

Cancéropôle Grand Sud-Ouest



Working Group

Alternative Models to Animal Testing

1st workshop

May 31st, Toulouse

Seminar booklet

Program

9.00 – 10.00	Registration, posters installation
10.00 - 10.10	Opening
10.10 – 10.50	<p><i>FC3R invited keynote</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Athanassia SOTIROPOULOS JONVEL (FC3R, Paris) <p><i>Le GIS FC3R, centre français pour les 3R: missions et stratégies de soutien à la recherche</i></p>
10.50 – 12.30	<p>GSO platforms and models for cancer</p> <ul style="list-style-type: none"> • Céline COUGOULE (IPBS, Toulouse) • Adèle DELAMARRE (BRIC, Bordeaux) • Nelly PIROT (IRCM, Montpellier) • Sandrine POGGIO (BRIC, Bordeaux) • Pascal VERDIE (IBMM, Montpellier)
12.30 – 13.00	<p><i>IBISA platform invited keynote</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Géraldine GUASCH-GRANGEON (CRCM, Marseille) <p><i>The 3D-Hub-O Platform: 3D cellular models for research development and cancer research</i></p>
13.00 – 14.00	Lunch
14.00 – 14.30	Meeting points and posters
14.30 – 16.30	<p>GSO scientific projects</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agnès WIEDEMANN (IRSD, Toulouse) • Jean-Philippe HUGNOT (IGF, Montpellier) • Agnès DROCHON (I2M, Bordeaux) • Justine CREFF (MCD, Toulouse) • Géraldine ALBEROLA (IPBS, Toulouse) • Thomas JUNGAS (MCD, Toulouse)
16.30 – 17.30	Posters

Table of contents

Oral Communications	5
Athanasia SOTIROPOULOS JONVEL / Le GIS FC3R, centre français pour les 3R: missions et stratégies de soutien à la recherche.....	6
Céline COUGOULE / HYBRIDA project: "Minimal Information About an Organoid and its Use (MIAOU) & Evaluation Checklist for Organoid Ethical Studies (EChOES): Checklist for Scientists and for scientific evaluators".....	7
Adèle DELAMARRE / 3D cell models to study liver pathophysiology: From healthy liver to NASH and HCC disorders.....	8
Nelly PIROT / BTC, Biological Tissue Collection of pre-clinical models to rationalize biomedical research	9
Sandrine POGGIO / Modeling the complexity of cutaneous T cell lymphomas from patient-derived cells using a 3D model in capsulo	10
Pascal VERDIE / SynBio3 Platform, Synthesis of Biomolecules and BioPolymers for Biology	11
Géraldine GUACSH-GRANGEON / The 3D-Hub-O Platform: 3D cellular models for research development and cancer research	12
Agnes WIEDEMANN / Les organoïdes: un modèle alternatif aux infections in vivo	13
Jean-Philippe HUGNOT / A Biobank of IDH1-Mutant Cell Lines for Studying Tumor Heterogeneity, Progression, and Target Identification in Gliomas.....	14
Agnès DROCHON / Hydrodynamique dans les vaisseaux sanguins et implications possibles dans la recherche en cancérologie	15
Géraldine ALBEROLA / Electrotransfert de molécules dans un modèle de peau reconstruite	16
Justine CREFF / "Cracking" the gut epithelium: using 2D intestinal organoids to study impact of cell heterogeneity	17
Thomas JUNGAS / Pôle hiPSCs et organoïdes neuraux	18
Posters	19
Géraldine ALBEROLA / Electrotransfert de molécules dans un modèle de peau reconstruite	20
Sylvia BARDET / Imagerie multiphotonique de la vascularisation tumorale après xélogreffe sur membrane chorioallantoïdienne aviaire	21
Sabine CHAPUY-REGAUD / Etude de la libération vectorielle du virus de l'hépatite E dans un modèle d'organoïdes intestinaux et effets de la ribavirine	22
Romina D'ANGELO / A Working Group to Help you Make « Transparisation », Clearing an Effective Tool	23
Hinda DABBOUE / Alternatives models to animal experimentation: Ex Vivo Franz cell and Ex Ovo vascularized organoid	24

Fabien GAVA / Multicellular aggregates of lymphoma cells (MALC) and Patient-Derived Lymphoma Spheroids (PDLS) as 3D preclinical B-cell non-Hodgkin lymphoma models for personalized medicine	25
Jean-Philippe HUGNOT / A Biobank of IDH1-Mutant Cell Lines for Studying Tumor Heterogeneity, Progression, and Target Identification in Gliomas.....	26
Thomas JUNGAS / Pôle hiPSCs et organoïdes neuraux	27
Léa MAGNE / Etude des interactions mécaniques entre l'épithélium colique et son environnement	28
Jean-Max PASQUET / CELL'OXIA : Modélisation de la niche tumorale.....	29
Nelly PIROT / BTC, Biological Tissue Collection of pre-clinical models to rationalize biomedical research	30
Duvan ROJAS GARCIA / Développement d'une plate-forme de criblage thérapeutique pour les pathologies intestinales grâce à un colon-sur-puce à environnement contrôlé.....	31
David SAGNAT / Les organoïdes : les applications d'un modèle alternatif innovant	32
Maleaume SOULARD / "Organoïdes tumoraux et bioimpression 3D" , Développement d'une nouvelle plateforme à Poitiers	33
Participant's list.....	34

Oral Communications

Athanassia SOTIROPOULOS JONVEL / Le GIS FC3R, centre français pour les 3R: missions et stratégies de soutien à la recherche

En 1959, le principe éthique des 3R "Remplacer, Réduire, Raffiner" a été développé par deux scientifiques pour les scientifiques. Cependant, 64 ans plus tard, c'est toujours un défi pour les centres 3R d'avoir un impact direct sur les chercheurs dans leur travail quotidien.

Le ministère français de l'enseignement supérieur et de la recherche et les principaux opérateurs de la recherche publique ont créé le Centre français des 3R (FC3R), dont la priorité est d'encourager et de mettre en œuvre les 3R en France par la promotion d'une recherche, d'une éducation et d'une communication transparente responsables et innovantes en ciblant spécifiquement les générations actuelles et futures de scientifiques.

Pour ce faire, la FC3R a développé des stratégies proactives, s'engageant dans des actions concrètes pour fédérer une communauté synergique autour des besoins et des objectifs des chercheurs. La FC3R travaille à:

- 1) diffuser et développer des offres de formation adaptées aux besoins spécifiques des étudiants et des chercheurs;
- 2) accompagner les chercheurs dans leur conception expérimentale et le partage de leurs résultats non publiés/négatifs par la création d'une plateforme dédiée;
- 3) communiquer sur les méthodes innovantes non animales, les subventions, l'évolution des pratiques et de la réglementation, mais aussi reconnaître par des interviews, des conférences et des prix les acteurs dont les réalisations font avancer la promotion et la mise en œuvre des 3R en France;
- 4) financer des projets de recherche : deux appels ont été réalisés en 2022/23 récompensant des initiatives collaboratives fédérant la communauté scientifique française autour du principe des 3R et des projets favorisant le Remplacement de l'utilisation d'animaux ou de produits d'origine animale en science.

FC3R facilitera également les collaborations scientifiques entre les communautés de recherche académique et industrielle, et inter-disciplinaires.

Céline COUGOULE / HYBRIDA project: "Minimal Information About an Organoid and its Use (MIAOU) & Evaluation Checklist for Organoid Ethical Studies (EChOES): Checklist for Scientists and for scientific evaluators"

Céline Gougoule

IPBS-CNRS-Université de Toulouse

Le projet HYBRIDA est un projet de 3 ans, financé par le programme cadre Horizon2020. Son objectif principal est de construire une dimension éthique globale pour la recherche basée sur les organoïdes et les technologies qui en résultent. Le MIAOU (Minimal Information About an Organoid and its Use) aborde les exigences fondamentales pour une conception, une caractérisation et une utilisation scientifiquement robustes des organoïdes. Le MIAOU répond aux préoccupations concernant l'origine du matériel biologique (y compris le consentement éclairé des donneurs), efficacité/reproductibilité des protocoles, qualité des résultats (taille, morphogenèse, composition cellulaire), fiabilité des données, minimisation des erreurs de communication (précis et documenté description des matériels et des méthodes), respect des règles de sûreté, de sécurité et d'IR (intégrité de la recherche), prévention des méconduites en recherche et des malentendus au grand public.

Un questionnaire complémentaire appelé EChOES (Evaluator Checklist for Ethical Organoid Studies) met en lumière les éléments du Questionnaire MIAOU nécessaires à une juste évaluation d'un projet scientifique impliquant des organoïdes. En répondant aux préoccupations éthiques et en établissant des critères d'évaluation clairs, EChOES vise à promouvoir la confiance et la collaboration entre les chercheurs, les évaluateurs et les autres parties prenantes dans le domaine de la recherche sur les organoïdes. Ces deux outils seront présentés afin d'intégrer une dimension éthique globale à la recherche basée sur les organoïdes et aux technologies associées, objectifs portés par le projet HYBRIDA.

