

## **SUBPROJECT 11: Reprogramming tumor cells**

**Principal Investigator:** *Dimas Tadeu Covas*

### **Abstract**

Nuclei of somatic cells can be reprogrammed to a pluripotent stage by the artificial introduction of defined transcription factors in a process called cellular reprogramming (Takahashi & Yamanaka, 2006). The process of reprogramming somatic cells to a pluripotency stage is similar in many ways to the oncogenic transformation process in which a normal cell becomes a tumor cell. In this scenario the induction of pluripotency in tumor cells show an interesting model to study the tumorigenesis process and to investigate the biology of tumor stem cells. However, reprogramming of tumor cells to pluripotency remains a challenge and, so far, it is unclear whether the limitations are methodological or biological.

Aiming to introduce epigenetic changes in cancer cells and investigate the process of tumorigenesis, we propose to apply the cell reprogramming technology in tumor cells. An interesting question we want to answer is whether the genetic reprogramming of tumor cells with pluripotency genes (SOX, NANOG and OCT4) reverses the cumulative abnormal epigenetic patterns during the oncogenic development. To answer this question, the aim of this subproject is to test the classical reprogramming protocol (OCT4, SOX2, KLF4 and MYC) in different tumor cell lines and evaluate: i) the acquisition of pluripotency, ii) the recapitulation of differentiation, iii) the ability of epigenetic reprogramming and iv) the possible reversal of tumorigenicity.

### **Goals**

To test the classical reprogramming protocol (OCT4, SOX2, KLF4 and MYC) in different tumor cell lines and evaluate: i) the acquisition of pluripotency, ii) the recapitulation of differentiation, iii) the ability of epigenetic reprogramming and iv) the possible reversal of tumorigenicity.

### **Specific Goals**

#### *1. Reprogram tumor cells*

We will use episomal and lentiviral vectors in different tumor cell lines available in our cell bank.

## 2. Characterization of reprogrammed cells

We will analyze the transcriptome and methylome (NGS) of the cells in order to evaluate the changes resulting from the reprogramming process.

## 3. Evaluate the ability of reprogrammed cells to differentiate terminally in vitro

## 4. Evaluate the potential reversal of tumorigenicity using in vivo assays

### Implementation schedule

Specific Goal	Semesters											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	■	■	■	■	■	■						
2					■	■	■	■	■	■		
3					■	■	■	■	■	■		
4					■	■	■	■	■	■	■	■

### Researchers:

Tathiane Maistro Malta Pereira

Simone Kashima Haddad

Lucas Eduardo Botelho de Souza

Virgínia Picanço e Castro

### Associated Researchers

Houtan Noushmehr

### References:

TAKAHASHI, K. and YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. v.126, p.663-76, 2006.

**Subprojeto 11:** Reconstituição tumoral a partir da reprogramação de células tumorais.

**Pesquisador Responsável:** *Dimas Tadeu Covas*

## **Introdução**

Células somáticas podem ter seu núcleo reprogramado ao estágio de pluripotência pela introdução artificial de fatores de transcrição definidos, em um processo denominado reprogramação celular (Takahashi & Yamanaka, 2006). O processo de reprogramação de células somáticas ao estágio de pluripotência se assemelha de muitas formas ao processo de transformação oncogênica que ocorre quando uma célula normal se transforma em uma célula tumoral e a reprogramação celular de células tumorais se mostra um modelo interessante para o estudo do processo de tumorigênese e para a investigação da biologia das células-tronco tumorais. Entretanto, a reprogramação de células tumorais para a pluripotência é um evento simples e, até o momento, não está esclarecido se as limitações são metodológicas ou biológicas.

Com o objetivo de introduzir alterações epigenéticas em células de câncer e investigar o processo de tumorigênese, propomos aplicar a tecnologia de reprogramação celular em células tumorais. Uma pergunta interessante que pretendemos responder é se a reprogramação gênica de células tumorais com genes de pluripotência (SOX, NANOG e OCT4) reverte o padrão epigenético anormal acumulado durante o desenvolvimento oncogênico. Para responder essa questão, o objetivo deste subprojeto consiste em testar o protocolo de reprogramação clássico (OCT4, SOX2, KLF4 e MYC) em diferentes linhagens de células tumorais e avaliar: i) a aquisição de pluripotência, ii) a recapitulação da diferenciação, iii) a capacidade de reprogramação epigenética e iv) a possível reversão da tumorigenicidade.

## **Objetivo Geral**

Testar o protocolo de reprogramação clássico (OCT4, SOX2, KLF4 e MYC) em diferentes linhagens de células tumorais e avaliar: i) a aquisição de pluripotência, ii) a recapitulação da diferenciação, iii) a capacidade de reprogramação epigenética e iv) a possível reversão da tumorigenicidade.

## **Metas**

### 1. Reprogramar células tumorais

Será utilizado vetores lentivirais e epissomais em diferentes linhagens de células tumorais, disponíveis em nosso banco de células.

### 2. Caracterização das células reprogramadas

Será analisado o transcriptoma e metiloma (NGS) das células com a finalidade avaliar as alterações decorrentes do processo de reprogramação.

### 3. Avaliar a capacidade das células reprogramadas se diferenciarem terminalmente *in vitro*

### 4. Avaliar a possível reversão da tumorigenicidade por ensaios *in vivo*

## Cronograma de execução referente a seis anos de projeto

Metas	Semestres											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	■	■	■	■	■	■						
2					■	■	■	■	■	■		
3					■	■	■	■	■	■		
4					■	■	■	■	■	■	■	■

### Pesquisadores:

Lucas Eduardo Botelho de Souza

Simone Kashima Haddad

Tathiane Maistro Malta Pereira

Virgínia Picanço e Castro

### Pesquisadores Colaboradores Nacionais:

Houtan Noushmehr

### Referências:

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell [S.l.]*, v. 126, n. 4, p. 663-76, Aug 25 2006.