RCB0200 – Tópicos em Biotecnologia II

Vesículas Extracelulares como fator de virulência

Fausto Almeida

14.10.2020

Projeto de Pesquisa

1) Infecções Fúngicas

2) Vesículas Extracelulares

3) Comunicação Celular

4) Metodologia

5) Objetivos

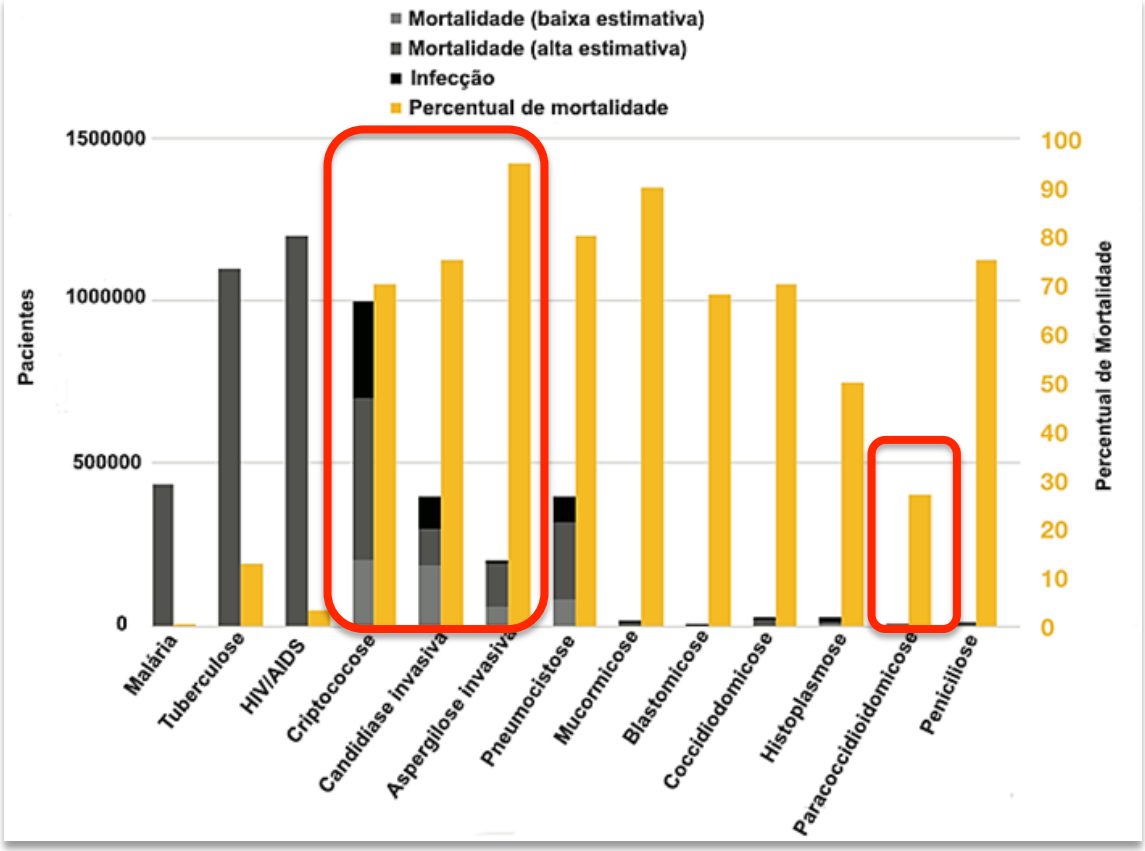
6) Colaborações

Principais fungos patogênicos

Fungo	Doença
Aspergillus spp.	Pneumonia aguda e crônica
Candida spp.	Infecções disseminadas Mucocutânea e Vaginites
Cryptococcus spp.	Pneumonia e Meningite

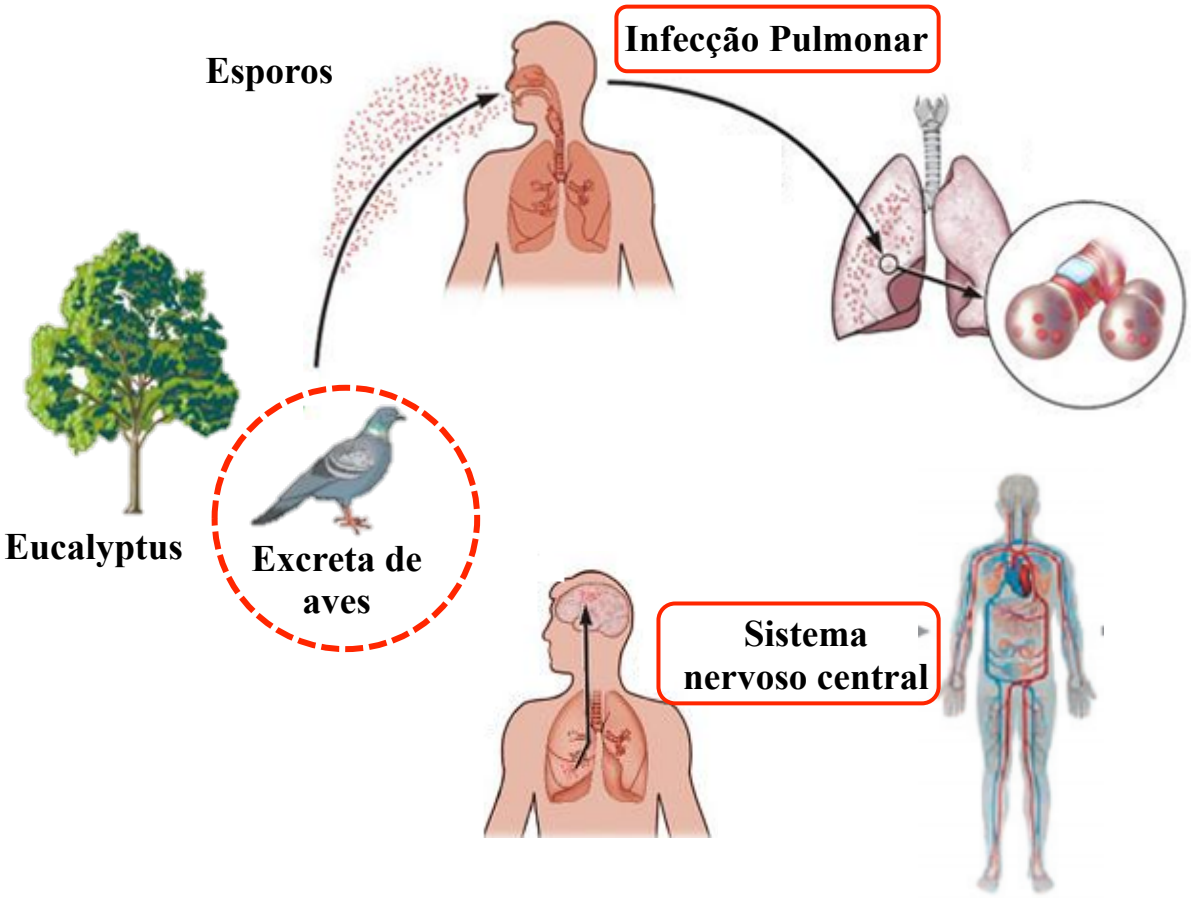
- 2 milhões mortes por ano
- Aumento da incidência e prevalência
- Uso de antifúngicos

Almeida *et al.*, 2019. Front Microbiol



Shourian & Qureshi. 2019. Front Immunol

Cryptococcus neoformans



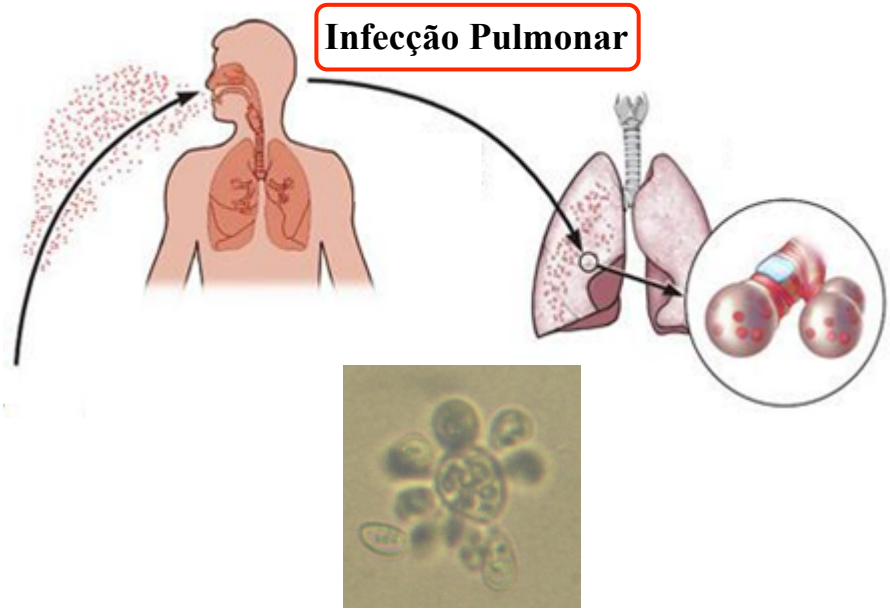
Adaptado de Raksha *et al*., 2013.