Adèle DELAMARRE / 3D cell models to study liver pathophysiology: From healthy liver to NASH and HCC disorders

Adèle Delamarre^{1,3}, Lucile Rouyer¹, Nathalie Allain¹, Sylvaine Di Tommaso², Anne-Aurélien Raymond^{1,2}, Cyril Dourthe², Arthur Marichez^{1,3}, Pierre Nassoy⁴, Brigitte Le Bail^{1,3}, Victor De-Ledinghen^{1,3}, Frédéric Saltel^{1,2}

1) Institut BRIC (BoRdeaux Institute of oncology), U1312 Inserm / Université de Bordeaux

2) Plateforme Oncoprot, UMS 005-TBMcore, Bordeaux

3) CHU de Bordeaux

4) Bioimaging Optofluidics lab, Institut d'Optique d'Aquitaine à Talence

Key words: 3D models, spheroids, capsules, healthy liver, NASH, hepatocellular carcinoma

The liver is a central organ involved in critical functions, among them metabolism, lipid homeostasis or detoxification. Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common liver cancer and a major public health problem worldwide. With an increasing incidence linked to obesity and diabetes epidemic, NASH is the fastest growing etiology of HCC and is about to become the leading cause of HCC worldwide. Modeling NASH disease and HCC carcinogenesis is crucial to better understand underlying molecular pathways and find new therapeutic targets. 2D cellular models are easy to manipulate but are too distant from the complexity of the pathophysiology of the liver. Existing in vivo mouse models of NASH do not recapitulate the whole spectrum of the human pathology. Moreover, we have to think about reducing experimentation on mouse models in accordance with the 3R strategy.

3D cell models have seen a great breakthrough since twenty years to answer this challenge, going from monocellular spheroids to complex organ-on-chip. 3D cell models enable a better modeling of the disease thanks to 3D cell interaction, better cell differentiation and function. Additionally, 3D models are suitable for complex multicellular models and allow to recapitulate a suitable microenvironment. Existing models may recapitulate NASH disease but no 3D model is currently available and easy to manipulate with a fairly long viability to study HCC carcinogenesis on NASH.

Our goal is to set up new 3D cell models for each step of the disease progression: from healthy liver to NASH and HCC development in order to allow functional and molecular investigation of carcinogenesis.

We use primary human hepatocytes (PHH) and the HepaRG[®] cell line that are grown either in normal conditions or in a culture medium enriched in fatty acids, glucose and LPS in order to induce NASH phenotype. Our 3D cell models are based on two processes: spheroids and cell encapsulation technology in 3D alginate capsules.

Nelly PIROT / BTC, Biological Tissue Collection of pre-clinical models to rationalize biomedical research

Alicia SEGUIN 1, 2 , Yaël GLASSON 1 , Jean-Baptiste GINER 3 , Christine CARTIER 3 , Frédéric VIART 3 , Béatrice Orsetti 1, Nelly PIROT 1, 2* & Florence BERNEX 1, 2*

1 Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Univ. Montpellier, Institut du Cancer de Montpellier, INSERM, Montpellier, France

2 BioCampus Montpellier, Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

3 Advanced Solutions Accelerator, Montpellier, France

MOTS CLES: Biobanque expérimentale, Modèles pré-cliniques, Histologie, Blocs paraffine, Lames, Remplacement, Partage

Depuis sa création en 2008, le RHEM (Réseau d'Histologie Expérimentale de Montpellier) assure, grâce à un logiciel de gestion de laboratoire développé à façon (Laboratory Information Management System, LIMS), la traçabilité de tous les échantillons des modèles précliniques générés par les chercheurs montpelliérains (> 100 000 blocs de paraffine). En améliorant ce logiciel et en développant un système de requête électronique, le RHEM a souhaité créer une biobanque expérimentale similaire aux biobanques humaines (dénommé en anglais "Biological Tissue Collection" ou BTC). La BTC consiste en un portail web qui peut être utilisé par l'ensemble de la communauté scientifique internationale pour consulter la base de données. Grâce à ce portail, tout scientifique pourra interroger la BTC selon différents critères (espèce, génotype, gène muté, âge, sexe, organe) et demander des lames histologiques ou copeaux de paraffine à partir des blocs sélectionnés. Les lames histologiques pourront permettre par exemple d'effectuer des analyses histologiques variées telles des immunomarquages simples ou multiplexés, de l'hybridation in situ, de la transcriptomique spatiale, etc.

Le portail de la BTC vise à permettre aux chercheurs de (1) promouvoir une recherche éthique et responsable, conformément à la règle des 3R, en remplaçant les expériences sur les animaux par l'utilisation de lames histologiques provenant de blocs qui ont déjà été générés et regroupés dans une collection biologique précieuse, (2) économiser du temps et de l'argent en évitant de reproduire des expériences qui ont déjà été réalisées, réduisant ainsi le nombre d'animaux utilisés, et (3) encourager la collaboration scientifique par le partage de matériel biologique.

Le site de la BTC (<https://btc.rhem.cnrs.fr/>) a été ouvert au public début mars 2023. Dans un premier temps, il permet d'interroger 25% de la base de données de tissus, soit plus de 25 000 blocs paraffine. 99% d'entre eux proviennent de rongeurs représentant 365 génotypes différents. Ce portail sera complété dans le futur par de nouvelles versions permettant l'intégration de modèles animaux ayant reçu des greffes de cellules humaines/souris ou de tissus humains (Patient Derived Tumor Xenograft models) ainsi que d'autres fonctionnalités de requête.

Cet outil de partage public offrira aux chercheurs de nouvelles possibilités d'étudier l'expression de biomarqueurs dans les tissus de modèles de rongeurs de cancers humains qui sont difficiles d'accès ou coûteux. Nous espérons que cet outil aidera les équipes de recherche à améliorer leur stratégie générale des 3R.

Sandrine POGGIO / Modeling the complexity of cutaneous T cell lymphomas from patient-derived cells using a 3D model in capsulo

Thibaut BLONDY¹, Martina PROCHAZKOVA-CARLOTTI¹, Aurore BIDON¹, Elodie RICHARD¹, Anne PHAM-LEDARD^{1,3}, Marie BEYLOT-BARRY^{1,3}, Jean-Philippe MERLIO^{1,2}, Laurence BRESSON-BEPOLDIN^{1,#} and Sandrine POGGIO^{1,#}

These authors contributed equally to this work.

1 BRIC (BoRdeaux Institute of onCology), UMR1312, INSERM, Univ. Bordeaux, F-33000, Bordeaux, France

2 Tumor Bank and Tumor Biology Laboratory, Bordeaux University Hospital, F-33600 Pessac, France

3 Dermatology Department, Bordeaux University Hospital, F-33000 Bordeaux, France

Key-words: cutaneous T-cell lymphomas, spheroid in capsulo, tumor microenvironment, confocal microscopy, flow cytometry

Cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) are characterized by an accumulation of CD4+ T cells in the skin. Modeling these diseases from patient cells remains complex due to the limited number of cases and the heterogeneity of the tumor cells. Recently, we have developed 2D culture models and patient-derived xenograft (PDX) in immunodeficient mice allowing the expansion of 57% and 14% of tested samples, respectively. The issues of our models are they are only usable for a part of samples (expressing the beta2 variant of the TCR), the lack of a complete immune compartment and more largely of the human tumor microenvironment (TME). Indeed, independent studies have shown that each cell population from TME may play a role in the development and progression of CTCL. In solid cancers, the mutual crosstalk between cancer-associated fibroblasts (CAFs) and tumor-associated macrophages (TAMs) is important to support cancer development whereas there is no data supporting this in CTCL. To take into account the interplay of TME cells and its potential impact on CTCL properties, we focus our research by developing integrated 3D systems including CTCL cells, matched CAFs from patients and extracellular matrix (ECM). From a skin patient biopsy, we have developed a new 3D cell culture model by using the cellular capsule technology adapted for lymphoma models forcing these less-adherent cells to form a sphere. For this, different CTCL cell/CAF ratios with or without ECM (Matrigel or collagen I) were co-encapsulated in alginate hollow spheres permeable to all nutrients (~250 µm in diameter) using a co-extrusion microfluidic device (VoxCell facility, Bordeaux). At different time points (day 7, 10 and 14), part of capsules were dissolved and the cells were dissociated for FACS analysis, while the other part was fixed in 4% PFA for further microscopic analyses. CTCL cell death and proliferation were studied using confocal imaging (CC3, EdU) and FACS analyses (Annexin/Hoescht, CFSE).

The culture conditions allowed the expansion of tumor patient cells with their corresponding CAFs in 3D conformation while the cells are not able to engraft in the PDX model. Quantification of proliferation and cell death helps us to define that a ratio of 1 CAF to 3 CTCL seems preferable to allow sufficient proliferation and survival of CTCL cancer cells. We also demonstrate that the presence of Matrigel is required to allow the formation of a CAF network.

