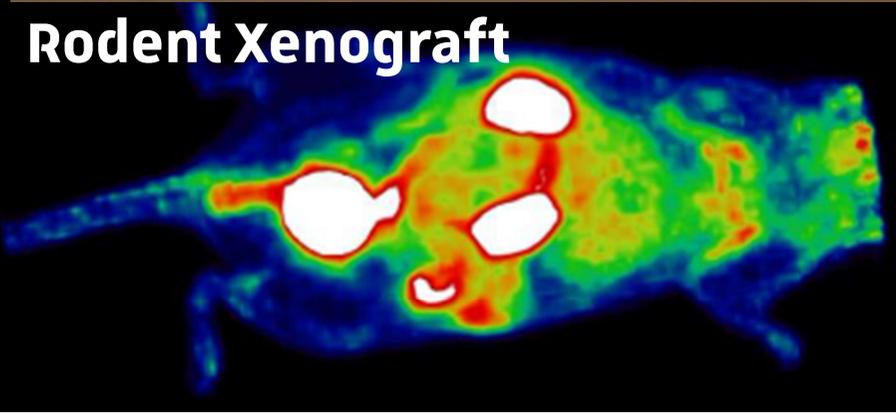
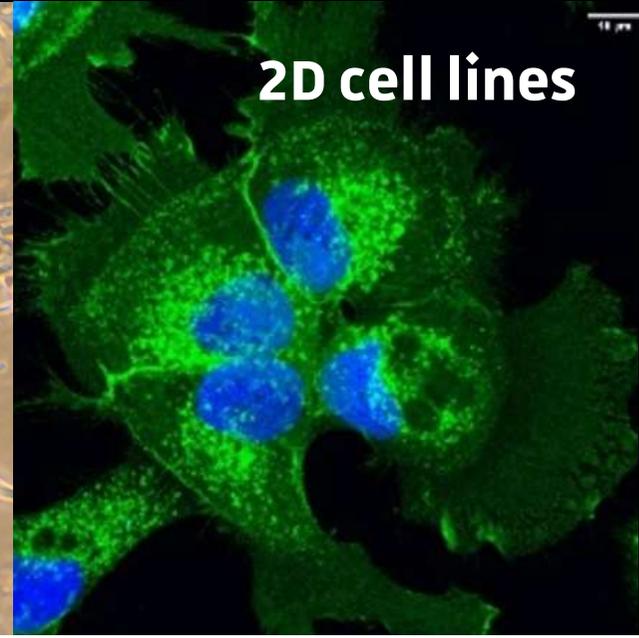
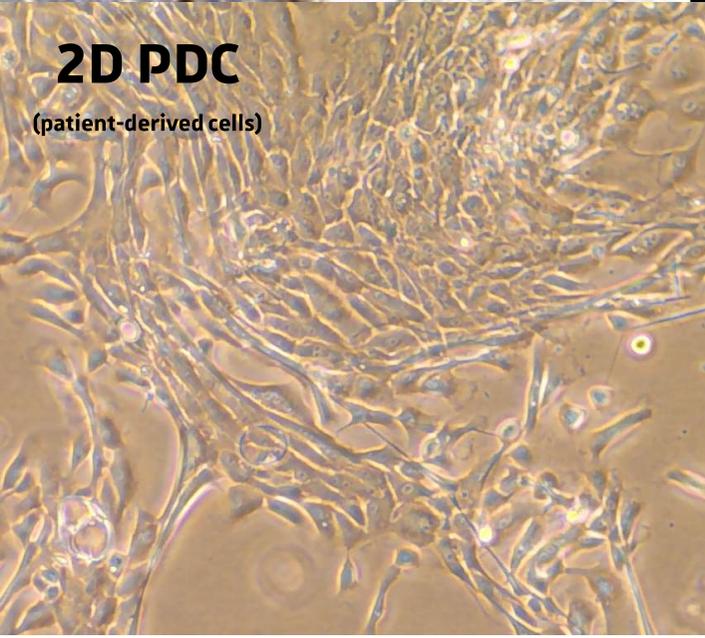