Infecções fúngicas

Paracoccidioides brasiliensis

Esporos

26 °C

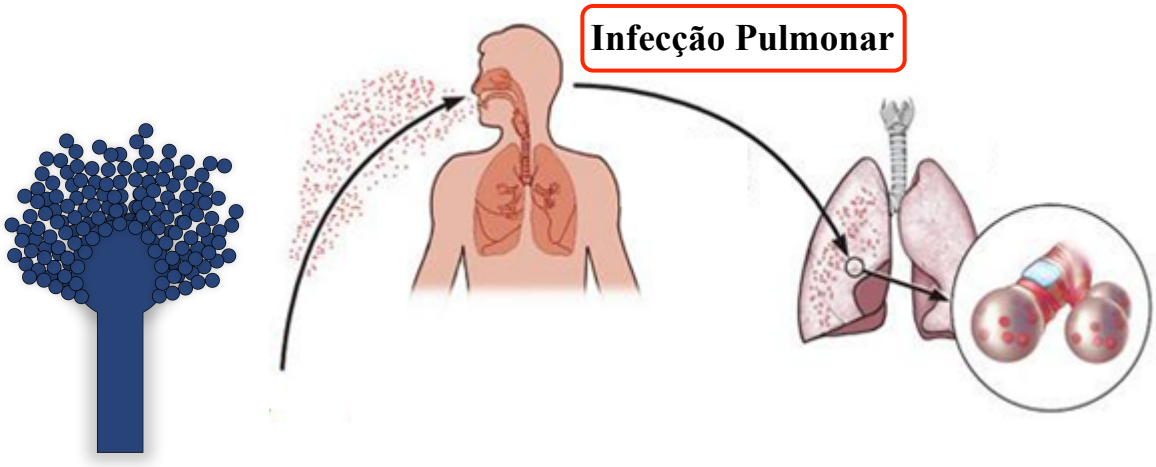


37 °C

Adaptado de Raksha *et al.*, 2013 e Martinez, 2017

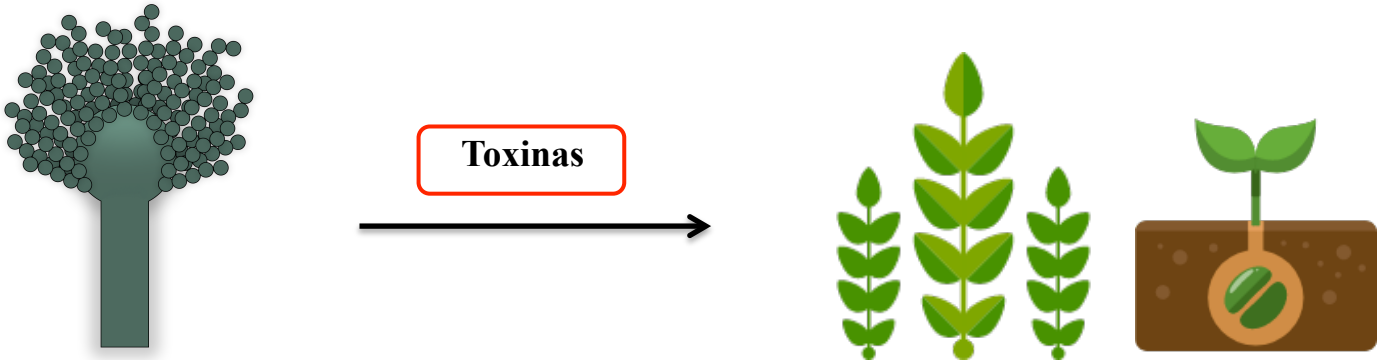
Infecções fúngicas

Aspergillus fumigatus



Adaptado de Raksha *et al*., 2013
e Almeida F *et al*., 2019

Aspergillus flavus



Projeto de Pesquisa

1) Infecções Fúngicas

2) Vesículas Extracelulares

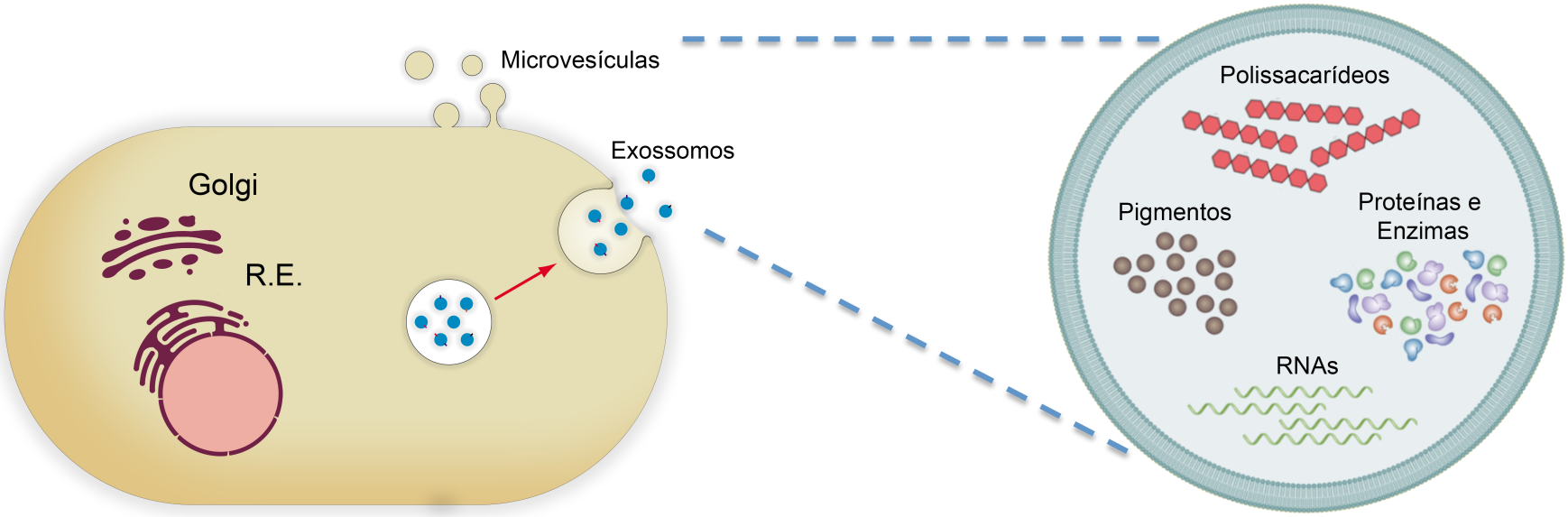
3) Comunicação Celular

4) Metodologia

5) Objetivos

6) Colaborações

Vesículas extracelulares

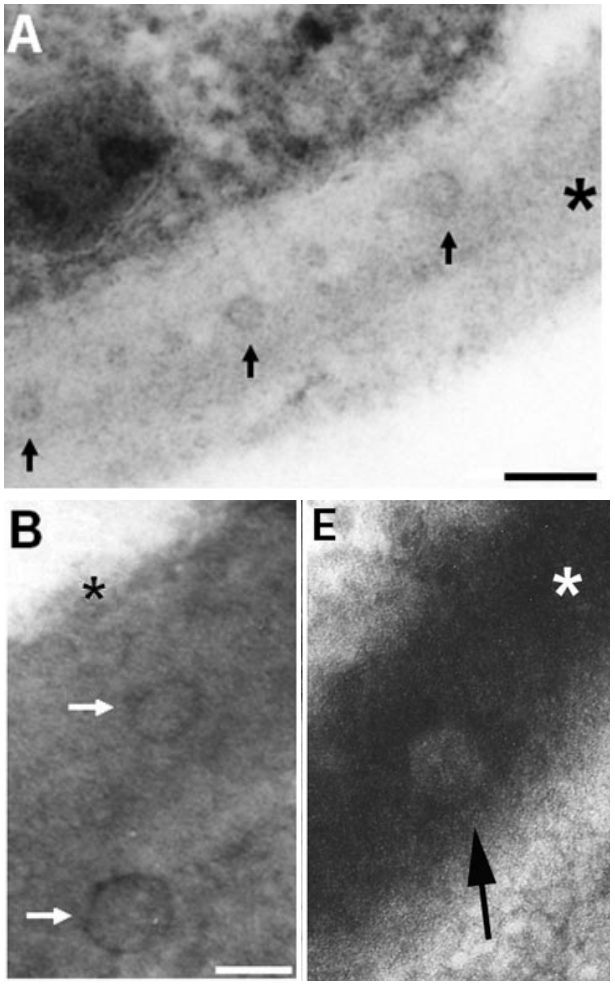


Adaptado de Raposo G, 2013. J Cell Biol

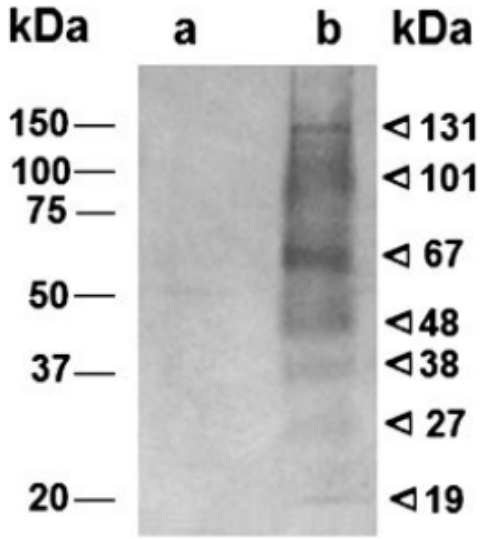
Adaptado de Joffe *et al.*, 2016. mSphere

- Encontradas em todos os reinos;
- Processos fisiológicos e patológicos;
- Transporta vários tipos de moléculas;
- 30 e 1000 ηm.