Thanks to this model, we have shown that skin CAFs have a supportive effect on CTCL cells by improving their survival without affecting their proliferation properties. This effect was mediated by soluble factors and was specific to CAFs compared to healthy donor (HD) fibroblasts suggesting that they secrete peculiar components that favor cancer cell survival. To account the heterogeneity of TME, we plan to make the system more complex by adding TAMs. This work will improve the current knowledge about the TME in CTCL and validate pathways promoting CTCL cell tumorigenicity and/or dissemination. This will reveal new putative therapeutic targets.

Pascal VERDIE / SynBio3 Platform, Synthesis of Biomolecules and BioPolymers for Biology

Pascal Verdié

Max Mousseron Biomolecules Institute
Department of Amino acids, Heterocycles, Peptides and Proteins Chemistry
University of Montpellier

Peptides, Polymers, Bio printing

SynBio3 platform aims at providing academic and private research programs in life sciences with a fast and reliable supply of bioactive molecules and polymers. Beyond its role as an open synthesis platform, SynBio3 aims to be a one-stop gateway to the biologist community that will provide a powerful boost to interdisciplinary and translational research. SynBio3 belongs to the Institute of Biomolecules Max Mousseron (IBMM) and it is built on a unique expertise at the interface of biology and chemistry. Consequently, SynBio3 provides not only technical breakthroughs in chemistry of biomolecules but also enables scientific programs in biology to start and develop quickly in providing required starting materials, from proof-of-concept compounds to elaborated structures. The main characteristic of SynBio3 is the fact that researchers can not only find a facility to achieve the synthesis of target molecule or polymer for health applications, but also they will find broad and deep scientific expertise to assist them to lead their interdisciplinary project and to find original solutions to their problems and to reach their scientific breakthroughs.

Created in 2007 as part of the department amino acids and peptides of the IBMM and IBiSa labeled in 2013, SynBio3 platform has grown and is now constituted of two facilities: "Peptides and bioactive molecules" and "Polymers". Both technology facilities are hosted in the IBMM, at the Pôle Chimie Balard of Montpellier under the responsibility of Pr. Gilles Subra.

Géraldine GUACSH-GRANGEON / The 3D-Hub-O Platform: 3D cellular models for research development and cancer research

Véronique Chevrier, Solène Mathieu, Géraldine Guasch

Aix-Marseille University, CNRS, INSERM, Institut Paoli-Calmettes, CRCM

Understanding of mammalian biology at the tissue level and studying organ development and how they change during disease state in humans has been difficult due to ethical concerns and inaccessibility of sample. Advances in developmental and stem cell biology has allowed to decipher the growth factors and signaling pathways necessary for a stem cell to receive proper environmental conditions to differentiate and arrange themselves to form a mini-organ in vitro. These three-dimensional structures called "organoids" display similar functional properties of the tissue of origin including the genetic and the cellular heterogeneity, making them highly valuable tools to study tissue homeostasis and tumorigenesis.

The 3D-Hub-O platform aims at producing, genetically manipulating and imaging organoids from multiple normal and tumoral tissue types which will represent a first-in-class physiological platform for research on living disease tissue. The 3D-Hub-O platform is giving French and International research teams access to the manipulation and imaging of organoids from various source of tissues (murine and humans). These cultures allow the modeling of normal and pathological living tissues for applications in precision medicine in oncology as well as for a better understanding of the origin of cancerous diseases and their evolution.

Specifically, the technology of the organoid culture that we used on the 3D-Hub-O platform, consists in 1. isolating a population of cells containing stem cells from the tissue of interest and 2. Defining the best growing media conditions to form organoids that resemble histologically and functionally specific organs or tumors. We have expertise in growing organoids from mouse and human gastrointestinal tissues from normal and tumoral biopsies (stomach, intestine, colon, rectum, anus), normal mammary gland and recently human lung tumors.

The organoid technology has provided a perfect tool to get as close as possible to the tissue of origin because epithelial diversity and functions are maintained in culture. Growth factors provided in the organoid culture media mimic the mesenchymal niche and allow epithelial cells to survive long-term. However, not all cell types in the normal and tumoral microenvironment can be replaced by growth factors. 3D-Hub-O intends also to improve the co-culture of various stromal cells in the organoids culture including immune cells (such as T lymphocytes, macrophages) with the epithelial cells.

Agnes WIEDEMANN / Les organoïdes: un modèle alternatif aux infections in vivo

Agnès Wiedemann

UMR 1220 IRSD, Hôpital Purpan, Toulouse

intestin, pathogènes entériques, interactions

Introduction. L'analyse des interactions entre les cellules et des agents pathogènes entériques nécessite l'accès aux tissus primo-infectés tel que l'épithélium intestinal de l'animal. Ceci a été entravé par le manque de systèmes appropriés de culture de l'épithélium intestinal. Notre objectif a été de développer la culture d'organoïdes dérivés de cryptes intestinales afin d'étudier les interactions de Salmonella Typhimurium avec l'épithélium intestinal nécessaire à l'établissement de l'infection.

Matériels et Méthodes. Le modèle organoïde gastro-intestinal repose sur les capacités des cellules souches à se renouveler et à se différencier en diverses populations cellulaires reconstituant in vitro l'intestin dont elles ont été isolées et mimant l'organisation de l'épithélium intestinal in vivo.

Résultats. Ce modèle a permis d'étudier le caractère invasif de Salmonella Typhimurium du côté apical (infections d'organoïdes en 2Dimension) et basolatéral (infections d'organoïdes en 3Dimension) de l'intestin, ainsi que son impact sur la croissance et la différenciation des cellules constituant l'épithélium intestinal par analyse transcriptomique.

Conclusion : Jusqu'à présent, les effets pathologiques des organismes infectieux étaient étudiés dans des modèles animaux et des lignées de cellules. Cette nouvelle approche permet une étude plus représentative des interactions cellules-pathogènes et de réduire l'utilisation d'animaux.

Jean-Philippe HUGNOT / A Biobank of IDH1-Mutant Cell Lines for Studying Tumor Heterogeneity, Progression, and Target Identification in Gliomas

JP Hugnot, L Garcia, D Pineau, K Aguilar, H Duffau

IGF CNRS INSERM Montpellier

Mots-clés : brain tumors, IDH1, low grade gliomas, biobank, 3D culture

Diffuse low grade gliomas are grade II brain tumors mainly affecting young patients. Most of these tumors have a mutation in the IDH1 gene (isocitrate dehydrogenase 1) gene causing differentiation defects and cell accumulation in the brain. These tumors are classified as astrocytomas or oligodendrogliomas and often progress into high grade gliomas (i.e IDH1-mutant grade IV astrocytomas and grade III oligodendrogliomas). We and others have shown that IDH1-mutant diffuse low grade gliomas contain 3 types of tumoral cells, resembling astrocytes, oligodendrocytes and neural progenitors, the formation of which is regulated by Notch signaling (Augustus et al, 2021, Cells, Suvà et al, 2020, Cancer Cell). There is a significant lack of cellular tools to study these tumors in vitro, hindering the development of new therapies. We aimed to address this by creating a fully annotated biobank of IDH1-mutant cell lines derived from different grades of tumors and carrying various rare mutations. We also aimed at embedding these cell lines in matrigel to generate 3D cultures (tumoroïdes) and see whether the cells are able to self-organize and differentiate. Last we wanted to incorporate these cells in human mini-brains derived from iPS cells to see whether they can interact with neurons.

We derived and collected 8 IDH1-mutant cell lines (4 astrocytomas grade II/III/IV and 4 grade III oligodendrogliomas). These cell lines were characterized using bulk RNA sequencing under different culture conditions, single-cell RNA sequencing to determine their cellular heterogeneity, and immunofluorescence and western blotting.

Our findings show that these IDH1-mutant cell lines exhibit different growth rates and morphologies and are phenotypically related to brain radial glial cells, oligodendrocyte progenitor cells, or more mature oligodendrocytes. Some of these cell lines are multipotent and contain astrocyte-like and oligodendrocyte-like cells. Our current work aims to purify different cell subpopulations to study their properties and plasticity. Additionally, we are analyzing pathways and differentially expressed genes involved in IDH1-mutant cell quiescence and malignant progression. We also assessing the behaviors of these cell lines in 3D.

In summary, we present a novel and deeply-annotated biobank of 8 IDH1-mutant cell lines derived from different grades of gliomas, providing an invaluable resource to study the cellular and molecular heterogeneity of IDH1-mutant gliomas, their progression to high-grade gliomas, and the identification of new therapeutic targets. We anticipate that our biobank may facilitate the development of personalized medicine for patients with IDH1-mutant gliomas and accelerate the discovery of new therapeutic strategies.

