve anticuerpos monoclonales neutralizantes se pueden agrupar en cuatro grupos de epitopes como se muestra en las Figura 19.

TABLA 17: Características de mAb Toxina A seleccionada

Grupo de epitope (Biacore)	mAb #	Actividad neutralizante	Inhibición de hemaglutinación	Especificidad de unión	Isotipo Ig
1	A3-25	+	-	C-terminal	IgE, κ
2	A65-33	+	-	C-terminal	IgG2a, κ
3	A80-29	+	+	C-terminal	IgG1, κ
ND	A60-22	+	+	C-terminal	IgG1, κ
4	A64-6	-	-	En progreso	IgG1, κ
	A50-10	-	-	C-terminal	IgG1, κ
	A56-33	-	-	En progreso	IgG1, κ
ND	A1	-	-	N-terminal	IgG1, κ

TABLA 18: Características de mAb Toxina B seleccionada

Grupo de epitope (Biacore)	mAb #	Actividad neutralizante	Especificidad de unión	Isotipo Ig
1	B2-31	+	N-terminal	IgG1, κ
	B5-40			IgG1, κ
	B8-26			IgG1, κ
	B70-2			IgG1, κ
2	B6-30	+	N-terminal	IgG1, κ
	B9-30			IgG1, κ
3	B59-3	+	Dominio de translocación	IgG1, κ
	B60-2			IgG1, κ
4	B56-6	+	Dominio de translocación	IgG1, κ
	B58-4	-		IgG1, κ
5	B12-34	-	C-terminal	IgG1, κ
	B14-23			IgG1, κ
	B80-3			IgG1, κ
6	B66-29	-	C-terminal	IgG1, κ
7	B84-3	-	C-terminal	IgG1, κ

Ejemplo 34: Identificación de nuevas combinaciones de anticuerpos de toxina A con actividad neutralizante significativamente aumentada:

Los cuatros mAb de toxina A (A3-25, A65-33, A60-22 y A80-29) mostraron

neutralización de la toxina A incompleta o parcial cuando se analizaron individualmente en el ensayo de neutralización basado en ATP. El mAb A3-25 fue el anticuerpo más potente y los otros tres fueron menos neutralizantes, el A80-29 apenas por encima del umbral (Figura 18). Sin embargo, cuando A3-25 se combinó con uno de los tres mAbs, se observó un efecto sinérgico en la neutralización en las tres combinaciones que fue mucho más que la suma total de neutralización de los anticuerpos individuales como se muestra en las Figura 20A-C. Además, las tres combinaciones exhibieron capacidad de neutralización completa normalmente observada con los anticuerpos policlonales anti-toxina A.

Ejemplo 35: Identificación de nuevas combinaciones de anticuerpos de toxina B que muestran actividad neutralizante significativamente aumentada:

Los autores también observaron neutralización sinérgica con los mAb de toxina B de los diferentes grupos de epitopes identificados por el análisis BiaCore. El mAb de la toxina B B8-26, el mAb más dominante del grupo 1, se combinó con múltiples mAb del grupo 3. Las combinaciones se evaluaron en un ensayo de neutralización específico de la toxina B y los resultados se muestran en la Figura 21 y Tabla 19.

Tabla 19: Neutralización de la toxina B con mAb

mAb	Título neut	
	CPE	ATP
B8-26 solo	20,480	5,000
B59-3 solo	320	120
B60-2 solo	320	80
B8-26 + B59-3	655,360	~60,000
B8-26 + B60-2	327,680	nd
nd, no realizado		

El efecto neutralizante sinérgico se observó cuando B8-26 se combinó con un mAb de grupo 3 (Figura 21B), pero no ningún otro mAb (datos no mostrados).

Ejemplo 36: Detección i*n vitro* por mAb para composiciones de toxina mutante seguras y eficaces:

Las toxinas A y B mutantes genéticas de *C difficile* (por ejemplo, SEQ ID NO: 4 y 6) generadas por medio de ingeniería genética mostraron citotoxicidad residual usando un ensayo de citotoxicidad in vitro. Si bien los autores han obtenido una reducción de ~4 log de la citotoxicidad para cada toxina mutante de C. difficile (Tabla 20), se prefirió la posterior inactivación química de las toxinas mutantes, tales como con el tratamiento con formalina. Sin embargo, los tratamientos por inactivación química pueden ser duros y pueden afectar adversamente los epitopes antigénicos

clave de estas toxinas o toxinas mutantes.

Tabla 20: Una comparación de citotoxicidad in vitro de toxina wt, toxina triple mutante, y toxina wt inactivada con formalina (FI, de la lista de productos biológicos) (lista de productos biológicos, comercial)			
Tcd	Fuente/tratamiento	EC_{50} ng/ml	Veces de reducción de la citotoxicidad
TcdA			
Toxina A (SEQ ID NO: 1)	WT	0,92	1
Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4)	Triple mutante	8600	9348
Toxoide A (FI)	Tratada con formalina, comercial	>20,000	>21,739
TcdB			
Toxina B (SEQ ID NO: 2)	WT	0,009	1
Toxina B mutante (SEQ ID NO: 6)	Triple mutante	74	8222
Toxoide B (FI)	Tratada con formalina, comercial	4300	477,778

Para la optimización del bioproceso, se realizó un diseño estadístico del experimento (DOE) para la inactivación química de las Tcd A y B triple mutantes (1 mg/ml) usando el tratamiento con formalina y EDC/NHS. Para optimizar la inactivación con formalina de la TcdA triple mutante, los autores variaron las concentraciones de formalina/glicina (20-40 mM), pH (6,5-7,5), y temperatura (25-40ºC). Para la TcdB triple mutante, los autores variaron las concentraciones formalina/glicina de 2 a 80 mM y la temperatura y pH fueron 25 ºC y 7,0 respectivamente. El tiempo de incubación para todos los tratamientos con formalina fue 24 horas. Para la inactivación con formalina, "40/40" de las Tablas 21 y 23 representa la concentración de formalina y glicina usada en la reacción. Para el tratamiento con EDC/NHS, los autores variaron las concentraciones de EDC/NHS de 0,25 a 2,5 mg/mg de TcdA triple mutante y de 0,125 a 2,5 mg/mg de TcdB triple mutante y se incubaron cuatro horas a 25 ºC. Al final de las reacciones, todas las muestras se desalinizaron en 10 mM de fosfato, pH 7,0. Después de la purificación, las Tcds tratadas se analizaron para determinar la citotoxicidad residual y el reconocimiento de mAb de los epitopes por el análisis de transferencia de mancha. El objetivo fue identificar las condiciones del tratamiento que reducen la citotoxicidad en el nivel deseado (EC_{50} > 1000 µg/ml) sin impactar negativamente epitopes reconocidos por un panel de mAb neutralizantes (++++ o +++). Las condiciones del tratamiento (marcado con una marca de revisión "✓" en las Tablas 21-24) produjeron composiciones inmunogénicas potencialmente seguras y eficaces que retuvieron la

reactividad retenida en al menos cuatro mAb neutralizantes a la vez que exhiben una reducción de 6-8 log_{10} de la citotoxicidad, con respecto a la respectiva citotoxicidad de la toxina tipo salvaje. Los resultados seleccionados se ilustran en las Tablas 21 a 24. Los datos adicionales de variadas condiciones del tratamiento sobre las toxinas triple mutantes y los datos de citotoxicidad in vitro y los ensayos de neutralización de la toxina se muestran en las Tabla 33 y Tabla 34. Ver también, por ejemplo, los Ejemplos 20 y 21 anteriores, que proporcionan detalles adicionales con respecto a las condiciones del tratamiento de entrecruzamiento de las toxinas mutantes.

Tabla 21: Citotoxicidad y reactividad del mAb neutralizante de la TcdA triple mutante inactivada con formalina (SEQ ID NO: 4)

Condiciones de reacción de la inactivación química sobre TcdA triple mutante	CPE µg /ml	Reactividad con mAb (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)					
		N-terminal Mab#6	Dominio de translocación Mab#102	C-terminal (neut)			
				A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
25ºC, pH 6,5, 20/20mM	250	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25ºC, pH 6,5, 40/40mM ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25ºC, pH 7,5, 40/40mM ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40ºC, pH 6,5, 40/40mM	>1000	++	+++	++++	++++	++++	++++
40ºC, pH 7,5, 40/40 mM	>1000	++	++	++++	++++	++++	+++
Ninguno, Toxina A triple mutante	18,5-25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Toxoide A FI(lista de productos biológicos)	ND	__	__	++	++	+++	+

Tabla 22: Citotoxicidad y reactividad de mAb neutralizante de TcdA triple mutante inactivada con EDC (SEQ ID NO: 4)

		Reactividad con mAb (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)					
Condiciones de reacción de la inactivación química en TcdA triple mutante	CPE µg /ml	N-terminal Mab#6	Dominio de translocación Mab#102	C-terminal (neut)			
				A80-29	A3-25	A60-22	A65-33
25ºC, 0,25 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25ºC, 0,5 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25ºC, 1,25 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	++++
25ºC, 2,5 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	+++
Ninguno, TcdA triple mutante	18,5-25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Toxoide FI A (lista de productos biológicos)	ND	__	__	++	++	+++	+

Tabla 23: Citotoxicidad y reactividad de mAb neutralizante de Inactivada con formalina TcdB triple mutante (SEQ ID NO: 6)					
Condiciones de reacción de la inactivación química sobre TcdB triple mutante	CPE (µg /ml)	mAb # (N-terminal aa 1 – 543)		mAb # (mitad/C-terminal aa 544 – 2366)	
		B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
25ºC,pH 7,0, 80/80 mM, 24 horas ✓	>1000	++++	++++	++++	+++
25ºC, pH 7,0, 40/40 mM, 24 horas ✓	>1000	++++	++++	++++	++++
25ºC, pH 7,0, 10/10 mM, 24 horas	15,6	++++	++++	++++	++++
25ºC, pH 7,0, 2/2 mM, 24 horas	<0,98	++++	++++	++++	++++
Ninguno, TcdB triple mutante	0,058	++++	++++	++++	++++
Toxoide B FI (lista de productos biológicos)	ND	+++	+++	+++	++

Tabla 24: Citotoxicidad y reactividad de mAb neutralizante de TcdB triple mutante inactivada con EDC (SEQ ID NO: 6)					
Condiciones de reacción de la inactivación química sobre TcdB triple mutante	CPE (µg /ml)	mAb # (N-terminal aa 1 – 543) 8-26 9-30		mAb # (mitad-/C-terminal aa 544 – 2366) 56-6 59-3	
		B8-26	B9-30	B56-6	B59-3
25ºC, 0,125 mg/mg, 4 horas	3,9	++++	++++	++++	++++
25ºC, 0,25 mg/mg, 4 horas	250	++++	++++	++++	++++
25ºC, 0,5 mg/ml, 4 horas ✓	>1000	++++	++++	++++	++++
25ºC, 1,25 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	++++	+++	+++	+++
25ºC, 2,5 mg/mg, 4 horas ✓	>1000	++++	+++	+++	+++
Ninguno, TcdB triple mutante	0,058	++++	++++	++++	++++
Toxoide B FI (lista de productos biológicos)	ND	+++	+++	+++	++

Tabla 33

		Ensayo cyto (EC50)		**Reactividad con mAb (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)**					
Muestra #	Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4) Muestra ID	CPE; 24h µg /ml	CPE, 72h µg /ml	N-terminal Mab#6	Dominio de translocación Mab# 102	C-terminal (neut)			
						80-29	3-25	60-22	65-33
1	L44166-157A	>1000	>1000	++++	++++	++++	+++	++++	++++
2	L44166-157B	>1000	>1000	+++	++++	++++	+++	++++	++++
3	L44166-157C	>1000	>1000	+++	+++	++++	+++	++++	++++
4	L44166-157D	>1000	>1000	+++	+++	++++	+++	++++	++++
5	L44905-160A	>1000	>1000	++	++	++++	++	++++	++++
6	L44166-166	>1000	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
7	L44905-170A	ND	>1000	+	+	++	++	++	+
8	L44897-61	>1000	ND	+++	++	++++	++++	++++	++++
9	L44897-63	>1000	ND	++++	+++	++++	+++	++++	++++
10	L44897-72 Tubo#1	250	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
11	L44897-72 Tubo#2	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
12	L44897-72 Tubo#3	>1000	ND	+++	+++	++++	++++	++++	++++

13	L44897-72 Tubo#4	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
14	L44897-72 Tubo#5	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
15	L44897-75 Tubo#6	>1000	ND	+++	++++	++++	++++	++++	++++
16	L44897-75 Tubo#7	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
17	L44897-75 Tubo#8	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
18	L44897-75 Tubo#9	>1000	ND	++	+++	++++	++++	++++	++++
19	L44897-75 Tubo#10	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++
20	L44897-75 Tubo#11	>1000	ND	++	++	++++	++++	++++	+++
21	L44897-101 (pre-modificación) TxA control	23,4	<7,8	++++	++++	++++	++++	++++	++++
22	L44897-101, 2 horas	187,5	155,9	+++	++++	++++	++++	++++	++++
23	L44897-101, 4 horas	375	380,3	+++	++++	++++	++++	++++	++++
24	L44897-101, 6 horas	500	429,6	+++	++++	++++	++++	++++	++++
25	L44897 102, 24 horas	>1000	>1000	++	++++	++++	++++	++++	++++
26	L44897-103, 51 horas	>1000	>1000	+	+++	+++	++++	++++	+++
27	L44897-104, 74 horas	>1000	>1000	—	+++	+++	+++	+++	+++
28	L44897-105, 120 horas	>1000	>1000	—	++	++	+++	+++	++
29	L44980-004	>1000	>1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
30	Reacción #1 Semana 0, 25C	750 ug/ml	ND	ND	++	++	+++	+++	++
31	Reacción #1 Semana 1, 25C	375 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
32	Reacción #1 Semana 2, 25C	375 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
33	Reacción #1 Semana 3, 25C	375 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
34	Reacción #1 Semana 4, 25C	250 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
35	Reacción #1 Semana 3, 37C	93,8 ug/ml	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
36	Reacción #2 Semana 0, 25C	375 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	+++	+++
37	Reacción #2 Semana 1, 25C	375 ug/ml	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
38	Reacción #2 Semana 2, 25C	750 ug/ml	ND	ND	++	++	++	+++	++

39	Reacción #2 Semana 3, 25C	250 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	++++	+++
40	Reacción #2 Semana 4, 25C	250 ug/ml	ND	ND	+++	+++	+++	++++	+++
41	Reacción #2 Semana 3, 37C	187,5 ug/ml	ND	ND	+++	+++	++++	++++	+++
42	TxA Control Semana 3, 25C	18,8 ug/ml	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
43	TxA Control Semana 3, 37C	25 ug/ml	ND	ND	++++	++++	++++	++++	++++
44	L44897-116-6 29,5 horas	> 2000 ug/ml	ND	ND	++	++	++	+++	++
45	L44897-116-7 57,5 horas	> 2000 ug/ml	ND	ND	++	++	++	+++	++
46	L44897-116 - 8 79,5 horas	> 2000 ug/ml	ND	ND	+	+	+	+++	+
47	L44897-116-9 123,5 horas	> 2000 ug/ml	ND	ND	++	++	++	+++	++
48	L44897-139	>1000	ND	++	++++	++++	++++	++++	++++
49	L44166-204	>1000	ND	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Condiciones de reacción del entrecruzamiento químico para las muestras de toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4) con referencia a la Tabla 33

Las muestras 1-4 se modificaron con EDC/NHS. Condiciones: 30ºC, 20 mM de MES/150 mM de NaCl pH 6,5. Las reacciones se iniciaron por la adición de EDC. Después de 2 horas de reacción, las muestras A, B, y C presentaron glicina 1 M adicionada a 50 mM de concentración final de glicina. La Muestra D no tenía glicina añadida. Las reacciones se ajustaron con diferentes relaciones de peso de Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS como se indica a continuación.

1 L44166-157A 1: 0,25: 0,25 w: w: w

2 L44166-157B 1: 1,25: 1,25

3 L44166-157C 1: 2,5: 2,5

4 L44166-157D 1: 2,5: 2,5

Muestra 5 L44905-160A 80 mM de HCHO, 80 mM de glicina, 80 mM de NaPO4 pH 7, 1 mg/ml de proteína de Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4), 48 horas de reacción a 25 ºC.

Muestra 6 L44166-166 Modificación EDC/NHS de la toxina A mutante (SEQ ID NO: 4) a 25 ºC en 20 mM de MES/150 mM de NaCl pH 6,5. Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0,5:0,5. La reacción se inició por la adición de EDC. Después de

2 horas de reacción, se añadió 1 M de glicina a una concentración final de glicina 0,1 M y 2 horas adicionales de incubación. Después de este momento, el buffer de reacción intercambió en 1 X PBS sobre Sephadex G25.

Muestra 7 L44905-170A 80 mM de HCHO, 80 mM de glicina, 80 mM de $NaPO_4$ pH 7, 1 mg/ml de proteína de toxina A mutante (SEQ ID NO: 4), 48 horas de reacción a 35ºC. Esta reacción de formalina se dirigió a producir excesivo entrecruzamiento de modo de poder disminuir severamente la unión del antígeno.

Muestra 8 L44897-61 32 mM de HCHO/80 mM de glicina, 72 horas de reacción a 25 ºC.

Muestra 9 L44897-63 80 mM de HCHO/80 mM de glicina, 72 horas de reacción a 25 ºC.

Las siguientes reacciones presentaron 24 horas de tiempo de reacción.

Muestra 10 L44897-72 Tubo#1 25ºC, 80 mM de NaPi pH 6,5, 20 mM de HCHO/20 mM de glicina

Muestra 11 L44897-72 Tubo#2 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 6,5, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina

Muestra 12 L44897-72 Tubo#3 32,5 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 30 mM de HCHO/30 mM de glicina

Muestra 13 L44897-72 Tubo#4 32,5 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 30 mM de HCHO/30 mM de glicina

Muestra 14 L44897-72 Tubo#5 32,5 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 30 mM de HCHO/30 mM de glicina

Muestra 15 L44897-75 Tubo#6 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,5, 20 mM de HCHO/20 mM de glicina

Muestra 16 L44897-75 Tubo#7 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,5, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina

Muestra 17 L44897-75 Tubo#8 40 ºC, 80 mM de NaPi pH 6,5, 20 mM de HCHO/20 mM de glicina

Muestra 18 L44897-75 Tubo#9 40 ºC, 80 mM de NaPi pH 6,5, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina

Muestra 19 L44897-75 Tubo#10 40 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,5, 20 mM de HCHO/20 mM de glicina

Muestra 20 L44897-75 Tubo#11 40 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,5, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina

Las siguientes 8 muestras reaccionaron a 25 ºC para los tiempos indicados en

80 mM de NaPi pH 7,0 que contiene 78 mM de HCHO y 76 mM de glicina

Muestra 21 L44897-101 (pre-modificación) TxA muestra control cero tiempo control, no modificado o expuesto a HCHO/glicina

Muestra 22 L44897-101, 2 horas

Muestra 23 L44897-101, 4 horas

Muestra 24 L44897-101, 6 horas

Muestra 25 L44897 102, 24 horas

Muestra 26 L44897-103, 51 horas

Muestra 27 L44897-104, 74 horas

Muestra 28 L44897-105, 120 horas

Muestra 29 (L44980-004) fue toxina A mutante modificada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 4) (toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4)-EDC). Las condiciones de reacción son: 25 ºC, el buffer fue 20 mM de MES/150 mM de NaCl pH 6,6. La toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0,5:0,5 w:w:w. La reacción se inició por la adición de EDC. Después de 2 horas de reacción, se añadió glicina a una concentración final de 0,1 M y reaccionó posteriormente 2 horas a 25 C. La reacción terminó por la desalinización en Sephadex G25.

Las siguiente 12 muestras y 2 controles fueron experimentos de inversión donde las muestras se incubaron a 25ºC y 37 ºC.

Reacción 1 = 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 40 mM de HCHO solo (sin glicina), 24 horas de reacción.

Reacción 2 = 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina, 24 horas de reacción

Muestra	Reacción
30	Reacción #1 Semana 0, 25ºC
31	Reacción #1 Semana 1, 25ºC
32	Reacción #1 Semana 2, 25ºC
33	Reacción #1 Semana 3, 25ºC
34	Reacción #1 Semana 4, 25ºC
35	Reacción #1 Semana 3, 37ºC
36	Reacción #2 Semana 0, 25ºC
37	Reacción #2 Semana 1, 25ºC
38	Reacción #2 Semana 2, 25ºC
39	Reacción #2 Semana 3, 25ºC
40	Reacción #2 Semana 4, 25ºC

41 Reacción #2 Semana 3, 37ºC

42 Control TxA Semana 3, 25ºC

43 Control TxA Semana 3, 37ºC

Las próximas 4 muestras se generaron por la reacción durante los tiempos indicados a 25 ºC en 80 mM de NaPi pH 7,0, 40 mM de HCHO/40 mM de glicina

44 L44897-116-6 29,5 horas

45 L44897-116-7 57,5 horas

46 L44897-116 -8 79,5 horas

47 L44897-116-9 123,5 horas

Muestra 48 L44897-139 48 horas de reacción a 25 ºC, 80 mM de NaPi pH 7,0, 40 mM de HCHO/ 40 mM de glicina.

Muestra 49 L44166-204 Modificación por EDC/NHS de la toxina A mutante (SEQ ID NO: 4). 25 C, buffer 1 x PBS pH 7,0. Toxina A mutante (SEQ ID NO: 4):EDC:NHS = 1:0,5:0,5 w:w:w. 2 horas de reacción con EDC/NHS, luego 1 M de glicina añadida a una concentración final 0,1 M y posteriormente 2 horas de reacción. El buffer se intercambió en Sephadex G25 en 20 mM de L-histidina/100 mM de NaCl pH 6,5.

Tabla 34

	Ensayo cyto (EC50)		Reactividad con mAb neut (transferencia de mancha, condiciones no desnaturalizantes)				Fuertes reactividades a los 4 mAb
Muestra ID de toxina B mutante	CPE; 24h	ATP, 72h	mAb # (N-terminal aa 1 – 543) 8-26	9-30	mAb # (mid-/C-terminal aa 544 – 2366) 56-6	59-3	
L44905-86-01 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Control no tratado	<0,1 µg /ml	<0,1µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-02 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10ºC, día 1	≥100 µg/ml	2,2µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-03 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25ºC, día 1	>100 µg/ml	>100 µg/ml	+++	++++	++	+++	√*

L44905-86-04 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10ºC, día 1	>100 µg/ml	5,2 µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-05 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25ºC, día 1	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	++++	++	+++	√*
L44905-86-06 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10ºC, día 1	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	-	++++	+++	
L44905-86-07 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25ºC, día 1	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	-	++++	+++	
L44905-86-08 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	++++	++++	+++	√
L44905-86-09 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++	++	-	+	
L44905-86-10 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-11 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++	++++	-	+	
L44905-86-12 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	-	++++	+++	
L44905-86-13 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25ºC, día 5	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	-	++++	++++	

L44905-86-14 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 10ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L44905-86-15 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn1, 25ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	+++	++++	-	+	
L44905-86-16 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 10ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	+++	++++	+++	++++	√
L44905-86-17 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn2, 25ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++	++	-	+	
L44905-86-18 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 10ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	-	++++	++++	
L44905-86-19 Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), Rxn3, 25ºC, día 7	>100 µg/ml	>100 µg/ml	+++	-	++	++	
L34346-30A	>100 µg/ml	>100 µg/ml	++++	++++	++++	++++	√
L34346-30B	>100 µg/ml	>100 µg/ml	+++	++++	++++	++++	√
Comercial, Toxoide B FI (Lista de productos biológicos)	ND	ND	++++	++++	++++	++++	√
Comercial, Control Toxina B wt (Lista de productos biológicos)	22,5 pg/ ml	7,8 pg/ml	+++	++	+++	+++	√
Control, toxina B triple mutante recombinante (SEQ ID NO: 6)	78 ng/ml	72 ng/ml	+++	++	++++	+++	√

Condiciones de reacción de entrecruzamiento químico para la muestras de toxina B mutante mencionadas en la Tabla 34

La toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) se entrecruzó químicamente y se analizó de acuerdo con las siguientes condiciones de reacción. Las muestras L44905-86 se analizaron en un experimento que involucra tres variaciones de la reacción de formalina y dos temperaturas de incubación. Cada día, se tomaron 6 muestras para un total de 18 muestras. La primera muestra en la lista es el control no tratado (que hace 19 muestras totales). El control no tratado incluyó un polipéptido de la toxina triple mutante no tratado (SEQ ID NO: 6).

Reacción 1 ("Rxn1") = 80 mM de HCHO, 80 mM de glicina, 80 mM de NaPO4 pH 7, 1 mg/ml de proteína de toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6)

Reacción2 ("Rxn2") = 80 mM de HCHO, sin glicina, 80 mM de NaPO4 pH 7, 1 mg/ml de proteína de toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6)

Reacción3 ("Rxn3") = 80 mM de HCHO, sin glicina, 80 mM de NaPO4 pH 7, 1 mg/ml de proteína de toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) + terminación de cianoborohidruro. La terminación de cianoborohidruro involucró 80 mM de $CNBrH_4$ añadidos a la reacción final desalinizada y se incubó 24 horas a 36ºC.

Para la Muestra L34346-30A 0,5 g de EDC y NHS por gramo de toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), 4 horas a 30ºC, en 20 mM de MES, 150 mM de NaCl, pH 6,5.

Para la Muestra L34346-30B 0,5 g EDC y NHS por gramo de toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6), 2 horas a 30ºC seguida por la adición de glicina (concentración final de g/L) y se incubaron otras 2 horas a 30ºC, en 20 mM de MES, 150 mM de NaCl, pH 6,5. La única diferencia entre las dos reacciones para L34346-30A y L34346-30B es la adición de glicina a la reacción L34346-30B.

Ejemplo 37: Los anticuerpos inducidos por las composiciones inmunogénicas son capaces de neutralizar las toxinas de varias cepas de *C. difficile*

Para evaluar si los anticuerpos inducidos por las composiciones inmunogénicas que incluyen los principios activos de la toxina mutante neutralizan un amplio espectro de diversas secuencias de toxina, las cepas que representan diversos ribotipos y toxinotipos se secuenciaron para identificar el grado de diversidad genética entre las diversas cepas comparadas con los principios activos de la toxina mutante. Los sobrenadantes del cultivo que contienen toxinas secretadas de las diversas cepas luego se analizaron en un ensayo de neutralización in vitro usando sueros de hámsteres inmunizados para determinar la cobertura de la composición inmunogénica

y para determinar la capacidad de la composición inmunogénica para proteger contra diversas toxinas de las cepas clínicas circulantes.

Las células HT-29 (línea celular del carcinoma de colon) y células IMR-90 se usaron para analizar la neutralización de las toxinas expresas de las cepas CDC. Las células HT-29 son más sensibles para TcdA; la EC_{50} de la TcdA purificada en estas células es 100 pg/ml en comparación con 3,3 ng/ml para la TcdB. A la inversa las células IMR-90 son más sensibles a la TcdB; la EC_{50} de la TcdB purificada en estas células varía entre 9-30 pg/ml en comparación con 0,92-1,5 ng/ml para la TcdA. La especificidad del ensayo para TcdA y TcdB en estas líneas celulares se confirmó por el uso de anticuerpos policlonales y monoclonales específicos de toxina. Para el ensayo de normalización, los filtrados de cultivo de las 24 cepas de CDC se analizaron a una concentración cuatro veces su valor respectivo de EC_{50}. Tres de las cepas presentaron niveles de toxina que fueron demasiado bajos para analizar en el ensayo de neutralización.

Se obtuvieron veinticuatro cepas que representan diversos ribotipos/toxinotipos que cubren más de 95% de las cepas circulantes de *C. difficile* en USA y Canadá de la CDC. Entre estas muestras fueron las cepas que representan ribotipos 027, 001 y 078, tres cepas epidémicas de CDAD en los Estados Unidos, Canadá y UK. Las cepas 2004013 y 2004118 representaron el ribotipo 027; la cepa 2004111 representó el ribotipo 001 y las cepas 2005088, 2005325 y 2007816 representaron el ribotipo 078. Para identificar el grado de diversidad genética entre las cepas clínicas que causan enfermedad y la cepa 630, los genes de la toxina (*tcdA* y *tcdB*) de estas cepas clínicas se secuenciaron por completo. Ver Tabla 35. Las secuencias de aminoácidos de las toxinas se alinearon usando ClustalW en el programa Megalign™ (DNASTAR® Lasergene®) y se analizaron para determinar la identidad de secuencia. Para *tcdA*, el análisis de alineamiento genómico mostró que todas las cepas clínicas y la cepa 630 compartieron aproximadamente 98-100% de identidad de secuencia de aminoácidos global. La porción C-terminal del gen de TcdA fue ligeramente más divergente. Se realizó el mismo análisis para el gen *tcdB* que exhibió mayor divergencia de secuencia. Notablemente, las cepas 2007838/NAP7/126 y 2007858/NAP1/unk5 exhibieron los patrones más divergentes de la cepa 630 en los dominios del extremo N-terminal (79-100%) y el extremo C-terminal (88-100%; datos no mostrados).

Una mezcla de suero de hámster (HS) se recolectó de los hámsteres dorados sirios que se inmunizaron con un inmunógeno que incluye TcdA mutante (SEQ ID NO: 4) y TcdB mutante (SEQ ID NO: 6), donde las toxinas mutantes se inactivaron con

EDC, de acuerdo con, por ejemplo, el Ejemplo 29, Tabla 15, que se describió anteriormente, y se formuló con fosfato de aluminio. Los resultados de la Tabla 35 muestran que al menos la toxina B de los respectivos sobrenadantes del cultivo se neutralizó, en un ensayo de neutralización in vitro, por los sueros de los hámsteres inmunizados.

Tabla 35. Descripción de cepas de C. difficile del CDC y capacidad del suero de hámster inmune para neutralizar varias toxinas

Cepa	PFGE Tipo	Ribotipo	Neutralizado por suero de hámster
2005088	NAP7	78	si
2007816	NAP7-related	78	si
2005325	NAP7	78	si
2004013	NAP1	27	si
2007886	NAP1		si
2008222	NAP4	77	si
2004206	NAP4	154	si
2005283	NAP5	Unk3	No analizado[b]
2009141	NAP2		si
2007838	NAP7	126	si
2004111	NAP2	1	si
2007070	NAP10	70	si
2006017	NAP12	15	si
2009078	NAP11	106	No analizado[b]
2007217	NAP8	126	si
2006376	NAP9	17	si
2007302	NAP11	Unk2	si
2004118	NAP1	27	si
2005022	NAP3	53	si
2009292	NAP1		si
2004205	NAP6	2	si
2007858	NAP1	Unk5	si
2009087	NAP11	106	No analizado[b]
2005359	Relacionado con NAP1		si

b Los niveles de toxina fueron demasiado bajos para realizar el ensayo de neutralización.

La Figura 23 ilustra los resultados del ensayo de neutralización usando preparaciones de toxina de varias cepas de C. difficile sobre las células IMR-90. Los datos muestran que los anticuerpos neutralizantes de TcdB en los antisueros de hámster fueron capaces de neutralizar toxinas de las 21 cepas analizadas, que incluyen cepas hipervirulentas y una cepa negativo de TcdA, positivo de TcdB. Se

obtuvieron al menos 16 cepas diferentes de *C. difficile* de los CDC (Atlanta, GA) (previamente descriptos) y se cultivaron en medio de cultivo de *C. difficile* en condiciones adecuadas conocidos en la técnica y como se describió anteriormente. Los sobrenadantes del cultivo que contienen las toxinas secretadas se analizaron para determinar su citotoxicidad (EC_{50}) sobre las monocapas de IMR-90 y posteriormente se analizaron en un ensayo de neutralización *in vitro* estándar a 4 veces la EC_{50} usando varias diluciones de sueros de los hámsteres inmunizados con el principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante, y se formularon con fosfato de aluminio. La toxina bruta obtenida de los sobrenadantes del cultivo de cada cepa y toxina purificada (toxina comercial obtenida de la Lista de productos biológicos)(no purificado de los respectivos sobrenadantes) se analizaron para determinar la citotoxicidad para las células IMR-90 usando el ensayo de citotoxicidad in vitro descripto anteriormente.

En las Figuras 23A-K, los gráficos muestra los resultados de las pruebas de citotoxicidad in vitro (previamente descriptos) en que los niveles de ATP (RLU) se grafican contra concentraciones crecientes de: medio de cultivo de *C. difficile* y la mezcla de suero de hámster (▪); toxina bruta y la mezcla de suero de hámster (●); toxina purificada y la mezcla de suero de hámster (▲); toxina bruta (▼), control; y toxina purificada (◆), control. Las toxinas de las cepas respectivas se añadieron a las células con valores de $4xEC_{50}$.

Como se muestra en las Figuras 23A-K, los hámsteres que recibieron el inmunógeno descripto desarrollaron de modo sorprendente anticuerpos neutralizantes que exhibieron actividad neutralizante contra las toxinas de al menos las siguientes 16 cepas de CDC diferentes de *C. difficile*, en comparación con el respectivo control de solo toxina: 2007886 (Figura 23A); 2006017 (Figura 23B); 2007070 (Figura 23C); 2007302 (Figura 23D); 2007838 (Figura 23E); 2007886 (Figura 23F); 2009292 (Figura 23G); 2004013 (Figura 23H); 2009141 (Figura 23I); 2005022 (Figura 23J); 2006376 (Figura 23K). Ver también la Tabla 35 para las cepas adicionales de C. difficile de las cuales se analizaron las toxinas y se neutralizaron con la composición inmunogénica que incluye un principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante, formulada en fosfato de aluminio.

En otro estudio, los sobrenadantes del cultivo que contienen toxinas secretadas de las diversas cepas de C. difficile (obtenidas de los CDC y de Leeds Hospital, UK) se analizaron en el ensayo de neutralización in vitro usando sueros de los hámsteres que fueron tratados con principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la

toxina B mutante, formulados con Alhydrogel. Ver Tabla 36 para el diseño experimental. Los resultados se muestran en la Tabla 37 y Tabla 38.

Tabla 36: Diseño experimental	
Control de ensayo	En el ensayo usando células HT-29: Anti-suero de conejo (Anti-Toxina A policlonal Fitzgerald Industries, #70-CR65) y Toxina A de referencia (toxina tipo salvaje A de la Lista de productos biológicos) En el ensayo usando células IMR-90: Anti-suero de conejo (Anti-Toxina B policlonal Meridian Life Science, #B01246R) y Toxina B de referencia (toxina B tipo salvaje de la Lista de productos biológicos)
Controles de muestra	En el ensayo usando células HT-29: suero HS + toxina A de referencia En el ensayo usando células IMR-90: suero HS + Toxina B de referencia
	suero HS+ toxina wt 630
	suero HS+ Medio de cultivo de IMR-90 o Línea celular HT-29
	suero HS+ sobrenadante de cultivo de VPI11186
Muestra de ensayo	HS + sobrenadante de cultivo de *C. difficile*
Fuente de antisuero de hámster (HS)	Animales administrados con principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante formulados con Alhydrogel

Tabla 37: Anticuerpos inducidos por la composición inmunogénica neutralizaron la toxina A y toxina B de varias cepas de C. difficile tipo salvaje de los CDC, que incluye las cepas hipervirulentas

Cepa Cdiff	**Tipo PFGE**	**Ribotipo**	**Toxinotipo**	**Otro método de tipificación**	**Neutralizado por HS (IMR-90,** Toxina **B)**	**Neutralizado por HS (HT-29,** Toxina **A)**
2004111	NAP2	1	0	La secuencia de la toxina respectiva tiene 100% de homología con la toxina de la Cepa 630	Si	Si
2009141	NAP2		0		Si	Si
2006017	NAP12	15	0		Si	Si
2007302	NAP11	Unk2	0		Si	Si
2009087	NAP11	106	0		Si	Si
2005022	NAP3	53	0		Si	Si
2005283	NAP5	Unk3	0		Si	Si
2009078	NAP5	53	0		Si	Si
2004206	NAP4	154	0		Si	Si
2008222	NAP4	77	0		Si	Si
2004205	NAP6	2	0		Si	Si
2007070	NAP10	70	0		Si	Si
2006376	NAP9	17	VIII	txnA-/txnB+	Si	N/A
2007816	Relacionada con NAP7	78	V	Aumento de prevalencia de US y Europa	Si	Si
2007838	NAP7	126			Si	Si
2005088	NAP7	78			Si	Si
2005325	NAP7	78			Si	Si
2007217	NAP8	126			Si	Si
2004013	NAP1	27	III	NAP1/027/III hipervirulenta	Si	Si
2004118	NAP1	27			Si	Si
2009292	NAP1				Si	Si
2005359	Relacionada con NAP1				Si	Si

2007858	NAP1	Unk5	IX/XXIII	Otros	Si	Si
2007886	NAP1		IX/XXIII		Si	Si

Tabla 38: Anticuerpos inducidos por la composición inmunogénica neutralizaron la toxina A y toxina B de varias cepas de C. difficile tipo salvaje de Europa, que incluye las cepas hipervirulentas

Cepa Cdiff	PFGE Tipo	Otro método de tipificación	Tipo de toxina	Neutralizado por HS (IMR-90, Toxina B)	Neutralizado por HS (HT-29, Toxina A)
001	NAP2	Cepas de Toxinotipo 0	0	Si	Si
002	NAP6			Si	Si
012 (004)	NAPCR1			Si	Si
014	UK			Si	Si
015	NAP12			Si	Si
020	NAP4			Si	Si
029	UK			Si	Si
046	UK			Si	Si
053	NAP5			Si	Si
059	UK			Si	Si
077	UK			Si	Si
078	UK			Si	Si
081	UK			Si	Si
087	UK			Si	Si
095	UK			Si	Si
106	UK			Si	Si
117	UK			Si	Si
017	NAP9	txnA-/txnB+	VIII	Si	NA
027	NAP1	Hipervirulenta	III	Si	Si
075	UK			Si	Si
003	NAP10	Otros	I	Si	Si
023	UK		IV	Si	Si
070	UK		XIII	Si	Si
126	UK		UK	Si	Si
131	UK		UK	En progreso	Si

Cepas de C. difficile tipo salvaje obtenido de Leeds Hospital, UK.
"UK" = estado desconocido
NA, no aplicable; cepa no produce la toxina A; no se analizo en el ensayo de neutralización de la Toxina A

Ejemplo 38: Mapeo de péptidos de toxinas triple mutantes EDC/NHS

Para caracterizar las toxinas triple mutantes inactivadas por EDC/NHS, se realizaron experimentos de mapeo de péptidos en cuatro lotes de toxina A triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 4) y cuatro lotes de triple mutante B tratada por EDC/NHS (SEQ ID NO: 6). Después de digerir las toxinas mutantes con tripsina, los fragmentos de péptidos resultantes se separaron usando HPLC de fase inversa. Se usó el análisis espectral de masa se usó para identificar modificaciones que se producen como resultado del proceso de inactivación. Para el principio activo de la toxina A mutante y el principio activo de la toxina B mutante, se identificó más de

95% de los péptidos trípticos teóricos. Se identificaron entrecruzamientos y aductos de glicina (se usó glicina como el agente de terminación). Para el principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante, también se observaron aductos de beta-alanina. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, los aductos de beta-alanina parecen provenir de la reacción de tres moles de NHS con un mol de EDC que forma beta-alanina activada por NHS. Esta molécula luego puede reaccionar con los grupos lisina para formar aductos de beta-alanina (+70 Da). En las muestras de toxina B triple mutante tratada con EDC/NHS, también se observaron niveles bajos (0,07 moles/mol de proteína) de deshidroalanina (-34 Da). La deshidroalanina es un resultado de la desulfonación de un residuo de cisteína. Se observó el mismo tipo y grado de modificación en los cuatro lotes de cada toxina mutante, lo que indica que el proceso produce un producto compatible. El mapeo peptídico (a más de 95% de cobertura de secuencia) confirma que las modificaciones están presentes. Una síntesis de las modificaciones se muestra en la Tabla 39**.** Ver también Figuras 24-25. Además, el tamaño y la heterogeneidad de carga del principio activo de la toxina A triple mutante y del principio activo de la toxina B triple mutante aumentaron, en comparación con el tamaño y heterogeneidad de carga de la respectiva toxina A triple mutante y toxina B triple mutante en ausencia de inactivación química. Como resultado, los perfiles de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) y cromatografía de intercambio aniónico (AEX) presentaron picos relativamente anchos (datos no mostrados).

Tabla 39. Síntesis de modificaciones observadas en los principios activos de la toxina mutante

Modificación	# de residuos modificados	Total # de Residuos	Grado de Modificación	Moles modificados/ mol proteína
Principio activo de la toxina A mutante				
Entrecruzamiento	2	313 Asp/Glu	16-40%	0,6
Resto de glicina	8	313 Asp/Glu	10-53%	2,2
Residuo de beta alanina	19	233 Lys	10-60%	4,7
Principio activo de la toxina B mutante				
Entrecruzamiento	3	390 Asp/Glu	11-63%	0,8
Resto de glicina	23	390 Asp/Glu	10-31%	3,9
Residuo de beta alanina	10	156 Lys	12-42%	2,6

Dehidroalanina	2	8 Cys	1,0-3,5%	,07

El grado de modificación se calcula por la división del área de HPLC del péptido modificado por el área de HPLC del péptido nativo+ modificado.

Ejemplo 39: Producción del producto farmacológico

La composición inmunogénica de *C. difficile* (producto farmacológico) contiene dos ingredientes farmacéuticos activos (principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante). Un ejemplo de producto farmacológico es una formulación liofilizado que contiene 10 mM de buffer tris pH 7,4, 4,5% (p/p) de dihidrato de trehalosa, y 0,01% (p/v) de polisorbato 80, que incluye cada principio activo de la toxina A mutante y un principio activo de la toxina B mutante. Ver Tabla 40. La composición inmunogénica se prepara para la inyección por la resuspensión de la vacuna liofilizada con diluyente o con diluyente que contiene Alhydrogel. El placebo incluirá una solución salina normal estéril para la inyección (0,9% de cloruro de sodio).

Tabla 40

Componente	**Seleccionado**
Forma de dosis de la formulación	Liofilizado
Dosis de antígeno por 0,5 ml	25, 50, 100 µg de cada toxina A triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 4) y Toxina B triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 6)
pH	7,4 ± 0,5
Buffer	10 mM Tris
Agente estabilizante/aglomerante	4,5% de dihidrato de trehalosa (3 – 6%)
Tensioactivo	0,01% de Polisorbato 80 (0,005 – 0,015%)
Cierres de recipiente	2 ml 13 mm vial de vidrio flint Tipo 1, Blowback, West - Flurotec

Preparación del buffer

Se añade agua para inyección (WFI) a un recipiente de formación de compuestos. Mientras se mezcla, los excipientes se añaden y se disuelven hasta la solución. Se mide el pH. Si se requiere, el pH se ajusta a 7,4 ± 0,1 con HCl. La solución se diluye al peso final con WFI, luego se filtra usando un filtro Millipore Express SHC XL150 de 0,22 µm. Se toma una muestra de reducción de biocarga de pre-filtración antes de la filtración. El buffer filtrado se muestrea para osmolalidad y pH.

Preparación de la formulación

Los principios activos de la toxina mutante descongelada se mezclan en el

recipiente de formulación sobre la base de las cantidades precalculadas en el siguiente orden de operación: 50% del volumen de buffer de dilución blanco para obtener 0,6 mg/ml se añade al primer recipiente, seguido por la adición del principio activo de la toxina A mutante y se mezcla durante 5 minutos a 100 rpm. El principio activo de la toxina B mutante luego se añade al recipiente y la solución también se diluye en el punto de dilución de 0,6 mg/ml y luego se mezcla durante otros 5 minutos a 100 rpm. Se extrae una muestra y se analiza para determinar la concentración de la toxina mutante total. La solución se diluye a 100 por ciento del volumen sobre la base de la concentración de la toxina mutante en proceso luego se mezcla durante 15 minutos a 100 rpm. El producto farmacológico formulado se muestrea para pH y pre-filtración de la biocarga. El producto farmacológico formulado luego se filtra usando un Millipore Express SHC XL150 para el almacenamiento durante la noche, o se lleva a la línea de cargado para la filtración estéril.

La masa formulada se lleva al área de cargado, se muestrea para biocarga y luego se filtra en forma estéril con dos filtros Millipore Express SHC XL150 en serie. La masa formulada se carga en viales de vidrio despirogenados a un volumen de carga blanco de 0,73 ml. Los viales cargados se tapan parcialmente y luego se cargan en el secador por congelación. El ciclo de liofilización se ejecuta como se muestra en la Tabla 41. A la finalización del ciclo, la cámara de liofilización se rellena con nitrógeno a 0,8 atm y luego las tapas se apoyan completamente. La cámara se descarga y los viales se tapa usando sellos flip-off.

Tabla 41. Puntos de ajuste del ciclo de liofilización del producto farmacológico de *C. difficile*

Etapa	Temperatura (ºC)	Aumento (minutes)	Remojo (minutos)	Presión
Carga	5ºC	N/A	60	-
Congelación 1	-50ºC	183	60	-
Apareamiento	-10ºC	133	180	
Congelación 2	-45ºC	117	90	
Inicio de vacío	-45ºC	-	60	50
Secado primario	-30ºC	75	3420	50
Secado secundario	30ºC	300	600	50
Almacenamiento	5ºC	50	-	50

Los datos de estabilidad del producto farmacológico se sintetizan en la Tabla 42. Los datos sugieren que el producto farmacológico es física y químicamente estable durante el almacenamiento a 2-8ºC durante al menos 3 meses o al menos 1 mes a 25º o 40ºC. En ambas condiciones de almacenamiento, el nivel de impurezas detectadas por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) no cambió, ni hubo cambios en la

antigenicidad *in vitro* a través de los últimos puntos de tiempo analizados.

Tabla 42: **Estabilidad del producto farmacológico liofilizado [a]**

	Formulación del producto farmacológico 200 µg/ml de principio activo de la toxina A mutante, 200 µg/ml de principio activo de la toxina B mutante, 4,5% de Dihidrato de trehalosa, 0,01% de Polisorbato 80, 10 mM de buffer tris pH 7,4			
Ensayo	**t=0**	**1 Mes@25ºC**	**1 Mes@40ºC**	**3 meses @2-8 ºC**
Aspecto antes de la reconstitución.	Torta blanca esencialmente libre de materia particulada extraña visible	Torta blanca esencialmente libre de materia particulada extraña visible	Torta blanca esencialmente libre de materia particulada extraña visible	Torta blanca esencialmente libre de materia particulada extraña visible
Aspecto después de la reconstitución.	Solución incolora transparente	Solución incolora transparente	Solución incolora transparente	Solución incolora transparente
pH	7,5	7,6	7,6	7,5
Concentración por AEX (µg/ml)	• principio activo de la toxina A mutante 212 • principio activo de la toxina B mutante 235	• Principio activo de la toxina A mutante 193 • principio activo de la toxina B mutante 223	• Principio activo de la toxina A mutante 191 • Principio activo de la toxina B mutante 222	• Principio activo de la toxina A mutante 193 • principio activo de la toxina B mutante 230
Impureza por SEC	< 2,5%	2,8%	2,8%	2,9%
Caracterizado por SEC	HMMS: 29,6% Monómero: 68,0%	HMMS: 30,2% Monómero: 67,1%	HMMS: 30,2% Monómero: 67,1%	HMMS: 28,5% Monómero: 68,7%
Humedad	0,5	NA	NA	NA

a DP liofilizada está reconstituida con 60 mM de diluyente de NaCl para estas pruebas.

Ejemplo 40: Diluyentes de la vacuna

Para la solución salina, se usa NaCl 60 mM como un diluyente para el producto farmacológico liofilizado sin ningún adyuvante para asegurar una solución isotónica después de la reconstitución.

Alhydrogel: Alhydrogel “85” 2% (Brenntag) es un producto de grado Buenas Prácticas de Fabricación (GMP) disponible en el comercio compuesto de hojas cristalinas octahédricas de hidróxido de aluminio. Un ejemplo de formulación de diluyente Alhydrogel se muestra en la Tabla 43. El ejemplo de formulación se puede

usar en combinación con el producto farmacológico descripto anteriormente.

Tabla 43. Fundamento de la formulación para el diluyente Alhydrogel	
Componente	**Seleccionado**
Forma de dosis de la formulación	Suspensión líquida
Dosis de adyuvante por 0,5 ml	0,5 mg Al
pH	6,5 ± 0,5
Buffer	His 10 mM
Sal	NaCl 60 mM de
Cierres del envase	2 ml 13 mm vial de vidrio flint Tipo 1, Blowback, West - Flurotec

Los estudios con el adyuvante Alhydrogel muestran 100% de unión del principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante a 1 mg de Al/ml Alhydrogel de pH 6,0 a 7,5. Se observó la unión máxima de ambos principios activos en la concentración de proteína más alta analizada (300 µg/ml de cada uno).

La unión de las proteínas al Alhydrogel también se analizó con la formulación del producto farmacológico liofilizado que contiene 200 µg/ml de cada principio activo y Alhydrogel que varía de 0,25 a 1,5 mg/ml. El producto farmacológico se reconstituyó con diluyentes que contienen las concentraciones variadas de Alhydrogel y se midió el por ciento de cada toxina B mutante unida. Todas las concentraciones analizadas de Alhydrogel demostraron 100% de unión de los antígenos.

También se evalúo la cinética de unión de las proteínas al Alhydrogel en la dosis blanco de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (200 µg/ml cada una). Los resultados muestran que el 100% de los principios activos de la toxina mutante se unieron a Alhydrogel en todo el período de tiempo RT de 24 horas.

CpG 24555 y Alhydrogel: CpG 24555 es un oligodesoxinucelótido (ODN) 21-mer sintético que tiene una secuencia 5-TCG TCG TTTTTC GGT GCT TTT-3 (SEQ ID NO: 48). Un ejemplo de formulación para una combinación de CpG 24555 y diluyentes de Alhydrogel se muestra en la Tabla 44. El ejemplo de formulación se puede usar en combinación con el producto farmacológico descripto anteriormente.

Tabla 44: Fundamento de la formulación para el diluyente CpG/Alhidrogel	
Componente	**Seleccionado**
Forma de dosis de la formulación	Suspensión líquida
Dosis de adyuvante por 0,5 ml	0,5 mg Al y 1mg cpG
pH	6,5 ± 0,5
Buffer	His 10 mM
Sal	NaCl 60 mM de
Cierres del envase	2 ml 13 mm vial de vidrio flint Tipo 1, Blowback, West - Flurotec

ISCOMATRIX®: El adyuvante ISCOMATRIX® es un adyuvante basado en saponina conocido en la técnica. Un ejemplo de formulación para la formulación de adyuvante ISCOMATRIX® se muestra en la Tabla 45. El ejemplo de formulación se puede usar en combinación con el producto farmacológico descripto anteriormente.

Tabla 45: Fundamento de la formulación para el diluyente ISCOMATRIX®	
Componente	**Seleccionado**
Forma de dosis de la formulación	Suspensión líquida
Dosis de adyuvante por 0,5 ml	45 unidades
pH	6,2 ± 0,5
Buffer	His 10 mM
Sal	NaCl 60 mM de
Cierres del envase	2 ml 13 mm vial de vidrio flint Tipo 1, Blowback, West - Flurotec

Ejemplo 41: Inmunogenicidad de las composiciones de principio activo de la toxina mutante con adyuvante de Alhydrogel en el modelo NHP y Prueba de concepto preclínica

Se evaluó la inmunogenicidad de las composiciones de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante con adyuvante de Alhydrogel en NHP, específicamente cynomolgus macaques. Los NHP inmunizados en intervalos de dos semanas (semanas 0, 2, 4) con 10 µg de cada composición de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (formulada con Alhydrogel) por dosis, desarrollaron respuesta antitoxina neutralizantes robustas. Ver Tabla 46. Las respuestas neutralizantes antitoxina A y antitoxina B alcanzaron un rango protector después de la tercera inmunización y permanecieron dentro o por encima del rango protector al menos hasta la semana 33 (último punto de tiempo estudiado).

Los Cynomolgus macaques (n=8) se inmunizaron IM en 0, 2 y 4 semanas con 10 µg cada uno de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante formulados en 250 µg de Alhydrogel. Los sueros se recolectaron en cada punto de tiempo y se analizaron en el ensayo de neutralización de la toxina para determinar la actividad antitoxina funcional. Las GMT se proporcionan en la Tabla 46. El rango de título protector provisto en la tabla ilustra el rango de título de anticuerpo neutralizante que se correlaciona con la reducción significativa de la recurrencia de la infección con C. difficile en el ensayo de terapia de anticuerpo monoclonal Merck.

Tabla 46: Inmunogenicidad del principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (formulados en 250 µg de Alhydrogel) en monos Cynomolgus (50% de título neutralizate)

Antitoxina A (rango protector Merck/Medarex: 666- 6,667 para la antitoxina A)

Semana:	**Semana 0**	**Semana 1**	**Semana 2**	**Semana 3**	**Semana 4**	**Semana 5**	**Semana 6**	**Semana 8**	**Semana 12**	**Semana 25**	**Semana 29**	**Semana 33**
Título:	15	19	129	382	336	2469	3069	2171	1599	1520	1545	2178
Antitoxina B (Rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B)												
Título:	10	10	10	10	20	311	410	446	676	1631	2970	3510

Correlación de títulos de anticuerpo protector humano del ensayo de terapia de mAb de Merck con los títulos inducidos por la vacuna candidata de Pfizer en NHP

El estudio de eficacia de Fase 2 con mAb Merck/Medarex (Lowy et al., *N Engl J Med.* 2010 Jan 21;362(3):197-205) pareció demostrar una correlación entre el nivel de mAb antitoxina neutralizantes en el suero y la prevención de la recurrencia de CDAD. Después de la administración de los mAb específicos de toxina a los seres humanos, los niveles de anticuerpo séricos en los receptores humanos en el rango de 10 a 100 µg/ml parecen proteger contra las recurrencias (70% de reducción en la recurrencia de CDAD).

Las composiciones inmunogénicas que incluyen los principios activos de la toxina mutante se analizaron para medir si las composiciones inmunogénicas son capaces de inducir respuestas de anticuerpo neutralizante potencialmente eficaces en los seres humanos por la comparación de los datos publicados del estudio de Fase 2 Merck/Medarex con los niveles de anticuerpo inducidos por las composiciones inmunogénicas en el modelo NHP. Esto se obtuvo por la utilización de las características previamente publicadas de los mAb Merck/Medarex para convertir el rango de estos mAb en el suero obtenidos de sujetos que no exhibieron signo de recurrencias (10-100 µg/ml) en títulos de 50% de neutralización y comparar estos títulos (“rango de título protector”) en los títulos observados en los modelos preclínicos que se describen en la presente. Como se muestra en la Tabla 46, las composiciones inmunogénicas que incluyen el principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante con adyuvante de Alhydrogel generaron respuestas inmunes en NHP que alcanzaron el “rango protector” después de la tercera dosis y han permanecido dentro o por encima de este rango hasta la semana 33. El nivel de anticuerpos neutralizantes de la toxina inducidos en los NHP por la composición inmunogénica de *C. difficile* de la invención es comparable con los niveles de

anticuerpo sérico en los sujetos del ensayo Merck/Medarex que parecieron estar protegidos de las recurrencias de CDAD.

Ejemplo 42: Inmunogenicidad de las composiciones del, principio activo de la toxina mutante con adyuvante ISCOMATRIX o Alhydrogel/CpG 24555 (Alh/CpG) en el modelo NHP

En los NHP, ISCOMATRIX y Alh/CpG aumentaron en forma estadísticamente significativa los títulos de neutralización de toxina A y B cuando se compararon con la vacuna administrada con Alhydrogel solo (Tabla 47). Las respuestas de antitoxina por encima del umbral se indujeron en puntos de tiempos más tempranos por la vacuna administrada con Alh/CpG o ISCOMATRIX (semana 2-4) en comparación con Alhydrogel solo (semana 4-6), que puede tener un efecto importante en la protección de la recurrencia de CDAD en los seres humanos. En comparación con Alhydrogel, la composición inmunogénica con adyuvante Alh/CpG o con ISCOMATRIX generaron títulos de neutralización antitoxina que alcanzaron el rango protector (ver también Ejemplo 41) más rápidamente y que han permanecido dentro o por encima de este rango hasta la semana 33.

Como se muestra en las Tabla 47, los Cynomolgus macaques se inmunizaron IM en las semanas 0, 2, y 4 con 10 µg de cada principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante formulados en 250 µg de Alhydrogel (n=8), o 500 µg de CpG + 250 µg de Alhydrogel (n=10), o 45 U de ISCOMATRIX (n=10). Los sueros se recolectaron en cada punto de tiempo y se analizaron en el ensayo de neutralización de la toxina descripto anteriormente para actividad antitoxina funcional. Las GMT se listan en las tablas. Los asteriscos (*) indican significancia estadística ($p<0,05$) cuando se compararon con los títulos del grupo Alhydrogel. El rango de título protector representa el rango de título de anticuerpo neutralizante que correlaciona con la reducción significativa de la recurrencia de la infección con C. difficile de acuerdo con el ensayo de terapia mAb Merck/Medarex.

Tabla 47: Inmunogenicidad de principios activos de la toxina mutante con adyuvante en los NHP (50% de Título de neutralización)

Antitoxina A (Indican significancia estadística: 666- 6,667 para antitoxina A)

Semana:	**Semana 0**	**Semana 2**	**Semana 4**	**Semana 6**	**Semana 12**	**Semana 25**	**Semana 33**
Título de Alhydrogel	15	129	336	3069	1599	1520	2178
Título de Alhydrogel + CpG:	17	*1004	*2162	*15989	*7179	*5049	*7023

Título de ISCOMATRIX:	25	*1283	*3835	*19511	*12904	*6992	*7971
Antitoxina B (rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B)							
Título de Alhydrogel	10	10	20	410	676	1631	3510
Título de Alhydrogel + CpG:	10	13	*136	*2163	*5076	*9057	*27971
Título de ISCOMATRIX:	10	10	*269	*5325	*9161	*19479	*25119

También se evaluó la dosis de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante administrada, en presencia de adyuvantes ISCOMATRIX o Alh/CpG, sobre los títulos de anticuerpo neutralizante antitoxina generados en los NHP. En un estudio, los NHP se trataron con una dosis baja (10µg) o alta (100 µg) de cada principio activo de la toxina mutante formulado en ISCOMATRIX. Las respuestas se compararon en cada punto de tiempo después de la inmunización. Como se muestra en las Tabla 48, los títulos neutralizantes antitoxina fueron robustos en ambos grupos de tratamiento. Los títulos de antitoxina fueron casi equivalentes en la mayoría de los punto de tiempo entre los grupos de dosis baja y dosis alta, a la vez que hubo una tendencia para los títulos de antitoxina B a ser más altos en el grupo de dosis alta.

Tabla 48: Títulos neutralizantes antitoxina en NHP después de la inmunización con 10 µg o 100 µg de cada principio activo de la toxina mutante y principio activo de la toxina mutante administrados con ISCOMATRIX (50% de título de neutralización)

Antitoxina A (rango protector Merck/Medarex: 666- 6,667 para la antitoxina A)

Semana	**Semana 0**	**Semana 2**	**Semana 3**	**Semana 4**	**Semana 6**	**Semana 8**	**Semana 12**
Título 10 µg:	11	585	3522	4519	19280	10225	12084
Título 100 µg:	11	400	1212	2512	9944	10283	18337
Antitoxina B (rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B)							
Título 10 µg:	10	10	112	266	3710	2666	7060
Título 100 µg:	10	10	303	469	6016	4743	20683

Como se muestra en la Tabla 48, los Cynomolgus macaques (n=5) se inmunizaron IM en las semanas 0, 2, y 4 con 10 µg o 100 µg de cada principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante formulados con 45 U de ISCOMATRIX. Los sueros se recolectaron en cada punto de tiempo y se analizaron en el ensayo de neutralización de la toxina para actividad antitoxina funcional. Las GMT se listan en la tabla. El rango de título protector representa el rango de título de

anticuerpo neutralizante que se correlaciona con la reducción significativa de la recurrencia de la infección con C. difficile en el ensayo de terapia mAb Merck/Medarex.

En un esfuerzo para mejorar la cinética de las respuestas de antitoxina B, los NHP se inmunizaron con una dosis constante de principio activo de la toxina A mutante (10 µg) que se mezcló con una dosis creciente de principio activo de la toxina B mutante (10, 50, o 100 µg) en presencia de adyuvantes ISCOMATRIX o Alh/CpG. Independientemente del adyuvante, hubo una tendencia para los grupos que recibieron dosis más altas del principio activo de la toxina B mutante (50 o 100 µg) para inducir respuestas neutralizantes antitoxina B más altas en comparación con la dosis de 10 del principio activo de toxina B mutante (Tabla 50, marcada por * para indicar aumentos estadísticamente significativos). Esta tendencia se observó en la mayoría de los puntos de tiempo después de la inmunización final. Sin embargo, en algunos casos, las respuestas neutralizantes antitoxina A mostraron una disminución estadísticamente significativa (marcado con ^ en la Tabla 49) cuando aumentó la cantidad de toxina B mutante.

Como se muestra en la Tabla 49 y Tabla 50, los NHP (10 por grupo) se inmunizaron IM en las semanas 0, 2, y 4 con diferentes relaciones de principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (10µg de principio activo de la toxina A mutante más 10, 50, o 100 µg de principio activo de la toxina B mutante; denominado 10A:10B, 10A:50B y 10A:100B, respectivamente, en la Tabla 49 y Tabla 50), formulados con ISCOMATRIX (45 U por dosis) o con Alh/CpG/ (250 µg / 500 µg por dosis). La Tabla 49 muestra títulos de antitoxina. La Tabla 50 muestra títulos de antitoxina B. Las GMT se listan en las tablas. El rango de título protector representa el rango de título de anticuerpo neutralizante que se correlaciona con la reducción significativa de la recurrencia de infección con C. difficile en el ensayo de terapia mAb de Merck. El símbolo **^**, representas disminución estadísticamente significativa de los títulos neutralizantes ($p<0,05$) en comparación con el grupo 10A: 10B. El símbolo asterisco, *****, representa aumento estadísticamente significativo de los títulos neutralizantes ($p<0,05$) en comparación con el grupo 10A: 10B.