Cryptococcus neoformans

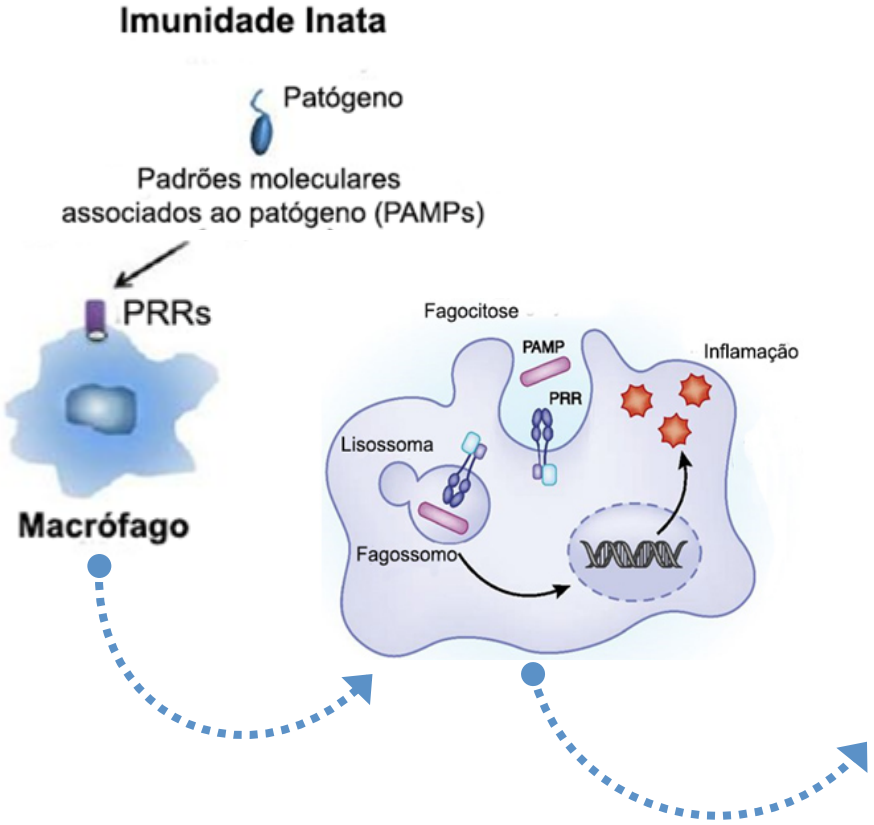


Rodrigues *et al*., 2007. Eukaryot Cell

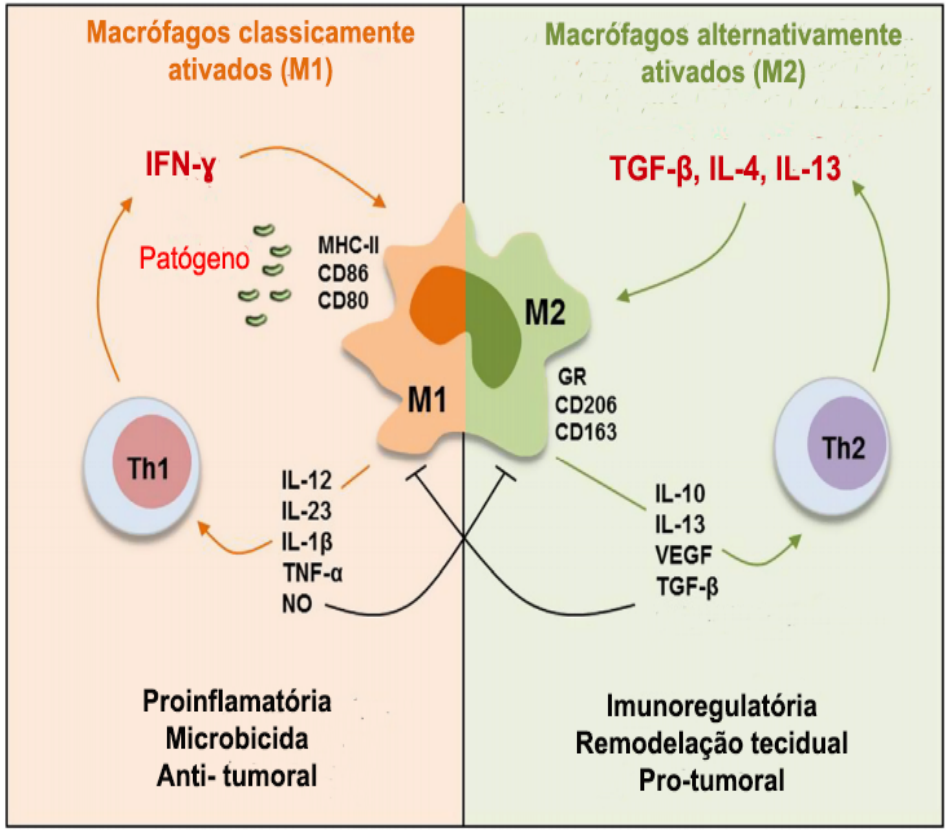


Rodrigues *et al*., 2008. Eukaryot Cell

VEs fúngicas como imunomoduladores



Adaptado de Hato e Dagher (2015)



Adaptado de Italiani P, Topfer E, Borachi D (2016)

VEs fúngicas como imunomoduladores

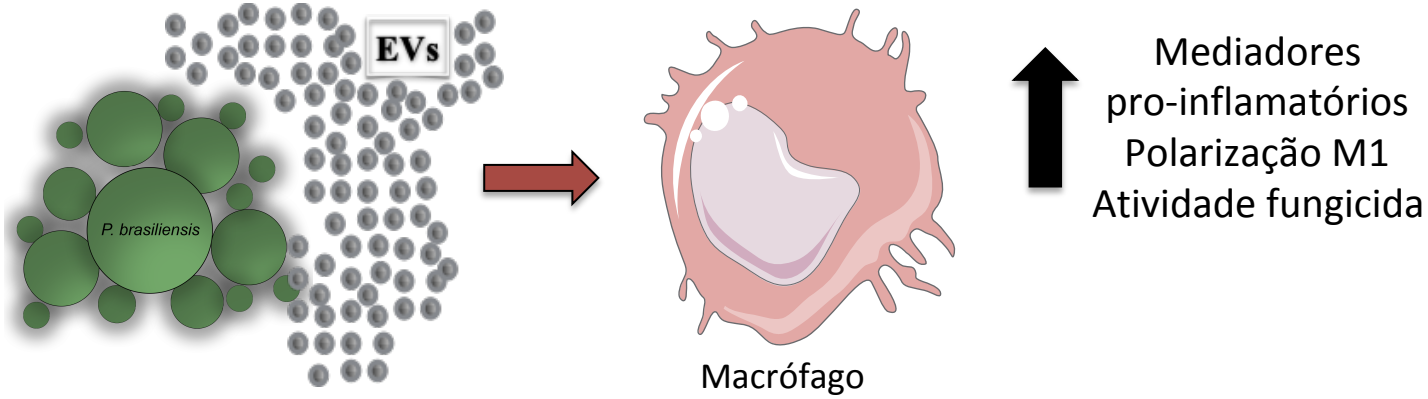
SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Extracellular vesicles from *Paracoccidioides brasiliensis* induced M1 polarization *in vitro*

Received: 13 June 2016
Accepted: 07 October 2016

Thiago Aparecido da Silva[1], Maria Cristina Roque-Barreira[1], Arturo Casadevall[2] & Fausto Almeida[1]



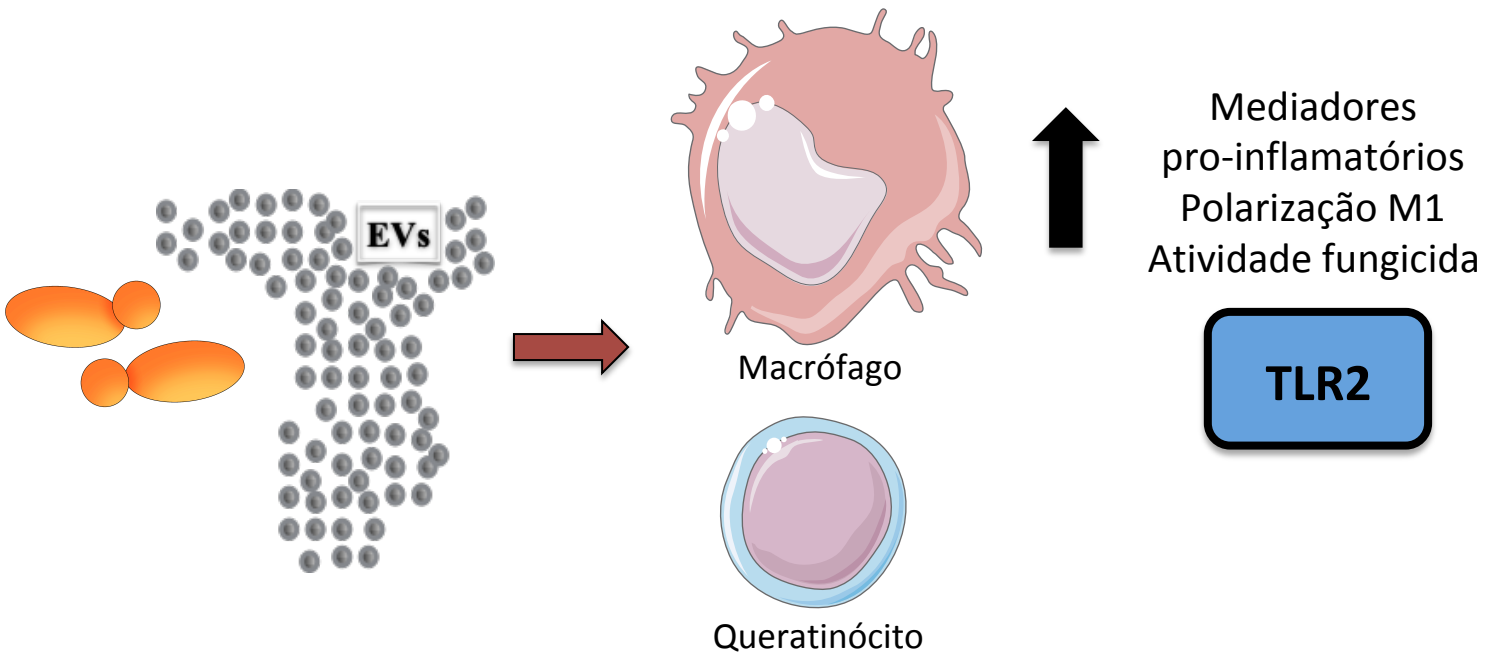
VEs fúngicas como imunomoduladores

frontiers in Immunology

ORIGINAL RESEARCH
published: 09 October 2018
doi: 10.3389/fimmu.2018.02343

Extracellular Vesicles From the Dermatophyte *Trichophyton interdigitale* Modulate Macrophage and Keratinocyte Functions

*Tamires Aparecida Bitencourt[1], Caroline Patini Rezende[2], Natália Renault Quaresemin[1], Pedro Moreno[2], Otavio Hatanaka[2], Antonio Rossi[1], Nilce Maria Martinez-Rossi[1] and Fausto Almeida[2]**



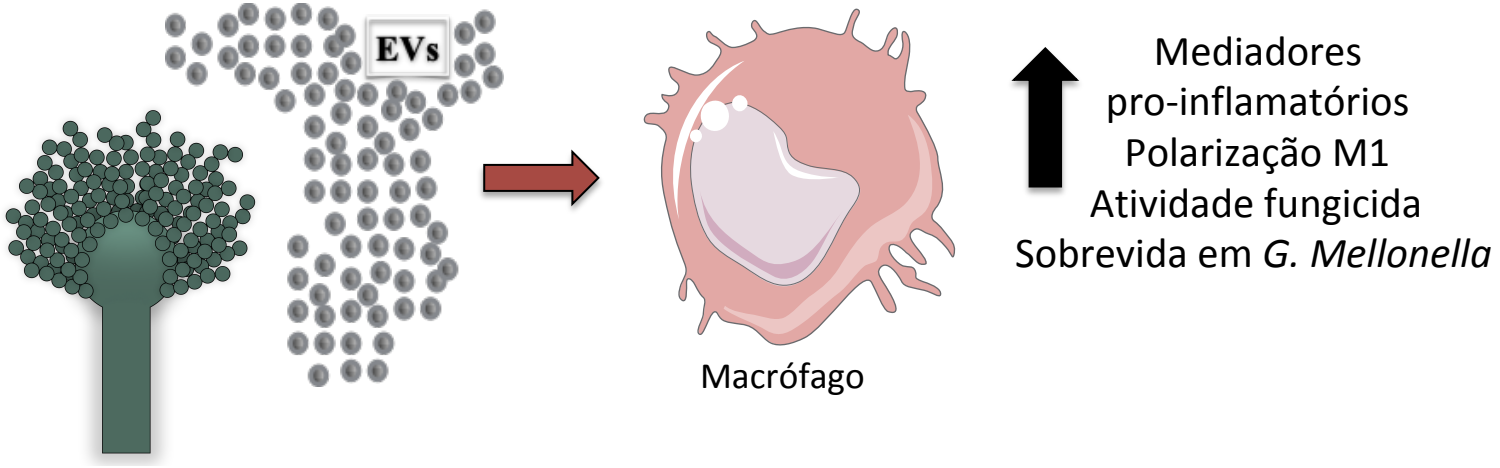
VEs fúngicas como imunomoduladores

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | mSphere®

RESEARCH ARTICLE
Host-Microbe Biology

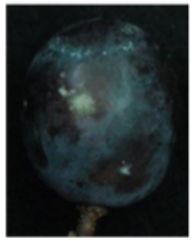
Extracellular Vesicles from *Aspergillus flavus* Induce M1 Polarization *In Vitro*

