

Schlussbericht

FKZ 01GS08200

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

NGFN Verbundprojekt

RNomics bei Infektionskrankheiten

Teilprojekt 5: RNomics bakterieller Infektionen

(Chlamydia, Neisseria)

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Inhalt

I. KURZE DARSTELLUNG ZU	3
I.1. AUFGABENSTELLUNG.....	3
I.2. VORAUSSETZUNGEN, UNTER DENEN DAS VORHABEN DURCHGEFÜHRT WURDE.....	3
I.3. PLANUNG UND ABLAUF DES VORHABENS.....	4
I.4. WISSENSCHAFTLICHEM UND TECHNISCHEM STAND	4
I.5. ZUSAMMENARBEIT MIT ANDEREN STELLEN	5
II. EINGEHENDE DARSTELLUNG	5
II.1. DES ERZIELTEN ERGEBNISSES	5
II.2. DES VORAUSSICHTLICHEN NUTZENS, INSBESONDERE DER VERWERTBARKEIT DES ERGEBNISSES IM SINNE DES FORTGESCHRIEBENEN VERWERTUNGSPLANES.....	7
II.3. DES WÄHREND DER DURCHFÜHRUNG DES VORHABENS DEM ZE BEKANNT GEWORDENEN FORTSCHRITTS AUF DEM GEBIET DES VORHABENS BEI ANDEREN STELLEN.....	7
II.4. DER ERFOLGTEN ODER GEPLANTEN VERÖFFENTLICHUNGEN DES ERGEBNISSES.....	7
III. ERFOLGSKONTROLLBERICHT	8
IV. KURZFASSUNG DES FACHLICHEN INHALTS DES SCHLUSSBERICHTS.....	8

I. Kurze Darstellung zu

I.1. AUFGABENSTELLUNG

Intensive Forschungen der letzten Jahre haben eine bedeutende Rolle nicht-proteinkodierender RNA (ncRNA)-Moleküle an der Regulation der mRNA-Expression von Zellen ergeben. Aus diesen Ergebnissen hat sich ein eigener hochmoderner Forschungszweig ergeben, der neben dem Studium der zellulären ncRNA-Expression auch die gezielte Manipulation von Genexpression zum Ziel hat. Damit ergeben sich zum einen nicht nur neue Möglichkeiten zur Analyse von Krankheitsassoziationen bei Genen, sondern es eröffnen sich durch die hohe Spezifität der ncRNA-Moleküle ganz neue Chancen zur gezielten Therapie komplexer Erkrankungen wie z. B. von Infektionserkrankungen. Bakterielle Infektionen sowie die alarmierende Zunahme entsprechender Resistenzen gegen medikamentöse Behandlungen stellen weltweit immer noch eine Hauptbedrohung der menschlichen Gesundheit dar. Die weit verbreitete Anwendung von Antibiotika hat dagegen zu einer alarmierenden Anzahl resistenter Stämme von Erregern geführt, die eine noch größere Bedrohung von Mensch und Umwelt darstellen.

Dieses Vorhaben zielte auf die Identifikation und funktionelle Analyse von ncRNA-Genen ab, die eine Schlüsselrolle in diesen o. g. höchst relevanten Infektionserkrankungen spielen. In vier Teilprojekten werden aus den entsprechenden viralen, bakteriellen bzw. parasitären Infektionsmodellen Genbanken aus infizierten und nicht-infizierten Zellen erstellt, die im vierten Teilprojekt auf die Anwesenheit von ncRNA-Genen mit Hilfe modernster DNA-Sequenzieretechnik (ultra-high-parallel sequencing) untersucht werden. Besondere Aufmerksamkeit gilt dabei denjenigen ncRNA-Genen, die in den verschiedenen untersuchten Infektionsmodellen identifiziert werden können.

Das Ziel des Teilprojekts V war die Identifizierung und Funktionsanalyse von ncRNAs, die sich als Antwort auf eine Infektion in pathogenen Neisserien und Chlamydien sowie deren Wirtszellen ändern. ncRNAs wurden mithilfe modernster DNA-Sequenzieretechnik (ultra-high-parallel sequencing) identifiziert und mithilfe von Northernblots und quantitativer Real Time-PCR (qRT-PCR) evaluiert. Danach wurde der Einfluss dieser ncRNAs auf die Infektion durch Störung der ncRNA in etablierten *in vitro* Modellen bestätigt.