Tabla 49: Títulos neutralizantes antitoxina en los NHP después de la inmunización con 10 µg de principio activo de la toxina A mutante combinados con 10, 50, o 100 µg de principio activo de la toxina B mutante usando ISCOMATRIX o Alh/CpG como adyuvantes (50% de título de neutralización)

Antitoxina A (rango protector Merck/Medarex: 666- 6,667 para la antitoxina A)
ISCOMATRIX

Semana:	**Semana 0**	**Semana 2**	**Semana 4**	**Semana 6**	**Semana 12**	**Semana 25**	**Semana 33**
Título 10A:10B:	25	1283	3835	19511	12904	6992	7971
Título 10A:50B:	29	906	2917	16126	^7756	^4208	5965
Título 10A:100B:	20	982	2310	^5034	^5469	^4007	3780
Antitoxina A (rango protector Merck/Medarex: 666- 6,667 para la antitoxina A) **Alh/CpG**							
Título 10A:10B:	17	1004	2162	15989	7179	5049	7023
Título 10A:50B:	20	460	1728	16600	6693	6173	8074
Título 10A:100B:	27	^415	1595	13601	6465	5039	6153

Tabla 50: Títulos neutralizantes antitoxina en NHP después de la inmunización con 10 µg de principio activo de la toxina A mutante combinado con 10, 50, o 100 µg de principio activo de la toxina B mutante usando ISCOMATRIX o Alh/CpG como Adyuvantes (50% Título de neutralización)

Antitoxina B (rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B)

Semana:	**Semana 0**	**Semana 2**	**Semana 4**	**Semana 6**	**Semana 12**	**Semana 25**	**Semana 33**
Título ISCOMATRIX:	10	10	269	5325	9161	19479	25119
Título:	13	*20	*604	4861	10801	20186	*57565
Título:	10	*23	*862	*10658	10639	*33725	*56073
Antitoxina B (rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B)							
Título Alh/CpG:	10	13	136	2163	5076	9057	27971
Título:	10	15	*450	*5542	*9843	15112	50316
Título:	11	17	*775	*13533	*11708	*17487	26600

Ejemplo 43: Estudio de Estudio de toxicidad IM de dosis repetida de cinco semanas con una composición inmunogénica en Cynomolgus Monkeys, con un período de recuperación de 4 semanas

El estudio de toxicidad IM de dosis repetida de cinco semanas con PF-06425095 (una composición inmunogénica que incluye principio activo de la toxina A triple mutante y principio activo de la toxina B triple mutante en una combinación con adyuvantes hidróxido de aluminio y CpG 24555) en Cynomolgus monkeys se realizó

para evaluar la potencial toxicidad e inmunogenicidad del principio activo de la toxina A triple mutante y principio activo de la toxina B triple mutante de *C. difficile* en una combinación con los adyuvantes hidróxido de aluminio y CpG 24555 (PF-06425095). PF-06425095 a razón de 0,2 o 0,4 mg/dosis de principio activo de la toxina A triple mutante y principio activo de la toxina B triple mutante (grupos de composición inmunogénica de dosis baja y alta, respectivamente), 0,5 mg de aluminio como hidróxido de aluminio, y 1 mg de CpG 24555 y la combinación de adyuvantes solo (hidróxido de aluminio + CpG 24555; PF-06376915) se administraron IM a monos cynomolgus (6/sexo/grupo) como dosis de activación seguida por 3 dosis de refuerzo (Días 1, 8, 22, y 36). Un grupo separado de animales (6/sexo) recibió 0,9% de solución salina isotónica a un pH aproximado de 7,0. El vehículo de la composición inmunogénica estaba compuesto de 10 mM de buffer tris a pH 7,4, 4,5% de dihidrato de trehalosa, y 0,1% de polisorbato 80. El vehículo de adyuvante control estaba compuesto de 10 mM de buffer de histidina con 60 nM de NaCl a pH 6,5. El volumen de dosis total fue 0,5 ml por inyección. Todas las dosis se administraron en el músculo cuadríceps izquierdo y/o derecho. Los animales seleccionados se sometieron a un período de observación libre de dosis de 4 semanas para evaluar la reversibilidad de algunos efectos observados durante la fase de dosificación del estudio.

No hubo hallazgos adversos en este estudio. PF-06425095 fue bien tolerado y produjo solo reacción inflamatoria local sin evidencia de toxicidad sistémica. Durante la fase de dosificación, se observaron aumentos dependientes de la dosis desde la preprueba en fibrinógeno (23,1% a 2,3x) de los Días 4 y 38 y proteína C-reactiva en los Días 4 (2,1x a 27,5x) y 38 (2,3x a 101,5x), y globulina (11,1% a 24,1%) en el Día 36 y/o 38, en los grupos tratados con composición inmunogénica y fueron compatibles con la respuesta inflamatoria esperada a la administración de una composición inmunogénica con adyuvante.

Los aumentos en el fibrinógeno y proteína C-reactiva en el Día 4 se han recuperado parcialmente en el Día 8 con aumentos en el fibrinógeno (25,6% a 65,5%) y proteína C-reactiva (4,5x y 5,6x) solo en el grupo de composición inmunogénica de dosis alta. Se observaron aumentos de la interleuquina (IL)-6 en los grupos de composición inmunogénica de dosis baja y alta en el Día 1, Hora 3 (valores individuales 8,3x a 127,2x Día 1, Hora 0, receptivo a dosis) y Día 36, Hora 3 (valores individuales 9,4x a 39,5x Día 36, Hora 0). NO hubo cambios observados en las otras citoquinas (IL-10, IL-12, proteína inducible por interferón (IP-10), y factor de necrosis tumoral α (TNF-α). Los aumentos en estas proteínas y citoquinas de fase aguda fueron

parte de la respuesta fisiológica normal esperada a la administración de antígeno extraño. No hubo alteraciones relacionadas con PF 06425095 relacionadas con el adyuvante en estos parámetros de patología clínica en la fase de recuperación (las citoquinas no se evaluaron durante la fase de recuperación). Además, hubo cambios localizados en los sitios de inyección, que fueron de similar incidencia y gravedad en el grupo control de adyuvante y los grupos de composición inmunogénica de dosis baja y alta, en consecuencia, no estuvieron directamente relacionados con la PF-06425095. Durante la fase de dosificación, los cambios incluyeron inflamación activa crónica mínima a moderada que se caracterizó por la separación de fibras musculares por infiltrados de mecrófagos, que a menudo contenían material granular basófilo (interpretado como adyuvante que contiene aluminio), linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos, desechos necróticos, y edema. El material granular basófilo también estaba presente en forma extracelular dentro de estos focos de inflamación activa crónica. Al fin de la fase de recuperación, hubo inflamación mínima a crónica e infiltrado celular mononuclear y fibrosis mínima. Estos hallazgos del sitio de inyección representan una respuesta inflamatoria local para el adyuvante. Otros cambios microscópicos incluyeron celularidad linfoide aumentada mínima a moderada en el ganglio linfático ilíaco (drenaje) y aumento mínimo de celularidad en los centros germinales del bazo que se observaron durante la fase de dosificación en el grupo control de adyuvante y los grupos de composición inmunogénica de dosis baja y alta. Al final de la fase de recuperación, estos hallazgos microscópicos eran de menor gravedad. Estos efectos representan una respuesta inmunológica a la estimulación antigénica, y fueron una respuesta farmacológica al adyuvante o PF-06425095. No hubo un aumento relacionado con el artículo en los anticuerpos anti-ADN.

Sobre la base de la ausencia de hallazgos adversos, el nivel sin efecto adverso observado (NOAEL) en este estudio es el grupos de composición inmunogénica de dosis alta (0,4 mg de principio activo de la toxina A triple mutante y principio activo de la toxina B triple mutante/dosis como PF-06425095) administrado como dos inyecciones de 0,5 ml para las cuatro dosis.

Ejemplo 44: Eficacia de sueros de NHP seropositivos transferidos pasivamente a los hámsteres

A los grupos de 5 hámsteres dorados sirios se administró una dosis oral de antibiótico clindamicina (30 mg/kg) para alterar la flora intestinal normal. Después de cinco días, los hámsteres se expusieron a una dosis oral de esporas de *C. difficile* tipo salvaje (cepa 630, 100 cfu por animal), y se les administró por vía intraperitoneal (IP)

suero de NHP de acuerdo con la Tabla 51. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, los síntomas de enfermedad después de la exposición con las esporas se manifiestan normalmente a partir de aproximadamente 30-48 horas pos-exposición.

Los sueros de NHP que se administraron a los hámsteres se mezclaron con las muestras de suero de NHP que exhiben un título más alto (suero anti-toxina A y suero anti-toxina B) después de tres inmunizaciones con principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (relaciones 10:10, 10:50, y 10:100 A:B), formuladas con ISCOMATRIX (ver Ejemplo 42, Tabla 49, y Tabla 50). Los sueros NHP se recolectaron a partir de los puntos de tiempo de las semanas 5, 6, y 8 (inmunizaciones producidas en las semanas 0, 2, y 4), como se describe en el Ejemplo 42. Los resultados se muestran en las siguientes Tablas 52-54. El símbolo "+" indica una media geométrica (GM) en () que no incluye el animal #3, no respondedor. "*TB" representa sangrado terminal, el día en que el animal se sacrificó, que no es el mismo para todos los animal.

Tabla 51: Diseño experimental

Grupo	**Composición administrada**	**No. de animales**	**Vía**	**Esquema**
1 "1 dosis"	Sueros de NHP seropositivos (no concentrado)	5	IP	Exposición Día 0 Dosis día 0 Sangrado días 0, 1, 2, TB en el día 11
2 "2 dosis"	Sueros de NHP seropositivos (no concentrado)	5	IP	Exposición Día 0 Dosis días 0, 1 Sangrado días 0, 1, 2, TB en el día 11

Tabla 52: Títulos de neutralización de anti-toxina A en sueros de hámster después de 1 o 2 dosis IP de sueros NHP (50% de título de neutralización en RLU)

	Día	Hámster 1	Hámster 2	Hámster 3	Hámster 4	Hámster 5	GM	SE
1 dosis	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	2877	4008	2617	4917	1872	**3081**	538
	D2	1983	3009	2750	2902	1117	**2214**	357
	TB*	3239 (d4)	537 (d9)	155 (d11)	977 (d9)	972 (d2)	**762**	538
2 dosis	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1154	2819	50	429	1174	**606 (1131)+**	475
	D2	4119	4674	1899	545		**2113**	862
	TB*	1236 (d9)	1267 (d8)	1493 (d4)	50 (d11)	1877 (d9)	**738**	306
Ingreso de sueros NHP = 41976								

Tabla 53: Títulos de neutralización de anti-toxina B en sueros de hámster después de 1 o 2 dosis IP de sueros NHP (50% De título de neutralización en RLU)								
	Día	Hámster 1	Hámster 2	Hámster 3	Hámster 4	Hámster 5	GM	SE
1 dosis	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1846	4254	1347	5178	406	**1859**	904
	D2	992	1795	2585	2459	1145	**1669**	327
	TB*	1744 (d4)	50 (d9)	50 (d11)	265 (d9)	544 (d2)	**229**	317
2 dosis	D0	50	50	50	50	50	**50**	0
	D1	1189	2229	50	550	3920	**778 (1546)+**	687
	D2	2288	2706	1452	287		**1268**	477
	TB*	301 (d9)	694 (d8)	682 (d4)	50 (d11)	1334 (d9)	**394**	217
Ingreso de sueros NHP = 23633								

Tabla 54: Porcentaje de hámsteres protegidos de la CDAD severa después de 1 o 2 dosis IP de sueros NHP							
Días pos-infección	0	2	4	6	8	10	11
1 dosis Sueros NHP	100%	80%	60%	60%	60%	20%	20%
2 dosis Sueros NHP	100%	100%	80%	80%	60%	20%	20%
Placebo	100%	75%	50%	25%	0%	n/a	n/a

En otro estudio, los hámsteres dorados sirios se trataron con una dosis oral de antibiótico de clindamicina (30 mg/kg) para alterar la flora intestinal normal. Después de cinco días, los hámsters se expusieron a una dosis oral de esporas de *C. difficile* tipo salvaje (cepa 630, 100 cfu por animal), y se les administró por vía intraperitoneal (IP) suero de NHP de acuerdo con la Tabla 55. Sin estar ligado por mecanismo o teoría, los síntomas de enfermedad después de la exposición con las esporas se manifiestan normalmente a partir de aproximadamente 30-48 horas pos-exposición

Los sueros de NHP que se administraron a los hámsteres se mezclaron con las muestras recolectadas de los NHP después de tres inmunizaciones con principio activo de la toxina A mutante y principio activo de la toxina B mutante (relaciones 10:10, 10:50, y 10:100 A:B), formuladas con Alhydrogel y CpG 24555 (ver Ejemplo 42, Tabla 49, y Tabla 50). Los sueros NHP se recolectaron en los puntos de tiempo de las semanas 5, 6, 8, y 12 como se describe en el Ejemplo 42 (los NHP se inmunizaron en las semanas 0, 2, y 4). Los resultados se muestran en las siguientes Tablas 56-59. Los sueros de los hámsteres se investigaron adicionalmente para determinar el valor de la concentración inhibitoria (IC_{50}), que se determinaron usando el ensayo de neutralización de la toxina descripto anteriormente. El nivel de anticuerpos

neutralizantes de toxina inducido en los hámsteres por la composición inmunogénica de *C. difficile* de la invención es comparable a los niveles de anticuerpo en suero de los sujetos del ensayo Merck/Medarex que parecieron estar protegidos de la recurrencia de CDAD.

Tabla 55: Diseño experimental

Grupo	Composición administrada	No.	Vía	Esquema
1	Sueros de NHP seropositivos	5	IP	Exposición D0 Dosis D0, 1, 3, 5, 7
2	Sueros de NHP seropositivos	5	IP	no exposición Dosis D0, 1, 3, 5, 7,
3	Sueros de NHP seropositivos	10	IP	Exposición D0 Dosis D0, 1, 3, 5, 7
4	Placebo	5	IM	Exposición D0

Tabla 56: Títulos de neutralización de anti-toxina A[a] en sueros de hámster después de 1 o 2 dosis IP de sueros NHP (50% De título de neutralización en RLU)

Día	Expuestos (Grupos 1 y 3)	No expuestos (Grupo 2)	Valor p
0	11	12	0,5933
1	380	720	0,034*
3	666	1220	0,0256*
5	864	1367	0,0391*
7	564	1688	0,0411*
11	263	1281	0,001*

Ingreso de mezcla de sueros NHP = 9680
a, títulos expresados como medias geométricas para cada grupo (n=15 del día 0 para el grupo "expuestos", n=5 para el grupo "no expuestos")
rango protector Merck/Medarex: 666-6,667 para la antitoxina A
El asterisco "*" indica una diferencia significativa

Tabla 57: Títulos de neutralización de anti-toxina B[a] en sueros de hámster después de 1 o 2 dosis IP de sueros NHP (50% de título de neutralización en RLU)

Día	Expuestos (Grupos 1 y 3)	No Expuestos (Grupo 2)	Valor p
0	10	10	0,3343
1	465	828	0,0579
3	765	1400	0,0273*
5	941	1734	0,0226*
7	611	1877	0,0498*
11	194	1436	0,0047*

Ingreso de sueros NHP pool = 19631
a, títulos expresados como medias geométricas para cada grupo (n=15 del día 0 para el grupo "expuestos", n=5 para el grupo "no expuestos")
Rango protector Merck/Medarex: 222- 2,222 para la antitoxina B
El asterisco "*" indica una diferencia significativa.

Tabla 58: Porcentaje de hámsteres protegidos de CDAD severa después de dosis IP de sueros NHP

Días pos-infección	0	2	4	6	8	10	11
Grupos 1 y 3	100%	73%	53%	53%	47%	33%	33%
Placebo (Grupo 2)	100%	50%	0%				

Tabla 59: Valores de IC_{50} de títulos de neutralización de 50% específicos de toxina															
		IC_{50} de Anti Toxina **A**							**IC_{50} de Anti** Toxina **B**						
		Día de Pos-dosis							**Día de Pos-dosis**						
	Animal ID	0	1	3	5	7	11	Animal ID	0	1	3	5	7	11
Expuestos	1-1	10	50	338	muerto D4			1-1	10	50	254	muerto D4		
	1-2	10	614	579	777	605	192	1-2	10	720	659	896	475	157
	1-3	10	710	1035	845	548	Muerto D10	1-3	10	867	1017	988	694	
	1-4	10	850	588	942	1116	296	1-4	10	1158	555	1158	1806	250
	1-5	10	780	895*				1-5	10	910	687*			
	3-1	10	647	Muerto D2				3-1	10	598	Muerto D2			
	3-2	10	331	Muerto D2				3-2	10	290	Muerto D2			
	3-3	10	660	1273	849	692	640	3-3	10	717	1623	870	791	574
	3-4	10	536	493	1102	1314	Muerto D9	3-4	10	618	598	977	1478	Muerto D9
	3-5	10	817	807	774	1077	187	3-5	10	772	1260	850	913	243
	3-6	10	117	649	803	50	186	3-6	10	1038	773	883	50	50
	3-7	10	50	Muerto D2				3-7	10	50	Muerto D2			
	3-8	10	149	659	650*			3-8	10	121	1010	517*		
	3-9	30	797	1170*				3-9	10	1008	1720*			
	3-10	10	792	Muerto D2				3-10	10	835	Muerto D2			
	GeoMean	**11**	**380**	**666**	**864**	**564**	**263**	GeoMean	**10**	**465**	**765**	**941**	**611**	**194**
	Error estándar	**1**	**78**	**86**	**41**	**163**	**88**	Error estándar	**0**	**94**	**125**	**38**	**224**	**88**
No Expuestos	2-1	10	697	1634	1597	2219	1709	2-1	10	890	1777	1910	3229	1355
	2-2	10	779	1207	1322	1755	1327	2-2	10	939	1378	1564	1897	1379
	2-3	10	581	669	722	1401	1118	2-3	10	828	837	865	1484	1404
	2-4	26	856	1540	1875	1830	1826	2-4	10	748	1780	2939	1880	2650
	2-5	10	715	1331	1668	1374	744	2-5	10	752	1475	2064	1364	880
	Media geom	**12**	**720**	**1220**	**1367**	**1688**	**1281**	Media geom	**10**	**828**	**1400**	**1734**	**1877**	**1436**
	Error estándar	**3**	**46**	**169**	**199**	**156**	**197**	Error estándar	**0**	**38**	**173**	**338**	**332**	**296**

*= murió en este día

Ejemplo 45: Caracterización de principios activos de la toxina mutante

La estructura primaria de la toxina A triple mutante se muestra en la SEQ ID NO: 4. El residuo Met NH_2-terminal de la posición 1 de la SEQ ID NO: 4 se origina del codón de iniciación de la SEQ ID NO: 12 y está ausente en la proteína aislada (por ejemplo, ver SEQ ID NO: 84). Por consiguiente, en el Ejemplo 12 a Ejemplo 45, "SEQ ID NO: 4" se refiere a la SEQ ID NO: 4 donde la metionina inicial (de la posición 1) está ausente. La toxina A triple mutante purificada (SEQ ID NO: 4) (Intermediario del principio activo - Lote L44993-132) y toxina A triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 4)("principio activo de la toxina A mutante" - Lote L44898-012) presentaron una secuencia NH_2-terminal única que comienza en SLISKEELIKLAYSI (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 4).

La estructura primaria de la toxina B triple mutante se muestra en la SEQ ID NO: 6. El residuo Met NH_2-terminal de la posición 1 de la SEQ ID NO: 6 se origina del

codón de iniciación de la SEQ ID NO: 12 y está ausente en la proteína aislada (por ejemplo, ver SEQ ID NO: 86). Por consiguiente, en el Ejemplo 12 a Ejemplo 45, "SEQ ID NO: 6" se refiere a la SEQ ID NO: 6 donde la metionina inicial (de la posición 1) está ausente. La toxina B triple mutante purificada (SEQ ID NO: 6) (Intermediario del principio activo - Lote 010) y toxina B triple mutante tratada con EDC/NHS (SEQ ID NO: 6)("principio activo de la toxina B mutante" - Lote L44906-153) presentaron una secuencia NH_2-terminal única que comienza en SLVNRKQLEKMANVR (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 6).

Se usó espectroscopia por dicroísmo circular (CD) para evaluar la estructura secundaria y terciaria del principio activo de la toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4) y toxina A mutante. La espectroscopía CD también se usó para evaluar la estructura secundaria y terciaria del principio activo de la toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) y la toxina B mutante. La espectroscopía CD también se usó para evaluar potenciales efectos del pH sobre la estructura. El efecto del tratamiento EDC sobre la toxina A triple mutante se analizó por la comparación de datos de CD obtenidos para el principio activo de la toxina A mutante con los datos obtenidos para la toxina A triple mutante. Los efectos del tratamiento EDC sobre la toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6) se analizaron por la comparación de datos de CD obtenidos para el principio activo de la toxina B mutante con los datos obtenidos para la toxina B triple mutante.

Los datos de CD del UV lejano del principio activo de la toxina A mutante se obtuvieron a varios pH. Los espectros registrados a pH 5,0-7,0 son indicativos de alta proporción de α-hélices en la estructura secundaria, lo que sugiere que el esqueleto polipeptídico de la proteína adopta una conformación bien definida dominada por las α-hélices.

También se obtuvieron espectros de CD de UV cercano del principio activo de la toxina A mutante. La fuerte elipticidad negativa entre 260 y 300 nm es una indicación de que las cadenas laterales aromáticas están en el ambiente rígido único, es decir el principio activo de la toxina A mutante posee estructura terciaria. En efecto, los rasgos característicos que surgen de tipos individual de cadenas laterales aromáticas se pueden distinguir dentro del espectro: el hombro en ~290 nm y el pico negativo más grande a ~283 nm se deben a la absorbancia de la luz polarizada por las cadenas laterales de triptofano ordenadas, el pico negativo a 276 nm es de las cadenas laterales de tirosina, y los hombros menores a 262 y 268 nm son indicativos de los residuos de fenilalanina que participan en los contactos terciarios. Los resultados del UV lejano y cercano proporcionan evidencia de que el principio activo

de la toxina A mutante retiene la estructura plegada compactamente a pH fisiológico. Se observaron espectros de CD de UV lejano y cercano casi idénticos a pH 5,0 - 7,0, indicando que los cambios estructurales no detectables tienen lugar dentro de este rango de pH. Los datos de CD no se pueden recolectar a pH 3,0 y 4,0, ya que la proteína era insoluble a estos puntos de pH. En la comparación de los espectros de CD de UV lejano y cercano del principio activo de la toxina A mutante con los de la toxina A triple mutante, los espectros de ambas proteínas son esencialmente idénticos en todas las condiciones experimentales estudiadas, lo que indica que el tratamiento EDC no tuvo efectos detectables en la estructura secundaria y terciaria de la toxina A triple mutante. Este hallazgo está de acuerdo con los resultados de filtración en gel y ultracentrifugación analítica, que muestran cambios no detectables en los radios de Stokes y coeficientes de sedimentación/friccionales, respectivamente.

El principio activo de la toxina A mutante (así como de la toxina A triple mutante) contiene 25 residuos de triptofano que se extienden a lo largo de la secuencia primaria y pueden actuar como sondas fluorescentes intrínsecas convenientes. Se obtuvieron espectros de emisión de fluorescencia del principio activo de la toxina A mutante entre 300 y 400 nm en función de la temperatura. A 6,8℃ el principio activo de la toxina A mutante muestra el espectro de emisión de fluorescencia característico del triptofano después de la excitación a 280 nm. Se observa el máximo de emisión de fluorescencia a ~335 nm, lo que indica que los residuos de triptofano están un ambiente no polar, típicos de los interiores de la proteína más que de los ambientes polares acuosos. Los resultados del espectro de emisión de fluorescencia, junto con los resultados de los experimentos CD presentados en este informe, confirman que el principio activo de la toxina A mutante retiene la estructura plegada compacta.

La fluorescencia de la sonda extrínseca de ácido 8-anilino-1-naftalensulfónico (ANS) se usó para caracterizar posibles cambios conformacionales en el principio activo de la toxina A mutante y la toxina A triple mutante después de los cambios en el pH. Como se puede observar a partir de los resultados, no existe esencialmente aumento de la intensidad de fluorescencia ANS cuando el principio activo de la toxina A mutante o toxina A triple mutante se titulan con la sonda a pH 7,0, lo que sugiere que las superficies no hidrofóbicas se exponen a las proteínas en estas condiciones. El cambio de pH a 2,6 lleva a un aumento drástico del rendimiento cuántico de fluorescencia ANS después del aumento de la concentración de la sonda, hasta que el rendimiento cuántico de fluorescencia alcanza la saturación aparente. Este aumento

del rendimiento cuántico de fluorescencia ANS indica que a pH bajo (2,6), el principio activo de la toxina A mutante y toxina A triple mutante experimentan cambio conformacional inducido por pH que expone las superficies hidrofóbicas. Tales cambios conformacionales indican que la modificación e inactivación inducida por EDC de la toxina A triple mutante no restringió la plasticidad de la conformación del principio activo de la toxina A mutante (DS).

El efecto del tratamiento con EDC de las propiedades hidrodinámicas de la toxina A triple mutante se evaluó mediante la cromatografía de exclusión por tamaño en una columna G4000 SWXL. Se inyectaron el principio activo de la toxina A mutante y toxina A triple mutante en la columna G4000 SWXL equilibrada a pH 7,0, 6,0, y 5,0. Los datos indican que no se pueden detectar diferencias en el radio de Store del principio activo de la toxina A mutante y toxina A triple mutante mediante la cromatografía de exclusión por tamaño. En consecuencia, el tratamiento EDC no afectó drásticamente las propiedades hidrodinámicas y en forma correspondiente, la forma molecular global de la toxina A triple mutante.

El análisis adicional del principio activo de la toxina A triple mutante y toxina A mutante se realizó usando la técnica de dispersión de luz láser multiangular (MALLS). El tratamiento de toxina A triple mutante con EDC produjo la generación de una mezcla heterogénea compuesta de varias especies multiméricas y monoméricas. Tal heterogeneidad refleja la introducción de un gran número de enlaces covalentes inter- e intra-moleculares inducidos por EDC entre los carboxilos y aminas primarias de la proteína.

Los datos obtenidos proporcionan características físicas y químicas del principio activo de la toxina A triple mutante y la toxina A mutante (toxina A triple mutante tratada con EDC) y describe los rasgos clave de su estructura primaria, secundaria y terciaria. Los datos generados demuestran que el tratamiento de la toxina A triple mutante con EDC produjo la modificación covalente de su cadena polipeptídica pero no afectó las estructuras secundaria y terciaria de la proteína. El tratamiento con EDC lleva al entrecruzamiento intra- e intermolecular. Los parámetros bioquímicos y biofísicos obtenidos para el principio activo de la toxina A mutante (así como la toxina A triple mutante) se presentan en la Tabla 60.

Tabla 60: Parámetros bioquímicos y biofísicos obtenidos para el principio activo la triple toxina A mutante (SEQ ID NO: 4) y de la toxina A mutante		
Parámetro	**Toxina A triple mutante (SEQ ID NO: 4)**	**Principio activo de la toxina A mutante**
Número de residuos de aminoácidos	2709	2709
Secuencia N-terminal	SLISKEELIKLAYSI (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 4)	SLISKEELIKLAYSI (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 4)
Masa molar (de secuencia AA)	308 kDa	308 kDa
Masa molar (de SEC-MALLS)	299 kDa	300 kDa y 718 -1139 kDa
Coeficiente de extinción a 280 nm	1,292 o 1,275 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$	1,292 o 1,275 275 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$
pI teórico	5,57	ND
Volumen molar específico parcial a 20 ºC	0,735 cm^3/g	0,735 cm^3/g
Volumen anhidro/monómero	$3,8x10^{-19}cm^3$	$3,8x10^{-19}cm^3$
Coeficiente de sedimentación/monómero	9,2S	9,2S
Relación de coeficiente friccional (f/f_0)	1,69	1,69
Radio de Stokes /monómero	78,4±1,1	77,9
Fluorescencia máxima (λex = 280 nm)	334-335 nm	334-335 nm
Espectro CD UV cercano mínimo	284 nm y 278 nm	284 nm y 278 nm
Elipticidad res media a 284 & 278 nm	-138±7 & -130±7	-138±8 & 131±10
Elipticidad res media a 222 nm	-8989±277	-7950±230
Máximo de transiciones de no plegamiento DSC (PBS, pH 7,4)	47,3 ºC y 53,6 ºC	47,9±0,2 ºC y 54,1±0,2 ºC

Los datos de CD del UV lejano del principio activo de la toxina b mutante se obtuvieron a varios pH. Los espectros registrados a pH 5,0-7,0 son indicativos de alta proporción de α-hélices en la estructura secundaria, lo que sugiere que el esqueleto polipeptídico de la proteína adopta una conformación bien definida dominada por las α-hélices.

También se obtuvieron espectros de CD de UV cercano del principio activo de la toxina B mutante. La fuerte elipticidad negativa entre 260 y 300 nm es una indicación de que las cadenas laterales aromáticas están en el ambiente rígido único, es decir el principio activo de la toxina b mutante posee estructura terciaria. En efecto, los rasgos característicos que surgen de tipos individual de cadenas laterales aromáticas se pueden distinguir dentro del espectro: el hombro en ~290 nm y el pico negativo más grande a ~283 nm se deben a la absorbancia de la luz polarizada por las cadenas laterales de triptofano ordenadas, el pico negativo a 276 nm es de las cadenas laterales de tirosina, y los hombros menores a 262 y 268 nm son indicativos de los residuos de fenilalanina que participan en los contactos terciarios. Los

resultados del UV lejano y cercano proporcionan evidencia de que el principio activo de la toxina B mutante retiene la estructura plegada compactamente a pH fisiológico. Se observaron espectros de CD de UV lejano y cercano muy similares a pH 5,0 - 7,0, indicando que los cambios estructurales no detectables tienen lugar dentro de este rango de pH. Los datos de CD no se pueden recolectar a pH 3,0 y 4,0, ya que la proteína era insoluble a estos puntos de pH.

En la comparación de los espectros de CD de UV lejano y cercano del principio activo de la toxina B mutante con los de la toxina A triple mutante, los espectros de ambas proteínas son muy similares entre pH 5,0 y 7,0, lo que indica que el tratamiento EDC no tuvo efectos detectables en la estructura secundaria y terciaria de la proteína.

La toxina B triple mutante contiene 16 residuos de triptofano residuos que se extienden a lo largo de la secuencia primaria y pueden actuar como sondas fluorescentes intrínsecas convenientes. Se obtuvieron espectros de emisión de fluorescencia del principio activo de la toxina B mutante entre 300 y 400 nm en función de la temperatura. A 7℃ el principio activo de la toxina B mutante muestra el espectro de emisión de fluorescencia característico del triptofano después de la excitación a 280 nm. Se observa el máximo de emisión de fluorescencia a ~335 nm, lo que indica que los residuos de triptofano están un ambiente no polar, típicos de los interiores de la proteína más que de los ambientes polares acuosos. Este resultado, junto con los resultados de los experimentos CD (ver más arriba), confirman que el principio activo de la toxina B mutante retiene la estructura plegada compacta.

La fluorescencia de la sonda extrínseca de ácido 8-anilino-1-naftalensulfónico (ANS) se usó para caracterizar posibles cambios conformacionales en el principio activo de la toxina B mutante y la toxina B triple mutante después de los cambios en el pH. Como se puede observar a partir de los resultados, no existe esencialmente aumento de la intensidad de fluorescencia ANS cuando el principio activo de la toxina B mutante o toxina B triple mutante se titulan con la sonda a pH 7,0, lo que sugiere que las superficies no hidrofóbicas se exponen a las proteínas en estas condiciones. El cambio de pH a 2,6 lleva a un aumento drástico del rendimiento cuántico de fluorescencia ANS después del aumento de la concentración de la sonda, en presencia del principio activo de la toxina B mutante hasta que el rendimiento cuántico de fluorescencia alcanza la saturación aparente. Este aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia ANS indica que a pH bajo (2,6), el principio activo de la toxina B mutante experimenta cambio conformacional inducido por pH que expone las superficies hidrofóbicas. Tales cambios conformacionales indican que la modificación

e inactivación inducida por EDC de la toxina A triple mutante no restringió la plasticidad de la conformación del principio activo de la toxina B mutante (DS).

El efecto del tratamiento con EDC de las propiedades hidrodinámicas de la toxina B triple mutante se evaluó mediante la cromatografía de exclusión por tamaño en una columna G4000 SWXL. Se inyectaron el principio activo de la toxina B mutante y toxina B triple mutante en la columna G4000 SWXL equilibrada a pH 7,0, 6,0, y 5,0. Los datos indican que no se pueden detectar diferencias en el radio de Store del principio activo de la toxina B mutante y toxina B triple mutante mediante la cromatografía de exclusión por tamaño. En consecuencia, el tratamiento EDC no afectó drásticamente las propiedades hidrodinámicas y en forma correspondiente, la forma molecular global de la proteína.

El análisis adicional del principio activo de la toxina B triple mutante y toxina B mutante se realizó usando la técnica de dispersión de luz láser multiangular (MALLS). El tratamiento de toxina B triple mutante con EDC produjo la generación de una mezcla heterogénea compuesta de varias especies multiméricas y monoméricas. Tal heterogeneidad refleja la introducción de un gran número de enlaces covalentes inter- e intra-moleculares inducidos por EDC entre los carboxilos y aminas primarias de la proteína.

Los datos obtenidos proporcionan características físicas y químicas del principio activo de la toxina B triple mutante y la toxina B mutante (toxina B triple mutante tratada con EDC) y describe los rasgos clave de su estructura primaria, secundaria y terciaria. Los datos generados demuestran que el tratamiento de la toxina B triple mutante con EDC produjo la modificación covalente de su cadena polipeptídica pero no afectó las estructuras secundaria y terciaria de la proteína. El tratamiento con EDC lleva al entrecruzamiento intra- e intermolecular. Los parámetros bioquímicos y biofísico principales obtenidos para el principio activo de la toxina B mutante (así como la toxina B triple mutante) se presentan en la Tabla 61.

Tabla 61: Parámetros bioquímicos y biofísicos obtenidos para el principio activo la triple toxina B mutante (SEQ ID NO: 6) y de la toxina B mutante		
Parámetro	**Toxina B triple mutante (SEQ ID NO: 6)**	**Principio activo de la toxina B mutante**
Número de residuos de aminoácidos	2365	2365
Secuencia N-terminal	SLVNRKQLEKMANVR (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 6)	SLVNRKQLEKMANVR (posiciones 2-16 de la SEQ ID NO: 6)
Masa molar (de secuencia AA)	269,5 kDa	269,5 kDa
Masa molar (de SEC-MALLS)	255 kDa y ~1,754 kDa	264, 268, 706, y 2,211 kDa
Coeficiente de extinción a 280 nm	1,067 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$	1,067 $(mg/ml)^{-1}cm^{-1}$
pI teórico	4,29	ND
Volumen molar específico parcial a 20 ºC	0,734 cm^3/g	0,734 cm^3/g
Volumen anhidro/monómero	$3,3x10^{-19}cm^3$	$3,3x10^{-19}cm^3$
Coeficiente de sedimentación/monómero	9,1±0,2S	9,4S
Coeficiente de sedimentación/monómero	1,58±0,03	1,53
Relación de coeficiente friccional (f/f_0)	76,2	76,2
Fluorescencia máxima (λex = 280 nm)	335 nm	335 nm
Espectro CD UV cercano mínimo	290, 283, 276, 268, 262 nm	290, 283, 276, 268, 262 nm
Bandas negativas CD UV lejano	208 y 222 nm	208 y 222 nm
Puntos medios de transición de no plegamiento DSC T_{m1} y T_{m2} (PBS, pH 7,0)	48,8±0,0 ºC y 52,0±0,1 ºC	48,2±0,3 ºC y 54,3±0,2 ºC

Aspectos de la invención

Las siguientes cláusulas, enumeradas entre paréntesis describen formas de realización adicionales de la invención:

C1. Un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptido incluye al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

C2. Un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptido incluye una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

C3. El polipéptido aislado de acuerdo con la cláusula C1 o C2, donde al menos una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o al menos una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido está modificada químicamente por glicina.

C4. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C1-C3, donde el polipéptido incluye:

a) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; y

b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido.

C5. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C1-C4, donde el polipéptido incluye un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido.

C6. El polipéptido aislado de acuerdo con la cláusula C4, donde el polipéptido incluye un resto de glicina ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido.

C7. Un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.

C8. Un polipéptido aislado que incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.

C9. El polipéptido aislado de acuerdo con la cláusula C7 o C8, donde una cadena lateral de un segundo residuo de lisina del polipéptido está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

C10. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C7-C9, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido están ligadas a un resto de glicina.

C11. El polipéptido aislado en cualquiera de las cláusulas C1-C10, donde el polipéptido tiene una EC50 de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

C12. Una composición inmunogénica que incluye un polipéptido aislado que tiene la

secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde los polipéptidos tienen al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

C13. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula C12, donde el polipéptido incluye al menos una de algunas de:

a) al menos un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido;

b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico; y

c) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

C14. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula C12, donde el polipéptidos tiene una EC50 de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

C15. Una composición inmunogénica que incluye un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y

a) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a un resto de beta-alanina, y

b) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a un resto de beta-alanina.

C16. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula C15, donde una cadena lateral de un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico, y donde un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

C17. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C12-C16, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de

aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

C18. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C12-C16, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

C19. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C12-C18, donde el polipéptido tiene una EC50 de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

C20. Una composición inmunogénica que incluye un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84 y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86, donde cada polipéptido incluye

a) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido;

b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido;

c) un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido; y

d) un resto de glicina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido glutámico del polipéptido.

C21. Una composición inmunogénica que incluye a toxina tipo A de Clostridium difficile mutante, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje.

C22. La composición de acuerdo con la cláusula C21, donde la mutación es una sustitución no conservadora de aminoácidos.

C23. La composición de acuerdo con la cláusula C22, donde la sustitución incluye una sustitución de alanina.

C24. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C23, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 1.

C25. La composición de acuerdo con la cláusula C24, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos 98% de

identidad con la SEQ ID NO: 1.

C26. La composición de acuerdo con la cláusula C25, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye la SEQ ID NO: 1.

C27. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C26, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye al menos dos mutaciones.

C28. La composición de acuerdo con la cláusula C27, donde el al menos dos mutaciones están presentes en las posiciones de aminoácidos 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, o 542, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

C29. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C26, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye la SEQ ID NO: 29.

C30. La composición de acuerdo con la cláusula C29, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye al menos dos mutaciones no conservadoras presentes en las posiciones de aminoácidos 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, o 542, o cualquier combinación de estos, de la SEQ ID NO: 29.

C31. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C26, donde el dominio de cisteína proteasa incluye una mutación presente en las posiciones 700, 589, 655, 543, o cualquiera de las combinaciones de estos, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

C32. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C26, donde el dominio de cisteína proteasa incluye la SEQ ID NO: 32.

C33. La composición de acuerdo con la cláusula C32, donde el dominio de cisteína proteasa incluye una mutación no conservadora presente en las posiciones 1, 47, 113, 158, o cualquiera de las combinaciones de estos, de la SEQ ID NO: 32.

C34. La composición de acuerdo con la cláusula 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 4.

C35. La composición de acuerdo con la cláusula 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 84.

C36. La composición de acuerdo con la cláusula 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 7.

C37. La composición de acuerdo con la cláusula 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 83.

C38. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C33, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.

C39. La composición de acuerdo con la cláusula C38, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por formaldehído.

C40. La composición de acuerdo con la cláusula C38, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C41. La composición de acuerdo con la cláusula C38 o C40, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por N-hidroxisuccinimida.

C42. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C41, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante de anti-toxina A o fragmento de unión de este.

C43. Una composición inmunogénica que incluye a toxina tipo A de Clostridium difficile mutante, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que incluye la SEQ ID NO: 29 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 285 y 287, y un dominio de cisteína proteasa que incluye la SEQ ID NO: 32 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 158, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.

C44. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7 está entrecruzado químicamente.

C45. La composición de acuerdo con la cláusula C43 o C44, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.

C46. La composición de acuerdo con la cláusula C43 o C44, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C47. La composición de acuerdo con la cláusula C43, C44, o C46, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.

C48. La composición de acuerdo con la cláusula C43 o C44, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante de anti-toxina A o fragmento de unión de este.

C49. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4.

C50. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84.

C51. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 7.

C52. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 83.

C53. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C49-C52, donde al menos un aminoácido está entrecruzado químicamente.

C54. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C21-C51, donde la

composición exhibe disminución de la citotoxicidad, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje.

C55. Un polipéptido aislado que incluye la SEQ ID NO: 84.

C56. Un polipéptido aislado que incluye la SEQ ID NO: 86.

C57. Un polipéptido aislado que incluye la SEQ ID NO: 83.

C58. Un polipéptido aislado que incluye la SEQ ID NO: 85.

C59. Una composición inmunogénica que incluye a toxina tipo B de Clostridium difficile mutante, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje.

C60. La composición de acuerdo con la cláusula C59, donde la mutación es una sustitución no conservadora de aminoácidos.

C61. La composición de acuerdo con la cláusula C60, donde la sustitución incluye una sustitución de alanina.

C62. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C61, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 2.

C63. La composición de acuerdo con la cláusula C62, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye una secuencia que tiene al menos 98% de identidad con la SEQ ID NO: 2.

C64. La composición de acuerdo con la cláusula C63, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje incluye la SEQ ID NO: 2.

C65. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C64, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye al menos dos mutaciones.

C66. La composición de acuerdo con la cláusula C65, donde el al menos dos mutaciones están presentes en las posiciones de aminoácidos 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, o 543, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

C67. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C64, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye la SEQ ID NO: 31.

C68. La composición de acuerdo con la cláusula C67, donde el dominio de glucosiltransferasa incluye al menos dos mutaciones no conservadoras presentes en las posiciones de aminoácidos 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, o 543 de la SEQ ID NO: 31.

C69. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C64, donde el dominio de cisteína proteasa incluye una mutación presente en las posiciones 698,

653, 587, 544, o cualquiera de las combinaciones de estos, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

C70. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C64, donde el dominio de cisteína proteasa incluye la SEQ ID NO: 33.

C71. La composición de acuerdo con la cláusula C70, donde el dominio de cisteína proteasa incluye una mutación no conservadora presente en las posiciones 1, 44, 110, 155, o cualquiera de las combinaciones de estos, de la SEQ ID NO: 33.

C72. La composición de acuerdo con la cláusula C59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 6.

C73. La composición de acuerdo con la cláusula C59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 86.

C74. La composición de acuerdo con la cláusula C59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 8.

C75. La composición de acuerdo con la cláusula C59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante incluye la SEQ ID NO: 85.

C76. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C71, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.

C77. La composición de acuerdo con la cláusula C76, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por formaldehído.

C78. La composición de acuerdo con la cláusula C76, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C79. La composición de acuerdo con la cláusula C76 o C78, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.

C80. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C79, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este.

C81. Una composición inmunogénica que incluye a toxina tipo B de Clostridium difficile mutante, que incluye un dominio de glucosiltransferasa que incluye la SEQ ID NO: 31 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 286 y 288, y un dominio de cisteína proteasa que incluye la SEQ ID NO: 33 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 155, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.

C82. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO:8,

donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO:8 está entrecruzado químicamente.

C83. La composición de acuerdo con la cláusula C81 o C82, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.

C84. La composición de acuerdo con la cláusula C81 o C82, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C85. La composición de acuerdo con la cláusula C81, C82, o C84, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.

C86. La composición de acuerdo con la cláusula C81 o C82, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este.

C87. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6.

C88. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86.

C89. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 8.

C90. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 85.

C91. La composición de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C59-C89, donde la composición exhibe disminución de citotoxicidad, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje.

C92. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NOs: 4 y 6 está entrecruzado químicamente.

C93. Una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84 y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NOs: 84 y 86 está entrecruzado químicamente.

C94. La composición de acuerdo con la cláusula C92 o C93, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.

C95. La composición de acuerdo con la cláusula C92 o C93, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C96. La composición de acuerdo con la cláusula C92, C93, o C95, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.

C97. Una célula recombinante o su progenie, que incluye la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, o SEQ ID NO: 47.

C98. Una célula recombinante o su progenie, que incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO:

8.

C99. Una célula recombinante o su progenie, que incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 84.

C100. Una célula recombinante o su progenie, que incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 86.

C101. Una célula recombinante o su progenie, que incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 83.

C102. Una célula recombinante o su progenie, que incluye una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 85.

C103. La célula recombinante de la cláusula C97 o C98, donde dicha célula deriva de una célula de bacteria grampositiva.

C104. La célula recombinante de la cláusula C97, C98, o C99, donde la célula deriva de una célula de Clostridium difficile.

C105. La célula recombinante de cualquiera de las cláusulas C97- C104, donde la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

C106. La célula de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C104, o C105 donde la célula deriva de una célula de Clostridium difficile seleccionada del grupo que consiste en Clostridium difficile 1351, Clostridium difficile 3232, Clostridium difficile 7322, Clostridium difficile 5036, Clostridium difficile 4811, y Clostridium difficile VPI 11186.

C107. La célula de acuerdo con la cláusula C106, donde la célula es una célula de Clostridium difficile VPI 11186.

C108. La célula de acuerdo con la cláusula C106, o C107, donde un gen de esporulación de la célula de Clostridium difficile está inactivado.

C109. La célula de acuerdo con la cláusula C108, donde el gen de esporulación incluye un gen spo0A o un gen spoIIE.

C110. Un método de producir una toxina de Clostridium mutante, que incluye

cultivar una célula recombinante o su progenie en condiciones adecuadas para expresar un polinucleótido que codifica una toxina de Clostridium mutante, donde la célula incluye el polinucleótido que codifica la toxina de Clostridium mutante, y donde la mutante incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de Clostridium difficile de tipo salvaje.

C111. El método de acuerdo con la cláusula C110, donde la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

C112. El método de acuerdo con la cláusula C110, donde la célula recombinante o su

progenie incluye una célula de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C97-C111.

C113. El método de acuerdo con la cláusula C110, que también incluye aislar la toxina de Clostridium mutante.

C114. El método de acuerdo con la cláusula C113, que también incluye poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con formaldehído.

C115. El método de acuerdo con la cláusula C114, donde el contacto se produce durante a lo sumo 14 días.

C116. El método de acuerdo con la cláusula C115, donde el contacto se produce durante a lo sumo 48 horas.

C117. El método de acuerdo con la cláusula C114, donde el contacto se produce a aproximadamente 25ºC.

C118. El método de acuerdo con la cláusula C113, que también incluye poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

C119. El método de acuerdo con la cláusula C118, donde el contacto se produce durante a lo sumo 24 horas.

C120. El método de acuerdo con la cláusula C120, donde el contacto se produce durante a lo sumo 4 horas.

C121. El método de acuerdo con la cláusula C118, donde el contacto se produce a aproximadamente 25ºC.

C122. El método de acuerdo con la cláusula C118, que también incluye poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con N-hidroxisuccinimida.

C123. Una composición inmunogénica producida por el método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C110- C122.

C124. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de Clostridium difficile, que incluye administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

C125. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de Clostridium difficile, que incluye administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84, donde al

menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 84 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

C126. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina B de Clostridium difficile, que incluye administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

C127. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de Clostridium difficile, que incluye administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

C128. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este específico para una composición inmunogénica, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 7 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente.

C129. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con la cláusula C128, donde al menos un aminoácido de SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 7 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C130. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que incluye las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 41 (CDR H1), SEQ ID NO: 42 (CDR H2) y SEQ ID NO: 43 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de

la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 38 (CDR L1), SEQ ID NO: 39 (CDR L2) y SEQ ID NO: 40 (CDR L3).

C131. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con la cláusula C128, C129, o C130, donde el anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este incluye a pesada cadena, que incluye la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 37, y a cadena liviana, que incluye la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 36.

C132. Una composición que incluye una combinación de dos o más anticuerpos o sus fragmentos de unión del anticuerpo seleccionada de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C128-C131.

C133. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este específico para una composición inmunogénica, dicha composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 8 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente.

C134. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con la cláusula C133, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 8 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C135. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que incluye las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 51 (CDR H1), SEQ ID NO: 52 (CDR H2) y SEQ ID NO: 53 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 57 (CDR L1), SEQ ID NO: 58 (CDR L2) y SEQ ID NO: 59 (CDR L3).

C136. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que incluye las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 61 (CDR H1), SEQ ID NO: 62 (CDR H2) y SEQ ID NO: 63 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 68 (CDR L1), SEQ ID NO: 69 (CDR L2) y SEQ ID NO: 70 (CDR L3).

C137. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que incluye las

secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 73 (CDR H1), SEQ ID NO: 74 (CDR H2) y SEQ ID NO: 75 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 79 (CDR L1), SEQ ID NO: 80 (CDR L2) y SEQ ID NO: 81 (CDR L3).

C138. Una composición que incluye una combinación de dos o más anticuerpos o sus fragmentos de unión del anticuerpo seleccionados de cualquiera de las cláusulas C133C137.

C139. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NOs: 4 y 6 está entrecruzado por formaldehído.

C140. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C141. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C142. Un método de inducir una respuesta inmune a Clostridium difficile en un mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por formaldehído.

C143. Un método de inducir una respuesta inmune a Clostridium difficile en un

mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C144. Un método de inducir una respuesta inmune a Clostridium difficile en un mamífero, que incluye administrar al mamífero una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 84, y una composición inmunogénica que incluye la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada de la SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

C145. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C139-C144, donde el mamífero es un mamífero que lo necesita.

C146. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C139-C144, donde el mamífero tiene una infección recurrente con Clostridium difficile.

C147. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C139-C144, donde la composición se administra por vía parenteral.

C148. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas C139-C144, donde la composición también incluye un adyuvante.

C149. El método de acuerdo con la cláusula C148, donde el adyuvante incluye aluminio.

C150. El método de acuerdo con la cláusula C148, donde el adyuvante incluye gel de hidróxido de aluminio y un oligonucleótido de Cpg.

C151. El método de acuerdo con la cláusula C148, donde el adyuvante incluye ISCOMATRIX®.

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina en la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptido comprende al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).
2. Un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 no está opcionalmente presente y donde el polipéptido comprende una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).
3. El polipéptido aislado de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde al menos una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o al menos una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido está modificada químicamente por glicina.
4. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el polipéptido comprende:
    a) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido; y
    b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido.
5. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el polipéptido comprende un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido.
6. El polipéptido aislado de acuerdo con la reivindicación 4, donde el polipéptido comprende un resto de glicina ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido.
7. Un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.
8. Un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta

en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido está ligado a un resto de beta-alanina.

9. El polipéptido aislado de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, donde una cadena lateral de un segundo residuo de lisina del polipéptido está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

10. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7-9, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido está ligado a un resto de glicina.

11. El polipéptido aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el polipéptido tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

12. Una composición inmunogénica que comprende un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y donde el polipéptidos tiene al menos una cadena lateral de aminoácidos modificada químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

13. La composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 12, donde el polipéptido comprende al menos una de alguna de:

    a) al menos un resto de beta-alanina ligada a una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido;

    b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico; y

    c) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

14. La composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 12, donde los polipéptidos tienen una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

15. Una composición inmunogénica que comprende un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el

residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y

a) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a un resto de beta-alanina, y

b) donde una cadena lateral de al menos un residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a un resto de beta-alanina.

16. La composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 15, donde una cadena lateral de un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 4 está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico, y donde un segundo residuo de lisina de la SEQ ID NO: 6 está ligado a una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o a una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico.

17. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-16, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

18. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-16, donde una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico o una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está ligado a un resto de glicina.

19. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-18, donde el polipéptido tiene una EC_{50} de al menos aproximadamente 100 µg/ml.

20. Una composición inmunogénica que comprende un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84 y un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86, donde cada polipéptido comprende

a) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido aspártico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de

lisina del polipéptido;

b) al menos un entrecruzamiento entre una cadena lateral de un residuo de ácido glutámico del polipéptido y una cadena lateral de un residuo de lisina del polipéptido;

c) un resto de beta-alanina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de lisina del polipéptido; y

d) un resto de glicina ligado a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido aspártico del polipéptido o a una cadena lateral de al menos un residuo de ácido glutámico del polipéptido.

21. Una composición inmunogénica que comprende una toxina A de *Clostridium difficile* mutante, que comprende un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje.

22. La composición de acuerdo con la reivindicación 21, donde la mutación es una sustitución no conservadora de aminoácidos.

23. La composición de acuerdo con la reivindicación 22, donde la sustitución comprende una sustitución de alanina.

24. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-23, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende una secuencia que tiene al menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 1.

25. La composición de acuerdo con la reivindicación 24, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende una secuencia que tiene al menos 98% de identidad con la SEQ ID NO: 1.

26. La composición de acuerdo con la reivindicación 25, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende la SEQ ID NO: 1.

27. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-26, donde el dominio de glucosiltransferasa comprende al menos dos mutaciones.

28. La composición de acuerdo con la reivindicación 27, donde al menos dos mutaciones están presentes en las posiciones de aminoácidos 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, o 542, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.

29. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-26, donde el dominio de glucosiltransferasa comprende la SEQ ID NO: 29.

30. La composición de acuerdo con la reivindicación 29, donde el dominio de

glucosiltransferasa comprende al menos dos mutaciones no conservadoras presentes en las posiciones de aminoácidos 101, 269, 272, 285, 287, 269, 272, 460, 462, 541, o 542, o cualquier combinación de estos, de la SEQ ID NO: 29.

31. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-26, donde el dominio de cisteína proteasa comprende una mutación presente de las posiciones 700, 589, 655, 543, o cualquiera de las combinaciones de estos, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 1.
32. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-26, donde el dominio de cisteína proteasa comprende la SEQ ID NO: 32.
33. La composición de acuerdo con la reivindicación 32, donde el dominio de cisteína proteasa comprende una mutación no conservadora presente en las posiciones 1, 47, 113, 158, o cualquiera de las combinaciones de estos, de la SEQ ID NO: 32.
34. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 4.
35. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 84.
36. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 7.
37. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 83.
38. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-33, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.
39. La composición de acuerdo con la reivindicación 38, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente con formaldehído.
40. La composición de acuerdo con la reivindicación 38, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.
41. La composición de acuerdo con la reivindicación 38 o 40, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por N-hidroxisuccinimida.
42. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-41, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante de anti-toxina A o fragmento de unión de este.
43. Una composición inmunogénica que comprende una toxina tipo A de Clostridium difficile mutante, que comprende un dominio de glucosiltransferasa

que comprende la SEQ ID NO: 29 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 285 y 287, y un dominio de cisteína proteasa que comprende la SEQ ID NO: 32 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 158, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo A de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.

44. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 7 está entrecruzado químicamente.
45. La composición de acuerdo con la reivindicación 43 o 44, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.
46. La composición de acuerdo con la reivindicación 43 o 44, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.
47. La composición de acuerdo con la reivindicación 43, 44, o 46, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.
48. La composición de acuerdo con la reivindicación 43 o 44, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante de anti-toxina A o fragmento de unión de este.
49. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4.
50. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 84.
51. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 7.
52. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 83.
53. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 49-52, donde al menos un aminoácido está entrecruzado químicamente.
54. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21-51, donde la composición exhibe disminución de la citotoxicidad, con respecto a la correspondiente toxina tipo A de Clostridium difficile de tipo salvaje.
55. Un polipéptido aislado que comprende la SEQ ID NO: 84.
56. Un polipéptido aislado que comprende la SEQ ID NO: 86.
57. Un polipéptido aislado que comprende la SEQ ID NO: 83.
58. Un polipéptido aislado que comprende la SEQ ID NO: 85.
59. Una composición inmunogénica que comprende una toxina tipo B de Clostridium difficile mutante, que comprende un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de

Clostridium difficile de tipo salvaje.

60. La composición de acuerdo con la reivindicación 59, donde la mutación es una sustitución no conservadora de aminoácidos.

61. La composición de acuerdo con la reivindicación 60, donde la sustitución comprende una sustitución de alanina.

62. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-61, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende una secuencia que tiene al menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 2.

63. La composición de acuerdo con la reivindicación 62, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende una secuencia que tiene al menos 98% de identidad con la SEQ ID NO: 2.

64. La composición de acuerdo con la reivindicación 63, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje comprende la SEQ ID NO: 2.

65. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-64, donde el dominio de glucosiltransferasa comprende al menos dos mutaciones.

66. La composición de acuerdo con la reivindicación 65, donde al menos dos mutaciones están presentes en las posiciones de aminoácidos 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, o 543, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

67. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-64, donde el dominio de glucosiltransferasa comprende la SEQ ID NO: 31.

68. La composición de acuerdo con la reivindicación 67, donde el dominio de glucosiltransferasa comprende al menos dos mutaciones no conservadoras presentes en las posiciones de aminoácidos 102, 286, 288, 270, 273, 384, 461, 463, 520, o 543 de la SEQ ID NO: 31.

69. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-64, donde el dominio de cisteína proteasa comprende una mutación presente en las posiciones 698, 653, 587, 544, o cualquiera de las combinaciones de estos, de acuerdo con la numeración de la SEQ ID NO: 2.

70. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-64, donde el dominio de cisteína proteasa comprende la SEQ ID NO: 33.

71. La composición de acuerdo con la reivindicación 70, donde el dominio de cisteína proteasa comprende una mutación no conservadora presente en las posiciones 1, 44, 110, 155, o cualquiera de las combinaciones de estos, de la SEQ ID NO: 33.

72. La composición de acuerdo con la reivindicación 59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 6.
73. La composición de acuerdo con la reivindicación 59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 86.
74. La composición de acuerdo con la reivindicación 59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 8.
75. La composición de acuerdo con la reivindicación 59, donde la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante comprende la SEQ ID NO: 85.
76. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-71, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.
77. La composición de acuerdo con la reivindicación 76, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por formaldehído.
78. La composición de acuerdo con la reivindicación 76, donde el aminoácido está entrecruzado químicamente por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.
79. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 76 o 78, donde al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.
80. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-79, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este.
81. Una composición inmunogénica que comprende a toxina tipo B de Clostridium difficile mutante, que comprende un dominio de glucosiltransferasa que comprende la SEQ ID NO: 31 que tiene una sustitución de aminoácidos de las posiciones 286 y 288, y un dominio de cisteína proteasa que comprende la SEQ ID NO: 33 que tiene una sustitución de aminoácidos de la posición 155, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje, donde al menos un aminoácido de la toxina tipo B de Clostridium difficile mutante está entrecruzado químicamente.
82. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO:8, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO:8 está entrecruzado químicamente.
83. La composición de acuerdo con la reivindicación 81 o 82, donde al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.
84. La composición de acuerdo con la reivindicación 81 o 82, donde al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

85. La composición de acuerdo con la reivindicación 81, 82, o 84, donde al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.
86. La composición de acuerdo con la reivindicación 81 o 82, donde la composición es reconocida por un anticuerpo neutralizante anti-toxina B o fragmento de unión de este.
87. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6.
88. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 86.
89. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 8.
90. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 85.
91. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 59-89, donde la composición exhibe disminución de citotoxicidad, con respecto a la correspondiente toxina tipo B de Clostridium difficile de tipo salvaje.
92. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NOs: 4 y 6 está entrecruzado químicamente.
93. Una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 84 y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NOs: 84 y 86 está entrecruzado químicamente.
94. La composición de acuerdo con la reivindicación 92 o 93, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por formaldehído.
95. La composición de acuerdo con la reivindicación 92 o 93, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.
96. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 92, 93, o 95, donde el al menos un aminoácido está entrecruzado por N-hidroxisuccinimida.
97. Una célula recombinante o su progenie, que comprende la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, o SEQ ID NO: 47.
98. Una célula recombinante o su progenie, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO: 8.
99. Una célula recombinante o su progenie, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 84.
100. Una célula recombinante o su progenie, que comprende una secuencia de

ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 86.

101. Una célula recombinante o su progenie, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 83.

102. Una célula recombinante o su progenie, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la SEQ ID NO: 85.

103. La célula recombinante de acuerdo con las reivindicaciones 97 o 98, donde dicha célula deriva de una célula de bacteria grampositiva.

104. La célula recombinante de las reivindicaciones 97, 98, o 99, donde la célula deriva de una célula de Clostridium difficile.

105. La célula recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 97-104, donde la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

106. La célula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 104, o 105 donde la célula deriva de una célula de Clostridium difficile seleccionada del grupo que consiste en *Clostridium difficile* 1351, *Clostridium difficile* 3232, *Clostridium difficile* 7322, *Clostridium difficile* 5036, *Clostridium difficile* 4811, y *Clostridium difficile* VPI 11186.

107. La célula de acuerdo con la reivindicación 106, donde la célula es una célula de Clostridium difficile VPI 11186.

108. La célula de acuerdo con la reivindicación 106, o 107, donde un gen de esporulación de la célula de Clostridium difficile está inactivada.

109. La célula de acuerdo con la reivindicación 108, donde el gen de esporulación comprende un gen *spo0A* o un gen *spoIIE*.

110. Un método de producir una toxina de Clostridium mutante, que comprende

cultivar una célula recombinante o su progenie en condiciones adecuadas para expresar un polinucleótido que codifica una toxina de Clostridium mutante, donde la célula comprende el polinucleótido que codifica la toxina de Clostridium mutante, y donde la mutante comprende un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de Clostridium difficile de tipo salvaje.

111. El método de acuerdo con la reivindicación 110, donde la célula carece de un polinucleótido endógeno que codifica una toxina.

112. El método de acuerdo con la reivindicación 110, donde la célula recombinante o su progenie comprende una célula de acuerdo con cualquiera de las

reivindicaciones 97-111.

113. El método de acuerdo con la reivindicación 110, que además comprende aislar la toxina de Clostridium mutante.
114. El método de acuerdo con la reivindicación 11313, que además comprende poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con formaldehído.
115. El método de acuerdo con la reivindicación 114114, donde el contacto se produce durante a lo sumo 14 días.
116. El método de acuerdo con la reivindicación 11515, donde el contacto se produce durante a lo sumo 48 horas.
117. El método de acuerdo con la reivindicación 1144, donde el contacto se produce a aproximadamente 25ºC.
118. El método de acuerdo con la reivindicación 1133, que además comprende poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.
119. El método de acuerdo con la reivindicación 1188, donde el contacto se produce durante a lo sumo 24 horas.
120. El método de acuerdo con la reivindicación 12020, donde el contacto se produce durante a lo sumo 4 horas.
121. El método de acuerdo con la reivindicación 1188, donde el contacto se produce a aproximadamente 25ºC.
122. El método de acuerdo con la reivindicación 1188, que además comprende poner en contacto la toxina de Clostridium mutante aislada con N-hidroxisuccinimida.
123. Una composición inmunogénica producida por el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11010- 1222.
124. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de Clostridium difficile, que comprende administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.
125. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de

Clostridium difficile, que comprende administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 84, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 84 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

126. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina B de Clostridium difficile, que comprende administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6, donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

127. Un método de producir un anticuerpo neutralizante contra una toxina tipo A de Clostridium difficile, que comprende administrar una composición inmunogénica a un mamífero, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, y recuperar el anticuerpo del mamífero.

128. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este específico para una composición inmunogénica, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 7 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente.

129. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con la reivindicación 128, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 7 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-

etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

130. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 41 (CDR H1), SEQ ID NO: 42 (CDR H2) y SEQ ID NO: 43 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de las CDR de cadena liviana se muestran en las SEQ ID NO: 38 (CDR L1), SEQ ID NO: 39 (CDR L2) y SEQ ID NO: 40 (CDR L3).

131. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con las reivindicaciones 128, 129, o 130, donde el anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este comprende una cadena pesada, que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 37, y una cadena liviana, que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 36.

132. Una composición que comprende una combinación de dos o más anticuerpos o sus fragmentos de unión del anticuerpo seleccionados de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 128-131.

133. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este específico para una composición inmunogénica, dicha composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 8 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente.

134. El anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este de acuerdo con la reivindicación 133, donde al menos un aminoácido de la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, o SEQ ID NO: 8 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, está entrecruzado por formaldehído, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

135. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 51 (CDR H1), SEQ ID NO: 52 (CDR H2) y SEQ ID NO: 53 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 57 (CDR L1), SEQ ID NO: 58 (CDR L2) y SEQ ID NO: 59

(CDR L3).

136. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 61 (CDR H1), SEQ ID NO: 62 (CDR H2) y SEQ ID NO: 63 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 68 (CDR L1), SEQ ID NO: 69 (CDR L2) y SEQ ID NO: 70 (CDR L3).

137. Un anticuerpo o fragmento de unión del anticuerpo de este que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) expuesta en la SEQ ID NO: 73 (CDR H1), SEQ ID NO: 74 (CDR H2) y SEQ ID NO: 75 (CDR H3), y las secuencias de aminoácidos de la CDR de la cadena liviana como se muestra en las SEQ ID NO: 79 (CDR L1), SEQ ID NO: 80 (CDR L2) y SEQ ID NO: 81 (CDR L3).

138. Una composición que comprende una combinación de dos o más anticuerpos o sus fragmentos de unión del anticuerpo seleccionados de las reivindicaciones 133137.

139. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NOs: 4 y 6 está entrecruzado por formaldehído.

140. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

141. Un método de tratar una infección con Clostridium difficile en un mamífero, que

comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 84, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

142. Un método de inducir una respuesta inmune a *Clostridium difficile* en un mamífero, que comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por formaldehído.

143. Un método de inducir una respuesta inmune a *Clostridium difficile* en un mamífero, que comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 4 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 6 donde el residuo de metionina de la posición 1 opcionalmente no está presente, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxisuccinimida, o una combinación de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

144. Un método de inducir una respuesta inmune a *Clostridium difficile* en un mamífero, que comprende administrar al mamífero una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 84, y una composición inmunogénica que comprende la SEQ ID NO: 86, donde al menos un aminoácido de cada una de las SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 86 está entrecruzado por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y N-hidroxisuccinimida.

145. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 139-144, donde el mamífero es un mamífero que lo necesita.

146. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 139-144, donde el mamífero tiene una infección recurrente con Clostridium difficile.

147. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 139-144, donde la

composición se administra por vía parenteral.

148. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 139-144, donde la composición además comprende un adyuvante.

149. El método de acuerdo con la reivindicación 148, donde el adyuvante comprende aluminio.

150. El método de acuerdo con la reivindicación 148, donde el adyuvante comprende gel de hidróxido de aluminio y un oligonucleótido de CpG.

151. El método de acuerdo con la reivindicación 148, donde el adyuvante comprende ISCOMATRIX®.

RESUMEN

En un aspecto, la invención se refiere a una composición inmunogénica que incluye una toxina A de Clostridium difficile mutante y/o una toxina B de Clostridium difficile mutante. Cada toxina mutante incluye un dominio de glucosiltransferasa que tiene al menos una mutación y un dominio de cisteína proteasa que tiene al menos una mutación, con respecto a la correspondiente toxina de C. difficile tipo salvaje. Las toxinas mutantes también pueden incluir al menos un aminoácido que está entrecruzado químicamente. En otro aspecto, la invención se refiere a anticuerpos o fragmentos de unión a este que se unen a dichas composiciones inmunogénicas. En un aspecto adicional, la invención se refiere a secuencias de nucleótidos aisladas que codifican alguna de los precedentes y los métodos de cualquiera de las composiciones precedentes.

SEQUENCE LISTING

<110> WYETH LLC

<120> COMPOSITIONS RELATING TO A MUTANT CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN AND METHODS THEREOF

<130> PC068194

<150> 61/478,474
<151> 2011-04-22

<150> 61/478,899
<151> 2011-04-25

<160> 177

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 1

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
```

```
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400
```

```
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655
```

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910
```

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
```

1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

```
Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620
```

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
```

2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

```
Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565
```

```
Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 2
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 2

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320
```

```
Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
```

565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

```
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065
```

```
Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305
```

```
Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
```

1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

```
Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250
```

```
Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 3
<211> 2710
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdA (D285A D287A mutations)

<400> 3

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80
```

```
Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Ala Val Ala Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335
```

```
Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
```

580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

```
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080
```

```
Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320
```

```
Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
```

1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

```
Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025
```

```
Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265
```

```
Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
```

2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 4
<211> 2710
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdA (D285A D287A C700A mutations)

<400> 4

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
```

225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Ala Val Ala Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

```
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735
```

```
Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990
```

```
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
```

```
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455
```

```
Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695
```

```
Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935
```

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
```

2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

```
Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640
```

```
Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655


Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670


Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 5
<211> 2366
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdB (D286A D288A mutations)

<400> 5

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15


Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45


Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60


Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80


Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95


Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110


Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125
```

```
Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Ala Val Ala
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380
```

```
Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640
```

```
Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
```

885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

```
Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365
```

```
Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605
```

```
Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
```

1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

```
Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310
```

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 6
<211> 2366
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdB (D286A D288A C698A mutations)

<400> 6

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

```
Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Ala Val Ala
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400
```

```
Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655
```

```
Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
```

900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

```
Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380
```

```
Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620
```

```
Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
```

1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

```
Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325
```

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 7
<211> 2710
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdA (D269A, R272A, D285A, D287A, E460A, R462A, and C700A mutations)

<400> 7

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

```
Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Val Ala
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Ala Val Ala Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415
```

```
Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Ala Ala Ala Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
```

660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155
```

```
Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                 1165                 1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                 1180                 1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                 1195                 1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395
```

```
Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
```

1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100
```

```
Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340
```

```
Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
```

2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 8
<211> 2366
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: TcdB (D270A, R273A, D286A, D288A, D461A, K463A, and C698A mutations)

<400> 8

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys

50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Leu
260 265 270

Ala Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Ala Val Ala
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

```
Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Ala Val Ala Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560
```

```
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815
```

```
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
```

1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

```
Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530
```

```
Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770
```

```
Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
```

2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 9
<211> 8133
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 9
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata ataagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180

aaatataaaa cttcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240

gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agccctgtag aaaaaaattt acattttgta 300

tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360

aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt aaatacacta 420

aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480

caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540

agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600

atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactgtatta 660

gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720
gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780
cgtggaaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840
ggagtatatt tagatgttga tatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900
tctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960
aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020
ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080
aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140
gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200
caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgat 1260
aataacttca cagatactac taaaattttt catgattcat tatttaattc agctaccgca 1320
gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380
gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg cgtcagctta ctatgatttc 1440
ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500
aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560
tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620
tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680
ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740
cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800
tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagc 1860
tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980
aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040
ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt acttggatgt 2100
aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctgggaagtt gctattaagt 2160
attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aaaattctat tactatagga 2220
gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct ggctcactca 2280
ggtaaatgga taaataaaga agaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340
ttttttgatt ctatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggattagca 2400
tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460
tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggtgatta catttattat 2520

gaaaaattag agcctgttaa aaatataatt cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580

ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640

gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttactctgta 2700

agatttatta acaaaagtaa tggtgagtca gtttatgtag aaacagaaaa agaaattttt 2760

tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820

gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880

ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940

aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000

aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060

ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120

ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180

gaattagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaact 3240

gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300

atatctgcag gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360

tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaaa aatatggccc tcttaaaaca 3420

gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480

aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540

acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat ctataagttc tcatattcct 3600

tcattatcaa tttattctgc aataggtata gaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660

ataatgatgt tacctaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720

ggtttaagat cattggaaaa tgacggaact agattacttg attcaataag agatttatac 3780

ccaggtaaat tttactggag attctatgct tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840

ccagtttatg aagacactaa tattaaaatt aaactagata aagatactag aaacttcata 3900

atgccaacta taactactaa cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960

ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caacgaatat aaatttatct 4020

aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080

ggtactatta aaaaaggaaa gttaataaaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140

aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gcgatataga taataaagat 4200

agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260

cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320

ttatctaata ttattgagaa aatcaatact ttaggcctag atagtaaaaa tatagcgtac 4380

aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440

agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tgacagtaca 4500
ttagaattta acagtaaaga ttttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560
attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620
tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680
gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
tttatgaatt tatttttgga caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800
aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920
tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980
cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040
atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100
attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220
acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340
gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400
aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460
tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520
ttctattttg atcctataga atttaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
aaatattatt ttgatataaa tactggagca gctttaatta gttataaaat tattaatggt 5640
aaacactttt attttaataa tgatggtgtg atgcagttgg gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgaat attttgcacc tgccaatact caaaataata acatagaagg tcaggctata 5760
gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820
aaagcagtca ctggatggag aattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880
gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940
actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000
gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060
agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtacctcta atggatttga atattttgca 6120
cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180
ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggatgg 6240
caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300

tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360

ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tatagcttca 6420

actggttata caattattaa tggtaaacat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480

ataggagtgt ttaaaggacc taatggattt gaatattttg cacctgctaa tacggatgct 6540

aacaacatag aaggtcaagc tatactttac caaaatgaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600

aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca gttactggat ggagaattat taacaataag 6660

aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcaattc atctatgcac tataaataat 6720

gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780

aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840

cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcaca ataataacat agaaggtcag 6900

gctatagttt accagaacaa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960

gactcaaaag cagttactgg atggcaaacc attgatggta aaaaatatta ctttaatctt 7020

aacactgctg aagcagctac tggatggcaa actattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7080

cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7140

aatactaaca ctttcatagc ctcaactggt tatacaagta ttaatggtaa acatttttat 7200

tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctaatgg atttgaatac 7260

tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320

aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380

ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttctatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa cattttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacagat 7620

gctaacaata tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt attttggtaa taattcaaaa gcagctactg gttgggtaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa agggtctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagaagg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataattca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat ggtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagctggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 10
<211> 7101
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 10
atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtactcaa 60

gaagatgaat atgttgcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaaatctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atatctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaa ctgtagtaga atcagcaata aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480

ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttcttcagaa aacgtatgga aataatttat 540

gataaacaga aaaatttcat aaactactat aaagctcaaa gagaagaaaa tcctgaactt 600

ataattgatg atattgtaaa gacatatctt tcaaatgagt attcaaagga gatagatgaa 660

cttaatacct atattgaaga atccttaaat aaaattacac agaatagtgg aaatgatgtt 720

agaaactttg aagaatttaa aaatggagag tcattcaact tatatgaaca agagttggta 780

gaaaggtgga atttagctgc tgcttctgac atattaagaa tatctgcatt aaaagaaatt 840

ggtggtatgt atttagatgt tgatatgtta ccaggaatac aaccagactt atttgagtct 900

atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tgacaaagtt agaagctata 960

atgaaataca aagaatatat accagaatat acctcagaac attttgacat gttagacgaa 1020

gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataaatc agaaatattc 1080

tcatcacttg gtgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaag 1140

ggtattataa atcaagggct aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200

aaacaaatcg agaatagata taaaatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260

gataatgatt ttaatactac aacgaatacc tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320

gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagcat atgcggcagc ttatcaagat 1440

ttattaatgt ttaaagaagg cagtatgaat atccatttga tagaagctga tttaagaaac 1500

tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc tagcttatgg 1560

tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat ataaaaggaa ttattttgaa 1620

ggttctcttg gtgaagatga taatcttgat ttttctcaaa atatagtagt tgacaaggag 1680

tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740

attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800
actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860
tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920
tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980
gatatatttg caggttttga tgtagattca ttatccacag aaatagaagc agcaatagat 2040
ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa atttattagg atgtaatatg 2100
tttagctact ctatcaacgt agaggagact tatcctggaa aattattact taaagttaaa 2160
gataaaatat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220
caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280
tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340
aatcctaaag aaaataaaat tacagtaaaa tctaaaaatt tacctgagct atctacatta 2400
ttacaagaaa ttagaaataa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460
ttaacagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cgcaaattgt tgaggaaagg 2520
attgaagaag ctaagaattt aacttctgac tctattaatt atataaaaga tgaatttaaa 2580
ctaatagaat ctatttctga tgcactatgt gacttaaaac aacagaatga attagaagat 2640
tctcatttta tatcttttga ggacatatca gagactgatg agggatttag tataagattt 2700
attaataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaaacaat attctctgaa 2760
tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820
aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatactacac acgaagtaaa tactttaaat 2880
gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940
ttaagtgtag caatgaaagt ccaagtttac gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000
attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagac 3060
ttacttccta cattatctga aggattacct ataattgcaa ctattataga tggtgtaagt 3120
ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acgagtgacc cattattaag acaagaaata 3180
gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacaacag ctacaactgc aatcattact 3240
tcatctttgg ggatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300
gcaggtatac caagcttagt aaacaatgaa cttgtacttc gagataaggc aacaaaggtt 3360
gtagattatt ttaaacatgt ttcattagtt gaaactgaag gagtatttac tttattagat 3420
gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtgatatcag aaatagattt taataataat 3480
tcaatagttt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggttcagg tcatactgta 3540
actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600

tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660

gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720

agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780

gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840

agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ttttatagtt 3900

ccaataataa ctacagaata tataagagaa aaattatcat attctttcta tggttcagga 3960

ggaacttatg cattgtctct ttctcaatat aatatgggta taaatataga attaagtgaa 4020

agtgatgttt ggattataga tgttgataat gttgtgagag atgtaactat agaatctgat 4080

aaaattaaaa aaggtgattt aatagaaggt attttatcta cactaagtat tgaagagaat 4140

aaaattatct taaatagcca tgagattaat ttttctggtg aggtaaatgg aagtaatgga 4200

tttgtttctt taacattttc aattttagaa ggaataaatg caattataga agttgattta 4260

ttatctaaat catataaatt acttatttct ggcgaattaa aaatattgat gttaaattca 4320

aatcatattc aacagaaaat agattatata ggattcaata gcgaattaca gaaaaatata 4380

ccatatagct ttgtagatag tgaaggaaaa gagaatggtt ttattaatgg ttcaacaaaa 4440

gaaggtttat ttgtatctga attacctgat gtagttctta taagtaaggt ttatatggat 4500

gatagtaagc cttcatttgg atattatagt aataatttga aagatgtcaa agttataact 4560

aaagataatg ttaatatatt aacaggttat tatcttaagg atgatataaa aatctctctt 4620

tctttgactc tacaagatga aaaaactata aagttaaata gtgtgcattt agatgaaagt 4680

ggagtagctg agattttgaa gttcatgaat agaaaaggta atacaaatac ttcagattct 4740

ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcgttaattt cttacaatct 4800

aatattaagt ttatattaga tgctaatttt ataataagtg gtactacttc tattggccaa 4860

tttgagttta tttgtgatga aaatgataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920

ctagaaacta attatacttt atatgtagga aatagacaaa atatgatagt ggaaccaaat 4980

tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtta tcaatttctc tcaaaagtat 5040

ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttgtaattt caccaaatat ttatacagat 5100

gaaataaata taacgcctgt atatgaaaca aataatactt atccagaagt tattgtatta 5160

gatgcaaatt atataaatga aaaaataaat gttaatatca atgatctatc tatacgatat 5220

gtatggagta atgatggtaa tgattttatt cttatgtcaa ctagtgaaga aaataaggtg 5280

tcacaagtta aaataagatt cgttaatgtt tttaaagata agactttggc aaataagcta 5340

tcttttaact ttagtgataa acaagatgta cctgtaagtg aaataatctt atcatttaca 5400

ccttcatatt atgaggatgg attgattggc tatgatttgg gtctagtttc tttatataat 5460

gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtatctg gattaatata tattaatgat 5520

tcattatatt attttaaacc accagtaaat aatttgataa ctggatttgt gactgtaggc 5580

gatgataaat actactttaa tccaattaat ggtggagctg cttcaattgg agagacaata 5640

attgatgaca aaaattatta tttcaaccaa agtggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700

acagaagatg gatttaaata ttttgcccca gctaatacac ttgatgaaaa cctagaagga 5760

gaagcaattg attttactgg aaaattaatt attgacgaaa atatttatta ttttgatgat 5820

aattatagag gagctgtaga atggaaagaa ttagatggtg aaatgcacta ttttagccca 5880

gaaacaggta aagcttttaa aggtctaaat caaataggtg attataaata ctatttcaat 5940

tctgatggag ttatgcaaaa aggatttgtt agtataaatg ataataaaca ctattttgat 6000

gattctggtg ttatgaaagt aggttacact gaaatagatg gcaagcattt ctactttgct 6060

gaaaacggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagaag atggatttaa atattttgct 6120

catcataatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagaaa tctcatattc tggtatatta 6180

aatttcaata ataaaattta ctattttgat gattcattta cagctgtagt tggatggaaa 6240

gatttagagg atggttcaaa gtattatttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300

ttgtcattaa taaatgatgg tcaatattat tttaatgatg atggaattat gcaagttgga 6360

tttgtcacta taaatgataa agtcttctac ttctctgact ctggaattat agaatctgga 6420

gtacaaaaca tagatgacaa ttatttctat atagatgata atggtatagt tcaaattggt 6480

gtatttgata cttcagatgg atataaatat tttgcacctg ctaatactgt aaatgataat 6540

atttacggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggtgaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactgga tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcaatccaga aactaaaaaa gcatgcaaag gtattaattt aattgatgat 6720

ataaaatatt attttgatga gaagggcata atgagaacgg gtcttatatc atttgaaaat 6780

aataattatt actttaatga gaatggtgaa atgcaatttg gttatataaa tatagaagat 6840

aagatgttct attttggtga agatggtgtc atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat actttgcaca tcaaaatact ttggatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 11
<211> 8133
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdA gene (D285A D287A mutations)

<400> 11
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata ataagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180

aaatataaaa cttcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240

gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agccctgtag aaaaaaattt acattttgta 300

tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360

aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt aaatacacta 420

aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480

caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540

agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600

atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactgtatta 660

gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720

gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780

cgtggaaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840

ggagtatatt tagcagttgc aatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900

tctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960

aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020

ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080

aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140

gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200

caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgat 1260

aataacttca cagatactac taaaattttt catgattcat tatttaattc agctaccgca 1320

gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380

gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg cgtcagctta ctatgatttc 1440

ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500

aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560

tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620

tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680

ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740

cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800

tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagc 1860

tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980
aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040
ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt acttggatgt 2100
aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctgggaagtt gctattaagt 2160
attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aaaattctat tactatagga 2220
gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct ggctcactca 2280
ggtaaatgga taaataaaga agaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340
ttttttgatt ctatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggattagca 2400
tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460
tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggtgatta catttattat 2520
gaaaaattag agcctgttaa aaatataatt cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580
ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640
gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttactctgta 2700
agatttatta acaaaagtaa tggtgagtca gtttatgtag aaacagaaaa agaaattttt 2760
tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820
gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880
ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940
aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000
aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060
ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120
ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180
gaattagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaact 3240
gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300
atatctgcag gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360
tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaaa aatatggccc tcttaaaaca 3420
gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480
aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540
acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat ctataagttc tcatattcct 3600
tcattatcaa tttattctgc aataggtata gaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660
ataatgatgt tacctaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720

ggtttaagat cattggaaaa tgacggaact agattacttg attcaataag agatttatac 3780

ccaggtaaat tttactggag attctatgct tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840

ccagtttatg aagacactaa tattaaaatt aaactagata aagatactag aaacttcata 3900

atgccaacta taactactaa cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960

ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caacgaatat aaatttatct 4020

aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080

ggtactatta aaaaaggaaa gttaataaaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140

aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gcgatataga taataaagat 4200

agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260

cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320

ttatctaata ttattgagaa aatcaatact ttaggactag atagtaaaaa tatagcgtac 4380

aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440

agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tgacagtaca 4500

ttagaattta acagtaaaga ttttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560

attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620

tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680

gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740

tttatgaatt tatttttgga caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800

aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860

tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920

tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980

cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040

atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100

attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160

acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220

acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280

caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340

gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400

aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460

tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520

ttctattttg atcctataga atttaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580

aaatattatt ttgatataaa tactggagca gctttaatta gttataaaat tattaatggt 5640

aaacactttt attttaataa tgatggtgtg atgcagttgg gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgaat attttgcacc tgccaatact caaaataata acatagaagg tcaggctata 5760
gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820
aaagcagtca ctggatggag aattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880
gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940
actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000
gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060
agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtacctcta atggatttga atattttgca 6120
cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180
ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggatgg 6240
caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300
tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360
ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tatagcttca 6420
actggttata caattattaa tggtaaacat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480
ataggagtgt ttaaaggacc taatggattt gaatattttg cacctgctaa tacggatgct 6540
aacaacatag aaggtcaagc tatactttac caaaatgaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600
aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca gttactggat ggagaattat taacaataag 6660
aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcaattc atctatgcac tataaataat 6720
gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780
aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840
cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcaca ataataacat agaaggtcag 6900
gctatagttt accagaacaa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960
gactcaaaag cagttactgg atggcaaacc attgatggta aaaaatatta ctttaatctt 7020
aacactgctg aagcagctac tggatggcaa actattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7080
cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7140
aatactaaca ctttcatagc ctcaactggt tatacaagta ttaatggtaa acatttttat 7200
tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctaatgg atttgaatac 7260
tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320
aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380
ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440
actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttctatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa cattttttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacagat 7620

gctaacaata tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt attttggtaa taattcaaaa gcagctactg gttgggtaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa agggtctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagaagg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataattca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat ggtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagcaggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 12
<211> 8133
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdA gene (D285A D287A C700A mutations)

<400> 12
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata ataagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180

aaatataaaa cttcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240

gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agccctgtag aaaaaaattt acattttgta 300

tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360

aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt aaatacacta 420

aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480

caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540

agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600

atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactgtatta 660

gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720

gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780

cgtggaaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840

ggagtatatt tagcagttgc aatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900

tctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960

aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020

ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080

aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140

gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200

caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgat 1260

aataacttca cagatactac taaaattttt catgattcat tatttaattc agctaccgca 1320

gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380

gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg cgtcagctta ctatgatttc 1440

ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500

aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560

tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620

tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680

ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740

cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800

tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagc 1860

tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920

agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980

aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040

ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt acttggagct 2100

aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctgggaagtt gctattaagt 2160

attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aaaattctat tactatagga 2220

gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct ggctcactca 2280

ggtaaatgga taaataaaga agaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340

ttttttgatt ctatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggattagca 2400

tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460

tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggtgatta catttattat 2520

gaaaaattag agcctgttaa aaatataatt cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580

ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640

gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttactctgta 2700

agatttatta acaaaagtaa tggtgagtca gtttatgtag aaacagaaaa agaaattttt 2760

tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820

gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880

ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940

aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000

aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060

ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120

ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180

gaattagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaact 3240

gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300

atatctgcag gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360

tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaaa aatatggccc tcttaaaaca 3420

gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480

aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540

acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat ctataagttc tcatattcct 3600

tcattatcaa tttattctgc aataggtata gaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660

ataatgatgt tacctaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720

ggtttaagat cattggaaaa tgacggaact agattacttg attcaataag agatttatac 3780

ccaggtaaat tttactggag attctatgct tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840

ccagtttatg aagacactaa tattaaaatt aaactagata aagatactag aaacttcata 3900

atgccaacta taactactaa cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960

ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caacgaatat aaatttatct 4020

aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080

ggtactatta aaaaaggaaa gttaataaaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140

aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gcgatataga taataaagat 4200

agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260

cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320

ttatctaata ttattgagaa aatcaatact ttaggactag atagtaaaaa tatagcgtac 4380

aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440

agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tgacagtaca 4500

ttagaattta acagtaaaga ttttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560

attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620

tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680

gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
tttatgaatt tatttttgga caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800
aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920
tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980
cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040
atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100
attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220
acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340
gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400
aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460
tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520
ttctattttg atcctataga atttaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
aaatattatt ttgatataaa tactggagca gctttaatta gttataaaat tattaatggt 5640
aaacactttt attttaataa tgatggtgtg atgcagttgg gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgaat attttgcacc tgccaatact caaaataata acatagaagg tcaggctata 5760
gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820
aaagcagtca ctggatggag aattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880
gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940
actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000
gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060
agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtacctcta atggatttga atattttgca 6120
cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180
ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggatgg 6240
caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300
tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360
ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tatagcttca 6420
actggttata caattattaa tggtaaacat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480
ataggagtgt ttaaaggacc taatggattt gaatattttg cacctgctaa tacggatgct 6540
aacaacatag aaggtcaagc tatactttac caaaatgaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600

aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca gttactggat ggagaattat taacaataag 6660

aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcaattc atctatgcac tataaataat 6720

gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780

aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840

cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcaca ataataacat agaaggtcag 6900

gctatagttt accagaacaa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960

gactcaaaag cagttactgg atggcaaacc attgatggta aaaaatatta ctttaatctt 7020

aacactgctg aagcagctac tggatggcaa actattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7080

cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7140

aatactaaca ctttcatagc ctcaactggt tatacaagta ttaatggtaa acatttttat 7200

tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctaatgg atttgaatac 7260

tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320

aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380

ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttctatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa catttttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacagat 7620

gctaacaata tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt attttggtaa taattcaaaa gcagctactg gttgggtaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa agggtctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagaagg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataattca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat ggtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagcaggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 13
<211> 7101
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdB (D286A D288A mutations)

<400> 13

atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtactcaa 60

gaagatgaat atgttgcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaaatctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atatctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaa ctgtagtaga atcagcaata aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480

ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttcttcagaa aacgtatgga aataatttat 540

gataaacaga aaaatttcat aaactactat aaagctcaaa gagaagaaaa tcctgaactt 600

ataattgatg atattgtaaa gacatatctt tcaaatgagt attcaaagga gatagatgaa 660

cttaatacct atattgaaga atccttaaat aaaattacac agaatagtgg aaatgatgtt 720

agaaactttg aagaatttaa aaatggagag tcattcaact tatatgaaca agagttggta 780

gaaaggtgga atttagctgc tgcttctgac atattaagaa tatctgcatt aaaagaaatt 840

ggtggtatgt atttagcagt tgcaatgtta ccaggaatac aaccagactt atttgagtct 900

atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tgacaaagtt agaagctata 960

atgaaataca aagaatatat accagaatat acctcagaac attttgacat gttagacgaa 1020

gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataaatc agaaatattc 1080

tcatcacttg gtgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaag 1140

ggtattataa atcaagggct aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200

aaacaaatcg agaatagata taaaatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260

gataatgatt ttaatactac aacgaatacc tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320

gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagctt atgcggcagc ttatcaagat 1440

ttattaatgt ttaaagaagg cagtatgaat atccatttga tagaagctga tttaagaaac 1500

tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc ttctttatgg 1560

tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat ataaaaggaa ttattttgaa 1620

ggttctcttg gtgaagatga taatcttgat ttttctcaaa atatagtagt tgacaaggag 1680

tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740

attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800

actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860

tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920

tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980
gatatatttg caggttttga tgtagattca ttatccacag aaatagaagc agcaatagat 2040
ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa atttattagg atgtaatatg 2100
tttagctact ctatcaacgt agaggagact tatcctggaa aattattact taaagttaaa 2160
gataaaatat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220
caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280
tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340
aatcctaaag aaaataaaat tacagtaaaa tctaaaaatt tacctgagct atctacatta 2400
ttacaagaaa ttagaaataa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460
ttaacagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cgcaaattgt tgaggaaagg 2520
attgaagaag ctaagaattt aacttctgac tctattaatt atataaaaga tgaatttaaa 2580
ctaatagaat ctatttctga tgcactatgt gacttaaaac aacagaatga attagaagat 2640
tctcatttta tatcttttga ggacatatca gagactgatg agggatttag tataagattt 2700
attaataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaaacaat attctctgaa 2760
tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820
aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatactacac acgaagtaaa tactttaaat 2880
gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940
ttaagtgtag caatgaaagt ccaagtttac gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000
attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagac 3060
ttacttccta cattatctga aggattacct ataattgcaa ctattataga tggtgtaagt 3120
ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acgagtgacc cattattaag acaagaaata 3180
gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacaacag ctacaactgc aatcattact 3240
tcatctttgg ggatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300
gcaggtatac caagcttagt aaacaatgaa cttgtacttc gagataaggc aacaaaggtt 3360
gtagattatt ttaaacatgt ttcattagtt gaaactgaag gagtatttac tttattagat 3420
gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtgatatcag aaatagattt taataataat 3480
tcaatagttt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggttcagg tcatactgta 3540
actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600
tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660
gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720
agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780

gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840

agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ttttatagtt 3900

ccaataataa ctacagaata tataagagaa aaattatcat attctttcta tggttcagga 3960

ggaacttatg cattgtctct ttctcaatat aatatgggta taaatataga attaagtgaa 4020

agtgatgttt ggattataga tgttgataat gttgtgagag atgtaactat agaatctgat 4080

aaaattaaaa aaggtgattt aatagaaggt attttatcta cactaagtat tgaagagaat 4140

aaaattatct taaatagcca tgagattaat ttttctggtg aggtaaatgg aagtaatgga 4200

tttgtttctt taacattttc aattttagaa ggaataaatg caattataga agttgattta 4260

ttatctaaat catataaatt acttatttct ggcgaattaa aaatattgat gttaaattca 4320

aatcatattc aacagaaaat agattatata ggattcaata gcgaattaca gaaaaatata 4380

ccatatagct ttgtagatag tgaaggaaaa gagaatggtt ttattaatgg ttcaacaaaa 4440

gaaggtttat ttgtatctga attacctgat gtagttctta taagtaaggt ttatatggat 4500

gatagtaagc cttcatttgg atattatagt aataatttga aagatgtcaa agttataact 4560

aaagataatg ttaatatatt aacaggttat tatcttaagg atgatataaa aatctctctt 4620

tctttgactc tacaagatga aaaaactata aagttaaata gtgtgcattt agatgaaagt 4680

ggagtagctg agattttgaa gttcatgaat agaaaaggta atacaaatac ttcagattct 4740

ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcgttaattt cttacaatct 4800

aatattaagt ttatattaga tgctaatttt ataataagtg gtactacttc tattggccaa 4860

tttgagttta tttgtgatga aaatgataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920

ctagaaacta attatacttt atatgtagga aatagacaaa atatgatagt ggaaccaaat 4980

tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtta tcaatttctc tcaaaagtat 5040

ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttgtaattt caccaaatat ttatacagat 5100

gaaataaata taacgcctgt atatgaaaca aataatactt atccagaagt tattgtatta 5160

gatgcaaatt atataaatga aaaaataaat gttaatatca atgatctatc tatacgatat 5220

gtatggagta atgatggtaa tgattttatt cttatgtcaa ctagtgaaga aaataaggtg 5280

tcacaagtta aaataagatt cgttaatgtt tttaaagata agactttggc aaataagcta 5340

tcttttaact ttagtgataa acaagatgta cctgtaagtg aaataatctt atcatttaca 5400

ccttcatatt atgaggatgg attgattggc tatgatttgg gtctagtttc tttatataat 5460

gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtatctg gattaatata tattaatgat 5520

tcattatatt attttaaacc accagtaaat aatttgataa ctggatttgt gactgtaggc 5580

gatgataaat actactttaa tccaattaat ggtggagctg cttcaattgg agagacaata 5640

attgatgaca aaaattatta tttcaaccaa agtggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700

acagaagatg gatttaaata ttttgcccca gctaatacac ttgatgaaaa cctagaagga 5760

gaagcaattg attttactgg aaaattaatt attgacgaaa atatttatta ttttgatgat 5820

aattatagag gagctgtaga atggaaagaa ttagatggtg aaatgcacta ttttagccca 5880

gaaacaggta aagcttttaa aggtctaaat caaataggtg attataaata ctatttcaat 5940

tctgatggag ttatgcaaaa aggatttgtt agtataaatg ataataaaca ctattttgat 6000

gattctggtg ttatgaaagt aggttacact gaaatagatg gcaagcattt ctactttgct 6060

gaaaacggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagaag atggatttaa atattttgct 6120

catcataatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagaaa tctcatattc tggtatatta 6180

aatttcaata ataaaattta ctattttgat gattcattta ctgctgtagt tggatggaaa 6240

gatttagagg atggttcaaa gtattatttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300

ttgtcattaa taaatgatgg tcaatattat tttaatgatg atggaattat gcaagttgga 6360

tttgtcacta taaatgataa agtcttctac ttctctgact ctggaattat agaatctgga 6420

gtacaaaaca tagatgacaa ttatttctat atagatgata atggtatagt tcaaattggt 6480

gtatttgata cttcagatgg atataaatat tttgcacctg ctaatactgt aaatgataat 6540

atttacggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggtgaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactgga tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcaatccaga aactaaaaaa gcatgcaaag gtattaattt aattgatgat 6720

ataaaatatt attttgatga gaagggcata atgagaacgg gtcttatatc atttgaaaat 6780

aataattatt actttaatga gaatggtgaa atgcaatttg gttatataaa tatagaagat 6840

aagatgttct attttggtga agatggtgtc atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat actttgcaca tcaaaatact ttggatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 14
<211> 7101
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdB (D286A D288A C698A mutations)

<400> 14
atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtactcaa 60

gaagatgaat atgttgcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaaatctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atatctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaa ctgtagtaga atcagcaata aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480

ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttcttcagaa aacgtatgga aataatttat 540

gataaacaga aaaatttcat aaactactat aaagctcaaa gagaagaaaa tcctgaactt 600

ataattgatg atattgtaaa gacatatctt tcaaatgagt attcaaagga gatagatgaa 660

cttaatacct atattgaaga atccttaaat aaaattacac agaatagtgg aaatgatgtt 720

agaaactttg aagaatttaa aaatggagag tcattcaact tatatgaaca agagttggta 780

gaaaggtgga atttagctgc tgcttctgac atattaagaa tatctgcatt aaaagaaatt 840

ggtggtatgt atttagcagt tgcaatgtta ccaggaatac aaccagactt atttgagtct 900

atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tgacaaagtt agaagctata 960

atgaaataca aagaatatat accagaatat acctcagaac attttgacat gttagacgaa 1020

gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataaatc agaaatattc 1080

tcatcacttg gtgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaag 1140

ggtattataa atcaagggct aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200

aaacaaatcg agaatagata taaaatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260

gataatgatt ttaatactac aacgaatacc tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320

gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagctt atgcggcagc ttatcaagat 1440

ttattaatgt ttaaagaagg cagtatgaat atccatttga tagaagctga tttaagaaac 1500

tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc ttctttatgg 1560

tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat ataaaaggaa ttattttgaa 1620

ggttctcttg gtgaagatga taatcttgat ttttctcaaa atatagtagt tgacaaggag 1680

tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740

attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800

actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860

tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920

tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980

gatatatttg caggttttga tgtagattca ttatccacag aaatagaagc agcaatagat 2040

ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa atttattagg agctaatatg 2100
tttagctact ctatcaacgt agaggagact tatcctggaa aattattact taaagttaaa 2160
gataaaatat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220
caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280
tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340
aatcctaaag aaaataaaat tacagtaaaa tctaaaaatt tacctgagct atctacatta 2400
ttacaagaaa ttagaaataa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460
ttaacagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cgcaaattgt tgaggaaagg 2520
attgaagaag ctaagaattt aacttctgac tctattaatt atataaaaga tgaatttaaa 2580
ctaatagaat ctatttctga tgcactatgt gacttaaaac aacagaatga attagaagat 2640
tctcatttta tatcttttga ggacatatca gagactgatg agggatttag tataagattt 2700
attaataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaaacaat attctctgaa 2760
tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820
aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatactacac acgaagtaaa tactttaaat 2880
gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940
ttaagtgtag caatgaaagt ccaagtttac gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000
attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagac 3060
ttacttccta cattatctga aggattacct ataattgcaa ctattataga tggtgtaagt 3120
ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acgagtgacc cattattaag acaagaaata 3180
gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacaacag ctacaactgc aatcattact 3240
tcatctttgg ggatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300
gcaggtatac caagcttagt aaacaatgaa cttgtacttc gagataaggc aacaaaggtt 3360
gtagattatt ttaaacatgt ttcattagtt gaaactgaag gagtatttac tttattagat 3420
gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtgatatcag aaatagattt taataataat 3480
tcaatagttt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggttcagg tcatactgta 3540
actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600
tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660
gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720
agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780
gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840
agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ttttatagtt 3900

ccaataataa ctacagaata tataagagaa aaattatcat attctttcta tggttcagga 3960

ggaacttatg cattgtctct ttctcaatat aatatgggta taaatataga attaagtgaa 4020

agtgatgttt ggattataga tgttgataat gttgtgagag atgtaactat agaatctgat 4080

aaaattaaaa aaggtgattt aatagaaggt attttatcta cactaagtat tgaagagaat 4140

aaaattatct taaatagcca tgagattaat ttttctggtg aggtaaatgg aagtaatgga 4200

tttgtttctt taacattttc aattttagaa ggaataaatg caattataga agttgattta 4260

ttatctaaat catataaatt acttatttct ggcgaattaa aaatattgat gttaaattca 4320

aatcatattc aacagaaaat agattatata ggattcaata gcgaattaca gaaaaatata 4380

ccatatagct ttgtagatag tgaaggaaaa gagaatggtt ttattaatgg ttcaacaaaa 4440

gaaggtttat ttgtatctga attacctgat gtagttctta taagtaaggt ttatatggat 4500

gatagtaagc cttcatttgg atattatagt aataatttga aagatgtcaa agttataact 4560

aaagataatg ttaatatatt aacaggttat tatcttaagg atgatataaa aatctctctt 4620

tctttgactc tacaagatga aaaaactata aagttaaata gtgtgcattt agatgaaagt 4680

ggagtagctg agattttgaa gttcatgaat agaaaaggta atacaaatac ttcagattct 4740

ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcgttaattt cttacaatct 4800

aatattaagt ttatattaga tgctaatttt ataataagtg gtactacttc tattggccaa 4860

tttgagttta tttgtgatga aaatgataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920

ctagaaacta attatacttt atatgtagga aatagacaaa atatgatagt ggaaccaaat 4980

tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtta tcaatttctc tcaaaagtat 5040

ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttgtaattt caccaaatat ttatacagat 5100

gaaataaata taacgcctgt atatgaaaca aataatactt atccagaagt tattgtatta 5160

gatgcaaatt atataaatga aaaaataaat gttaatatca atgatctatc tatacgatat 5220

gtatggagta atgatggtaa tgattttatt cttatgtcaa ctagtgaaga aaataaggtg 5280

tcacaagtta aaataagatt cgttaatgtt tttaaagata agactttggc aaataagcta 5340

tcttttaact ttagtgataa acaagatgta cctgtaagtg aaataatctt atcatttaca 5400

ccttcatatt atgaggatgg attgattggc tatgatttgg gtctagtttc tttatataat 5460

gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtatctg gattaatata tattaatgat 5520

tcattatatt attttaaacc accagtaaat aatttgataa ctggatttgt gactgtaggc 5580

gatgataaat actactttaa tccaattaat ggtggagctg cttcaattgg agagacaata 5640

attgatgaca aaaattatta tttcaaccaa agtggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700

acagaagatg gatttaaata ttttgcccca gctaatacac ttgatgaaaa cctagaagga 5760

gaagcaattg attttactgg aaaattaatt attgacgaaa atatttatta ttttgatgat 5820

aattatagag gagctgtaga atggaaagaa ttagatggtg aaatgcacta ttttagccca 5880

gaaacaggta aagcttttaa aggtctaaat caaataggtg attataaata ctatttcaat 5940

tctgatggag ttatgcaaaa aggatttgtt agtataaatg ataataaaca ctattttgat 6000

gattctggtg ttatgaaagt aggttacact gaaatagatg gcaagcattt ctactttgct 6060

gaaaacggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagaag atggatttaa atattttgct 6120

catcataatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagaaa tctcatattc tggtatatta 6180

aatttcaata ataaaattta ctattttgat gattcattta ctgctgtagt tggatggaaa 6240

gatttagagg atggttcaaa gtattatttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300

ttgtcattaa taaatgatgg tcaatattat tttaatgatg atggaattat gcaagttgga 6360

tttgtcacta taaatgataa agtcttctac ttctctgact ctggaattat agaatctgga 6420

gtacaaaaca tagatgacaa ttatttctat atagatgata atggtatagt tcaaattggt 6480

gtatttgata cttcagatgg atataaatat tttgcacctg ctaatactgt aaatgataat 6540

atttacggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggtgaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactgga tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcaatccaga aactaaaaaa gcatgcaaag gtattaattt aattgatgat 6720

ataaaatatt attttgatga gaagggcata atgagaacgg gtcttatatc atttgaaaat 6780

aataattatt actttaatga gaatggtgaa atgcaatttg gttatataaa tatagaagat 6840

aagatgttct attttggtga agatggtgtc atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat actttgcaca tcaaaatact ttggatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 15
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 15

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

```
Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
```

290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

```
Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800
```

```
Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050
```

```
His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
```

1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asp Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Met Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Asn Leu
1355 1360 1365

Ile Glu Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

```
Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755
```

```
Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995
```

```
Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys Tyr  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Val Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

His Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
```

2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Val Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Glu Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Arg Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Tyr Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

```
Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Ser Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700
```

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 16
<211> 8133
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 16
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata ataagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180

aaatataaaa attcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240

gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agtcctgtag aaaaaaattt acattttgta 300

tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360

aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt caatacacta 420

aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480

caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540

agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600

atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactttatta 660

gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720

gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780

cgtgggaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840

ggagtatatt tagatgttga tatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900

cctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960

aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020

ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080

aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140

gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200

caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgac 1260

aataacttca cagatactac taagattttt catgattcac tatttaattc agctaccgca 1320

gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380

gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg catcagctta ctatgatttc 1440

ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500

aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560

tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620
tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680
ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740
cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800
tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagt 1860
tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980
aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040
ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt gcttggatgt 2100
aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctggtaagtt actattaagt 2160
attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aagattctat tactatagga 2220
gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct agctcactca 2280
ggtaaatgga taaataaaga ggaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340
ttttttgatt ccatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggtttagcg 2400
tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460
tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggtgatta catttattat 2520
gaaaaattag aacctgttaa aaatataatc cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580
ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640
gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttattctgta 2700
agatttatta acaaaagtaa tggtgaatca gtttatgtag agacagaaaa agaaattttt 2760
tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820
gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880
ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940
aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000
aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060
ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120
ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180
gaactagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaacg 3240
gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300
atatctgcgg gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360
tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaag aatatggccc tcttaaaaca 3420
gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480

aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540
acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat atataagctc tcatattcct 3600
tcattatcag tttattctgc aataggtata aaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660
ataatgatgt taccaaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720
ggtttaagat cattggaaaa taatgggact aaattgcttg attcaataag agatttatac 3780
ccaggcaaat tttactggag attctatgcc tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840
ccagtgtatg aagacactaa tactaaaatt aaactagata aagatactag aaactttata 3900
atgccaacta taactactga cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960
ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caatgaatat aaatttatct 4020
aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080
ggtactatta aaaaaggaaa tttaatagaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140
aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gtgatataga taacaaagat 4200
agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260
cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320
ttatctaata ctattgagaa aatcaatact ttaggcctag atagtaaaaa tatagcttac 4380
aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440
agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tggcagtaca 4500
ttagaattta acagtaaaga ctttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560
attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620
tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680
gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
tttatgaatt tatttttgaa caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800
aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920
tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980
cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040
atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100
attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220
acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340

gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400
aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460
tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520
ttctattttg atcctataga atctaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
aaatattatt ttgatataaa tactggagca gcttcaacta gttataaaat tattaatggt 5640
aaacactttt attttaataa taatggtgtg atgcagttag gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgagt attttgcacc tgccaatact cagaataata acatagaagg tcaggctata 5760
gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820
aaagcagtca ctggatggag gattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880
gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940
actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000
gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060
agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtggctcta atggatttga atatttcgca 6120
cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180
ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggatgg 6240
caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300
tggcaaacta ttgatggtaa aaagtattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360
ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacacttc tatagcttca 6420
actggttata caattattaa tggtaaatat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480
ataggagtgt ttaaagtacc taatggattt gaatactttg cacctgctaa tactcataat 6540
aataacatag aaggtcaagc tatactttac caaaataaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600
aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca attactggat ggcaaaccat tgatggtaaa 6660
aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcgactc atctatgcac tataaataac 6720
gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780
aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840
cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcata ataataacat agaaggtcag 6900
gctatagttt accagaataa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960
gactcaaaag cagttactgg atggcaaact attgatagta aaaaatatta ctttaatctt 7020
aacactgctg ttgcagttac tggatggcaa actattgatg gtgaaaaata ttactttaat 7080
cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaag atactacttt 7140
aatactaaca cttatatagc ttcaactggt tatacgatta ttaatggtaa acatttttat 7200
tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctgatgg atttgaatac 7260

tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320

aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380

ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttatatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa catttttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacggat 7620

gctaacaaca tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt actttggcaa tgattcaaaa gcggctactg gttgggcaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa aggacctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagatgg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataactca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat agtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagctggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 17
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 17

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

```
Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350
```

```
Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605
```

```
Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
```

```
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095
```

```
Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335
```

```
Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575
```

```
Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
```

1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Ser
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Ser Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asn Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

```
Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys Tyr  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Val Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

His Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280
```

```
Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520
```

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asp
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Ala Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Ser Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 18
<211> 8133
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 18
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata taagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180
aaatataaaa attcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240
gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agtcctgtag aaaaaaattt acattttgta 300
tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360
aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt caatacacta 420
aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480
caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540
agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600
atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactttatta 660
gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720
gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780
cgtgggaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840
ggagtatatt tagatgttga tatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900
cctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960
aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020
ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080
aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140
gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200
caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgac 1260
aataacttca cagatactac taagattttt catgattcac tatttaattc agctaccgca 1320
gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380
gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg catcagctta ctatgatttc 1440
ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500
aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560
tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620
tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680
ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740
cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800
tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagt 1860
tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980

aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040

ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt gcttggatgt 2100

aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctggtaagtt actattaagt 2160

attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aagattctat tactatagga 2220

gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct agctcactca 2280

ggtaaatgga taaataaaga ggaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340

ttttttgatt ccatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggtttagcg 2400

tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460

tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggtgatta catttattat 2520

gaaaaattag aacctgttaa aaatataatc cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580

ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640

gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttattctgta 2700

agatttatta acaaaagtaa tggtgaatca gtttatgtag agacagaaaa agaaattttt 2760

tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820

gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880

ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940

aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000

aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060

ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120

ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180

gaactagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaacg 3240

gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300

atatctgcgg gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360

tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaag aatatggccc tcttaaaaca 3420

gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480

aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540

acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat atataagctc tcatattcct 3600

tcattatcag tttattctgc aataggtata aaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660

ataatgatgt taccaaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720

ggtttaagat cattggaaaa taatgggact aaattgcttg attcaataag agatttatac 3780

ccaggcaaat tttactggag attctatgcc tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840

ccagtgtatg aagacactaa tactaaaatt aaactagata aagatactag aaactttata 3900

atgccaacta taactactga cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960
ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caatgaatat aaatttatct 4020
aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080
ggtactatta aaaaaggaaa tttaatagaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140
aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gtgatataga taacaaagat 4200
agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260
cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320
ttatctaata ctattgagaa aatcaatact ttaggcctag atagtaaaaa tatagcttac 4380
aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440
agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tggcagtaca 4500
ttagaattta acagtaaaga ctttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560
attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620
tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680
gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
tttatgaatt tatttttgaa caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800
aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920
tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980
cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040
atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100
attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220
acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340
gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400
aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460
tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520
ttctattttg atcctataga atctaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
aaatattatt ttgatataaa tactggagca gcttcaacta gttataaaat tattaatggt 5640
aaacactttt attttaataa taatggtgtg atgcagttag gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgagt attttgcacc tgccaatact cagaataata acatagaagg tcaggctata 5760

gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820

aaagcagtca ctggatggag gattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880

gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940

actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000

gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060

agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtggctcta atggatttga atatttcgca 6120

cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180

ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggatgg 6240

caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300

tggcaaacta ttgatggtaa aaagtattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360

ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacacttc tatagcttca 6420

actggttata caattattaa tggtaaatat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480

ataggagtgt ttaaagtacc taatggattt gaatactttg cacctgctaa tactcataat 6540

aataacatag aaggtcaagc tatactttac caaaataaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600

aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca attactggat ggcaaaccat tgatggtaaa 6660

aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcgactc atctatgcac tataaataac 6720

gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780

aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840

cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcata ataataacat agaaggtcag 6900

gctatagttt accagaataa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960

gactcaaaag cagttactgg atggcaaact attgatagta aaaaatatta ctttaatctt 7020

aacactgctg ttgcagttac tggatggcaa actattgatg gtgaaaaata ttactttaat 7080

cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaag atactacttt 7140

aatactaaca cttatatagc ttcaactggt tatacgatta ttaatggtaa acatttttat 7200

tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctgatgg atttgaatac 7260

tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320

aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380

ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttatatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa catttttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacggat 7620

gctaacaaca tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt actttggcaa tgattcaaaa gcggctactg gttgggcaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa aggacctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagatgg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataactca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat agtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagctggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 19
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 19

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

```
Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
```

405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910
```

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155
```

```
Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                 1165                 1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                 1180                 1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                 1195                 1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
```

1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Leu  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100
```

```
Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
```

2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 20
<211> 8133
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 20
atgtctttaa tatctaaaga agagttaata aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60

aatgagtata aaactatact aactaattta gacgaatata ataagttaac tacaaacaat 120

aatgaaaata aatatttgca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgatgt ttttatgaat 180

aaatataaaa cttcaagcag aaatagagca ctctctaatc taaaaaaaga tatattaaaa 240

gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agccctgtag aaaaaaattt acattttgta 300

tggataggtg gagaagtcag tgatattgct cttgaataca taaaacaatg ggctgatatt 360

aatgcagaat ataatattaa actgtggtat gatagtgaag cattcttagt aaatacacta 420

aaaaaggcta tagttgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480

caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatggaatt tatatatgat 540

agacaaaaaa ggtttataaa ttattataaa tctcaaatca ataaacctac agtacctaca 600
atagatgata ttataaagtc tcatctagta tctgaatata atagagatga aactgtatta 660
gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatgggat agatatcagg 720
gctaatagtt tgtttacaga acaagagtta ttaaatattt atagtcagga gttgttaaat 780
cgtggaaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840
ggagtatatt tagatgttga tatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900
tctagaccta gctctattgg actagaccgt tgggaaatga taaaattaga ggctattatg 960
aagtataaaa aatatataaa taattataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020
ttaaaagata attttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080
aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagctttcgc tttaggcagt 1140
gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200
caagtaaaaa atagatatca atttttaaac caacacctta acccagccat agagtctgat 1260
aataacttca cagatactac taaaattttt catgattcat tatttaattc agctaccgca 1320
gaaaactcta tgtttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380
gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttatg cgtcagctta ctatgatttc 1440
ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500
aaattcccag aaaataatct atctcaattg acagaacaag aaataaatag tctatggagc 1560
tttgatcaag caagtgcaaa atatcaattt gagaaatatg taagagatta tactggtgga 1620
tctctttctg aagacaatgg ggtagacttt aataaaaata ctgccctcga caaaaactat 1680
ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740
cattatatca tacagttaca aggagatgat ataagttatg aagcaacatg caatttattt 1800
tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagc 1860
tacttttaa gtgatgatgg agaatctatt ttagaattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
agattaaaaa ataaggaaaa agtaaaagta acctttattg gacatggtaa agatgaattc 1980
aacacaagcg aatttgctag attaagtgta gattcacttt ccaatgagat aagttcattt 2040
ttagatacca taaaattaga tatatcacct aaaaatgtag aagtaaactt acttggatgt 2100
aatatgttta gttatgattt taatgttgaa gaaacttatc ctgggaagtt gctattaagt 2160
attatggaca aaattacttc cactttacct gatgtaaata aaaattctat tactatagga 2220
gcaaatcaat atgaagtaag aattaatagt gagggaagaa aagaacttct ggctcactca 2280
ggtaaatgga taaataaaga agaagctatt atgagcgatt tatctagtaa agaatacatt 2340
ttttttgatt ctatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggattagca 2400

tcaatatcag aagatataaa aacattatta cttgatgcaa gtgttagtcc tgatacaaaa 2460

tttattttaa ataatcttaa gcttaatatt gaatcttcta ttggggatta catttattat 2520

gaaaaattag agcctgttaa aaatataatt cacaattcta tagatgattt aatagatgag 2580

ttcaatctac ttgaaaatgt atctgatgaa ttatatgaat taaaaaaatt aaataatcta 2640

gatgagaagt atttaatatc ttttgaagat atctcaaaaa ataattcaac ttactctgta 2700

agatttatta acaaaagtaa tggtgagtca gtttatgtag aaacagaaaa agaaattttt 2760

tcaaaatata gcgaacatat tacaaaagaa ataagtacta taaagaatag tataattaca 2820

gatgttaatg gtaatttatt ggataatata cagttagatc atacttctca agttaataca 2880

ttaaacgcag cattctttat tcaatcatta atagattata gtagcaataa agatgtactg 2940

aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttag tacaggttta 3000

aatactatat atgactctat ccaattagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060

ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120

ataaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgacccatt actaaaaaaa 3180

gaattagaag ctaaggtggg tgttttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaact 3240

gtagcttcaa ttgttggaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatagctggt 3300

atatctgcag gaataccttc attagttaat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360

tcagtggtaa actattttaa tcatttgtct gaatctaaaa aatatggccc tcttaaaaca 3420

gaagatgata aaattttagt tcctattgat gatttagtaa tatcagaaat agattttaat 3480

aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggaggggg atcaggacac 3540

acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcatctccat ctataagttc tcatattcct 3600

tcattatcaa tttattctgc aataggtata gaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660

ataatgatgt tacctaatgc tccttcaaga gtgttttggt gggaaactgg agcagttcca 3720

ggtttaagat cattggaaaa tgacggaact agattacttg attcaataag agatttatac 3780

ccaggtaaat tttactggag attctatgct tttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840

ccagtttatg aagacactaa tattaaaatt aaactagata aagatactag aaacttcata 3900

atgccaacta taactactaa cgaaattaga aacaaattat cttattcatt tgatggagca 3960

ggaggaactt actctttatt attatcttca tatccaatat caacgaatat aaatttatct 4020

aaagatgatt tatggatatt taatattgat aatgaagtaa gagaaatatc tatagaaaat 4080

ggtactatta aaaaaggaaa gttaataaaa gatgttttaa gtaaaattga tataaataaa 4140

aataaactta ttataggcaa tcaaacaata gatttttcag gcgatataga taataaagat 4200

agatatatat tcttgacttg tgagttagat gataaaatta gtttaataat agaaataaat 4260

cttgttgcaa aatcttatag tttgttattg tctggggata aaaattattt gatatccaat 4320

ttatctaata ctattgagaa aatcaatact ttaggcctag atagtaaaaa tatagcgtac 4380
aattacactg atgaatctaa taataaatat tttggagcta tatctaaaac aagtcaaaaa 4440
agcataatac attataaaaa agacagtaaa aatatattag aattttataa tgacagtaca 4500
ttagaattta acagtaaaga ttttattgct gaagatataa atgtatttat gaaagatgat 4560
attaatacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620
tctatttctt tagttagtaa aaatcaagta aaagtaaatg gattatattt aaatgaatcc 4680
gtatactcat cttaccttga ttttgtgaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
tttatgaatt tatttttgga caatataagt ttctggaaat tgtttgggtt tgaaaatata 4800
aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
tttatttgtg acaataataa aaatatagat atatattttg gtgaatggaa aacatcgtca 4920
tctaaaagca ctatatttag cggaaatggt agaaatgttg tagtagagcc tatatataat 4980
cctgatacgg gtgaagatat atctacttca ctagattttt cctatgaacc tctctatgga 5040
atagatagat atataaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag tttaataaat 5100
attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
acattccaca aaaaagtaaa tataaattta gatagttctt cttttgagta taaatggtct 5220
acagaaggaa gtgactttat tttagttaga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactcaat catttaataa aatgagtata 5340
gattttaaag atattaaaaa actatcatta ggatatataa tgagtaattt taaatcattt 5400
aattctgaaa atgaattaga tagagatcat ttaggattta aaataataga taataaaact 5460
tattactatg atgaagatag taaattagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520
ttctattttg atcctataga atttaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
aaatattatt ttgatataaa tactggagca gctttaacta gttataaaat tattaatggt 5640
aaacactttt attttaataa tgatggtgtg atgcagttgg gagtatttaa aggacctgat 5700
ggatttgaat attttgcacc tgccaatact caaaataata acatagaagg tcaggctata 5760
gtttatcaaa gtaaattctt aactttgaat ggcaaaaaat attattttga taataactca 5820
aaagcagtca ctggatggag aattattaac aatgagaaat attactttaa tcctaataat 5880
gctattgctg cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattattt caatcctgac 5940
actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttaatggta gtagatacta ctttgatact 6000
gataccgcta ttgcctttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttattttgat 6060
agtgattgtg tagtgaaaat aggtgtgttt agtacctcta atggatttga atattttgca 6120
cctgctaata cttataataa taacatagaa ggtcaggcta tagtttatca aagtaaattc 6180

ttaactttga atggtaaaaa atattacttt gataataact caaaagcagt taccggattg 6240

caaactattg atagtaaaaa atattacttt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300

tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6360

ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tatagcttca 6420

actggttata caattattaa tggtaaacat ttttatttta atactgatgg tattatgcag 6480

ataggagtgt ttaaaggacc taatggattt gaatattttg cacctgctaa tacggatgct 6540

aacaacatag aaggtcaagc tatactttac caaaatgaat tcttaacttt gaatggtaaa 6600

aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca gttactggat ggagaattat taacaataag 6660

aaatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcaattc atctatgcac tataaataat 6720

gacaagtatt actttagtta tgatggaatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780

aataatttct attttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt atttaaagga 6840

cctaatggat ttgagtattt tgcacctgct aatactcaca ataataacat agaaggtcag 6900

gctatagttt accagaacaa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960

gactcaaaag cagttactgg atggcaaacc attgatggta aaaaatatta ctttaatctt 7020

aacactgctg aagcagctac tggatggcaa actattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7080

cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7140

aatactaaca ctttcatagc ctcaactggt tatacaagta ttaatggtaa acatttttat 7200

tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgtttaaag gacctaatgg atttgaatac 7260

tttgcacctg ctaatacgga tgctaacaac atagaaggtc aagctatact ttaccaaaat 7320

aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380

ggactgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgttgcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttctatagct 7500

tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa catttttatt ttaatactga tggtattatg 7560

cagataggag tgtttaaagg acctgatgga tttgaatact ttgcacctgc taatacagat 7620

gctaacaata tagaaggtca agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680

aatatatatt attttggtaa taattcaaaa gcggctactg gttgggtaac tattgatggt 7740

aatagatatt acttcgagcc taatacagct atgggtgcga atggttataa aactattgat 7800

aataaaaatt tttactttag aaatggttta cctcagatag gagtgtttaa agggtctaat 7860

ggatttgaat actttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagaagg tcaagctata 7920

cgttatcaaa atagattcct acatttactt ggaaaaatat attactttgg taataattca 7980

aaagcagtta ctggatggca aactattaat ggtaaagtat attactttat gcctgatact 8040

gctatggctg cagctggtgg acttttcgag attgatggtg ttatatattt ctttggtgtt 8100

gatggagtaa aagcccctgg gatatatggc taa 8133

<210> 21
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 21

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
195 200 205

```
Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460
```

```
Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705                 710                 715                 720
```

```
Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
```

965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Val Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Ile Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Ser His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Ala Glu Ser Glu Gly Ala Phe Thr Ser Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Thr Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

```
Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                 1210                 1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                 1225                 1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                 1240                 1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                 1255                 1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                 1270                 1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Asn Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Asn Glu  Asn Asp Thr Trp Val  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Asn  Ile Leu Ser Lys Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asp  Asn His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Thr Leu  Asn Gly Gly
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Val  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Val Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Thr  Leu Met Ala Asn Ser  Asn Ser Val
    1430                 1435                 1440
```

```
Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Leu Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Met  Asp Asp Lys Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Cys Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Ser Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asn Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Leu  Phe Gly Tyr Cys Ser  Asn Asp Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asp Val Ile  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Ile Gln  Asp Glu Asn
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  Tyr Leu Asp Glu Asn  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Ile  Asn Ser Leu Gln Ser  Asn Thr Lys Leu Ile  Leu Asp Thr
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Lys Asp Asn Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Lys Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680
```

```
Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Ile Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Ile Tyr Glu Ala  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Thr Asn Tyr Ile  Ser Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770

Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
```

1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Thr Ile Asp Glu Asn Val Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Gly Asp Asn Tyr Arg Ala Ala Ile Glu Trp Gln Thr Leu Asp Asp
1940 1945 1950

Glu Val Tyr Tyr Phe Ser Thr Asp Thr Gly Arg Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Phe Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Ile Met Gln Lys Gly Phe Val Asn Ile Asn Asp Lys Thr Phe Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Ser Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys Tyr Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Ala Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asp
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Leu Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Ile Ser Ile
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Lys Tyr Tyr Phe Asn Asp Ser Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Ile Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Glu Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Val Glu Ser Gly Met Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Asn Gly Leu Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asp Pro Glu Thr Lys Lys Ala Tyr Lys Gly Ile Asn Val Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Thr Phe Glu Asp Asn His Tyr Tyr Phe Asn Glu Asp
2255 2260 2265

Gly Ile Met Gln Tyr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Asp Lys Thr Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Ser Glu Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 22
<211> 7101
<212> DNA

<213> Clostridium difficile

<400> 22
atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtgttcag 60

gaagatgaat atgtagcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaagtctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atacctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaa ctatagtaga atcagcaaca aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480

ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttttacagaa aacgtatgga gataatctat 540

gataagcaga aaaatttcat aaattactat aaaactcaaa gagaagaaaa tcctgacctt 600

ataattgatg atattgtaaa gatatatctt tcaaacgagt attcaaagga tatagatgaa 660

cttaattcct atattgaaga gtcattaaat aaagttacag aaaatagtgg gaatgatgtt 720

agaaactttg aagaatttaa aggtggagag tcattcaaat tatatgaaca agagttggta 780

gaaagatgga atttggcagc tgcttctgac atattaagaa tatctgcctt aaaagaagtt 840

ggtggtgtat atttagatgt tgatatgtta ccaggaatac aaccagacct atttgagtct 900

atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tggtaaaatt agaagctata 960

atgaaataca aagaatacat accaggatat acttcagagc attttgatat gttggatgaa 1020

gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataagtc agaaatattc 1080

tcatcacttg gcgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaaa 1140

ggtattataa atcaaggact aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200

aaacaaatcg agaacagata taagatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260

gataacgatt tcaatactac aacgaatgct tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320

gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagcat atgcggcagc ttatcaagat 1440

ttattaatgt ttaaagaagg tagtatgaat atccatttga tagaagctga cttaagaaac 1500

tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc tagcttatgg 1560

tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat acaaaaaaaa ttactttgaa 1620

ggttctcttg gagaagatga caatcttgac ttttctcaaa atacagtagt tgacaaggag 1680

tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740

attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800

actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860

tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920

tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980

gatatatttg caggtcttga tgtagattca ttatccacag aaatagaaac agcaatagat 2040

ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa acttactggg atgtaacatg 2100

tttagctatt ctgtaaatgt agaggagact tatcctggga aattattact tagagttaaa 2160

gataaagtat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220

caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280

tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340

aatcctaaag aaaataaaat tatagtaaaa tctaaaaatt tacctgaatt atctacatta 2400

ttacaagaaa ttagaaacaa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460

ttagcagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cacaagtggt agaaggaagg 2520

attgaagaag ctaaaagctt aacttctgac tctattaatt atataaagaa tgaatttaaa 2580

ctaatagaat ctatttctga tgcactatac gatttaaaac aacagaatga attagaagag 2640

tctcatttta tatcttttga ggatatattg gagactgatg aaggctttag tataagattt 2700

attgataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaggcaat attctctgaa 2760

tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820

aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatgctacac atgaagtgaa tactttaaat 2880

gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940

ttaagtgtag caatgaaagt tcaagtttat gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000

attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagat 3060

ttacttccta cattatctga aggattacct gtaattgcaa ctatcataga tggtgtaagt 3120

ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acaagtgacc cattattaag acaagaaata 3180

gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacagcag ctacaactgc aatcattact 3240

tcatctttag gaatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300

gcaggtatac caagtttagt aaacaatgag cttatcctaa gagataaagc aacaaaagtt 3360

gtagattatt ttagtcatat atcattagct gagtctgaag gagcatttac ttcattagat 3420

gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtaatatctg agatagactt taataacaat 3480

tcaataactt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggctcagg tcatactgta 3540

actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600

tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660

gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720

agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780
gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840
agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ctttatagtc 3900
ccagtgataa ctacagaata tataagagag aaattatcat attcttttta tggttctgga 3960
ggaacttatg cattatctct ttctcaatac aatatgaata taaacataga attaaatgaa 4020
aatgatactt gggttataga tgtcgacaat gtcgtaagag atgtcactat agaatctgat 4080
aaaattaaaa aaggagattt aatagagaat attttatcta aattaagtat tgaagacaat 4140
aaaattattt tagataatca tgaaattaat ttctctggaa cattaaatgg aggtaatgga 4200
tttgtatctt taacattctc aatcttagaa ggaataaatg cagttataga agttgattta 4260
ttatctaaat catataaagt tcttatttct ggtgaactaa aaacattgat ggcaaattca 4320
aattctgttc aacagaaaat agattatata ggattgaaca gcgaattaca aaaaaatata 4380
ccttatagtt ttatggatga taaaggaaaa gaaaatggat ttattaattg ttctacaaaa 4440
gaaggtttat ttgtatctga attatctgat gtagttctta taagtaaagt ttatatggac 4500
aatagtaaac ctctatttgg atattgtagt aatgatttga aagatgttaa agtcataact 4560
aaagatgacg ttattatatt aacaggatat tatttaaaag atgatataaa aatctctctt 4620
tcttttacta tacaagatga aaatactata aaattaaatg gagtatattt agatgaaaat 4680
ggagtagctg aaatattgaa atttatgaat aaaaaaggta gtacaaatac ttcagattct 4740
ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcataaattc cttacaatct 4800
aatactaagc ttatattaga tactaatttt ataataagtg gtactacttc tattggtcaa 4860
tttgagttta tttgtgataa agataataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920
ctagaaacta aatatactct atatgtaggt aatagacaaa atatgatagt agaaccaaat 4980
tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtca ttaatttttc tcagaaatac 5040
ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttataattt cgccaaatat atatacagat 5100
gaaataaaca taacacctat atatgaagca aataatactt atccagaagt gattgtatta 5160
gatacaaatt atataagtga aaaaatcaat attaatatca atgatttatc tatacgatat 5220
gtatggagta atgatggaag tgattttatt cttatgtcaa ctgatgaaga gaacaaggta 5280
tcacaagtta aaataagatt tactaatgtt tttaaaggta atactatatc agataagata 5340
tcttttaatt ttagtgataa gcaagatgta tctataaata aagttatttc aacatttaca 5400
ccttcatatt atgtggaagg attacttaat tatgatttag gtctgatttc tttatacaat 5460
gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtgtctg gattagtata tattaatgat 5520
tcattatatt atttcaagcc accaataaag aacttgataa ctggatttac aactataggt 5580

gatgataaat actactttaa tccagataat ggtggagctg cttcagtcgg agaaacaata 5640

attgatggca aaaactacta cttcagccaa aatggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700

acagaagatg gatttaaata ttttgctcca gcagatacac ttgatgaaaa tctagagggg 5760

gaagcaattg attttactgg caaactaact attgatgaaa atgtttatta ttttggagat 5820

aattatagag cagctataga atggcaaaca ttagatgatg aagtgtacta ttttagtaca 5880

gatacaggta gagcttttaa agggctaaat caaataggtg atgataaatt ctatttcaac 5940

tctgatggta ttatgcaaaa aggatttgtt aatataaatg ataagacatt ctattttgat 6000

gattctggtg tgatgaagtc aggatatact gaaatagatg gaaaatattt ttactttgct 6060

gagaatggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagcag atggatttaa atattttgct 6120

catcatgatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagcac tttcatattc tggtatactt 6180

aattttaaca ataagattta ttattttgat gattcattta cagcagtagt tggatggaag 6240

gatttagaag atggttcaaa atattacttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300

atctcaataa ttaatgatgg taaatattat tttaatgatt ctggaatcat gcaaattgga 6360

tttgtcacaa taaataatga agtattttat ttctctgatt ctggaatagt agaatctgga 6420

atgcaaaata tagatgataa ttatttctat atagacgaaa atggtctagt tcaaattggt 6480

gtatttgaca cttcagatgg atataaatac tttgcaccag ctaatactgt aaatgataat 6540

atctatggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggtgaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactggt tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcgatccaga aactaaaaaa gcatataaag gtattaatgt aattgatgat 6720

ataaaatact attttgatga gaatggaata atgagaacag gtcttataac atttgaagat 6780

aatcattact attttaatga agatggtatt atgcaatatg gttatctaaa tatagaagat 6840

aagacgttct actttagtga agatggtatt atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat attttgcaca tcaaaatact ttagatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 23
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 23

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

```
Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270
```

```
Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
```

515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

```
Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020
```

```
Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Ile Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Ser  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Ala  Glu Ser Glu Gly Ala  Phe Thr Ser Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Thr Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260
```

```
Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Asn Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Asn Glu  Asn Asp Thr Trp Val  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Asn  Ile Leu Ser Lys Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asp  Asn His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Thr Leu  Asn Gly Gly
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Val  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Val Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Thr  Leu Met Ala Asn Ser  Asn Ser Val
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Leu Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Met  Asp Asp Lys Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Cys Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Ser Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asn Ser Lys
```

1490 1495 1500

Pro Leu Phe Gly Tyr Cys Ser Asn Asp Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asp Val Ile Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Ile Gln Asp Glu Asn
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val Tyr Leu Asp Glu Asn Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Ile Asn Ser Leu Gln Ser Asn Thr Lys Leu Ile Leu Asp Thr
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Lys Asp Asn Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Lys Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Ile Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Ile Tyr Glu Ala Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Thr Asn Tyr Ile Ser Glu Lys
1715 1720 1725

```
Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770

Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Thr  Ile Asp Glu Asn Val  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Gly Asp  Asn Tyr Arg Ala Ala  Ile Glu Trp Gln Thr  Leu Asp Asp
    1940                1945                1950

Glu Val  Tyr Tyr Phe Ser Thr  Asp Thr Gly Arg Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965
```

```
Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Phe Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                 1975                 1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Asn Ile Asn Asp Lys  Thr Phe Tyr
    1985                 1990                 1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Ser Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Asn Thr Ala Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asp
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Leu Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Ile Ser Ile
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Lys Tyr Tyr  Phe Asn Asp Ser Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Ile Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Glu Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Val Glu Ser Gly  Met Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Asn Gly  Leu Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205
```

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asp Pro Glu Thr Lys Lys Ala Tyr Lys Gly Ile Asn Val Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Thr Phe Glu Asp Asn His Tyr Tyr Phe Asn Glu Asp
2255 2260 2265

Gly Ile Met Gln Tyr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Asp Lys Thr Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Ser Glu Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 24
<211> 7101
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 24
atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtgttcag 60

gaagatgaat atgtagcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaagtctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atacctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420
ttgaaaaaaa ctatagtaga atcagcaaca aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480
ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttttacagaa aacgtatgga gataatctat 540
gataagcaga aaaatttcat aaattactat aaaactcaaa gagaagaaaa tcctgacctt 600
ataattgatg atattgtaaa gatatatctt tcaaacgagt attcaaagga tatagatgaa 660
cttaattcct atattgaaga gtcattaaat aaagttacag aaaatagtgg gaatgatgtt 720
agaaactttg aagaatttaa aggtggagag tcattcaaat tatatgaaca agagttggta 780
gaaagatgga atttggcagc tgcttctgac atattaagaa tatctgcctt aaaagaagtt 840
ggtggtgtat atttagatgt tgatatgtta ccaggaatac aaccagacct atttgagtct 900
atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tggtaaaatt agaagctata 960
atgaaataca aagaatacat accaggatat acttcagagc attttgatat gttggatgaa 1020
gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataagtc agaaatattc 1080
tcatcacttg gcgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaaa 1140
ggtattataa atcaaggact aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200
aaacaaatcg agaacagata taagatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260
gataacgatt tcaatactac aacgaatgct tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320
gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380
gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagcat atgcggcagc ttatcaagat 1440
ttattaatgt ttaaagaagg tagtatgaat atccatttga tagaagctga cttaagaaac 1500
tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc tagcttatgg 1560
tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat acaaaaaaaa ttactttgaa 1620
ggttctcttg gagaagatga caatcttgac ttttctcaaa atacagtagt tgacaaggag 1680
tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740
attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800
actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860
tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920
tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980
gatatatttg caggtcttga tgtagattca ttatccacag aaatagaaac agcaatagat 2040
ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa acttactggg atgtaacatg 2100
tttagctatt ctgtaaatgt agaggagact tatcctggga aattattact tagagttaaa 2160
gataaagtat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220

caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280

tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340

aatcctaaag aaaataaaat tatagtaaaa tctaaaaatt tacctgaatt atctacatta 2400

ttacaagaaa ttagaaacaa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460

ttagcagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cacaagtggt agaaggaagg 2520

attgaagaag ctaaaagctt aacttctgac tctattaatt atataaagaa tgaatttaaa 2580

ctaatagaat ctatttctga tgcactatac gatttaaaac aacagaatga attagaagag 2640

tctcatttta tatcttttga ggatatattg gagactgatg aaggctttag tataagattt 2700

attgataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaggcaat attctctgaa 2760

tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820

aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatgctacac atgaagtgaa tactttaaat 2880

gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940

ttaagtgtag caatgaaagt tcaagtttat gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000

attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagat 3060

ttacttccta cattatctga aggattacct gtaattgcaa ctatcataga tggtgtaagt 3120

ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acaagtgacc cattattaag acaagaaata 3180

gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacagcag ctacaactgc aatcattact 3240

tcatctttag gaatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300

gcaggtatac caagtttagt aaacaatgag cttatcctaa gagataaagc aacaaaagtt 3360

gtagattatt ttagtcatat atcattagct gagtctgaag gagcatttac ttcattagat 3420

gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtaatatctg agatagactt taataacaat 3480

tcaataactt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggctcagg tcatactgta 3540

actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600

tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660

gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720

agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780

gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840

agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ctttatagtc 3900

ccagtgataa ctacagaata tataagagag aaattatcat attcttttta tggttctgga 3960

ggaacttatg cattatctct ttctcaatac aatatgaata taaacataga attaaatgaa 4020

aatgatactt gggttataga tgtcgacaat gtcgtaagag atgtcactat agaatctgat 4080

aaaattaaaa aaggagattt aatagagaat attttatcta aattaagtat tgaagacaat 4140

aaaattattt tagataatca tgaaattaat ttctctggaa cattaaatgg aggtaatgga 4200
tttgtatctt taacattctc aatcttagaa ggaataaatg cagttataga agttgattta 4260
ttatctaaat catataaagt tcttatttct ggtgaactaa aaacattgat ggcaaattca 4320
aattctgttc aacagaaaat agattatata ggattgaaca gcgaattaca aaaaaatata 4380
ccttatagtt ttatggatga taaaggaaaa gaaaatggat ttattaattg ttctacaaaa 4440
gaaggtttat ttgtatctga attatctgat gtagttctta taagtaaagt ttatatggac 4500
aatagtaaac ctctatttgg atattgtagt aatgatttga aagatgttaa agtcataact 4560
aaagatgacg ttattatatt aacaggatat tatttaaaag atgatataaa aatctctctt 4620
tcttttacta tacaagatga aaatactata aaattaaatg gagtatattt agatgaaaat 4680
ggagtagctg aaatattgaa atttatgaat aaaaaaggta gtacaaatac ttcagattct 4740
ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcataaattc cttacaatct 4800
aatactaagc ttatattaga tactaatttt ataataagtg gtactacttc tattggtcaa 4860
tttgagttta tttgtgataa agataataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920
ctagaaacta aatatactct atatgtaggt aatagacaaa atatgatagt agaaccaaat 4980
tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtca ttaatttttc tcagaaatac 5040
ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttataattt cgccaaatat atatacagat 5100
gaaataaaca taacacctat atatgaagca aataatactt atccagaagt gattgtatta 5160
gatacaaatt atataagtga aaaaatcaat attaatatca atgatttatc tatacgatat 5220
gtatggagta atgatggaag tgattttatt cttatgtcaa ctgatgaaga gaacaaggta 5280
tcacaagtta aaataagatt tactaatgtt tttaaaggta atactatatc agataagata 5340
tcttttaatt ttagtgataa gcaagatgta tctataaata aagttatttc aacatttaca 5400
ccttcatatt atgtggaagg attacttaat tatgatttag gtctgatttc tttatacaat 5460
gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtgtctg gattagtata tattaatgat 5520
tcattatatt atttcaagcc accaataaag aacttgataa ctggatttac aactataggt 5580
gatgataaat actactttaa tccagataat ggtggagctg cttcagtcgg agaaacaata 5640
attgatggca aaaactacta cttcagccaa aatggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700
acagaagatg gatttaaata ttttgctcca gcagatacac ttgatgaaaa tctagagggg 5760
gaagcaattg attttactgg caaactaact attgatgaaa atgtttatta ttttggagat 5820
aattatagag cagctataga atggcaaaca ttagatgatg aagtgtacta ttttagtaca 5880
gatacaggta gagcttttaa agggctaaat caaataggtg atgataaatt ctatttcaac 5940
tctgatggta ttatgcaaaa aggatttgtt aatataaatg ataagacatt ctattttgat 6000

gattctggtg tgatgaagtc aggatatact gaaatagatg gaaaatattt ttactttgct 6060

gagaatggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagcag atggatttaa atattttgct 6120

catcatgatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagcac tttcatattc tggtatactt 6180

aattttaaca ataagattta ttattttgat gattcattta cagcagtagt tggatggaag 6240

gatttagaag atggttcaaa atattacttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300

atctcaataa ttaatgatgg taaatattat tttaatgatt ctggaatcat gcaaattgga 6360

tttgtcacaa taaataatga agtattttat ttctctgatt ctggaatagt agaatctgga 6420

atgcaaaata tagatgataa ttatttctat atagacgaaa atggtctagt tcaaattggt 6480

gtatttgaca cttcagatgg atataaatac tttgcaccag ctaatactgt aaatgataat 6540

atctatggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggtgaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactggt tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcgatccaga aactaaaaaa gcatataaag gtattaatgt aattgatgat 6720

ataaaatact attttgatga gaatggaata atgagaacag gtcttataac atttgaagat 6780

aatcattact attttaatga agatggtatt atgcaatatg gttatctaaa tatagaagat 6840

aagacgttct actttagtga agatggtatt atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat attttgcaca tcaaaatact ttagatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 25
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 25

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val

65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

```
Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575
```

```
Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830
```

```
Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
```

1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile
1295 1300 1305

```
Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545
```

```
Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785
```

```
Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
```

2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 26
<211> 7101
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 26
atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgtaagatt tcgtactcaa 60

gaagatgaat atgttgcaat attggatgct ttagaagaat atcataatat gtcagagaat 120

actgtagtcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaata gtttaacaga tatttatata 180

gatacatata aaaaatctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatttaagga atatctagtt 240

acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300

gtttggattg gaggtcaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360

gtaaatagtg attataatgt taatgttttt tatgatagta atgcattttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaa ctgtagtaga atcagcaata aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480

ttaaatgacc ctagatttga ctataataaa ttcttcagaa aacgtatgga aataatttat 540

gataaacaga aaaatttcat aaactactat aaagctcaaa gagaagaaaa tcctgaactt 600

ataattgatg atattgtaaa gacatatctt tcaaatgagt attcaaagga gatagatgaa 660

cttaatacct atattgaaga atccttaaat aaaattacac agaatagtgg aaatgatgtt 720

agaaactttg aagaatttaa aaatggagag tcattcaact tatatgaaca agagttggta 780

gaaaggtgga atttagctgc tgcttctgac atattaagaa tatctgcatt aaaagaaatt 840

ggtggtatgt atttagatgt tgatatgtta ccaggaatac aaccagactt atttgagtct 900

atagagaaac ctagttcagt aacagtggat ttttgggaaa tgacaaagtt agaagctata 960

atgaaataca aagaatatat accagaatat acctcagaac attttgacat gttagacgaa 1020

gaagttcaaa gtagttttga atctgttcta gcttctaagt cagataaatc agaaatattc 1080

tcatcacttg gtgatatgga ggcatcacca ctagaagtta aaattgcatt taatagtaag 1140

ggtattataa atcaagggct aatttctgtg aaagactcat attgtagcaa tttaatagta 1200

aaacaaatcg agaatagata taaaatattg aataatagtt taaatccagc tattagcgag 1260

gataatgatt ttaatactac aacgaatacc tttattgata gtataatggc tgaagctaat 1320

gcagataatg gtagatttat gatggaacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaagtggc cctgaagcat atgcggcagc ttatcaagat 1440

ttattaatgt ttaaagaagg cagtatgaat atccatttga tagaagctga tttaagaaac 1500

tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc tagcttatgg 1560

tcatttgacg atgcaagagc taaagctcaa tttgaagaat ataaaaggaa ttattttgaa 1620

ggttctcttg gtgaagatga taatcttgat ttttctcaaa atatagtagt tgacaaggag 1680

tatcttttag aaaaaatatc ttcattagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740

attgttcagt tacaaggaga taaaattagt tatgaagcag catgtaactt atttgcaaag 1800

actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860

tataatcctg gagatggtga aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920

tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggtcatg gtaaagatga atttaatact 1980

gatatatttg caggttttga tgtagattca ttatccacag aaatagaagc agcaatagat 2040

ttagctaaag aggatatttc tcctaagtca atagaaataa atttattagg atgtaatatg 2100

tttagctact ctatcaacgt agaggagact tatcctggaa aattattact taaagttaaa 2160

gataaaatat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgcaaat 2220

caatatgaag ttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtgaa 2280

tggataaata aagaagaaag tattataaag gatatttcat caaaagaata tatatcattt 2340

aatcctaaag aaaataaaat tacagtaaaa tctaaaaatt tacctgagct atctacatta 2400

ttacaagaaa ttagaaataa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460

ttaacagaat gtgagataaa tgttatttca aatatagata cgcaaattgt tgaggaaagg 2520

attgaagaag ctaagaattt aacttctgac tctattaatt atataaaaga tgaatttaaa 2580

ctaatagaat ctatttctga tgcactatgt gacttaaaac aacagaatga attagaagat 2640

tctcatttta tatcttttga ggacatatca gagactgatg agggatttag tataagattt 2700

attaataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaaacaat attctctgaa 2760

tatgctaatc atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820

aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaattta gatactacac acgaagtaaa tactttaaat 2880

gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940

ttaagtgtag caatgaaagt ccaagtttac gctcaattat ttagtactgg tttaaatact 3000

attacagatg cagccaaagt tgttgaatta gtatcaactg cattagatga aactatagac 3060

ttacttccta cattatctga aggattacct ataattgcaa ctattataga tggtgtaagt 3120

ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acgagtgacc cattattaag acaagaaata 3180

gaagctaaga taggtataat ggcagtaaat ttaacaacag ctacaactgc aatcattact 3240

tcatctttgg ggatagctag tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaatttca 3300

gcaggtatac caagcttagt aaacaatgaa cttgtacttc gagataaggc aacaaaggtt 3360

gtagattatt ttaaacatgt ttcattagtt gaaactgaag gagtatttac tttattagat 3420

gataaaataa tgatgccaca agatgattta gtgatatcag aaatagattt taataataat 3480

tcaatagttt taggtaaatg tgaaatctgg agaatggaag gtggttcagg tcatactgta 3540

actgatgata tagatcactt cttttcagca ccatcaataa catatagaga gccacactta 3600

tctatatatg acgtattgga agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatttaatg 3660

gtattaccta atgctccaaa tagagtattt gcttgggaaa caggatggac accaggttta 3720

agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgta taagagataa ctatgaaggt 3780

gagttttatt ggagatattt tgcttttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840

agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ttttatagtt 3900

ccaataataa ctacagaata tataagagaa aaattatcat attctttcta tggttcagga 3960

ggaacttatg cattgtctct ttctcaatat aatatgggta taaatataga attaagtgaa 4020

agtgatgttt ggattataga tgttgataat gttgtgagag atgtaactat agaatctgat 4080

aaaattaaaa aaggtgattt aatagaaggt attttatcta cactaagtat tgaagagaat 4140

aaaattatct taaatagcca tgagattaat ttttctggtg aggtaaatgg aagtaatgga 4200

tttgtttctt taacattttc aattttagaa ggaataaatg caattataga agttgattta 4260

ttatctaaat catataaatt acttatttct ggcgaattaa aaatattgat gttaaattca 4320

aatcatattc aacagaaaat agattatata ggattcaata gcgaattaca gaaaaatata 4380

ccatatagct ttgtagatag tgaaggaaaa gagaatggtt ttattaatgg ttcaacaaaa 4440

gaaggtttat ttgtatctga attacctgat gtagttctta taagtaaggt ttatatggat 4500

gatagtaagc cttcatttgg atattatagt aataatttga aagatgtcaa agttataact 4560

aaagataatg ttaatatatt aacaggttat tatcttaagg atgatataaa aatctctctt 4620
tctttgactc tacaagatga aaaaactata aagttaaata gtgtgcattt agatgaaagt 4680
ggagtagctg agattttgaa gttcatgaat agaaaaggta atacaaatac ttcagattct 4740
ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcgttaattt cttacaatct 4800
aatattaagt ttatattaga tgctaatttt ataataagtg gtactacttc tattggccaa 4860
tttgagttta tttgtgatga aaatgataat atacaaccat atttcattaa gtttaataca 4920
ctagaaacta attatacttt atatgtagga aatagacaaa atatgatagt ggaaccaaat 4980
tatgatttag atgattctgg agatatatct tcaactgtta tcaatttctc tcaaaagtat 5040
ctttatggaa tagacagttg tgttaataaa gttgtaattt caccaaatat ttatacagat 5100
gaaataaata taacgcctgt atatgaaaca aataatactt atccagaagt tattgtatta 5160
gatgcaaatt atataaatga aaaaataaat gttaatatca atgatctatc tatacgatat 5220
gtatggagta atgatggtaa tgattttatt cttatgtcaa ctagtgaaga aaataaggtg 5280
tcacaagtta aaataagatt cgttaatgtt tttaaagata agactttggc aaataagcta 5340
tcttttaact ttagtgataa acaagatgta cctgtaagtg aaataatctt atcatttaca 5400
ccttcatatt atgaggatgg attgattggc tatgatttgg gtctagtttc tttatataat 5460
gagaaatttt atattaataa ctttggaatg atggtatctg gattaatata tattaatgat 5520
tcattatatt attttaaacc accagtaaat aatttgataa ctggatttgt gactgtaggc 5580
gatgataaat actactttaa tccaattaat ggtggagctg cttcaattgg agagacaata 5640
attgatgaca aaaattatta tttcaaccaa agtggagtgt tacaaacagg tgtatttagt 5700
acagaagatg gatttaaata ttttgcccca gctaatacac ttgatgaaaa cctagaagga 5760
gaagcaattg attttactgg aaaattaatt attgacgaaa atatttatta ttttgatgat 5820
aattatagag gagctgtaga atggaaagaa ttagatggtg aaatgcacta ttttagccca 5880
gaaacaggta aagcttttaa aggtctaaat caaataggtg attataaata ctatttcaat 5940
tctgatggag ttatgcaaaa aggatttgtt agtataaatg ataataaaca ctattttgat 6000
gattctggtg ttatgaaagt aggttacact gaaatagatg gcaagcattt ctactttgct 6060
gaaaacggag aaatgcaaat aggagtattt aatacagaag atggatttaa atattttgct 6120
catcataatg aagatttagg aaatgaagaa ggtgaagaaa tctcatattc tggtatatta 6180
aatttcaata ataaaattta ctattttgat gattcattta cagctgtagt tggatggaaa 6240
gatttagagg atggttcaaa gtattatttt gatgaagata cagcagaagc atatataggt 6300
ttgtcattaa taaatgatgg tcaatattat tttaatgatg atggaattat gcaagttgga 6360
tttgtcacta taaatgataa agtcttctac ttctctgact ctggaattat agaatctgga 6420

gtacaaaaca tagatgacaa ttatttctat atagatgata atggtatagt tcaaattggt 6480

gtatttgata cttcagatgg atataaatat tttgcacctg ctaatactgt aaatgataat 6540

atttacggac aagcagttga atatagtggt ttagttagag ttggggaaga tgtatattat 6600

tttggagaaa catatacaat tgagactgga tggatatatg atatggaaaa tgaaagtgat 6660

aaatattatt tcaatccaga aactaaaaaa gcatgcaaag gtattaattt aattgatgat 6720

ataaaatatt attttgatga gaagggcata atgagaacgg gtcttatatc atttgaaaat 6780

aataattatt actttaatga gaatggtgaa atgcaatttg gttatataaa tatagaagat 6840

aagatgttct attttggtga agatggtgtc atgcagattg gagtatttaa tacaccagat 6900

ggatttaaat actttgcaca tcaaaatact ttggatgaga attttgaggg agaatcaata 6960

aactatactg gttggttaga tttagatgaa aagagatatt attttacaga tgaatatatt 7020

gcagcaactg gttcagttat tattgatggt gaggagtatt attttgatcc tgatacagct 7080

caattagtga ttagtgaata g 7101

<210> 27
<211> 26039
<212> DNA
<213> Clostridium difficile

<400> 27
agctagtctt ggtgtattgt tagcaggatt ttttaatttg ccaattgaat tagttgcagc 60

cgttggctat gctagtgtct ttggtagtgc tacaaatact ttttttgcac ctgtatttat 120

aggggcagaa gtttttggat acagctattt accttatttc tttgtagtat gcgctatttc 180

atatatattt aatatggata aatctattta ttcactacaa aaaatttcaa caaaacaata 240

aataaaacaa cataatgtat gattagaaga gaaagaatat tagagaaagg atagggtagg 300

aatatgttga caagtttagc tttgattttt ttattaggaa tggcctcggg aggtattttt 360

aagaggataa agttacctaa cttattggga atgttactta caggaattat attaggtcca 420

tatgttttaa atttgattga taattcaata ctagatattt cttctgacct tagaaagatt 480

gcattgatta ttatattaac aagggctgga ttatctttag atataaacga tttgaagaaa 540

gtgggaagac ctgctgtact tatgtgcttt attccagcta cttttgaaat tatcggaatg 600

atagttttag caccaaagtt actaggcgtt tctatattgg aagcagcagt catgggtgca 660

gtagtaggag cagtttctcc tgcaattatt gtacctaaaa tgcttaaatt aatggaagaa 720

ggttatggta cagaaaaaag tattccacag atgcttttag caggaacttc tatagacgat 780

attttcgtaa ttgtgatgtt tacagtattc acaggattgg cacaaggaaa tagtatatca 840

gctattagtt ttttacaaat tccagtatca attatattag gtgtaatagc tggagcagtg 900

attggaatct gtttagcagt atttttaag aaggttcata tgagagattc tgctaaaggg 960

gtgttgcttt taagtatctc atttttaatg ataagtttag aaactgcttt agagggtatt 1020

gtgccatttt ctggattatt agcagttatg agtattggga ttttccttca gataaaatat 1080

cgtgtagttg caagaagatt gtctataaag tattcaaaac tatgggttgg cgctgaaatt 1140

ctcttgtttg ttttggtagg ggcaacagta gatataagtt atgcatttaa agcaggaatt 1200

ggagctgtaa ttttaatatt tggagttctt ttattccgta tgtaggagta ttcttctgcc 1260

ttattaagac aaatttgaca ataaaggaaa gattgttctg tatgattggc tatattccaa 1320

aggctacagt acaggcagca ataggaggtg taccacttgc aatggggatg gcatctggac 1380

aacttatttt gacgttagca gttctcgcta tacttataac tgcacctctt ggagcttttg 1440

gaattgatgt aacttataaa aaattattaa cttctgtaaa aggcgagagt aagtaaaaat 1500

aaagattatt ttaactggta agttatattt tggaaaagga ttatactatt gaatacaata 1560

taaaaaaatc atttgggaga ttaagaaggt agaagttaag aacagatttt aaggtatgtt 1620

atgattatta gaattgattt tgtgaaatta ttattgtaat atttaattat atagataaag 1680

aagcggagtg ataactatgt gtttaaaaaa attatcaaaa ttagagttag ttattatgaa 1740

atttatttgg aatttagata taaaaaccaa ttcatatgag attattgatt atatgaaaga 1800

agaacataat ttaccagaaa aagtagcttt aaaaacttta tcaaaactat caaagaaaaa 1860

attcttatat gttcaagaaa caggcaagtg tatgtattat acagttgcaa taaaagaaaa 1920

ggcatattta gagtttatat caagaaatgt gcaaaatctt ttgaagaata attttataag 1980

gaatttatta gtatcatttc acgaagagga gctaacagag gaaaagataa agtcgttaga 2040

aaactgggta gtaaattggg aagaagctta tgtataaatg ttattatttt tattacaatt 2100

tagataattt tggttttgta agctctgcaa ctatttttag atggttgcag agtttatttt 2160

tatttttat tcccttaagc aatacttaaa agtaaacgca tttatattta ctaacttcaa 2220

ttacttctaa tacttaaatt acttttaaa aatattttga tatgtcatct ctatagtaat 2280

ctagaacttg tttctattct ttatataaag tttttatgaa tgatatatat aatattcgtt 2340

catttgatta aaaataacaa aatattaaat aattctactc tgatagtttg ttaaaaaaat 2400

aataaaaaat attaataaac aaaaaaaaaa ttatcttaag agaggagaat gttataatat 2460

aaaaaggttt ctagatttca taaaagatac tattttagtc ttgaaaatat ttagtttgaa 2520

aagattttaa tttaatgatt gattaagtta aaaatgtgta tgtaataaat tttattttat 2580

ttattgacta aattataaag tttacataat tatttaataa ttatgtaatt gttacttgaa 2640

aattgatcta ttttaaaatc tagttataac ttcaaaaaag actgaaaatt aagaaaaaag 2700

aaatataaat ataaaaatat gtcatataga ttttttttat tttactttaa taaaatgatt 2760

tgtttttaca atactttatt aatataaagt ttattgctaa aatactttat ttattagaaa 2820

aagattacta attaattatt aaaattaatg tattcataat gcatattttc atataaaatt 2880

taatttattt gccgattata taattataat tactgattta attccaatgt tgttcaaaat 2940
tttcaaataa agcatcatta taaatataag agagggtgat tttatgcaaa agtcttttta 3000
tgaattaatt gttttagcaa gaaataactc agtagatgat ttgcaagaaa ttttatttat 3060
gtttaagcca ttagtaaaaa aacttagtag agttttacat tatgaagagg gagaaacaga 3120
tttaataata ttttttattg aattaataaa aaatattaaa ttaagtagct tttcagaaaa 3180
aagcgatgct attatagtca aatatattca taaatcatta ctgaataaga cttttgagtt 3240
gtctagaaga tattctaaaa tgaagtttaa ttttgtagaa tttgatgaaa atatcttaaa 3300
tatgaaaaat aattatcaaa gtaagtctgt ttttgaggaa gatatttgtt ttttcgaata 3360
tattttgaaa gaattatctg gtattcaaag aaaagttatt ttttataaat atttaaaagg 3420
atattctgat agagaaatat cagtgaaatt aaaaatatct agacaagctg ttaataaggc 3480
taaaaataga gcatttaaaa aaataaaaaa agactatgaa aattatttta acttgtaatt 3540
aatgagctta aagagatatt tataatagaa atcaaatttt agaattaact ttattgtaaa 3600
atcaataact taatctaaga atatcttaat ttttatattt tatatagaac aaagtttaca 3660
tatttatttc agacaacgtc tttattcaat cgaagagcaa attaatcaac tgagtgtctt 3720
aaatttaaaa tgttaggaag tgaatgtata tgaaaaccta agtagatatt agtatatttt 3780
ataaatagaa aggaggatat ataaaagagt tttagcattt agatgtaaaa atattatagt 3840
aaaggagaaa attttatgag tttagttaat agaaaacagt tagaaaaaat ggcaaatgta 3900
agatttcgta ctcaagaaga tgaatatgtt gcaatattgg atgctttaga agaatatcat 3960
aatatgtcag agaatactgt agtcgaaaaa tatttaaaat taaaagatat aaatagttta 4020
acagatattt atatagatac atataaaaaa tctggtagaa ataaagcctt aaaaaaattt 4080
aaggaatatc tagttacaga agtattagag ctaaagaata ataatttaac tccagttgag 4140
aaaaatttac attttgtttg gattggaggt caaataaatg acactgctat taattatata 4200
aatcaatgga aagatgtaaa tagtgattat aatgttaatg ttttttatga tagtaatgca 4260
ttttgataa acacattgaa aaaaactgta gtagaatcag caataaatga tacacttgaa 4320
tcatttagag aaaacttaaa tgaccctaga tttgactata ataaattctt cagaaaacgt 4380
atggaaataa tttatgataa acagaaaaat ttcataaact actataaagc tcaaagagaa 4440
gaaaatcctg aacttataat tgatgatatt gtaaagacat atctttcaaa tgagtattca 4500
aaggagatag atgaacttaa tacctatatt gaagaatcct taaataaaat tacacagaat 4560
agtggaaatg atgttagaaa ctttgaagaa tttaaaaatg gagagtcatt caacttatat 4620
gaacaagagt tggtagaaag gtggaattta gctgctgctt ctgacatatt aagaatatct 4680
gcattaaaag aaattggtgg tatgtattta gatgttgata tgttaccagg aatacaacca 4740

gacttatttg agtctataga gaaacctagt tcagtaacag tggatttttg ggaaatgaca 4800

aagttagaag ctataatgaa atacaaagaa tatataccag aatatacctc agaacatttt 4860

gacatgttag acgaagaagt tcaaagtagt tttgaatctg ttctagcttc taagtcagat 4920

aaatcagaaa tattctcatc acttggtgat atggaggcat caccactaga agttaaaatt 4980

gcatttaata gtaagggtat tataaatcaa gggctaattt ctgtgaaaga ctcatattgt 5040

agcaatttaa tagtaaaaca aatcgagaat agatataaaa tattgaataa tagtttaaat 5100

ccagctatta gcgaggataa tgattttaat actacaacga tacctttat tgatagtata 5160

atggctgaag ctaatgcaga taatggtaga tttatgatgg aactaggaaa gtatttaaga 5220

gttggtttct tcccagatgt taaaactact attaacttaa gtggccctga agcatatgcg 5280

gcagcttatc aagatttatt aatgtttaaa gaaggcagta tgaatatcca tttgatagaa 5340

gctgatttaa gaaactttga aatctctaaa actaatattt ctcaatcaac tgaacaagaa 5400

atggctagct tatggtcatt tgacgatgca agagctaaag ctcaatttga agaatataaa 5460

aggaattatt ttgaaggttc tcttggtgaa gatgataatc ttgatttttc tcaaaatata 5520

gtagttgaca aggagtatct tttagaaaaa atatcttcat tagcaagaag ttcagagaga 5580

ggatatatac actatattgt tcagttacaa ggagataaaa ttagttatga agcagcatgt 5640

aacttatttg caaagactcc ttatgatagt gtactgtttc agaaaaatat agaagattca 5700

gaaattgcat attattataa tcctggagat ggtgaaatac aagaaataga caagtataaa 5760

attccaagta taatttctga tagacctaag attaaattaa catttattgg tcatggtaaa 5820

gatgaattta atactgatat atttgcaggt tttgatgtag attcattatc cacagaaata 5880

gaagcagcaa tagatttagc taaagaggat atttctccta agtcaataga aataaattta 5940

ttaggatgta atatgtttag ctactctatc aacgtagagg agacttatcc tggaaaatta 6000

ttacttaaag ttaaagataa aatatcagaa ttaatgccat ctataagtca agactctatt 6060

atagtaagtg caaatcaata tgaagttaga ataaatagtg aaggaagaag agaattattg 6120

gatcattctg gtgaatggat aaataaagaa gaaagtatta taaaggatat ttcatcaaaa 6180

gaatatatat catttaatcc taaagaaaat aaaattacag taaaatctaa aaatttacct 6240

gagctatcta cattattaca agaaattaga aataattcta attcaagtga tattgaacta 6300

gaagaaaaag taatgttaac agaatgtgag ataaatgtta tttcaaatat agatacgcaa 6360

attgttgagg aaaggattga agaagctaag aatttaactt ctgactctat taattatata 6420

aaagatgaat ttaaactaat agaatctatt tctgatgcac tatgtgactt aaaacaacag 6480

aatgaattag aagattctca ttttatatct tttgaggaca tatcagagac tgatgaggga 6540

tttagtataa gatttattaa taaagaaact ggagaatcta tatttgtaga aactgaaaaa 6600

acaatattct ctgaatatgc taatcatata actgaagaga tttctaagat aaaaggtact 6660

atatttgata ctgtaaatgg taagttagta aaaaaagtaa atttagatac tacacacgaa 6720
gtaaatactt taaatgctgc atttttttata caatcattaa tagaatataa tagttctaaa 6780
gaatctctta gtaatttaag tgtagcaatg aaagtccaag tttacgctca attatttagt 6840
actggtttaa atactattac agatgcagcc aaagttgttg aattagtatc aactgcatta 6900
gatgaaacta tagacttact tcctacatta tctgaaggat tacctataat tgcaactatt 6960
atagatggtg taagtttagg tgcagcaatc aaagagctaa gtgaaacgag tgacccatta 7020
ttaagacaag aaatagaagc taagataggt ataatggcag taaatttaac aacagctaca 7080
actgcaatca ttacttcatc tttggggata gctagtggat ttagtatact tttagttcct 7140
ttagcaggaa tttcagcagg tataccaagc ttagtaaaca atgaacttgt acttcgagat 7200
aaggcaacaa aggttgtaga ttattttaaa catgtttcat tagttgaaac tgaaggagta 7260
tttactttat tagatgataa aataatgatg ccacaagatg atttagtgat atcagaaata 7320
gattttaata ataattcaat agttttaggt aaatgtgaaa tctggagaat ggaaggtggt 7380
tcaggtcata ctgtaactga tgatatagat cacttctttt cagcaccatc aataacatat 7440
agagagccac acttatctat atatgacgta ttggaagtac aaaaagaaga acttgatttg 7500
tcaaaagatt taatggtatt acctaatgct ccaaatagag tatttgcttg ggaaacagga 7560
tggacaccag gtttaagaag cttagaaaat gatggcacaa aactgttaga ccgtataaga 7620
gataactatg aaggtgagtt ttattggaga tattttgctt ttatagctga tgctttaata 7680
acaacattaa aaccaagata tgaagatact aatataagaa taaatttaga tagtaatact 7740
agaagtttta tagttccaat aataactaca gaatatataa gagaaaaatt atcatattct 7800
ttctatggtt caggaggaac ttatgcattg tctctttctc aatataatat gggtataaat 7860
atagaattaa gtgaaagtga tgtttggatt atagatgttg ataatgttgt gagagatgta 7920
actatagaat ctgataaaat taaaaaaggt gatttaatag aaggtatttt atctacacta 7980
agtattgaag agaataaaat tatcttaaat agccatgaga ttaatttttc tggtgaggta 8040
aatggaagta atggatttgt ttctttaaca ttttcaattt tagaaggaat aaatgcaatt 8100
atagaagttg atttattatc taaatcatat aaattactta tttctggcga attaaaaata 8160
ttgatgttaa attcaaatca tattcaacag aaaatagatt atataggatt caatagcgaa 8220
ttacagaaaa atataccata tagctttgta gatagtgaag gaaaagagaa tggttttatt 8280
aatggttcaa caaaagaagg tttatttgta tctgaattac ctgatgtagt tcttataagt 8340
aaggtttata tggatgatag taagccttca tttggatatt atagtaataa tttgaaagat 8400
gtcaaagtta taactaaaga taatgttaat atattaacag gttattatct taaggatgat 8460
ataaaaatct ctctttcttt gactctacaa gatgaaaaaa ctataaagtt aaatagtgtg 8520

catttagatg aaagtggagt agctgagatt ttgaagttca tgaatagaaa aggtaataca 8580

aatacttcag attctttaat gagctttta gaaagtatga atataaaaag tattttcgtt 8640

aatttcttac aatctaatat taagtttata ttagatgcta attttataat aagtggtact 8700

acttctattg gccaatttga gtttatttgt gatgaaaatg ataatataca accatatttc 8760

attaagttta atacactaga aactaattat actttatatg taggaaatag acaaaatatg 8820

atagtggaac caaattatga tttagatgat tctggagata tatcttcaac tgttatcaat 8880

ttctctcaaa agtatcttta tggaatagac agttgtgtta ataaagttgt aatttcacca 8940

aatatttata cagatgaaat aaatataacg cctgtatatg aaacaaataa tacttatcca 9000

gaagttattg tattagatgc aaattatata aatgaaaaaa taaatgttaa tatcaatgat 9060

ctatctatac gatatgtatg gagtaatgat ggtaatgatt ttattcttat gtcaactagt 9120

gaagaaaata aggtgtcaca agttaaaata agattcgtta atgtttttaa agataagact 9180

ttggcaaata agctatcttt taactttagt gataaacaag atgtacctgt aagtgaaata 9240

atcttatcat ttacaccttc atattatgag gatggattga ttggctatga tttgggtcta 9300

gtttctttat ataatgagaa attttatatt aataactttg gaatgatggt atctggatta 9360

atatatatta atgattcatt atattatttt aaaccaccag taaataattt gataactgga 9420

tttgtgactg taggcgatga taaatactac tttaatccaa ttaatggtgg agctgcttca 9480

attggagaga caataattga tgacaaaaat tattatttca accaaagtgg agtgttacaa 9540

acaggtgtat ttagtacaga agatggattt aaatattttg ccccagctaa tacacttgat 9600

gaaaacctag aaggagaagc aattgatttt actggaaaat taattattga cgaaaatatt 9660

tattattttg atgataatta tagaggagct gtagaatgga aagaattaga tggtgaaatg 9720

cactatttta gcccagaaac aggtaaagct tttaaaggtc taaatcaaat aggtgattat 9780

aaatactatt tcaattctga tggagttatg caaaaaggat ttgttagtat aaatgataat 9840

aaacactatt ttgatgattc tggtgttatg aaagtaggtt acactgaaat agatggcaag 9900

catttctact ttgctgaaaa cggagaaatg caaataggag tatttaatac agaagatgga 9960

tttaaatatt ttgctcatca taatgaagat ttaggaaatg aagaaggtga agaaatctca 10020

tattctggta tattaaattt caataataaa atttactatt ttgatgattc atttacagct 10080

gtagttggat ggaaagattt agaggatggt tcaaagtatt attttgatga agatacagca 10140

gaagcatata taggtttgtc attaataaat gatggtcaat attattttaa tgatgatgga 10200

attatgcaag ttggatttgt cactataaat gataaagtct tctacttctc tgactctgga 10260

attatagaat ctggagtaca aaacatagat gacaattatt tctatataga tgataatggt 10320

atagttcaaa ttggtgtatt tgatacttca gatggatata aatattttgc acctgctaat 10380

actgtaaatg ataatattta cggacaagca gttgaatata gtggtttagt tagagttggg 10440

gaagatgtat attattttgg agaaacatat acaattgaga ctggatggat atatgatatg 10500
gaaaatgaaa gtgataaata ttatttcaat ccagaaacta aaaaagcatg caaaggtatt 10560
aatttaattg atgatataaa atattatttt gatgagaagg gcataatgag aacgggtctt 10620
atatcatttg aaaataataa ttattacttt aatgagaatg gtgaaatgca atttggttat 10680
ataaatatag aagataagat gttctatttt ggtgaagatg gtgtcatgca gattggagta 10740
tttaatacac cagatggatt taaatacttt gcacatcaaa atactttgga tgagaatttt 10800
gagggagaat caataaacta tactggttgg ttagatttag atgaaaagag atattatttt 10860
acagatgaat atattgcagc aactggttca gttattattg atggtgagga gtattatttt 10920
gatcctgata cagctcaatt agtgattagt gaatagataa aaatatgtta aatatatcct 10980
cttatactta aatatataaa aataaacaaa atgatacact acataaagtg ttctatctaa 11040
tatgaagatt taccaataaa aaggtggact atgatgaatg cacagtagtt caccttttta 11100
tatttctaat ggtaacaaaa tatttttta tataaaccta ggaggcgtta tgaatatgac 11160
aatatctttt ttatcagagc atatatttat aaagttagta attttaacta tatcatttga 11220
tacattatta ggatgtttaa gtgcaataaa aagtcgtaaa tttaattcta gttttggaat 11280
agatggagga atcagaaaag tagcaatgat agcatgtata tttttttta cagtagttga 11340
cattcttaca aagtttaact ttttatttat gttaccacaa gattgtatca atttttaag 11400
actaaaacat cttggaatat ctgaattttt ctctatttta tttattttat atgaaagtgt 11460
aagtatatta aaaaatatgt gcttatgtgg attaccagta cctaagagat taaaggaaaa 11520
aatagcaatt ttactagatg caatgacaga tgaaatgaat gctaaggatg aaaagtaagt 11580
aatggtagat ataataaaga tattaacaaa taaaaagtgt tatccaaata agaatagctg 11640
aaagttatca taattcatga aactaataat gaaaacgagg gagcagatgc caagagacac 11700
acaagtatta aatacatata atttcgaagc aagtgttcat tactatatag atgacaaggt 11760
agtatatcaa acattggttc acaaagatgg tgcatggtca gttggtaaaa tctattaagc 11820
tacattagtt acagatatca caaactataa tagttaaaca tagaaatatg tgtaaattgt 11880
gatggaaatt attcaaaaac acaaaaatac gtgatgaagg acaaaatgat atagaaaata 11940
agtatcaaac cttaataaat gatttaattg atagtttaaa agttatagga aaaatatata 12000
aagaaataaa aacattaaaa aaatataaga tatgtttaca aattactatc agacaatctc 12060
cttatctaat agaagagtca attaactaat tgagtatctt taaattgaaa tgttaggaag 12120
tgatttaaat atgaaaactt aaattataaa aaatcaatat taatttattt ttaaaaaata 12180
gaaaggagtg tataagattt attttcaaag tttaaaaaca agaaaatcaa tttaaatttc 12240
agaaggaata aatgtggtta tagaagtgga tttattatca aaaataataa tactaggagg 12300

ttttatgtc tttaatatct aaagaagagt taataaaact cgcatatagc attagaccaa 12360

gagaaaatga gtataaaact atactaacta atttagacga atataataag ttaactacaa 12420

acaataatga aaataaatat ttgcaattaa aaaaactaaa tgaatcaatt gatgttttta 12480

tgaataaata taaaacttca agcagaaata gagcactctc taatctaaaa aaagatatat 12540

taaaagaagt aattcttatt aaaaattcca atacaagccc tgtagaaaaa aatttacatt 12600

ttgtatggat aggtggagaa gtcagtgata ttgctcttga atacataaaa caatgggctg 12660

atattaatgc agaatataat attaaactgt ggtatgatag tgaagcattc ttagtaaata 12720

cactaaaaaa ggctatagtt gaatcttcta ccactgaagc attacagcta ctagaggaag 12780

agattcaaaa tcctcaattt gataatatga aattttacaa aaaaaggatg gaatttatat 12840

atgatagaca aaaaaggttt ataaattatt ataaatctca aatcaataaa cctacagtac 12900

ctacaataga tgatattata aagtctcatc tagtatctga atataataga gatgaaactg 12960

tattagaatc atatagaaca aattctttga gaaaaataaa tagtaatcat gggatagata 13020

tcagggctaa tagtttgttt acagaacaag agttattaaa tatttatagt caggagttgt 13080

taaatcgtgg aaatttagct gcagcatctg acatagtaag attattagcc ctaaaaaatt 13140

ttggcggagt atatttagat gttgatatgc ttccaggtat tcactctgat ttatttaaaa 13200

caatatctag acctagctct attggactag accgttggga aatgataaaa ttagaggcta 13260

ttatgaagta taaaaaatat ataaataatt atacatcaga aaactttgat aaacttgatc 13320

aacaattaaa agataatttt aaactcatta tagaaagtaa aagtgaaaaa tctgagatat 13380

tttctaaatt agaaaattta aatgtatctg atcttgaaat taaaatagct ttcgctttag 13440

gcagtgttat aaatcaagcc ttgatatcaa aacaaggttc atatcttact aacctagtaa 13500

tagaacaagt aaaaaataga tatcaatttt taaaccaaca ccttaaccca gccatagagt 13560

ctgataataa cttcacagat actactaaaa tttttcatga ttcattattt aattcagcta 13620

ccgcagaaaa ctctatgttt ttaacaaaaa tagcaccata cttacaagta ggttttatgc 13680

cagaagctcg ctccacaata agtttaagtg gtccaggagc ttatgcgtca gcttactatg 13740

atttcataaa tttacaagaa aatactatag aaaaaacttt aaaagcatca gatttaatag 13800

aatttaaatt cccagaaaat aatctatctc aattgacaga acaagaaata aatagtctat 13860

ggagctttga tcaagcaagt gcaaaatatc aatttgagaa atatgtaaga gattatactg 13920

gtggatctct ttctgaagac aatggggtag actttaataa aaatactgcc ctcgacaaaa 13980

actatttatt aaataataaa attccatcaa acaatgtaga agaagctgga agtaaaaatt 14040

atgttcatta tatcatacag ttacaaggag atgatataag ttatgaagca acatgcaatt 14100

tattttctaa aaatcctaaa aatagtatta ttatacaacg aaatatgaat gaaagtgcaa 14160

aaagctactt tttaagtgat gatggagaat ctattttaga attaaataaa tataggatac 14220

ctgaaagatt aaaaaataag gaaaaagtaa aagtaacctt tattggacat ggtaaagatg 14280
aattcaacac aagcgaattt gctagattaa gtgtagattc actttccaat gagataagtt 14340
catttttaga taccataaaa ttagatatat cacctaaaaa tgtagaagta aacttacttg 14400
gatgtaatat gtttagttat gattttaatg ttgaagaaac ttatcctggg aagttgctat 14460
taagtattat ggacaaaatt acttccactt tacctgatgt aaataaaaat tctattacta 14520
taggagcaaa tcaatatgaa gtaagaatta atagtgaggg aagaaaagaa cttctggctc 14580
actcaggtaa atggataaat aaagaagaag ctattatgag cgatttatct agtaaagaat 14640
acatttttt tgattctata gataataagc taaaagcaaa gtccaagaat attccaggat 14700
tagcatcaat atcagaagat ataaaaacat tattacttga tgcaagtgtt agtcctgata 14760
caaaatttat tttaaataat cttaagctta atattgaatc ttctattggg gattacattt 14820
attatgaaaa attagagcct gttaaaaata taattcacaa ttctatagat gatttaatag 14880
atgagttcaa tctacttgaa aatgtatctg atgaattata tgaattaaaa aaattaaata 14940
atctagatga gaagtattta atatcttttg aagatatctc aaaaaataat tcaacttact 15000
ctgtaagatt tattaacaaa agtaatggtg agtcagttta tgtagaaaca gaaaaagaaa 15060
ttttttcaaa atatagcgaa catattacaa aagaaataag tactataaag aatagtataa 15120
ttacagatgt taatggtaat ttattggata atatacagtt agatcatact tctcaagtta 15180
atacattaaa cgcagcattc tttattcaat cattaataga ttatagtagc aataaagatg 15240
tactgaatga tttaagtacc tcagttaagg ttcaacttta tgctcaacta tttagtacag 15300
gtttaaatac tatatatgac tctatccaat tagtaaattt aatatcaaat gcagtaaatg 15360
atactataaa tgtactacct acaataacag aggggatacc tattgtatct actatattag 15420
acggaataaa cttaggtgca gcaattaagg aattactaga cgaacatgac ccattactaa 15480
aaaaagaatt agaagctaag gtgggtgttt tagcaataaa tatgtcatta tctatagctg 15540
caactgtagc ttcaattgtt ggaataggtg ctgaagttac tattttctta ttacctatag 15600
ctggtatatc tgcaggaata ccttcattag ttaataatga attaatattg catgataagg 15660
caacttcagt ggtaaactat tttaatcatt tgtctgaatc taaaaaatat ggccctctta 15720
aaacagaaga tgataaaatt ttagttccta ttgatgattt agtaatatca gaaatagatt 15780
ttaataataa ttcgataaaa ctaggaacat gtaatatatt agcaatggag gggggatcag 15840
gacacacagt gactggtaat atagatcact ttttctcatc tccatctata agttctcata 15900
ttccttcatt atcaatttat tctgcaatag gtatagaaac agaaaatcta gatttttcaa 15960
aaaaaataat gatgttacct aatgctcctt caagagtgtt ttggtgggaa actggagcag 16020
ttccaggttt aagatcattg gaaaatgacg gaactagatt acttgattca ataagagatt 16080

tatacccagg taaattttac tggagattct atgctttttt cgattatgca ataactacat 16140

taaaaccagt ttatgaagac actaatatta aaattaaact agataaagat actagaaact 16200

tcataatgcc aactataact actaacgaaa ttagaaacaa attatcttat tcatttgatg 16260

gagcaggagg aacttactct ttattattat cttcatatcc aatatcaacg aatataaatt 16320

tatctaaaga tgatttatgg atatttaata ttgataatga agtaagagaa atatctatag 16380

aaaatggtac tattaaaaaa ggaaagttaa taaaagatgt tttaagtaaa attgatataa 16440

ataaaaataa acttattata ggcaatcaaa caatagattt ttcaggcgat atagataata 16500

aagatagata tatattcttg acttgtgagt tagatgataa aattagttta ataatagaaa 16560

taaatcttgt tgcaaaatct tatagtttgt tattgtctgg ggataaaaat tatttgatat 16620

ccaatttatc taatactatt gagaaaatca atactttagg cctagatagt aaaaatatag 16680

cgtacaatta cactgatgaa tctaataata aatattttgg agctatatct aaaacaagtc 16740

aaaaaagcat aatacattat aaaaaagaca gtaaaaatat attagaattt tataatgaca 16800

gtacattaga atttaacagt aaagatttta ttgctgaaga tataaatgta tttatgaaag 16860

atgatattaa tactataaca ggaaaatact atgttgataa taatactgat aaaagtatag 16920

atttctctat ttctttagtt agtaaaaatc aagtaaaagt aaatggatta tatttaaatg 16980

aatccgtata ctcatcttac cttgattttg tgaaaaattc agatggacac cataatactt 17040

ctaattttat gaatttattt ttggacaata taagtttctg gaaattgttt gggtttgaaa 17100

atataaattt tgtaatcgat aaatacttta cccttgttgg taaaactaat cttggatatg 17160

tagaatttat ttgtgacaat aataaaaata tagatatata ttttggtgaa tggaaaacat 17220

cgtcatctaa aagcactata tttagcggaa atggtagaaa tgttgtagta gagcctatat 17280

ataatcctga tacgggtgaa gatatatcta cttcactaga tttttcctat gaacctctct 17340

atggaataga tagatatata aataaagtat tgatagcacc tgatttatat acaagtttaa 17400

taaatattaa taccaattat tattcaaatg agtactaccc tgagattata gttcttaacc 17460

caaatacatt ccacaaaaaa gtaaatataa atttagatag ttcttctttt gagtataaat 17520

ggtctacaga aggaagtgac tttattttag ttagatactt agaagaaagt aataaaaaaa 17580

tattacaaaa aataagaatc aaaggtatct tatctaatac tcaatcattt aataaaatga 17640

gtatagattt taaagatatt aaaaaactat cattaggata tataatgagt aattttaaat 17700

catttaattc tgaaaatgaa ttagatagag atcatttagg atttaaaata atagataata 17760

aaacttatta ctatgatgaa gatagtaaat tagttaaagg attaatcaat ataaataatt 17820

cattattcta ttttgatcct atagaattta acttagtaac tggatggcaa actatcaatg 17880

gtaaaaaata ttattttgat ataaatactg gagcagcttt aactagttat aaaattatta 17940

atggtaaaca cttttatttt aataatgatg gtgtgatgca gttgggagta tttaaaggac 18000

ctgatggatt tgaatatttt gcacctgcca atactcaaaa taataacata gaaggtcagg 18060
ctatagttta tcaaagtaaa ttcttaactt tgaatggcaa aaaatattat tttgataata 18120
actcaaaagc agtcactgga tggagaatta ttaacaatga gaaatattac tttaatccta 18180
ataatgctat tgctgcagtc ggattgcaag taattgacaa taataagtat tatttcaatc 18240
ctgacactgc tatcatctca aaaggttggc agactgttaa tggtagtaga tactactttg 18300
atactgatac cgctattgcc tttaatggtt ataaaactat tgatggtaaa cacttttatt 18360
ttgatagtga ttgtgtagtg aaaataggtg tgtttagtac ctctaatgga tttgaatatt 18420
ttgcacctgc taatacttat aataataaca tagaaggtca ggctatagtt tatcaaagta 18480
aattcttaac tttgaatggt aaaaaatatt actttgataa taactcaaaa gcagttaccg 18540
gattgcaaac tattgatagt aaaaaatatt actttaatac taacactgct gaagcagcta 18600
ctggatggca aactattgat ggtaaaaaat attactttaa tactaacact gctgaagcag 18660
ctactggatg gcaaactatt gatggtaaaa aatattactt taatactaac actgctatag 18720
cttcaactgg ttatacaatt attaatggta aacatttta ttttaatact gatggtatta 18780
tgcagatagg agtgtttaaa ggacctaatg gatttgaata ttttgcacct gctaatacgg 18840
atgctaacaa catagaaggt caagctatac tttaccaaaa tgaattctta actttgaatg 18900
gtaaaaaata ttactttggt agtgactcaa aagcagttac tggatggaga attattaaca 18960
ataagaaata ttactttaat cctaataatg ctattgctgc aattcatcta tgcactataa 19020
ataatgacaa gtattacttt agttatgatg gaattcttca aaatggatat attactattg 19080
aaagaaataa tttctatttt gatgctaata atgaatctaa aatggtaaca ggagtattta 19140
aaggacctaa tggatttgag tattttgcac ctgctaatac tcacaataat aacatagaag 19200
gtcaggctat agtttaccag aacaaattct taactttgaa tggcaaaaaa tattattttg 19260
ataatgactc aaaagcagtt actggatggc aaaccattga tggtaaaaaa tattacttta 19320
atcttaacac tgctgaagca gctactggat ggcaaactat tgatggtaaa aaatattact 19380
ttaatcttaa cactgctgaa gcagctactg gatggcaaac tattgatggt aaaaaatatt 19440
actttaatac taacactttc atagcctcaa ctggttatac aagtattaat ggtaaacatt 19500
tttattttaa tactgatggt attatgcaga taggagtgtt taaaggacct aatggatttg 19560
aatactttgc acctgctaat acggatgcta acaacataga aggtcaagct atactttacc 19620
aaaataaatt cttaactttg aatggtaaaa aatattactt tggtagtgac tcaaaagcag 19680
ttaccggact gcgaactatt gatggtaaaa aatattactt taatactaac actgctgttg 19740
cagttactgg atggcaaact attaatggta aaaaatacta ctttaatact aacacttcta 19800
tagcttcaac tggttataca attattagtg gtaaacattt ttattttaat actgatggta 19860

ttatgcagat aggagtgttt aaaggacctg atggatttga atactttgca cctgctaata 19920

cagatgctaa caatatagaa ggtcaagcta tacgttatca aaatagattc ctatatttac 19980

atgacaatat atattatttt ggtaataatt caaaagcggc tactggttgg gtaactattg 20040

atggtaatag atattacttc gagcctaata cagctatggg tgcgaatggt tataaaacta 20100

ttgataataa aaatttttac tttagaaatg gtttacctca gataggagtg tttaaagggt 20160

ctaatggatt tgaatacttt gcacctgcta atacggatgc taacaatata gaaggtcaag 20220

ctatacgtta tcaaaataga ttcctacatt tacttggaaa aatatattac tttggtaata 20280

attcaaaagc agttactgga tggcaaacta ttaatggtaa agtatattac tttatgcctg 20340

atactgctat ggctgcagct ggtggacttt tcgagattga tggtgttata tatttctttg 20400

gtgttgatgg agtaaaagcc cctgggatat atggctaaaa tatatgtttg ataaaaaatt 20460

attcctgtgc tactaagaaa ttatttttat ataataaata ttgagattta attaaaagtc 20520

atgtgttatt gtaatacatg acttttagtt aaaatttttc tatcatttaa taatctatta 20580

ttcttgacta ttttataata aaattcatat atggaaatat taatactaaa taattaatag 20640

ttgataaaaa atagataata tgctaaaagc aaaaactaat ttagagcctt gtaactgttt 20700

atttgcaatt ataaaaacat ctttaaacat attgactata atataaaata ttaactataa 20760

tacaaaacaa tattaattaa ttttctctac agctatccct ggtatagtta tatttccacc 20820

catagttgat tcataagtta tagttccagc acttatacct cttatagtta tgtaatcatc 20880

ctctaatact cttgaaggag ttattgattt tttataacta catagtacaa ccttatcata 20940

atttccagac acagctaatc ttatttgcac ctcatcacca tcttcaataa cttgaataac 21000

cttaccttca aatttacctt ttgtactata atcatcaggt gttctagcta attggtcata 21060

agtaatacca gtatcatatc ctttcttctc ctcttcttct tttttgcgtt gttcttcagc 21120

ctttttagct tcttcagctt ttttagcttc ttcagcttta cgttgatttt cagcttcaat 21180

agctttcttt tcgtcgtctt tcattttgaa ccatggttca gcatcagaca atttgctatt 21240

taaagtttct atttctgttt tttgagaatc tataactgat gtttggttag aaatgacctc 21300

ctcatggtct tcagaacaag ctggtgagga tatattgcca aaaaacacgc ctaaaataaa 21360

tgccagtaga gcaataccct ttgtgctctt aaagaattta attattttct tagagcttcc 21420

ttttccttca ttactaaatt cgttaccctc attttttta gaaaacataa tacaatctcc 21480

cttttattag atatatttta ttttaaaagt taaaaactta aaataactag ttgactaaaa 21540

attatatatt catattttcc taaaatatat ttcccctaag cataatttta caaaataaag 21600

taagaagatt caatatattt tgaaaaaata agataaaaat gtcagattat aatataattt 21660

tcttgaaggt gaattttata tattaaatta aacataaagt attttatttg tataaaacta 21720

tattatgatg taattaagtg actcagtgat ttagaggtgg taaaatatat atatatgaaa 21780

gagcataaat aaattgatat aataaaaaat taaatattaa atattaacta taataaaaaa 21840
atatctggta ataggtataa tataaaaaga atataccaga aagaaggtga agtatgggag 21900
aactacaaaa aattccaggg gtagggaaag caacagaaaa atctttaatc atgttaggat 21960
atacaactat taaatcactt aaagatgcaa acccagcaca aatgtatgaa aaggaatgtt 22020
taatgcgtgg acagcacata gacagatgtc agttatatgt atacagatgt gcagtatatt 22080
ttgcatcaac tgaaaatcca gaaccagaaa aattaaagtg gtggtattgg aaagattaaa 22140
aaatcaaaaa agttagacat aaaaaagagt tgaatatccg ttttaaataa taaaaactaa 22200
tactcaactc ttttttagtc gtaaatttta tgtaaatcta tttgtatggc taaatatacc 22260
catcaataaa tgtataaata taccaatcaa caaatgacta aacatactac ctaacaaagg 22320
attaaataaa ttacttaaca aagcattcta aaacaattaa ttagaaactg tttcttcaag 22380
ccattttcta cattgctcaa tatttaccat agggtcaaaa ccttggtctt ttcccttatt 22440
taaaagcata tcacaaggga aagtatcaca ttcaccacaa tgattaagtt ccttactttc 22500
acagcaagtt ttaaccttac attctccacc ccaaaatggt ttttccatag ttgggcaacc 22560
agtgcaattt acttgttctt tttttgtaca actgtcacaa cagacaccac atcttgattc 22620
aaacatgttc aaacatcctt tccattattt aaaaatatta taaaatgatt ttagatgaat 22680
acaaaagtgc aaatagttga ttttaggtca tctaaatgtt aaacataaag ttattagtac 22740
tggtaaattt ataaaaacta ttccaaaaat ctttttgaat atttcaaaac acaataaatt 22800
acttcaaatc cctttgaata tattttacag cattatagat tgctttaaat ctctttgaat 22860
attctacaag actatagatt agtttaaatc tctttgagta ttctacaaga ctatagatta 22920
gtttaaatcc ctttgaatat ttcaaaacac catagattac tttaaattcc tttgaatatt 22980
ctataacact ataaattact tttaactttt atataaccat aaagttttta tctggcactt 23040
taaatggagt tttatatcaa atttgccttc catcgaataa ccaaacttaa tttaattaca 23100
cattccaaga gtcaaatatt cattcaatat atttgataat tctatgttat agctataatt 23160
aaatatagat tattaaagtt aaatatttat ttaatatatt gaatgatttt ttacctatat 23220
ttaattaagt ttcattatat aatataaaaa ttgtttttgc attaagtttt aatataatac 23280
ataataattt taaataataa tattattata tatttttaa ttttaggagt atatctatta 23340
tatagcgagt agataaaaca tataaaattc aaataaaaga tatatatttt taaattaaaa 23400
tggatataga tttcaactaa aaagaatata aatttcaaac ccaaaaatat ctagcattta 23460
ccattaagaa ataacatcat tctttctaaa atttctattg gcaatttcag aaaatactat 23520
agtagtaata aatgcaacac atattgtaac tatagtgtca ttaacattta aagcagattg 23580
ctttataacc cccatacgac tacctaacat agaataaggg aaaaatatac caacagcagg 23640

ttttgctact attaatccca taccaaatag agaaaggcaa agactaatac caataggagt 23700
tgcaaaactt ctaatcttta tagacatgta taattgtata gaagctattg aaatagaaat 23760
aatccaacct ttagcaatcc aaccagtcaa ttctttaggt acactaccag aaaaaccaaa 23820
catatttcct gcaactatat aaaagataac aaagaaaact tgtgtaatag ctgtaagtat 23880
tgaaactact gtaagtttag ataaaaagat atttttaaa ttaactggca gtgtcattac 23940
attattccaa ttatgattca tatgttcaag cctacaaata tatgcacaaa agattgcgat 24000
taagatagga aagaaaaatt ccccataaaa aagactaact tgagtccata agctgtacca 24060
ttctttttg agtatgcctt gatttagata aaaattacca gaaccaatca acacacttat 24120
aagtggcaaa gctagtaata cataccatat aaaagaattt tttaacttta gaatttctcc 24180
caaaactgac ttccttaaca tttaaatccc tcctatactt ctttttttaa taaatgattt 24240
cttccaatat aataaattag cattccaatt aagaaaacta aaatcgtaat agaaaaattc 24300
atatcaattc tatagacaga tgaacctaaa acattatcat aagcataact taaaggtgat 24360
aactctaggt aataagacca tataaacaat ctacgaatac cttgataaaa caaacctgat 24420
gtcaaaccta taaaactacc aatcatgcca aatgtaattg caatcatttg atttggaatt 24480
acagttgcaa tccataggtg tagtgcaatg atagcaatac ttacaagaat tgttcctaat 24540
gtgtatttta aaagtaaaga tacagaaatt gactcaataa cccctctaaa atgtccaaac 24600
aacacaatag ataacacttg catcaataca ggtatagata ccaaaatagc agaacataaa 24660
aatttagata aataaatagt atttaaagat gtcacagaag attttaaaag cttccatgta 24720
tctcctttat gttctatatc gcttatacgt gatgtaatta ttgatattaa gataggaaag 24780
aatagaccat ttaaacttgc aaaactcata agcatatagg aatattcaaa tccacctaac 24840
atatctggat tacgtgtaat agccctattt gaatttacga tacaccacat tatttcaaca 24900
gctacaaata aaaaggtcat cagaataatc ttctttcttt taagtttata aaattctaga 24960
ccaaggtatt tcattataaa gtcaccgcct taccagtaat tctaagaata tatcttccaa 25020
gctttttta tgttcttcta ttctaaatac atctatattt gaatggacaa gcataccatt 25080
tattttagcg acatctgagt cttttaaatt ttcaatagtc aagtacccat cttgtataag 25140
tgacatatat cctttagtat ttaatagttt ttgtgcagat acaacattct tagttttgat 25200
agcaatctga ctttgacctc tattatgaag ttcttttatg ctatcttgaa aaaccagttc 25260
gccatgattt attattccta ttgatgtggc aatttggtca atttcactta aaagatggct 25320
agagattaga acagtcatcc cgtatttttc tggtagagat tttattaatt ctctaatttc 25380
ctcaatccct gctgggtcga gtccatttgt aggttcatca agtattaata atttgggaaa 25440
cttcattatt gccatagcaa tgccaagacg ttgcttcata cctaaagaat attgactaac 25500
ttttttattt ttttgatttt ctaaccttac aatttttaat gcttcattta catttttttt 25560

aggtaaatct aagagtcttt gcattatggt catgttttca agccctgtaa gatgaccata 25620

gtatgatgga gattctatca aagaacctat atcttttaaa attgatattc tatttttttc 25680

atttaactct ttacctaaaa tattaatatt tccttgtgtg ggtttagcaa gtccaagaag 25740

cattttaaga gtggtagatt ttccagctcc attaggaccc aaaaaaccat atacagctcc 25800

ttgtggaact cttaggtcta tatcctttac tctaaatatt ttattgtatt cctttgaaag 25860

tctttgtgtt ctaattatca tttccatatg tttcatcccc ttttttaatc tgtgcttatt 25920

gattctttta acttatatca gtataataac ttggttacat ttcaattagc tgaaatttac 25980

cttacaataa ccttaaaagt ctatttaggc aaagttgtga aaatgggtat atggtatac 26039

<210> 28
<211> 193
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 28

Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu Tyr Ile Lys Gln
1 5 10 15

Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu Trp Tyr Asp Ser
20 25 30

Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile Val Glu Ser Ser
35 40 45

Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile Gln Asn Pro Gln
50 55 60

Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu Phe Ile Tyr Asp
65 70 75 80

Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln Ile Asn Lys Pro
85 90 95

Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His Leu Val Ser Glu
100 105 110

Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg Thr Asn Ser Leu
115 120 125

Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg Ala Asn Ser Leu
130 135 140

Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln Glu Leu Leu Asn
145 150 155 160

Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg Leu Leu Ala Leu
165 170 175

Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly Ile
180 185 190

His

<210> 29
<211> 542
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 29

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

