

Plateforme ORGAPRED :

Vers la production à haut-débit de tumorôides à visée de recherche et de prédiction de la réponse aux traitements

Louis-Bastien WEISWALD

lb.weiswald@baclesse.unicancer.fr

Inserm U1086 ANTICIPE

Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la
Prévention et le Traitement des Cancers

 Anticipo

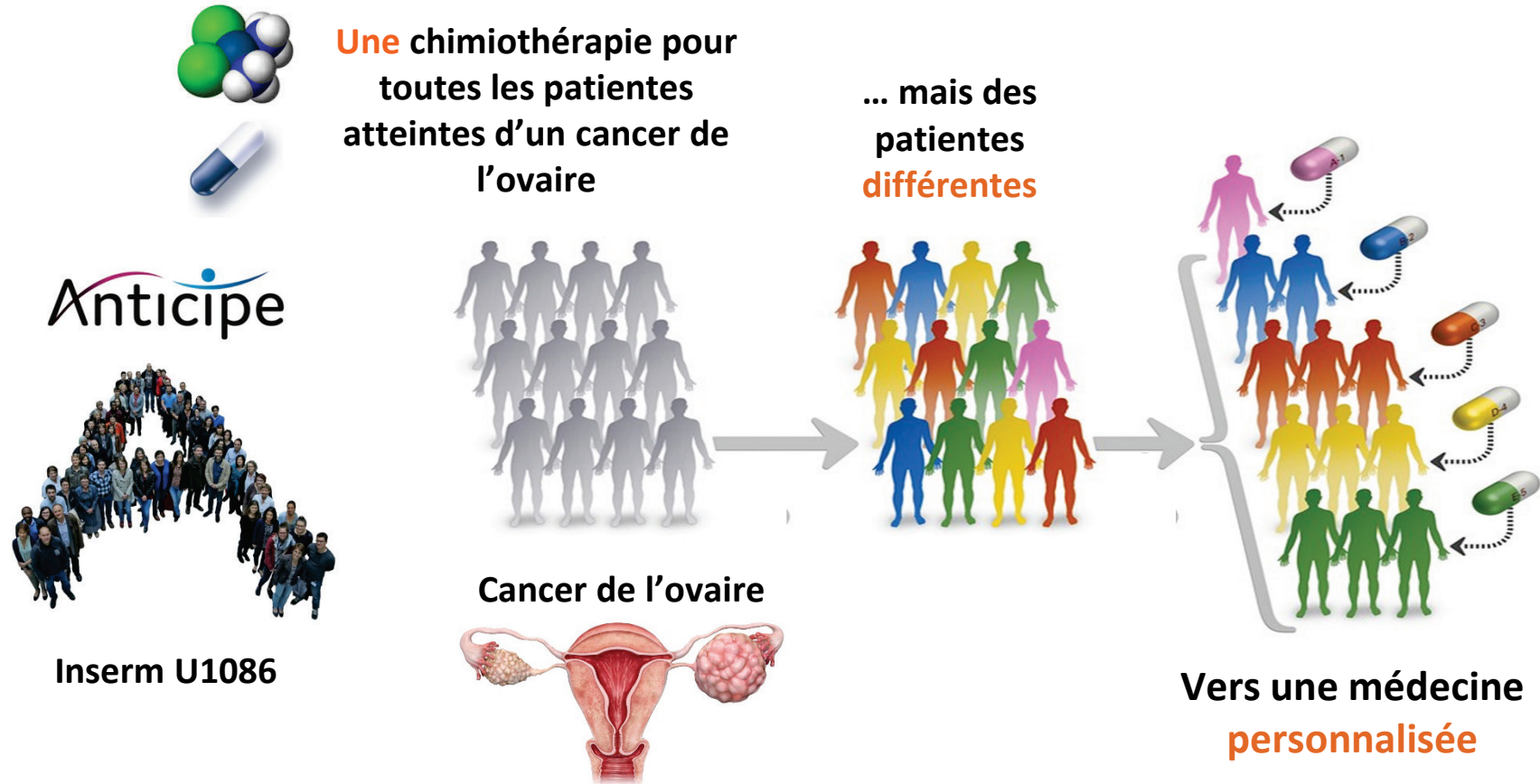
Plateforme ORGAPRED – US PLATON

Plateforme « organoïdes tumoraux à visée
prédictive et de recherche »

 ORGAPRED
—TUMOROID PLATFORM— PLATON
ONCOLOGY
SERVICES UNIT

Contexte

Médecine de précision



... et nouvelles stratégies thérapeutiques

Les tumeurs : au-delà des projets du laboratoire...