I.2. VORAUSSETZUNGEN, UNTER DENEN DAS VORHABEN DURCHGEFÜHRT WURDE

Die pathogene Bakterien, die hier erforscht wurden, sind für die menschliche Gesundheit von hoher Relevanz und werden seit langem als „Modell-Pathogene“ angesehen. Chlamydien sind die Verursacher einer Reihe von Erkrankungen wie Lungenentzündung, Augeninfektion (Trachom) und Geschlechtskrankheiten, stehen aber auch in Verdacht, chronisch-entzündliche Erkrankungen des Menschen wie Arteriosklerose und Krebs zu begünstigen. Neisserien verursachen neben anderen Erkrankungen die bakterielle Meningitis und die Gonorrhö. Für die Durchführung der geplanten Projekte konnten wir auf unsere langjährige Expertise auf dem Gebiet der Chlamydien- und Neisseria-Infektionen aufbauen. So hatten wir mehrere Zellkulturmodelle (Epithel-, Endothelzellen, Phagozyten, primäre Zellen) für beide Erregerklassen etabliert, die uns die Untersuchung aller wichtigen Phasen der

Infektion ermöglichten. Alle anderen Methoden zur Identifizierung und Validierung von ncRNAs etablierten wir im Rahmen des Verbundprojektes in enger Zusammenarbeit mit den Partnern.

I.3. PLANUNG UND ABLAUF DES VORHABENS

Die möglichst vollständige Erfassung und funktionelle Aufklärung der differentiellen ncRNAs des Wirtes und der Pathogenen stand als wichtigstes wissenschaftliches Ziel im Vordergrund des Projektes. Dafür sollen sämtliche ncRNAs des Wirtes und der Pathogenen kloniert und über UHP-Seq identifiziert werden. Nach der Katalogisierung der ncRNAs führen wir umfangreiche Experimente sowohl in vitro als auch in vivo durch, um die Funktion der einzelnen ncRNAs zu bestimmen. Für die Durchführung dieses innovativen Projektes mussten die technischen Voraussetzungen durch eine enge Kooperation der Verbundpartner erst geschaffen werden. Entwicklung von Methoden zur umfassenden Klonierung von ncRNA unterschiedlicher Größe wurde als wichtigstes technisches Ziel des Projektes. Dazu mussten die RNAs in DNA umgeschrieben und die erstellten cDNA-Bibliotheken über 454- oder Illumina-Sequenzierung analysiert werden. Für die Erstellung der cDNA-Bibliotheken von Bakterien etablierten wir eigene Protokolle, miRNA-Bibliotheken wurden in Zusammenarbeit mit der Firma vertis GmbH hergestellt. Sämtliche Sequenzierungen wurden vom Genome Center des Max-Planck-Institutes in Köln von Richard Reinhardt und seinem Team durchgeführt. Die Auswertung der Sequenzen erfolgte dann zuerst in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Jörg Vogel, später auch unter Beteiligung des Lehrstuhls für Bioinformatik am Biozentrum.