Agnès DROCHON / Hydrodynamique dans les vaisseaux sanguins et implications possibles dans la recherche en cancérologie

Agnès Drochon

Laboratoire I2M (Institut de Mécanique et Ingénierie, UMR CNRS 5295) , Bordeaux-Talence

Mots-Clés: Vascularisation, métastases, contraintes mécaniques, paroi vasculaire, délivrance de médicaments, champs magnétiques

Dans une perspective de discussions multidisciplinaires, un travail de veille scientifique sera présenté pour montrer comment la connaissance et la maîtrise des écoulements aux abords et dans les tumeurs peuvent être utiles pour des recherches en cancérologie.

On peut en effet citer différentes stratégies faisant l'objet de travaux actuellement:

- le transport et relargage ciblé de substances médicamenteuses ou produits de contraste par des nano-vecteurs
- les études sur la perméabilité vasculaire pour les échanges entre l'intérieur des vaisseaux et les tissus environnants
- l'imagerie IRM des tumeurs et de leur vascularization
- le chauffage localisé de la tumeur à l'aide de nanoparticules magnétiques
- l'utilisation de nano-particules qui absorbent les rayons X en radiothérapie dans le but d'augmenter leur efficacité en libérant une quantité importante d'énergie dans les cellules cancéreuses
- le contrôle de l' angiogenèse tumorale, pour empêcher le développement de nouveaux vaisseaux sanguins et priver la tumeur d'oxygène et de nutriments
- la compréhension de l'extravasation des cellules tumorales circulantes grâce à des modèles microfluidiques de "vaisseaux sur puces", dans le but de lutter contre la dissémination des métastases
- les approches de "médecine personnalisée", basées sur des modèles in vivo ou in silico représentatifs des conditions cliniques.

Géraldine ALBEROLA / Electrotransfert de molécules dans un modèle de peau reconstruite

Géraldine Albérola, Elisabeth Bellard, Muriel Golzio, Marie-Pierre Rols.

IPBS-CNRS-Université de Toulouse

Mots-clés: substitus cutanés, transfert de macromolécules, électroporation

Les champs électriques sont utilisés en médecine dans le cadre de l'électro-chimiothérapie et de l'électrotransfert d'ADN. Leur utilisation est principalement localisée au niveau de la peau, qui constitue un organe de choix, de par son accessibilité, sa grande surface, sa vascularisation et son système immunitaire.

Pour mieux comprendre les limites et améliorer le transfert de molécules, nous avons mis au point un système 3D de peau reconstruite contenant un derme et un épiderme différencié. Ce modèle a été validé par différentes méthodes (marqueurs biologiques, paramètres électriques), ce qui nous permet d'avoir accès à un modèle complexe mimant l'in-vivo.

Dans ce projet, nous utilisons ce modèle pour étudier le transfert de molécules par électroporation. Nous utilisons des molécules de différentes tailles et charges en jouant sur les paramètres électriques EGT et le type d'électrode. Les premiers résultats montrent que la couche cornée devient perméable aux petites molécules (inférieur à 500 Da) lors d'application de champs électrique, ce qui n'est pas le cas pour les grosses molécules comme l'ADN plasmidique.

Ces travaux vont permettre de répondre à différentes questions telles que :

- Est-ce qu'il y a une modification de la fonction « barrière » de la peau ?
- Existe-t-il une désorganisation des jonctions intercellulaires au niveau de l'épiderme ?

Justine CREFF / "Cracking" the gut epithelium: using 2D intestinal organoids to study impact of cell heterogeneity

Justine Creff (1), Salomé Neuvendel (1), Sandra Bernat-Fabre (1), Shi-Lei Xue (2), Edouard Hannezo (2), Denis Krndija (1)

(1) MCD - Molecular, Cellular and Developmental Biology Department (MCD), Centre de Biologie
(2) Integrative (CBI), University of Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France. – France
Institute of Science and Technology Austria (ISTA), Vienna, Austria – Austria

Epithelia are specialized tissue barriers, guarding the organism's interior environment from external factors. The gut epithelium is one of the largest epithelial surfaces in the body, constantly exposed to numerous chemical, biological and mechanical challenges. The intestinal barrier role is mainly attributed to enterocytes, which are the predominant cell type (90%), and are characterized by a polygonal and columnar shape. The less-abundant goblet cells, interspersed between enterocytes, are secretory cells with a round apical cell shape and an extremely bulky body, filled with mucus granules. How epithelial cell-cell adhesions are maintained at the boundary of two different cell types with such distinct morphologies is an open question. Our *in vivo* studies show that goblet cells are physically associated with striking fractures of tight junctions (TJs) in the neighboring enterocytes, under homeostatic conditions.

Here we report that we have successfully replicated these observations *in vitro* using 2D organoid monolayer model which retains epithelial cell heterogeneity while excluding other tissues, allowing us to more easily address the mechanism of this process. We find that TJ fractures are paralleled by E-cadherin accumulation at the intact adherens junctions (AJs), suggesting a role of tensile/pulling forces. At the same time, the bulky barrel-like body of goblet cells deforms the adjacent cells, suggesting a role for pressure/pushing forces.

To test the role of goblet cell volume in organoids, we shifted the differentiation process toward goblet cells, mimicking goblet cell hyperplasia and hypertrophy, which is present in IBD and upon parasitic infections *in vivo*. Interestingly, we found that increased goblet cell number and volume leads to more severe fracturing of TJs and AJs in neighboring enterocytes, pointing to a critical mechanical role for mucus volume/pressure in junctional fracturing. The results of 2D organoid studies were validated in the mouse model *in vivo*, indicating that the goblet-associated fracturing phenomenon depends on the intrinsic mechanical properties of the gut epithelium.

Finally, we are developing a biophysical model to understand at the subcellular and cellular level the balance of pulling and pushing forces that could lead to junctional rupture, and thus decipher how this critical tissue barrier is challenged by cell type heterogeneity in gut homeostasis.

Thomas JUNGAS / Pôle hiPSCs et organoïdes neuraux

Mondesert O. et Jungas T.

Unité Molecular, Cellular and Developmental biology (MCD), Centre de Biologie Intégrative (CBI), UMR 5077 CNRS-Université Paul Sabatier, Toulouse

Mots-clés : Cellules souches pluripotentes humaines (hiPSCs), Organoïdes neuraux corticaux, glioblastomes

Au sein de l'Unité MCD-CBI, nous bénéficions d'un pôle d'expertise dédié à la culture des cellules souches humaines induites, de leurs dérivés et du modèle des organoïdes neuraux corticaux. Ce pôle permet l'initiation de projets scientifiques, la formation et la mise en autonomie des utilisateurs, la réalisation de projets collaboratifs et le développement de nouveaux modèles expérimentaux.

Les cellules souches humaines induites (hiPSCs) utilisées pour les différents projets dérivent de biopsies de donneurs sains ou de patients présentant des pathologies neurodéveloppementales. Les approches développées dans ce pôle permettent la modélisation in vitro du développement du cerveau humain, par l'utilisation de culture 2D et 3D. Elles permettent également d'étudier les mécanismes moléculaires et tester des approches thérapeutiques dans la lutte contre les cancers du cerveau.

Je présenterai les expertises scientifiques et technologiques développées au sein de ce pôle, notamment la culture 2D de progéniteurs neuraux, d'astrocytes et de neurones dérivés d'hiPSCs. Je présenterai également le modèle 3D des organoïdes neuraux corticaux humains et comment nous l'utilisons pour tester, en alternative aux modèles animaux, des approches thérapeutiques innovantes dans la lutte contre les cancers du cerveau.

Posters

Géraldine ALBEROLA / Electrotransfert de molécules dans un modèle de peau reconstruite

Géraldine Albérola, Elisabeth Bellard, Muriel Golzio, Marie-Pierre Rols.

IPBS-CNRS-Université de Toulouse

Mots-clés: substitus cutanés, transfert de macromolécules, électroporation

Résumé: Les champs électriques sont utilisés en médecine dans le cadre de l'électro-chimiothérapie et de l'électrotransfert d'ADN. Leur utilisation est principalement localisée au niveau de la peau, qui constitue un organe de choix, de par son accessibilité, sa grande surface, sa vascularisation et son système immunitaire.

Pour mieux comprendre les limites et améliorer le transfert de molécules, nous avons mis au point un système 3D de peau reconstruite contenant un derme et un épiderme différencié. Ce modèle a été validé par différentes méthodes (marqueurs biologiques, paramètres électriques), ce qui nous permet d'avoir accès à un modèle complexe mimant l'in-vivo.

Dans ce projet, nous utilisons ce modèle pour étudier le transfert de molécules par électroporation. Nous utilisons des molécules de différentes tailles et charges en jouant sur les paramètres électriques EGT et le type d'électrode. Les premiers résultats montrent que la couche cornée devient perméable aux petites molécules (inférieure à 500 Da) lors d'application de champs électrique, ce qui n'est pas le cas pour les grosses molécules comme l'ADN plasmidique.

Ces travaux vont permettre de répondre à différentes questions telles que :

- Est-ce qu'il y a une modification de la fonction « barrière » de la peau ?
- Existe-t-il une désorganisation des jonctions intercellulaires au niveau de l'épiderme ?