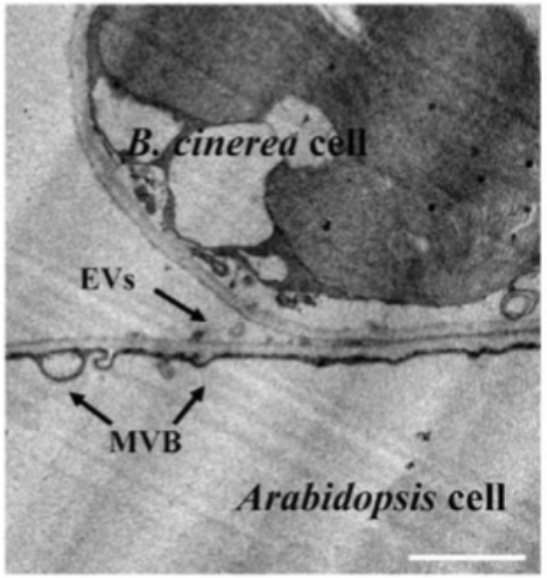
Verônica S. Brauer,[a] André M. Pessoni,[a] Tamires A. Bitencourt,[a] Renato G. de Paula,[b] Liliana de Oliveira Rocha,[c] Gustavo H. Goldman,[d] Fausto Almeida[a]

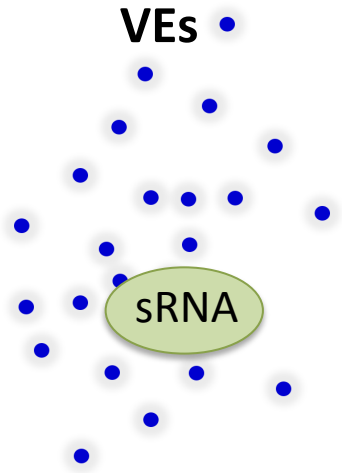


VEs na infecção fúngica









Plantas

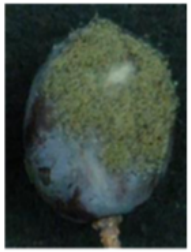
Botrytis e *Verticillium* spp.

sRNA

Tomato

Strawberry

Grape



Wang *et al*., 2016. Nature plants
Cai *et al*., 2018. Science

VEs na infecção fúngica

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-017-02126-7 OPEN

Galectin-3 impacts *Cryptococcus neoformans* infection through direct antifungal effects

Fausto Almeida[1], Julie M. Wolf[2], Thiago Aparecido da Silva[3], Carlos M. DeLeon-Rodriguez[2], Caroline Patini Rezende[1], André Moreira Pessoni[1], Fabrício Freitas Fernandes[3], Rafael Silva-Rocha[3], Roberto Martinez[4], Marcio L. Rodrigues[5,6], Maria Cristina Roque-Barreira[3] & Arturo Casadevall[7]

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | mSphere®

RESEARCH ARTICLE
Host-Microbe Biology

Galectin-3 Inhibits *Paracoccidioides brasiliensis* Growth and Impacts Paracoccidioidomycosis through Multiple Mechanisms

Otavio Hatanaka,[a] Caroline Patini Rezende,[a] Pedro Moreno,[a] Fabrício Freitas Fernandes,[b] Patrícia Kellen Martins Oliveira Brito,[b] Roberto Martinez,[c] Carolina Coelho,[d,e] Maria Cristina Roque-Barreira,[b] Arturo Casadevall,[f] Fausto Almeida[a]

Projeto de Pesquisa

1) Infecções Fúngicas

2) Vesículas Extracelulares

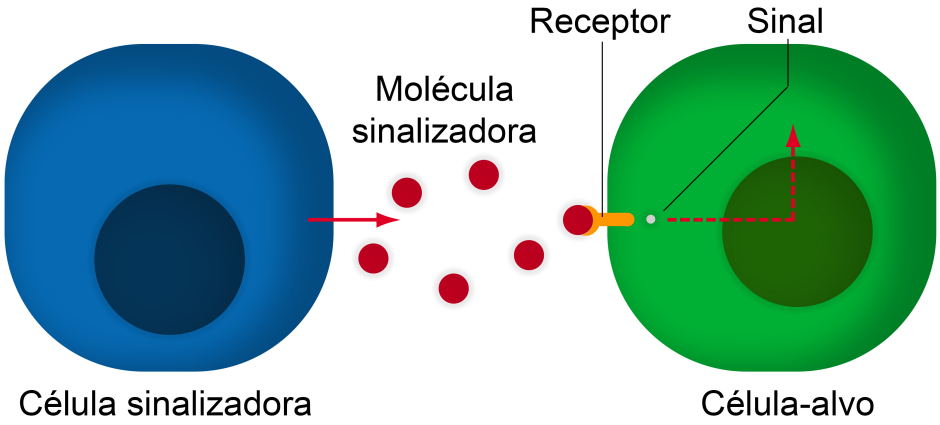
3) Comunicação Celular

4) Metodologia

5) Objetivos

6) Colaborações

Comunicação Celular

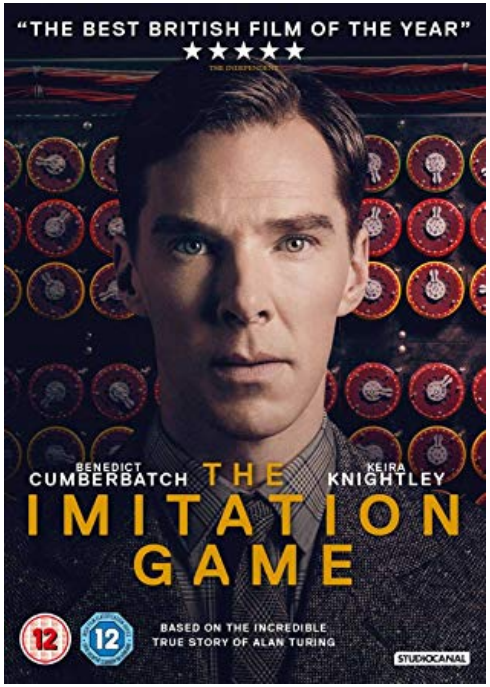


- Proliferar, diferenciar, migrar e manter seu estado funcional
- Peptídeos, proteínas, biomoléculas, polissacarídeos, RNA e DNA

Alan Turing

1912 - 1954

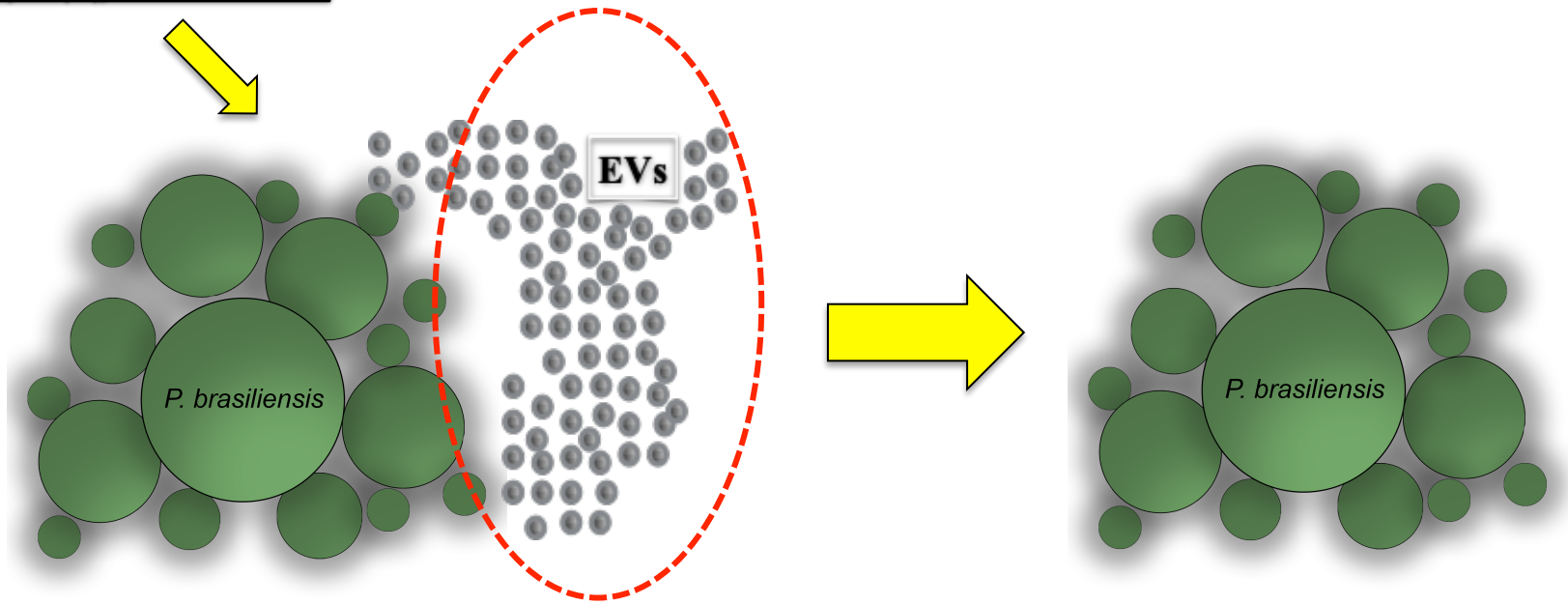
- Matemático, criptoanalista e cientista da computação britânico.



"We can only see a short distance ahead, but we can see a plenty there that needs to be done."