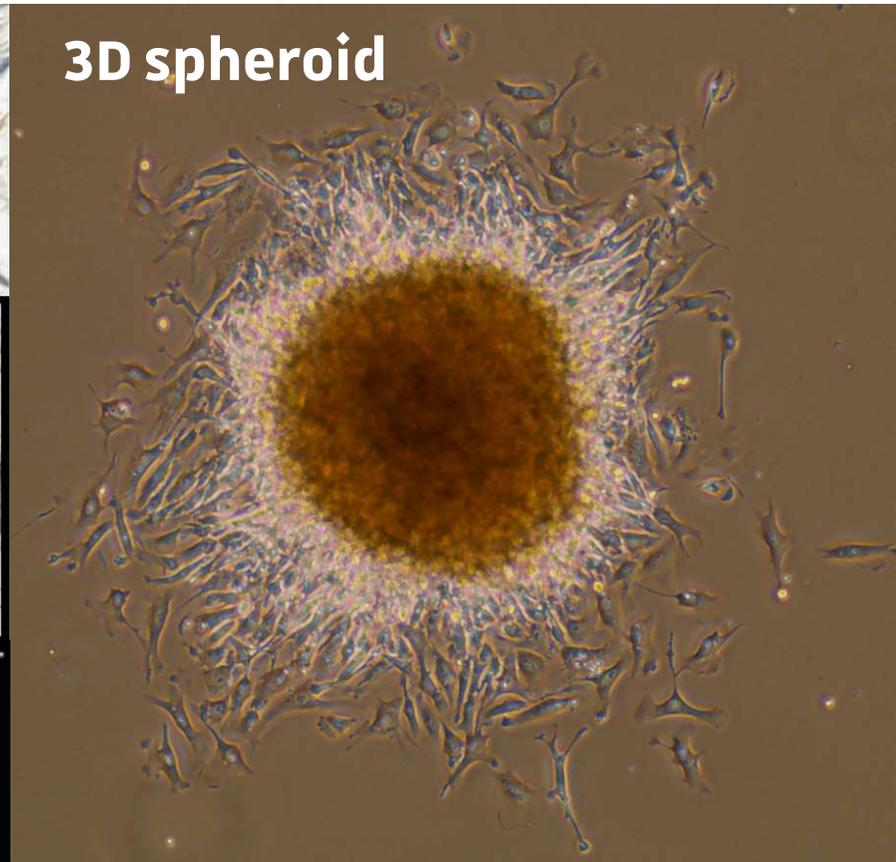
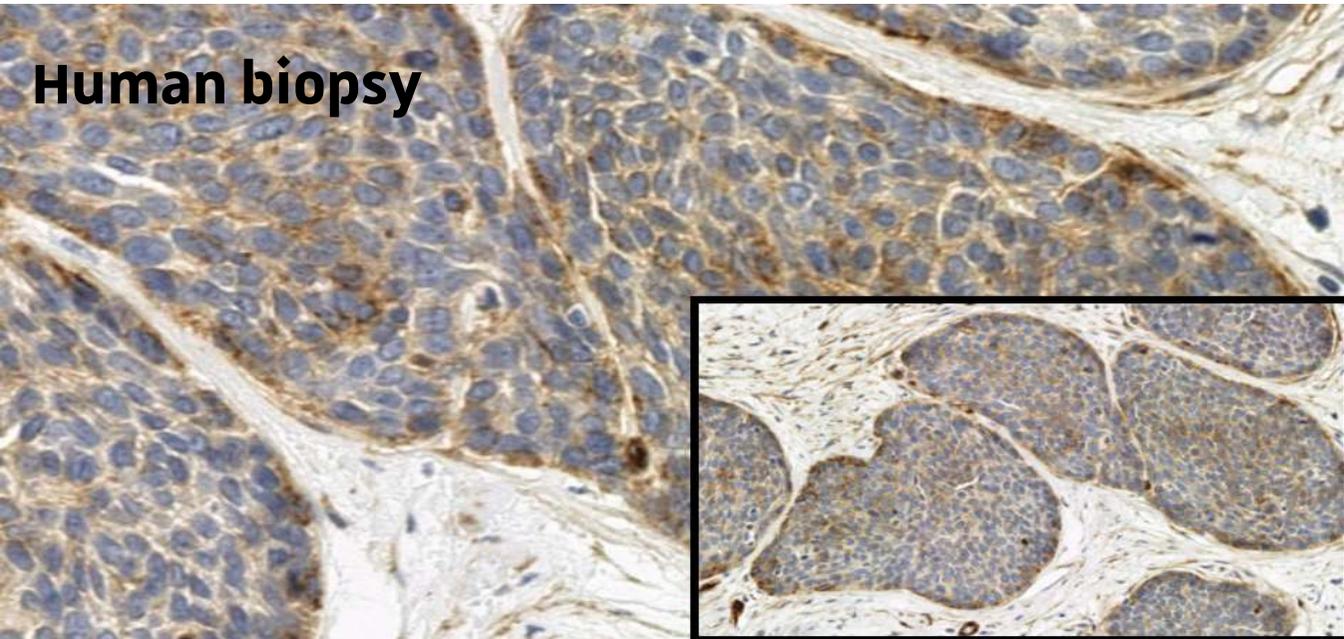
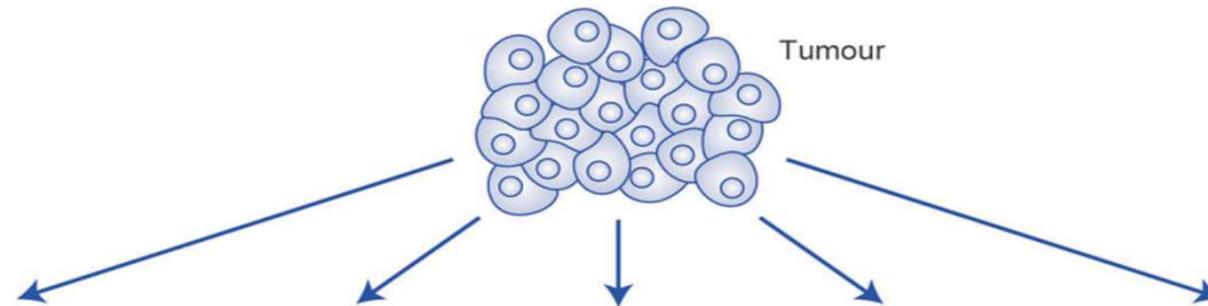