Sylvia BARDET / Imagerie multiphotonique de la vascularisation tumorale après xénogreffe sur membrane chorioallantoïdienne aviaire

Sylvia M Bardet, Marie-Laure Perrin, Abdelkader Taibi, Sylvaine Durand-Fontanier et Catherine Yardin

Xlim CNRS, Université de Limoges

Mots-clés : Membrane chorioallantoïdienne, xénogreffe, Cancer, vascularisation, traitements anti-tumoraux

L'histoire des traitements contre le cancer remonte au développement du microscope et à l'amélioration de la chirurgie, les principaux outils toujours d'actualité, suivie par la période post 2ème guerre mondiale avec l'avènement de la chimiothérapie et de la radiothérapie qui ont dès lors été utilisées intensivement. En toute logique, le XXIème siècle a vu l'arrivée de la médecine personnalisée et des traitements adaptés au fur et à mesure que la connaissance sur les sous-types cancéreux et leur classification évoluaient. De nos jours, la thérapie générique a ainsi été abandonnée au profit d'une ou plusieurs interventions, combinant chirurgie, thermo-, radio- ou chimiothérapie, permettant une prolongation considérable de la vie du patient et l'amélioration de sa qualité de vie, diminuant la souffrance, la douleur et les atteintes psychologiques.

Ainsi, pour mieux cerner l'efficacité dans le traitement par chimiothérapie ou électrothérapie de tumeurs solides, nous avons développé un système d'exposition aux champs électromagnétiques (20ns, 150kV/cm) de tissus biologiques dans un modèle in vivo en 3D. Nous avons utilisées des outils de microscopie multiphotonique et de l'imagerie intra-vitale pour étudier les mécanismes affectant la physiologie de la cellule et le microenvironnement sur des xénogreffes de cellules U87 issues de glioblastome humain dans la membrane chorio-allantoïde aviaire (CAM) en temps réel. Cette méthodologie nous a permis d'étudier in vivo 1) la dosimétrie de l'échantillon exposé, et 2) le niveau de réponse du microenvironnement tumoral, lorsque la tumeur est vascularisée et prolifère en 3D.

Sabine CHAPUY-REGAUD / Etude de la libération vectorielle du virus de l'hépatite E dans un modèle d'organoïdes intestinaux et effets de la ribavirine

Sarah Sadeghi(1), David Sagnat(2), Claire Allieux(1), Nathalie Vergnolle(2), Jacques Izopet(1,3), Sabine Chapuy-Regaud(1,3)

(1) Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires (Infinity), INSERM UMR1291, CNRS UMR 5051, Université Toulouse III, Toulouse

(2) Institut de Recherche en Santé Digestive (IRSD) INSERM UMR 1220, INRA UMR 1416, ENVT, Toulouse

(3) Laboratoire de Virologie, CHU Toulouse

Mots clés : virus de l'hépatite E (HEV), organoïdes intestinaux, ribavirine, polarisation épithéliale

Le virus de l'hépatite E (HEV) est la cause la plus fréquente d'hépatites aiguës dans le monde. Il est classé dans la famille des Hepeviridae, et les souches infectant l'homme appartiennent à l'espèce *Paslahepevirus balayani*. Il s'agit d'un virus à ARN simple brin de polarité positive, transmis par voie fécale-orale. Les génotypes 1 et 2 causent des hépatites fulminantes chez la femme enceinte, les génotypes 3 et 4 des hépatites chroniques chez la personne immunodéprimée. La ribavirine est le traitement de référence de l'hépatite E chronique, mais on observe environ 10% d'échecs au traitement, exposant les patients au risque de cirrhose. Le HEV a un tropisme large et est capable de se répliquer dans le foie mais aussi dans les cellules intestinales. Nos travaux ont montré que les entérocytes primaires polarisés peuvent être infectés par le HEV.

Alors que les particules HEV sont majoritairement libérées du côté apical (lumière), le traitement par la ribavirine conduit à une diminution de la quantité d'ARN HEV libérée du côté basolatéral, mais modifie peu la libération apicale. Chez les patients immunodéprimés chroniquement infectés, le tractus digestif pourrait ainsi constituer un réservoir viral vis-à-vis duquel la ribavirine ne serait pas complètement efficace. A ce jour, un système de culture intestinale robuste manque pour reproduire l'infection et étudier les étapes du cycle viral. Les organoïdes intestinaux présentent l'avantage de reproduire in vitro les caractéristiques de l'épithélium polarisé, notamment son caractère pluricellulaire.

Nous avons infecté des organoïdes intestinaux humains par la souche de HEV de laboratoire Kernow-C1 p6 et analysé la cinétique de production d'ARN viral dans les surnageants de culture. Nous retrouvons une libération apicale d'ARN viral. Le type de cellules infectées au sein de l'épithélium sera déterminé par double marquage en immunofluorescence des protéines virales et l'effet de la ribavirine sur l'infection analysé. Ce projet permettra d'avancer dans la compréhension des mécanismes de persistance du HEV chez les patients immunodéprimés au travers du rôle du tractus intestinal et de l'impact de la ribavirine, et fournira un outil pour envisager de nouvelles pistes thérapeutiques.

Romina D'ANGELO / A Working Group to Help you Make « Transparisation », Clearing an Effective Tool

Romina D'Angelo, Pierre Affaticati, Katia Belcram, Chloé Chaumeton, Laurence Dubreil , David Godefroy, François Michel, Matthieu Simion, Jérémie Teillon

SigDYN/CRCT-Toulouse, Tefor - Paris Saclay, APEX UMR703 - Nantes, NorDic U1239 - Rouen, InMAGIC - Marseille, MIMA2 - Jouy en Josas, BIC – Bordeaux

Mots-clés : Imagerie 3D / Transparisation / microscopie

The « Transparisation »/Clearing methods make biological samples transparent allowing unprecedented three-dimensional imaging of very large tissues.

Our working group's aim is to help the community to discover the extraordinary potential of "transparisation" techniques and to make the clearing process less "opaque".

We carry out different actions and pay particular attention on subjects and samples transversality (from methodology up to data management; from tissues-organs up to in toto organisms including plants).

Our main actions are :

- to establish tutorials ("Beginner's Kit") and " Experts Interactive Map" shared online
- to promote, with the participation of recognized specialists in the field, thematic days
- to organize training sessions on the Clearing approaches, microscopes and mounting strategies depending on the type of the samples and 3D images processing
- to inform and discuss about new developments in this field

Practical tutorials : <http://rtmfm.cnrs.fr/documentation/gt-transparisation>

Experts Interactive Map : <https://experts.tefor.net/transparisation>

Hinda DABBOUE / Alternatives models to animal experimentation: Ex Vivo Franz cell and Ex Ovo vascularized organoid

H. Dabboue¹, I. Pujalté², N. Masurier¹, N. Builles³, J-P. Moles⁴, P. Nirdé¹, P. Cuq¹

¹ University of Montpellier IBMM UMR5247, Montpellier, hinda.dabboue@umontpellier.fr

² Hydrosience, UMR 5151, Montpellier

³ Tissue Bank and CCBHM biobank, Saint Eloi hospital, Montpellier

⁴ INSERM UMR 1058, Montpellier

Keywords: Franz cell, xenobiotic, xenograft, chorioallantoic membrane, transcutaneous passage, cell carcinomas, vascularized organoid

Two alternative models to animal experimentation have been developed: the Ex Vivo Franz cell model for studying short-term transdermal drug delivery, and the Ex Ovo chorioallantoic membrane model for assessing both the therapeutic efficacy of a drug on vascularized human xenografts and their safety. With Ex Vivo models, we compared how the components were absorbed and distributed on healthy and damaged skin. The Absorption of N,N-diethyl-m-toluamide, a topical insect repellent, was quantitatively assessed by HPLC analysis on both intact and damaged skin. The study demonstrated that skin injury results in a significant increase in DEET penetration, which may contribute to the repellent's toxicity. This model could be used in different skin diseases where the fate of drugs on the skin is wanted. In the Ex Ovo model, the CAM are used as vascular support to accommodate suspension cells organized into vascularized organoids or xenografts from human biopsies. Intravital techniques can be used to monitor the toxicity of molecules on organoids or functional tissues in a vascular environment. By grafting skin onto the CAM, we have demonstrated that bidirectional chemical exchanges occurred between the vascularized implant and the bloodstream of the egg. The treatment of pathological human skin grafted intravenously from the CAM, with a reference drug against squamous cell carcinoma, leads to an improvement in the pathological state of the skin, highlighting that the CAM model is effective. The complementary approaches allow for a comprehensive evaluation of the novel molecules.

