

Nucleotide sequence of Clostridium difficile toxin A

Markus Sauerborn and Christoph von Eichel-Streiber

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Johannes Gutenberg Universität Mainz, Hochhaus am Augustusplatz, D-6500 Mainz, FRG

Submitted February 15, 1990

EMBL accession no. X51797

Clostridium difficile produces two toxins, an enterotoxin called A and a cytotoxin B (1). Only after the enteral delivery of the enterotoxin A may the characteristic disease called Pseudomembranous Colitis be induced (2). Several attempts have been made to clone the *tox*A gene. Two groups have been able to isolate stable *tox*A fragments by expression cloning (3, 4). We here present the nucleotide sequence of the total *tox*A gene which is covered by the clones pCd122, pCd14 and pCd22 (5). Within the 9770 bp sequenced there are two open reading frames (ORF), one codes for a 16,124 Da polypeptide of unknown function, the second encodes toxin A. The toxin A ORF is 8130 bp long, the polypeptide deduced from this sequence has a molecular weight of 307,972 Da and a pK_i of 5.31. These data are in good agreement with the literature (6). The 3'-end of *tox*A consists of a 2499 bp repetitive structure. This part of toxin A is composed of five different oligopeptides which have already been presented and discussed (5, 7).

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft.

REFERENCES

1. Sullivan, N.M., Pellet, S. and Wilkins, T.D. (1982) *Infect. Immun.* **35**, 1032–1040.
2. Lyerly, D.M., Saum, K.E., MacDonald, D.K. and Wilkins, T.D. (1985) *Infect. Immun.* **47**, 349–352.
3. Price, S.B., Phelbs, C.J., Wilkins, T.D. and Johnson, J.L. (1987) *Curr. Microbiol.* **16**, 55.
4. von Eichel-Streiber, C., Suckau, D., Wachter, M. and Hadding, U. (1989) *J. Gen. Microbiol.* **135**, 55.
5. von Eichel-Streiber, C., Laufenberg-Feldmann, R. and Sauerborn, M., *Bacterial Protein Toxins*, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1990, in press.
6. Lyerly, D.M., Roberts, M.D., Phelbs, C.J. and Wilkins, T.D. (1986) *FEMS Lett.* **33**, 31–35.
7. Johnson, J.L., Dove, C.H., Price, S.B., Sickles, T.W., Phelbs, C.J. and Wilkins, T.D. (1988) *Anaerobes Today*. Wiley and Sons Ltd, 115–123.

```

aaagtgttctatctaataatgaagattaccagataaaagggtggactatgatgaatgcacagtagttccacctttttatatttctaatggtacaacaaatattttttatataaacctgggg 120
gcgttatGAATATGACAATATCTTTTTATCAGAGCATATATTTATAAAGTTAGTAATTTAACTATATCATTGATACATTATAGGATGTTTAAAGTCAATAAAAAAGTCGTAATTTA 240
ATTCTAGTTTTGGAATAGATGGAGGAATCAGAAAAGTAGCAATGATAGCATGTATTTTTTTTTATCAGTAGTTGACATTCTTACAAAAGTTAACTTTTTATTGTTACCACAAGATT 360
GTATCAATTTTTAAGACTAAAACATCTTGAATATCTGAATTTTTCTCTATTTTTATTTATTTATATGAAAGTGAAGTATATAAAAAATATGTCGTTATGTGGATTACCAGTACCTA 480
AGAGATTAAGGAAAAAATAGCAATTTACTAGATGCAATGACAGATGAAATGAATGCTAAGGATGAAAAGTAAgtaatggtagatataataaagatatacaaaataaaaagtggtatc 600