Anticipe

Organoïdes tumoraux
de cancer de l'ovaire



OVAREX - NCT03831230

Thorel. et al., *BMC Cancer* (2024)

Organoïdes tumoraux
de cancer du sein



TRIPLEX - NCT05404321

Divoux. et al., *BMC Cancer* (2023)

Organoïdes tumoraux
de cancer de VADS



ORGAVADS - NCT04261192

Perréard. et al., *BMC Cancer* (2023)

Organoïdes tumoraux
de cancer du rein



ORGACCR - URoCCR

Organoïdes tumoraux
de cancer gastrique



GASPAR - NCT04736485

Dos Santos. et al., *BMC Cancer* (2022)



Organoïdes tumoraux de carcinome
primitif inconnu indifférencié

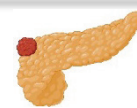
OCAPI - NCT06612827

Organoïdes tumoraux de
cancer de l'endomètre



PENDOR - NCT06603506

Organoïdes tumoraux
de cancer du pancréas



Création de la plateforme



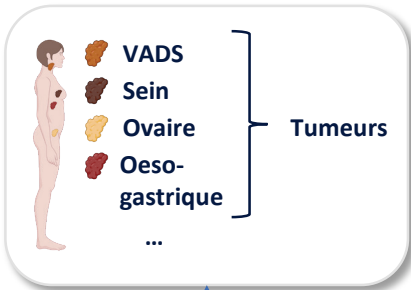
en 2020

- ☐ Savoir faire pour l'établissement et la culture de tumorôides
- ☐ Equipements spécifiques acquis ou en cours d'acquisition
- ☐ Accompagnée par les DRCI – maîtrise des aspects réglementaires
- ☐ Immergé dans la recherche translationnelle : circuits de prélèvements...
- ☐ Environnement analytique complet
- ☐ Accès aux cohortes, accompagnement par les CRB/Tumorotheques, CTD CNO



Objectifs de la plateforme ORGAPRED

Mise en place des protocoles et collections *



IBISA • Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie

Formation *
Conseil et assistance *

Aspects prédictifs : oncologie de précision

Dissociation



Production des tumorôides *

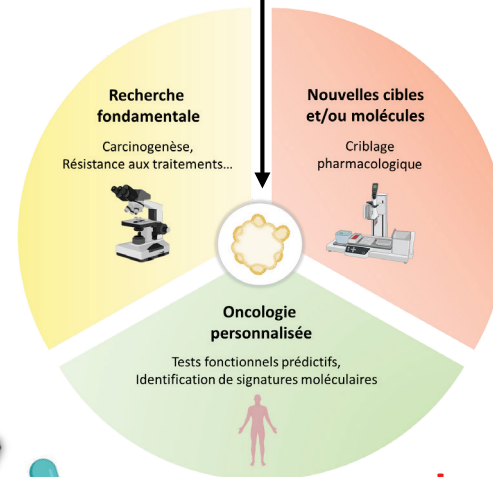


Modèles établis :

- 30 cancers ovariens
- 15 cancers du sein
- 21 cancers des VADS
- 3 cancers oeso-gastriques

Unités de Recherche

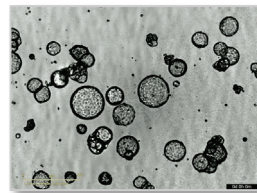
Partenaires hospitaliers



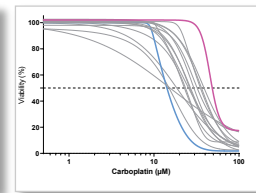
Unités de Recherche & Industriels

ChemBioFrance
de petites molécules pour comprendre et soigner le vivant

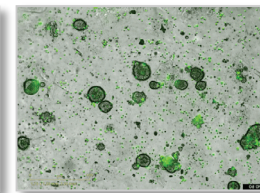
Tests fonctionnels *



Morphologie
(Incucyte S3)



Viabilité
(CellTiterGlo-3D)



Mort cellulaire
(CellTox Green)

CLASSIFICATION DES TUMOROÏDES (sensibles, résistants, intermédiaires)

Stockage (biobanking) *



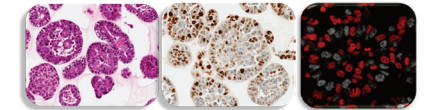
Centres de ressources biologiques locaux

Caractérisation histologique et moléculaire



IHC, STR,
NGS ADN & ARNs,
CGH array...