```
Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
```

420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu
530 535 540

<210> 30
<211> 193
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 30

Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile Asn Tyr Ile Asn
1 5 10 15

Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn Val Phe Tyr Asp
20 25 30

Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr Val Val Glu Ser
35 40 45

Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn Leu Asn Asp Pro
50 55 60

Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met Glu Ile Ile Tyr
65 70 75 80

Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala Gln Arg Glu Glu
85 90 95

Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr Tyr Leu Ser Asn

100 105 110

Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr Ile Glu Glu Ser
115 120 125

Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val Arg Asn Phe Glu
130 135 140

Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu Gln Glu Leu Val
145 150 155 160

Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu Arg Ile Ser Ala
165 170 175

Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly
180 185 190

Ile

<210> 31
<211> 543
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 31

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn

115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu
530 535 540

<210> 32
<211> 267
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 32

Ser Glu Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys
1 5 10 15

Asn Tyr Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala
20 25 30

Gly Ser Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp
35 40 45

Ile Ser Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn
50 55 60

Ser Ile Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Leu Ser Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile
85 90 95

Pro Glu Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly
100 105 110

His Gly Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val
115 120 125

Asp Ser Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu
130 135 140

Asp Ile Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met
145 150 155 160

Phe Ser Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu
165 170 175

Leu Ser Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys
180 185 190

Asn Ser Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser
195 200 205

Glu Gly Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys
210 215 220

Glu Glu Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe
225 230 235 240

Asp Ser Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly
245 250 255

Leu Ala Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu
260 265

<210> 33
<211> 224
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 33

Gly Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys
1 5 10 15

Glu Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg
20 25 30

Gly Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr
35 40 45

Glu Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu
50 55 60

Phe Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Gly Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile
85 90 95

Ile Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys
100 105 110

Asp Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu
115 120 125

Ser Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser
130 135 140

Pro Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr
145 150 155 160

Ser Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val
165 170 175

Lys Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile
180 185 190

Ile Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
195 200 205

Arg Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser
210 215 220

<210> 34
<211> 2710
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: mutant C. difficile TcdA

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (101)..(101)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (269)..(269)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (272)..(272)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (285)..(285)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (287)..(287)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (460)..(460)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (462)..(462)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (541)..(541)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (542)..(542)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (543)..(543)
<223> Xaa is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (589)..(589)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (655)..(655)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (700)..(700)
<223> Xaa is any amino acid.

<400> 34

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Xaa Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
```

225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Xaa Ile Val Xaa
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Xaa Val Xaa Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Xaa Ala Xaa Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

```
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Xaa Xaa Xaa Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Xaa Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly Xaa Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Xaa Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735
```

```
Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990
```

```
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
```

```
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455
```

```
Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695
```

```
Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935
```

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
```

2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

```
Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640
```

```
Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 35
<211> 2366
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: mutant C. difficile TcdB

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (102)..(102)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (270)..(270)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (273)..(273)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (286)..(286)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (288)..(288)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (384)..(384)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (520)..(520)

<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (543)..(543)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (544)..(544)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (587)..(587)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (600)..(600)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (653)..(653)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (698)..(698)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (751)..(751)
<223> Xaa is any amino acid.

<400> 35

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15


Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45


Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60


Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80


Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95
```

```
Asn Leu His Phe Val Xaa Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Xaa Ile Leu
            260                 265                 270

Xaa Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Xaa Val Xaa
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350
```

```
Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Xaa
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Ala Val Ala Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Xaa Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Xaa Xaa
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Xaa Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Xaa Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605
```

```
Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly Xaa Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Xaa Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
```

```
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095
```

```
Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335
```

```
Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575
```

```
Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
```

1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

```
Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280
```

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 36
<211> 146
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: variable light chain of A3-25 mAb IgE

<400> 36

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr His Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Met Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Ile His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Ser Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
100 105 110

Ser Gln Thr Thr Tyr Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Ser
145

<210> 37
<211> 189
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: variable heavy chain of A3-25 mAb IgE

<400> 37

Met Tyr Leu Gly Leu Asn Cys Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Ser Glu Val Asn Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser His Asn Tyr Ala Thr His
65 70 75 80

Phe Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Ser Ala Val Ser Leu Gln Met Thr Asn Leu Thr Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Gly Ile Phe Tyr Cys Thr Trp Asp Tyr Tyr Gly Asn Pro Ala Phe Val
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Ile Arg
130 135 140

Asn Pro Gln Leu Tyr Pro Leu Lys Pro Cys Lys Gly Thr Ala Ser Met
145 150 155 160

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Gly Pro Val Thr Val
165 170 175

Thr Trp Tyr Ser Asp Ser Leu Asn Met Ser Thr Val Asn
180 185

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR1 of the variable light chain of A3-25 mAb

<400> 38

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR2 of the variable light chain of A3-25 mAb

<400> 39

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR3 of the variable light chain of A3-25 mAb

<400> 40

Ser Gln Thr Thr Tyr Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR1 of the variable heavy chain of A3-25 mAb

<400> 41

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10

<210> 42
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR2 of the variable heavy chain of A3-25 mAb

<400> 42

Glu Ile Arg Leu Lys Ser His Asn Tyr Ala Thr His Phe Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence: CDR3 of the variable heavy chain of A3-25 mAb

<400> 43

Asp Tyr Tyr Gly Asn Pro Ala Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 8142
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdA gene (D285A D287A mutations)

<400> 44
catatgtctt taatatctaa agaagagtta ataaaactcg catatagcat tagaccaaga 60

gaaaatgagt ataaaactat actaactaat ttagacgaat ataataagtt aactacaaac 120

aataatgaaa ataaatattt acaattaaaa aaactaaatg aatcaattga tgtttttatg 180

aataaatata aaacttcaag cagaaataga gcactctcta atctaaaaaa agatatatta 240

aaagaagtaa ttcttattaa aaattccaat acaagccctg tagaaaaaaa tttacatttt 300

gtatggatag gtggagaagt cagtgatatt gctcttgaat acataaaaca atgggctgat 360

attaatgcag aatataatat taaactgtgg tatgatagtg aagcattctt agtaaataca 420

ctaaaaaagg ctatagttga atcttctacc actgaagcat tacagctact agaggaagag 480

attcaaaatc ctcaatttga taatatgaaa ttttacaaaa aaaggatgga atttatatat 540

gatagacaaa aaaggtttat aaattattat aaatctcaaa tcaataaacc tacagtacct 600

acaatagatg atattataaa gtctcatcta gtatctgaat ataatagaga tgaaactgta 660

ttagaatcat atagaacaaa ttctttgaga aaaataaata gtaatcatgg gatagatatc 720

agggctaata gtttgtttac agaacaagag ttattaaata tttatagtca ggagttgtta 780

aatcgtggaa atttagctgc agcatctgac atagtaagat tattagccct aaaaaatttt 840

ggcggagtat atttagcagt tgcaatgctt ccaggtattc actctgattt atttaaaaca 900

atatctagac ctagctctat tggactagac cgttgggaaa tgataaaatt agaggctatt 960

atgaagtata aaaaatatat aaataattat acatcagaaa actttgataa acttgatcaa 1020

caattaaaag ataattttaa actcattata gaaagtaaaa gtgaaaaatc tgagatattt 1080

tctaaattag aaaatttaaa tgtatctgat cttgaaatta aaatagcttt cgctttaggc 1140

agtgttataa atcaagcctt gatatcaaaa caaggttcat atcttactaa cctagtaata 1200

gaacaagtaa aaaatagata tcaattttta aaccaacacc ttaacccagc catagagtct 1260

gataataact tcacagatac tactaaaatt tttcatgatt cattatttaa ttcagctacc 1320

gcagaaaact ctatgttttt aacaaaaata gcaccatact tacaagtagg ttttatgcca 1380

gaagctcgct ccacaataag tttaagtggt ccaggagctt atgcgtcagc ttactatgat 1440

ttcataaatt tacaagaaaa tactatagaa aaaactttaa aagcatcaga tttaatagaa 1500

tttaaattcc cagaaaataa tctatctcaa ttgacagaac aagaaataaa tagtctatgg 1560

agctttgatc aagcaagtgc aaaatatcaa tttgagaaat atgtaagaga ttatactggt 1620

ggatctcttt ctgaagacaa tggggtagac tttaataaaa atactgccct cgacaaaaac 1680

tatttattaa ataataaaat tccatcaaac aatgtagaag aagctggaag taaaaattat 1740

gttcattata tcatacagtt acaaggagat gatataagtt atgaagcaac atgcaattta 1800

ttttctaaaa atcctaaaaa tagtattatt atacaacgaa atatgaatga aagtgcaaaa 1860

agctactttt taagtgatga tggagaatct attttagaat taaataaata taggatacct 1920

gaaagattaa aaaataagga aaaagtaaaa gtaaccttta ttggacatgg taaagatgaa 1980

ttcaacacaa gcgaatttgc tagattaagt gtagattcac tttccaatga gataagttca 2040

tttttagata ccataaaatt agatatatca cctaaaaatg tagaagtaaa cttacttgga 2100

tgtaatatgt ttagttatga ttttaatgtt gaagaaactt atcctgggaa gttgctatta 2160

agtattatgg acaaaattac ttccacttta cctgatgtaa ataaaaattc tattactata 2220

ggagcaaatc aatatgaagt aagaattaat agtgagggaa gaaaagaact tctggctcac 2280

tcaggtaaat ggataaataa agaagaagct attatgagcg atttatctag taaagaatac 2340

attttttttg attctataga taataagcta aaagcaaagt ccaagaatat tccaggatta 2400
gcatcaatat cagaagatat aaaaacatta ttacttgatg caagtgttag tcctgataca 2460
aaatttattt taaataatct taagcttaat attgaatctt ctattggtga ttacatttat 2520
tatgaaaaat tagagcctgt taaaaatata attcacaatt ctatagatga tttaatagat 2580
gagttcaatc tacttgaaaa tgtatctgat gaattatatg aattaaaaaa attaaataat 2640
ctagatgaga agtatttaat atcttttgaa gatatctcaa aaaataattc aacttactct 2700
gtaagattta ttaacaaaag taatggtgag tcagtttatg tagaaacaga aaaagaaatt 2760
ttttcaaaat atagcgaaca tattacaaaa gaaataagta ctataaagaa tagtataatt 2820
acagatgtta atggtaattt attggataat atacagttag atcatacttc tcaagttaat 2880
acattaaacg cagcattctt tattcaatca ttaatagatt atagtagcaa taaagatgta 2940
ctgaatgatt taagtacctc agttaaggtt caactttatg ctcaactatt tagtacaggt 3000
ttaaatacta tatatgactc tatccaatta gtaaatttaa tatcaaatgc agtaaatgat 3060
actataaatg tactacctac aataacagag gggataccta ttgtatctac tatattagac 3120
ggaataaact taggtgcagc aattaaggaa ttactagacg aacatgaccc attactaaaa 3180
aaagaattag aagctaaggt gggtgtttta gcaataaata tgtcattatc tatagctgca 3240
actgtagctt caattgttgg aataggtgct gaagttacta ttttcttatt acctatagct 3300
ggtatatctg caggaatacc ttcattagtt aataatgaat taatattgca tgataaggca 3360
acttcagtgg taaactattt taatcatttg tctgaatcta aaaaatatgg ccctcttaaa 3420
acagaagatg ataaaatttt agttcctatt gatgatttag taatatcaga aatagatttt 3480
aataataatt cgataaaact aggaacatgt aatatattag caatggaggg gggatcagga 3540
cacacagtga ctggtaatat agatcacttt ttctcatctc catctataag ttctcatatt 3600
ccttcattat caatttattc tgcaataggt atagaaacag aaaatctaga tttttcaaaa 3660
aaaataatga tgttacctaa tgctccttca agagtgtttt ggtgggaaac tggagcagtt 3720
ccaggtttaa gatcattgga aaatgacgga actagattac ttgattcaat aagagattta 3780
tacccaggta aattttactg gagattctat gctttttttcg attatgcaat aactacatta 3840
aaaccagttt atgaagacac taatattaaa attaaactag ataaagatac tagaaacttc 3900
ataatgccaa ctataactac taacgaaatt agaaacaaat tatcttattc atttgatgga 3960
gcaggaggaa cttactcttt attattatct tcatatccaa tatcaacgaa tataaattta 4020
tctaaagatg atttatggat atttaatatt gataatgaag taagagaaat atctatagaa 4080
aatggtacta ttaaaaaagg aaagttaata aaagatgttt taagtaaaat tgatataaat 4140
aaaaataaac ttattatagg caatcaaaca atagattttt caggcgatat agataataaa 4200

gatagatata tattcttgac ttgtgagtta gatgataaaa ttagtttaat aatagaaata 4260

aatcttgttg caaaatctta tagtttgtta ttgtctgggg ataaaaatta tttgatatcc 4320

aatttatcta atattattga gaaaatcaat actttaggac tagatagtaa aaatatagcg 4380

tacaattaca ctgatgaatc taataataaa tattttggag ctatatctaa aacaagtcaa 4440

aaaagcataa tacattataa aaaagacagt aaaaatatat tagaatttta taatgacagt 4500

acattagaat ttaacagtaa agattttatt gctgaagata taaatgtatt tatgaaagat 4560

gatattaata ctataacagg aaaatactat gttgataata atactgataa aagtatagat 4620

ttctctattt ctttagttag taaaaatcaa gtaaaagtaa atggattata tttaaatgaa 4680

tccgtatact catcttacct tgattttgtg aaaaattcag atggacacca taatacttct 4740

aattttatga atttattttt ggacaatata agtttctgga aattgtttgg gtttgaaaat 4800

ataaattttg taatcgataa atactttacc cttgttggta aaactaatct tggatatgta 4860

gaatttattt gtgacaataa taaaaatata gatatatatt ttggtgaatg gaaaacatcg 4920

tcatctaaaa gcactatatt tagcggaaat ggtagaaatg ttgtagtaga gcctatatat 4980

aatcctgata cgggtgaaga tatatctact tcactagatt tttcctatga acctctctat 5040

ggaatagata gatatatcaa taaagtattg atagcacctg atttatatac aagtttaata 5100

aatattaata ccaattatta ttcaaatgag tactaccctg agattatagt tcttaaccca 5160

aatacattcc acaaaaaagt aaatataaat ttagatagtt cttcttttga gtataaatgg 5220

tctacagaag gaagtgactt tattttagtt agatacttag aagaaagtaa taaaaaaata 5280

ttacaaaaaa taagaatcaa aggtatctta tctaatactc aatcatttaa taaaatgagt 5340

atagatttta aagatattaa aaaactatca ttaggatata taatgagtaa ttttaaatca 5400

tttaattctg aaaatgaatt agatagagat catttaggat ttaaaataat agataataaa 5460

acttattact atgatgaaga tagtaaatta gttaaaggat taatcaatat aaataattca 5520

ttattctatt ttgatcctat agaatttaac ttagtaactg gatggcaaac tatcaatggt 5580

aaaaaatatt attttgatat aaatactgga gcagctttaa ttagttataa aattattaat 5640

ggtaaacact tttattttaa taatgatggt gtgatgcagt tgggagtatt taaaggacct 5700

gatggatttg aatattttgc acctgccaat actcaaaata ataacataga aggtcaggct 5760

atagtttatc aaagtaaatt cttaactttg aatggcaaaa aatattattt tgataatgac 5820

tcaaaagcag tcactggatg gagaattatt aacaatgaga aatattactt taatcctaat 5880

aatgctattg ctgcagtcgg attgcaagta attgacaata ataagtatta tttcaatcct 5940

gacactgcta tcatctcaaa aggttggcag actgttaatg gtagtagata ctactttgat 6000

actgataccg ctattgcctt taatggttat aaaactattg atggtaaaca cttttatttt 6060

gatagtgatt gtgtagtgaa aataggtgtg tttagtacct ctaatggatt tgaatatttt 6120

gcacctgcta atacttataa taataacata gaaggtcagg ctatagttta tcaaagtaaa 6180
ttcttaactt tgaatggtaa aaaatattac tttgataata actcaaaagc agttaccgga 6240
tggcaaacta ttgatagtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6300
ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgaagcagct 6360
actggatggc aaactattga tggtaaaaaa tattacttta atactaacac tgctatagct 6420
tcaactggtt atacaattat taatggtaaa cattttatt ttaatactga tggtattatg 6480
cagataggag tgtttaaagg acctaatgga tttgaatatt ttgcacctgc taatacggat 6540
gctaacaaca tagaaggtca agctatactt taccaaaatg aattcttaac tttgaatggt 6600
aaaaaatatt actttggtag tgactcaaaa gcagttactg gatggagaat tattaacaat 6660
aagaaatatt actttaatcc taataatgct attgctgcaa ttcatctatg cactataaat 6720
aatgacaagt attactttag ttatgatgga attcttcaaa atggatatat tactattgaa 6780
agaaataatt tctattttga tgctaataat gaatctaaaa tggtaacagg agtatttaaa 6840
ggacctaatg gatttgagta ttttgcacct gctaatactc acaataataa catagaaggt 6900
caggctatag tttaccagaa caaattctta actttgaatg gcaaaaaata ttattttgat 6960
aatgactcaa aagcagttac tggatggcaa accattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7020
cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7080
aatcttaaca ctgctgaagc agctactgga tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac 7140
tttaatacta acactttcat agcctcaact ggttatacaa gtattaatgg taaacatttt 7200
tattttaata ctgatggtat tatgcagata ggagtgttta aaggacctaa tggatttgaa 7260
tactttgcac ctgctaatac tcataataat aacatagaag gtcaagctat actttaccaa 7320
aataaattct taactttgaa tggtaaaaaa tattactttg gtagtgactc aaaagcagtt 7380
accggattgc gaactattga tggtaaaaaa tattacttta atactaacac tgctgttgca 7440
gttactggat ggcaaactat taatggtaaa aaatactact ttaatactaa cacttctata 7500
gcttcaactg gttatacaat tattagtggt aaacattttt attttaatac tgatggtatt 7560
atgcagatag gagtgtttaa aggacctgat ggatttgaat actttgcacc tgctaataca 7620
gatgctaaca atatagaagg tcaagctata cgttatcaaa atagattcct atatttacat 7680
gacaatatat attattttgg taataattca aaagcagcta ctggttgggt aactattgat 7740
ggtaatagat attacttcga gcctaataca gctatgggtg cgaatggtta taaaactatt 7800
gataataaaa atttttactt tagaaatggt ttacctcaga taggagtgtt taaagggtct 7860
aatggatttg aatactttgc acctgctaat acggatgcta acaatataga aggtcaagct 7920
atacgttatc aaaatagatt cctacattta cttggaaaaa tatattactt tggtaataat 7980

tcaaaagcag ttactggatg gcaaactatt aatggtaaag tatattactt tatgcctgat 8040

actgctatgg ctgcagcagg tggacttttc gagattgatg gtgttatata tttctttggt 8100

gttgatggag taaaagcccc tgggatatat ggctaaagat ct 8142

<210> 45
<211> 8136
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdA gene (D285A D287A C700A mutations)

<400> 45
catatgtctt taatatctaa agaagagtta ataaaactcg catatagcat tagaccaaga 60

gaaaatgagt ataaaactat actaactaat ttagacgaat ataataagtt aactacaaac 120

aataatgaaa ataaatattt acaattaaaa aaactaaatg aatcaattga tgtttttatg 180

aataaatata aaacttcaag cagaaataga gcactctcta atctaaaaaa agatatatta 240

aaagaagtaa ttcttattaa aaattccaat acaagccctg tagaaaaaaa tttacatttt 300

gtatggatag gtggagaagt cagtgatatt gctcttgaat acataaaaca atgggctgat 360

attaatgcag aatataatat taaactgtgg tatgatagtg aagcattctt agtaaataca 420

ctaaaaaagg ctatagttga atcttctacc actgaagcat tacagctact agaggaagag 480

attcaaaatc ctcaatttga taatatgaaa ttttacaaaa aaaggatgga atttatatat 540

gatagacaaa aaaggtttat aaattattat aaatctcaaa tcaataaacc tacagtacct 600

acaatagatg atattataaa gtctcatcta gtatctgaat ataatagaga tgaaactgta 660

ttagaatcat atagaacaaa ttctttgaga aaaataaata gtaatcatgg gatagatatc 720

agggctaata gtttgtttac agaacaagag ttattaaata tttatagtca ggagttgtta 780

aatcgtggaa atttagctgc agcatctgac atagtaagat tattagccct aaaaaatttt 840

ggcggagtat atttagcagt tgcaatgctt ccaggtattc actctgattt atttaaaaca 900

atatctagac ctagctctat tggactagac cgttgggaaa tgataaaatt agaggctatt 960

atgaagtata aaaaatatat aaataattat acatcagaaa actttgataa acttgatcaa 1020

caattaaaag ataattttaa actcattata gaaagtaaaa gtgaaaaatc tgagatattt 1080

tctaaattag aaaatttaaa tgtatctgat cttgaaatta aaatagcttt cgctttaggc 1140

agtgttataa atcaagcctt gatatcaaaa caaggttcat atcttactaa cctagtaata 1200

gaacaagtaa aaaatagata tcaattttta aaccaacacc ttaacccagc catagagtct 1260

gataataact tcacagatac tactaaaatt tttcatgatt cattatttaa ttcagctacc 1320

gcagaaaact ctatgttttt aacaaaaata gcaccatact tacaagtagg ttttatgcca 1380

gaagctcgct ccacaataag tttaagtggt ccaggagctt atgcgtcagc ttactatgat 1440

ttcataaatt tacaagaaaa tactatagaa aaaactttaa aagcatcaga tttaatagaa 1500

tttaaattcc cagaaaataa tctatctcaa ttgacagaac aagaaataaa tagtctatgg 1560

agctttgatc aagcaagtgc aaaatatcaa tttgagaaat atgtaagaga ttatactggt 1620

ggatctcttt ctgaagacaa tggggtagac tttaataaaa atactgccct cgacaaaaac 1680

tatttattaa ataataaaat tccatcaaac aatgtagaag aagctggaag taaaaattat 1740

gttcattata tcatacagtt acaaggagat gatataagtt atgaagcaac atgcaattta 1800

ttttctaaaa atcctaaaaa tagtattatt atacaacgaa atatgaatga aagtgcaaaa 1860

agctactttt taagtgatga tggagaatct attttagaat taaataaata taggatacct 1920

gaaagattaa aaaataagga aaaagtaaaa gtaaccttta ttggacatgg taaagatgaa 1980

ttcaacacaa gcgaatttgc tagattaagt gtagattcac tttccaatga gataagttca 2040

tttttagata ccataaaatt agatatatca cctaaaaatg tagaagtaaa cttacttgga 2100

gctaatatgt ttagttatga ttttaatgtt gaagaaactt atcctgggaa gttgctatta 2160

agtattatgg acaaaattac ttccacttta cctgatgtaa ataaaaattc tattactata 2220

ggagcaaatc aatatgaagt aagaattaat agtgagggaa gaaaagaact tctggctcac 2280

tcaggtaaat ggataaataa agaagaagct attatgagcg atttatctag taaagaatac 2340

attttttttg attctataga taataagcta aaagcaaagt ccaagaatat tccaggatta 2400

gcatcaatat cagaagatat aaaaacatta ttacttgatg caagtgttag tcctgataca 2460

aaatttattt taaataatct taagcttaat attgaatctt ctattggtga ttacatttat 2520

tatgaaaaat tagagcctgt taaaaatata attcacaatt ctatagatga tttaatagat 2580

gagttcaatc tacttgaaaa tgtatctgat gaattatatg aattaaaaaa attaaataat 2640

ctagatgaga agtatttaat atcttttgaa gatatctcaa aaaataattc aacttactct 2700

gtaagattta ttaacaaaag taatggtgag tcagtttatg tagaaacaga aaaagaaatt 2760

ttttcaaaat atagcgaaca tattacaaaa gaaataagta ctataaagaa tagtataatt 2820

acagatgtta atggtaattt attggataat atacagttag atcatacttc tcaagttaat 2880

acattaaacg cagcattctt tattcaatca ttaatagatt atagtagcaa taaagatgta 2940

ctgaatgatt taagtacctc agttaaggtt caactttatg ctcaactatt tagtacaggt 3000

ttaaatacta tatatgactc tatccaatta gtaaatttaa tatcaaatgc agtaaatgat 3060

actataaatg tactacctac aataacagag gggataccta ttgtatctac tatattagac 3120

ggaataaact taggtgcagc aattaaggaa ttactagacg aacatgaccc attactaaaa 3180

aaagaattag aagctaaggt gggtgtttta gcaataaata tgtcattatc tatagctgca 3240

actgtagctt caattgttgg aataggtgct gaagttacta ttttcttatt acctatagct 3300

ggtatatctg caggaatacc ttcattagtt aataatgaat taatattgca tgataaggca 3360
acttcagtgg taaactattt taatcatttg tctgaatcta aaaaatatgg ccctcttaaa 3420
acagaagatg ataaaatttt agttcctatt gatgatttag taatatcaga aatagatttt 3480
aataataatt cgataaaact aggaacatgt aatatattag caatggaggg gggatcagga 3540
cacacagtga ctggtaatat agatcacttt ttctcatctc catctataag ttctcatatt 3600
ccttcattat caatttattc tgcaataggt atagaaacag aaaatctaga tttttcaaaa 3660
aaaataatga tgttacctaa tgctccttca agagtgtttt ggtgggaaac tggagcagtt 3720
ccaggtttaa gatcattgga aaatgacgga actagattac ttgattcaat aagagattta 3780
tacccaggta aattttactg gagattctat gctttttcg attatgcaat aactacatta 3840
aaaccagttt atgaagacac taatattaaa attaaactag ataaagatac tagaaacttc 3900
ataatgccaa ctataactac taacgaaatt agaaacaaat tatcttattc atttgatgga 3960
gcaggaggaa cttactcttt attattatct tcatatccaa tatcaacgaa tataaattta 4020
tctaaagatg atttatggat atttaatatt gataatgaag taagagaaat atctatagaa 4080
aatggtacta ttaaaaaagg aaagttaata aaagatgttt taagtaaaat tgatataaat 4140
aaaaataaac ttattatagg caatcaaaca atagattttt caggcgatat agataataaa 4200
gatagatata tattcttgac ttgtgagtta gatgataaaa ttagtttaat aatagaaata 4260
aatcttgttg caaaatctta tagtttgtta ttgtctgggg ataaaaatta tttgatatcc 4320
aatttatcta atattattga gaaaatcaat actttaggac tagatagtaa aaatatagcg 4380
tacaattaca ctgatgaatc taataataaa tattttggag ctatatctaa aacaagtcaa 4440
aaaagcataa tacattataa aaaagacagt aaaaatatat tagaatttta taatgacagt 4500
acattagaat ttaacagtaa agattttatt gctgaagata taaatgtatt tatgaaagat 4560
gatattaata ctataacagg aaaatactat gttgataata atactgataa aagtatagat 4620
ttctctattt ctttagttag taaaaatcaa gtaaaagtaa atggattata tttaaatgaa 4680
tccgtatact catcttacct tgattttgtg aaaaattcag atggacacca taatacttct 4740
aattttatga atttattttt ggacaatata agtttctgga aattgtttgg gtttgaaaat 4800
ataaattttg taatcgataa atactttacc cttgttggta aaactaatct tggatatgta 4860
gaatttattt gtgacaataa taaaaatata gatatatatt ttggtgaatg gaaaacatcg 4920
tcatctaaaa gcactatatt tagcggaaat ggtagaaatg ttgtagtaga gcctatatat 4980
aatcctgata cgggtgaaga tatatctact tcactagatt tttcctatga acctctctat 5040
ggaatagata gatatatcaa taaagtattg atagcacctg atttatatac aagtttaata 5100
aatattaata ccaattatta ttcaaatgag tactaccctg agattatagt tcttaaccca 5160

aatacattcc acaaaaaagt aaatataaat ttagatagtt cttcttttga gtataaatgg 5220

tctacagaag gaagtgactt tattttagtt agatacttag aagaaagtaa taaaaaaata 5280

ttacaaaaaa taagaatcaa aggtatctta tctaatactc aatcatttaa taaaatgagt 5340

atagatttta aagatattaa aaaactatca ttaggatata taatgagtaa ttttaaatca 5400

tttaattctg aaaatgaatt agatagagat catttaggat ttaaaataat agataataaa 5460

acttattact atgatgaaga tagtaaatta gttaaaggat taatcaatat aaataattca 5520

ttattctatt ttgatcctat agaatttaac ttagtaactg gatggcaaac tatcaatggt 5580

aaaaaatatt attttgatat aaatactgga gcagctttaa ttagttataa aattattaat 5640

ggtaaacact tttattttaa taatgatggt gtgatgcagt tgggagtatt taaaggacct 5700

gatggatttg aatattttgc acctgccaat actcaaaata ataacataga aggtcaggct 5760

atagtttatc aaagtaaatt cttaactttg aatggcaaaa aatattattt tgataatgac 5820

tcaaaagcag tcactggatg gagaattatt aacaatgaga aatattactt taatcctaat 5880

aatgctattg ctgcagtcgg attgcaagta attgacaata ataagtatta tttcaatcct 5940

gacactgcta tcatctcaaa aggttggcag actgttaatg gtagtagata ctactttgat 6000

actgataccg ctattgcctt taatggttat aaaactattg atggtaaaca cttttatttt 6060

gatagtgatt gtgtagtgaa aataggtgtg tttagtacct ctaatggatt tgaatatttt 6120

gcacctgcta atacttataa taataacata gaaggtcagg ctatagttta tcaaagtaaa 6180

ttcttaactt tgaatggtaa aaaatattac tttgataata actcaaaagc agttaccgga 6240

tggcaaacta ttgatagtaa aaaatattac tttaatacta acactgctga agcagctact 6300

ggatggcaaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tgaagcagct 6360

actggatggc aaactattga tggtaaaaaa tattacttta atactaacac tgctatagct 6420

tcaactggtt atacaattat taatggtaaa catttttatt ttaatactga tggtattatg 6480

cagataggag tgtttaaagg acctaatgga tttgaatatt ttgcacctgc taatacggat 6540

gctaacaaca tagaaggtca agctatactt taccaaaatg aattcttaac tttgaatggt 6600

aaaaaatatt actttggtag tgactcaaaa gcagttactg gatggagaat tattaacaat 6660

aagaaatatt actttaatcc taataatgct attgctgcaa ttcatctatg cactataaat 6720

aatgacaagt attactttag ttatgatgga attcttcaaa atggatatat tactattgaa 6780

agaaataatt tctattttga tgctaataat gaatctaaaa tggtaacagg agtatttaaa 6840

ggacctaatg gatttgagta ttttgcacct gctaatactc acaataataa catagaaggt 6900

caggctatag tttaccagaa caaattctta actttgaatg gcaaaaaata ttattttgat 6960

aatgactcaa aagcagttac tggatggcaa accattgatg gtaaaaaata ttactttaat 7020

cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7080

aatcttaaca ctgctgaagc agctactgga tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac 7140

tttaatacta acactttcat agcctcaact ggttatacaa gtattaatgg taaacatttt 7200

tattttaata ctgatggtat tatgcagata ggagtgttta aaggacctaa tggatttgaa 7260

tactttgcac ctgctaatac tcataataat aacatagaag gtcaagctat actttaccaa 7320

aataaattct taactttgaa tggtaaaaaa tattactttg gtagtgactc aaaagcagtt 7380

accggattgc gaactattga tggtaaaaaa tattacttta atactaacac tgctgttgca 7440

gttactggat ggcaaactat taatggtaaa aaatactact ttaatactaa cacttctata 7500

gcttcaactg gttatacaat tattagtggt aaacattttt attttaatac tgatggtatt 7560

atgcagatag gagtgtttaa aggacctgat ggatttgaat actttgcacc tgctaataca 7620

gatgctaaca atatagaagg tcaagctata cgttatcaaa atagattcct atatttacat 7680

gacaatatat attattttgg taataattca aaagcagcta ctggttgggt aactattgat 7740

ggtaatagat attacttcga gcctaataca gctatgggtg cgaatggtta taaaactatt 7800

gataataaaa atttttactt tagaaatggt ttacctcaga taggagtgtt taaagggtct 7860

aatggatttg aatactttgc acctgctaat acggatgcta acaatataga aggtcaagct 7920

atacgttatc aaaatagatt cctacattta cttggaaaaa tatattactt tggtaataat 7980

tcaaaagcag ttactggatg gcaaactatt aatggtaaag tatattactt tatgcctgat 8040

actgctatgg ctgcagcagg tggacttttc gagattgatg gtgttatata tttctttggt 8100

gttgatggag taaaagcccc tgggatatat ggctaa 8136

<210> 46
<211> 7110
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdB (D286A D288A mutations)

<400> 46
catatgagtt tagttaatag aaaacagtta gaaaaaatgg caaatgtaag atttcgtact 60

caagaagatg aatatgttgc aatattggat gctttagaag aatatcataa tatgtcagag 120

aatactgtag tcgaaaaata tttaaaatta aaagatataa atagtttaac agatatttat 180

atagatacat ataaaaaatc tggtagaaat aaagccttaa aaaaatttaa ggaatatcta 240

gttacagaag tattagagct aaagaataat aatttaactc cagttgagaa aaatttacat 300

tttgtttgga ttggaggtca aataaatgac actgctatta attatataaa tcaatggaaa 360

gatgtaaata gtgattataa tgttaatgtt ttttatgata gtaatgcatt tttgataaac 420

acattgaaaa aaactgtagt agaatcagca ataaatgata cacttgaatc atttagagaa 480

aacttaaatg accctagatt tgactataat aaattcttca gaaaacgtat ggaaataatt 540

tatgataaac agaaaaattt cataaactac tataaagctc aaagagaaga aaatcctgaa 600

cttataattg atgatattgt aaagacatat ctttcaaatg agtattcaaa ggagatagat 660

gaacttaata cctatattga agaatcctta aataaaatta cacagaatag tggaaatgat 720

gttagaaact ttgaagaatt taaaaatgga gagtcattca acttatatga acaagagttg 780

gtagaaaggt ggaatttagc tgctgcttct gacatattaa gaatatctgc attaaaagaa 840

attggtggta tgtatttagc agttgcaatg ttaccaggaa tacaaccaga cttatttgag 900

tctatagaga aacctagttc agtaacagtg gatttttggg aaatgacaaa gttagaagct 960

ataatgaaat acaaagaata tataccagaa tatacctcag aacattttga catgttagac 1020

gaagaagttc aaagtagttt tgaatctgtt ctagcttcta agtcagataa atcagaaata 1080

ttctcatcac ttggtgatat ggaggcatca ccactagaag ttaaaattgc atttaatagt 1140

aagggtatta taaatcaagg gctaatttct gtgaaagact catattgtag caatttaata 1200

gtaaaacaaa tcgagaatag atataaaata ttgaataata gtttaaatcc agctattagc 1260

gaggataatg attttaatac tacaacgaat acctttattg atagtataat ggctgaagct 1320

aatgcagata atggtagatt tatgatggaa ctaggaaagt atttaagagt tggtttcttc 1380

ccagatgtta aaactactat taacttaagt ggccctgaag cttatgcggc agcttatcaa 1440

gatttattaa tgtttaaaga aggcagtatg aatatccatt tgatagaagc tgatttaaga 1500

aactttgaaa tctctaaaac taatatttct caatcaactg aacaagaaat ggcttcttta 1560

tggtcatttg acgatgcaag agctaaagct caatttgaag aatataaaag gaattatttt 1620

gaaggttctc ttggtgaaga tgataatctt gatttttctc aaaatatagt agttgacaag 1680

gagtatcttt tagaaaaaat atcttcatta gcaagaagtt cagagagagg atatatacac 1740

tatattgttc agttacaagg agataaaatt agttatgaag cagcatgtaa cttatttgca 1800

aagactcctt atgatagtgt actgtttcag aaaaatatag aagattcaga aattgcatat 1860

tattataatc ctggagatgg tgaaatacaa gaaatagaca agtataaaat tccaagtata 1920

atttctgata gacctaagat taaattaaca tttattggtc atggtaaaga tgaatttaat 1980

actgatatat ttgcaggttt tgatgtagat tcattatcca cagaaataga agcagcaata 2040

gatttagcta aagaggatat ttctcctaag tcaatagaaa taaatttatt aggatgtaat 2100

atgtttagct actctatcaa cgtagaggag acttatcctg gaaaattatt acttaaagtt 2160

aaagataaaa tatcagaatt aatgccatct ataagtcaag actctattat agtaagtgca 2220

aatcaatatg aagttagaat aaatagtgaa ggaagaagag aattattgga tcattctggt 2280

gaatggataa ataaagaaga aagtattata aaggatattt catcaaaaga atatatatca 2340

tttaatccta aagaaaataa aattacagta aaatctaaaa atttacctga gctatctaca 2400

ttattacaag aaattagaaa taattctaat tcaagtgata ttgaactaga agaaaaagta 2460

atgttaacag aatgtgagat aaatgttatt tcaaatatag atacgcaaat tgttgaggaa 2520

aggattgaag aagctaagaa tttaacttct gactctatta attatataaa agatgaattt 2580

aaactaatag aatctatttc tgatgcacta tgtgacttaa aacaacagaa tgaattagaa 2640

gattctcatt ttatatcttt tgaggacata tcagagactg atgagggatt tagtataaga 2700

tttattaata aagaaactgg agaatctata tttgtagaaa ctgaaaaaac aatattctct 2760

gaatatgcta atcatataac tgaagagatt tctaagataa aaggtactat atttgatact 2820

gtaaatggta agttagtaaa aaaagtaaat ttagatacta cacacgaagt aaatacttta 2880

aatgctgcat tttttataca atcattaata gaatataata gttctaaaga atctcttagt 2940

aatttaagtg tagcaatgaa agtccaagtt tacgctcaat tatttagtac tggtttaaat 3000

actattacag atgcagccaa agttgttgaa ttagtatcaa ctgcattaga tgaaactata 3060

gacttacttc ctacattatc tgaaggatta cctataattg caactattat agatggtgta 3120

agtttaggtg cagcaatcaa agagctaagt gaaacgagtg acccattatt aagacaagaa 3180

atagaagcta agataggtat aatggcagta aatttaacaa cagctacaac tgcaatcatt 3240

acttcatctt tggggatagc tagtggattt agtatacttt tagttccttt agcaggaatt 3300

tcagcaggta taccaagctt agtaaacaat gaacttgtac ttcgagataa ggcaacaaag 3360

gttgtagatt attttaaaca tgtttcatta gttgaaactg aaggagtatt tactttatta 3420

gatgataaaa taatgatgcc acaagatgat ttagtgatat cagaaataga ttttaataat 3480

aattcaatag ttttaggtaa atgtgaaatc tggagaatgg aaggtggttc aggtcatact 3540

gtaactgatg atatagatca cttcttttca gcaccatcaa taacatatag agagccacac 3600

ttatctatat atgacgtatt ggaagtacaa aaagaagaac ttgatttgtc aaaagattta 3660

atggtattac ctaatgctcc aaatagagta tttgcttggg aaacaggatg gacaccaggt 3720

ttaagaagct tagaaaatga tggcacaaaa ctgttagacc gtataagaga taactatgaa 3780

ggtgagtttt attggagata ttttgctttt atagctgatg ctttaataac aacattaaaa 3840

ccaagatatg aagatactaa tataagaata aatttagata gtaatactag aagttttata 3900

gttccaataa taactacaga atatataaga gaaaaattat catattcttt ctatggttca 3960

ggaggaactt atgcattgtc tctttctcaa tataatatgg gtataaatat agaattaagt 4020

gaaagtgatg tttggattat agatgttgat aatgttgtga gagatgtaac tatagaatct 4080

gataaaatta aaaaaggtga tttaatagaa ggtattttat ctacactaag tattgaagag 4140

aataaaatta tcttaaatag ccatgagatt aatttttctg gtgaggtaaa tggaagtaat 4200

ggatttgttt ctttaacatt ttcaatttta gaaggaataa atgcaattat agaagttgat 4260

ttattatcta aatcatataa attacttatt tctggcgaat taaaaatatt gatgttaaat 4320

tcaaatcata ttcaacagaa aatagattat ataggattca atagcgaatt acagaaaaat 4380

ataccatata gctttgtaga tagtgaagga aaagagaatg gttttattaa tggttcaaca 4440

aaagaaggtt tatttgtatc tgaattacct gatgtagttc ttataagtaa ggtttatatg 4500

gatgatagta agccttcatt tggatattat agtaataatt tgaaagatgt caaagttata 4560

actaaagata atgttaatat attaacaggt tattatctta aggatgatat aaaaatctct 4620

ctttctttga ctctacaaga tgaaaaaact ataaagttaa atagtgtgca tttagatgaa 4680

agtggagtag ctgagatttt gaagttcatg aatagaaaag gtaatacaaa tacttcagat 4740

tctttaatga gctttttaga aagtatgaat ataaaaagta ttttcgttaa tttcttacaa 4800

tctaatatta agtttatatt agatgctaat tttataataa gtggtactac ttctattggc 4860

caatttgagt ttatttgtga tgaaaatgat aatatacaac catatttcat taagtttaat 4920

acactagaaa ctaattatac tttatatgta ggaaatagac aaaatatgat agtggaacca 4980

aattatgatt tagatgattc tggagatata tcttcaactg ttatcaattt ctctcaaaag 5040

tatctttatg gaatagacag ttgtgttaat aaagttgtaa tttcaccaaa tatttataca 5100

gatgaaataa atataacgcc tgtatatgaa acaaataata cttatccaga agttattgta 5160

ttagatgcaa attatataaa tgaaaaaata aatgttaata tcaatgatct atctatacga 5220

tatgtatgga gtaatgatgg taatgatttt attcttatgt caactagtga agaaaataag 5280

gtgtcacaag ttaaaataag attcgttaat gtttttaaag ataagacttt ggcaaataag 5340

ctatctttta actttagtga taaacaagat gtacctgtaa gtgaaataat cttatcattt 5400

acaccttcat attatgagga tggattgatt ggctatgatt tgggtctagt ttctttatat 5460

aatgagaaat tttatattaa taactttgga atgatggtat ctggattaat atatattaat 5520

gattcattat attattttaa accaccagta aataatttga taactggatt tgtgactgta 5580

ggcgatgata aatactactt taatccaatt aatggtggag ctgcttcaat tggagagaca 5640

ataattgatg acaaaaatta ttatttcaac caaagtggag tgttacaaac aggtgtattt 5700

agtacagaag atggatttaa atattttgcc ccagctaata cacttgatga aaacctagaa 5760

ggagaagcaa ttgattttac tggaaaatta attattgacg aaaatattta ttattttgat 5820

gataattata gaggagctgt agaatggaaa gaattagatg gtgaaatgca ctattttagc 5880

ccagaaacag gtaaagcttt taaaggtcta aatcaaatag gtgattataa atactatttc 5940

aattctgatg gagttatgca aaaaggattt gttagtataa atgataataa acactatttt 6000

gatgattctg gtgttatgaa agtaggttac actgaaatag atggcaagca tttctacttt 6060

gctgaaaacg gagaaatgca aataggagta tttaatacag aagatggatt taaatatttt 6120

gctcatcata atgaagattt aggaaatgaa gaaggtgaag aaatctcata ttctggtata 6180

ttaaatttca ataataaaat ttactatttt gatgattcat ttactgctgt agttggatgg 6240

aaagatttag aggatggttc aaagtattat tttgatgaag atacagcaga agcatatata 6300

ggtttgtcat taataaatga tggtcaatat tattttaatg atgatggaat tatgcaagtt 6360

ggatttgtca ctataaatga taaagtcttc tacttctctg actctggaat tatagaatct 6420

ggagtacaaa acatagatga caattatttc tatatagatg ataatggtat agttcaaatt 6480

ggtgtatttg atacttcaga tggatataaa tattttgcac ctgctaatac tgtaaatgat 6540

aatatttacg gacaagcagt tgaatatagt ggtttagtta gagttggtga agatgtatat 6600

tattttggag aaacatatac aattgagact ggatggatat atgatatgga aaatgaaagt 6660

gataaatatt atttcaatcc agaaactaaa aaagcatgca aaggtattaa tttaattgat 6720

gatataaaat attattttga tgagaagggc ataatgagaa cgggtcttat atcatttgaa 6780

aataataatt attactttaa tgagaatggt gaaatgcaat ttggttatat aaatatagaa 6840

gataagatgt tctattttgg tgaagatggt gtcatgcaga ttggagtatt taatacacca 6900

gatggattta aatactttgc acatcaaaat actttggatg agaattttga gggagaatca 6960

ataaactata ctggttggtt agatttagat gaaaagagat attattttac agatgaatat 7020

attgcagcaa ctggttcagt tattattgat ggtgaggagt attattttga tcctgataca 7080

gctcaattag tgattagtga atagagatct 7110

<210> 47
<211> 7104
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic nucleotide sequence: TcdB (D286A D288A C698A mutations)

<400> 47
catatgagtt tagttaatag aaaacagtta gaaaaaatgg caaatgtaag atttcgtact 60

caagaagatg aatatgttgc aatattggat gctttagaag aatatcataa tatgtcagag 120

aatactgtag tcgaaaaata tttaaaatta aaagatataa atagtttaac agatatttat 180

atagatacat ataaaaaatc tggtagaaat aaagccttaa aaaaatttaa ggaatatcta 240

gttacagaag tattagagct aaagaataat aatttaactc cagttgagaa aaatttacat 300

tttgtttgga ttggaggtca aataaatgac actgctatta attatataaa tcaatggaaa 360

gatgtaaata gtgattataa tgttaatgtt ttttatgata gtaatgcatt tttgataaac 420

acattgaaaa aaactgtagt agaatcagca ataaatgata cacttgaatc atttagagaa 480

aacttaaatg accctagatt tgactataat aaattcttca gaaaacgtat ggaaataatt 540

tatgataaac agaaaaattt cataaactac tataaagctc aaagagaaga aaatcctgaa 600

cttataattg atgatattgt aaagacatat ctttcaaatg agtattcaaa ggagatagat 660

gaacttaata cctatattga agaatcctta aataaaatta cacagaatag tggaaatgat 720

gttagaaact ttgaagaatt taaaaatgga gagtcattca acttatatga acaagagttg 780

gtagaaaggt ggaatttagc tgctgcttct gacatattaa gaatatctgc attaaaagaa 840

attggtggta tgtatttagc agttgcaatg ttaccaggaa tacaaccaga cttatttgag 900

tctatagaga aacctagttc agtaacagtg gatttttggg aaatgacaaa gttagaagct 960

ataatgaaat acaaagaata tataccagaa tatacctcag aacattttga catgttagac 1020

gaagaagttc aaagtagttt tgaatctgtt ctagcttcta agtcagataa atcagaaata 1080

ttctcatcac ttggtgatat ggaggcatca ccactagaag ttaaaattgc atttaatagt 1140

aagggtatta taaatcaagg gctaatttct gtgaaagact catattgtag caatttaata 1200

gtaaaacaaa tcgagaatag atataaaata ttgaataata gtttaaatcc agctattagc 1260

gaggataatg attttaatac tacaacgaat acctttattg atagtataat ggctgaagct 1320

aatgcagata atggtagatt tatgatggaa ctaggaaagt atttaagagt tggtttcttc 1380

ccagatgtta aaactactat taacttaagt ggccctgaag cttatgcggc agcttatcaa 1440

gatttattaa tgtttaaaga aggcagtatg aatatccatt tgatagaagc tgatttaaga 1500

aactttgaaa tctctaaaac taatatttct caatcaactg aacaagaaat ggcttcttta 1560

tggtcatttg acgatgcaag agctaaagct caatttgaag aatataaaag gaattatttt 1620

gaaggttctc ttggtgaaga tgataatctt gatttttctc aaaatatagt agttgacaag 1680

gagtatcttt tagaaaaaat atcttcatta gcaagaagtt cagagagagg atatatacac 1740

tatattgttc agttacaagg agataaaatt agttatgaag cagcatgtaa cttatttgca 1800

aagactcctt atgatagtgt actgtttcag aaaaatatag aagattcaga aattgcatat 1860

tattataatc ctggagatgg tgaaatacaa gaaatagaca agtataaaat tccaagtata 1920

atttctgata gacctaagat taaattaaca tttattggtc atggtaaaga tgaatttaat 1980

actgatatat ttgcaggttt tgatgtagat tcattatcca cagaaataga agcagcaata 2040

gatttagcta aagaggatat ttctcctaag tcaatagaaa taaatttatt aggagctaat 2100

atgtttagct actctatcaa cgtagaggag acttatcctg gaaaattatt acttaaagtt 2160

aaagataaaa tatcagaatt aatgccatct ataagtcaag actctattat agtaagtgca 2220

aatcaatatg aagttagaat aaatagtgaa ggaagaagag aattattgga tcattctggt 2280

gaatggataa ataaagaaga aagtattata aaggatattt catcaaaaga atatatatca 2340

tttaatccta aagaaaataa aattacagta aaatctaaaa atttacctga gctatctaca 2400

ttattacaag aaattagaaa taattctaat tcaagtgata ttgaactaga agaaaaagta 2460

atgttaacag aatgtgagat aaatgttatt tcaaatatag atacgcaaat tgttgaggaa 2520

aggattgaag aagctaagaa tttaacttct gactctatta attatataaa agatgaattt 2580
aaactaatag aatctatttc tgatgcacta tgtgacttaa aacaacagaa tgaattagaa 2640
gattctcatt ttatatcttt tgaggacata tcagagactg atgagggatt tagtataaga 2700
tttattaata aagaaactgg agaatctata tttgtagaaa ctgaaaaaac aatattctct 2760
gaatatgcta atcatataac tgaagagatt tctaagataa aaggtactat atttgatact 2820
gtaaatggta agttagtaaa aaaagtaaat ttagatacta cacacgaagt aaatacttta 2880
aatgctgcat tttttataca atcattaata gaatataata gttctaaaga atctcttagt 2940
aatttaagtg tagcaatgaa agtccaagtt tacgctcaat tatttagtac tggtttaaat 3000
actattacag atgcagccaa agttgttgaa ttagtatcaa ctgcattaga tgaaactata 3060
gacttacttc ctacattatc tgaaggatta cctataattg caactattat agatggtgta 3120
agtttaggtg cagcaatcaa agagctaagt gaaacgagtg acccattatt aagacaagaa 3180
atagaagcta agataggtat aatggcagta aatttaacaa cagctacaac tgcaatcatt 3240
acttcatctt tggggatagc tagtggattt agtatacttt tagttccttt agcaggaatt 3300
tcagcaggta taccaagctt agtaaacaat gaacttgtac ttcgagataa ggcaacaaag 3360
gttgtagatt attttaaaca tgtttcatta gttgaaactg aaggagtatt tactttatta 3420
gatgataaaa taatgatgcc acaagatgat ttagtgatat cagaaataga ttttaataat 3480
aattcaatag ttttaggtaa atgtgaaatc tggagaatgg aaggtggttc aggtcatact 3540
gtaactgatg atatagatca cttcttttca gcaccatcaa taacatatag agagccacac 3600
ttatctatat atgacgtatt ggaagtacaa aaagaagaac ttgatttgtc aaaagattta 3660
atggtattac ctaatgctcc aaatagagta tttgcttggg aaacaggatg gacaccaggt 3720
ttaagaagct tagaaaatga tggcacaaaa ctgttagacc gtataagaga taactatgaa 3780
ggtgagtttt attggagata ttttgctttt atagctgatg ctttaataac aacattaaaa 3840
ccaagatatg aagatactaa tataagaata aatttagata gtaatactag aagttttata 3900
gttccaataa taactacaga atatataaga gaaaaattat catattcttt ctatggttca 3960
ggaggaactt atgcattgtc tctttctcaa tataatatgg gtataaatat agaattaagt 4020
gaaagtgatg tttggattat agatgttgat aatgttgtga gagatgtaac tatagaatct 4080
gataaaatta aaaaaggtga tttaatagaa ggtattttat ctacactaag tattgaagag 4140
aataaaatta tcttaaatag ccatgagatt aatttttctg gtgaggtaaa tggaagtaat 4200
ggatttgttt ctttaacatt ttcaatttta gaaggaataa atgcaattat agaagttgat 4260
ttattatcta aatcatataa attacttatt tctggcgaat taaaaatatt gatgttaaat 4320
tcaaatcata ttcaacagaa aatagattat ataggattca atagcgaatt acagaaaaat 4380

ataccatata gctttgtaga tagtgaagga aaagagaatg gttttattaa tggttcaaca 4440

aaagaaggtt tatttgtatc tgaattacct gatgtagttc ttataagtaa ggtttatatg 4500

gatgatagta agccttcatt tggatattat agtaataatt tgaaagatgt caaagttata 4560

actaaagata atgttaatat attaacaggt tattatctta aggatgatat aaaaatctct 4620

ctttctttga ctctacaaga tgaaaaaact ataaagttaa atagtgtgca tttagatgaa 4680

agtggagtag ctgagatttt gaagttcatg aatagaaaag gtaatacaaa tacttcagat 4740

tctttaatga gctttttaga aagtatgaat ataaaaagta ttttcgttaa tttcttacaa 4800

tctaatatta agtttatatt agatgctaat tttataataa gtggtactac ttctattggc 4860

caatttgagt ttatttgtga tgaaaatgat aatatacaac catatttcat taagtttaat 4920

acactagaaa ctaattatac tttatatgta ggaaatagac aaaatatgat agtggaacca 4980

aattatgatt tagatgattc tggagatata tcttcaactg ttatcaattt ctctcaaaag 5040

tatctttatg gaatagacag ttgtgttaat aaagttgtaa tttcaccaaa tatttataca 5100

gatgaaataa atataacgcc tgtatatgaa acaaataata cttatccaga agttattgta 5160

ttagatgcaa attatataaa tgaaaaaata aatgttaata tcaatgatct atctatacga 5220

tatgtatgga gtaatgatgg taatgatttt attcttatgt caactagtga agaaaataag 5280

gtgtcacaag ttaaaataag attcgttaat gtttttaaag ataagacttt ggcaaataag 5340

ctatctttta actttagtga taaacaagat gtacctgtaa gtgaaataat cttatcattt 5400

acaccttcat attatgagga tggattgatt ggctatgatt tgggtctagt ttctttatat 5460

aatgagaaat tttatattaa taactttgga atgatggtat ctggattaat atatattaat 5520

gattcattat attattttaa accaccagta aataatttga taactggatt tgtgactgta 5580

ggcgatgata aatactactt taatccaatt aatggtggag ctgcttcaat tggagagaca 5640

ataattgatg acaaaaatta ttatttcaac caaagtggag tgttacaaac aggtgtattt 5700

agtacagaag atggatttaa atattttgcc ccagctaata cacttgatga aaacctagaa 5760

ggagaagcaa ttgattttac tggaaaatta attattgacg aaaatattta ttattttgat 5820

gataattata gaggagctgt agaatggaaa gaattagatg gtgaaatgca ctattttagc 5880

ccagaaacag gtaaagcttt taaaggtcta aatcaaatag gtgattataa atactatttc 5940

aattctgatg gagttatgca aaaaggattt gttagtataa atgataataa acactatttt 6000

gatgattctg gtgttatgaa agtaggttac actgaaatag atggcaagca tttctacttt 6060

gctgaaaacg gagaaatgca aataggagta tttaatacag aagatggatt taaatatttt 6120

gctcatcata atgaagattt aggaaatgaa gaaggtgaag aaatctcata ttctggtata 6180

ttaaatttca ataataaaat ttactatttt gatgattcat ttactgctgt agttggatgg 6240

aaagatttag aggatggttc aaagtattat tttgatgaag atacagcaga agcatatata 6300

ggtttgtcat taataaatga tggtcaatat tattttaatg atgatggaat tatgcaagtt 6360

ggatttgtca ctataaatga taaagtcttc tacttctctg actctggaat tatagaatct 6420

ggagtacaaa acatagatga caattatttc tatatagatg ataatggtat agttcaaatt 6480

ggtgtatttg atacttcaga tggatataaa tattttgcac ctgctaatac tgtaaatgat 6540

aatatttacg gacaagcagt tgaatatagt ggtttagtta gagttggtga agatgtatat 6600

tattttggag aaacatatac aattgagact ggatggatat atgatatgga aaatgaaagt 6660

gataaatatt atttcaatcc agaaactaaa aaagcatgca aaggtattaa tttaattgat 6720

gatataaaat attattttga tgagaagggc ataatgagaa cgggtcttat atcatttgaa 6780

aataataatt attactttaa tgagaatggt gaaatgcaat ttggttatat aaatatagaa 6840

gataagatgt tctattttgg tgaagatggt gtcatgcaga ttggagtatt taatacacca 6900

gatggattta aatactttgc acatcaaaat actttggatg agaattttga gggagaatca 6960

ataaactata ctggttggtt agatttagat gaaaagagat attattttac agatgaatat 7020

attgcagcaa ctggttcagt tattattgat ggtgaggagt attattttga tcctgataca 7080

gctcaattag tgattagtga atag 7104

<210> 48
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 48
tcgtcgtttt tcggtgcttt t 21

<210> 49
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 49

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