I.4. WISSENSCHAFTLICHEM UND TECHNISCHEM STAND

Chlamydien sind obligat intrazelluläre humanpathogene Bakterien, welche einen einzigartigen zweiphasigen Lebenszyklus besitzen. *Chlamydia trachomatis* ist die häufigste Ursache für sexuell übertragbare Infektionen und Bindehautinfektionen die zur Erblindung führen. *Chlamydia pneumoniae* ist für ein breites Spektrum an akuten und chronischen Erkrankungen wie Atemwegsinfektionen und Atherosklerose verantwortlich. Chlamydien besitzen einen einzigartigen zweiphasigen Entwicklungszyklus, welcher zwischen infektiösen aber metabolisch inaktiven Elementarkörpern (EB) und nichtinfektiösen aber metabolisch aktiven Retikularkörpern (RB) alterniert. Es gibt bis heute keine effiziente Möglichkeit zur genetischen Manipulation von Chlamydien und keine Methode um Chlamydien außerhalb der Wirtszelle zu kultivieren. Deshalb stellt die Genomanalyse die Hauptmethode dar, um Einblicke in die Biologie der Chlamydiales zu erhalten. Obwohl die Genome von mehreren Stämmen bereits sequenziert wurden, sind sehr wenige Informationen über die Genstruktur dieser Bakterien bekannt. Die Genomsequenzen von *C. trachomatis* und *C. pneumoniae* sind seit 1998 beziehungsweise 1999 bekannt. Die Annotation des Genoms und der Großteil der Informationen über die Organisation des Transkriptoms basiert auf vergleichenden computergestützten Analysen und Vorhersagen. So waren vor unserer Transkriptomanalyse nur 2 ncRNAs für Chlamydien bekannt, die beide experimentell bestimmt wurden.

Der obligat humanpathogene Erreger *N. gonorrhoeae* infiziert den Urogenitaltrakt von Menschen und verursacht die Geschlechtskrankheit Gonorrhoe (lokale, akute Infektion). Gonokokken können sich auch im Körper ausbreiten und systemische Infektionen in Verbindung mit Arthritis, Endokarditis, Meningitis und Lungenentzündung hervorrufen

(Disseminierende Gonokokken-Infektion, DGI). Obwohl Neisserien genetisch sehr gut manipuliert werden können und bereits Transkriptomstudien durchgeführt worden waren, gab es vor unserer Analyse kaum Informationen zu ncRNAs. Nicht-kodierende RNAs sind mit Microarraytechnologien nur schwer, über die Analyse von Genomsequenzen alleine praktisch gar nicht zu identifizieren. Durch die Einführung von Hochdurchsatz-Sequenziermethoden wurde die globale Transkriptomanalyse revolutioniert. Mit dieser Technik können praktisch alle Transkripte einer Zelle direkt bestimmt und quantifiziert werden. Finden sich auf Transkripten keine offenen Leserahmen, kann man von einer nicht-kodierenden RNA ausgehen. Mithilfe der Hochdurchsatzsequenzierung konnten im Teilprojekt V die Transkriptome von *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* und *N. gonorrhoeae* bestimmt werden.

I.5. ZUSAMMENARBEIT MIT ANDEREN STELLEN

Die erfolgreiche Durchführung dieses Projektes erforderte eine enge Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Jörg Vogel am Institut für Molekular Infektionsbiologie der Universität Würzburg und Richard Reinhardt am Max-Planck Genome Center Köln. Die bioinformatische Auswertung wurde außer mit diesen Gruppen auch mit dem Lehrstuhl für Bioinformatik der Universität Würzburg durchgeführt. Diese Zusammenarbeit ist in gemeinsamen Publikationen dokumentiert. miRNA Bibliotheken wurden von der Firma vertis GmbH erstellt.

II. Eingehende Darstellung

II.1. DES ERZIELTEN ERGEBNISSES

In dieser Arbeit wurde eine Methode zur differentiellen RNA Sequenzierung (dRNA-seq) angewendet, welche eine enzymatische Anreicherung von Primärtranskripten verwendet, um das primäre Transkriptom von aufgereinigten RB sowie EB der beiden Stämme *C. trachomatis* L2b und *C. pneumoniae* CWL029 zu bestimmen. Mit dieser dRNAseq-Technik ist es möglich, primäre Transkriptionsstartstellen (TSS) von annotierten Genen zu bestimmen, sowie neue Gene, wie kleine nicht-codierende RNAs, zu entdecken. Diese Kartierung der TSS ist mit einer Auflösung bis zu einem Nukleotid möglich. Durch Hochdurchsatzsequenzierung wurden experimentell detaillierte Transkriptomkarten der beiden Chlamydien-Spezies geschaffen. Für *C. trachomatis* konnten 363 TSS von annotierten Genen bestimmt werden (Albrecht et al., 2010). Durch semiquantitative Analyse der kartierten cDNA Sequenzen wurden 84 in EB und RB differentiell exprimierte Gene bestimmt. Weiterhin konnten 42 genom- und eine plasmidkodierte, kleine nicht-kodierende RNA entdeckt und teilweise experimentell durch Northern Blotting verifiziert werden. Die genomkodierte nichtkodierende RNA Ctr0332 war eine der am stärksten exprimierten und differentiell exprimierten Transkripte, was auf eine Rolle im Entwicklungszyklus von *C. trachomatis* hindeutet. Bei der Analyse von *C. pneumoniae* wurden 565 TSS sowie 246 polycistronische Transkripte bestimmt (Albrecht et al., 2011). Außerdem wurde eine Vielzahl an Transkripten in intergenischen Regionen und antisense zu annotierten Genen entdeckt, die potentielle nichtkodierende RNAs darstellen. Diese wurden teilweise durch Northern Blotting verifiziert. Durch diesen experimentellen Ansatz der Hochdurchsatzsequenzierung