Fabien GAVA / Multicellular aggregates of lymphoma cells (MALC) and Patient-Derived Lymphoma Spheroids (PDLS) as 3D preclinical B-cell non-Hodgkin lymphoma models for personalized medicine

Fabien Gava*,1-4, Carla Faria*,1-4, Léa Rimailho, 1-4, Amandine Prioux-Quartier, 1-4, Sonia Quertinmont, 1-4, Pauline Gravelle,1-5 Juan García-Valero,6,7 Celia Dobaño-López,6,7 Nathalie Van Acker,5,8 Cathy Quelen,1-5 Gael Jalowicki,2,5 Renaud Morin,9, Marine Norlund,9, Aurélie Gomes,9, Laetitia Pieruccioni, 12, Jacques Rouquette, 12, Julie Bordenave, 1-4, Cédric Rossi,10 Jean-Michel Lagarde,9 Jean-Jacques Fournié,1-4 Loïc Ysebaert,1-4,11 Camille Laurent,1-5,8 Patricia Pérez-Galán,6,7, and Christine Bezombes,1-4,§

1 Université de Toulouse, Inserm, CNRS, Université Toulouse III-Paul Sabatier, Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse. 2 IUCT-Oncopole, Toulouse. 3 Laboratoire d'Excellence 'TOUCAN-2', Toulouse. 4 Institut Carnot Lymphome CALYM. 5 Department of Pathology, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse, CHU Toulouse. 6 Department of Hemato-Oncology, IDIBAPS, Barcelona, Spain. 7 Centro de Investigación Biomédica en Red-Oncología (CIBERONC), Madrid, Spain. 8 Imag'IN Platform, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse, CHU Toulouse. 9 IMACTIV-3D, Toulouse. 10 Department of Hematology, Hôpital François Mitterrand and U1231 INSERM, Dijon. 11 Department of Hematology, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse, CHU Toulouse. 12 RESTORE Research Center, Université de Toulouse, INSERM, CNRS, EFS, ENVT

*Co-first authors § Corresponding author

Mots-clés: 3D models, B-cell non-hodgkin Lymphomas, personalized medicine, drug testing, 3D imaging, screening

Follicular lymphoma (FL) and Diffuse Large B Cells Lymphoma (DLBCL) are two lymphoproliferative disorders of transformed B cells, which account for 50-60 percent of all non-Hodgkin lymphoma (NHL) cases. Although considerable efforts have been made in drug development, these diseases still remain incurable as characterized by repeated relapses. Thus, new therapeutic targets are needed to be identified in pre-clinical models. Very few relevant models for in vitro studies have been developed and characterized in depth.

To this purpose, we generated an easy to handle, inexpensive, robust, and reliable method to produce a scaffold-free 3D cell model either from B-NHL cell lines (Multicellular Aggregates of Lymphoma Cells-MALC) or patient's primary cells (Patient-Derived Lymphoma Spheroids-PDLS) cultured in ultra-low attachment 96-well plates. Each model exhibits different advantages/properties depending on the biological question, such as easy handling of co-cultures for MALC or tumor immune microenvironment integration for PDLS.

Based on various 2D/3D imaging techniques (High Content Screening microscope, immunohistochemistry, confocal, clearing and light sheet microscopy, ...), RNAsequencing and multiparametric flow cytometry analyses, we are able to assess morphological, phenotypic features and biologic characteristics of the models but also to monitor the response to various treatments (drugs, immunotherapies ...).

Altogether, we believe that MALC and PDLS with their full characterization, represent relevant pre-clinical NHL models and are very useful as preclinical tool in personalized medicine.

Jean-Philippe HUGNOT / A Biobank of IDH1-Mutant Cell Lines for Studying Tumor Heterogeneity, Progression, and Target Identification in Gliomas

JP Hugnot, L Garcia, D Pineau, K Aguilar, H Duffau

IGF CNRS INSERM Montpellier

Mots-clés : brain tumors, IDH1, low grade gliomas, biobank, 3D culture

Diffuse low grade gliomas are grade II brain tumors mainly affecting young patients. Most of these tumors have a mutation in the IDH1 gene (isocitrate dehydrogenase 1) gene causing differentiation defects and cell accumulation in the brain. These tumors are classified as astrocytomas or oligodendrogliomas and often progress into high grade gliomas (i.e IDH1-mutant grade IV astrocytomas and grade III oligodendrogliomas). We and others have shown that IDH1-mutant diffuse low grade gliomas contain 3 types of tumoral cells, resembling astrocytes, oligodendrocytes and neural progenitors, the formation of which is regulated by Notch signaling (Augustus et al, 2021, Cells, Suvà et al, 2020, Cancer Cell). There is a significant lack of cellular tools to study these tumors in vitro, hindering the development of new therapies. We aimed to address this by creating a fully annotated biobank of IDH1-mutant cell lines derived from different grades of tumors and carrying various rare mutations. We also aimed at embedding these cell lines in matrigel to generate 3D cultures (tumoroides) and see whether the cells are able to self-organize and differentiate. Last we wanted to incorporate these cells in human mini-brains derived from iPS cells to see whether they can interact with neurons.

We derived and collected 8 IDH1-mutant cell lines (4 astrocytomas grade II/III/IV and 4 grade III oligodendrogliomas). These cell lines were characterized using bulk RNA sequencing under different culture conditions, single-cell RNA sequencing to determine their cellular heterogeneity, and immunofluorescence and western blotting.

Our findings show that these IDH1-mutant cell lines exhibit different growth rates and morphologies and are phenotypically related to brain radial glial cells, oligodendrocyte progenitor cells, or more mature oligodendrocytes. Some of these cell lines are multipotent and contain astrocyte-like and oligodendrocyte-like cells. Our current work aims to purify different cell subpopulations to study their properties and plasticity. Additionally, we are analyzing pathways and differentially expressed genes involved in IDH1-mutant cell quiescence and malignant progression. We also assessing the behaviors of these cell lines in 3D.

In summary, we present a novel and deeply-annotated biobank of 8 IDH1-mutant cell lines derived from different grades of gliomas, providing an invaluable resource to study the cellular and molecular heterogeneity of IDH1-mutant gliomas, their progression to high-grade gliomas, and the identification of new therapeutic targets. We anticipate that our biobank may facilitate the development of personalized medicine for patients with IDH1-mutant gliomas and accelerate the discovery of new therapeutic strategies.

Thomas JUNGAS / Pôle hiPSCs et organoïdes neuraux

Mondesert O. et Jungas T.

Unité Molecular, Cellular and Developmental biology (MCD), Centre de Biologie Intégrative (CBI), UMR 5077 CNRS-Université Paul Sabatier, Toulouse

Mots-clés : Cellules souches pluripotentes humaines (hiPSCs), Organoïdes neuraux corticaux, glioblastomes

Au sein de l'Unité MCD-CBI, nous bénéficions d'un pôle d'expertise dédié à la culture des cellules souches humaines induites, de leurs dérivés et du modèle des organoïdes neuraux corticaux. Ce pôle permet l'initiation de projets scientifiques, la formation et la mise en autonomie des utilisateurs, la réalisation de projets collaboratifs et le développement de nouveaux modèles expérimentaux.

Les cellules souches humaines induites (hiPSCs) utilisées pour les différents projets dérivent de biopsies de donneurs sains ou de patients présentant des pathologies neurodéveloppementales. Les approches développées dans ce pôle permettent la modélisation in vitro du développement du cerveau humain, par l'utilisation de culture 2D et 3D. Elles permettent également d'étudier les mécanismes moléculaires et tester des approches thérapeutiques dans la lutte contre les cancers du cerveau.

Je présenterai les expertises scientifiques et technologiques développées au sein de ce pôle, notamment la culture 2D de progéniteurs neuraux, d'astrocytes et de neurones dérivés d'hiPSCs. Je présenterai également le modèle 3D des organoïdes neuraux corticaux humains et comment nous l'utilisons pour tester, en alternative aux modèles animaux, des approches thérapeutiques innovantes dans la lutte contre les cancers du cerveau.

Léa MAGNE / Etude des interactions mécaniques entre l'épithélium colique et son environnement

L. Magne^{1,2}, D. Michel¹, J. Laussu¹, S. Segonds², Florian Bugarin², Audrey Ferrand¹

1Institut de Recherche en Santé Digestive, Université de Toulouse, INSERM, INRAE, ENVT, UPS, U1220, CHU Purpan, CS60039, 31024 Toulouse, France

2Institut Clément Ader, Université Fédérale de Toulouse Midi-Pyrénées - CNRS UMR 5312 - UPS/INSA/Mines Albi/ISAE, 3, rue Caroline Aigle, Toulouse 31400, France

Mots-Clés : Organoïdes - Epithélium colique - Analyses d'images - Mécanobiologie - Interactions mécaniques

Comprendre les interactions entre la biologie et la mécanique impliquée dans l'architecture des tissus est un défi, en particulier pour l'organisation tridimensionnelle des tissus. Cela nécessite à la fois un modèle biologique approprié, couplé à des observations en imagerie multi-échelle, et des approches pertinentes permettant d'accéder simultanément à l'altération morphologique du tissu et à l'altération de la matrice de support (en 3D).