Collab autres plateformes



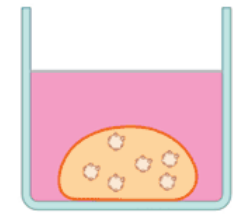
Signatures moléculaires, Tests compagnons

*** Services proposés**

Les tumeurs : évaluation de la réponse au traitement

<https://www.orgapred.com/>

Vernon M. et al., *Mol Cancer Ther* (2020)
Florent R. et al., *Cell Death Dis* (2020)
Wambecke A. et al., *Mol Oncol* (2021)
Hadj Bachir E. et al., *Bio Cell* (2022)
Thorel L. et al., *J Exp Clin Cancer Res* (2023)



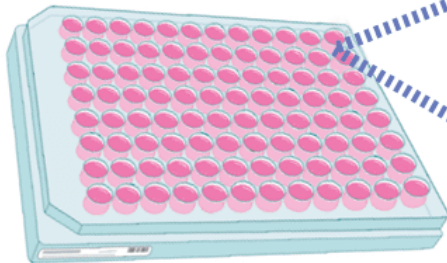
Tumoroïdes



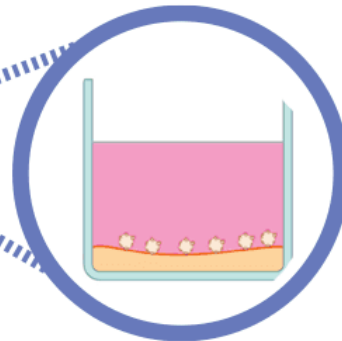
Collection des
tumoroïdes



Traitement



Ensemencement en microplaques
recouvertes de matrice



Evaluation de la
réponse



Suivi en temps réel (morphologie,
apoptose, cytotoxicité, etc.)

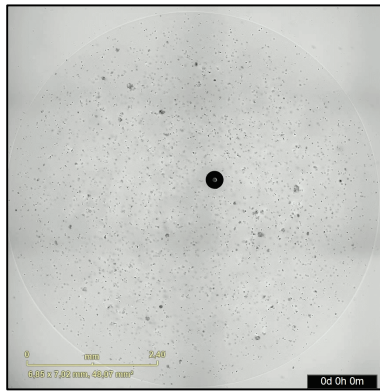


Test de viabilité /
cytotoxicité en point final

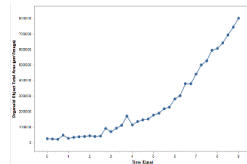


Evaluation de la réponse aux traitements

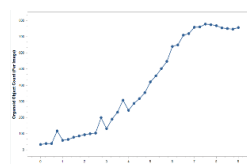
Imagerie cellulaire en temps réel (Plateforme ImpedanCELL, E. Brotin & C Denoyelle)