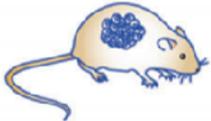
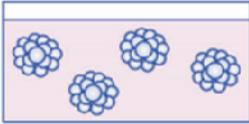
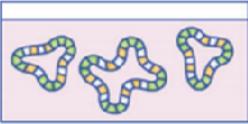
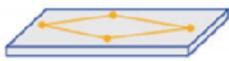
# Successful start: Tips for establishing tumor-derived organoids

Dr Sophie MARTIN

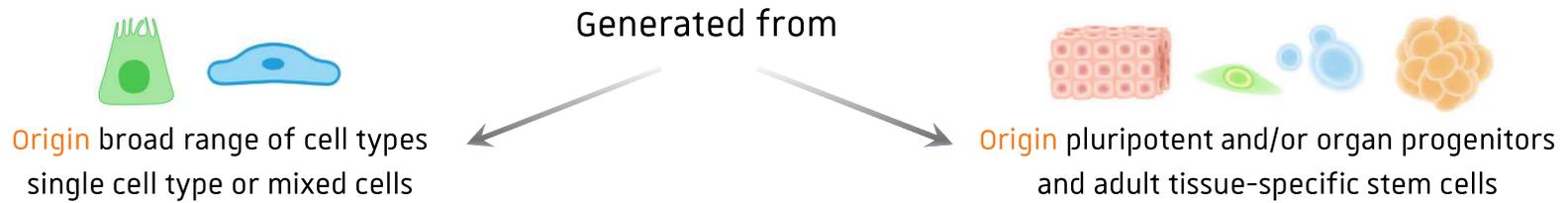


# Advantages and disadvantages of models used in cancer research

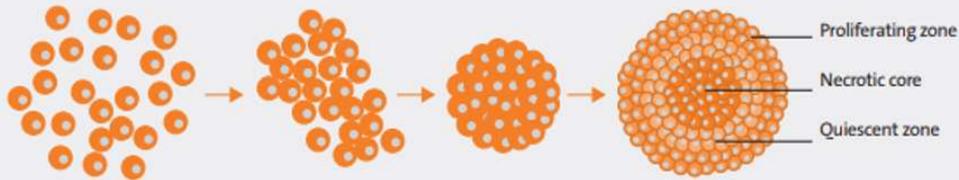


	 <b>2D cell lines</b>	 <b>Rodent Xenografts</b>	 <b>Spheroid culture</b>	 <b>Organoid culture</b>	 <b>Organ-on-a-Chip</b>
<b>Advantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Easy to generate/maintain</li> <li>• Experimental versatility</li> <li>• High reproducibility</li> <li>• Low cost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Accurate tumour genetics</li> <li>• Pre-implantation manipulation possible</li> <li>• Complex microenvironment</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Simple protocols</li> <li>• Co-culture ability</li> <li>• High reproducibility</li> <li>• Patient specific</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Multiple cell lineages</li> <li>• Complex structural organisation</li> <li>• Patient specific</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Controlled environment</li> <li>• Facilitates tissue-tissue interfaces</li> <li>• Ability for co-culture</li> </ul>
<b>Disadvantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Less biologically relevant</li> <li>• Lack of microenvironment</li> <li>• Unnatural adhesion forces</li> <li>• No cellular heterogeneity</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Non-human environment (different immune system)</li> <li>• Extensive resources</li> <li>• High cost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poor structural organisation</li> <li>• Poor supply of oxygen and nutrients to spheroid core</li> <li>• Variable spheroid size</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• High inter-patient variability</li> <li>• Complex downstream experimental analysis</li> <li>• High cost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Variability/inconsistency between chips</li> <li>• Often use cell lines</li> <li>• Non-standard protocols</li> </ul>