caaaataagaatagctgaaagttatcataatcatgaacctaataatgaaaacggaggagcagatgccaaagagacacacaagattaaatacatataatttcgaagcaagtggtcattact 720
atatagatgacaaggtagatatcaaacattggttcacaagaatggtgcatggtcagttggtaaaatctattaagctacattagttacagatatacaaacataaatagttaaacataga 840
aatatggtgaaattgtagtggaattatcaaaaacacaaaaatcgtgtaggaagcacaatgatagaaaataagtatcaaaccttaataaatgatttaattgatagtttaaaagtt 960
atagggaaaaatataaagaataaaaacattaaaaaataaagatagtttacaataactatcacacaactcctctatcctaataagaagagtcacttaactaacttaattgagatctttaa 1080
ttgaaatgtaggaagtgatttaaatatgaaacttaaatataaaaaatcaatataatttatttttaaaaaatagaaaggagtgatataagatttatttcaaggttataaaacaagaa 1200
aatcaatttaaatcagaaggaataaattggtttagaagtgatttattatcaaaaataaataactaggagggtttttATGCTTTAATATCTAAAGAAGGTTAATAAAAACTCGCA 1320
TATAGCATTAGACCAAGAGAAAAATGAGTATAAAACTATACTAACTAATTTAGACGAATATAAATAGTAACTACAACAATAATGAAAAATAATTTGCAATTAATAAACTAAATGAA 1440
TCAATTTGAGTTTTATGAATAAATATAAACTCAAGCAGAAATAGAGCACTCTCTAATCTAAAAAAGATATATAAAGAAGTAATCTTATTAATAAACTCAATACAAGCCCTGTA 1560
GAAAAAATTTACATTTGTATGGATAGGTGGAGAAGTCAGTGATATTGCTCTTGAATACATAAAACAATGGGCTGATTTAATGCAGAATAAATAAATAAACTGTGGTATGATAGTAA 1680
GCATTTAGTAAATACACTAAAAAGGCTATAGTTGAATCTCTACCAGTAAAGCATTACAGCTACTAGAGGAAGAGATTCAAAATCCTCAATTTGATAATATGAAATTTACAAAAA 1800
AGGATGGAATTTATATGATAGACAAAAAGGTTTATAAATATTATAAATCTCAATCAATAAACCACAGTACCTACAATAGATGATTTATAAAGTCTCATCTAGTATCTGAATAT 1920
AATAGAGATGAACTGTATTAGAATCATATAGAACAAATCTTTGAGAAAAATAATAGTAATCATGGGATGATATCAGGGCTAATAGTTTGTACAGAACAGAGTTATTAATATT 2040
TATAGTCAGGAGTTGTTAAATCGTGGAAATTTAGCTGCAGCATCTGACATAGTAAGTATTAGCCCTAAAAAATTTGGCGGAGTATTTAGATGTTGATATGCTCCAGGTATTCAC 2160
TCTGATTTATTTAAACAATATCTAGACCTAGCTCTATTGGACTAGACCGTTGGGAAATGATAAAATAGAGGCTATTATGAAGTATAAAAAATATATAAATAATATACATCAGAAAA 2280
TTTGATAAATCTGATCAACAATTAAGATAAATTTAACTCATTATAGAAAGTAAAGTAAAAATCTGAGATATTTCTAAATAGAAAAATTAATATGATCTGATCTTGAATTTAAA 2400
ATAGCTTCGCTTTAGGCAGTGTTATAAATCAAGCCCTGATATCAAAACAAGGTTTCAATCTTACTAACCTAGTAATAGAACAGTAAAAATAGATATCAATTTTTAAACCAACACCTT 2520
AACCCAGCCATAGAGTCTGATAAATCTCAGATACTACTAAAAATTTTCATGATTCATTTAATTCAGCTACCCGAGAAAACCTCTATGTTTTAACAAAAATAGCACCATACTTA 2640
CAAGTAGGTTTTATGCCAGAAGCTCGCTCCACAATAAGTTAAGTGGTCCAGGAGCTTATGCGTCAGCTTACTATGATTTCAATAATTTACAAGAAAACTATAGAAAAAATTTAAAA 2760
GCATCAGATTTAATAGAATTTAAATCCCAGAAAAATAATCTATCTCAATTGACAGAACAGAAAAATAATAGTCTATGGAGCTTTGATCAAGCAAGTGCAAAAATCAATTTGAGAAATAT 2880
GTAAGAGATTACTGGTGGATCTCTTTCTGAAGACAATGGGGTAGCTTTAATAAAAACTGCCCTCGACAAAAACTATTTTCTAAAAATCCTAAAAATAGTATTATATACAACGAAAT 3000
GCTGGAAGTAAAAATATGTTTATTATATCATAACAGTACAAGGAGATGATATAAGTTATGAAGCAACATGCAATTTTCTAAAAATCCTAAAAATAGTATTATATACAACGAAAT 3120
ATGAATGAAAGTCAAAAAGCTACTTTTTAAGTGATGATGGAGAACTATTTTAGAATTAATAAATATAGGATACCTGAAAGATTAATAAATAAGGAAAAAGTAAAGTAACTTTATT 3240
GGACATGTTAAGATGAATTCACACAAGCGAATTTGCTAGATTAAGTGTAGATTCACTTTCCAATGAGATAAGTTCATTTTTAGATACCATAAAAATAGATATACACCTAAAAATGTA 3360