Nombre d'organoïdes



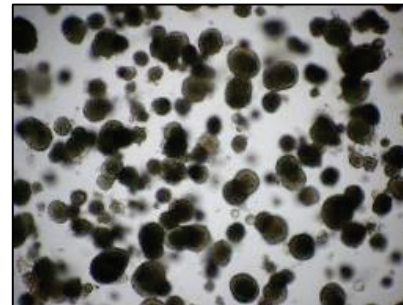
Surface occupée



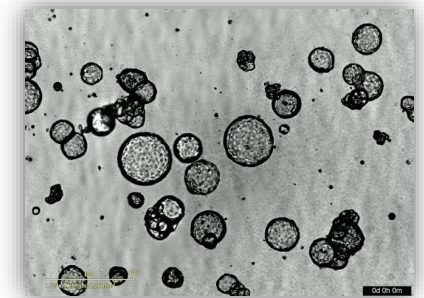
Traitements



Tumoroïdes

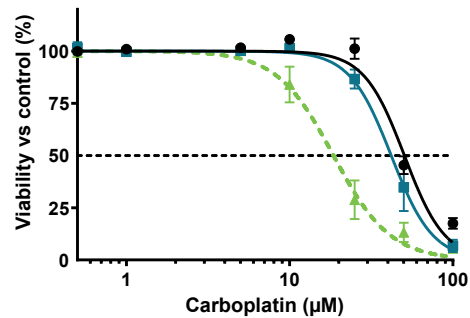


Morphologie

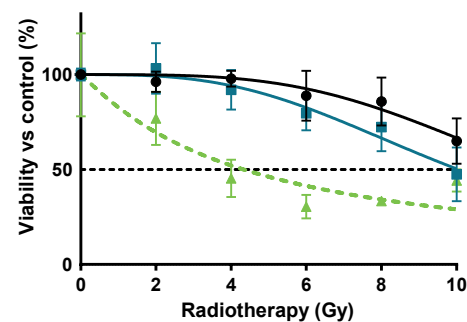


Hadj Bachir et al., *Biol Cell* (2022)

Test de viabilité CellTiter-Glo 3D (Promega)



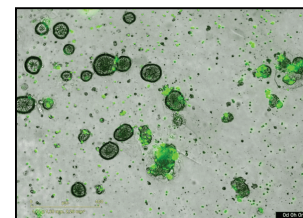
Thorel L. et al., *J Exp Clin Cancer Res* (2023)



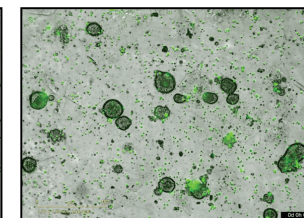
Imagerie cellulaire en temps réel (Plateforme ImpedanCELL, E. Brotin & C Denoyelle)



Contrôle

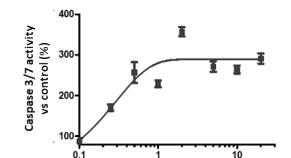


Inhibiteur de Mcl-1

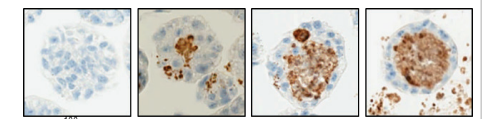


Celltox™ Green Cytotoxicity Assay

Activité caspase Caspase 3/7-Glo (Promega)



Immunohistochimie



Anticorps caspase-3 clivée

Equipements et technologies analytiques associées



gentleMACS™ Octo Dissociator (Milenyi)
Dissociation automatisée des tissus
(jusque 8 échantillons en simultané)



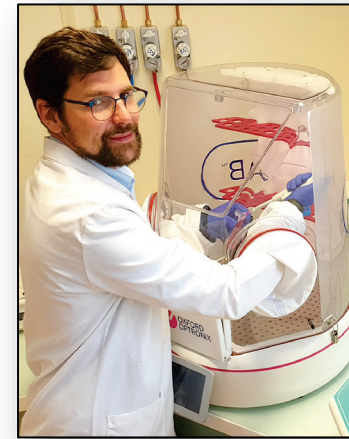
1 laboratoire de culture cellulaire (80 m²)
1 laboratoire d'imagerie (20 m²)



Irradiateur



Station à hypoxie



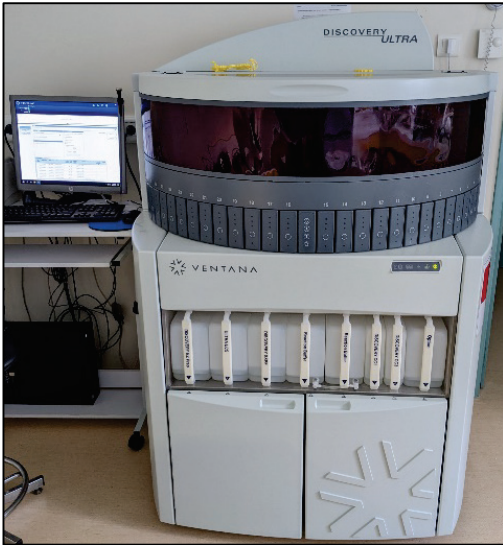
Préparation, culture et stockage : Station hypoxie, robot pipetteur, centrifugeuse, irradiateur, microscope, 3 PSM, 2 incubateurs CO2, 1 incubateur trigaz, 1 FlashFreeze, congélateur -150°C...