# Spheroids versus organoids



**Spheroids** may or may not exhibit polarity.

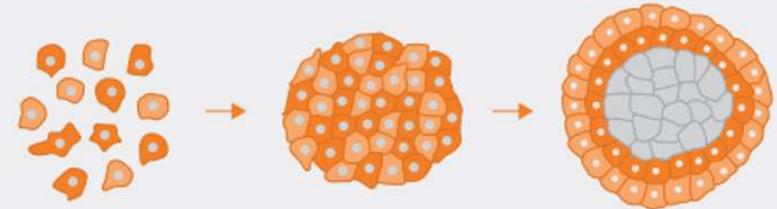


**Culture** Cells in suspension, no need for extracellular matrices or physical support

→ **Spheroids replicate solid tumors in 3D**

**Applications** Cancer biology, tumor modeling, immuno-oncology

**Organoids** exhibit polarity, cell migration, self-organizing into mini-organs.

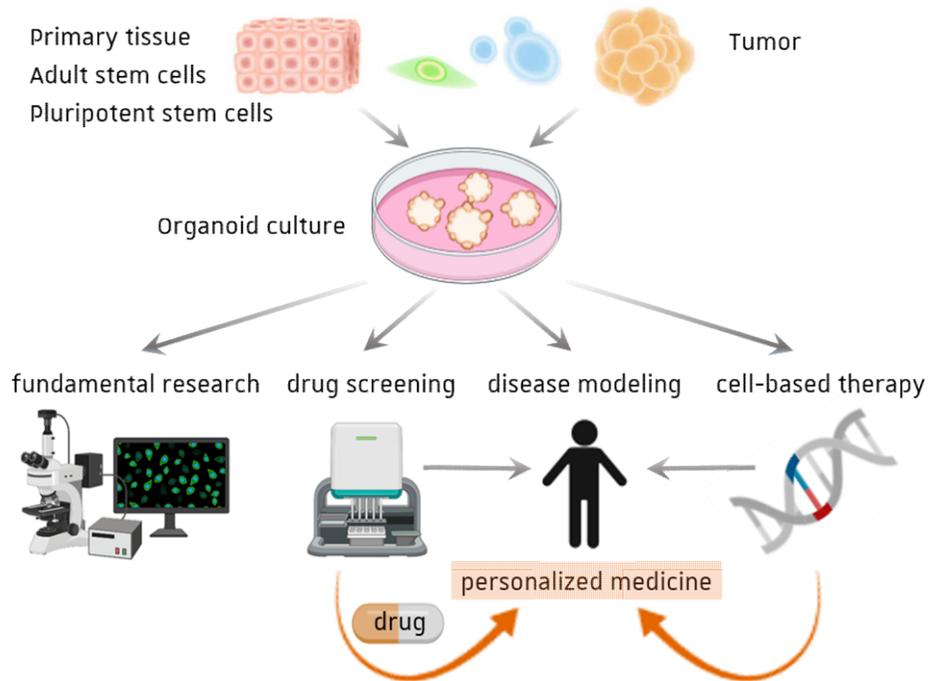