Récemment, en utilisant des organoïdes d'épithélium de côlon humain comme modèle biologique combinés à la méthode vertex et la méthode des éléments finis (FEM), nous avons généré un modèle d'éléments finis élastiques complet de l'organoïde, et démontré sa flexibilité. Ce modèle FEM fournit une base pour relier la forme des cellules, la déformation des tissus et la déformation au niveau cellulaire dues à des contraintes imposées. Afin de comprendre les interactions mécaniques entre l'organoïde et sa matrice, nous cherchons maintenant à mettre en œuvre ce modèle dans son environnement 3D. Notre hypothèse est que l'extraction d'informations sur les propriétés mécaniques locales de la matrice au cours de la modification de l'architecture du tissu aide à mettre en œuvre notre modèle numérique. Cela pourrait permettre une meilleure compréhension des événements cellulaires et moléculaires impliqués dans la modification de l'architecture tissulaire.

Nous avons donc travaillé sur des organoïdes d'épithélium de côlon humain en 3D ensemencés dans du Matrigel®. Afin d'obtenir des informations mécaniques sur cette matrice, nous avons ajouté des billes de silice fluorescentes dans le Matrigel. Nous avons combiné ce modèle biologique avec une approche de microscopie confocale en temps réel pour suivre l'évolution de la morphologie des organoïdes et les déplacements spatiaux de la matrice. Ces déplacements spatiaux sont étudiés par corrélation d'images numériques, à l'aide d'un logiciel spécialisé (VicVolume).

L'objectif global de ce travail est de créer un modèle FEM de la matrice et de ses propriétés mécaniques, et de combiner les deux modèles numériques (un pour le tissu, un autre pour la matrice) afin de mieux comprendre les interactions entre l'épithélium colique et son environnement matriciel.

Jean-Max PASQUET / CELL'OXIA : Modélisation de la niche tumorale

A.Villacreces et JM.Pasquet

UAR CRS 3427 / INSERM UMS 005 TBMCore, Université de Bordeaux.

Mots clés : tumeur, modélisation, oxygène, criblage, résistance

Pour être au plus près des conditions physiologiques ou physiopathologiques d'un tissu ou d'un organe les systèmes de culture cellulaire nécessite désormais de maîtriser des paramètres comme la co-culture, la culture en 3D ainsi que les apports en nutriments et en oxygène (O₂) correspondant à un réel niveau physiologique tissulaire comme il l'est préconisé pour la culture des cellules souches ou des IPSc. Associé au fait que l'étude des mécanismes tumoraux et que le développement et l'évaluation de l'efficacité d'un agent thérapeutique in vivo est difficile et coûteuse, il est nécessaire notamment pour les traitements anti-cancéreux, de reproduire au plus juste in vitro la complexité et les échanges au sein d'un tissu. Ce constat nous a conduits dans notre thématique d'onco-hématologie à développer à partir de nos expertises un service de modélisation de la niche tissulaire tumorale.

Nelly PIROT / BTC, Biological Tissue Collection of pre-clinical models to rationalize biomedical research

Alicia SEGUIN 1, 2 , Yaël GLASSON 1 , Jean-Baptiste GINER 3 , Christine CARTIER 3 , Frédéric VIART 3 , Béatrice Orsetti 1, Nelly PIROT 1, 2* & Florence BERNEX 1, 2*

1 Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Univ. Montpellier, Institut du Cancer de Montpellier, INSERM, Montpellier, France

2 BioCampus Montpellier, Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

3 Advanced Solutions Accelerator, Montpellier, France

MOTS CLES: Biobanque expérimentale, Modèles pré-cliniques, Histologie, Blocs paraffine, Lames, Remplacement, Partage

Depuis sa création en 2008, le RHEM (Réseau d'Histologie Expérimentale de Montpellier) assure, grâce à un logiciel de gestion de laboratoire développé à façon (Laboratory Information Management System, LIMS), la traçabilité de tous les échantillons des modèles précliniques générés par les chercheurs montpelliérains (> 100 000 blocs de paraffine). En améliorant ce logiciel et en développant un système de requête électronique, le RHEM a souhaité créer une biobanque expérimentale similaire aux biobanques humaines (dénommé en anglais "Biological Tissue Collection" ou BTC). La BTC consiste en un portail web qui peut être utilisé par l'ensemble de la communauté scientifique internationale pour consulter la base de données. Grâce à ce portail, tout scientifique pourra interroger la BTC selon différents critères (espèce, génotype, gène muté, âge, sexe, organe) et demander des lames histologiques ou copeaux de paraffine à partir des blocs sélectionnés. Les lames histologiques pourront permettre par exemple d'effectuer des analyses histologiques variées telles des immunomarquages simples ou multiplexés, de l'hybridation in situ, de la transcriptomique spatiale, etc.

Le portail de la BTC vise à permettre aux chercheurs de (1) promouvoir une recherche éthique et responsable, conformément à la règle des 3R, en remplaçant les expériences sur les animaux par l'utilisation de lames histologiques provenant de blocs qui ont déjà été générés et regroupés dans une collection biologique précieuse, (2) économiser du temps et de l'argent en évitant de reproduire des expériences qui ont déjà été réalisées, réduisant ainsi le nombre d'animaux utilisés, et (3) encourager la collaboration scientifique par le partage de matériel biologique.

Le site de la BTC (<https://btc.rhem.cnrs.fr/>) a été ouvert au public début mars 2023. Dans un premier temps, il permet d'interroger 25% de la base de données de tissus, soit plus de 25 000 blocs paraffine. 99% d'entre eux proviennent de rongeurs représentant 365 génotypes différents. Ce portail sera complété dans le futur par de nouvelles versions permettant l'intégration de modèles animaux ayant reçu des greffes de cellules humaines/souris ou de tissus humains (Patient Derived Tumor Xenograft models) ainsi que d'autres fonctionnalités de requête.

Cet outil de partage public offrira aux chercheurs de nouvelles possibilités d'étudier l'expression de biomarqueurs dans les tissus de modèles de rongeurs de cancers humains qui sont difficiles d'accès ou coûteux. Nous espérons que cet outil aidera les équipes de recherche à améliorer leur stratégie générale des 3R.

Duvan ROJAS GARCIA / Développement d'une plate-forme de criblage thérapeutique pour les pathologies intestinales grâce à un colon-sur-puce à environnement contrôlé

Duvan ROJAS-GARCIA (1,2), Dimitri Hamel (1,2), Julie Foncy (2), Laurent Malaquin (2), Audrey Ferrand (1)

(1) IRSD, Université de Toulouse, INSERM, INRA, ENVT, UPS, Toulouse, France

(2) LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, F-31400, Toulouse, France

Mots-clés : Système microphysiologique, MPS, microenvironnement, microfluidique, côlon, topologie

L'interaction fonctionnelle entre les différents types de cellules et leur microenvironnement physique et biochimique est essentielle pour établir et maintenir l'homéostasie des tissus intestinaux. Néanmoins, les systèmes de culture in vitro traditionnels en 2D ne permettent pas d'identifier l'impact des aspects mécaniques (rigidité et topologie des matrices) sur le comportement tissulaire. Dans ce contexte, les systèmes microphysiologiques (MPS) semblent plus pertinents car ils permettent le contrôle de paramètres spécifiques, dont la topologie des tissus et leur rigidité, mais aussi la distribution du flux de nutriments.

Ainsi, nous proposons un système microphysiologique de type côlon humain, mimant in vitro le microenvironnement 3D de l'épithélium colique, y compris sa topologie et sa rigidité matricielle de support. Ce MPS intègre une chambre microfluidique qui permet un contrôle actif à la fois de l'environnement apical/luminal et basal/stromal par injection, la récupération d'échantillons, la diffusion des composants du canal basal vers l'apical, ainsi que l'imagerie in situ des tissus.

Ce dispositif représente un outil intéressant pour le criblage de nouvelles cibles thérapeutiques, pour la compréhension du tissu d'un point de vue mécano-biologique ainsi que pour l'étude de l'impact du microbiote, des agents pathogènes et des nutriments sur l'épithélium du côlon.

David SAGNAT / Les organoïdes : les applications d'un modèle alternatif innovant

David Sagnat (1), Claire Racaud (2), Nicolas Gatimel (3), Guillaume Perez (3), Eric Huyghe (3), Van-Thi Dang (3), Nathalie Vergnolle (1,2)

(1) INSERM U1220, Institut de Recherche en Santé Digestive, plateforme organoïdes, Toulouse

(2) INSERM U1220, Institut de Recherche en Santé Digestive, équipe Nathalie Vergnolle, Toulouse

(3) INSERM/UT3/Université de Montpellier U1203, Equipe Développement embryonnaire

Mots-clés : organoïdes, tractus digestif, maladies inflammatoires, transwell, co-cultures

La plateforme organoïdes de Toulouse (TOP) existe maintenant depuis 6 ans. Forte de son expertise sur les organoïdes, elle offre à la communauté scientifique une expertise notamment sur les organoïdes intestinaux grâce à des formations, prestations ou collaborations. Dans ce poster, j'évoquerai les différentes fonctionnalités que nous sommes capables de reproduire au sein des organoïdes (résistance épithéliale, pluricellularité, couche de mucus, gonflement/absorption, cocultures avec différents types cellulaires ou microbiens) mais également les différents types d'organoïdes que nous sommes capables de mettre en culture (colon, iléon, épидидymes, trompes de Fallope, rectum) ainsi que les différentes pathologies d'intérêt (IBD, IBS, cancer, mucoviscidose).