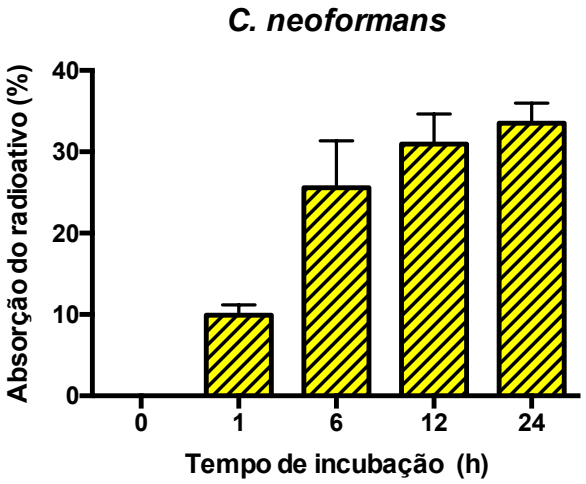
VEs fúngicas na Comunicação Celular?

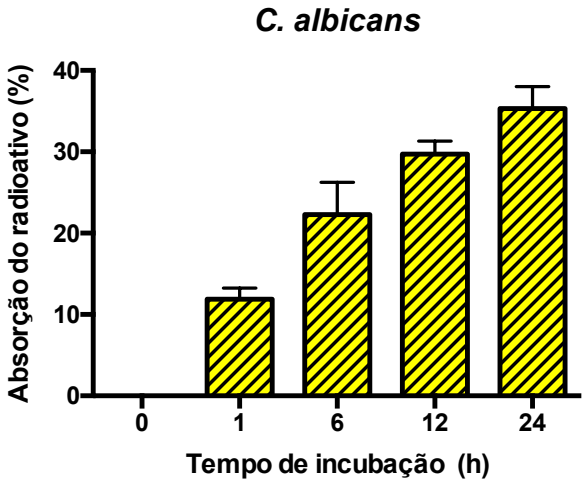
^{14}C - ác. palmítico

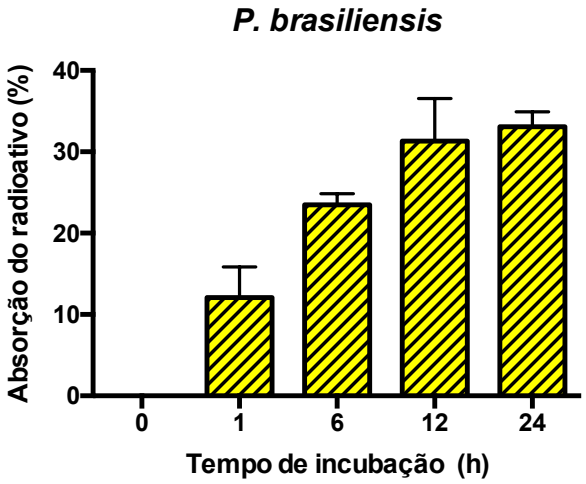


- *Paracoccidioides brasiliensis*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Candida albicans*
- *Aspergillus fumgigatus*

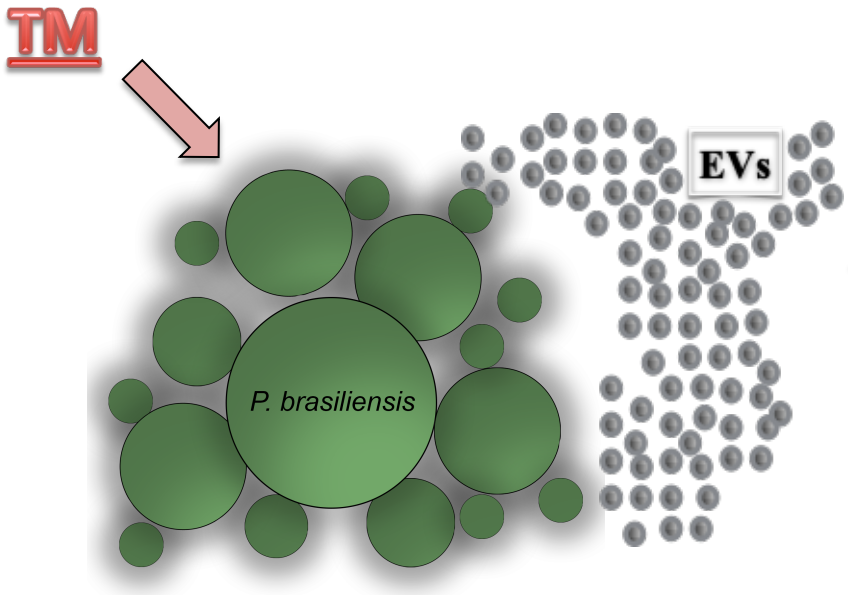
VEs fúngicas na Comunicação Celular?







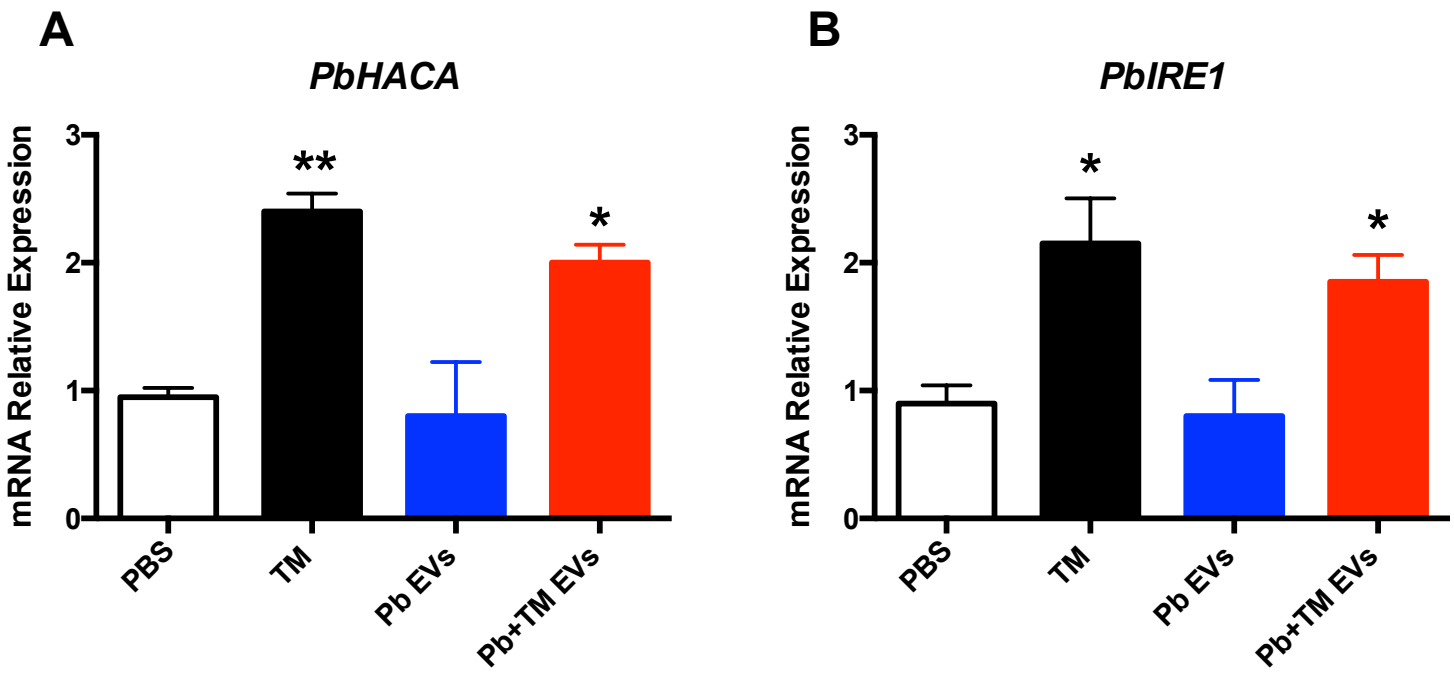
VEs fúngicas na Comunicação Celular?



Estresse no RE
PbHACA
PBIRE1

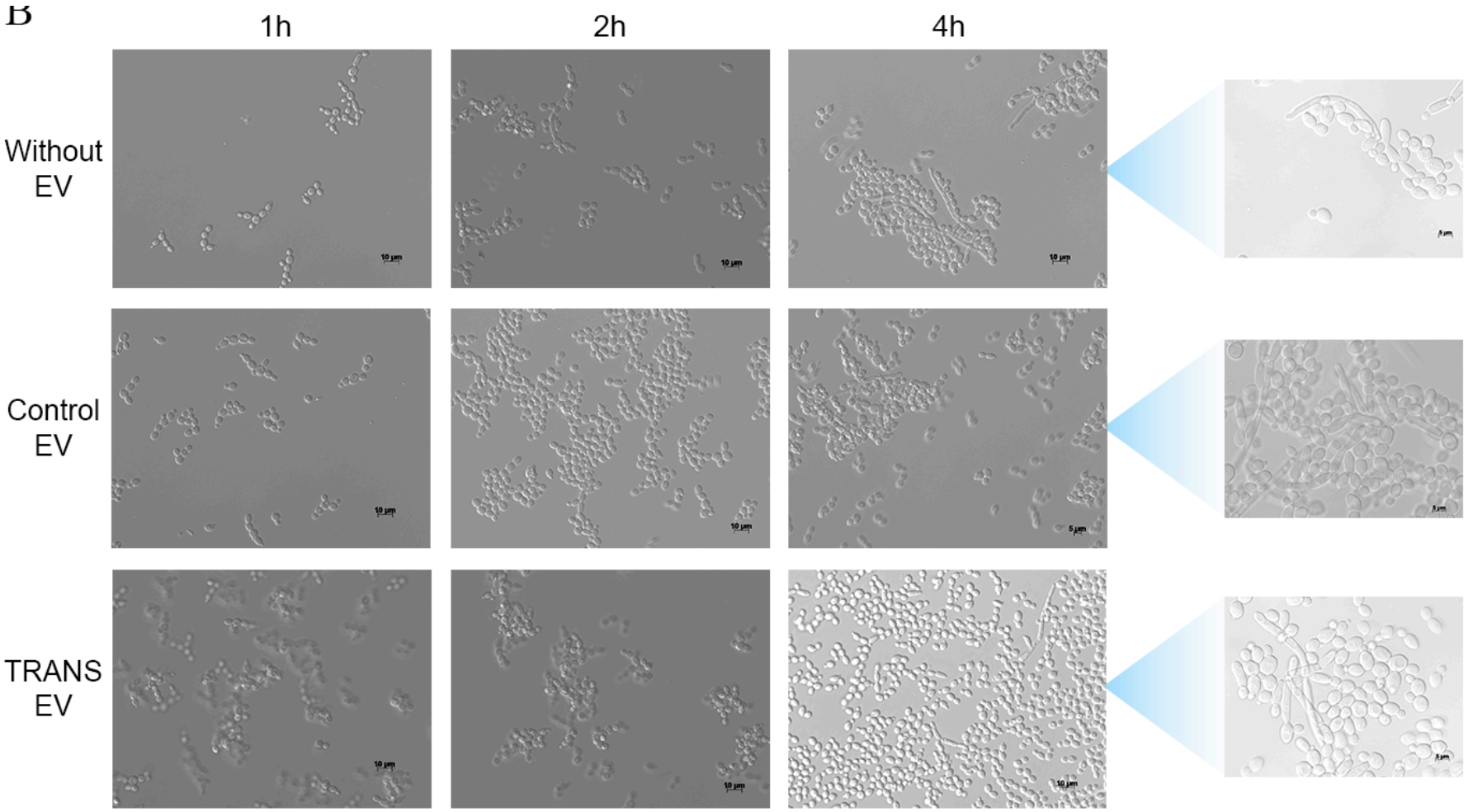
Almeida *et al*., 2011. Plos One
Almeida *et al*., 2014. Yeast
Almeida *et al*., 2016. Curr Genomics