```

GAAGTAACTTACTTGGATGTAATATGTTTAGTTATGATTTTAATGTTGAAGAACTTATCCTGGGAAGTGTCTATTAAGTATTATGGCAAAAATTACTTCCACTTACCTGATGTAAT 3480
 AAAAAATCTATTACTATAGGAGCAAAATCAATATGAAGTAAGAATTAATAGTGAGGGGAAGAAAAGAACTTCTGGCTCACTCAGGTAATGGATAAAATAAGAAGAAGCTATTATGAGCGAT 3600
 TTATCTAGTAAAGAATACATTTTTTTGATCTATAGATAAAGCTAAAAGCAAAGTCCAAGAATATCCAGGATTAGCATCAATATCAGAAGATATAAAAAATTACTTCTGATGCA 3720
 AGTGTTAGTCTGATACAAAATTTATTTAAATAATCTTAAGCTTAATTTGAATCTTCTATTGGGATTACATTTATTATGAAAAATTAGAGCCTGTTAAAAATATAATTCACAATTCT 3840
 ATAGATGATTTAATAGATGAGTTCAATCTACTTGAATAATCTGATGAATATATGAATAAAAAAATTAATAATCTAGATGAGAAGTATTTAATATCTTTGAGATATCTCAAAA 3960
 AATAATCAACTTACTCTGTAAGATTTATTAACAAAAGTAATGGTGAGTCAGTTTATGTAGAACAGAAAAAGAAATTTTTCAAAATATAGCGAACATATTACAAAAGAAATAAGTACT 4080
 ATAAGAAATAGTATAATTACAGATGTTAATGGTAATTTATTGGATAATACAGTTAGATCATACTTCTCAAGTTAATACATTAACCGCAGCATTCTTTATTCAATCATTAAATAGATTAT 4200
 AGTAGCAATAAAGATGACTGAATGATTTAAGTACCTCAGTTAAGGTTCAACTTTATGCTCAACTTTTAGTACAGGTTAAATACTATATAGACTCTATCCAATTAGTAAATTTAATA 4320
 TCAAAATGCAGTAAATGACTATAAAATGACTACCTACAATAACAGAGGGGATACCTATTGTATCTACTATATTAGACGGAATAAACTTAGGTGCAGCAATTAAGGAATTAAGTACGAA 4440
 CATGACCCATTACTAAAAAAGAATTAGAAGCTAAGGTGGGTGTTTAGCAATAAATATGTCATTATCTATAGCTGCAACTGTAGCTTCAATTTGTTGGAATAGGTGCTGAAGTTACTATT 4560
 TTCTTATTACCTATAGCTGGTATATCTGCAGGAATACCTCATTAGTTAATAATGAATTAATATGTCATGATAAGGCAACTCAGTGGTAAACTATTTAATCATTGTCTGAATCTAAA 4680
 AAATATGGCCCTCTTAAACAGAAAGATGATAAAATTTAGTTCTATTGATGATTTAGTAAATATCAGAAATAGATTTAATAAATAATTCGATAAACTAGGAACATGTAATATATTAGCA 4800
 ATGGAGGGGGGATCAGGACACACAGTACTGGTAATATAGATCACTTTTTCTCATCTCCATCTATAAGTTCTCATATTCCTTATTCAATTTATTCTGCAATAGGTATAGAAACAGAA 4920
 AATCTAGATTTTCAAAAAAATAATGATGTTACCTAATGCTCCTTCAAGAGTGTGTTGGTGGGAACTGGAGCAGTCCAGGTTAAGATCATTGGAAAATGACGGAACTAGATTACTT 5040
 GATTCAATAAGAGATTTATACCCAGGTAATTTACTGGAGATTCTATGCTTTTTTCGATTATGCAATAACTACATTAACCAGTGTATGAGACACTAATATAAAATTAACACTAGAT 5160
 AAAGATACTAGAACTTCATAATGCCAATAAATACTAACAAGAAATAGAAACAAATTTCTTATTCATTTGATGGAGCAGGAGAACTTACTCTTTATTATTATCTCATATCCAATA 5280
 TCAACGAATATAAATTTATCAAGATGATTTATGGATTTAATAATGATAATGAAGTAAGAGAAATATCTATAGAAAATGGTACTATTAAGAAAGGAAAGTAAATAAAGATGTTTA 5400
 AGTAAAAATGATATAAATAAAAAATAAATTTATAGGCAATCAACAATAGATTTTTCAGGCGATATAGATAAAGATAGATATATTTCTGACTGTGAGTTAGATGATAAAAT 5520