**Culture** Cells are grown in basement membrane extract or extracellular matrices to aid self organization

→ **Organoids resemble the composition and functionality of organs**

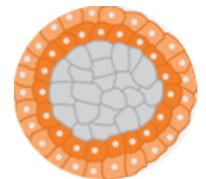
**Applications** Tumor modeling, immuno-oncology, patient-specific therapies for personalized medicine

# Work plan

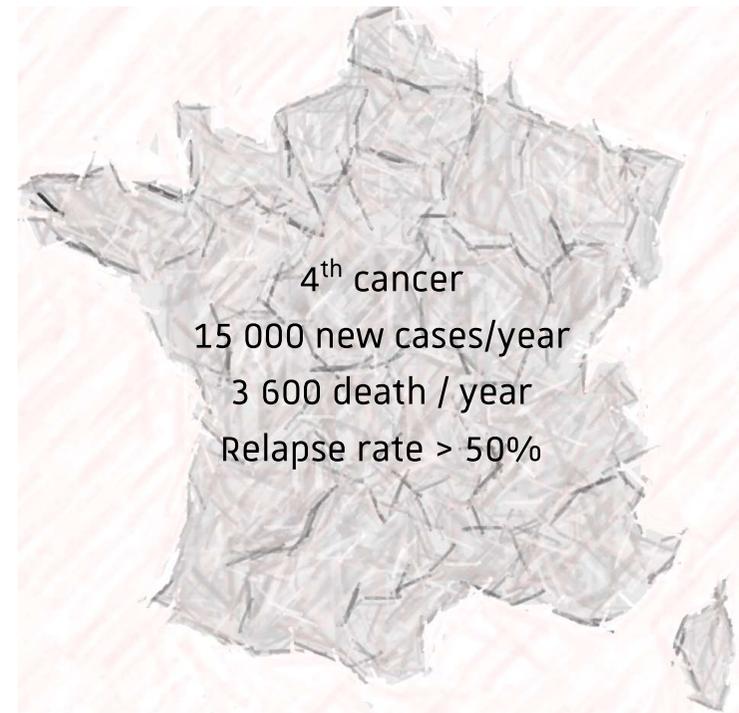
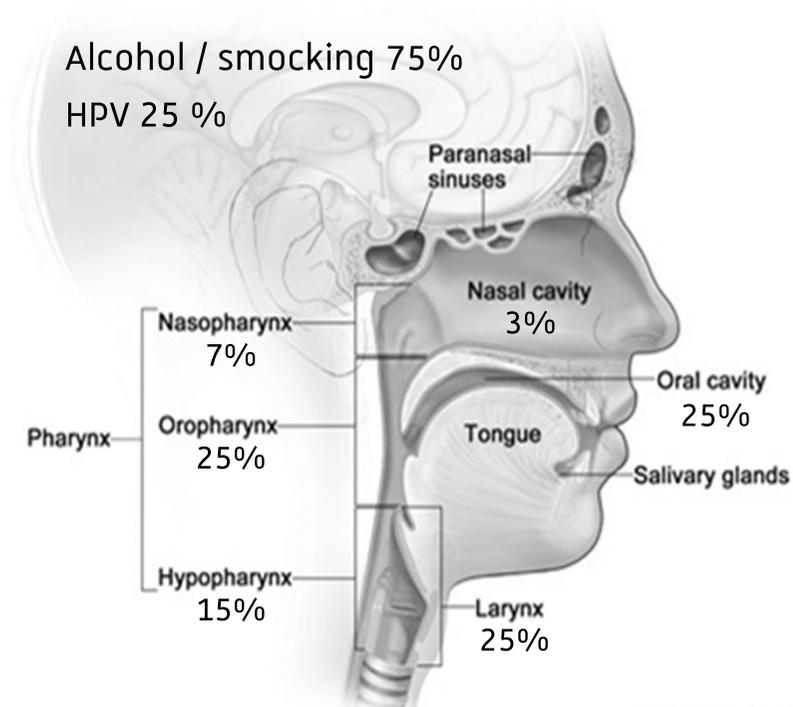