```
Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asn Ser Glu Ile Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Gly His Tyr Gly Ser Ile Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 50
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 50

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                   10                  15

Val His Ser
```

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 51

```
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn
1               5                   10
```

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 52

Arg Ile Asp Pro Ser Asn Ser Glu Ile Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
1 5 10 15

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 53

Gly His Tyr Gly Ser Ile Phe Ala Tyr
1 5

<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 54

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Asn Ser
1 5 10 15

Lys

<210> 55
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 55

Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu
20 25 30

Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Leu Tyr
35 40 45

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu

65 70 75 80

Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
100 105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Phe Gln
115 120 125

<210> 56
<211> 21
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 56

Met Arg Phe Gln Val Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Gln Cys Asp
20

<210> 57
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 57

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 58

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 59
<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 59

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 60
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 60

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Ser Thr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Thr Thr Ala Thr Val Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ile Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Tyr Ser Thr Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 61
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 61

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Asp
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 62

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 63

Val Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Ser Thr Tyr Ser Glu Lys Phe
1 5 10 15

<210> 64
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 64

Ala Tyr Tyr Ser Thr Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 65

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Asn Ser
1 5 10 15

Lys

<210> 66
<211> 130
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 66

Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp
1 5 10 15

Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn
20 25 30

Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Lys Ile Ser
65 70 75 80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser
85 90 95

His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Phe Gln
130

<210> 67
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 67

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala

1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp
20

<210> 68
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 68

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 69

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 70

Phe Gln Gly Ser His Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 71
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 71

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asn Ser Glu Ile Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Gly His Tyr Gly Ser Ile Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 72

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 73

Gly Tyr Pro Phe Thr Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10

<210> 74
<211> 15
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 74

Arg Ile Asp Pro Ser Asn Ser Glu Ile Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
1 5 10 15

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 75

Gly His Tyr Gly Ser Ile Phe Ala Tyr
1 5

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 76

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Asn Ser
1 5 10 15

Lys

<210> 77
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 77

Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu
20 25 30

Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

```
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60


Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65                  70                  75                  80


Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
                85                  90                  95


Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
            100                 105                 110


Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Phe Gln
        115                 120                 125


<210>  78
<211>  21
<212>  PRT
<213>  Artificial Sequence

<220>
<223>  Synthetic amino acid sequence

<400>  78

Met Arg Phe Gln Val Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1               5                   10                  15


Gly Ala Gln Cys Asp
            20


<210>  79
<211>  11
<212>  PRT
<213>  Artificial Sequence

<220>
<223>  Synthetic amino acid sequence

<400>  79

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
1               5                   10


<210>  80
<211>  7
<212>  PRT
<213>  Artificial Sequence

<220>
<223>  Synthetic amino acid sequence

<400>  80
```

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 81

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 82
<211> 2366
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (102)..(102)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (270)..(270)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (273)..(273)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (286)..(286)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (288)..(288)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (384)..(384)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (461)..(461)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (463)..(463)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (520)..(520)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (543)..(543)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (544)..(544)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (587)..(587)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (600)..(600)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (653)..(653)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (698)..(698)
<223> Xaa is any amino acid.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (751)..(751)
<223> Xaa is any amino acid.

<400> 82

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15


Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45


Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Xaa Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Xaa Ile Leu
            260                 265                 270

Xaa Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Xaa Val Xaa
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320
```

```
Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Xaa
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Xaa Val Xaa Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Xaa Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Xaa Xaa
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575
```

```
Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Xaa Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Xaa Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly Xaa Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Xaa Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
```

820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

```
Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305
```

```
Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545
```

```
Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
```

1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250
```

```
Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 83
<211> 2709
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 83

```
Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile Arg
1               5                  10                  15

Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu Tyr
            20                  25                  30

Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu Lys
        35                  40                  45

Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr Ser
    50                  55                  60

Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys Glu
65                  70                  75                  80
```

```
Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn Leu
                85                  90                  95

His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu Tyr
            100                 105                 110

Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu Trp
        115                 120                 125

Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile Val
    130                 135                 140

Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile Gln
145                 150                 155                 160

Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu Phe
                165                 170                 175

Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln Ile
            180                 185                 190

Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His Leu
        195                 200                 205

Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg Thr
    210                 215                 220

Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg Ala
225                 230                 235                 240

Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln Glu
                245                 250                 255

Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg Leu
            260                 265                 270

Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Ala Val Ala Met Leu
        275                 280                 285

Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser Ser
    290                 295                 300

Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met Lys
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys Leu
                325                 330                 335
```

```
Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys Ser
            340                 345                 350

Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser Asp
        355                 360                 365

Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln Ala
    370                 375                 380

Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu Gln
385                 390                 395                 400

Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala Ile
                405                 410                 415

Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp Ser
            420                 425                 430

Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys Ile
        435                 440                 445

Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr Ile
    450                 455                 460

Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe Ile
465                 470                 475                 480

Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp Leu
                485                 490                 495

Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu Gln
            500                 505                 510

Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr Gln
        515                 520                 525

Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu Asp
    530                 535                 540

Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr Leu
545                 550                 555                 560

Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser Lys
                565                 570                 575

Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser Tyr
            580                 585                 590
```

```
Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile Ile
        595                 600                 605

Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser Asp
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu Arg
625                 630                 635                 640

Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly Lys
                645                 650                 655

Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser Leu
            660                 665                 670

Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile Ser
        675                 680                 685

Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr
    690                 695                 700

Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser Ile
705                 710                 715                 720

Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser Ile
                725                 730                 735

Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
            740                 745                 750

Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ala
        755                 760                 765

Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser Ile
    770                 775                 780

Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala Ser
785                 790                 795                 800

Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser Pro
                805                 810                 815

Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser Ser
            820                 825                 830

Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn Ile
```

835 840 845

Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu Glu
850 855 860

Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu Asp
865 870 875 880

Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser Thr
885 890 895

Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr Val
900 905 910

Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr Lys
915 920 925

Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly Asn
930 935 940

Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr Leu
945 950 955 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn Lys
965 970 975

Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr Ala
980 985 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln Leu
995 1000 1005

Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val Leu
1010 1015 1020

Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu Asp
1025 1030 1035

Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu His
1040 1045 1050

Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val Leu
1055 1060 1065

Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser Ile
1070 1075 1080

```
Val Gly  Ile Gly Ala Glu Val  Thr Ile Phe Leu Leu  Pro Ile Ala
    1085                1090                1095

Gly Ile  Ser Ala Gly Ile Pro  Ser Leu Val Asn Asn  Glu Leu Ile
    1100                1105                1110

Leu His  Asp Lys Ala Thr Ser  Val Val Asn Tyr Phe  Asn His Leu
    1115                1120                1125

Ser Glu  Ser Lys Lys Tyr Gly  Pro Leu Lys Thr Glu  Asp Asp Lys
    1130                1135                1140

Ile Leu  Val Pro Ile Asp Asp  Leu Val Ile Ser Glu  Ile Asp Phe
    1145                1150                1155

Asn Asn  Asn Ser Ile Lys Leu  Gly Thr Cys Asn Ile  Leu Ala Met
    1160                1165                1170

Glu Gly  Gly Ser Gly His Thr  Val Thr Gly Asn Ile  Asp His Phe
    1175                1180                1185

Phe Ser  Ser Pro Ser Ile Ser  Ser His Ile Pro Ser  Leu Ser Ile
    1190                1195                1200

Tyr Ser  Ala Ile Gly Ile Glu  Thr Glu Asn Leu Asp  Phe Ser Lys
    1205                1210                1215

Lys Ile  Met Met Leu Pro Asn  Ala Pro Ser Arg Val  Phe Trp Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Ala Val Pro Gly  Leu Arg Ser Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245

Thr Arg  Leu Leu Asp Ser Ile  Arg Asp Leu Tyr Pro  Gly Lys Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Phe Tyr Ala Phe  Phe Asp Tyr Ala Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Val Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Lys Ile Lys  Leu Asp Lys
    1280                1285                1290

Asp Thr  Arg Asn Phe Ile Met  Pro Thr Ile Thr Thr  Asn Glu Ile
    1295                1300                1305

Arg Asn  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Asp Gly Ala Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320
```

```
Ser Leu  Leu Leu Ser Ser Tyr  Pro Ile Ser Thr Asn  Ile Asn Leu
    1325                1330                1335

Ser Lys  Asp Asp Leu Trp Ile  Phe Asn Ile Asp Asn  Glu Val Arg
    1340                1345                1350

Glu Ile  Ser Ile Glu Asn Gly  Thr Ile Lys Lys Gly  Lys Leu Ile
    1355                1360                1365

Lys Asp  Val Leu Ser Lys Ile  Asp Ile Asn Lys Asn  Lys Leu Ile
    1370                1375                1380

Ile Gly  Asn Gln Thr Ile Asp  Phe Ser Gly Asp Ile  Asp Asn Lys
    1385                1390                1395

Asp Arg  Tyr Ile Phe Leu Thr  Cys Glu Leu Asp Asp  Lys Ile Ser
    1400                1405                1410

Leu Ile  Ile Glu Ile Asn Leu  Val Ala Lys Ser Tyr  Ser Leu Leu
    1415                1420                1425

Leu Ser  Gly Asp Lys Asn Tyr  Leu Ile Ser Asn Leu  Ser Asn Ile
    1430                1435                1440

Ile Glu  Lys Ile Asn Thr Leu  Gly Leu Asp Ser Lys  Asn Ile Ala
    1445                1450                1455

Tyr Asn  Tyr Thr Asp Glu Ser  Asn Asn Lys Tyr Phe  Gly Ala Ile
    1460                1465                1470

Ser Lys  Thr Ser Gln Lys Ser  Ile Ile His Tyr Lys  Lys Asp Ser
    1475                1480                1485

Lys Asn  Ile Leu Glu Phe Tyr  Asn Asp Ser Thr Leu  Glu Phe Asn
    1490                1495                1500

Ser Lys  Asp Phe Ile Ala Glu  Asp Ile Asn Val Phe  Met Lys Asp
    1505                1510                1515

Asp Ile  Asn Thr Ile Thr Gly  Lys Tyr Tyr Val Asp  Asn Asn Thr
    1520                1525                1530

Asp Lys  Ser Ile Asp Phe Ser  Ile Ser Leu Val Ser  Lys Asn Gln
    1535                1540                1545

Val Lys  Val Asn Gly Leu Tyr  Leu Asn Glu Ser Val  Tyr Ser Ser
    1550                1555                1560
```

```
Tyr Leu  Asp Phe Val Lys Asn  Ser Asp Gly His His  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asn Phe  Met Asn Leu Phe Leu  Asp Asn Ile Ser Phe  Trp Lys Leu
    1580                1585                1590

Phe Gly  Phe Glu Asn Ile Asn  Phe Val Ile Asp Lys  Tyr Phe Thr
    1595                1600                1605

Leu Val  Gly Lys Thr Asn Leu  Gly Tyr Val Glu Phe  Ile Cys Asp
    1610                1615                1620

Asn Asn  Lys Asn Ile Asp Ile  Tyr Phe Gly Glu Trp  Lys Thr Ser
    1625                1630                1635

Ser Ser  Lys Ser Thr Ile Phe  Ser Gly Asn Gly Arg  Asn Val Val
    1640                1645                1650

Val Glu  Pro Ile Tyr Asn Pro  Asp Thr Gly Glu Asp  Ile Ser Thr
    1655                1660                1665

Ser Leu  Asp Phe Ser Tyr Glu  Pro Leu Tyr Gly Ile  Asp Arg Tyr
    1670                1675                1680

Ile Asn  Lys Val Leu Ile Ala  Pro Asp Leu Tyr Thr  Ser Leu Ile
    1685                1690                1695

Asn Ile  Asn Thr Asn Tyr Tyr  Ser Asn Glu Tyr Tyr  Pro Glu Ile
    1700                1705                1710

Ile Val  Leu Asn Pro Asn Thr  Phe His Lys Lys Val  Asn Ile Asn
    1715                1720                1725

Leu Asp  Ser Ser Ser Phe Glu  Tyr Lys Trp Ser Thr  Glu Gly Ser
    1730                1735                1740

Asp Phe  Ile Leu Val Arg Tyr  Leu Glu Glu Ser Asn  Lys Lys Ile
    1745                1750                1755

Leu Gln  Lys Ile Arg Ile Lys  Gly Ile Leu Ser Asn  Thr Gln Ser
    1760                1765                1770

Phe Asn  Lys Met Ser Ile Asp  Phe Lys Asp Ile Lys  Lys Leu Ser
    1775                1780                1785

Leu Gly  Tyr Ile Met Ser Asn  Phe Lys Ser Phe Asn  Ser Glu Asn
```

1790 1795 1800

Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn Lys
1805 1810 1815

Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu Ile
1820 1825 1830

Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe Asn
1835 1840 1845

Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
1850 1855 1860

Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Ile Ser Tyr Lys Ile Ile Asn
1865 1870 1875

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu Gly
1880 1885 1890

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
1895 1900 1905

Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
1910 1915 1920

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp
1925 1930 1935

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys Tyr
1940 1945 1950

Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln Val
1955 1960 1965

Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile Ile
1970 1975 1980

Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp
1985 1990 1995

Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp Gly
2000 2005 2010

Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly Val
2015 2020 2025

```
Phe Ser  Thr Ser Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2030                2035                2040

Tyr Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Val Tyr  Gln Ser Lys
    2045                2050                2055

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Asp  Asn Asn Ser
    2060                2065                2070

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Ser Lys  Lys Tyr Tyr
    2075                2080                2085

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2090                2095                2100

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala
    2105                2110                2115

Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr
    2120                2125                2130

Asn Thr  Ala Ile Ala Ser Thr  Gly Tyr Thr Ile Ile  Asn Gly Lys
    2135                2140                2145

His Phe  Tyr Phe Asn Thr Asp  Gly Ile Met Gln Ile  Gly Val Phe
    2150                2155                2160

Lys Gly  Pro Asn Gly Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Asp
    2165                2170                2175

Ala Asn  Asn Ile Glu Gly Gln  Ala Ile Leu Tyr Gln  Asn Glu Phe
    2180                2185                2190

Leu Thr  Leu Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Gly Ser  Asp Ser Lys
    2195                2200                2205

Ala Val  Thr Gly Trp Arg Ile  Ile Asn Asn Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2210                2215                2220

Asn Pro  Asn Asn Ala Ile Ala  Ala Ile His Leu Cys  Thr Ile Asn
    2225                2230                2235

Asn Asp  Lys Tyr Tyr Phe Ser  Tyr Asp Gly Ile Leu  Gln Asn Gly
    2240                2245                2250

Tyr Ile  Thr Ile Glu Arg Asn  Asn Phe Tyr Phe Asp  Ala Asn Asn
    2255                2260                2265
```

```
Glu Ser  Lys Met Val Thr Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2270                 2275                 2280

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2285                 2290                 2295

Gln Ala  Ile Val Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2300                 2305                 2310

Lys Tyr  Tyr Phe Asp Asn Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Trp Gln
    2315                 2320                 2325

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Leu Asn  Thr Ala Glu
    2330                 2335                 2340

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2345                 2350                 2355

Asn Leu  Asn Thr Ala Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp
    2360                 2365                 2370

Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Thr Asn Thr Phe Ile  Ala Ser Thr
    2375                 2380                 2385

Gly Tyr  Thr Ser Ile Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Thr Asp
    2390                 2395                 2400

Gly Ile  Met Gln Ile Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu
    2405                 2410                 2415

Tyr Phe  Ala Pro Ala Asn Thr  His Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln
    2420                 2425                 2430

Ala Ile  Leu Tyr Gln Asn Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys
    2435                 2440                 2445

Tyr Tyr  Phe Gly Ser Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Leu Arg Thr
    2450                 2455                 2460

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Val Ala
    2465                 2470                 2475

Val Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asn Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2480                 2485                 2490

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Ser Gly
    2495                 2500                 2505
```

```
Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2510                 2515                 2520

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2525                 2530                 2535

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Arg Tyr  Gln Asn Arg
    2540                 2545                 2550

Phe Leu  Tyr Leu His Asp Asn  Ile Tyr Tyr Phe Gly  Asn Asn Ser
    2555                 2560                 2565

Lys Ala  Ala Thr Gly Trp Val  Thr Ile Asp Gly Asn  Arg Tyr Tyr
    2570                 2575                 2580

Phe Glu  Pro Asn Thr Ala Met  Gly Ala Asn Gly Tyr  Lys Thr Ile
    2585                 2590                 2595

Asp Asn  Lys Asn Phe Tyr Phe  Arg Asn Gly Leu Pro  Gln Ile Gly
    2600                 2605                 2610

Val Phe  Lys Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2615                 2620                 2625

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2630                 2635                 2640

Arg Phe  Leu His Leu Leu Gly  Lys Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2645                 2650                 2655

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asn Gly  Lys Val Tyr
    2660                 2665                 2670

Tyr Phe  Met Pro Asp Thr Ala  Met Ala Ala Ala Gly  Gly Leu Phe
    2675                 2680                 2685

Glu Ile  Asp Gly Val Ile Tyr  Phe Phe Gly Val Asp  Gly Val Lys
    2690                 2695                 2700

Ala Pro  Gly Ile Tyr Gly
    2705
```

<210> 84
<211> 2365
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 84

```
Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg Phe
1               5                  10                  15

Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu Glu
            20                  25                  30

Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys Leu
        35                  40                  45

Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys Lys
    50                  55                  60

Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val Thr
65                  70                  75                  80

Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile Asn
            100                 105                 110

Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn Val
        115                 120                 125

Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr Val
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn Leu
145                 150                 155                 160

Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala Gln
            180                 185                 190

Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr Tyr
        195                 200                 205

Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr Ile
    210                 215                 220

Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val Arg
225                 230                 235                 240
```

```
Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu Arg
            260                 265                 270

Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Ala Val Ala Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp Met
                325                 330                 335

Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala Ser
        355                 360                 365

Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val Lys
385                 390                 395                 400

Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile Asp
            420                 425                 430

Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met Glu
        435                 440                 445

Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr Thr
    450                 455                 460

Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp Leu
465                 470                 475                 480

Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala Asp
```

485 490 495

Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys Ala
515 520 525

Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly Glu
530 535 540

Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly Tyr
565 570 575

Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu Ala
580 585 590

Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe Gln
595 600 605

Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly Asp
610 615 620

Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile Ser
625 630 635 640

Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp Glu
645 650 655

Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser Thr
660 665 670

Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro Lys
675 680 685

Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser Ile
690 695 700

Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys Asp
705 710 715 720

Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile Val
725 730 735

```
Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg Glu
            740                 745                 750

Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile Ile
        755                 760                 765

Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu Asn
    770                 775                 780

Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu Leu
785                 790                 795                 800

Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu Glu
                805                 810                 815

Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile Asp
            820                 825                 830

Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr Ser
        835                 840                 845

Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser Ile
    850                 855                 860

Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp Ser
865                 870                 875                 880

His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe Ser
                885                 890                 895

Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu Thr
            900                 905                 910

Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu Ile
        915                 920                 925

Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu Val
    930                 935                 940

Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn Ala
945                 950                 955                 960

Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu Ser
                965                 970                 975

Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln Leu
            980                 985                 990
```

```
Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile  Thr Asp Ala Ala Lys  Val Val Glu
        995                 1000                1005

Leu Val  Ser Thr Ala Leu Asp  Glu Thr Ile Asp Leu  Leu Pro Thr
    1010                1015                1020

Leu Ser  Glu Gly Leu Pro Ile  Ile Ala Thr Ile Ile  Asp Gly Val
    1025                1030                1035

Ser Leu  Gly Ala Ala Ile Lys  Glu Leu Ser Glu Thr  Ser Asp Pro
    1040                1045                1050

Leu Leu  Arg Gln Glu Ile Glu  Ala Lys Ile Gly Ile  Met Ala Val
    1055                1060                1065

Asn Leu  Thr Thr Ala Thr Thr  Ala Ile Ile Thr Ser  Ser Leu Gly
    1070                1075                1080

Ile Ala  Ser Gly Phe Ser Ile  Leu Leu Val Pro Leu  Ala Gly Ile
    1085                1090                1095

Ser Ala  Gly Ile Pro Ser Leu  Val Asn Asn Glu Leu  Val Leu Arg
    1100                1105                1110

Asp Lys  Ala Thr Lys Val Val  Asp Tyr Phe Lys His  Val Ser Leu
    1115                1120                1125

Val Glu  Thr Glu Gly Val Phe  Thr Leu Leu Asp Asp  Lys Ile Met
    1130                1135                1140

Met Pro  Gln Asp Asp Leu Val  Ile Ser Glu Ile Asp  Phe Asn Asn
    1145                1150                1155

Asn Ser  Ile Val Leu Gly Lys  Cys Glu Ile Trp Arg  Met Glu Gly
    1160                1165                1170

Gly Ser  Gly His Thr Val Thr  Asp Asp Ile Asp His  Phe Phe Ser
    1175                1180                1185

Ala Pro  Ser Ile Thr Tyr Arg  Glu Pro His Leu Ser  Ile Tyr Asp
    1190                1195                1200

Val Leu  Glu Val Gln Lys Glu  Glu Leu Asp Leu Ser  Lys Asp Leu
    1205                1210                1215

Met Val  Leu Pro Asn Ala Pro  Asn Arg Val Phe Ala  Trp Glu Thr
    1220                1225                1230
```

```
Gly Trp  Thr Pro Gly Leu Arg  Ser Leu Glu Asn Asp  Gly Thr Lys
    1235                1240                1245

Leu Leu  Asp Arg Ile Arg Asp  Asn Tyr Glu Gly Glu  Phe Tyr Trp
    1250                1255                1260

Arg Tyr  Phe Ala Phe Ile Ala  Asp Ala Leu Ile Thr  Thr Leu Lys
    1265                1270                1275

Pro Arg  Tyr Glu Asp Thr Asn  Ile Arg Ile Asn Leu  Asp Ser Asn
    1280                1285                1290

Thr Arg  Ser Phe Ile Val Pro  Ile Ile Thr Thr Glu  Tyr Ile Arg
    1295                1300                1305

Glu Lys  Leu Ser Tyr Ser Phe  Tyr Gly Ser Gly Gly  Thr Tyr Ala
    1310                1315                1320

Leu Ser  Leu Ser Gln Tyr Asn  Met Gly Ile Asn Ile  Glu Leu Ser
    1325                1330                1335

Glu Ser  Asp Val Trp Ile Ile  Asp Val Asp Asn Val  Val Arg Asp
    1340                1345                1350

Val Thr  Ile Glu Ser Asp Lys  Ile Lys Lys Gly Asp  Leu Ile Glu
    1355                1360                1365

Gly Ile  Leu Ser Thr Leu Ser  Ile Glu Glu Asn Lys  Ile Ile Leu
    1370                1375                1380

Asn Ser  His Glu Ile Asn Phe  Ser Gly Glu Val Asn  Gly Ser Asn
    1385                1390                1395

Gly Phe  Val Ser Leu Thr Phe  Ser Ile Leu Glu Gly  Ile Asn Ala
    1400                1405                1410

Ile Ile  Glu Val Asp Leu Leu  Ser Lys Ser Tyr Lys  Leu Leu Ile
    1415                1420                1425

Ser Gly  Glu Leu Lys Ile Leu  Met Leu Asn Ser Asn  His Ile Gln
    1430                1435                1440

Gln Lys  Ile Asp Tyr Ile Gly  Phe Asn Ser Glu Leu  Gln Lys Asn
    1445                1450                1455

Ile Pro  Tyr Ser Phe Val Asp  Ser Glu Gly Lys Glu  Asn Gly Phe
```

1460 1465 1470

Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu Pro
1475 1480 1485

Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys Pro
1490 1495 1500

Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val Ile
1505 1510 1515

Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys Asp
1520 1525 1530

Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys Thr
1535 1540 1545

Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala Glu
1550 1555 1560

Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser Asp
1565 1570 1575

Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile Phe
1580 1585 1590

Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala Asn
1595 1600 1605

Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe Ile
1610 1615 1620

Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe Asn
1625 1630 1635

Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln Asn
1640 1645 1650

Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp Ile
1655 1660 1665

Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly Ile
1670 1675 1680

Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr Thr
1685 1690 1695

```
Asp Glu  Ile Asn Ile Thr Pro  Val Tyr Glu Thr Asn  Asn Thr Tyr
    1700                1705                1710

Pro Glu  Val Ile Val Leu Asp  Ala Asn Tyr Ile Asn  Glu Lys Ile
    1715                1720                1725

Asn Val  Asn Ile Asn Asp Leu  Ser Ile Arg Tyr Val  Trp Ser Asn
    1730                1735                1740

Asp Gly  Asn Asp Phe Ile Leu  Met Ser Thr Ser Glu  Glu Asn Lys
    1745                1750                1755

Val Ser  Gln Val Lys Ile Arg  Phe Val Asn Val Phe  Lys Asp Lys
    1760                1765                1770

Thr Leu  Ala Asn Lys Leu Ser  Phe Asn Phe Ser Asp  Lys Gln Asp
    1775                1780                1785

Val Pro  Val Ser Glu Ile Ile  Leu Ser Phe Thr Pro  Ser Tyr Tyr
    1790                1795                1800

Glu Asp  Gly Leu Ile Gly Tyr  Asp Leu Gly Leu Val  Ser Leu Tyr
    1805                1810                1815

Asn Glu  Lys Phe Tyr Ile Asn  Asn Phe Gly Met Met  Val Ser Gly
    1820                1825                1830

Leu Ile  Tyr Ile Asn Asp Ser  Leu Tyr Tyr Phe Lys  Pro Pro Val
    1835                1840                1845

Asn Asn  Leu Ile Thr Gly Phe  Val Thr Val Gly Asp  Asp Lys Tyr
    1850                1855                1860

Tyr Phe  Asn Pro Ile Asn Gly  Gly Ala Ala Ser Ile  Gly Glu Thr
    1865                1870                1875

Ile Ile  Asp Asp Lys Asn Tyr  Tyr Phe Asn Gln Ser  Gly Val Leu
    1880                1885                1890

Gln Thr  Gly Val Phe Ser Thr  Glu Asp Gly Phe Lys  Tyr Phe Ala
    1895                1900                1905

Pro Ala  Asn Thr Leu Asp Glu  Asn Leu Glu Gly Glu  Ala Ile Asp
    1910                1915                1920

Phe Thr  Gly Lys Leu Ile Ile  Asp Glu Asn Ile Tyr  Tyr Phe Asp
    1925                1930                1935
```

```
Asp Asn  Tyr Arg Gly Ala Val  Glu Trp Lys Glu Leu  Asp Gly Glu
    1940                1945                1950

Met His  Tyr Phe Ser Pro Glu  Thr Gly Lys Ala Phe  Lys Gly Leu
    1955                1960                1965

Asn Gln  Ile Gly Asp Tyr Lys  Tyr Tyr Phe Asn Ser  Asp Gly Val
    1970                1975                1980

Met Gln  Lys Gly Phe Val Ser  Ile Asn Asp Asn Lys  His Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Asp  Ser Gly Val Met Lys  Val Gly Tyr Thr Glu  Ile Asp Gly
    2000                2005                2010

Lys His  Phe Tyr Phe Ala Glu  Asn Gly Glu Met Gln  Ile Gly Val
    2015                2020                2025

Phe Asn  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe Ala His  His Asn Glu
    2030                2035                2040

Asp Leu  Gly Asn Glu Glu Gly  Glu Glu Ile Ser Tyr  Ser Gly Ile
    2045                2050                2055

Leu Asn  Phe Asn Asn Lys Ile  Tyr Tyr Phe Asp Asp  Ser Phe Thr
    2060                2065                2070

Ala Val  Val Gly Trp Lys Asp  Leu Glu Asp Gly Ser  Lys Tyr Tyr
    2075                2080                2085

Phe Asp  Glu Asp Thr Ala Glu  Ala Tyr Ile Gly Leu  Ser Leu Ile
    2090                2095                2100

Asn Asp  Gly Gln Tyr Tyr Phe  Asn Asp Asp Gly Ile  Met Gln Val
    2105                2110                2115

Gly Phe  Val Thr Ile Asn Asp  Lys Val Phe Tyr Phe  Ser Asp Ser
    2120                2125                2130

Gly Ile  Ile Glu Ser Gly Val  Gln Asn Ile Asp Asp  Asn Tyr Phe
    2135                2140                2145

Tyr Ile  Asp Asp Asn Gly Ile  Val Gln Ile Gly Val  Phe Asp Thr
    2150                2155                2160

Ser Asp  Gly Tyr Lys Tyr Phe  Ala Pro Ala Asn Thr  Val Asn Asp
    2165                2170                2175
```

```
Asn Ile  Tyr Gly Gln Ala Val  Glu Tyr Ser Gly Leu  Val Arg Val
    2180                 2185                 2190

Gly Glu  Asp Val Tyr Tyr Phe  Gly Glu Thr Tyr Thr  Ile Glu Thr
    2195                 2200                 2205

Gly Trp  Ile Tyr Asp Met Glu  Asn Glu Ser Asp Lys  Tyr Tyr Phe
    2210                 2215                 2220

Asn Pro  Glu Thr Lys Lys Ala  Cys Lys Gly Ile Asn  Leu Ile Asp
    2225                 2230                 2235

Asp Ile  Lys Tyr Tyr Phe Asp  Glu Lys Gly Ile Met  Arg Thr Gly
    2240                 2245                 2250

Leu Ile  Ser Phe Glu Asn Asn  Asn Tyr Tyr Phe Asn  Glu Asn Gly
    2255                 2260                 2265

Glu Met  Gln Phe Gly Tyr Ile  Asn Ile Glu Asp Lys  Met Phe Tyr
    2270                 2275                 2280

Phe Gly  Glu Asp Gly Val Met  Gln Ile Gly Val Phe  Asn Thr Pro
    2285                 2290                 2295

Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His Gln Asn Thr Leu  Asp Glu Asn
    2300                 2305                 2310

Phe Glu  Gly Glu Ser Ile Asn  Tyr Thr Gly Trp Leu  Asp Leu Asp
    2315                 2320                 2325

Glu Lys  Arg Tyr Tyr Phe Thr  Asp Glu Tyr Ile Ala  Ala Thr Gly
    2330                 2335                 2340

Ser Val  Ile Ile Asp Gly Glu  Glu Tyr Tyr Phe Asp  Pro Asp Thr
    2345                 2350                 2355

Ala Gln  Leu Val Ile Ser Glu
    2360                 2365


<210>  85
<211>  2709
<212>  PRT
<213>  Artificial Sequence

<220>
<223>  Synthetic amino acid sequence

<400>  85
```

```
Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile Arg
1               5                  10                  15

Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu Tyr
            20                  25                  30

Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu Lys
        35                  40                  45

Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr Ser
    50                  55                  60

Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys Glu
65                  70                  75                  80

Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn Leu
                85                  90                  95

His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu Tyr
            100                 105                 110

Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu Trp
        115                 120                 125

Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile Val
    130                 135                 140

Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile Gln
145                 150                 155                 160

Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu Phe
                165                 170                 175

Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln Ile
            180                 185                 190

Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His Leu
        195                 200                 205

Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg Thr
    210                 215                 220

Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg Ala
225                 230                 235                 240

Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln Glu
                245                 250                 255
```

```
Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Val Ala Leu
            260                 265                 270

Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Ala Val Ala Met Leu
        275                 280                 285

Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser Ser
    290                 295                 300

Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met Lys
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys Leu
                325                 330                 335

Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys Ser
            340                 345                 350

Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser Asp
        355                 360                 365

Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln Ala
    370                 375                 380

Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu Gln
385                 390                 395                 400

Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala Ile
                405                 410                 415

Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp Ser
            420                 425                 430

Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys Ile
        435                 440                 445

Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Ala Ala Ala Ser Thr Ile
    450                 455                 460

Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe Ile
465                 470                 475                 480

Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp Leu
                485                 490                 495

Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu Gln
```

500 505 510

Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr Gln
515 520 525

Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu Asp
530 535 540

Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr Leu
545 550 555 560

Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser Lys
565 570 575

Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser Tyr
580 585 590

Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile Ile
595 600 605

Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser Asp
610 615 620

Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu Arg
625 630 635 640

Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly Lys
645 650 655

Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser Leu
660 665 670

Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile Ser
675 680 685

Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr
690 695 700

Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser Ile
705 710 715 720

Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser Ile
725 730 735

Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
740 745 750

```
Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ala
        755                 760                 765

Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser Ile
    770                 775                 780

Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala Ser
785                 790                 795                 800

Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser Pro
                805                 810                 815

Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser Ser
            820                 825                 830

Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn Ile
        835                 840                 845

Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu Glu
    850                 855                 860

Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu Asp
865                 870                 875                 880

Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser Thr
                885                 890                 895

Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr Val
            900                 905                 910

Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr Lys
        915                 920                 925

Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly Asn
    930                 935                 940

Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr Leu
945                 950                 955                 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn Lys
                965                 970                 975

Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr Ala
            980                 985                 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn  Thr Ile Tyr Asp Ser  Ile Gln Leu
        995                 1000                1005
```

```
Val Asn  Leu Ile Ser Asn Ala  Val Asn Asp Thr Ile  Asn Val Leu
    1010                1015                1020

Pro Thr  Ile Thr Glu Gly Ile  Pro Ile Val Ser Thr  Ile Leu Asp
    1025                1030                1035

Gly Ile  Asn Leu Gly Ala Ala  Ile Lys Glu Leu Leu  Asp Glu His
    1040                1045                1050

Asp Pro  Leu Leu Lys Lys Glu  Leu Glu Ala Lys Val  Gly Val Leu
    1055                1060                1065

Ala Ile  Asn Met Ser Leu Ser  Ile Ala Ala Thr Val  Ala Ser Ile
    1070                1075                1080

Val Gly  Ile Gly Ala Glu Val  Thr Ile Phe Leu Leu  Pro Ile Ala
    1085                1090                1095

Gly Ile  Ser Ala Gly Ile Pro  Ser Leu Val Asn Asn  Glu Leu Ile
    1100                1105                1110

Leu His  Asp Lys Ala Thr Ser  Val Val Asn Tyr Phe  Asn His Leu
    1115                1120                1125

Ser Glu  Ser Lys Lys Tyr Gly  Pro Leu Lys Thr Glu  Asp Asp Lys
    1130                1135                1140

Ile Leu  Val Pro Ile Asp Asp  Leu Val Ile Ser Glu  Ile Asp Phe
    1145                1150                1155

Asn Asn  Asn Ser Ile Lys Leu  Gly Thr Cys Asn Ile  Leu Ala Met
    1160                1165                1170

Glu Gly  Gly Ser Gly His Thr  Val Thr Gly Asn Ile  Asp His Phe
    1175                1180                1185

Phe Ser  Ser Pro Ser Ile Ser  Ser His Ile Pro Ser  Leu Ser Ile
    1190                1195                1200

Tyr Ser  Ala Ile Gly Ile Glu  Thr Glu Asn Leu Asp  Phe Ser Lys
    1205                1210                1215

Lys Ile  Met Met Leu Pro Asn  Ala Pro Ser Arg Val  Phe Trp Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Ala Val Pro Gly  Leu Arg Ser Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245
```

```
Thr Arg  Leu Leu Asp Ser Ile  Arg Asp Leu Tyr Pro  Gly Lys Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Phe Tyr Ala Phe  Phe Asp Tyr Ala Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Val Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Lys Ile Lys  Leu Asp Lys
    1280                1285                1290

Asp Thr  Arg Asn Phe Ile Met  Pro Thr Ile Thr Thr  Asn Glu Ile
    1295                1300                1305

Arg Asn  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Asp Gly Ala Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ser Leu  Leu Leu Ser Ser Tyr  Pro Ile Ser Thr Asn  Ile Asn Leu
    1325                1330                1335

Ser Lys  Asp Asp Leu Trp Ile  Phe Asn Ile Asp Asn  Glu Val Arg
    1340                1345                1350

Glu Ile  Ser Ile Glu Asn Gly  Thr Ile Lys Lys Gly  Lys Leu Ile
    1355                1360                1365

Lys Asp  Val Leu Ser Lys Ile  Asp Ile Asn Lys Asn  Lys Leu Ile
    1370                1375                1380

Ile Gly  Asn Gln Thr Ile Asp  Phe Ser Gly Asp Ile  Asp Asn Lys
    1385                1390                1395

Asp Arg  Tyr Ile Phe Leu Thr  Cys Glu Leu Asp Asp  Lys Ile Ser
    1400                1405                1410

Leu Ile  Ile Glu Ile Asn Leu  Val Ala Lys Ser Tyr  Ser Leu Leu
    1415                1420                1425

Leu Ser  Gly Asp Lys Asn Tyr  Leu Ile Ser Asn Leu  Ser Asn Ile
    1430                1435                1440

Ile Glu  Lys Ile Asn Thr Leu  Gly Leu Asp Ser Lys  Asn Ile Ala
    1445                1450                1455

Tyr Asn  Tyr Thr Asp Glu Ser  Asn Asn Lys Tyr Phe  Gly Ala Ile
    1460                1465                1470

Ser Lys  Thr Ser Gln Lys Ser  Ile Ile His Tyr Lys  Lys Asp Ser
```

1475 1480 1485

Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe Asn
1490 1495 1500

Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys Asp
1505 1510 1515

Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn Thr
1520 1525 1530

Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn Gln
1535 1540 1545

Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser Ser
1550 1555 1560

Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys Leu
1580 1585 1590

Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe Thr
1595 1600 1605

Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys Asp
1610 1615 1620

Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr Ser
1625 1630 1635

Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val Val
1640 1645 1650

Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser Thr
1655 1660 1665

Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg Tyr
1670 1675 1680

Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu Ile
1685 1690 1695

Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu Ile
1700 1705 1710

```
Ile Val  Leu Asn Pro Asn Thr  Phe His Lys Lys Val  Asn Ile Asn
    1715                1720                1725

Leu Asp  Ser Ser Ser Phe Glu  Tyr Lys Trp Ser Thr  Glu Gly Ser
    1730                1735                1740

Asp Phe  Ile Leu Val Arg Tyr  Leu Glu Glu Ser Asn  Lys Lys Ile
    1745                1750                1755

Leu Gln  Lys Ile Arg Ile Lys  Gly Ile Leu Ser Asn  Thr Gln Ser
    1760                1765                1770

Phe Asn  Lys Met Ser Ile Asp  Phe Lys Asp Ile Lys  Lys Leu Ser
    1775                1780                1785

Leu Gly  Tyr Ile Met Ser Asn  Phe Lys Ser Phe Asn  Ser Glu Asn
    1790                1795                1800

Glu Leu  Asp Arg Asp His Leu  Gly Phe Lys Ile Ile  Asp Asn Lys
    1805                1810                1815

Thr Tyr  Tyr Tyr Asp Glu Asp  Ser Lys Leu Val Lys  Gly Leu Ile
    1820                1825                1830

Asn Ile  Asn Asn Ser Leu Phe  Tyr Phe Asp Pro Ile  Glu Phe Asn
    1835                1840                1845

Leu Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    1850                1855                1860

Asp Ile  Asn Thr Gly Ala Ala  Leu Ile Ser Tyr Lys  Ile Ile Asn
    1865                1870                1875

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Asn Asp Gly Val Met  Gln Leu Gly
    1880                1885                1890

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    1895                1900                1905

Thr Gln  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    1910                1915                1920

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asp
    1925                1930                1935

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Arg Ile Ile Asn Asn  Glu Lys Tyr
    1940                1945                1950
```

```
Tyr Phe  Asn Pro Asn Asn Ala  Ile Ala Ala Val Gly  Leu Gln Val
    1955                1960                1965

Ile Asp  Asn Asn Lys Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Thr  Ala Ile Ile
    1970                1975                1980

Ser Lys  Gly Trp Gln Thr Val  Asn Gly Ser Arg Tyr  Tyr Phe Asp
    1985                1990                1995

Thr Asp  Thr Ala Ile Ala Phe  Asn Gly Tyr Lys Thr  Ile Asp Gly
    2000                2005                2010

Lys His  Phe Tyr Phe Asp Ser  Asp Cys Val Val Lys  Ile Gly Val
    2015                2020                2025

Phe Ser  Thr Ser Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2030                2035                2040

Tyr Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Val Tyr  Gln Ser Lys
    2045                2050                2055

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Asp  Asn Asn Ser
    2060                2065                2070

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Ser Lys  Lys Tyr Tyr
    2075                2080                2085

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2090                2095                2100

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala
    2105                2110                2115

Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr
    2120                2125                2130

Asn Thr  Ala Ile Ala Ser Thr  Gly Tyr Thr Ile Ile  Asn Gly Lys
    2135                2140                2145

His Phe  Tyr Phe Asn Thr Asp  Gly Ile Met Gln Ile  Gly Val Phe
    2150                2155                2160

Lys Gly  Pro Asn Gly Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Asp
    2165                2170                2175

Ala Asn  Asn Ile Glu Gly Gln  Ala Ile Leu Tyr Gln  Asn Glu Phe
    2180                2185                2190
```

```
Leu Thr  Leu Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Gly Ser  Asp Ser Lys
    2195                 2200                 2205

Ala Val  Thr Gly Trp Arg Ile  Ile Asn Asn Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2210                 2215                 2220

Asn Pro  Asn Asn Ala Ile Ala  Ala Ile His Leu Cys  Thr Ile Asn
    2225                 2230                 2235

Asn Asp  Lys Tyr Tyr Phe Ser  Tyr Asp Gly Ile Leu  Gln Asn Gly
    2240                 2245                 2250

Tyr Ile  Thr Ile Glu Arg Asn  Asn Phe Tyr Phe Asp  Ala Asn Asn
    2255                 2260                 2265

Glu Ser  Lys Met Val Thr Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2270                 2275                 2280

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2285                 2290                 2295

Gln Ala  Ile Val Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2300                 2305                 2310

Lys Tyr  Tyr Phe Asp Asn Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Trp Gln
    2315                 2320                 2325

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Leu Asn  Thr Ala Glu
    2330                 2335                 2340

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2345                 2350                 2355

Asn Leu  Asn Thr Ala Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp
    2360                 2365                 2370

Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Thr Asn Thr Phe Ile  Ala Ser Thr
    2375                 2380                 2385

Gly Tyr  Thr Ser Ile Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Thr Asp
    2390                 2395                 2400

Gly Ile  Met Gln Ile Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu
    2405                 2410                 2415

Tyr Phe  Ala Pro Ala Asn Thr  His Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln
```

2420 2425 2430

Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys
2435 2440 2445

Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg Thr
2450 2455 2460

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val Ala
2465 2470 2475

Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2480 2485 2490

Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser Gly
2495 2500 2505

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2510 2515 2520

Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2525 2530 2535

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn Arg
2540 2545 2550

Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn Ser
2555 2560 2565

Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr Tyr
2570 2575 2580

Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Ile
2585 2590 2595

Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile Gly
2600 2605 2610

Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2615 2620 2625

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2630 2635 2640

Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2645 2650 2655

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val Tyr
2660 2665 2670

Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu Phe
2675 2680 2685

Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val Lys
2690 2695 2700

Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705

<210> 86
<211> 2365
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic amino acid sequence

<400> 86

Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg Phe
1 5 10 15

Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu Glu
20 25 30

Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys Leu
35 40 45

Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys Lys
50 55 60

Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val Thr
65 70 75 80

Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile Asn
100 105 110

Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn Val
115 120 125

Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr Val
130 135 140

Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn Leu

145 150 155 160

Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met Glu
165 170 175

Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala Gln
180 185 190

Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr Tyr
195 200 205

Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr Ile
210 215 220

Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val Arg
225 230 235 240

Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu Gln
245 250 255

Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Leu Ala
260 265 270

Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Ala Val Ala Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro Ser
290 295 300

Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp Met
325 330 335

Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser Lys
340 345 350

Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala Ser
355 360 365

Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn Gln
370 375 380

Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val Lys
385 390 395 400

```
Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile Asp
            420                 425                 430

Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met Glu
        435                 440                 445

Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Ala Val Ala Thr Thr
    450                 455                 460

Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp Leu
465                 470                 475                 480

Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala Asp
                485                 490                 495

Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys Ala
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly Glu
    530                 535                 540

Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly Tyr
                565                 570                 575

Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu Ala
            580                 585                 590

Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe Gln
        595                 600                 605

Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly Asp
    610                 615                 620

Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile Ser
625                 630                 635                 640

Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp Glu
                645                 650                 655
```

```
Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser Thr
            660                 665                 670

Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro Lys
        675                 680                 685

Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Ala Asn Met Phe Ser Tyr Ser Ile
    690                 695                 700

Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys Asp
705                 710                 715                 720

Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile Val
                725                 730                 735

Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg Glu
            740                 745                 750

Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile Ile
        755                 760                 765

Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu Asn
    770                 775                 780

Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu Leu
785                 790                 795                 800

Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu Glu
                805                 810                 815

Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile Asp
            820                 825                 830

Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr Ser
        835                 840                 845

Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser Ile
    850                 855                 860

Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp Ser
865                 870                 875                 880

His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe Ser
                885                 890                 895

Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu Thr
            900                 905                 910
```

```
Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu Ile
        915                 920                 925

Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu Val
    930                 935                 940

Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn Ala
945                 950                 955                 960

Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu Ser
                965                 970                 975

Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln Leu
            980                 985                 990

Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile  Thr Asp Ala Ala Lys  Val Val Glu
        995                 1000                1005

Leu Val  Ser Thr Ala Leu Asp  Glu Thr Ile Asp Leu  Leu Pro Thr
    1010                1015                1020

Leu Ser  Glu Gly Leu Pro Ile  Ile Ala Thr Ile Ile  Asp Gly Val
    1025                1030                1035

Ser Leu  Gly Ala Ala Ile Lys  Glu Leu Ser Glu Thr  Ser Asp Pro
    1040                1045                1050

Leu Leu  Arg Gln Glu Ile Glu  Ala Lys Ile Gly Ile  Met Ala Val
    1055                1060                1065

Asn Leu  Thr Thr Ala Thr Thr  Ala Ile Ile Thr Ser  Ser Leu Gly
    1070                1075                1080

Ile Ala  Ser Gly Phe Ser Ile  Leu Leu Val Pro Leu  Ala Gly Ile
    1085                1090                1095

Ser Ala  Gly Ile Pro Ser Leu  Val Asn Asn Glu Leu  Val Leu Arg
    1100                1105                1110

Asp Lys  Ala Thr Lys Val Val  Asp Tyr Phe Lys His  Val Ser Leu
    1115                1120                1125

Val Glu  Thr Glu Gly Val Phe  Thr Leu Leu Asp Asp  Lys Ile Met
    1130                1135                1140

Met Pro  Gln Asp Asp Leu Val  Ile Ser Glu Ile Asp  Phe Asn Asn
```

1145 1150 1155

Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu Gly
1160 1165 1170

Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe Ser
1175 1180 1185

Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr Asp
1190 1195 1200

Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp Leu
1205 1210 1215

Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu Thr
1220 1225 1230

Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr Lys
1235 1240 1245

Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr Trp
1250 1255 1260

Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu Lys
1265 1270 1275

Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser Asn
1280 1285 1290

Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile Arg
1295 1300 1305

Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Ala
1310 1315 1320

Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu Ser
1325 1330 1335

Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg Asp
1340 1345 1350

Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile Glu
1355 1360 1365

Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile Leu
1370 1375 1380

```
Asn Ser  His Glu Ile Asn Phe  Ser Gly Glu Val Asn  Gly Ser Asn
    1385                1390                1395

Gly Phe  Val Ser Leu Thr Phe  Ser Ile Leu Glu Gly  Ile Asn Ala
    1400                1405                1410

Ile Ile  Glu Val Asp Leu Leu  Ser Lys Ser Tyr Lys  Leu Leu Ile
    1415                1420                1425

Ser Gly  Glu Leu Lys Ile Leu  Met Leu Asn Ser Asn  His Ile Gln
    1430                1435                1440

Gln Lys  Ile Asp Tyr Ile Gly  Phe Asn Ser Glu Leu  Gln Lys Asn
    1445                1450                1455

Ile Pro  Tyr Ser Phe Val Asp  Ser Glu Gly Lys Glu  Asn Gly Phe
    1460                1465                1470

Ile Asn  Gly Ser Thr Lys Glu  Gly Leu Phe Val Ser  Glu Leu Pro
    1475                1480                1485

Asp Val  Val Leu Ile Ser Lys  Val Tyr Met Asp Asp  Ser Lys Pro
    1490                1495                1500

Ser Phe  Gly Tyr Tyr Ser Asn  Asn Leu Lys Asp Val  Lys Val Ile
    1505                1510                1515

Thr Lys  Asp Asn Val Asn Ile  Leu Thr Gly Tyr Tyr  Leu Lys Asp
    1520                1525                1530

Asp Ile  Lys Ile Ser Leu Ser  Leu Thr Leu Gln Asp  Glu Lys Thr
    1535                1540                1545

Ile Lys  Leu Asn Ser Val His  Leu Asp Glu Ser Gly  Val Ala Glu
    1550                1555                1560

Ile Leu  Lys Phe Met Asn Arg  Lys Gly Asn Thr Asn  Thr Ser Asp
    1565                1570                1575

Ser Leu  Met Ser Phe Leu Glu  Ser Met Asn Ile Lys  Ser Ile Phe
    1580                1585                1590

Val Asn  Phe Leu Gln Ser Asn  Ile Lys Phe Ile Leu  Asp Ala Asn
    1595                1600                1605

Phe Ile  Ile Ser Gly Thr Thr  Ser Ile Gly Gln Phe  Glu Phe Ile
    1610                1615                1620
```

```
Cys Asp  Glu Asn Asp Asn Ile  Gln Pro Tyr Phe Ile  Lys Phe Asn
    1625                1630                1635

Thr Leu  Glu Thr Asn Tyr Thr  Leu Tyr Val Gly Asn  Arg Gln Asn
    1640                1645                1650

Met Ile  Val Glu Pro Asn Tyr  Asp Leu Asp Asp Ser  Gly Asp Ile
    1655                1660                1665

Ser Ser  Thr Val Ile Asn Phe  Ser Gln Lys Tyr Leu  Tyr Gly Ile
    1670                1675                1680

Asp Ser  Cys Val Asn Lys Val  Val Ile Ser Pro Asn  Ile Tyr Thr
    1685                1690                1695

Asp Glu  Ile Asn Ile Thr Pro  Val Tyr Glu Thr Asn  Asn Thr Tyr
    1700                1705                1710

Pro Glu  Val Ile Val Leu Asp  Ala Asn Tyr Ile Asn  Glu Lys Ile
    1715                1720                1725

Asn Val  Asn Ile Asn Asp Leu  Ser Ile Arg Tyr Val  Trp Ser Asn
    1730                1735                1740

Asp Gly  Asn Asp Phe Ile Leu  Met Ser Thr Ser Glu  Glu Asn Lys
    1745                1750                1755

Val Ser  Gln Val Lys Ile Arg  Phe Val Asn Val Phe  Lys Asp Lys
    1760                1765                1770

Thr Leu  Ala Asn Lys Leu Ser  Phe Asn Phe Ser Asp  Lys Gln Asp
    1775                1780                1785

Val Pro  Val Ser Glu Ile Ile  Leu Ser Phe Thr Pro  Ser Tyr Tyr
    1790                1795                1800

Glu Asp  Gly Leu Ile Gly Tyr  Asp Leu Gly Leu Val  Ser Leu Tyr
    1805                1810                1815

Asn Glu  Lys Phe Tyr Ile Asn  Asn Phe Gly Met Met  Val Ser Gly
    1820                1825                1830

Leu Ile  Tyr Ile Asn Asp Ser  Leu Tyr Tyr Phe Lys  Pro Pro Val
    1835                1840                1845

Asn Asn  Leu Ile Thr Gly Phe  Val Thr Val Gly Asp  Asp Lys Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Tyr Phe  Asn Pro Ile Asn Gly  Gly Ala Ala Ser Ile  Gly Glu Thr
    1865                1870                1875

Ile Ile  Asp Asp Lys Asn Tyr  Tyr Phe Asn Gln Ser  Gly Val Leu
    1880                1885                1890

Gln Thr  Gly Val Phe Ser Thr  Glu Asp Gly Phe Lys  Tyr Phe Ala
    1895                1900                1905

Pro Ala  Asn Thr Leu Asp Glu  Asn Leu Glu Gly Glu  Ala Ile Asp
    1910                1915                1920

Phe Thr  Gly Lys Leu Ile Ile  Asp Glu Asn Ile Tyr  Tyr Phe Asp
    1925                1930                1935

Asp Asn  Tyr Arg Gly Ala Val  Glu Trp Lys Glu Leu  Asp Gly Glu
    1940                1945                1950

Met His  Tyr Phe Ser Pro Glu  Thr Gly Lys Ala Phe  Lys Gly Leu
    1955                1960                1965

Asn Gln  Ile Gly Asp Tyr Lys  Tyr Tyr Phe Asn Ser  Asp Gly Val
    1970                1975                1980

Met Gln  Lys Gly Phe Val Ser  Ile Asn Asp Asn Lys  His Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Asp  Ser Gly Val Met Lys  Val Gly Tyr Thr Glu  Ile Asp Gly
    2000                2005                2010

Lys His  Phe Tyr Phe Ala Glu  Asn Gly Glu Met Gln  Ile Gly Val
    2015                2020                2025

Phe Asn  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe Ala His  His Asn Glu
    2030                2035                2040

Asp Leu  Gly Asn Glu Glu Gly  Glu Glu Ile Ser Tyr  Ser Gly Ile
    2045                2050                2055

Leu Asn  Phe Asn Asn Lys Ile  Tyr Tyr Phe Asp Asp  Ser Phe Thr
    2060                2065                2070

Ala Val  Val Gly Trp Lys Asp  Leu Glu Asp Gly Ser  Lys Tyr Tyr
    2075                2080                2085

Phe Asp  Glu Asp Thr Ala Glu  Ala Tyr Ile Gly Leu  Ser Leu Ile
```

2090 2095 2100

Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln Val
2105 2110 2115

Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp Ser
2120 2125 2130

Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr Phe
2135 2140 2145

Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp Thr
2150 2155 2160

Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn Asp
2165 2170 2175

Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg Val
2180 2185 2190

Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu Thr
2195 2200 2205

Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr Phe
2210 2215 2220

Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile Asp
2225 2230 2235

Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr Gly
2240 2245 2250

Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn Gly
2255 2260 2265

Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe Tyr
2270 2275 2280

Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr Pro
2285 2290 2295

Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu Asn
2300 2305 2310

Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu Asp
2315 2320 2325

Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr Gly
2330 2335 2340

Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp Thr
2345 2350 2355

Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 87
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 87

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

```
Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430
```

```
Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685
```

```
Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
```

930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Glu Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

```
Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410
```

```
Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650
```

```
Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                 1720                 1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                 1735                 1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                 1750                 1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                 1765                 1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                 1780                 1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                 1795                 1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                 1810                 1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                 1825                 1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                 1840                 1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                 1855                 1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                 1870                 1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
```

1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

```
Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys Tyr  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Val Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

His Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355
```

```
Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595
```

```
Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Ser Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 88
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 88

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95
```

```
Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
```

340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

```
Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845
```

```
Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095
```

```
Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
```

1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

```
Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800
```

```
Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                 1810                 1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                 1825                 1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                 1840                 1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                 1855                 1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                 1870                 1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                 1885                 1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                 1900                 1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                 1915                 1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                 1930                 1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                 1945                 1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                 1960                 1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                 1975                 1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040
```

```
Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
```

2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 89
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 89

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255
```

```
Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510
```

```
Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
```

```
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005
```

```
Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245
```

```
Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485
```

```
Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
```

1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Ser
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Ser Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asn Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

```
Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys Tyr  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Val Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

His Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190
```

```
Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430
```

```
Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Ser Lys Val
```

2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 90
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 90

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu

165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

```
Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670
```

```
Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925
```

```
Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
```

1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

```
Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635
```

```
Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875
```

```
Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
```

2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

```
Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580
```

```
Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 91
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 91

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80
```

```
Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335
```

```
Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
```

580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

```
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080
```

```
Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320
```

```
Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
```

1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

```
Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025
```

```
Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265
```

```
Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
```

2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 92
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 92

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240
```

```
Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495
```

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

```
Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
```

995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

```
Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470
```

```
Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Val Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710
```

```
Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
```

1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Thr Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

```
Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415
```

```
Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655
```

```
Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670


Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 93
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 93

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                   10                  15


Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30


Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45


Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60


Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80


Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95


Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110


Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125


Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140


Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160
```

```
Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
```

405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910
```

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155
```

```
Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                 1165                 1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                 1180                 1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                 1195                 1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
```

1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Ala Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ala Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Val Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100
```

```
Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Val
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
```

2330 2335 2340

Val Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Thr Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Ala Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu
2465 2470 2475

Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn
2495 2500 2505

Asp Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

```
Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Asn Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Asn Met
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 94
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 94

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60
```

```
Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320
```

```
Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575
```

```
Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
```

820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

```
Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305
```

```
Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Val Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545
```

```
Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
```

1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250
```

```
Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490
```

```
Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 95

<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 95

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
```

225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

```
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735
```

```
Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990
```

```
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
```

```
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455
```

```
Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695
```

```
Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935
```

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Val
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
```

2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Ala Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Thr His Leu Tyr Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Val Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

```
Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                 2500                 2505

Asp Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640
```

```
Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Asn Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655


Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Asn Met
    2660                2665                2670


Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 96
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 96

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                   10                  15


Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30


Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45


Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60


Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80


Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95


Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110


Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125


Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140
```

```
Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400
```

```
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
```

645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

```
Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140
```

```
Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380
```

```
Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
```

1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Ser
1835 1840 1845

```
Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085
```

```
Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys Tyr  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Val Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

His Asn  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325
```

```
Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
```

2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Ala Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Ser Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 97
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 97

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr

50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

```
Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560
```

```
Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815
```

```
Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
```

1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asn
1235 1240 1245

Gly Thr Lys Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

```
Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530
```

```
Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770
```

```
Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
```

2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Thr Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asp Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

```
Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Tyr Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475
```

```
Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 98
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 98

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                   10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220
```

```
Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
```

```
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720
```

```
Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975
```

```
Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215
```

```
Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
```

1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

```
Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920
```

```
Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160
```

```
Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
```

2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

```
Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 99
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 99

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125
```

```
Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380
```

```
Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640
```

```
Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
```

885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

```
Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365
```

```
Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605
```

```
Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
```

1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asn Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Arg Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

```
Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Val
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310
```

```
Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                 2500                 2505

Asp Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550
```

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Arg Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Ile Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Ile
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 100
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 100

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

```
Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
```

290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

```
Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800
```

```
Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050
```

```
His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
```

```
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515
```

```
Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755
```

```
Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995
```

```
Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Lys  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
```

2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

```
Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700
```

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 101
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 101

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

```
Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460
```

```
Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
```

705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

```
Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
               965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
           980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
       995                1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
   1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
   1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
   1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
   1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
   1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
   1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
   1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
   1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
   1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
   1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
   1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
   1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
   1190                1195                1200
```

```
Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440
```

```
Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
```

1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Val Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Ala Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Ser
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asn Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Arg Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

```
Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Val
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145
```

```
Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385
```

```
Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                 2500                 2505

Asp Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
```

2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 102
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 102

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu

```
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Thr Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365
```

```
Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620
```

```
Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880
```

```
Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
```

1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Tyr Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Val Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Lys Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Lys Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Thr Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asp Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Met Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

```
Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590
```

```
Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Leu Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830
```

```
Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
```

2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Ile Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Thr His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

```
Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535
```

```
Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Asn Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 103
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 103

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30
```

```
Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Thr Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285
```

```
Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
```

530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

```
Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035
```

```
Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275
```

```
Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
```

1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asn Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Leu Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

```
Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980
```

```
Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220
```

```
Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
```

2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Tyr Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asp
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Ala Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 104
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 104

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Thr Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

```
Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445
```

```
Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700
```

```
Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
```

945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

```
Phe Phe  Ser Ser Pro Tyr Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Val Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425
```

```
Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Leu Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665
```

```
Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
```

1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

```
Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370
```

```
Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610
```

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 105
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 105

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

```
Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
```

355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

```
Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860
```

```
Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110
```

```
Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
```

```
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575
```

```
Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815
```

```
Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055
```

```
Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
```

2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 106
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 106

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

```
Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270
```

```
Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525
```

```
Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
```

770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

```
Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260
```

```
Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500
```

```
Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Val Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                 1720                 1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
```

1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

```
Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205
```

```
Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445
```

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu

2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 107
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 107

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln

180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

```
Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685
```

```
Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940
```

```
Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
```

1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

```
Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650
```

```
Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                 1720                 1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                 1735                 1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                 1750                 1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                 1765                 1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                 1780                 1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                 1795                 1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                 1810                 1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                 1825                 1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                 1840                 1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                 1855                 1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                 1870                 1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                 1885                 1890
```

```
Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                 1900                 1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                 1915                 1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                 1930                 1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                 1945                 1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                 1960                 1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                 1975                 1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
```

2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

```
Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595
```

```
Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 108
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 108

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95
```

```
Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350
```

```
Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
```

595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

```
Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095
```

```
Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335
```

```
Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
```

1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

```
Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040
```

```
Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280
```

```
Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
```

2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 109
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 109

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile

```
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255
```

```
Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Pro Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510
```

```
Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765
```

```
Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
```

1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Glu Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Tyr Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Val Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Lys Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asn
1235 1240 1245

```
Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Thr Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asp Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Met  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Asn Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485
```

```
Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asn Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                 1705                 1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                 1720                 1725
```

```
Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Ser Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
```

1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys Tyr Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Val Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

His Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys
2180 2185 2190

```
Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Ile Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Ser Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Glu  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Tyr  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430
```

```
Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Tyr Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asp
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Ala Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Ser Lys Val
    2660                 2665                 2670
```

```
Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 110
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 110

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15


Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45


Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60


Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80


Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95


Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110


Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125


Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140


Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160


Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175
```

```
Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
```

420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

```
Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925
```

```
Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Ile Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Ser  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Ala  Glu Ser Glu Gly Ala  Phe Thr Ser Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Thr Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170
```

```
Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Asn Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Asn Glu  Asn Asp Thr Trp Val  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Asn  Ile Leu Ser Lys Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asp  Asn His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Thr Leu  Asn Gly Gly
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
```

1400 1405 1410

Ala Val Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Val Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Thr Leu Met Ala Asn Ser Asn Ser Val
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Leu Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Met Asp Asp Lys Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Cys Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Ser Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asn Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Leu Phe Gly Tyr Cys Ser Asn Asp Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asp Val Ile Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Ile Gln Asp Glu Asn
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val Tyr Leu Asp Glu Asn Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Ile Asn Ser Leu Gln Ser Asn Thr Lys Leu Ile Leu Asp Thr
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Lys Asp Asn Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

```
Asn Thr  Leu Glu Thr Lys Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Ile Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Ile Tyr Glu Ala  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Thr Asn Tyr Ile  Ser Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770

Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875
```

```
Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Thr  Ile Asp Glu Asn Val  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Gly Asp  Asn Tyr Arg Ala Ala  Ile Glu Trp Gln Thr  Leu Asp Asp
    1940                1945                1950

Glu Val  Tyr Tyr Phe Ser Thr  Asp Thr Gly Arg Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Phe Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Asn Ile Asn Asp Lys  Thr Phe Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Ser Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ala Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asp
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Leu Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Ile Ser Ile
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Lys Tyr Tyr  Phe Asn Asp Ser Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115
```

```
Ile Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Glu Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Val Glu Ser Gly  Met Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Asn Gly  Leu Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asp  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Tyr Lys Gly Ile  Asn Val Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Thr Phe Glu Asp  Asn His Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asp
    2255                2260                2265

Gly Ile  Met Gln Tyr Gly Tyr  Leu Asn Ile Glu Asp  Lys Thr Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Ser Glu Asp Gly Ile  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
```

2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 111
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 111

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr

```
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445
```

```
Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700
```

```
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960
```

```
Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
               965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
           980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
       995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
   1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
   1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
   1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
   1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
   1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
   1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
   1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
   1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
   1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
   1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
   1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
   1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
```

1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile
1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu
1415 1420 1425

```
Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665
```

```
Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905
```

```
Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
```

2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 112
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 112

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220
```

```
Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480
```

```
Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735
```

```
Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
```

980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Val Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Ile Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Ser His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Ala Glu Ser Glu Gly Ala Phe Thr Ser Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Thr Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

```
Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Asn Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Asn Glu  Asn Asp Thr Trp Val  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Asn  Ile Leu Ser Lys Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asp  Asn His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Thr Leu  Asn Gly Gly
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Val  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Val Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Thr  Leu Met Ala Asn Ser  Asn Ser Val
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Leu Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455
```

```
Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Met  Asp Asp Lys Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Cys Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Ser Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asn Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Leu  Phe Gly Tyr Cys Ser  Asn Asp Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asp Val Ile  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Ile Gln  Asp Glu Asn
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  Tyr Leu Asp Glu Asn  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Ile  Asn Ser Leu Gln Ser  Asn Thr Lys Leu Ile  Leu Asp Thr
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Lys Asp Asn Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Lys Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Ile Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695
```

```
Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Ile Tyr Glu Ala  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Thr Asn Tyr Ile  Ser Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770

Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Thr  Ile Asp Glu Asn Val  Tyr Tyr Phe
```

1925 1930 1935

Gly Asp Asn Tyr Arg Ala Ala Ile Glu Trp Gln Thr Leu Asp Asp
1940 1945 1950

Glu Val Tyr Tyr Phe Ser Thr Asp Thr Gly Arg Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Phe Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Ile Met Gln Lys Gly Phe Val Asn Ile Asn Asp Lys Thr Phe Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Ser Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys Tyr Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Ala Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asp
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Leu Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Ile Ser Ile
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Lys Tyr Tyr Phe Asn Asp Ser Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Ile Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Glu Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Val Glu Ser Gly Met Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Asn Gly Leu Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asp Pro Glu Thr Lys Lys Ala Tyr Lys Gly Ile Asn Val Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Thr Phe Glu Asp Asn His Tyr Tyr Phe Asn Glu Asp
2255 2260 2265

Gly Ile Met Gln Tyr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Asp Lys Thr Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Ser Glu Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 113
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 113

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255
```

```
Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510
```

```
Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
```

```
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005
```

```
Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245
```

```
Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485
```

```
Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                 1555                 1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                 1570                 1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                 1585                 1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                 1600                 1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                 1615                 1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                 1630                 1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                 1645                 1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                 1705                 1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
```

1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

```
Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190
```

```
Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 114
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 114

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30
```

```
Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
```

530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

```
Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035
```

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

```
Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Arg Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
```

1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

```
Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980
```

```
Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220
```

```
Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365


<210>  115
<211>  2366
<212>  PRT
<213>  Clostridium difficile

<400>  115

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
```

305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

```
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815
```

```
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065
```

```
Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
```

1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

```
Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770
```

```
Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
```

2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 116
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 116

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys

85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

```
Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590
```

```
Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845
```

```
Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Glu Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
```

1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Ala Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Ile Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asn Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ser Pro Thr Ile Thr Tyr Ile Lys Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Glu Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp His Tyr Lys Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Asn Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu His Ile
1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe His Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

```
Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560
```

```
Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800
```

```
Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
```

2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Val Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Lys Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Glu Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Asp Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Ile Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asp Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

```
Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 117
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 117

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110
```

```
Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365
```

```
Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620
```

```
Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
```

865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

```
Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350
```

```
Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590
```

```
Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
```

1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

```
Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295
```

```
Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 118
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 118

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140
```

```
Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400
```

```
Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
```

645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
885 890 895

```
Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Glu Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140
```

```
Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380
```

```
Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
```

1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Thr Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Asn
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Ser Ala Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

```
Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                 1855                 1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                 1870                 1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                 1885                 1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                 1900                 1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                 1915                 1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                 1930                 1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                 1945                 1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                 1960                 1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                 1975                 1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                 1990                 1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085
```

```
Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325
```

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 119
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 119

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
165 170 175

```
Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
```

420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

```
Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925
```

```
Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Ile Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Ser  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Ala  Glu Ser Glu Gly Ala  Phe Thr Ser Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Thr Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170
```

```
Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Asn Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Asn Glu  Asn Asp Thr Trp Val  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Asn  Ile Leu Ser Lys Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asp  Asn His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Thr Leu  Asn Gly Gly
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
```

1400 1405 1410

Ala Val Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Val Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Thr Leu Met Ala Asn Ser Asn Ser Val
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Leu Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Met Asp Asp Lys Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Cys Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Ser Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asn Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Leu Phe Gly Tyr Cys Ser Asn Asp Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asp Val Ile Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Ile Gln Asp Glu Asn
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val Tyr Leu Asp Glu Asn Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Ile Asn Ser Leu Gln Ser Asn Thr Lys Leu Ile Leu Asp Thr
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Lys Asp Asn Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

```
Asn Thr  Leu Glu Thr Lys Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Ile Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Ile Tyr Glu Ala  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Thr Asn Tyr Ile  Ser Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770

Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875
```

```
Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Thr  Ile Asp Glu Asn Val  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Gly Asp  Asn Tyr Arg Ala Ala  Ile Glu Trp Gln Thr  Leu Asp Asp
    1940                1945                1950

Glu Val  Tyr Tyr Phe Ser Thr  Asp Thr Gly Arg Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Phe Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Asn Ile Asn Asp Lys  Thr Phe Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Ser Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ala Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asp
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Leu Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Ile Ser Ile
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Lys Tyr Tyr  Phe Asn Asp Ser Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115
```

Ile Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Glu Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Val Glu Ser Gly Met Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Asn Gly Leu Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asp Pro Glu Thr Lys Lys Ala Tyr Lys Gly Ile Asn Val Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Thr Phe Glu Asp Asn His Tyr Tyr Phe Asn Glu Asp
2255 2260 2265

Gly Ile Met Gln Tyr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Asp Lys Thr Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Ser Glu Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp

2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 120
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 120

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr

```
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445
```

```
Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Phe Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700
```

```
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960
```

```
Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
               965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
           980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
       995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
   1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
   1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
   1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
   1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
   1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
   1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
   1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
   1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
   1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
   1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
   1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
   1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
```

```
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425
```

```
Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Asp Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665
```

```
Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905
```

```
Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
```

2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 121
<211> 2367
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 121

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Thr Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Ile Glu Ile Leu Glu Leu Lys Asn Ser Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Ile Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Ile Glu Ser Ala Ser Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Glu Phe Asn His Thr Ala Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Gln Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Gln Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Lys Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ala Tyr
    210                 215                 220
```

```
Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Thr Gly Glu Val Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Gly Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Val Ala Ile Leu Lys Asn Ile Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile His Pro Asp Leu Phe Lys Asp Ile Asn Lys Pro
    290                 295                 300

Asp Ser Val Lys Thr Ala Val Asp Trp Glu Glu Met Gln Leu Glu Ala
305                 310                 315                 320

Ile Met Lys His Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Lys His Phe
                325                 330                 335

Asp Thr Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala
            340                 345                 350

Ser Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Leu Pro Leu Gly Asp Ile Glu
        355                 360                 365

Val Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Ala Lys Gly Ser Ile Ile
    370                 375                 380

Asn Gln Ala Leu Ile Ser Ala Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asp Leu Leu
385                 390                 395                 400

Ile Lys Gln Ile Gln Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asp Thr Leu Gly
                405                 410                 415

Pro Ile Ile Ser Gln Gly Asn Asp Phe Asn Thr Thr Met Asn Asn Phe
            420                 425                 430

Gly Glu Ser Leu Gly Ala Ile Ala Asn Glu Glu Asn Ile Ser Phe Ile
        435                 440                 445

Ala Lys Ile Gly Ser Tyr Leu Arg Val Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Asn
    450                 455                 460

Thr Thr Ile Thr Leu Ser Gly Pro Thr Ile Tyr Ala Gly Ala Tyr Lys
465                 470                 475                 480
```

```
Asp Leu Leu Thr Phe Lys Glu Met Ser Ile Asp Thr Ser Ile Leu Ser
                485                 490                 495

Ser Glu Leu Arg Asn Phe Glu Phe Pro Lys Val Asn Ile Ser Gln Ala
            500                 505                 510

Thr Glu Gln Glu Lys Asn Ser Leu Trp Gln Phe Asn Glu Glu Arg Ala
        515                 520                 525

Lys Ile Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ala Leu
    530                 535                 540

Gly Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Thr Asp Lys
545                 550                 555                 560

Glu Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Ser Thr Lys Ser Ser Glu Arg
                565                 570                 575

Gly Tyr Val His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr
            580                 585                 590

Glu Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Asn Pro Tyr Asp Ser Ile Leu
        595                 600                 605

Phe Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro
    610                 615                 620

Thr Asp Ser Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Arg
625                 630                 635                 640

Ile Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys
                645                 650                 655

Ala Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu
            660                 665                 670

Ser Ser Glu Ile Glu Thr Ala Ile Gly Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser
        675                 680                 685

Pro Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr
    690                 695                 700

Ser Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val
705                 710                 715                 720

Lys Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Met Ser Gln Asp Ser Ile
                725                 730                 735
```

```
Ile Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
            740                 745                 750

Arg Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser
        755                 760                 765

Ile Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys
    770                 775                 780

Glu Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr
785                 790                 795                 800

Leu Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu
                805                 810                 815

Glu Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn
            820                 825                 830

Ile Glu Thr Gln Val Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu
        835                 840                 845

Thr Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu
    850                 855                 860

Ser Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu
865                 870                 875                 880

Asp Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly
                885                 890                 895

Phe Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val
            900                 905                 910

Glu Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu
        915                 920                 925

Glu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys
    930                 935                 940

Leu Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu
945                 950                 955                 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys
                965                 970                 975

Glu Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala
```

980 985 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val
995 1000 1005

Val Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu
1010 1015 1020

Pro Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp
1025 1030 1035

Gly Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser
1040 1045 1050

Asp Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met
1055 1060 1065

Ala Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser
1070 1075 1080

Leu Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala
1085 1090 1095

Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val
1100 1105 1110

Leu Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val
1115 1120 1125

Ser Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys
1130 1135 1140

Val Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe
1145 1150 1155

Asn Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met
1160 1165 1170

Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe
1175 1180 1185

Phe Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile
1190 1195 1200

Tyr Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys
1205 1210 1215

```
Asp Leu  Met Val Leu Pro Asn  Ala Pro Asn Arg Val  Phe Ala Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Trp Thr Pro Gly  Leu Arg Ser Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245

Thr Lys  Leu Leu Asp Arg Ile  Arg Asp Asn Tyr Glu  Gly Glu Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Tyr Phe Ala Phe  Ile Ala Asp Ala Leu  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Arg Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Arg Ile  Asn Leu Asp
    1280                1285                1290

Ser Asn  Thr Arg Ser Phe Ile  Val Pro Ile Ile Thr  Thr Glu Tyr
    1295                1300                1305

Ile Arg  Glu Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Tyr Gly Ser  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ala  Leu Ser Leu Ser Gln  Tyr Asn Met Gly Ile  Asn Ile Glu
    1325                1330                1335

Leu Ser  Glu Ser Asp Val Trp  Ile Ile Asp Val Asp  Asn Val Val
    1340                1345                1350

Arg Asp  Val Thr Ile Glu Ser  Asp Lys Ile Lys Lys  Gly Asp Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Gly Ile Leu Ser Thr  Leu Ser Ile Glu Glu  Asn Lys Ile
    1370                1375                1380

Ile Leu  Asn Ser His Glu Ile  Asn Phe Ser Gly Glu  Val Asn Gly
    1385                1390                1395

Ser Asn  Gly Phe Val Ser Leu  Thr Phe Ser Ile Leu  Glu Gly Ile
    1400                1405                1410

Asn Ala  Ile Ile Glu Val Asp  Leu Leu Ser Lys Ser  Tyr Lys Leu
    1415                1420                1425

Leu Ile  Ser Gly Glu Leu Lys  Ile Leu Met Leu Asn  Ser Asn His
    1430                1435                1440

Ile Gln  Gln Lys Ile Asp Tyr  Ile Gly Phe Asn Ser  Glu Leu Gln
    1445                1450                1455
```

```
Lys Asn  Ile Pro Tyr Ser Phe  Val Asp Ser Glu Gly  Lys Glu Asn
    1460                1465                1470

Gly Phe  Ile Asn Gly Ser Thr  Lys Glu Gly Leu Phe  Val Ser Glu
    1475                1480                1485

Leu Pro  Asp Val Val Leu Ile  Ser Lys Val Tyr Met  Asp Asp Ser
    1490                1495                1500

Lys Pro  Ser Phe Gly Tyr Tyr  Ser Asn Asn Leu Lys  Asp Val Lys
    1505                1510                1515

Val Ile  Thr Lys Asp Asn Val  Asn Ile Leu Thr Gly  Tyr Tyr Leu
    1520                1525                1530

Lys Asp  Asp Ile Lys Ile Ser  Leu Ser Leu Thr Leu  Gln Asp Glu
    1535                1540                1545

Lys Thr  Ile Lys Leu Asn Ser  Val His Leu Asp Glu  Ser Gly Val
    1550                1555                1560

Ala Glu  Ile Leu Lys Phe Met  Asn Arg Lys Gly Ser  Thr Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asp  Ser Leu Met Ser Phe  Leu Glu Ser Met Asn  Ile Lys Ser
    1580                1585                1590

Ile Phe  Val Asn Phe Leu Gln  Ser Asn Ile Lys Phe  Ile Leu Asp
    1595                1600                1605

Ala Asn  Phe Ile Ile Ser Gly  Thr Thr Ser Ile Gly  Gln Phe Glu
    1610                1615                1620

Phe Ile  Cys Asp Glu Asn Asn  Asn Ile Gln Pro Tyr  Phe Ile Lys
    1625                1630                1635

Phe Asn  Thr Leu Glu Thr Asn  Tyr Thr Leu Tyr Val  Gly Asn Arg
    1640                1645                1650

Gln Asn  Met Ile Val Glu Pro  Asn Tyr Asp Leu Asp  Asp Ser Gly
    1655                1660                1665

Asp Ile  Ser Ser Thr Val Ile  Asn Phe Ser Gln Lys  Tyr Leu Tyr
    1670                1675                1680

Gly Ile  Asp Ser Cys Val Asn  Lys Val Val Ile Ser  Pro Asn Ile
    1685                1690                1695
```

```
Tyr Thr  Asp Glu Ile Asn Ile  Thr Pro Val Tyr Glu  Thr Asn Asn
    1700                1705                1710

Thr Tyr  Pro Glu Val Ile Val  Leu Asp Ala Asn Tyr  Ile Asn Glu
    1715                1720                1725

Lys Ile  Asn Val Asn Ile Asn  Asp Leu Ser Ile Arg  Tyr Val Trp
    1730                1735                1740

Ser Asn  Asp Gly Asn Asp Phe  Ile Leu Met Ser Thr  Ser Glu Glu
    1745                1750                1755

Asn Lys  Val Ser Gln Val Lys  Ile Arg Phe Val Asn  Val Phe Lys
    1760                1765                1770

Asp Lys  Thr Leu Ala Asn Lys  Leu Ser Phe Asn Phe  Ser Asp Lys
    1775                1780                1785

Gln Asp  Val Pro Val Ser Glu  Ile Ile Leu Ser Phe  Thr Pro Ser
    1790                1795                1800

Tyr Tyr  Glu Asp Gly Leu Ile  Gly Tyr Asp Leu Gly  Leu Val Ser
    1805                1810                1815

Leu Tyr  Asn Glu Lys Phe Tyr  Ile Asn Asn Phe Gly  Met Met Val
    1820                1825                1830

Ser Gly  Leu Ile Tyr Ile Asn  Asp Ser Leu Tyr Tyr  Phe Lys Pro
    1835                1840                1845

Pro Val  Asn Asn Leu Ile Thr  Gly Phe Val Thr Val  Gly Asp Asp
    1850                1855                1860

Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Ile  Asn Gly Gly Ala Ala  Ser Ile Gly
    1865                1870                1875

Glu Thr  Ile Ile Asp Asp Lys  Asn Tyr Tyr Phe Asn  Gln Ser Gly
    1880                1885                1890

Val Leu  Gln Thr Gly Val Phe  Ser Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr
    1895                1900                1905

Phe Ala  Pro Ala Asn Thr Leu  Asp Glu Asn Leu Glu  Gly Glu Ala
    1910                1915                1920

Ile Asp  Phe Thr Gly Lys Leu  Ile Ile Asp Glu Asn  Ile Tyr Tyr
```

1925 1930 1935

Phe Glu Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp
1940 1945 1950

Gly Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys
1955 1960 1965

Gly Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp
1970 1975 1980

Gly Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His
1985 1990 1995

Tyr Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile
2000 2005 2010

Asp Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile
2015 2020 2025

Gly Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His
2030 2035 2040

Asn Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser
2045 2050 2055

Gly Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser
2060 2065 2070

Phe Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys
2075 2080 2085

Tyr Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser
2090 2095 2100

Leu Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met
2105 2110 2115

Gln Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser
2120 2125 2130

Asp Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn
2135 2140 2145

Tyr Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe
2150 2155 2160

Asp Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val
2165 2170 2175

Asn Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val
2180 2185 2190

Arg Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile
2195 2200 2205

Glu Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr
2210 2215 2220

Tyr Phe Asp Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu
2225 2230 2235

Ile Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg
2240 2245 2250

Thr Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu
2255 2260 2265

Asn Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met
2270 2275 2280

Phe Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn
2285 2290 2295

Thr Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp
2300 2305 2310

Glu Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp
2315 2320 2325

Leu Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala
2330 2335 2340

Thr Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro
2345 2350 2355

Asp Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 122
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 122

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255
```

```
Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510
```

```
Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
```

```
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005
```

```
Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245
```

```
Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485
```

```
Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                 1555                 1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                 1570                 1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                 1585                 1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                 1600                 1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                 1615                 1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                 1630                 1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                 1645                 1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                 1705                 1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
```

1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

```
Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190
```

```
Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 123
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 123

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30
```

```
Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
```

530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

```
Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Glu Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035
```

```
Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275
```

```
Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
```

1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Val Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Lys Ile Asn Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Thr Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Asn
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

```
Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980
```

```
Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220
```

```
Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365


<210>  124
<211>  2366
<212>  PRT
<213>  Clostridium difficile

<400>  124

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
```

305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

```
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815
```

```
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065
```

```
Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
```

```
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530
```

```
Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770
```

```
Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
```

2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 125
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 125

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys

85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

```
Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590
```

```
Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845
```

```
Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Glu Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
```

1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Ala Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Ile Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asn Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ser Pro Thr Ile Thr Tyr Ile Lys Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Glu Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp His Tyr Lys Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Asn Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu His Ile
1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe His Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

```
Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560
```

```
Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800
```

```
Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
```

2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Val Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Lys Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Glu Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Asp Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Ile Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asp Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Gln Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 126
<211> 2367
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 126

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Thr Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Ile Leu Glu Leu Lys Asn Ser Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Ile Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

```
Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Ile Glu Ser Ala Ser Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Glu Phe Asn His Thr Ala Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Gln Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Gln Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Lys Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ala Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Thr Gly Glu Val Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Gly Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Val Ala Ile Leu Lys Asn Ile Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile His Pro Asp Leu Phe Lys Asp Ile Asn Lys Pro
    290                 295                 300

Asp Ser Val Lys Thr Ala Val Asp Trp Glu Glu Met Gln Leu Glu Ala
305                 310                 315                 320

Ile Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Lys His Phe
                325                 330                 335

Asp Thr Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala
            340                 345                 350

Ser Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Leu Pro Leu Gly Asp Ile Glu
        355                 360                 365
```

```
Val Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Ala Lys Gly Ser Ile Ile
    370                 375                 380

Asn Gln Ala Leu Ile Ser Ala Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asp Leu Leu
385                 390                 395                 400

Ile Lys Gln Ile Gln Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asp Thr Leu Gly
                405                 410                 415

Pro Ile Ile Ser Gln Gly Asn Asp Phe Asn Thr Thr Met Asn Asn Phe
            420                 425                 430

Gly Glu Ser Leu Gly Ala Ile Ala Asn Glu Glu Asn Ile Ser Phe Ile
        435                 440                 445

Ala Lys Ile Gly Ser Tyr Leu Arg Val Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Asn
    450                 455                 460

Thr Thr Ile Thr Leu Ser Gly Pro Thr Ile Tyr Ala Gly Ala Tyr Lys
465                 470                 475                 480

Asp Leu Leu Thr Phe Lys Glu Met Ser Ile Asp Thr Ser Ile Leu Ser
                485                 490                 495

Ser Glu Leu Arg Asn Phe Glu Phe Pro Lys Val Asn Ile Ser Gln Ala
            500                 505                 510

Thr Glu Gln Glu Lys Asn Ser Leu Trp Gln Phe Asn Glu Glu Arg Ala
        515                 520                 525

Lys Ile Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ala Leu
    530                 535                 540

Gly Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Ile Asp Lys
545                 550                 555                 560

Glu Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Ser Thr Lys Ser Ser Glu Arg
                565                 570                 575

Gly Tyr Val His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr
            580                 585                 590

Glu Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Asn Pro Tyr Asp Ser Ile Leu
        595                 600                 605

Phe Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro
    610                 615                 620
```

```
Thr Asp Ser Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Arg
625                 630                 635                 640

Ile Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Leu Ile Gly His Gly Lys
                645                 650                 655

Ala Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu
            660                 665                 670

Ser Ser Glu Ile Glu Thr Ile Ile Asp Leu Ala Lys Ala Asp Ile Ser
        675                 680                 685

Pro Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr
    690                 695                 700

Ser Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val
705                 710                 715                 720

Lys Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile
                725                 730                 735

Ile Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
            740                 745                 750

Arg Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser
        755                 760                 765

Ile Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys
    770                 775                 780

Glu Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr
785                 790                 795                 800

Leu Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu
                805                 810                 815

Glu Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn
            820                 825                 830

Ile Glu Thr Gln Val Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu
        835                 840                 845

Thr Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu
    850                 855                 860

Ser Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu
```

865 870 875 880

Glu Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly
885 890 895

Phe Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val
900 905 910

Glu Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu
915 920 925

Glu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys
930 935 940

Leu Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu
945 950 955 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys
965 970 975

Glu Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala
980 985 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val
995 1000 1005

Val Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu
1010 1015 1020

Pro Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Val Ile Ala Thr Ile Ile Asp
1025 1030 1035

Gly Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser
1040 1045 1050

Asp Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met
1055 1060 1065

Ala Val Asn Leu Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser
1070 1075 1080

Leu Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala
1085 1090 1095

Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Ile
1100 1105 1110

```
Leu Arg  Asp Lys Ala Thr Lys  Val Val Asp Tyr Phe  Ser His Ile
    1115                1120                1125

Ser Leu  Ala Glu Ser Glu Gly  Ala Phe Thr Ser Leu  Asp Asp Lys
    1130                1135                1140

Ile Met  Met Pro Gln Asp Asp  Leu Val Ile Ser Glu  Ile Asp Phe
    1145                1150                1155

Asn Asn  Asn Ser Ile Thr Leu  Gly Lys Cys Glu Ile  Trp Arg Met
    1160                1165                1170

Glu Gly  Gly Ser Gly His Thr  Val Thr Asp Asp Ile  Asp His Phe
    1175                1180                1185

Phe Ser  Ser Pro Ser Ile Thr  Tyr Arg Glu Pro His  Leu Ser Ile
    1190                1195                1200

Tyr Asp  Val Leu Glu Val Lys  Lys Glu Glu Leu Asp  Leu Ser Lys
    1205                1210                1215

Asp Leu  Met Val Leu Pro Asn  Ala Pro Asn Arg Val  Phe Gly Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Trp Thr Pro Gly  Leu Arg Gly Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245

Thr Lys  Leu Leu Asp Arg Ile  Arg Asp Gln Tyr Glu  Gly Gln Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Phe Phe Ala Phe  Ile Ala Asp Ala Leu  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Arg Tyr Glu Asp  Thr Asn Val Arg Ile  Ser Leu Asp
    1280                1285                1290

Ser Asn  Thr Arg Ser Phe Ile  Val Pro Val Ile Thr  Thr Glu Tyr
    1295                1300                1305

Ile Arg  Glu Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Tyr Gly Ser  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ala  Leu Ser Leu Ser Gln  Tyr Asn Met Asn Ile  Asn Ile Glu
    1325                1330                1335

Leu Asn  Glu Asn Asp Thr Trp  Val Ile Asp Val Asp  Asn Val Val
    1340                1345                1350
```

```
Arg Ser  Val Thr Ile Glu Ser  Asp Lys Ile Lys Lys  Gly Asp Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Glu  Asn Ile Leu Ser Lys  Leu Ser Ile Glu Asp  Asn Lys Ile
    1370                 1375                 1380

Ile Leu  Asp Asn His Glu Ile  Asn Phe Ser Gly Thr  Leu Asn Gly
    1385                 1390                 1395

Gly Asn  Gly Phe Val Ser Leu  Thr Phe Ser Ile Leu  Glu Gly Ile
    1400                 1405                 1410

Asn Ala  Val Ile Glu Val Asp  Leu Leu Ser Lys Ser  Tyr Lys Val
    1415                 1420                 1425

Leu Ile  Ser Gly Glu Leu Lys  Thr Leu Met Ala Asn  Ser Asn Ser
    1430                 1435                 1440

Val Gln  Gln Lys Ile Asp Tyr  Ile Gly Leu Asn Ser  Glu Leu Gln
    1445                 1450                 1455

Lys Asn  Ile Pro Tyr Ser Phe  Met Asp Asp Lys Gly  Lys Glu Asn
    1460                 1465                 1470

Gly Phe  Ile Asn Cys Ser Thr  Lys Glu Gly Leu Phe  Val Ser Glu
    1475                 1480                 1485

Leu Ser  Asp Val Val Leu Ile  Ile Lys Val Tyr Met  Asp Asn Ser
    1490                 1495                 1500

Lys Pro  Pro Phe Gly Tyr Tyr  Ser Asn Asp Leu Lys  Asp Val Lys
    1505                 1510                 1515

Ala Ile  Thr Lys Asp Asp Val  Ile Ile Leu Thr Gly  Tyr Tyr Leu
    1520                 1525                 1530

Lys Asp  Asp Ile Lys Ile Ser  Leu Ser Phe Thr Ile  Gln Asp Lys
    1535                 1540                 1545

Asn Thr  Ile Lys Leu Asn Gly  Val Tyr Leu Asp Glu  Asn Gly Val
    1550                 1555                 1560

Ala Glu  Ile Leu Lys Phe Met  Asn Lys Lys Gly Ser  Thr Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asp  Ser Leu Met Ser Phe  Leu Glu Ser Met Asn  Ile Lys Ser
    1580                 1585                 1590
```

```
Ile Phe  Ile Lys Ser Leu Lys  Ser Asn Ala Lys Leu  Ile Leu Asp
    1595                1600                1605

Thr Asn  Phe Ile Ile Ser Gly  Thr Thr Ser Ile Gly  Gln Phe Glu
    1610                1615                1620

Phe Ile  Cys Asp Lys Asp Asn  Asn Ile Gln Pro Tyr  Phe Ile Lys
    1625                1630                1635

Phe Asn  Thr Leu Glu Thr Lys  Tyr Thr Leu Tyr Val  Gly Asn Arg
    1640                1645                1650

Gln Asn  Met Ile Val Glu Pro  Asn Tyr Asp Leu Asp  Asp Ser Gly
    1655                1660                1665

Asp Ile  Ser Ser Thr Val Ile  Asn Phe Ser Gln Lys  Tyr Leu Tyr
    1670                1675                1680

Gly Ile  Asp Ser Cys Val Asn  Lys Val Ile Ile Ser  Pro Asn Ile
    1685                1690                1695

Tyr Thr  Asp Glu Ile Asn Ile  Thr Pro Ile Tyr Glu  Ala Asn Asn
    1700                1705                1710

Thr Tyr  Pro Glu Val Ile Val  Leu Asp Thr Asn Tyr  Ile Ser Glu
    1715                1720                1725

Lys Ile  Asn Ile Asn Ile Asn  Asp Leu Ser Ile Arg  Tyr Val Trp
    1730                1735                1740

Ser Asn  Asp Gly Ser Asp Phe  Ile Leu Met Ser Thr  Asp Glu Glu
    1745                1750                1755

Asn Lys  Val Ser Gln Val Lys  Ile Arg Phe Thr Asn  Val Phe Lys
    1760                1765                1770

Gly Asn  Thr Ile Ser Asp Lys  Ile Ser Phe Asn Phe  Ser Asp Lys
    1775                1780                1785

Gln Asp  Val Ser Ile Asn Lys  Ile Ile Ser Thr Phe  Thr Pro Ser
    1790                1795                1800

Tyr Tyr  Val Glu Gly Leu Leu  Asn Tyr His Leu Gly  Leu Ile Ser
    1805                1810                1815

Leu Tyr  Asn Glu Lys Phe Tyr  Ile Asn Asn Phe Gly  Met Met Val
```

1820 1825 1830

Ser Gly Leu Val Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro
1835 1840 1845

Pro Ile Lys Asn Leu Ile Thr Gly Phe Thr Thr Ile Gly Asp Asp
1850 1855 1860

Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Asn Gly Gly Ala Ala Ser Val Gly
1865 1870 1875

Glu Thr Ile Ile Asp Gly Lys Asn Tyr Tyr Phe Ser Pro Asn Gly
1880 1885 1890

Val Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr
1895 1900 1905

Phe Ala Pro Ala Asp Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala
1910 1915 1920

Ile Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Val Tyr Tyr
1925 1930 1935

Phe Gly Asp Asn Tyr Arg Ala Ala Ile Glu Trp Gln Thr Leu Asp
1940 1945 1950

Asp Glu Val Tyr Tyr Phe Ser Thr Asp Thr Gly Arg Ala Phe Lys
1955 1960 1965

Gly Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Phe Tyr Phe Asn Ser Asp
1970 1975 1980

Gly Ile Met Gln Lys Gly Phe Val Asn Ile Asn Asp Lys Thr Phe
1985 1990 1995

Tyr Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Ser Gly Tyr Thr Glu Ile
2000 2005 2010

Asp Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile
2015 2020 2025

Gly Val Phe Asn Thr Ala Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His
2030 2035 2040

Asp Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Leu Ser Tyr Ser
2045 2050 2055

```
Gly Ile  Leu Asn Phe Asn Asn  Lys Ile Tyr Tyr Phe  Asp Asp Ser
    2060                2065                2070

Phe Thr  Ala Val Val Gly Trp  Lys Asp Ser Glu Asp  Gly Ser Lys
    2075                2080                2085

Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asp Thr  Ala Glu Ala Tyr Ile  Gly Ile Ser
    2090                2095                2100

Thr Ile  Asn Asp Gly Lys Tyr  Tyr Phe Asn Asp Ser  Gly Ile Met
    2105                2110                2115

Gln Ile  Gly Phe Val Thr Ile  Asn Asn Glu Val Phe  Tyr Phe Ser
    2120                2125                2130

Asp Ser  Gly Ile Val Glu Ser  Gly Met Gln Asn Ile  Asp Asp Asn
    2135                2140                2145

Tyr Phe  Tyr Ile Asp Glu Asn  Gly Leu Val Gln Ile  Gly Val Phe
    2150                2155                2160

Asp Thr  Ser Asp Gly Tyr Lys  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Val
    2165                2170                2175

Asn Asp  Asn Ile Tyr Gly Gln  Ala Val Glu Tyr Ser  Gly Leu Val
    2180                2185                2190

Arg Val  Gly Glu Asp Val Tyr  Tyr Phe Gly Glu Thr  Tyr Thr Ile
    2195                2200                2205

Glu Thr  Gly Trp Ile Tyr Asp  Met Glu Asn Glu Ser  Asp Lys Tyr
    2210                2215                2220

Tyr Phe  Asp Pro Glu Thr Lys  Lys Ala Tyr Lys Gly  Ile Asn Val
    2225                2230                2235

Ile Asp  Asp Ile Lys Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asn Gly  Ile Met Arg
    2240                2245                2250

Thr Gly  Leu Ile Thr Phe Glu  Asp Asn His Tyr Tyr  Phe Asn Glu
    2255                2260                2265

Asp Gly  Ile Met Gln Tyr Gly  Tyr Ile Asn Ile Glu  Asp Lys Met
    2270                2275                2280

Phe Tyr  Phe Asn Glu Asp Gly  Val Met Gln Ile Gly  Val Phe Asn
    2285                2290                2295
```

```
Thr Ala  Asp Gly Phe Lys Tyr  Phe Ala His Gln Asn  Thr Leu Asp
    2300                2305                2310

Glu Asn  Phe Glu Gly Glu Ser  Ile Asn Tyr Thr Gly  Trp Leu Asp
    2315                2320                2325

Leu Asp  Glu Lys Arg Tyr Tyr  Phe Thr Asp Glu Tyr  Ile Ala Ala
    2330                2335                2340

Ile Gly  Ser Val Ile Ile Asp  Gly Glu Glu Tyr Tyr  Phe Asp Pro
    2345                2350                2355

Asp Thr  Ala Glu Leu Val Ile  Ser Glu
    2360                2365
```

<210> 127
<211> 2367
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 127

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Thr Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Ile Leu Glu Leu Lys Asn Ser Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Ile Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140
```

```
Ile Ile Glu Ser Ala Ser Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Glu Phe Asn His Thr Ala Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Gln Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Gln Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Lys Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ala Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Thr Gly Glu Val Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Gly Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Val Ala Ile Leu Lys Asn Ile Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile His Pro Asp Leu Phe Lys Asp Ile Asn Lys Pro
    290                 295                 300

Asp Ser Val Lys Thr Ala Val Asp Trp Glu Glu Met Gln Leu Glu Ala
305                 310                 315                 320

Ile Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Lys His Phe
                325                 330                 335

Asp Thr Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala
            340                 345                 350

Ser Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Leu Pro Leu Gly Asp Ile Glu
        355                 360                 365

Val Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Ala Lys Gly Ser Ile Ile
    370                 375                 380

Asn Gln Ala Leu Ile Ser Ala Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asp Leu Leu
385                 390                 395                 400
```

```
Ile Lys Gln Ile Gln Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asp Thr Leu Gly
                405                 410                 415

Pro Ile Ile Ser Gln Gly Asn Asp Phe Asn Thr Thr Met Asn Asn Phe
            420                 425                 430

Gly Glu Ser Leu Gly Ala Ile Ala Asn Glu Glu Asn Ile Ser Phe Ile
        435                 440                 445

Ala Lys Ile Gly Ser Tyr Leu Arg Val Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Asn
    450                 455                 460

Thr Thr Ile Thr Leu Ser Gly Pro Thr Ile Tyr Ala Gly Ala Tyr Lys
465                 470                 475                 480

Asp Leu Leu Thr Phe Lys Glu Met Ser Ile Asp Thr Ser Ile Leu Ser
                485                 490                 495

Ser Glu Leu Arg Asn Phe Glu Phe Pro Lys Val Asn Ile Ser Gln Ala
            500                 505                 510

Thr Glu Gln Glu Lys Asn Ser Leu Trp Gln Phe Asn Glu Glu Arg Ala
        515                 520                 525

Lys Ile Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ala Leu
    530                 535                 540

Gly Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Ile Asp Lys
545                 550                 555                 560

Glu Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Ser Thr Lys Ser Ser Glu Arg
                565                 570                 575

Gly Tyr Val His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr
            580                 585                 590

Glu Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Asn Pro Tyr Asp Ser Ile Leu
        595                 600                 605

Phe Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro
    610                 615                 620

Thr Asp Ser Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Arg
625                 630                 635                 640

Ile Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Leu Ile Gly His Gly Lys
```

645 650 655

Ala Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu
660 665 670

Ser Ser Glu Ile Glu Thr Ile Ile Asp Leu Ala Lys Ala Asp Ile Ser
675 680 685

Pro Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr
690 695 700

Ser Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val
705 710 715 720

Lys Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile
725 730 735

Ile Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
740 745 750

Arg Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser
755 760 765

Ile Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys
770 775 780

Glu Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr
785 790 795 800

Leu Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu
805 810 815

Glu Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn
820 825 830

Ile Glu Thr Gln Val Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu
835 840 845

Thr Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu
850 855 860

Ser Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu
865 870 875 880

Glu Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly
885 890 895

```
Phe Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val
            900                 905                 910

Glu Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu
        915                 920                 925

Glu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys
    930                 935                 940

Leu Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu
945                 950                 955                 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys
                965                 970                 975

Glu Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala
            980                 985                 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn  Thr Ile Thr Asp Ala  Ala Lys Val
        995                 1000                1005

Val Glu  Leu Val Ser Thr Ala  Leu Asp Glu Thr Ile  Asp Leu Leu
    1010                1015                1020

Pro Thr  Leu Ser Glu Gly Leu  Pro Val Ile Ala Thr  Ile Ile Asp
    1025                1030                1035

Gly Val  Ser Leu Gly Ala Ala  Ile Lys Glu Leu Ser  Glu Thr Ser
    1040                1045                1050

Asp Pro  Leu Leu Arg Gln Glu  Ile Glu Ala Lys Ile  Gly Ile Met
    1055                1060                1065

Ala Val  Asn Leu Thr Ala Ala  Thr Thr Ala Ile Ile  Thr Ser Ser
    1070                1075                1080

Leu Gly  Ile Ala Ser Gly Phe  Ser Ile Leu Leu Val  Pro Leu Ala
    1085                1090                1095

Gly Ile  Ser Ala Gly Ile Pro  Ser Leu Val Asn Asn  Glu Leu Ile
    1100                1105                1110

Leu Arg  Asp Lys Ala Thr Lys  Val Val Asp Tyr Phe  Ser His Ile
    1115                1120                1125

Ser Leu  Ala Glu Ser Glu Gly  Ala Phe Thr Ser Leu  Asp Asp Lys
    1130                1135                1140
```

```
Ile Met  Met Pro Gln Asp Asp  Leu Val Ile Ser Glu  Ile Asp Phe
    1145                1150                1155

Asn Asn  Asn Ser Ile Thr Leu  Gly Lys Cys Glu Ile  Trp Arg Met
    1160                1165                1170

Glu Gly  Gly Ser Gly His Thr  Val Thr Asp Asp Ile  Asp His Phe
    1175                1180                1185

Phe Ser  Ser Pro Ser Ile Thr  Tyr Arg Glu Pro His  Leu Ser Ile
    1190                1195                1200

Tyr Asp  Val Leu Glu Val Lys  Lys Glu Glu Leu Asp  Leu Ser Lys
    1205                1210                1215

Asp Leu  Met Val Leu Pro Asn  Ala Pro Asn Arg Val  Phe Gly Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Trp Thr Pro Gly  Leu Arg Gly Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245

Thr Lys  Leu Leu Asp Arg Ile  Arg Asp Gln Tyr Glu  Gly Gln Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Phe Phe Ala Phe  Ile Ala Asp Ala Leu  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Arg Tyr Glu Asp  Thr Asn Val Arg Ile  Ser Leu Asp
    1280                1285                1290

Ser Asn  Thr Arg Ser Phe Ile  Val Pro Val Ile Thr  Thr Glu Tyr
    1295                1300                1305

Ile Arg  Glu Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Tyr Gly Ser  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ala  Leu Ser Leu Ser Gln  Tyr Asn Met Asn Ile  Asn Ile Glu
    1325                1330                1335

Leu Asn  Glu Asn Asp Thr Trp  Val Ile Asp Val Asp  Asn Val Val
    1340                1345                1350

Arg Ser  Val Thr Ile Glu Ser  Asp Lys Ile Lys Lys  Gly Asp Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asn Ile Leu Ser Lys  Leu Ser Ile Glu Asp  Asn Lys Ile
    1370                1375                1380
```

```
Ile Leu  Asp Asn His Glu Ile  Asn Phe Ser Gly Thr  Leu Asn Gly
    1385                1390                1395

Gly Asn  Gly Phe Val Ser Leu  Thr Phe Ser Ile Leu  Glu Gly Ile
    1400                1405                1410

Asn Ala  Val Ile Glu Val Asp  Leu Leu Ser Lys Ser  Tyr Lys Val
    1415                1420                1425

Leu Ile  Ser Gly Glu Leu Lys  Thr Leu Met Ala Asn  Ser Asn Ser
    1430                1435                1440

Val Gln  Gln Lys Ile Asp Tyr  Ile Gly Leu Asn Ser  Glu Leu Gln
    1445                1450                1455

Lys Asn  Ile Pro Tyr Ser Phe  Met Asp Asp Lys Gly  Lys Glu Asn
    1460                1465                1470

Gly Phe  Ile Asn Cys Ser Thr  Lys Glu Gly Leu Phe  Val Ser Glu
    1475                1480                1485

Leu Ser  Asp Val Val Leu Ile  Ile Lys Val Tyr Met  Asp Asn Ser
    1490                1495                1500

Lys Pro  Pro Phe Gly Tyr Tyr  Ser Asn Asp Leu Lys  Asp Val Lys
    1505                1510                1515

Ala Ile  Thr Lys Asp Asp Val  Ile Ile Leu Thr Gly  Tyr Tyr Leu
    1520                1525                1530

Lys Asp  Asp Ile Lys Ile Ser  Leu Ser Phe Thr Ile  Gln Asp Lys
    1535                1540                1545

Asn Thr  Ile Lys Leu Asn Gly  Val Tyr Leu Asp Glu  Asn Gly Val
    1550                1555                1560

Ala Glu  Ile Leu Lys Phe Met  Asn Lys Lys Gly Ser  Thr Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asp  Ser Leu Met Ser Phe  Leu Glu Ser Met Asn  Ile Lys Ser
    1580                1585                1590

Ile Phe  Ile Lys Ser Leu Lys  Ser Asn Ala Lys Leu  Ile Leu Asp
    1595                1600                1605

Thr Asn  Phe Ile Ile Ser Gly  Thr Thr Ser Ile Gly  Gln Phe Glu
```

1610 1615 1620

Phe Ile Cys Asp Lys Asp Asn Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys
1625 1630 1635

Phe Asn Thr Leu Glu Thr Lys Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg
1640 1645 1650

Gln Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly
1655 1660 1665

Asp Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr
1670 1675 1680

Gly Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Ile Ile Ser Pro Asn Ile
1685 1690 1695

Tyr Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Ile Tyr Glu Ala Asn Asn
1700 1705 1710

Thr Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Thr Asn Tyr Ile Ser Glu
1715 1720 1725

Lys Ile Asn Ile Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp
1730 1735 1740

Ser Asn Asp Gly Ser Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Asp Glu Glu
1745 1750 1755

Asn Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Thr Asn Val Phe Lys
1760 1765 1770

Gly Asn Thr Ile Ser Asp Lys Ile Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys
1775 1780 1785

Gln Asp Val Ser Ile Asn Lys Ile Ile Ser Thr Phe Thr Pro Ser
1790 1795 1800

Tyr Tyr Val Glu Gly Leu Leu Asn Tyr His Leu Gly Leu Ile Ser
1805 1810 1815

Leu Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val
1820 1825 1830

Ser Gly Leu Val Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro
1835 1840 1845

```
Pro Ile  Lys Asn Leu Ile Thr  Gly Phe Thr Thr Ile  Gly Asp Asp
    1850                1855                1860

Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Asn Gly Gly Ala Ala  Ser Val Gly
    1865                1870                1875

Glu Thr  Ile Ile Asp Gly Lys  Asn Tyr Tyr Phe Ser  Pro Asn Gly
    1880                1885                1890

Val Leu  Gln Thr Gly Val Phe  Ser Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr
    1895                1900                1905

Phe Ala  Pro Ala Asp Thr Leu  Asp Glu Asn Leu Glu  Gly Glu Ala
    1910                1915                1920

Ile Asp  Phe Thr Gly Lys Leu  Ile Ile Asp Glu Asn  Val Tyr Tyr
    1925                1930                1935

Phe Gly  Asp Asn Tyr Arg Ala  Ala Ile Glu Trp Gln  Thr Leu Asp
    1940                1945                1950

Asp Glu  Val Tyr Tyr Phe Ser  Thr Asp Thr Gly Arg  Ala Phe Lys
    1955                1960                1965

Gly Leu  Asn Gln Ile Gly Asp  Asp Lys Phe Tyr Phe  Asn Ser Asp
    1970                1975                1980

Gly Ile  Met Gln Lys Gly Phe  Val Asn Ile Asn Asp  Lys Thr Phe
    1985                1990                1995

Tyr Phe  Asp Asp Ser Gly Val  Met Lys Ser Gly Tyr  Thr Glu Ile
    2000                2005                2010

Asp Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Ala Glu Asn Gly Glu  Met Gln Ile
    2015                2020                2025

Gly Val  Phe Asn Thr Ala Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His His
    2030                2035                2040

Asp Glu  Asp Leu Gly Asn Glu  Glu Gly Glu Ala Leu  Ser Tyr Ser
    2045                2050                2055

Gly Ile  Leu Asn Phe Asn Asn  Lys Ile Tyr Tyr Phe  Asp Asp Ser
    2060                2065                2070

Phe Thr  Ala Val Val Gly Trp  Lys Asp Ser Glu Asp  Gly Ser Lys
    2075                2080                2085
```

```
Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asp Thr  Ala Glu Ala Tyr Ile  Gly Ile Ser
    2090                 2095                 2100

Thr Ile  Asn Asp Gly Lys Tyr  Tyr Phe Asn Asp Ser  Gly Ile Met
    2105                 2110                 2115

Gln Ile  Gly Phe Val Thr Ile  Asn Asn Glu Val Phe  Tyr Phe Ser
    2120                 2125                 2130

Asp Ser  Gly Ile Val Glu Ser  Gly Met Gln Asn Ile  Asp Asp Asn
    2135                 2140                 2145

Tyr Phe  Tyr Ile Asp Glu Asn  Gly Leu Val Gln Ile  Gly Val Phe
    2150                 2155                 2160

Asp Thr  Ser Asp Gly Tyr Lys  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Val
    2165                 2170                 2175

Asn Asp  Asn Ile Tyr Gly Gln  Ala Val Glu Tyr Ser  Gly Leu Val
    2180                 2185                 2190

Arg Val  Gly Glu Asp Val Tyr  Tyr Phe Gly Glu Thr  Tyr Thr Ile
    2195                 2200                 2205

Glu Thr  Gly Trp Ile Tyr Asp  Met Glu Asn Glu Ser  Asp Lys Tyr
    2210                 2215                 2220

Tyr Phe  Asp Pro Glu Thr Lys  Lys Ala Tyr Lys Gly  Ile Asn Val
    2225                 2230                 2235

Ile Asp  Asp Ile Lys Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asn Gly  Ile Met Arg
    2240                 2245                 2250

Thr Gly  Leu Ile Thr Phe Glu  Asp Asn His Tyr Tyr  Phe Asn Glu
    2255                 2260                 2265

Asp Gly  Ile Met Gln Tyr Gly  Tyr Ile Asn Ile Glu  Asp Lys Met
    2270                 2275                 2280

Phe Tyr  Phe Asn Glu Asp Gly  Val Met Gln Ile Gly  Val Phe Asn
    2285                 2290                 2295

Thr Ala  Asp Gly Phe Lys Tyr  Phe Ala His Gln Asn  Thr Leu Asp
    2300                 2305                 2310

Glu Asn  Phe Glu Gly Glu Ser  Ile Asn Tyr Thr Gly  Trp Leu Asp
    2315                 2320                 2325
```

Leu Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala
2330 2335 2340

Ile Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro
2345 2350 2355

Asp Thr Ala Glu Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 128
<211> 2367
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 128

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Thr Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Ile Leu Glu Leu Lys Asn Ser Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Ile Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Ile Glu Ser Ala Ser Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Glu Phe Asn His Thr Ala Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

```
Gln Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Gln Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Lys Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ala Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Thr Gly Glu Val Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Gly Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Val Ala Ile Leu Lys Asn Ile Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile His Pro Asp Leu Phe Lys Asp Ile Asn Lys Pro
    290                 295                 300

Asp Ser Val Lys Thr Ala Val Asp Trp Glu Glu Met Gln Leu Glu Ala
305                 310                 315                 320

Ile Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Lys His Phe
                325                 330                 335

Asp Thr Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala
            340                 345                 350

Ser Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Leu Pro Leu Gly Asp Ile Glu
        355                 360                 365

Val Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Ala Lys Gly Ser Ile Ile
    370                 375                 380

Asn Gln Ala Leu Ile Ser Ala Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asp Leu Leu
385                 390                 395                 400

Ile Lys Gln Ile Gln Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asp Thr Leu Gly
                405                 410                 415

Pro Ile Ile Ser Gln Gly Asn Asp Phe Asn Thr Thr Met Asn Asn Phe
```

420 425 430

Gly Glu Ser Leu Gly Ala Ile Ala Asn Glu Glu Asn Ile Ser Phe Ile
435 440 445

Ala Lys Ile Gly Ser Tyr Leu Arg Val Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Asn
450 455 460

Thr Thr Ile Thr Leu Ser Gly Pro Thr Ile Tyr Ala Gly Ala Tyr Lys
465 470 475 480

Asp Leu Leu Thr Phe Lys Glu Met Ser Ile Asp Thr Ser Ile Leu Ser
485 490 495

Ser Glu Leu Arg Asn Phe Glu Phe Pro Lys Val Asn Ile Ser Gln Ala
500 505 510

Thr Glu Gln Glu Lys Asn Ser Leu Trp Gln Phe Asn Glu Glu Arg Ala
515 520 525

Lys Ile Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ala Leu
530 535 540

Gly Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Ile Asp Lys
545 550 555 560

Glu Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Ser Thr Lys Ser Ser Glu Arg
565 570 575

Gly Tyr Val His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr
580 585 590

Glu Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Asn Pro Tyr Asp Ser Ile Leu
595 600 605

Phe Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro
610 615 620

Thr Asp Ser Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Arg
625 630 635 640

Ile Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Leu Ile Gly His Gly Lys
645 650 655

Ala Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu
660 665 670

```
Ser Ser Glu Ile Glu Thr Ile Ile Asp Leu Ala Lys Ala Asp Ile Ser
        675                 680                 685

Pro Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr
    690                 695                 700

Ser Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val
705                 710                 715                 720

Lys Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile
                725                 730                 735

Ile Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg
            740                 745                 750

Arg Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser
        755                 760                 765

Ile Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys
    770                 775                 780

Glu Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr
785                 790                 795                 800

Leu Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu
                805                 810                 815

Glu Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn
            820                 825                 830

Ile Glu Thr Gln Val Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu
        835                 840                 845

Thr Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu
    850                 855                 860

Ser Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu
865                 870                 875                 880

Glu Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly
                885                 890                 895

Phe Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val
            900                 905                 910

Glu Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu
        915                 920                 925
```

```
Glu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys
    930                 935                 940

Leu Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu
945                 950                 955                 960

Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys
                965                 970                 975

Glu Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala
            980                 985                 990

Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn  Thr Ile Thr Asp Ala  Ala Lys Val
        995                 1000                1005

Val Glu  Leu Val Ser Thr Ala  Leu Asp Glu Thr Ile  Asp Leu Leu
    1010                1015                1020

Pro Thr  Leu Ser Glu Gly Leu  Pro Val Ile Ala Thr  Ile Ile Asp
    1025                1030                1035

Gly Val  Ser Leu Gly Ala Ala  Ile Lys Glu Leu Ser  Glu Thr Ser
    1040                1045                1050

Asp Pro  Leu Leu Arg Gln Glu  Ile Glu Ala Lys Ile  Gly Ile Met
    1055                1060                1065

Ala Val  Asn Leu Thr Ala Ala  Thr Thr Ala Ile Ile  Thr Ser Ser
    1070                1075                1080

Leu Gly  Ile Ala Ser Gly Phe  Ser Ile Leu Leu Val  Pro Leu Ala
    1085                1090                1095

Gly Ile  Ser Ala Gly Ile Pro  Ser Leu Val Asn Asn  Glu Leu Ile
    1100                1105                1110

Leu Arg  Asp Lys Ala Thr Lys  Val Val Asp Tyr Phe  Ser His Ile
    1115                1120                1125

Ser Leu  Ala Glu Ser Glu Gly  Ala Phe Thr Ser Leu  Asp Asp Lys
    1130                1135                1140

Ile Met  Met Pro Gln Asp Asp  Leu Val Ile Ser Glu  Ile Asp Phe
    1145                1150                1155

Asn Asn  Asn Ser Ile Thr Leu  Gly Lys Cys Glu Ile  Trp Arg Met
    1160                1165                1170
```

```
Glu Gly  Gly Ser Gly His Thr  Val Thr Asp Asp Ile  Asp His Phe
    1175                1180                1185

Phe Ser  Ser Pro Ser Ile Thr  Tyr Arg Glu Pro His  Leu Ser Ile
    1190                1195                1200

Tyr Asp  Val Leu Glu Val Lys  Lys Glu Glu Leu Asp  Leu Ser Lys
    1205                1210                1215

Asp Leu  Met Val Leu Pro Asn  Ala Pro Asn Arg Val  Phe Gly Trp
    1220                1225                1230

Glu Thr  Gly Trp Thr Pro Gly  Leu Arg Gly Leu Glu  Asn Asp Gly
    1235                1240                1245

Thr Lys  Leu Leu Asp Arg Ile  Arg Asp Gln Tyr Glu  Gly Gln Phe
    1250                1255                1260

Tyr Trp  Arg Phe Phe Ala Phe  Ile Ala Asp Ala Leu  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Arg Tyr Glu Asp  Thr Asn Val Arg Ile  Ser Leu Asp
    1280                1285                1290

Ser Asn  Thr Arg Ser Phe Ile  Val Pro Val Ile Thr  Thr Glu Tyr
    1295                1300                1305

Ile Arg  Glu Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Tyr Gly Ser  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ala  Leu Ser Leu Ser Gln  Tyr Asn Met Asn Ile  Asn Ile Glu
    1325                1330                1335

Leu Asn  Glu Asn Asp Thr Trp  Val Ile Asp Val Asp  Asn Val Val
    1340                1345                1350

Arg Ser  Val Thr Ile Glu Ser  Asp Lys Ile Lys Lys  Gly Asp Leu
    1355                1360                1365

Ile Glu  Asn Ile Leu Ser Lys  Leu Ser Ile Glu Asp  Asn Lys Ile
    1370                1375                1380

Ile Leu  Asp Asn His Glu Ile  Asn Phe Ser Gly Thr  Leu Asn Gly
    1385                1390                1395

Gly Asn  Gly Phe Val Ser Leu  Thr Phe Ser Ile Leu  Glu Gly Ile
```

1400 1405 1410

Asn Ala Val Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Val
1415 1420 1425

Leu Ile Ser Gly Glu Leu Lys Thr Leu Met Ala Asn Ser Asn Ser
1430 1435 1440

Val Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Leu Asn Ser Glu Leu Gln
1445 1450 1455

Lys Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Met Asp Asp Lys Gly Lys Glu Asn
1460 1465 1470

Gly Phe Ile Asn Cys Ser Thr Lys Asp Gly Leu Phe Val Ser Glu
1475 1480 1485

Leu Ser Asp Val Val Leu Ile Ile Lys Val Tyr Met Asp Asn Ser
1490 1495 1500

Lys Pro Pro Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asp Leu Lys Asp Val Lys
1505 1510 1515

Ala Ile Thr Lys Asp Asp Val Ile Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu
1520 1525 1530

Lys Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Ile Gln Asp Lys
1535 1540 1545

Asn Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val Tyr Leu Asp Glu Asn Gly Val
1550 1555 1560

Ala Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser
1580 1585 1590

Ile Phe Ile Lys Ser Leu Lys Ser Asn Ala Lys Leu Ile Leu Asp
1595 1600 1605

Thr Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu
1610 1615 1620

Phe Ile Cys Asp Lys Asp Asn Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys
1625 1630 1635

```
Phe Asn  Thr Leu Glu Thr Lys  Tyr Thr Leu Tyr Val  Gly Asn Arg
    1640                1645                1650

Gln Asn  Met Ile Val Glu Pro  Asn Tyr Asp Leu Asp  Asp Ser Gly
    1655                1660                1665

Asp Ile  Ser Ser Thr Val Ile  Asn Phe Ser Gln Lys  Tyr Leu Tyr
    1670                1675                1680

Gly Ile  Asp Ser Cys Val Asn  Lys Val Ile Ile Ser  Pro Asn Ile
    1685                1690                1695

Tyr Thr  Asp Glu Ile Asn Ile  Thr Pro Ile Tyr Glu  Ala Asn Asn
    1700                1705                1710

Thr Tyr  Pro Glu Val Ile Val  Leu Asp Thr Asn Tyr  Ile Ser Glu
    1715                1720                1725

Lys Ile  Asn Ile Asn Ile Asn  Asp Leu Ser Ile Arg  Tyr Val Trp
    1730                1735                1740

Ser Asn  Asp Gly Ser Asp Phe  Ile Leu Met Ser Thr  Asp Glu Glu
    1745                1750                1755

Asn Lys  Val Ser Gln Val Lys  Ile Arg Phe Thr Asn  Val Phe Lys
    1760                1765                1770

Gly Asn  Thr Ile Ser Asp Lys  Ile Ser Phe Asn Phe  Ser Asp Lys
    1775                1780                1785

Gln Asp  Val Ser Ile Asn Lys  Ile Ile Ser Thr Phe  Thr Pro Ser
    1790                1795                1800

Tyr Tyr  Val Glu Gly Leu Leu  Asn Tyr His Leu Gly  Leu Ile Ser
    1805                1810                1815

Leu Tyr  Asn Glu Lys Phe Tyr  Ile Asn Asn Phe Gly  Met Met Val
    1820                1825                1830

Ser Gly  Leu Val Tyr Ile Asn  Asp Ser Leu Tyr Tyr  Phe Lys Pro
    1835                1840                1845

Pro Ile  Lys Asn Leu Ile Thr  Gly Phe Thr Thr Ile  Gly Asp Asp
    1850                1855                1860

Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Asn Gly Gly Ala Ala  Ser Val Gly
    1865                1870                1875
```

```
Glu Thr  Ile Ile Asp Gly Lys  Asn Tyr Tyr Phe Ser  Pro Asn Gly
    1880                1885                1890

Val Leu  Gln Thr Gly Val Phe  Ser Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr
    1895                1900                1905

Phe Ala  Pro Ala Asp Thr Leu  Asp Glu Asn Leu Glu  Gly Glu Ala
    1910                1915                1920

Ile Asp  Phe Thr Gly Lys Leu  Ile Ile Asp Glu Asn  Val Tyr Tyr
    1925                1930                1935

Phe Gly  Asp Asn Tyr Arg Ala  Ala Ile Glu Trp Gln  Thr Leu Asp
    1940                1945                1950

Asp Glu  Val Tyr Tyr Phe Ser  Thr Asp Thr Gly Arg  Ala Phe Lys
    1955                1960                1965

Gly Leu  Asn Gln Ile Gly Asp  Asp Lys Phe Tyr Phe  Asn Ser Asp
    1970                1975                1980

Gly Ile  Met Gln Lys Gly Phe  Val Asn Ile Asn Asp  Lys Thr Phe
    1985                1990                1995

Tyr Phe  Asp Asp Ser Gly Val  Met Lys Ser Gly Tyr  Thr Glu Ile
    2000                2005                2010

Asp Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Ala Glu Asn Gly Glu  Met Gln Ile
    2015                2020                2025

Gly Val  Phe Asn Thr Ala Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His His
    2030                2035                2040

Asp Glu  Asp Leu Gly Asn Glu  Glu Gly Glu Ala Leu  Ser Tyr Ser
    2045                2050                2055

Gly Ile  Leu Asn Phe Asn Asn  Lys Ile Tyr Tyr Phe  Asp Asp Ser
    2060                2065                2070

Phe Thr  Ala Val Val Gly Trp  Lys Asp Ser Glu Asp  Gly Ser Lys
    2075                2080                2085

Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asp Thr  Ala Glu Ala Tyr Ile  Gly Ile Ser
    2090                2095                2100

Thr Ile  Asn Asp Gly Lys Tyr  Tyr Phe Asn Asp Ser  Gly Ile Met
    2105                2110                2115
```

```
Gln Ile  Gly Phe Val Thr Ile  Asn Asn Glu Val Phe  Tyr Phe Ser
    2120                2125                2130

Asp Ser  Gly Ile Val Glu Ser  Gly Met Gln Asn Ile  Asp Asp Asn
    2135                2140                2145

Tyr Phe  Tyr Ile Asp Glu Asn  Gly Leu Val Gln Ile  Gly Val Phe
    2150                2155                2160

Asp Thr  Ser Asp Gly Tyr Lys  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr Val
    2165                2170                2175

Asn Asp  Asn Ile Tyr Gly Gln  Ala Val Glu Tyr Ser  Gly Leu Val
    2180                2185                2190

Arg Val  Gly Glu Asp Val Tyr  Tyr Phe Gly Glu Thr  Tyr Thr Ile
    2195                2200                2205

Glu Thr  Gly Trp Ile Tyr Asp  Met Glu Asn Glu Ser  Asp Lys Tyr
    2210                2215                2220

Tyr Phe  Asp Pro Glu Thr Lys  Lys Ala Tyr Lys Gly  Ile Asn Val
    2225                2230                2235

Ile Asp  Asp Ile Lys Tyr Tyr  Phe Asp Glu Asn Gly  Ile Met Arg
    2240                2245                2250

Thr Gly  Leu Ile Thr Phe Glu  Asp Asn His Tyr Tyr  Phe Asn Glu
    2255                2260                2265

Asp Gly  Ile Met Gln Tyr Gly  Tyr Ile Asn Ile Glu  Asp Lys Met
    2270                2275                2280

Phe Tyr  Phe Asn Glu Asp Gly  Val Met Gln Ile Gly  Val Phe Asn
    2285                2290                2295

Thr Ala  Asp Gly Phe Lys Tyr  Phe Ala His Gln Asn  Thr Leu Asp
    2300                2305                2310

Glu Asn  Phe Glu Gly Glu Ser  Ile Asn Tyr Thr Gly  Trp Leu Asp
    2315                2320                2325

Leu Asp  Glu Lys Arg Tyr Tyr  Phe Thr Asp Glu Tyr  Ile Ala Ala
    2330                2335                2340

Ile Gly  Ser Val Ile Ile Asp  Gly Glu Glu Tyr Tyr  Phe Asp Pro
```