Vers des approches à haut débit : l'une des spécificités d'ORGAPRED

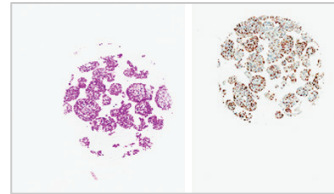


Implémentation des approches haut débit pour la **culture**, l'**analyse** et la **caractérisation** des tumeurs

Automate d'immunohistochimie
(Ventana Discovery Ultra)
IHC multiplexée, système ouvert



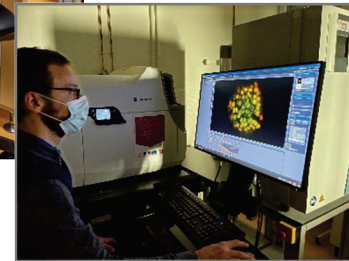
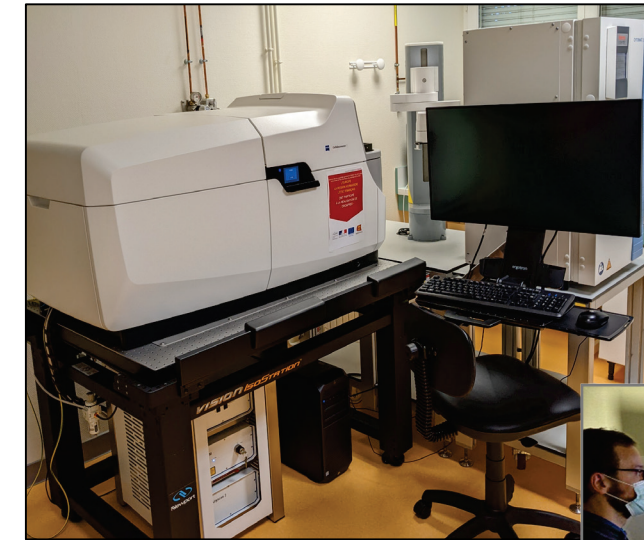
Tissue microarrayer (MiniCore® 3)
Construction semi-automatique de
TMA



Station d'imagerie multispectrale
(Vectra POLARIS)
Imagerie tissulaire multiplexée à haut débit
(jusqu'à 50 lames, et jusqu'à 9 marqueurs)



Microscope (confocal) automatisé pour vidéomicroscopie
avec chargeur de plaques CellDiscoverer 7 (Zeiss)
Imagerie haut débit (criblage)
(jusqu'à 40 plaques 384 puits)



Vers des approches à haut débit : l'une des spécificités d'ORGAPRED



Implémentation des approches haut débit pour la **culture**, l'**analyse** et la **caractérisation** des tumeurs

Robot de culture Microlab STAR conçu à façon (Hamilton) couplé avec un incubateur et un lecteur multimode Glomax (Promega)

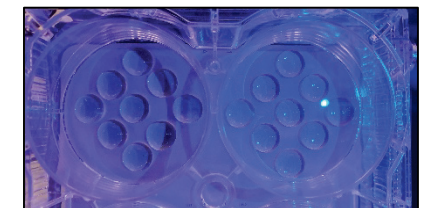
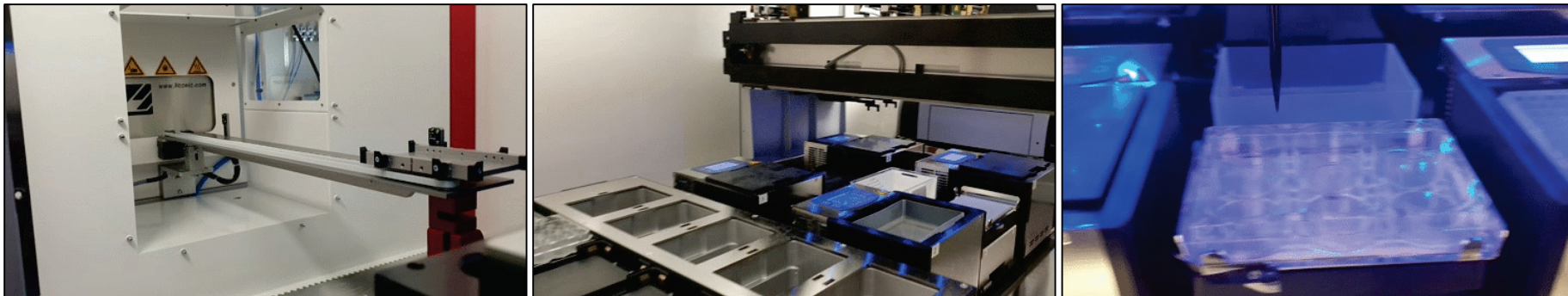


Second robot de culture Microlab STAR conçu à façon (Hamilton)

Passages des organoïdes
(jusqu'à 34 plaques)



Culture, traitement et analyse à haut débit
(jusqu'à 80 plaques de 384 puits)



Vers la miniaturisation des approches...