- ☪ - Ensure your organ can be modeled
- ☪☪ - Select the right cell source
- ☪☪☪ - Paperwork!
- ☪☪☪☪ - Choose the right protocol
- ☪☪☪☪☪ - Quality control
- ☪☪☪☪☪☪ - Analysis

**The path is long and strewn with pitfalls...**



# Our experience with head and neck cancer organoids



◊ Involvement of caveolin-1 and miRNA-30 in the relapse and the resistance to chemo-/radiotherapy ◊

# 💡 - Ensure your organ can be modeled

First studies related to the culture of HNSCC organoids : **2018\***

Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict *in vivo* drug sensitivity

Noriaki Tanaka<sup>1</sup>, Abdullah A. Osman, Yoko Takahashi, Antje Lindemann, Ameeta A. Patel, Mei Zhao, Hideaki Takahashi, Jeffrey N. Myers\*

Department of Head and Neck Surgery, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX 77030, USA [Oral Oncology 87 \(2018\) 49-57](#)

**Success rate** 16/41 grow in ECM (growth rate **37%**), 13/41 were expended (passage 30%), 3/41 split and propagated several passages (7%)

**cmgh**

CELLULAR AND MOLECULAR  
GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY

## ORIGINAL RESEARCH

### Three-Dimensional Organoids Reveal Therapy Resistance of Esophageal and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma Cells

Takashi Kijima,<sup>1,2,\*</sup> Hiroshi Nakagawa,<sup>3,4,\*</sup> Masataka Shimonosono,<sup>1,3,4</sup> Prasanna M. Chandramouleeswaran,<sup>3,4</sup> Takeo Hara,<sup>5</sup> Varun Sahu,<sup>6</sup> Yuta Kasagi,<sup>7</sup> Osamu Kikuchi,<sup>8,9</sup> Koji Tanaka,<sup>3,4,5</sup> Veronique Giroux,<sup>3,4</sup> Amanda B. Muir,<sup>7</sup> Kelly A. Whelan,<sup>3,4,10</sup> Shinya Ohashi,<sup>8</sup> Seiji Naganuma,<sup>11</sup> Andres J. Klein-Szanto,<sup>12</sup> Yoshiaki Shinden,<sup>1</sup> Ken Sasaki,<sup>1</sup> Itaru Omoto,<sup>1</sup> Yoshiaki Kita,<sup>1</sup> Manabu Muto,<sup>8</sup> Adam J. Bass,<sup>9</sup> J. Alan Diehl,<sup>13</sup> Gregory G. Ginsberg,<sup>3,4</sup> Yuichiro Doki,<sup>5</sup> Masaki Mori,<sup>5</sup> Yasuto Uchikado,<sup>1</sup> Takaaki Arigami,<sup>1</sup> Narayan G. Avadhani,<sup>2</sup> Devraj Basu,<sup>6</sup> Anil K. Rustgi,<sup>3,4,9</sup> and Shoji Natsugoe<sup>1,5</sup>

**Success rate** 4/5 (**80%**) surgical material (oral cavity and pharynx) grew out into organoids / organoids formation rate = 0.1-1%