wurde für insgesamt 861 der 1074 annotierten Gene (entspricht 80%) von *C. pneumoniae* entweder eine primäre TSS oder eine Zugehörigkeit zu einem Operon identifiziert. Basierend auf diesem Transkriptom-Datensatz konnte die Annotation für eine Reihe von Genen korrigiert werden. Eine Analyse von differentiell regulierten Genen zeigte, dass über 50 Gene in EB angereichert sind, die meisten mit völlig unbekannter Funktion. Durch die experimentelle Bestimmung der TSS war es möglich, die Promotorsequenzen von 531 proteinkodierenden Genen zu analysieren. Diese Analyse zeigte, dass die Mehrheit der Gene durch den Standardsigmafaktor erkannt wird und es bei den untersuchten Chlamydien keine stark konservierten Promotormotive für alternative Sigmafaktoren gibt. Dieser detaillierte Datensatz der primären TSS sowie der Operonstrukturen leistet einen fundamentalen Beitrag zum Verständnis der Genorganisation und -funktion dieser wichtigen Humanpathogen. Er bildet eine wertvolle Grundlage für zukünftige Untersuchungen der Genkontrolle. Dies ist die erste Arbeit, welche die differentiellen Transkriptome von aufgereinigten EB und RB untersucht hat. Die Ergebnisse können helfen den einzigartigen und bisher größtenteils unbekanntem Konversionsmechanismus zwischen den beiden Entwicklungszyklusformen zu verstehen.

Für die Untersuchung der ncRNAs in Gonokokken wurde ein Transkriptionsprofil des Genoms erstellt (Remmele et al., 2014). Anschließend wurden die Transkripte nach der Kodierung für ncRNAs durchsucht. Kleine RNAs sind höchstens 300 Nucleotide lang, monocistronisch und haben keinen Translationsstart wie offene Leseraster (open reading frame, ORF). Potentielle ncRNAs wurden durchnummeriert. Nach dieser Vorarbeit war die Lage der ncRNAs im Genom bekannt. Die ncRNAs wurde für weitere Untersuchungen mutiert. Dafür wurde das ncRNA-Gen durch eine Kanamycin-Kassette ersetzt. Mit diesen Deletionsmutanten wurde mittels Microarray und quantitativer RT-PCR (qRT-PCR) nach Veränderungen in der mRNA-Menge gesucht, die einen Hinweis auf eine Proteinregulation durch die ncRNA geben.

Weiterhin wurde eine Transposon-Mutantenbibliothek von über 110.000 Insertionen etabliert, die theoretisch alle 20 bp eine Transposoninsertion aufweist. Diese konnte vollständig sequenziert und alle Transposonintegrationsstellen kartiert werden. Dank der hohen Dichte an Integrationen konnten essentielle Gene aufgrund fehlender Transposonintegrationsstellen bestimmt werden. Überraschenderweise gehören zahlreiche Gene mit unbekannter Funktion zu den essentiellen Genen (Remmele et al., 2014). Diese essentielle Gene sind grundsätzlich interessante Targets für die Entwicklung von Anti-Infektiva, die angesichts der zunehmenden weltweiten Verbreitung von multiresistenten Gonokokkenstämmen an Bedeutung gewinnen werden.