IBISA • Infrastructures
en Biologie
Santé et
Agronomie



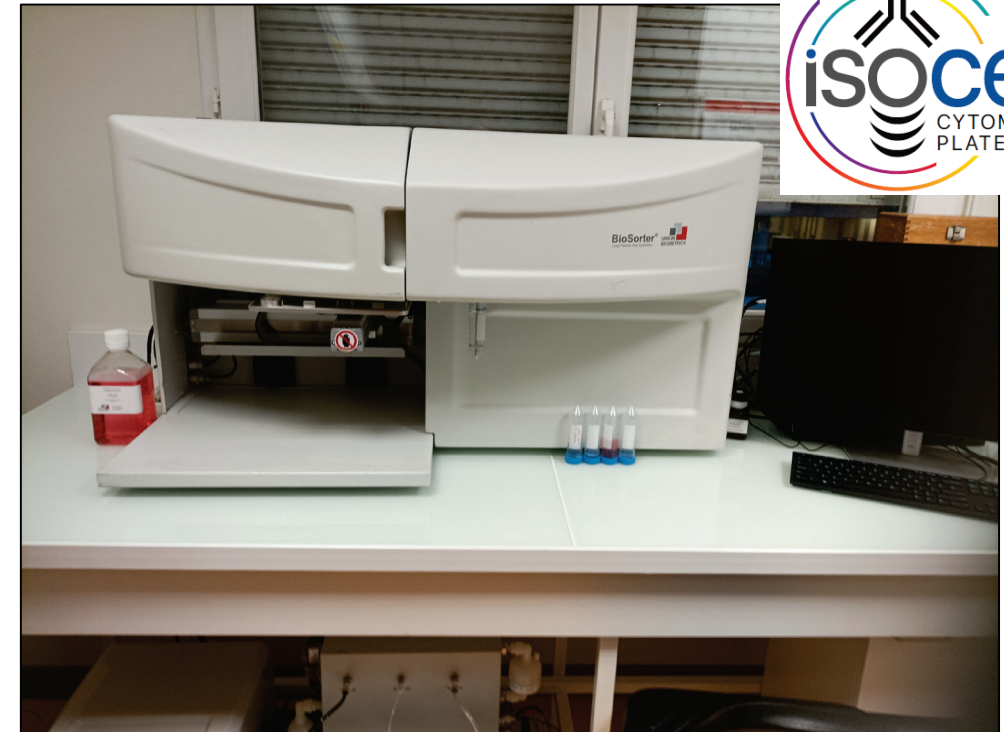
Trieur large particule BioSorter-PRO (Union Biometrica)

Système d'imagerie Omni FL (AXION Biosystems)



Compatible avec des dispositifs de microfluidique faits à façon

Installé fin septembre 2024



Tri et ensemencement de tumeurs

Installation prévue fin octobre 2024

Dans le cadre du programme opérationnel FEDER/ FSE 2014-2020

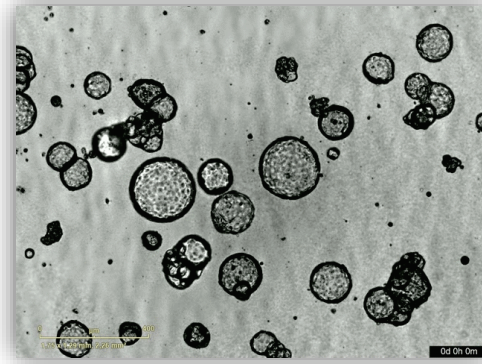
L'EUROPE
LA REGION NORMANDIE & L'ETAT

ONT PARTICIPÉ
À LA RÉALISATION DU PROJET « ORGAPRED »,
*Plateforme « organoïdes tumoraux » à visée prédictive
et de recherche*





Réseau OrgaNO



canceropôle
Provence-Alpes-Côte d'Azur
le propulseur régional des recherches
et innovations anticancéres



lb.weiswald@baclesse.unicancer.fr
l.poulain@baclesse.unicancer.fr



Laurent POULAIN
Louis-Bastien WEISWALD
Jérémie LE GOFF
Romane FLORENT
Jordane DIVOUX
Guillaume DESMARTIN
Lucie LECOUFLET