## Oral Mucosal Organoids as a Potential Platform for Personalized Cancer Therapy

CANCER DISCOVERY JULY 2019

Else Driehuis<sup>1</sup>, Sigrid Kolders<sup>1</sup>, Sacha Spelier<sup>1</sup>, Kadi Löhmußaar<sup>1</sup>, Stefan M. Willems<sup>2</sup>, Lot A. Devriese<sup>3</sup>, Remco de Bree<sup>4</sup>, Emma J. de Ruiter<sup>2</sup>, Jeroen Korving<sup>1</sup>, Harry Begthel<sup>1</sup>, Johan H. van Es<sup>1</sup>, Veerle Geurts<sup>1</sup>, Gui-Wei He<sup>1</sup>, Richard H. van Jaarsveld<sup>1</sup>, Rurika Oka<sup>5</sup>, Mauro J. Muraro<sup>1,5</sup>, Judith Vivie<sup>1,5</sup>, Maurice M.J.M. Zandvliet<sup>7</sup>, Antoni P.A. Hendrickx<sup>8</sup>, Nino Jakobachvili<sup>9</sup>, Priya Sridevi<sup>10</sup>, Onno Kranenburg<sup>11</sup>, Ruben van Boxtel<sup>5</sup>, Geert J.P.L. Kops<sup>1</sup>, David A. Tuveson<sup>10</sup>, Peter J. Peters<sup>9</sup>, Alexander van Oudenaarden<sup>1</sup>, and Hans Clevers<sup>1,5</sup>

**Success rate** 26/40 (**65%**) surgical material (oral cavity, larynx and pharynx) grew out into organoids and expended > 15 passages

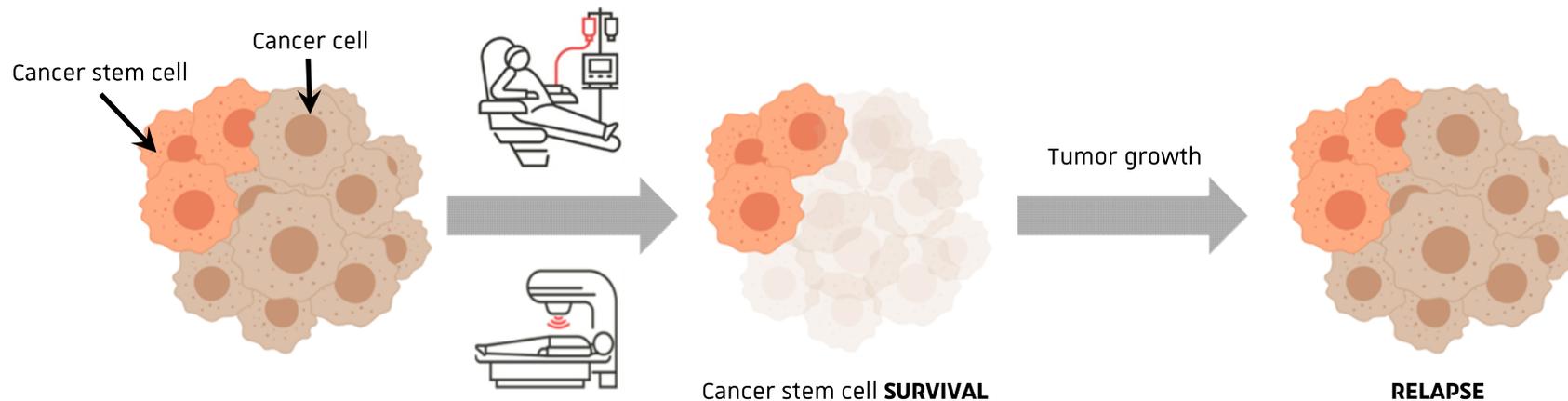
\* In comparison : Hans Clevers's team published the first studies about cancer-derived organoids (small intestine and colon) in 2011

# 🧑🏻🧑🏻 - Select the right stem cell source

Establishing organoids requires **stem cells** with the properties of self renewal and multi/pluripotency