 AGTTAATAATAGAAAATAAATCTGTTGCAAAAATCTATAGTTGTTGTTGCTGGGATAAAAAATTTGATATCCAATTTATCTAATACTATTGAGAAAATCAATACTTTAGGCCTA 5640
 GATAGTAAAAATAGCGTACAATTAACCTGATGAATCTAATAAATAAATTTTGGAGCTATATCTAAAACAAGTCAAAAAGCATAATACATTTAAAAAAGACAGTAAAAATATATTA 5760
 GAATTTTATAATGACAGTACATTAAGAATTTAAGTAAAGATTTTATTGCTGAAGATATAAATGATTTTATGAAGATGATTAATACTATAACAGGAAATACTATGTTGATAAATA 5880
 ACTGATAAAGATAGATTTCTCTATTTCTTTAGTTAGTAAAAATCAAGTAAAGTAAATGGATTATATTTAAATGAATCCGTACTCATCTACCTTGATTTTGTGAAAAATTCAGAT 6000
 GGACACCAATAACTTCTAATTTTATGAATTTATTTTGGACAATAAAGTTTCTGGAATTTGTTGGTGTGAAAATATAAATTTGTAATCGATAAACTTTACCCTTGTGGTAAA 6120
 ACTAATCTGGATATGAGAATTTATTTGTGACAATAAATAAATATAGATATATTTTGGTGAATGGAACACATCGTCATCTAAAAGCACTATTTAGCGGAAATGGTAGAAATGTT 6240
 GTAGTAGAGCCTATATAATCTGATACGGGTGAAGATATATCTACTTCACTAGATTTTCTATGAACCTCTCTATGGAATAGATAGATATAAATAAAGATTGATAGCACCTGAT 6360
 TTATATAACAAGTTAATAAATTAATACCAATTTATTTCAAATGAGTACTACCCTGAGATTAGTCTTAACCCAAATACATCCACAAAAAAGTAAATAAATTTAGATAGTTCT 6480
 TCTTTGAGTATAAATGGTCTACAGAAGGAGTACTTTATTTTAGTTAGATACTAGAAGAAAGTAAATAAAAAATATTACAAAAATAAGAAATCAAGGTATCTTATCTAATACTCAA 6600
 TCATTTAATAAATGAGTATAGATTTAAGATATAAATAAATACTCATTAGGATATAAATGAGTAAATTTAATCATTAAATCTGAAAATGAATAGATAGATCATTAGGATTT 6720
 AAAATAATAGATAAATAAATCTTACTATGATGAAGATAGTAAATTAGTTAAAGGATTAATCAATAAATAAATCATTATCTATTTGATCCTATAGAAATTAAGCTAGTAACTGGA 6840
 TGGCAACTATCAATGGTAAAAAATATTATTTGATATAAATACTGGAGCAGCTTAACTAGTTATAAATAATTAATGGTAAACACTTTTATTTAATAATGATGGTGTGATGCAAGTTG 6960
 GGAGTATTTAAGGACCTGATGGATTTGAATTTTGCACCTGCCAATACTCAAAATAAATAACATAGAAAGTCAAGGCTATAGTTTATCAAGTAAATCTTAACCTTTGAATGGCAAAAA 7080
 TATTTATTTGATAAATACTCAAAAGCAGTCACTGGATGGGAATTAATCAAAATGAGAAATATTACTTTAATCCTAATAATGCTATTGCTGCAGTCGGATTGCAAGTAAATGACAATA 7200
 AAGTATTTTCAATCCTGCACCTGCTATCATCTCAAAAGGTTGGCAGACTGTTAATGGTAGTAGACTACTTTGATAGTACTGATACCGCTATTGCCTTAAATGGTTATAAATACTATTGAT 7320
 GGTAAACACTTTTATTTGATAGTATTGTTGAGTGAATAAGGTGTTTAGTACCTCTAATGGATTTGAATTTTGCACCTGCTAATACTTATAATAAATAACATAGAAGGTCAAGGCT 7440
 ATAGTTTATCAAGTAAATCTTAACTTTGAATGGTAAAAAATATTACTTTGATAAATACTCAAAAGCAGTACCAGGATTGCAAACTATTGATAGTAAAAAATATTACTTTAATACTAAC 7560
 ACTGCTGAAGCAGTACTGGATGGCAACTATTGATGGTAAAAAATATTACTTTAATACTAACACTGCTGAAGCAGTACTGGATGGCAAACTATTGATGGTAAAAAATATTACTTTAAT 7680