2345 2350 2355

Asp Thr Ala Glu Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 129
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 129

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr

```
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445
```

```
Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700
```

```
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960
```

```
Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
               965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
           980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
       995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
   1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
   1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
   1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
   1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
   1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
   1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
   1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
   1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
   1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
   1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
   1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
   1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
```

1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile
1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu
1415 1420 1425

```
Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665
```

```
Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905
```

```
Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
```

2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 130
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 130

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220
```

```
Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480
```

```
Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735
```

```
Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
```

980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

```
Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455
```

```
Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695
```

```
Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
```

1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 131
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 131

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255
```

```
Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510
```

```
Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
```

```
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005
```

```
Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245
```

```
Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                 1255                 1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                 1270                 1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485
```

```
Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                 1555                 1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                 1570                 1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                 1585                 1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                 1600                 1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                 1615                 1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                 1630                 1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                 1645                 1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                 1705                 1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
```

1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Leu Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

```
Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190
```

```
Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 132
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 132

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30
```

```
Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
```

530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

```
Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035
```

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

```
Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
```

1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

```
Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980
```

```
Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220
```

```
Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 133
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 133

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Val Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Thr Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Tyr Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Thr
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Asp Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Asp Ile Asp Glu Leu Asn Ser Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Val Thr Glu Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Gly Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Val Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Val Lys Leu Glu Ala Ile
```

305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Ala Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Lys Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Thr Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

```
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Val Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Arg Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Val Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Ile Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815
```

```
Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Val Val Glu Gly Arg Ile Glu Glu Ala Lys Ser Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Glu
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Leu Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asp Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Ala Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065
```

```
Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Ile Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Ser  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Ala  Glu Ser Glu Gly Ala  Phe Thr Ser Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Thr Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Val Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
```

1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Asn Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Asn Glu Asn Asp Thr Trp Val Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Asn Ile Leu Ser Lys Leu Ser Ile Glu Asp Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asp Asn His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Thr Leu Asn Gly Gly
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Val Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Val Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Thr Leu Met Ala Asn Ser Asn Ser Val
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Leu Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Met Asp Asp Lys Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Cys Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Ser Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asn Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Leu Phe Gly Tyr Cys Ser Asn Asp Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asp Val Ile Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

```
Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Ile Gln  Asp Glu Asn
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  Tyr Leu Asp Glu Asn  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Ile  Asn Ser Leu Gln Ser  Asn Thr Lys Leu Ile  Leu Asp Thr
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Lys Asp Asn Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Lys Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Ile Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Ile Tyr Glu Ala  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Thr Asn Tyr Ile  Ser Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Ile Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Ser Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Asp  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Thr Asn Val  Phe Lys Gly
    1760                1765                1770
```

```
Asn Thr  Ile Ser Asp Lys Ile  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Ser Ile Asn Lys Val  Ile Ser Thr Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Val  Glu Gly Leu Leu Asn  Tyr Asp Leu Gly Leu  Ile Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Val Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Ile Lys  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Thr Thr Ile Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asp Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Val Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Gly Lys Asn  Tyr Tyr Phe Ser Gln  Asn Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asp Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Thr  Ile Asp Glu Asn Val  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Gly Asp  Asn Tyr Arg Ala Ala  Ile Glu Trp Gln Thr  Leu Asp Asp
    1940                1945                1950

Glu Val  Tyr Tyr Phe Ser Thr  Asp Thr Gly Arg Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Phe Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Asn Ile Asn Asp Lys  Thr Phe Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Ser Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ala Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asp
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Leu Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Ile Ser Ile
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Lys Tyr Tyr  Phe Asn Asp Ser Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Ile Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Glu Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Val Glu Ser Gly  Met Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Asn Gly  Leu Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asp  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Tyr Lys Gly Ile  Asn Val Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
```

2240 2245 2250

Gly Leu Ile Thr Phe Glu Asp Asn His Tyr Tyr Phe Asn Glu Asp
2255 2260 2265

Gly Ile Met Gln Tyr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Asp Lys Thr Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Ser Glu Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 134
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 134

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn

85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

```
Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590
```

```
Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845
```

```
Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
```

1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

```
Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560
```

```
Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800
```

```
Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                 1810                 1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                 1825                 1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                 1840                 1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                 1855                 1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                 1870                 1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                 1885                 1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                 1900                 1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                 1915                 1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                 1930                 1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                 1945                 1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                 1960                 1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                 1975                 1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
```

2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

```
Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 135
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 135

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255
```

```
Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
```

```
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750
```

```
Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005
```

```
Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245
```

```
Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
```

1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

```
Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950
```

```
Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190
```

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly

2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

```
Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670


Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 136
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 136

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                   10                  15


Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30


Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45


Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60


Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80


Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95


Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110


Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125


Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140


Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160
```

```
Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415
```

```
Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670
```

```
Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
```

915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

```
Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395
```

```
Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asn Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Gly Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635
```

```
Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
```

1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Thr Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asp Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

```
Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340
```

```
Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580
```

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 137
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 137

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

```
Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
```

325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

```
Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830
```

```
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080
```

```
Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
```

1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asn Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Gly Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

```
Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785
```

```
Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025
```

```
Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asp Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
```

2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

```
Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 138
<211> 2710
<212> PRT

<213> Clostridium difficile

<400> 138

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240
```

```
Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495
```

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly

740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

```
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230
```

```
Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470
```

```
Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
```

1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175
```

```
Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415
```

```
Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
```

2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 139
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 139

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile

145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

```
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655
```

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910
```

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
```

1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asn
1235 1240 1245

Gly Thr Lys Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

```
Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620
```

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asp Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
```

2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

```
Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565
```

```
Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 140
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 140

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60
```

```
Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320
```

```
Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
```

565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

```
Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065
```

```
Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305
```

```
Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
```

1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asn Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

```
Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250
```

```
Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
```

2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 141
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 141

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220
```

```
Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480
```

```
Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735
```

```
Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
```

980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

```
Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455
```

```
Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695
```

```
Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
```

1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 142
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 142

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255
```

```
Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510
```

```
Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
```

```
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005
```

```
Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245
```

```
Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485
```

```
Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                 1555                 1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                 1570                 1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                 1585                 1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                 1600                 1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                 1615                 1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                 1630                 1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                 1645                 1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                 1705                 1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
```

1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

```
Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190
```

```
Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 143
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 143

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30
```

```
Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ser Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
```

530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

```
Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035
```

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

```
Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
```

1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

```
Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980
```

```
Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220
```

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 144
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 144

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

```
Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
```

305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ser Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

```
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815
```

```
Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065
```

```
Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
```

1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

```
Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770
```

```
Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
```

2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 145
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 145

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys

85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

```
Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ser Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590
```

```
Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845
```

```
Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
```

1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
1235 1240 1245

Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
1250 1255 1260

Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
1265 1270 1275

Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
1280 1285 1290

Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile
1295 1300 1305

Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
1310 1315 1320

```
Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560
```

```
Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800
```

```
Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
```

2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

```
Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 146
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 146

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110
```

```
Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365
```

```
Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Phe Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ser Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620
```

```
Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
```

865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

```
Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350
```

```
Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590
```

```
Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
```

1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

```
Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295
```

```
Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 147
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 147

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140
```

```
Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400
```

```
Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Phe Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ser Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
```

645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
885 890 895

```
Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140
```

```
Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380
```

```
Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
```

1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

```
Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                 1855                 1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                 1870                 1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                 1885                 1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                 1900                 1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                 1915                 1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                 1930                 1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                 1945                 1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                 1960                 1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                 1975                 1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                 1990                 1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085
```

```
Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325
```

```
Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

<210> 148
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 148

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175
```

```
Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
```

420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

```
Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925
```

```
Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170
```

```
Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                 1180                 1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                 1195                 1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
```

```
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635
```

```
Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875
```

```
Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115
```

```
Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
```

2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

```
Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 149
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 149

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80
```

```
Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335
```

```
Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590
```

```
Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
```

```
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080
```

```
Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320
```

```
Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560
```

```
Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
```

1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

```
Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265
```

```
Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 150
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 150

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
```

245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

```
Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750
```

```
Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005
```

```
Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
```

1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

```
Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710
```

```
Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950
```

```
Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                 1960                 1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                 1975                 1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asp Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
```

2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

```
Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655
```

```
Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670


Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685


Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700


Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 151
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 151

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                   10                  15


Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30


Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45


Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60


Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80


Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95


Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110


Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125


Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140


Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160
```

```
Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Gly Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415
```

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser

660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155
```

```
Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                 1165                 1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                 1180                 1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                 1195                 1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                 1210                 1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                 1225                 1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                 1240                 1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                 1255                 1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                 1270                 1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                 1285                 1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                 1300                 1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                 1315                 1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                 1330                 1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                 1345                 1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                 1360                 1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                 1375                 1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                 1390                 1395
```

```
Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                 1405                 1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                 1420                 1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                 1435                 1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                 1450                 1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                 1465                 1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
```

1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Ile Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100
```

```
Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340
```

```
Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
```

2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 152
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 152

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys

65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

```
Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575
```

```
Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830
```

```
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
```

1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
1235 1240 1245

Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

```
Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545
```

```
Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785
```

```
Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
```

2015 2020 2025

Val Phe Ser Thr Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

```
Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490
```

```
Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 153
<211> 2710

<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 153

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240
```

```
Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
```

485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
725 730 735

```
Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990
```

```
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230
```

```
Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
```

1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

Gln Ala Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ala Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Val Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

```
Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935
```

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175
```

```
Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
```

2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Ala Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn
2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Arg Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Ile Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Ile
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 154
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 154

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

```
Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400
```

```
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655
```

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
```

```
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140
```

```
Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380
```

```
Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620
```

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
```

```
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085
```

```
Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325
```

```
Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                 2470                 2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565
```

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 155
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 155

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

```
Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
```

305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

```
Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815
```

```
Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065
```

```
Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
```

1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

```
Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770
```

```
Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
```

2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

```
Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 156
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 156

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220
```

```
Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Gly Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480
```

```
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
```

725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

```
Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
           980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215
```

```
Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Ile Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455
```

```
Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
```

1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Ile Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

```
Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160
```

```
Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400
```

```
Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
```

2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 157
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 157

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile

130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

```
Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640
```

```
Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895
```

```
Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
```

```
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asn  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365
```

```
Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Asp Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605
```

```
Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845
```

```
Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                 1855                 1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                 1870                 1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                 1885                 1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                 1900                 1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                 1915                 1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                 1930                 1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                 1945                 1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                 1960                 1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                 1975                 1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                 1990                 1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asp Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
```

2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr
2165 2170 2175

Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Glu
2180 2185 2190

Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser
2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile
2225 2230 2235

Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn
2240 2245 2250

Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn
2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

```
Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Glu Ala  Ala Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Leu Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Phe  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ser Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asn Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr His Asn Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Gly Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Val
    2465                2470                2475

Ala Val  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                2500                2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550
```

```
Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 158
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 158

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45
```

```
Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300
```

```
Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
```

545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

```
Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050
```

```
Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290
```

```
Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
```

1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

```
Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995
```

```
Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235
```

```
Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 159
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 159

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80
```

```
Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
```

325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

```
Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830
```

```
Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080
```

```
Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
```

1310 1315 1320

Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
1325 1330 1335

Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg
1340 1345 1350

Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile
1355 1360 1365

Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
1370 1375 1380

Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
1385 1390 1395

Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
1400 1405 1410

Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu
1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

```
Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785
```

```
Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025
```

```
Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
```

2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 160
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 160

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile

100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
340 345 350

```
Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605
```

```
Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860
```

```
Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
```

```
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335
```

```
Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575
```

```
Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815
```

```
Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
```

2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 161
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 161

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

```
Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380
```

```
Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640
```

```
Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
```

885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
915 920 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
1115 1120 1125

```
Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365
```

```
Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605
```

```
Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
```

1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
2060 2065 2070

```
Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310
```

```
Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325


Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340


Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355


Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 162
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 162

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                   10                  15


Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45


Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60


Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80


Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95


Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110


Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125


Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140


Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415
```

```
Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
```

660 665 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
675 680 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
690 695 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705 710 715 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

```
Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155
```

```
Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395
```

```
Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
```

1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

```
Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Tyr  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100
```

```
Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340
```

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 163
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 163

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

```
Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
```

435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
645 650 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
660 665 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
675 680 685

```
Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Gly Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940
```

```
Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185
```

```
Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
```

1415 1420 1425

Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile
1430 1435 1440

Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys
1445 1450 1455

Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly
1460 1465 1470

Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu
1475 1480 1485

Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Val Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Lys Ile Asn Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Thr Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

```
Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                 1705                 1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                 1720                 1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                 1735                 1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                 1750                 1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                 1765                 1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                 1780                 1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                 1795                 1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                 1810                 1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                 1825                 1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                 1840                 1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                 1855                 1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                 1870                 1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                 1885                 1890
```

```
Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130
```

```
Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
```

2360 2365

<210> 164
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 164

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr

210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

```
Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720
```

```
Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Gly Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975
```

```
Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
```

```
1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
1430                1435                1440
```

```
Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680
```

```
Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920
```

```
Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
```

2150 2155 2160

Thr Ser Asp Glu Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Asp Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Ile Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asp Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Gln Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 165
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 165

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240
```

```
Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495
```

```
Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750
```

```
Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Gly Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
```

995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Val Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Val Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Ala Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Ile Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asn Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

Ser Ser Pro Thr Ile Thr Tyr Ile Lys Pro His Leu Ser Ile Tyr
1190 1195 1200

Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
1205 1210 1215

Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
1220 1225 1230

```
Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470
```

```
Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                 1525                 1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                 1540                 1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                 1555                 1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                 1570                 1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                 1585                 1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                 1600                 1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                 1615                 1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                 1630                 1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                 1645                 1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                 1660                 1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                 1675                 1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                 1690                 1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                 1705                 1710
```

```
Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
```

1940 1945 1950

Glu Met Tyr Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Ile Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Lys Lys Tyr Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Ile Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys Tyr Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Ser Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Val Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Lys Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Glu Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Asp Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Ile Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asp Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Gln Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 166
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 166

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

```
Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270
```

```
Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525
```

```
Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
```

770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Gly Glu
915 920 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

```
Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260
```

```
Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500
```

```
Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
```

1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Ser Ala Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Thr Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asn Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Ile
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Leu Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Glu Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met Tyr Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

```
Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205
```

```
Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220


Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235


Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250


Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265


Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280


Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295


Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310


Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325


Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340


Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355


Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365


<210>  167
<211>  2366
<212>  PRT
<213>  Clostridium difficile

<400>  167

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15


Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30


Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45
```

```
Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Ile Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Gly Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300
```

```
Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
```

```
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800
```

```
Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Gly Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050
```

```
Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Val  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290
```

```
Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                 1480                 1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                 1495                 1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                 1510                 1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
```

1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Val Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Lys Ile Asn Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Thr Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Asn
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

```
Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995
```

```
Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235
```

```
Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 168
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 168

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80
```

```
Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Val Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
```

325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
405 410 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
420 425 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
435 440 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
450 455 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465 470 475 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
485 490 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
500 505 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
565 570 575

```
Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830
```

```
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080
```

```
Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Lys Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ser Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Glu Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asp
    1235                1240                1245

Gly Thr  Arg Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
```

1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn
1385 1390 1395

Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile
1400 1405 1410

Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu
1415 1420 1425

Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn
1430 1435 1440

Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile
1445 1450 1455

Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala
1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
1505 1510 1515

Asp Asp Val Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
1535 1540 1545

```
Gln Val  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ser Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Ile Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785
```

```
Ser Leu  Gly Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Asp Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Phe
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asp Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025
```

```
Val Phe  Ser Thr Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                 2035                 2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                 2050                 2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                 2065                 2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                 2095                 2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                 2110                 2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                 2125                 2130

Thr Asn  Thr Ala Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                 2140                 2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                 2155                 2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                 2170                 2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Glu
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Gly  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Ile His Leu  Cys Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
```

2255 2260 2265

Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly
2270 2275 2280

Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu
2285 2290 2295

Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly
2300 2305 2310

Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp
2315 2320 2325

Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala
2330 2335 2340

Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr
2345 2350 2355

Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile
2360 2365 2370

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser
2375 2380 2385

Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr
2390 2395 2400

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly
2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
2480 2485 2490

```
Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Ser
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Asn Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Met Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Thr
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Ser Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Lys Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                 2650                 2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Lys Val
    2660                 2665                 2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                 2680                 2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                 2695                 2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                 2710
```

<210> 169
<211> 2710
<212> PRT

<213> Clostridium difficile

<400> 169

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240
```

```
Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495
```

```
Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
```

740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
805 810 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
820 825 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
835 840 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
850 855 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865 870 875 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
885 890 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
900 905 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
915 920 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
930 935 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
965 970 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Glu Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ala Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Lys Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

```
Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470
```

```
Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                 1480                 1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                 1495                 1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                 1510                 1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                 1525                 1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                 1540                 1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                 1555                 1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                 1570                 1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                 1585                 1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                 1600                 1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                 1615                 1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                 1630                 1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                 1645                 1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                 1660                 1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                 1675                 1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                 1690                 1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
```

1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
1775 1780 1785

Ser Leu Val Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu
1790 1795 1800

Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
1805 1810 1815

Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Ala Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
1820 1825 1830

Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Ser
1835 1840 1845

Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr
1850 1855 1860

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
1865 1870 1875

Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asn Gly Val Met Gln Leu
1880 1885 1890

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Arg Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
1895 1900 1905

Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln
1910 1915 1920

Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
1925 1930 1935

```
Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175
```

```
Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                 2185                 2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                 2200                 2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                 2230                 2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                 2245                 2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415
```

```
Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asn Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                 2500                 2505

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Asn Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
```

2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 170
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 170

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1 5 10 15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65 70 75 80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile

145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
195 200 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
275 280 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305 310 315 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
325 330 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
340 345 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
355 360 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
370 375 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385 390 395 400

```
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655
```

```
Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910
```

```
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065

Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
```

1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ala Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Lys Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
1220 1225 1230

Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asn
1235 1240 1245

Gly Thr Lys Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys
1250 1255 1260

Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr
1265 1270 1275

Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp
1280 1285 1290

Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu
1295 1300 1305

Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr
1310 1315 1320

Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn
1325 1330 1335

Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val
1340 1345 1350

Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu
1355 1360 1365

Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu
1370 1375 1380

```
Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620
```

```
Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695

Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860
```

```
Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
```

```
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asn Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325
```

```
Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                2410                2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                2425                2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                2440                2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                2455                2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                2470                2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                2485                2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                2500                2505

Asp Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                2515                2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                2530                2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                2545                2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                2560                2565
```

```
Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                2575                2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                2590                2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                2605                2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                2620                2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                2635                2640

Asn Arg  Phe Leu His Leu Leu  Gly Asn Ile Tyr Tyr  Phe Gly Asn
    2645                2650                2655

Asn Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Gln Thr Ile Asn  Gly Asn Met
    2660                2665                2670

Tyr Tyr  Phe Met Pro Asp Thr  Ala Met Ala Ala Ala  Gly Gly Leu
    2675                2680                2685

Phe Glu  Ile Asp Gly Val Ile  Tyr Phe Phe Gly Val  Asp Gly Val
    2690                2695                2700

Lys Ala  Pro Gly Ile Tyr Gly
    2705                2710
```

<210> 171
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 171

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60
```

```
Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320
```

```
Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480

Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
```

565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
755 760 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
770 775 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785 790 795 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
805 810 815

```
Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
            980                 985                 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu  Asn Thr Ile Tyr Asp  Ser Ile Gln
        995                 1000                1005

Leu Val  Asn Leu Ile Ser Asn  Ala Val Asn Asp Thr  Ile Asn Val
    1010                1015                1020

Leu Pro  Thr Ile Thr Glu Gly  Ile Pro Ile Val Ser  Thr Ile Leu
    1025                1030                1035

Asp Gly  Ile Asn Leu Gly Ala  Ala Ile Lys Glu Leu  Leu Asp Glu
    1040                1045                1050

His Asp  Pro Leu Leu Lys Lys  Glu Leu Glu Ala Lys  Val Gly Val
    1055                1060                1065
```

```
Leu Ala  Ile Asn Met Ser Leu  Ser Ile Ala Ala Thr  Val Ala Ser
    1070                1075                1080

Ile Val  Gly Ile Gly Ala Glu  Val Thr Ile Phe Leu  Leu Pro Ile
    1085                1090                1095

Ala Gly  Ile Ser Ala Gly Ile  Pro Ser Leu Val Asn  Asn Glu Leu
    1100                1105                1110

Ile Leu  His Asp Lys Ala Thr  Ser Val Val Asn Tyr  Phe Asn His
    1115                1120                1125

Leu Ser  Glu Ser Lys Glu Tyr  Gly Pro Leu Lys Thr  Glu Asp Asp
    1130                1135                1140

Lys Ile  Leu Val Pro Ile Asp  Asp Leu Val Ile Ser  Glu Ile Asp
    1145                1150                1155

Phe Asn  Asn Asn Ala Ile Lys  Leu Gly Thr Cys Asn  Ile Leu Ala
    1160                1165                1170

Met Glu  Gly Gly Ser Gly His  Thr Val Thr Gly Asn  Ile Asp His
    1175                1180                1185

Phe Phe  Ser Ser Pro Ser Ile  Ser Ser His Ile Pro  Ser Leu Ser
    1190                1195                1200

Ile Tyr  Ser Ala Ile Gly Ile  Lys Thr Glu Asn Leu  Asp Phe Ser
    1205                1210                1215

Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305
```

```
Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455

Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
```

1535 1540 1545

Gln Ala Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ala Asp Gly His His Asn Thr
1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Val Asp Lys Tyr Phe
1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu
1700 1705 1710

Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
1715 1720 1725

Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly
1730 1735 1740

Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
1745 1750 1755

Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
1760 1765 1770

```
Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
    1925                1930                1935

Asp Ser  Lys Ala Val Thr Gly  Trp Arg Ile Ile Asn  Asn Glu Lys
    1940                1945                1950

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Asn Asn  Ala Ile Ala Ala Val  Gly Leu Gln
    1955                1960                1965

Val Ile  Asp Asn Asn Lys Tyr  Tyr Phe Asn Pro Asp  Thr Ala Ile
    1970                1975                1980

Ile Ser  Lys Gly Trp Gln Thr  Val Asn Gly Ser Arg  Tyr Tyr Phe
    1985                1990                1995

Asp Thr  Asp Thr Ala Ile Ala  Phe Asn Gly Tyr Lys  Thr Ile Asp
    2000                2005                2010
```

```
Gly Lys  His Phe Tyr Phe Asp  Ser Asp Cys Val Val  Lys Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Ser Gly Ser Asn Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2030                2035                2040

Thr Tyr  Asn Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Val  Tyr Gln Ser
    2045                2050                2055

Lys Phe  Leu Thr Leu Asn Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asp Asn Asn
    2060                2065                2070

Ser Lys  Ala Val Thr Gly Trp  Gln Thr Ile Asp Ser  Lys Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ala  Glu Ala Ala Thr Gly  Trp Gln Thr
    2090                2095                2100

Ile Asp  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asn Thr Asn Thr  Ala Glu Ala
    2105                2110                2115

Ala Thr  Gly Trp Gln Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn
    2120                2125                2130

Thr Asn  Thr Ser Ile Ala Ser  Thr Gly Tyr Thr Ile  Ile Asn Gly
    2135                2140                2145

Lys His  Phe Tyr Phe Asn Thr  Asp Gly Ile Met Gln  Ile Gly Val
    2150                2155                2160

Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250
```

```
Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                 2260                 2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                 2275                 2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                 2290                 2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                 2305                 2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                 2320                 2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                 2335                 2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                 2350                 2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                 2365                 2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                 2380                 2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                 2395                 2400

Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
```

2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn
2495 2500 2505

Asp Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Arg Arg Tyr
2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Ile Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Ile
2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Asp Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln
2630 2635 2640

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 172
<211> 2710
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 172

```
Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu
            20                  25                  30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu
        35                  40                  45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Asn
    50                  55                  60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys
65                  70                  75                  80

Glu Val Ile Leu Ile Lys Asn Ser Asn Thr Ser Pro Val Glu Lys Asn
                85                  90                  95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu
            100                 105                 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu
        115                 120                 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile
    130                 135                 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile
145                 150                 155                 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu
                165                 170                 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Val Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln
            180                 185                 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His
        195                 200                 205

Leu Val Ser Glu Tyr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Leu Glu Ser Tyr Arg
    210                 215                 220
```

```
Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg
225                 230                 235                 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Asn Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg
            260                 265                 270

Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met
        275                 280                 285

Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser
    290                 295                 300

Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Lys Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys
                325                 330                 335

Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys
            340                 345                 350

Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser
        355                 360                 365

Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln
    370                 375                 380

Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu
385                 390                 395                 400

Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala
                405                 410                 415

Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp
            420                 425                 430

Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys
        435                 440                 445

Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr
    450                 455                 460

Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe
465                 470                 475                 480
```

```
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp
                485                 490                 495

Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu
            500                 505                 510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
        515                 520                 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
    530                 535                 540

Asp Asn Glu Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
545                 550                 555                 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
                565                 570                 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
            580                 585                 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
        595                 600                 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
    610                 615                 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
                645                 650                 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
            660                 665                 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
        675                 680                 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
    690                 695                 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
705                 710                 715                 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asp Ser
                725                 730                 735
```

```
Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
            740                 745                 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu
        755                 760                 765

Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser
    770                 775                 780

Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala
785                 790                 795                 800

Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Thr Ser Val Ser
                805                 810                 815

Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser
            820                 825                 830

Ser Val Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn
        835                 840                 845

Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu
865                 870                 875                 880

Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser
                885                 890                 895

Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr
            900                 905                 910

Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr
        915                 920                 925

Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly
    930                 935                 940

Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr
945                 950                 955                 960

Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn
                965                 970                 975

Lys Asp Leu Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr
```

980 985 990

Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln
995 1000 1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
1010 1015 1020

Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
1025 1030 1035

Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
1040 1045 1050

His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
1055 1060 1065

Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
1070 1075 1080

Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
1085 1090 1095

Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
1100 1105 1110

Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
1115 1120 1125

Leu Ser Glu Ser Lys Glu Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
1130 1135 1140

Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
1145 1150 1155

Phe Asn Asn Asn Ala Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
1160 1165 1170

Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
1175 1180 1185

Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
1190 1195 1200

Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Lys Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
1205 1210 1215

```
Lys Lys  Ile Met Met Leu Pro  Asn Ala Pro Ser Arg  Val Phe Trp
    1220                1225                1230

Trp Glu  Thr Gly Ala Val Pro  Gly Leu Arg Ser Leu  Glu Asn Asn
    1235                1240                1245

Gly Thr  Lys Leu Leu Asp Ser  Ile Arg Asp Leu Tyr  Pro Gly Lys
    1250                1255                1260

Phe Tyr  Trp Arg Phe Tyr Ala  Phe Phe Asp Tyr Ala  Ile Thr Thr
    1265                1270                1275

Leu Lys  Pro Val Tyr Glu Asp  Thr Asn Ile Lys Ile  Lys Leu Asp
    1280                1285                1290

Lys Asp  Thr Arg Asn Phe Ile  Met Pro Thr Ile Thr  Thr Asn Glu
    1295                1300                1305

Ile Arg  Asn Lys Leu Ser Tyr  Ser Phe Asp Gly Ala  Gly Gly Thr
    1310                1315                1320

Tyr Ser  Leu Leu Leu Ser Ser  Tyr Pro Ile Ser Thr  Asn Ile Asn
    1325                1330                1335

Leu Ser  Lys Asp Asp Leu Trp  Ile Phe Asn Ile Asp  Asn Glu Val
    1340                1345                1350

Arg Glu  Ile Ser Ile Glu Asn  Gly Thr Ile Lys Lys  Gly Lys Leu
    1355                1360                1365

Ile Lys  Asp Val Leu Ser Lys  Ile Asp Ile Asn Lys  Asn Lys Leu
    1370                1375                1380

Ile Ile  Gly Asn Gln Thr Ile  Asp Phe Ser Gly Asp  Ile Asp Asn
    1385                1390                1395

Lys Asp  Arg Tyr Ile Phe Leu  Thr Cys Glu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1400                1405                1410

Ser Leu  Ile Ile Glu Ile Asn  Leu Val Ala Lys Ser  Tyr Ser Leu
    1415                1420                1425

Leu Leu  Ser Gly Asp Lys Asn  Tyr Leu Ile Ser Asn  Leu Ser Asn
    1430                1435                1440

Thr Ile  Glu Lys Ile Asn Thr  Leu Gly Leu Asp Ser  Lys Asn Ile
    1445                1450                1455
```

```
Ala Tyr  Asn Tyr Thr Asp Glu  Ser Asn Asn Lys Tyr  Phe Gly Ala
    1460                1465                1470

Ile Ser  Lys Thr Ser Gln Lys  Ser Ile Ile His Tyr  Lys Lys Asp
    1475                1480                1485

Ser Lys  Asn Ile Leu Glu Phe  Tyr Asn Gly Ser Thr  Leu Glu Phe
    1490                1495                1500

Asn Ser  Lys Asp Phe Ile Ala  Glu Asp Ile Asn Val  Phe Met Lys
    1505                1510                1515

Asp Asp  Ile Asn Thr Ile Thr  Gly Lys Tyr Tyr Val  Asp Asn Asn
    1520                1525                1530

Thr Asp  Lys Ser Ile Asp Phe  Ser Ile Ser Leu Val  Ser Lys Asn
    1535                1540                1545

Gln Ala  Lys Val Asn Gly Leu  Tyr Leu Asn Glu Ser  Val Tyr Ser
    1550                1555                1560

Ser Tyr  Leu Asp Phe Val Lys  Asn Ala Asp Gly His  His Asn Thr
    1565                1570                1575

Ser Asn  Phe Met Asn Leu Phe  Leu Asp Asn Ile Ser  Phe Trp Lys
    1580                1585                1590

Leu Phe  Gly Phe Glu Asn Ile  Asn Phe Val Val Asp  Lys Tyr Phe
    1595                1600                1605

Thr Leu  Val Gly Lys Thr Asn  Leu Gly Tyr Val Glu  Phe Ile Cys
    1610                1615                1620

Asp Asn  Asn Lys Asn Ile Asp  Ile Tyr Phe Gly Glu  Trp Lys Thr
    1625                1630                1635

Ser Ser  Ser Lys Ser Thr Ile  Phe Ser Gly Asn Gly  Arg Asn Val
    1640                1645                1650

Val Val  Glu Pro Ile Tyr Asn  Pro Asp Thr Gly Glu  Asp Ile Ser
    1655                1660                1665

Thr Ser  Leu Asp Phe Ser Tyr  Glu Pro Leu Tyr Gly  Ile Asp Arg
    1670                1675                1680

Tyr Ile  Asn Lys Val Leu Ile  Ala Pro Asp Leu Tyr  Thr Ser Leu
    1685                1690                1695
```

```
Ile Asn  Ile Asn Thr Asn Tyr  Tyr Ser Asn Glu Tyr  Tyr Pro Glu
    1700                1705                1710

Ile Ile  Val Leu Asn Pro Asn  Thr Phe His Lys Lys  Val Asn Ile
    1715                1720                1725

Asn Leu  Asp Ser Ser Ser Phe  Glu Tyr Lys Trp Ser  Thr Glu Gly
    1730                1735                1740

Ser Asp  Phe Ile Leu Val Arg  Tyr Leu Glu Glu Ser  Asn Lys Lys
    1745                1750                1755

Ile Leu  Gln Lys Ile Arg Ile  Lys Gly Ile Leu Ser  Asn Thr Gln
    1760                1765                1770

Ser Phe  Asn Lys Met Ser Ile  Asp Phe Lys Asp Ile  Lys Lys Leu
    1775                1780                1785

Ser Leu  Val Tyr Ile Met Ser  Asn Phe Lys Ser Phe  Asn Ser Glu
    1790                1795                1800

Asn Glu  Leu Asp Arg Asp His  Leu Gly Phe Lys Ile  Ile Asp Asn
    1805                1810                1815

Lys Thr  Tyr Tyr Tyr Asp Glu  Ala Ser Lys Leu Val  Lys Gly Leu
    1820                1825                1830

Ile Asn  Ile Asn Asn Ser Leu  Phe Tyr Phe Asp Pro  Ile Glu Ser
    1835                1840                1845

Asn Leu  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    1850                1855                1860

Phe Asp  Ile Asn Thr Gly Ala  Ala Leu Thr Ser Tyr  Lys Ile Ile
    1865                1870                1875

Asn Gly  Lys His Phe Tyr Phe  Asn Asn Asn Gly Val  Met Gln Leu
    1880                1885                1890

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asp  Arg Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    1895                1900                1905

Asn Thr  Gln Asn Asn Asn Ile  Glu Gly Gln Ala Ile  Val Tyr Gln
    1910                1915                1920

Ser Lys  Phe Leu Thr Leu Asn  Gly Lys Lys Tyr Tyr  Phe Asp Asn
```

1925 1930 1935

Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
1940 1945 1950

Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
1955 1960 1965

Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
1970 1975 1980

Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
1985 1990 1995

Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Ser Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
2030 2035 2040

Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
2045 2050 2055

Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
2060 2065 2070

Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
2090 2095 2100

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
2105 2110 2115

Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
2120 2125 2130

Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
2135 2140 2145

Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
2150 2155 2160

```
Phe Lys  Gly Pro Asp Gly Phe  Glu Tyr Phe Ala Pro  Ala Asn Thr
    2165                2170                2175

Asp Ala  Asn Asn Ile Glu Gly  Gln Ala Ile Leu Tyr  Gln Asn Lys
    2180                2185                2190

Phe Leu  Thr Leu Asn Gly Lys  Lys Tyr Tyr Phe Ala  Ser Asp Ser
    2195                2200                2205

Lys Ala  Val Thr Gly Trp Arg  Ile Ile Asn Asn Lys  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Asn Asn Ala Ile  Ala Ala Thr His Leu  Tyr Thr Ile
    2225                2230                2235

Asn Asn  Asp Lys Tyr Tyr Phe  Ser Tyr Asp Gly Ile  Leu Gln Asn
    2240                2245                2250

Gly Tyr  Ile Thr Ile Glu Arg  Asn Asn Phe Tyr Phe  Asp Ala Asn
    2255                2260                2265

Asn Glu  Ser Lys Met Val Thr  Gly Val Phe Lys Gly  Pro Asn Gly
    2270                2275                2280

Phe Glu  Tyr Phe Ala Pro Ala  Asn Thr His Asn Asn  Asn Ile Glu
    2285                2290                2295

Gly Gln  Ala Ile Val Tyr Gln  Asn Lys Phe Leu Thr  Leu Asn Gly
    2300                2305                2310

Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asp Asn  Asp Ser Lys Ala Val  Thr Gly Trp
    2315                2320                2325

Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe Asn Leu  Asn Thr Ala
    2330                2335                2340

Val Ala  Val Thr Gly Trp Gln  Thr Ile Asp Gly Lys  Lys Tyr Tyr
    2345                2350                2355

Phe Asn  Thr Asn Thr Ala Glu  Ala Ala Thr Gly Trp  Gln Thr Ile
    2360                2365                2370

Asp Gly  Lys Lys Tyr Tyr Phe  Asn Thr Asn Thr Ser  Ile Ala Ser
    2375                2380                2385

Thr Gly  Tyr Thr Ile Ile Asn  Gly Lys His Phe Tyr  Phe Asn Thr
    2390                2395                2400
```

```
Asp Gly  Ile Met Gln Ile Gly  Val Phe Lys Gly Pro  Asp Gly Phe
    2405                 2410                 2415

Glu Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Asp Ala Asn Asn  Ile Glu Gly
    2420                 2425                 2430

Gln Ala  Ile Leu Tyr Gln Asn  Lys Phe Leu Thr Leu  Asn Gly Lys
    2435                 2440                 2445

Lys Tyr  Tyr Phe Ala Ser Asp  Ser Lys Ala Val Thr  Gly Leu Arg
    2450                 2455                 2460

Thr Ile  Asp Gly Lys Lys Tyr  Tyr Phe Asn Thr Asn  Thr Ala Glu
    2465                 2470                 2475

Ala Ala  Thr Gly Trp Gln Thr  Ile Asp Gly Lys Lys  Tyr Tyr Phe
    2480                 2485                 2490

Asn Thr  Asn Thr Ser Ile Ala  Ser Thr Gly Tyr Thr  Ile Ile Asn
    2495                 2500                 2505

Asp Lys  His Phe Tyr Phe Asn  Thr Asp Gly Ile Met  Gln Ile Gly
    2510                 2515                 2520

Val Phe  Lys Gly Pro Asp Gly  Phe Glu Tyr Phe Ala  Pro Ala Asn
    2525                 2530                 2535

Thr Asp  Ala Asn Asn Ile Glu  Gly Gln Ala Ile Arg  Tyr Gln Asn
    2540                 2545                 2550

Arg Phe  Leu Tyr Leu His Asp  Asn Ile Tyr Tyr Phe  Gly Asn Asn
    2555                 2560                 2565

Ser Lys  Ala Ala Thr Gly Trp  Val Thr Ile Asp Gly  Arg Arg Tyr
    2570                 2575                 2580

Tyr Phe  Glu Pro Asn Thr Ala  Ile Gly Ala Asn Gly  Tyr Lys Ile
    2585                 2590                 2595

Ile Asp  Asn Lys Asn Phe Tyr  Phe Arg Asn Gly Leu  Pro Gln Ile
    2600                 2605                 2610

Gly Val  Phe Lys Gly Pro Asn  Gly Phe Glu Tyr Phe  Ala Pro Ala
    2615                 2620                 2625

Asn Thr  Asp Ala Asn Asn Ile  Asp Gly Gln Ala Ile  Arg Tyr Gln
    2630                 2635                 2640
```

Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn
2645 2650 2655

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Asn Met
2660 2665 2670

Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Ala Gly Gly Leu
2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val
2690 2695 2700

Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly
2705 2710

<210> 173
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 173

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

```
Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
```

385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
485 490 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
500 505 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
515 520 525

Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
530 535 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
565 570 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
580 585 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe
595 600 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
610 615 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
625 630 635 640

```
Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe
                885                 890                 895
```

```
Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Ile Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Thr Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Val Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Val  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140
```

```
Met Met  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asp Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ala  Pro Ser Ile Thr Tyr  Arg Glu Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Asp Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp Asn Tyr Glu Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Thr  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu Tyr Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe Tyr Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Glu Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Glu Asn  Lys Ile Ile
```

```
    1370                1375                1380

Leu Asn  Ser His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Glu Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Val Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Leu Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Ser Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Arg Lys Gly Asn Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Met Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Asn Ile Lys Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605
```

```
Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Asn Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Thr
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Leu Ser Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845
```

```
Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                 1855                 1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Ile Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                 1870                 1875

Thr Ile  Ile Asp Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Val
    1880                 1885                 1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Phe  Lys Tyr Phe
    1895                 1900                 1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                 1915                 1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                 1930                 1935

Asp Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                 1945                 1950

Glu Met  His Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                 1960                 1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                 1975                 1980

Val Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Asn  Lys His Tyr
    1985                 1990                 1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Thr  Glu Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  His Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Asn Thr Glu Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Glu Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Asp Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085
```

```
Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Ile Gly  Leu Ser Leu
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                 2110                 2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asp Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                 2125                 2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                 2140                 2145

Phe Tyr  Ile Asp Asp Asn Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                 2155                 2160

Thr Ser  Asp Gly Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                 2170                 2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Glu Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                 2185                 2190

Val Gly  Glu Asp Val Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Lys Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asn Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Pro Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
```

2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 174
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 174

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met

165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
405 410 415

```
Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670
```

```
Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Arg Glu
        915                 920                 925
```

```
Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
```

```
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395
```

```
Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635
```

```
Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875
```

```
Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                 1885                 1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                 1900                 1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                 1915                 1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                 1930                 1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                 1945                 1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                 1960                 1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                 1975                 1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                 1990                 1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                 2005                 2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                 2020                 2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                 2035                 2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                 2050                 2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                 2065                 2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                 2080                 2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                 2095                 2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
```

2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
2135 2140 2145

Phe Tyr Ile Asp Glu Lys Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
2150 2155 2160

Thr Ser Asp Glu Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
2165 2170 2175

Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Asp Tyr Ser Gly Leu Val Arg
2180 2185 2190

Val Gly Glu Asp Ile Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
2195 2200 2205

Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
2210 2215 2220

Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
2225 2230 2235

Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asn Gly Ile Met Arg Thr
2240 2245 2250

Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asp Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
2255 2260 2265

Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe
2270 2275 2280

Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
2285 2290 2295

Gln Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu
2315 2320 2325

Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
2360 2365

<210> 175
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 175

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
20 25 30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
130 135 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145 150 155 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
180 185 190

```
Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445
```

```
Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700
```

```
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
```

945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
980 985 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro
1010 1015 1020

Thr Leu Ser Glu Gly Leu Pro Val Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly
1025 1030 1035

Val Ser Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp
1040 1045 1050

Pro Leu Leu Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala
1055 1060 1065

Val Asn Leu Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu
1070 1075 1080

Gly Ile Ala Ser Gly Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly
1085 1090 1095

Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu
1100 1105 1110

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Ile Ser
1115 1120 1125

Leu Val Glu Thr Glu Gly Ala Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
1130 1135 1140

Met Ile Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
1145 1150 1155

Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
1160 1165 1170

Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asn Asp Ile Asp His Phe Phe
1175 1180 1185

```
Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                1255                1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                1270                1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                1285                1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                1300                1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                1315                1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                1330                1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                1345                1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                1360                1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                1375                1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                1390                1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                1405                1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                1420                1425
```

```
Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                1435                1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                1450                1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665
```

```
Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
    1685                1690                1695

Thr Asp  Glu Ile Asn Ile Thr  Pro Val Tyr Glu Thr  Asn Asn Asn
    1700                1705                1710

Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
```

1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
1925 1930 1935

Glu Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
1940 1945 1950

Glu Met Tyr Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
1955 1960 1965

Leu Asn Gln Ile Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
1970 1975 1980

Ile Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Lys Lys Tyr Tyr
1985 1990 1995

Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Ile Glu Ile Asp
2000 2005 2010

Gly Lys Tyr Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly
2015 2020 2025

Val Phe Asn Thr Ser Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Ala Ile Ser Tyr Ser Gly
2045 2050 2055

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr Ser Phe
2060 2065 2070

Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
2075 2080 2085

Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Val Gly Leu Ser Leu
2090 2095 2100

Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
2105 2110 2115

Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asn Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
2120 2125 2130

```
Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 176
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 176

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220
```

```
Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480
```

```
Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
```

725 730 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
770 775 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
850 855 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
885 890 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
900 905 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Arg Glu
915 920 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
965 970 975

```
Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005

Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215
```

```
Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                 1225                 1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                 1240                 1245

Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                 1255                 1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                 1270                 1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455
```

```
Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                1465                1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
    1475                1480                1485

Pro Asp  Val Val Leu Ile Ser  Lys Val Tyr Met Asp  Asp Ser Lys
    1490                1495                1500

Pro Ser  Phe Gly Tyr Tyr Ser  Asn Asn Leu Lys Asp  Val Lys Val
    1505                1510                1515

Ile Thr  Lys Asp Asn Val Asn  Ile Leu Thr Gly Tyr  Tyr Leu Lys
    1520                1525                1530

Asp Asp  Ile Lys Ile Ser Leu  Ser Phe Thr Leu Gln  Asp Glu Lys
    1535                1540                1545

Thr Ile  Lys Leu Asn Gly Val  His Leu Asp Glu Ser  Gly Val Ala
    1550                1555                1560

Glu Ile  Leu Lys Phe Met Asn  Lys Lys Gly Ser Thr  Asn Thr Ser
    1565                1570                1575

Asp Ser  Leu Met Ser Phe Leu  Glu Ser Val Asn Ile  Lys Ser Ile
    1580                1585                1590

Phe Val  Asn Phe Leu Gln Ser  Lys Ile Asn Phe Ile  Leu Asp Ala
    1595                1600                1605

Asn Phe  Ile Ile Ser Gly Thr  Thr Ser Ile Gly Gln  Phe Glu Phe
    1610                1615                1620

Ile Cys  Asp Glu Asn Asp Asn  Ile Gln Pro Tyr Phe  Ile Lys Phe
    1625                1630                1635

Asn Thr  Leu Glu Thr Thr Tyr  Thr Leu Tyr Val Gly  Asn Arg Gln
    1640                1645                1650

Asn Met  Ile Val Glu Pro Asn  Tyr Asp Leu Asp Asp  Ser Gly Asp
    1655                1660                1665

Ile Ser  Ser Thr Val Ile Asn  Phe Ser Gln Lys Tyr  Leu Tyr Gly
    1670                1675                1680

Ile Asp  Ser Cys Val Asn Lys  Val Val Ile Ser Pro  Asn Ile Tyr
```

1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Asn
1700 1705 1710

Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
1715 1720 1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
1730 1735 1740

Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
1745 1750 1755

Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
1760 1765 1770

Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
1775 1780 1785

Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Ser Ala Phe Thr Pro Ser Tyr
1790 1795 1800

Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu
1805 1810 1815

Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
1820 1825 1830

Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro
1835 1840 1845

Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
1850 1855 1860

Tyr Tyr Phe Asn Pro Thr Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
1865 1870 1875

Thr Ile Ile Asn Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Ile
1880 1885 1890

Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Leu Lys Tyr Phe
1895 1900 1905

Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
1910 1915 1920

```
Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950

Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160
```

```
Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190

Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                2200                2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                2215                2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                2230                2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                2245                2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                2260                2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                2275                2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                2290                2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                2305                2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                2320                2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                2335                2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                2350                2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                2365
```

<210> 177
<211> 2366
<212> PRT
<213> Clostridium difficile

<400> 177

```
Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg
1               5                  10                  15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu
            20                  25                  30

Glu Tyr His Asn Met Ser Glu Asn Thr Val Val Glu Lys Tyr Leu Lys
        35                  40                  45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys
    50                  55                  60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val
65                  70                  75                  80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys
                85                  90                  95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile
            100                 105                 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn
        115                 120                 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
    130                 135                 140

Ile Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
145                 150                 155                 160

Leu Asn Asn Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
                165                 170                 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
            180                 185                 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Ile
        195                 200                 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
    210                 215                 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Lys Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
225                 230                 235                 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Lys Leu Tyr Glu
                245                 250                 255
```

```
Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
            260                 265                 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
        275                 280                 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
    290                 295                 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
305                 310                 315                 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Gly Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
                325                 330                 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Ala Leu Ala Ser
            340                 345                 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
        355                 360                 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn
    370                 375                 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val
385                 390                 395                 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro
                405                 410                 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile
            420                 425                 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met
        435                 440                 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr
    450                 455                 460

Thr Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp
465                 470                 475                 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala
                485                 490                 495

Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr
```

```
            500                 505                 510

Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Thr Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys
        515                 520                 525

Val Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly
    530                 535                 540

Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly
                565                 570                 575

Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu
            580                 585                 590

Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Ile Leu Phe
        595                 600                 605

Gln Lys Asn Ile Glu Asn Ser Glu Val Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly
    610                 615                 620

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Ser Ile Ile
625                 630                 635                 640

Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
                645                 650                 655

Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Leu Asp Val Asp Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Thr Glu Ile Glu Thr Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Ser
        675                 680                 685

Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
    690                 695                 700

Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
705                 710                 715                 720

Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
                725                 730                 735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Asn Glu Gly Arg Arg
            740                 745                 750
```

```
Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
        755                 760                 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
    770                 775                 780

Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
785                 790                 795                 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Leu Ser Asp Ile Glu Leu Glu
                805                 810                 815

Glu Lys Val Met Leu Ala Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
            820                 825                 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
        835                 840                 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asn Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
    850                 855                 860

Ile Ser Asp Ser Leu Tyr Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Asp Asp
865                 870                 875                 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Thr Glu Asp Gly Phe
                885                 890                 895

Ser Ile Arg Phe Ile Asn Lys Glu Thr Gly Glu Ser Ile Phe Val Glu
            900                 905                 910

Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Arg Arg Glu
        915                 920                 925

Ile Ser Asn Ile Lys Asp Thr Ile Phe Asp Thr Val Asn Gly Lys Leu
    930                 935                 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Ala Ile His Glu Val Asn Thr Leu Asn
945                 950                 955                 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Lys Glu
                965                 970                 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln
            980                 985                 990

Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr  Ile Thr Asp Ala Ala  Lys Val Val
        995                 1000                1005
```

```
Glu Leu  Val Ser Thr Ala Leu  Asp Glu Thr Ile Asp  Leu Leu Pro
    1010                1015                1020

Thr Leu  Ser Glu Gly Leu Pro  Val Ile Ala Thr Ile  Ile Asp Gly
    1025                1030                1035

Val Ser  Leu Gly Ala Ala Ile  Lys Glu Leu Ser Glu  Thr Ser Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Leu Arg Gln Glu Ile  Glu Ala Lys Ile Gly  Ile Met Ala
    1055                1060                1065

Val Asn  Leu Thr Ala Ala Thr  Thr Ala Ile Ile Thr  Ser Ser Leu
    1070                1075                1080

Gly Ile  Ala Ser Gly Phe Ser  Ile Leu Leu Val Pro  Leu Ala Gly
    1085                1090                1095

Ile Ser  Ala Gly Ile Pro Ser  Leu Val Asn Asn Glu  Leu Val Leu
    1100                1105                1110

Arg Asp  Lys Ala Thr Lys Val  Val Asp Tyr Phe Lys  His Ile Ser
    1115                1120                1125

Leu Val  Glu Thr Glu Gly Ala  Phe Thr Leu Leu Asp  Asp Lys Ile
    1130                1135                1140

Met Ile  Pro Gln Asp Asp Leu  Val Ile Ser Glu Ile  Asp Phe Asn
    1145                1150                1155

Asn Asn  Ser Ile Val Leu Gly  Lys Cys Glu Ile Trp  Arg Met Glu
    1160                1165                1170

Gly Gly  Ser Gly His Thr Val  Thr Asn Asp Ile Asp  His Phe Phe
    1175                1180                1185

Ser Ser  Pro Thr Ile Thr Tyr  Ile Lys Pro His Leu  Ser Ile Tyr
    1190                1195                1200

Asp Val  Leu Glu Val Gln Lys  Glu Glu Leu Asp Leu  Ser Lys Asp
    1205                1210                1215

Leu Met  Val Leu Pro Asn Ala  Pro Asn Arg Val Phe  Ala Trp Glu
    1220                1225                1230

Thr Gly  Trp Thr Pro Gly Leu  Arg Ser Leu Glu Asn  Glu Gly Thr
    1235                1240                1245
```

```
Lys Leu  Leu Asp Arg Ile Arg  Asp His Tyr Lys Gly  Glu Phe Tyr
    1250                 1255                 1260

Trp Arg  Tyr Phe Ala Phe Ile  Ala Asp Ala Leu Ile  Thr Thr Leu
    1265                 1270                 1275

Lys Pro  Arg Tyr Glu Asp Thr  Asn Ile Arg Ile Asn  Leu Asp Ser
    1280                 1285                 1290

Asn Asn  Arg Ser Phe Ile Val  Pro Ile Ile Thr Thr  Glu His Ile
    1295                 1300                 1305

Arg Glu  Lys Leu Ser Tyr Ser  Phe His Gly Ser Gly  Gly Thr Tyr
    1310                 1315                 1320

Ala Leu  Ser Leu Ser Gln Tyr  Asn Met Gly Ile Asn  Ile Glu Leu
    1325                 1330                 1335

Ser Glu  Ser Asp Val Trp Ile  Ile Asp Val Asp Asn  Val Val Arg
    1340                 1345                 1350

Asp Val  Thr Ile Asp Ser Asp  Lys Ile Lys Lys Gly  Asp Leu Ile
    1355                 1360                 1365

Glu Gly  Ile Leu Ser Thr Leu  Ser Ile Glu Asp Asn  Lys Ile Ile
    1370                 1375                 1380

Leu Asn  His His Glu Ile Asn  Phe Ser Gly Asp Val  Asn Gly Ser
    1385                 1390                 1395

Asn Gly  Phe Ile Ser Leu Thr  Phe Ser Ile Leu Glu  Gly Ile Asn
    1400                 1405                 1410

Ala Ile  Ile Glu Val Asp Leu  Leu Ser Lys Ser Tyr  Lys Leu Leu
    1415                 1420                 1425

Ile Ser  Gly Glu Leu Lys Ile  Leu Met Leu Asn Ser  Asn His Ile
    1430                 1435                 1440

Gln Gln  Lys Ile Asp Tyr Ile  Gly Phe Asn Ser Glu  Leu Gln Lys
    1445                 1450                 1455

Asn Ile  Pro Tyr Ser Phe Val  Asp Ser Glu Gly Lys  Glu Asn Gly
    1460                 1465                 1470

Phe Ile  Asn Gly Ser Thr Lys  Glu Gly Leu Phe Val  Ser Glu Leu
```

1475 1480 1485

Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
1490 1495 1500

Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
1505 1510 1515

Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
1520 1525 1530

Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Phe Thr Leu Gln Asp Glu Lys
1535 1540 1545

Thr Ile Lys Leu Asn Gly Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
1550 1555 1560

Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Lys Lys Gly Ser Thr Asn Thr Ser
1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Val Asn Ile Lys Ser Ile
1580 1585 1590

Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Lys Ile Asn Phe Ile Leu Asp Ala
1595 1600 1605

Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
1610 1615 1620

Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
1625 1630 1635

Asn Thr Leu Glu Thr Thr Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
1640 1645 1650

Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
1655 1660 1665

Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
1670 1675 1680

Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Asn
1700 1705 1710

```
Tyr Pro  Glu Val Ile Val Leu  Asp Ala Asn Tyr Ile  Asn Glu Lys
    1715                1720                1725

Ile Asn  Val Asn Ile Asn Asp  Leu Ser Ile Arg Tyr  Val Trp Ser
    1730                1735                1740

Asn Asp  Gly Asn Asp Phe Ile  Leu Met Ser Thr Ser  Glu Glu Asn
    1745                1750                1755

Lys Val  Ser Gln Val Lys Ile  Arg Phe Val Asn Val  Phe Lys Asp
    1760                1765                1770

Lys Thr  Leu Ala Asn Lys Leu  Ser Phe Asn Phe Ser  Asp Lys Gln
    1775                1780                1785

Asp Val  Pro Val Ser Glu Ile  Ile Ser Ala Phe Thr  Pro Ser Tyr
    1790                1795                1800

Tyr Glu  Asp Gly Leu Ile Gly  Tyr Asp Leu Gly Leu  Val Ser Leu
    1805                1810                1815

Tyr Asn  Glu Lys Phe Tyr Ile  Asn Asn Phe Gly Met  Met Val Ser
    1820                1825                1830

Gly Leu  Ile Tyr Ile Asn Asp  Ser Leu Tyr Tyr Phe  Lys Pro Pro
    1835                1840                1845

Val Asn  Asn Leu Ile Thr Gly  Phe Val Thr Val Gly  Asp Asp Lys
    1850                1855                1860

Tyr Tyr  Phe Asn Pro Thr Asn  Gly Gly Ala Ala Ser  Ile Gly Glu
    1865                1870                1875

Thr Ile  Ile Asn Asp Lys Asn  Tyr Tyr Phe Asn Gln  Ser Gly Ile
    1880                1885                1890

Leu Gln  Thr Gly Val Phe Ser  Thr Glu Asp Gly Leu  Lys Tyr Phe
    1895                1900                1905

Ala Pro  Ala Asn Thr Leu Asp  Glu Asn Leu Glu Gly  Glu Ala Ile
    1910                1915                1920

Asp Phe  Thr Gly Lys Leu Ile  Ile Asp Glu Asn Ile  Tyr Tyr Phe
    1925                1930                1935

Glu Asp  Asn Tyr Arg Gly Ala  Val Glu Trp Lys Glu  Leu Asp Gly
    1940                1945                1950
```

```
Glu Met  Tyr Tyr Phe Ser Pro  Glu Thr Gly Lys Ala  Phe Lys Gly
    1955                1960                1965

Leu Asn  Gln Ile Gly Asp Asp  Lys Tyr Tyr Phe Asn  Ser Asp Gly
    1970                1975                1980

Ile Met  Gln Lys Gly Phe Val  Ser Ile Asn Asp Lys  Lys Tyr Tyr
    1985                1990                1995

Phe Asp  Asp Ser Gly Val Met  Lys Val Gly Tyr Ile  Glu Ile Asp
    2000                2005                2010

Gly Lys  Tyr Phe Tyr Phe Ala  Glu Asn Gly Glu Met  Gln Ile Gly
    2015                2020                2025

Val Phe  Asn Thr Ser Asp Gly  Phe Lys Tyr Phe Ala  His His Asn
    2030                2035                2040

Glu Asp  Leu Gly Asn Glu Glu  Gly Glu Ala Ile Ser  Tyr Ser Gly
    2045                2050                2055

Ile Leu  Asn Phe Asn Asn Lys  Ile Tyr Tyr Phe Asp  Tyr Ser Phe
    2060                2065                2070

Thr Ala  Val Val Gly Trp Lys  Asp Leu Glu Asp Gly  Ser Lys Tyr
    2075                2080                2085

Tyr Phe  Asp Glu Asp Thr Ala  Glu Ala Tyr Val Gly  Leu Ser Leu
    2090                2095                2100

Ile Asn  Asp Gly Gln Tyr Tyr  Phe Asn Asp Asp Gly  Ile Met Gln
    2105                2110                2115

Val Gly  Phe Val Thr Ile Asn  Asn Lys Val Phe Tyr  Phe Ser Asp
    2120                2125                2130

Ser Gly  Ile Ile Glu Ser Gly  Val Gln Asn Ile Asp  Asp Asn Tyr
    2135                2140                2145

Phe Tyr  Ile Asp Glu Lys Gly  Ile Val Gln Ile Gly  Val Phe Asp
    2150                2155                2160

Thr Ser  Asp Glu Tyr Lys Tyr  Phe Ala Pro Ala Asn  Thr Val Asn
    2165                2170                2175

Asp Asn  Ile Tyr Gly Gln Ala  Val Asp Tyr Ser Gly  Leu Val Arg
    2180                2185                2190
```

```
Val Gly  Glu Asp Ile Tyr Tyr  Phe Gly Glu Thr Tyr  Thr Ile Glu
    2195                 2200                 2205

Thr Gly  Trp Ile Tyr Asp Met  Glu Asn Glu Ser Asp  Lys Tyr Tyr
    2210                 2215                 2220

Phe Asn  Pro Glu Thr Lys Lys  Ala Cys Lys Gly Ile  Asn Leu Ile
    2225                 2230                 2235

Asp Asp  Ile Lys Tyr Tyr Phe  Asp Glu Asn Gly Ile  Met Arg Thr
    2240                 2245                 2250

Gly Leu  Ile Ser Phe Glu Asn  Asn Asp Tyr Tyr Phe  Asn Glu Asn
    2255                 2260                 2265

Gly Glu  Met Gln Phe Gly Tyr  Ile Asn Ile Glu Asp  Lys Met Phe
    2270                 2275                 2280

Tyr Phe  Gly Glu Asp Gly Val  Met Gln Ile Gly Val  Phe Asn Thr
    2285                 2290                 2295

Gln Asp  Gly Phe Lys Tyr Phe  Ala His Gln Asn Thr  Leu Asp Glu
    2300                 2305                 2310

Asn Phe  Glu Gly Glu Ser Ile  Asn Tyr Thr Gly Trp  Leu Asp Leu
    2315                 2320                 2325

Asp Glu  Lys Arg Tyr Tyr Phe  Thr Asp Glu Tyr Ile  Ala Ala Thr
    2330                 2335                 2340

Gly Ser  Val Ile Ile Asp Gly  Glu Glu Tyr Tyr Phe  Asp Pro Asp
    2345                 2350                 2355

Thr Ala  Gln Leu Val Ile Ser  Glu
    2360                 2365
```

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	**FOR FURTHER ACTION**	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
PC71726A		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/IB2012/051999	20/04/2012	22/04/2011
Applicant		
WYETH LLC		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**
   a. With regard to the **language,** the international search was carried out on the basis of:
      [X] the international application in the language in which it was filed
      [ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   b. [ ] This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).
   c. [ ] With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. [ ] **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. [ ] **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings,**
   a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 25
      [X] as suggested by the applicant
      [ ] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
      [ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
   b. [ ] none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/051999

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/33 A61K39/08 C07K16/12
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/094970 A1 (HEALTH PROT AGENCY [GB]; MICROPHARM LTD [GB]; SHONE CLIFFORD [GB]; LAN) 26 August 2010 (2010-08-26)	128,129, 133,134
Y	page 9, paragraph 3; claims	1-151
Y	US 2011/053244 A1 (OYLER GEORGE A [US] ET AL) 3 March 2011 (2011-03-03) paragraphs [0031], [0032], [0034]; sequences 1, 3, 5, 7	1-151
Y,P	WO 2011/068953 A2 (UNIV TUFTS [US]; FENG HANPING [US]; WANG HAIYING [US]; TZIPORI SAUL [U) 9 June 2011 (2011-06-09) claims; figure 4	1-151

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 July 2012	26/07/2012

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Huber, Angelika

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	M. EGERER ET AL: "Autocatalytic Processing of Clostridium difficile Toxin B: BINDING OF INOSITOL HEXAKISPHOSPHATE", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 284, no. 6, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 3389-3395, XP55032301, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M806002200 page 3391, right-hand column, paragraph 3; figure 1b	1-151
Y	M. TEICHERT ET AL: "Application of Mutated Clostridium difficile Toxin A for Determination of Glucosyltransferase-Dependent Effects", INFECTION AND IMMUNITY, vol. 74, no. 10, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 6006-6010, XP55032296, ISSN: 0019-9567, DOI: 10.1128/IAI.00545-06 the whole document	1-151
Y	WOODY M A ET AL: "Modification of carboxyl groups in botulinum neurotoxin types A and E", TOXICON, ELMSFORD, NY, US, vol. 27, no. 10, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 1143-1150, XP025508940, ISSN: 0041-0101, DOI: 10.1016/0041-0101(89)90008-1 [retrieved on 1989-01-01] abstract	1-20, 38-48, 53,54, 76-86, 92-96, 114-127, 129,134, 139-151
Y	ROBINSON ET AL: "Tetanus toxin. The effect of chemical modifications on toxicity, immunogenicity, and conformation.", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 250, no. 18, 1 September 1975 (1975-09-01), pages 7435-7442, XP55032273, ISSN: 0021-9258 abstract	1-20, 38-48, 53,54, 76-86, 92-96, 114-127, 129,134, 139-151
A	US 2004/028705 A1 (BALLARD JIMMY D [US] ET AL) 12 February 2004 (2004-02-12) claims	1-151

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2012/051999

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010094970 A1	26-08-2010	AU 2010215275 A1	28-07-2011
		CA 2752815 A1	26-08-2010
		CN 102365097 A	29-02-2012
		EP 2405940 A1	18-01-2012
		US 2012121607 A1	17-05-2012
		WO 2010094970 A1	26-08-2010
US 2011053244 A1	03-03-2011	CA 2772400 A1	17-03-2011
		EP 2470664 A2	04-07-2012
		US 2011053244 A1	03-03-2011
		WO 2011031568 A2	17-03-2011
WO 2011068953 A2	09-06-2011	NONE	
US 2004028705 A1	12-02-2004	AU 2003299527 A1	07-06-2004
		US 2004028705 A1	12-02-2004
		US 2008107673 A1	08-05-2008
		WO 2004041857 A2	21-05-2004