Comunicação celular

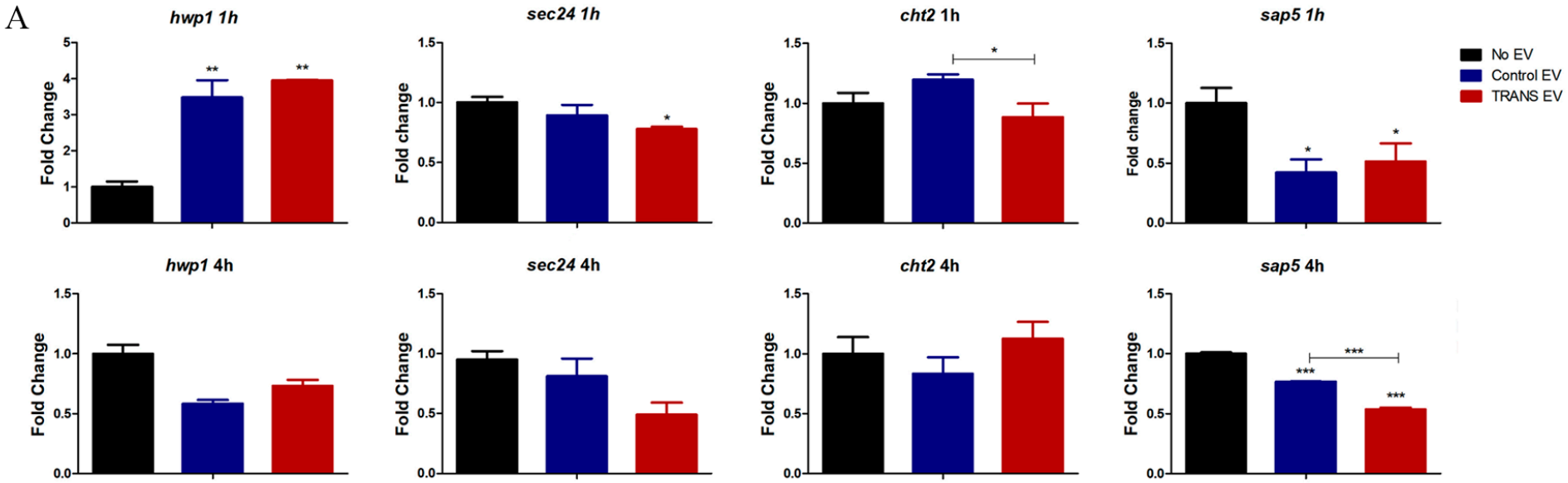


Candida albicans

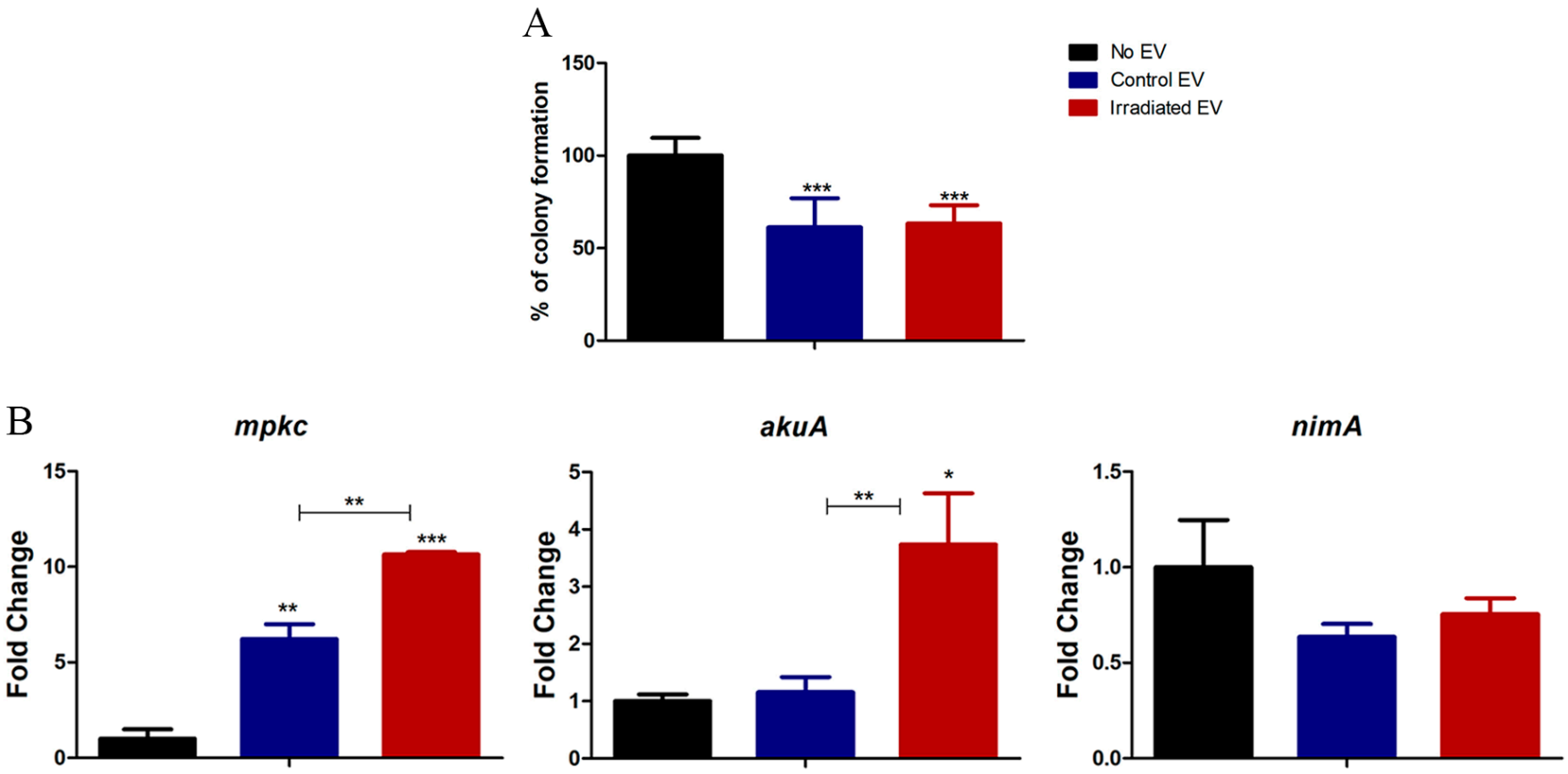
Levedura → Hifa



Candida albicans

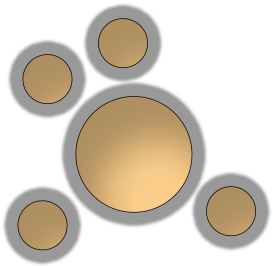


Aspergillus fumigatus

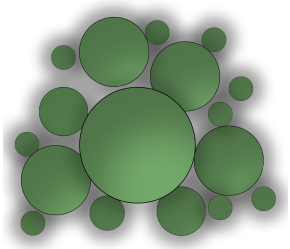


DNA damage
Oxidative stress
Cellular cycle

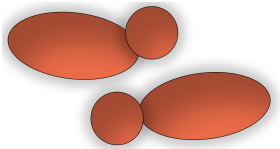
EVs EM PACIENTES



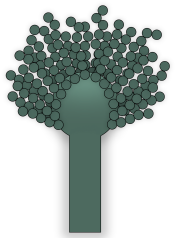
Cryptococcus



Paracoccidioides



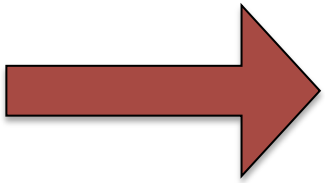
Candida

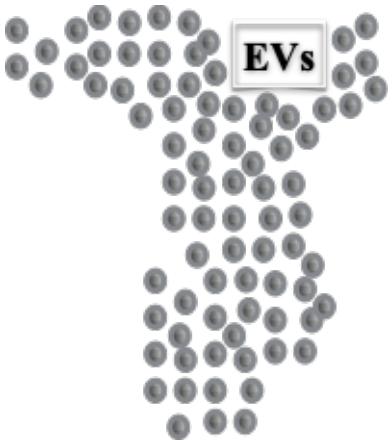


Aspergillus

Soro e Urina

HC FMRP/USP

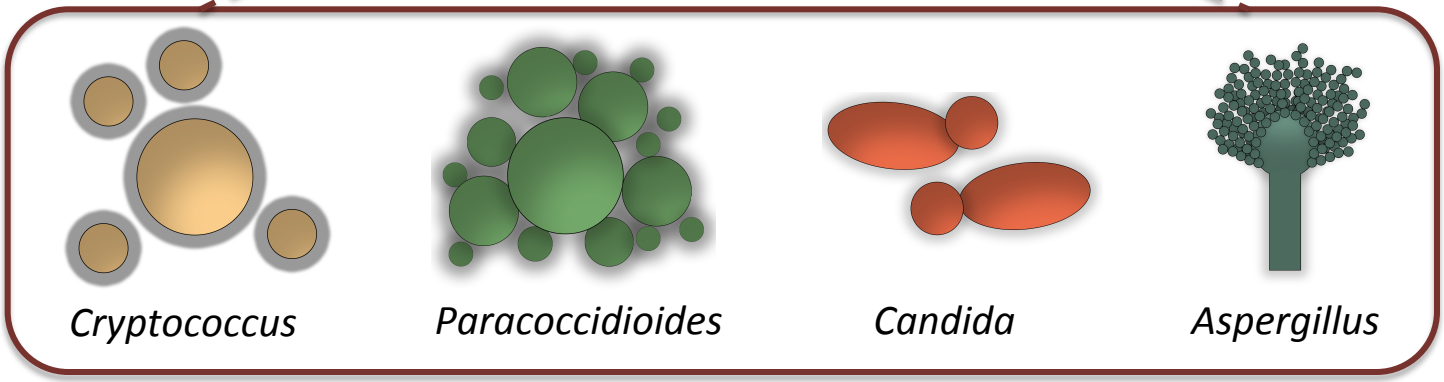




Perfil de resposta imune

Linha de Pesquisa

INFECÇÕES FÚNGICAS



REGULAÇÃO DOS PROCESSOS BIOLÓGICOS

GLICOBIOLOGIA | **BIOQUÍMICA** | **RESPOSTA IMUNE**

Novos alvos terapêuticos

Linha de Pesquisa

cells

MDPI

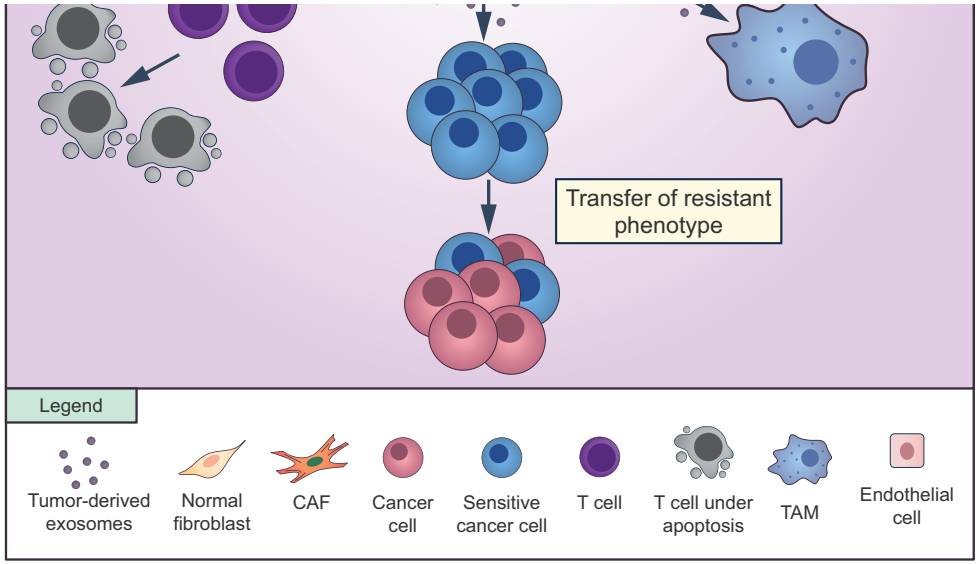
Review

Role of Exosomal miRNAs and the Tumor Microenvironment in Drug Resistance

Patrick Santos and Fausto Almeida *

Department of Biochemistry and Immunology, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, 3900 Bandeirantes Avenue, São Paulo, SP 14049-900, Brazil; patricksantos@usp.br

* Correspondence: fbralmeida@usp.br; Tel.: +55-16-3315-3066



Projeto de Pesquisa

1) Infecções Fúngicas

2) Vesículas Extracelulares

3) Comunicação Celular

4) Metodologia

5) Objetivos

6) Colaborações

Objetivos de Curto e Médio Prazo

Avaliar a produção e composição de VEs;

Estudar o potencial imunomodulador de VEs;

Estudar o papel de moléculas específicas no processo de infecção.

Objetivos de Médio e Longo Prazo

Subprojeto 1: Investigar novos papeis de VEs fúngicas na fisiologia e patogênese celular