Maleaume SOULARD / "Organoides tumoraux et bioimpression 3D", Développement d'une nouvelle plateforme à Poitiers

Maleaume Soulard, Konstantin Masliantsev, Lucie Karayan-Tapon et Pierre-Olivier Guichet

Université de Poitiers, CHU de Poitiers, ProDiCeT, Poitiers, France; Laboratoire de Cancérologie Biologique, CHU de Poitiers, Poitiers, France.

Mots-clés : Organoides, tumoroïdes, cellules souches tumorales, Bioimpression 3D

En réponse à un besoin scientifique et technologique afin de consolider les expertises et fédérer la recherche en oncologie sur le site de Poitiers, une nouvelle plateforme dédiée à la genèse d'organoides tumoraux par bioimpression 3D a été créée avec le soutien du Cancéropole GSO et de l'Université de Poitiers. Actuellement, des essais sont en cours avec différents paramétrages de la bioimprimante 3D notamment afin d'étudier dans un premier temps l'interface entre cellules tumorales et cellules du microenvironnement.

Participant's list

Name	Lab	City	Email
Géraldine ALBEROLA	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	Geraldine.Alberola@ipbs.fr
Nathalie ALLAIN	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	nathalie.allain@u-bordeaux.fr
Patrick AUGUSTE	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	patrick.auguste@inserm.fr
Sylvia BARDET	XLIM Limoges	LIMOGES	sylvia.bardet@unilim.fr
Serge BATTU	Contrôle de l'Activation cellulaire, Progression Tumorale et Résistance thérapeutique	LIMOGES	serge.battu@unilim.fr
Gaëlle BEGAUD	Contrôle de l'Activation cellulaire, Progression Tumorale et Résistance thérapeutique	LIMOGES	gaelle.begaud@inserm.fr
Christine BEZOMBES	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	christine.bezombes@inserm.fr
Thibaut BLONDY	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	thibaut.blondy@inserm.fr
Maxime BOYER	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	maxime.boyer@inserm.fr
Laurence BRESSON-BEPOLDIN	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	laurence.bresson-bepoldin@inserm.fr
Sabine CHAPUY-REGAUD	Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires	TOULOUSE	chapuy-regaud.s@chu-toulouse.fr
Céline COUGOULE	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	celine.cougoule@ipbs.fr
Sarah COURTOIS	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	sarah.courtois@u-bordeaux.fr
Justine CREFF	Unité de biologie moléculaire, cellulaire et du développement, Centre de Biologie Intégrative	TOULOUSE	justine.creff@univ-tlse3.fr
Hinda DABBOUE	Institut des Biomolécules Max Mousseron	MONTPELLIER	hinda.dabboue@umontpellier.fr
Romina D'ANGELO	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	romina.dangelo@inserm.fr
Alexia DE CARO	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	alexia.de-caro@ipbs.fr
Adèle DELAMARRE	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	adele.delamarre@u-bordeaux.fr
Raphaël DEVILLARD	BioTis	BORDEAUX	raphael.devillard@u-bordeaux.fr
Agnes DROCHON	Institut de Mécanique et d'Ingénierie	BORDEAUX	agnes.drochon@u-bordeaux.fr
Noémie DUBRUEL	Centre d'épidémiologie et de recherche en santé des populations	TOULOUSE	dubruel.noemie@hotmail.fr
Cécile ECHALIER	Institut des Biomolécules Max Mousseron	MONTPELLIER	cecile.echalier@umontpellier.fr
Nicolas ESPAGNOLLE	RESTORE research lab	TOULOUSE	nicolas.espagnolle@efs.sante.fr
Lise FENOUE	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier	MONTPELLIER	lise.fenou@inserm.fr

Audrey FERRAND	Institut de Recherche en Santé Digestive	TOULOUSE	Audrey.ferrand@inserm.fr
Fabien GAVA	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	fabien.gava@inserm.fr
Benjamin GINTER	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier	MONTPELLIER	benjamin.ginter@inserm.fr
Sylvie GIURIATO	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	sylvie.giuriato@inserm.fr
Muriel GOLZIO	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	muriel.golzio@ipbs.fr
Céline GONGORA	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier	MONTPELLIER	celine.gongora@inserm.fr
Géraldine GUASCH-GRANGEON	Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille	MARSEILLE	
Pierre-Olivier GUICHET	Progression et dissémination cérébrale des cellules tumorales	POITIERS	pierre-olivier.guichet@inserm.fr
Lucien GUTH	Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes	TOULOUSE	lguth@laas.fr
Jean-Philippe HUGNOT	Institut de Génomique Fonctionnelle	MONTPELLIER	jean-philippe.hugnot@umontpellier.fr
Charlotte JEMFER	Contrôle de l'Activation cellulaire, Progression Tumorale et Résistance thérapeutique	LIMOGES	charlotte.jemfer@unilim.fr
Thomas JUNGAS	Unité de biologie moléculaire, cellulaire et du développement, Centre de Biologie Intégrative	TOULOUSE	thomas.jungas@univ-tlse3.fr
Silvia KOCANOVA	Unité de biologie moléculaire, cellulaire et du développement, Centre de Biologie Intégrative	TOULOUSE	silvia.kocanova@univ-tlse3.fr
Jelena KOLOSNAJ-TABI	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	kolosnjaj@gmail.com
Denis KRNDIJA	Unité de biologie moléculaire, cellulaire et du développement, Centre de Biologie Intégrative	TOULOUSE	denis.krndija@univ-tlse3.fr
Elodie LABIT	Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires	TOULOUSE	elodie.labit@inserm.fr
Alice LEFRIEC	Université Paul Sabatier	TOULOUSE	alice.le-friec@univ-toulouse.fr
Léa MAGNE	Institut de Recherche en Santé Digestive	TOULOUSE	lea.magne@inserm.fr
Océane MARTIN	Institut de Biochimie et Génétique Cellulaires	BORDEAUX	oceane.martin@u-bordeaux.fr
Nicolas MATTEI	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale	TOULOUSE	nicolas.mattei@ipbs.fr
Jean-Max PASQUET	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	jean-max.pasquet@u-bordeaux.fr
Nelly PIROT	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier	MONTPELLIER	nelly.pirot@inserm.fr
Sandrine POGGIO	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	sandrine.poggio@u-bordeaux.fr
Elise PONTHER	Centre de Biologie Intégrative & Laboratoire d'analyses et d'architecture des systèmes	TOULOUSE	elise.ponthier@univ-tlse3.fr

Mary POUPOT	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	mary.poupot@inserm.fr
Amandine PRIOUX-QUARTIER	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	amandine.prioux-quartier@inserm.fr
Sonia QUERTINMONT	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	sonia.quertinmont@inserm.fr
Gaëlle RECHER	Laboratoire Photonique, Numérique, Nanosciences	BORDEAUX	gaelle.recher@institutoptique.fr
Emmanuelle RIAL-SEBBAG	Centre d'épidémiologie et de recherche en santé des populations	TOULOUSE	emmanuelle.rial@univ-tlse3.fr
Léa RIMAILHO	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	lea.rimailho@inserm.fr
Maëlle RODIN	Contrôle de l'Activation cellulaire, Progression Tumorale et Résistance thérapeutique	LIMOGES	maelle.rodin@unilim.fr
Duvan ROJAS GARCIA	Institut de Recherche en Santé Digestive	TOULOUSE	duvan.rojas-garcia@inserm.fr
Marie-Pierre ROLS	Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale IPBS-CNRS	TOULOUSE	rols@ipbs.fr
Lucile ROUYER	BoRdeaux Institute of Oncology	BORDEAUX	lucile.rouyer@inserm.fr
David SAGNAT	Institut de Recherche en Santé Digestive	TOULOUSE	david.sagnat@inserm.fr
Anna SALVIONI	Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse	TOULOUSE	anna.salvioni@inserm.fr
Alicia SEGUIN	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier	MONTPELLIER	alicia.seguin@inserm.fr
Athanassia SOTIROPOULOS JONVEL	Centre Français des 3R	PARIS	
Maleaume SOULARD	Progression et dissémination cérébrale des cellules tumorales	POITIERS	maleaume.soulard@univ-poitiers.fr
Emmanuelle TREVISIOL	Toulouse Biotechnology Institute, bio and chemical engineering	TOULOUSE	emmanuelle.trevisiol@insa-toulouse.fr
Laurence VAYSSE	RESTORE research lab	TOULOUSE	laurence.vaysse@inserm.fr
Pascal VERDIE	Plateforme SynBio3	MONTPELLIER	pascal.verdie@umontpellier.fr
Agnes WIEDEMANN	Institut de Recherche en Santé Digestive	TOULOUSE	agnes.wiedemann@inrae.fr