Mithilfe der komplexen Tn-Library identifizierten wir inzwischen weitere Kandidatengene für Adhärenz und Invasion von Gonokokken. Diese Gene charakterisieren wir zurzeit um Faktoren, die ursächlich an der Invasion von Gonokokken beteiligt sind von allgemeinen Fitnessgenen zu unterscheiden. Über die Aufklärung der Invasionsvorgänge hoffen wir therapeutische Interventionsmöglichkeiten zur Bekämpfung der schweren disseminierenden Gonokokkeninfektion entwickeln zu können.

II.2. DES VORAUSSICHTLICHEN NUTZENS, INSBESONDERE DER VERWERTBARKEIT DES ERGEBNISSES IM SINNE DES FORTGESCHRIEBENEN VERWERTUNGSPLANES

Wie im Verwertungsplan bei Antragstellung bereits angekündigt sollten wissenschaftlich interessante Ergebnisse erzielt und zur Veröffentlichung vorbereitet werden. Dieses Ziel konnte erreicht werden und die Ergebnisse sind bereits veröffentlicht worden. Die wirtschaftliche Verwertung des Projektes könnte in der weiteren Entwicklung von Targets von Gonokokken oder Chlamydien als Zielstrukturen für Antiinfektiva liegen. Multiresistente Gonokokken verbreiteten sich in den letzten Jahren rasant, zudem nimmt die Anzahl der Infektionen weltweit sehr stark zu. Diese beunruhigende Entwicklung hat die WHO kürzlich dazu veranlasst, einen Aktionsplan mit Gegenmaßnahmen zu veröffentlichen, um der sich abzeichnenden dramatischen Situation zu begegnen (<http://www.who.int/en>). Mithilfe der im Projekt erstellten komplexen Transposonbibliothek und der Identifizierung der integrierten Transposons über Hochdurchsatzsequenzierung konnten wir essentielle Gene der Gonokokken identifizieren. Diese Gene sind potentielle Targets für die Entwicklung von Antiinfektiva.

Die im Projekt erzielten Daten wurden zudem bei der *International Pathogenic Neisseria Conference*, die u.a. vom Antragsteller organisiert wurde, vorgestellt. Diese Konferenz wurde im September 2012 zum ersten Mal in Würzburg durchgeführt und wurde von den international wichtigsten Neisserienforschern besucht. Mit einem Vortrag und zwei Postern konnten wir das Projekt dort umfänglich präsentieren.

II.3. DES WÄHREND DER DURCHFÜHRUNG DES VORHABENS DEM ZU BEKANNT GEWORDENEN FORTSCHRITTS AUF DEM GEBIET DES VORHABENS BEI ANDEREN STELLEN

Im Verlauf des Projektes wurden keine Ergebnisse unseres Projektes vorveröffentlicht.

II.4. DER ERFOLGTEN ODER GEPLANTEN VERÖFFENTLICHUNGEN DES ERGEBNISSES

Albrecht M., Sharma C.M., Reinhardt R., Vogel J., Rudel T., Deep sequencing-based discovery of the *Chlamydia trachomatis* transcriptome. *Nucleic Acids Res*, 38(3):868-877, 2010

Albrecht M, Sharma CM, Dittrich MT, Müller T, Reinhardt R, Vogel J, Rudel T., The transcriptional landscape of *Chlamydia pneumoniae*. *Genome Biol*, 12(10):R98, 2011 (Highly accessed paper (BioMed Central))

Remmele, C.W., Xian, Y., Albrecht, M., Faulstich, M., Fraunholz, M., Heinrichs, E., Dittrich, M.T., Müller, T., Reinhardt, R., Rudel, T., Transcriptional landscape and essential genes of *Neisseria gonorrhoeae*. *Nucleic Acids Res.*, in press

III. Erfolgskontrollbericht

Siehe Anlagen (nicht öffentlich)