Subprojeto 2: Investigar os papeis de VEs fúngicas na comunicação celular

Subprojeto 3: Identificar moléculas do hospedeiro envolvidas na internalização de VEs

Objetivos de Médio e Longo Prazo

Subprojeto 1: Investigar novos papeis de VEs na fisiologia e patogênese celular

VEs exercem papeis cruciais na fisiologia e patogênese celular?

- Comparar com outros estudos e analisar a virulência fúngica

Prof. Dr. Joshua Nosanchuck
(Albert Einstein College of Medicine of New York)

Prof. Dr. Marcio Rodrigues
(FIOCRUZ / UFRJ)

Objetivos de Médio e Longo Prazo

Subprojeto 2: Investigar os papeis das VEs na comunicação celular

VEs são cruciais na comunicação celular?

- Dissecar as interações responsáveis pelo transporte bidirecional de VEs fúngicas

Prof. Dr. Arturo Casadevall
(Johns Hopkins University)

Prof. Dr. Marcio Rodrigues
(FIOCRUZ / UFRJ)

Subprojeto 3: Identificar moléculas envolvidas na internalização de VEs

VEs modulam a resposta do hospedeiro?

- Estudar interações das VEs com diferentes células do hospedeiro

Prof. Dra Carolina Coelho
(University of Exeter and
University of Aberdeen)

↓

Diferentes linhagens celulares

Projeto de Pesquisa

1) Infecções Fúngicas

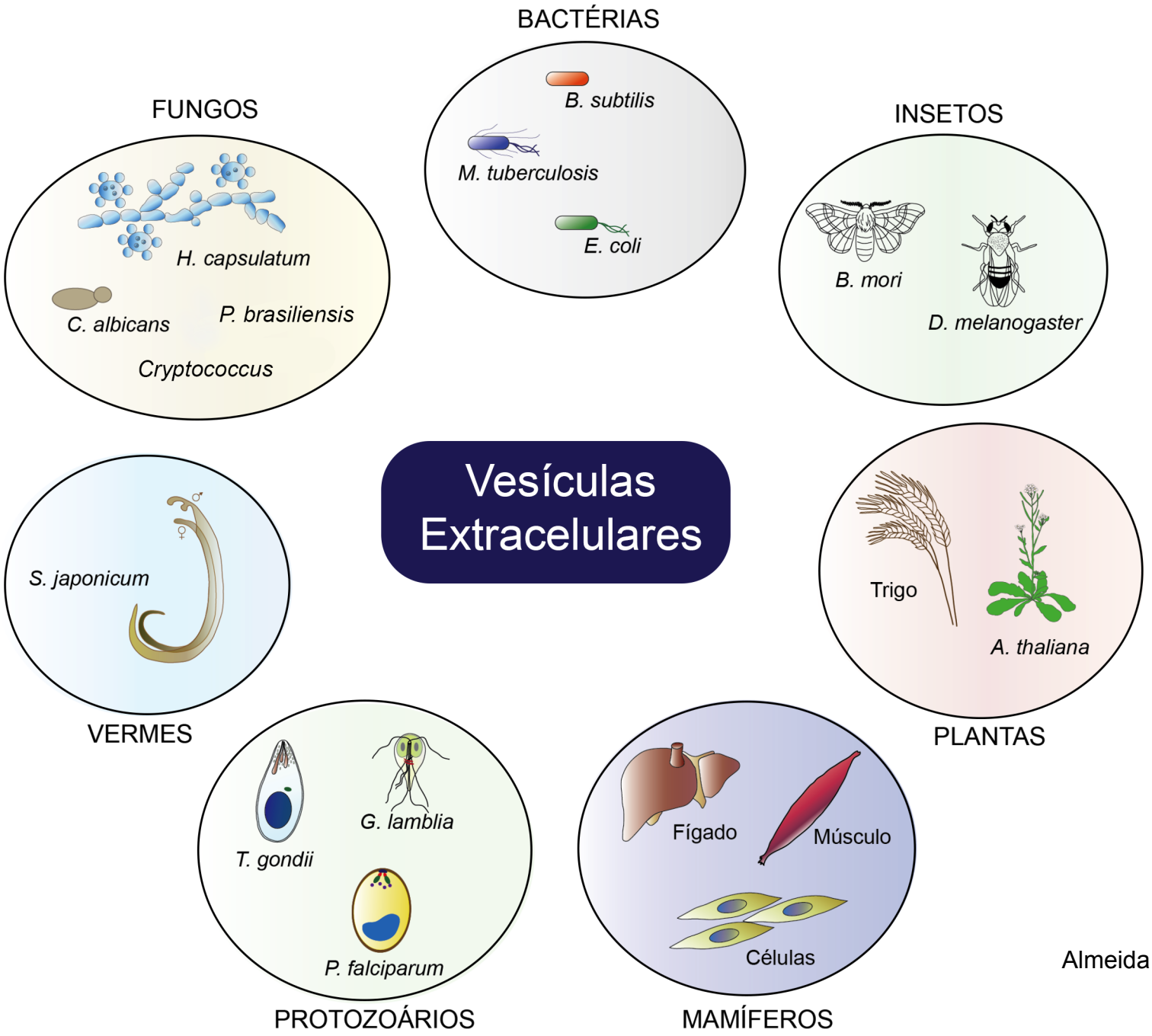
2) Vesículas Extracelulares

3) Comunicação Celular

4) Metodologia

5) Objetivos

6) Colaborações


BACTÉRIAS
B. subtilis
M. tuberculosis
E. coli
FUNGOS
H. capsulatum
C. albicans
P. brasiliensis
Cryptococcus
INSETOS
B. mori
D. melanogaster
Vesículas Extracelulares
S. japonicum
VERMES
Trigo
A. thaliana
PLANTAS
G. lamblia
T. gondii
P. falciparum
PROTOZOÁRIOS
Fígado
Músculo
Células
MAMÍFEROS

Almeida F

VEs produzidas por bactérias

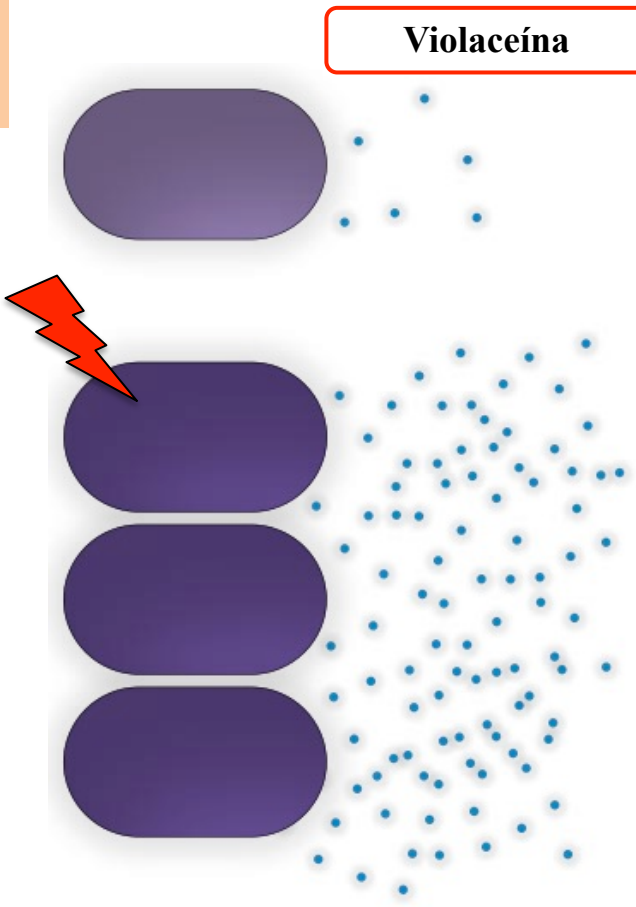
- Dr. José Neto (FMRP-USP)