 ACTAACACTGCTATAGCTTCACTGGTTATACAATTAATGGTAAACATTTTATTTAATACTAGTGGTATTATGCAGATAGGAGTGTAAAGGACCTAATGGATTTGAATATTT 7800
 GCACCTGCTAATACGGATGCTAACAATAGAAAGTCAAGCTATACTTTACCAAAATGAATCTTAACTTTGAATGGTAAAAAATATTACTTTGGTAGTACTCAAAAGCAGTACTGGA 7920
 TGGAGAATTAACAATAAGAAATATTACTTTAATCCTAATAATGCTATTGCTGCAATTCATCTATGCACTATAAATAATGACAAGTATTACTTTAGTTATGATGGAATCTTCAAAAT 8040
 GGATATATTACTATTGAAAGAAATAATTTCTATTTGATGCTAATAATGAATCTAAAATGGTAAACAGGAGTATTAAAGGACCTAATGGATTTGAGTATTTGCACCTGCTAATACTCAC 8160
 AATAATAACATAGAAGGTCAAGCTATAGTTTACCAGAACAATTTTAACTTTGAATGGCAAAAAATATTATTTGATAATGACTCAAAAGCAGTACTGGATGGCAAACTATTGATGGT 8280
 AAAAAATATTACTTTAATCTTAACTGCTGAAGCAGTACTGGATGGCAAACTATTGATGGTAAAAAATATTACTTTAATCTTAACTGCTGAAGCAGTACTGGATGGCAAACTATT 8400
 GATGGTAAAAAATATTACTTTAATACTAACACTTTTATAGCCTCAACTGGTTATACAAGTATAATGGTAAACATTTTATTTAATACTGATGGTATTATGCAGATAGGAGTGTAAA 8520
 GGACCTAATGGATTTGAATACTTTGCACCTGCTAATACGGATGCTAACAACATAGAAGGTCAAGCTATACTTTACCAAAATAAATCTTAACTTTGAATGGTAAAAAATATTACTTTGGT 8640
 AGTACTCAAAAGCAGTACCAGGACTGCAACTATTGATGGTAAAAAATATTACTTTAATACTAACACTGCTGTTGCAGTACTGGATGGCAAACTATTAAATGGTAAAAAATACTACTTT 8760
 AATACTAACACTTCTATAGCTTCAACTGGTTATACAATTAATAGTGGTAAACATTTTATTTAATACTGATGGTATTATGCAGATAGGAGTGTAAAGGACCTGATGGATTTGAATAC 8880
 TTTGCACCTGCTAATACAGATGCTAACAATAGAAAGTCAAGCTATATCTTATCAAAATAGATTCCTATATTTACATGACAATATATATTTTGGTAAATAATCAAAAGCGGCTACT 9000
 GGTGGGTAACCTATTGATGGTAAATAGATATTACTTCGAGCCTAATACAGCTATGGGTGCAATGGTTATAAACTATTGATAAATAAATTTTACTTTAGAAATGGTTTACCTCAGATA 9120
 GGAGTGTAAAGGCTAATGGATTTGAATACTTTGCACCTGCTAATACGGATGCTAACAATAGAAAGTCAAGCTATACGTTATCAAAATAGATTCCTACATTTACTTGGAAAAATA 9240
 TATTACTTTGGTAAATAATCAAAAGCAGTACTGGATGGCAAACTATAATGGTAAAGTATAATTACTTTATGCTGATACTGCTATGGCTGCAGCTGGTGGACTTTTCGAGATTGATGGT 9360
 GTTATATATTTCTTTGGTGTGATGGAGTAAAGCCCTGGGATATATGGCTAAaataatggttgataaaaaattattcctgtgctactaagaattattttatataataaataatgga 9480
 gat_ttaataaaagtcagtgtattgtaatacatgacttttagttaagattttctatcatttaataatctatttcttgactattttataataaaattcatataggaatattaat 9600
 actaaataaataaagttgataaaaaatagataatgctaaaagcaaaactaatttagagccttgtaactgtttatttgcaattataaaaaatctttaaacatattgactataat 9720
 aaaaattaactataatacaaaacaatattaataattttctctacagct 9770