IV. Kurzfassung des fachlichen Inhalts des Schlussberichts

Siehe Anlagen

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN geplant	2. Berichtsart Schlussbericht
3a. Titel des Berichts RNomics bakterieller Infektionen (Chlamydia, Neisseria)	
3b. Titel der Publikation	
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) Prof. Dr. Thomas Rudel	5. Abschlussdatum des Vorhabens Dezember 2013
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))	6. Veröffentlichungsdatum geplant
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Lehrstuhl für Mikrobiologie Biozentrum der Universität Würzburg Am Hubland 97074 Würzburg	7. Form der Publikation: Online- Broschüre, Artikel in Fachzeitschriften
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen ^{*)} 01GS08200
	11a. Seitenzahl Bericht 8
	11b. Seitenzahl Publikation
	12. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) Projektträger im Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V., Heinrich-Konen-Str. 1, 53227 Bonn	
18. Kurzfassung Das Ziel des Subprojektes V war die Identifizierung und Funktionsanalyse von ncRNAs des Wirtes und von obligat-intrazellulären Chlamydien und pathogenen Neisserien, die im Verlauf einer Infektion differentiell transkribiert werden. ncRNAs von infizierten kultivierten Zellen und tierischem Gewebe wurden durch Ultrahochparalleelsequenzanalyse (UHP-Seq) identifiziert und quantifiziert. Für ncRNAs, die an Infektionsprozessen beteiligt sind, identifizierten wir die Targetgene und untersuchten die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen im Detail. Infektionsrelevante ncRNAs des Wirtes und der medizinisch wichtigen Chlamydien und Neisserien bieten neuartige Ansatzpunkte für die Entwicklung antibakterieller Therapien. Unsere Ergebnisse ergaben zahlreiche Hinweise, dass Chlamydien- und Herpesvirusinfektionen für die Entstehung von Krankheiten eine wesentliche Rolle spielen. Die Koinfektion mit Herpesvirus induziert bei Chlamydien ein bislang unbekanntes Persistenzprogramm, das die Bakterien über lange Zeiträume in einem vitalen, aber nicht replikationsfähigen Zustand hält. Wir haben die im Rahmen des laufenden Projektes etablierten Transkriptomanalysen für Chlamydien auf die Koinfektionen von Chlamydien und Herpesviren ausgeweitet, um die medizinisch wichtigen molekularen Vorgänge besser zu verstehen.	
19. Schlagwörter ncRNAs, Chlamydia, Neisseria, bakterielle Infektion	
20. Verlag	21. Preis

^{*)} Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN intended	2. Type of Report Final report
3a. Report Title RNomics of bacterial infections (Chlamydia Neisseria)	
3b. Title of Publication	
4a. Author(s) of the Report (Family Name, First Name(s)) Prof. Dr. Thomas Rudel	5. End of Project December 2013
4b. Author(s) of the Publication (Family Name, First Name(s))	6. Publication Date intended
8. Performing Organization(s) (Name, Address) Lehrstuhl für Mikrobiologie Biozentrum der Universität Würzburg Am Hubland 97074 Würzburg	7. Form of Publication online brochure, scientific articles
13. Sponsoring Agency (Name, Address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	9. Originator's Report No.
16. Supplementary Notes	10. Reference No. 01GS08200
17. Presented at (Title, Place, Date) Projekträger im Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V., Heinrich-Konen-Str. 1, 53227 Bonn	11a. No. of Pages Report 8
18. Abstract The aim of subproject 'RNomics in bacterial infections' was the identification and functional analysis of host and bacterial ncRNAs differentially transcribed upon infection with highly relevant bacterial pathogens, i.e. Chlamydia and Neisseria. Differentially expressed ncRNAs from infected cultured cells and animal tissues have been identified and quantified by ultra-high parallel sequence analysis. Candidate ncRNAs with promising functions in bacterial virulence have been disturbed in cultured cells and animals, and the outcome for the infection was monitored. Our results indicated that Chlamydia- and herpes virus infections are involved in the development of corresponding diseases. Co-infection with herpes virus induces in Chlamydia a so far unknown program of persistence that keeps bacteria in a vital status for a long time. In this period Chlamydia are not able to replicate. Within the framework of this project we have extended the analyses of Chlamydia transcriptomes to co-infections of Chlamydia and herpes virus, to improve the knowledge of medically important molecular processes.	11b. No. of Pages Publication
19. Keywords ncRNAs, Chlamydia, Neisseria, bacterial infection	12. No. of References
20. Publisher	14. No. of Tables
21. Price	15. No. of Figures