Chromobacterium violaceum

- Dr. Marcelo Brocchi (UNICAMP)

Salmonella typhimurium

klebsiella pneumoniae

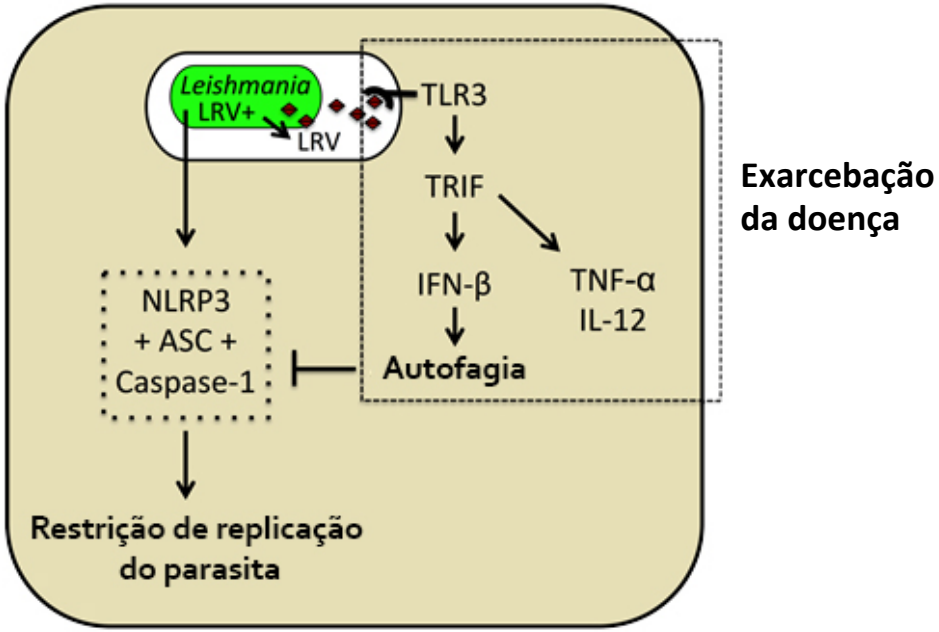


Virulência

Mecanismos envolvidos?

Batista *et al*., 2020. Environ Microbiol.

VEs produzidas por *Leishmania*



- Dr. Dario Zamboni (FMRP-USP)

***Leishmania (Viannia) guyanensis* – Vírus de RNA**

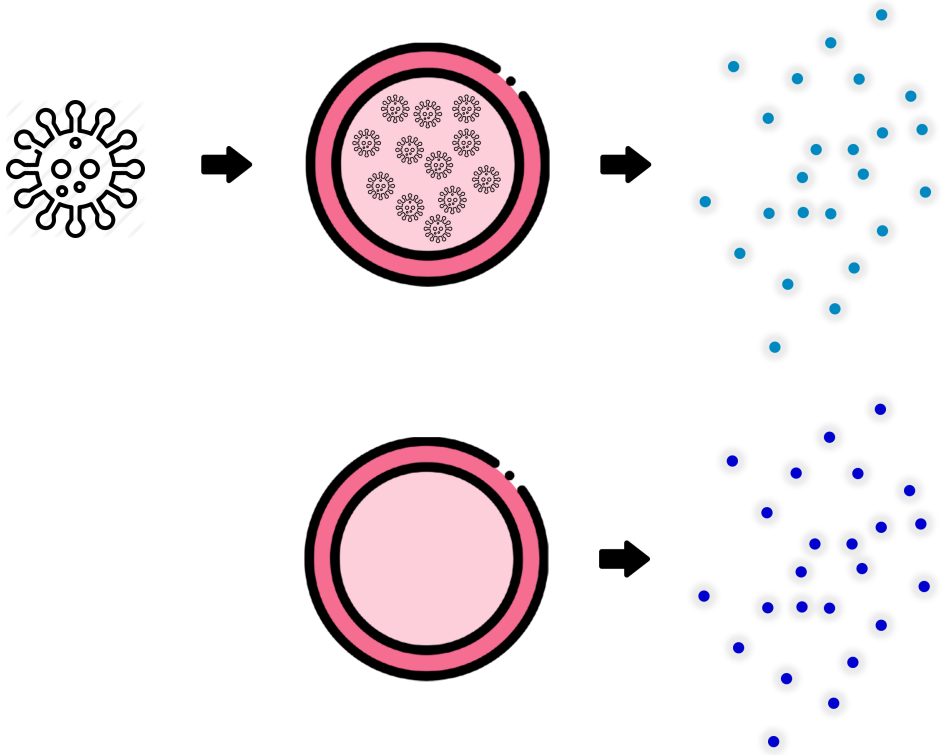
Carvalho *et al.*, 2019. Nature Commun.

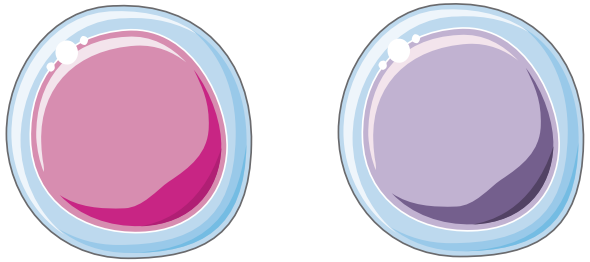
VEs produzidas por ZIKV e CHIKV

- Dr. João Santana (FMRP-USP)

Zika virus

Chikingunya virus





C57BL/6

IFNAR$^{-/-}$

Imunomodulação

Mecanismos envolvidos?

VEs produzidas por mamíferos

- Dr. Fernando Cunha (FMRP-USP)

Artrite

- VEs fluido sinovial
Pacientes e indivíduos saudáveis

- VEs murinas
fumantes e não fumantes

Imunomodulação

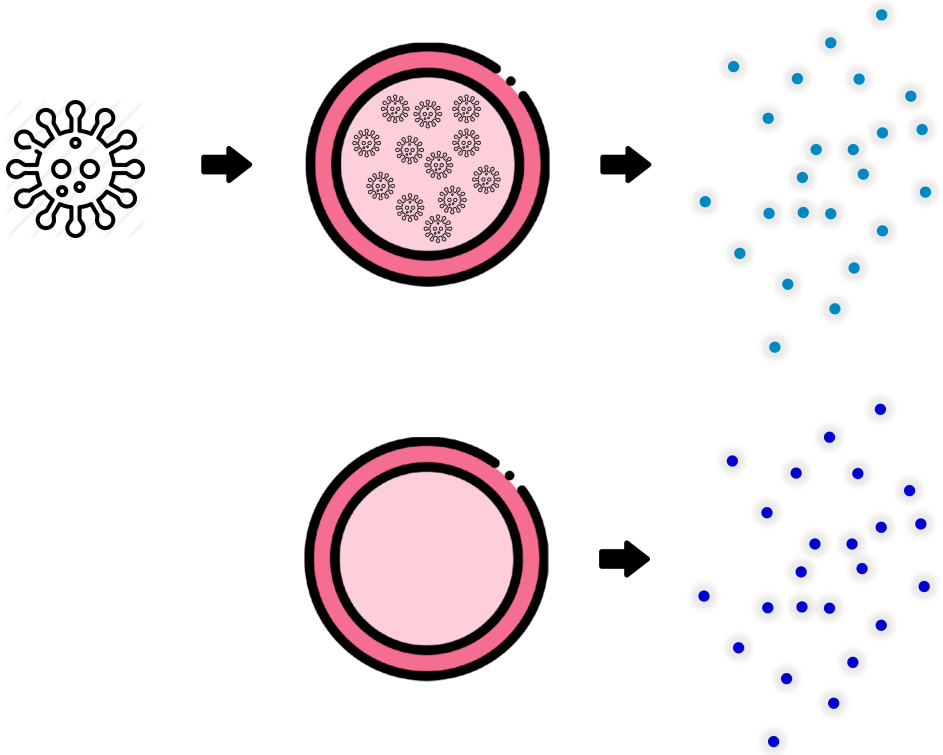
microRNA

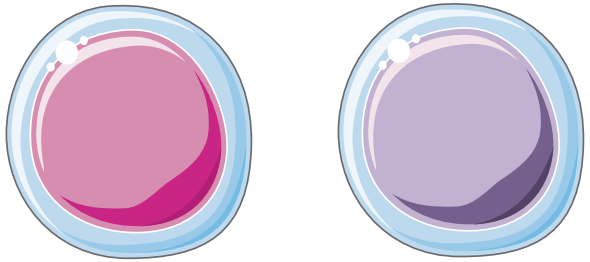
Artrite

Yabuta *et al.*, Submetido.

VEs produzidas por SARS-CoV-2

- Dr. Eurico Arruda (FMRP-USP)
- **SARS-CoV-2**





BMDM Alveolares

Imunomodulação

Mecanismos envolvidos?

Rede de Colaboradores

Colaboradores Internos - FMRP

Dr. Roberto Martinez
Dr. João Santana Silva
Dr. José Neto
Dr. Rafael Silva Rocha
Dr. Dario Zamboni
Dr. Fernando Cunha
Dr. Eurico Arruda

Rede de colaboradores Internacionais

Dr. Arturo Casadevall (Johns Hopkins - EUA)
Dr. Joshua Nosanchuk (Albert Einstein - NY - EUA)
Dra. Carolina Coelho (University of Aberdeen - UK and University of Exeter - UK)
Dr. Gordon Brown (University of Aberdeen - UK and University of Exeter - UK)
Dra. Ten Feizi (Imperial College of London - UK)

Rede de colaboradores Nacionais

Dr. Marcio Rodrigues (FIOCRUZ)
Dra. Lysangela Ronalte Alves (FIOCRUZ)
Dra. Taicia Fill (IQ - UNICAMP)
Dr. Andre Damasio (UNICAMP)
Dr. Marcelo Brocchi (UNICAMP)
Dr. Gustavo Goldman (FCFRP-USP)

Suporte Financeiro

Jovem Pesquisador FAPESP – 2016/03322-7
Universal CNPq – 420670/2018-1

FAPESP-SPRINT
FAPESP-BBSRC Pump-priming