- self-renewing cell population: infinite proliferative potential
- tumorigenic cell population: give rise to all other tumor cell types
- responsible for the resistance to therapies
- associated with metastasis and relapse
- minor cell population in the tumor : **0.1 – few %**

Origin : healthy adults (animal or human) or patients stem cell-like progenitors, resident stem cells, adult tissue-specific stem cells



## 📄 - Paperwork!

Establishing organoids is a **collaborative and coordinated** work

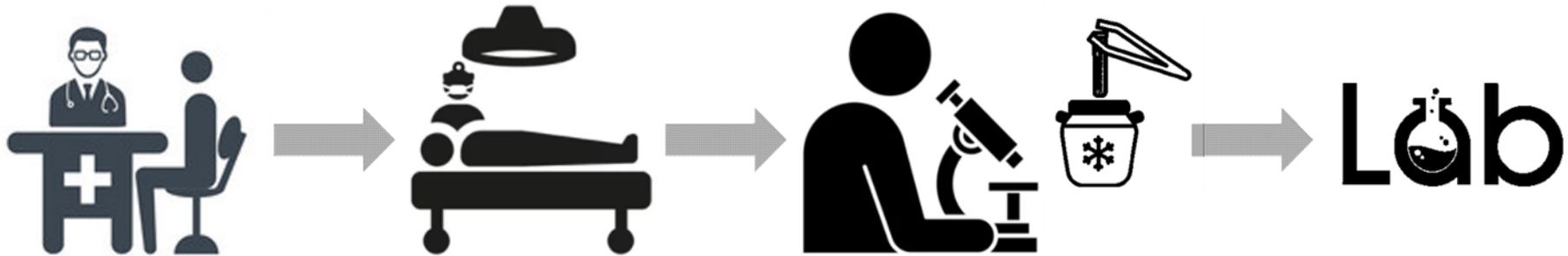
PATIENT & ONCOLOGISTS

PATIENT & SURGEONS

PATHOLOGISTS

RESOURCE CENTER

SCIENTIFIC LAB



- MOST IMPORTANT : **free and informed consent of the patient**
- Agreement with the biological resource center (define the needs, processing and handling of the samples)
- Authorization of conservation/preparation for scientific purposes of human body elements (CODECOH)
- Approved facilities (cell culture laboratory safety level 2)
- Authorization GMO is applicable

# 📄 - Paperwork!

## Free and informed consent of the patient

PATIENT/CLINICIANS



Pr Schultz (Surgeon ORL) & Dr Burgy (Oncologist)

	<b>Consentement éclairé du patient MAJEUR pour la conservation de Ressources Biologiques au sein du C.R.B. des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (H.U.S.) et leur utilisation à des fins de recherche</b>	CRB/TRACE/ ENRG/003	

Je, soussigné(e), **Mme, M.** (sayer les mentions inutiles)  
 Nom : \_\_\_\_\_ Nom de jeune fille (si applicable) : \_\_\_\_\_  
 Prénom : \_\_\_\_\_ né(e) le : \_\_\_\_\_  
 certifie avoir reçu les informations suivantes et les avoir bien comprises :

Dans le cadre de mon parcours médical ou de mon inclusion dans une recherche clinique, il est possible que des prélèvements tissulaires ou liquides soient effectués.  
 Au cas où ces prélèvements ne seraient pas utilisés en totalité, il m'a été proposé que les échantillons restants et les données qui y seront associées (données médicales, données personnelles) - l'ensemble constituant les Ressources Biologiques -, soient utilisés :

- dans le cadre de recherches scientifiques et médicales portant sur ma pathologie ou des pathologies apparentées
- à des fins de toute autre recherche scientifique sous contrôle de la pertinence scientifique du projet
- dans des recherches de marqueurs génétiques sans que les résultats ne permettent d'identifier ma personne
- pour le développement de produits dérivés qui pourraient éventuellement être commercialisés, sans aucun bénéfice financier me revenant.

Avec mon accord, ces échantillons seront conservés par le Centre de Ressources Biologiques (C.R.B.) des H.U.S.

J'exprime ma volonté en cochant l'une des deux cases ci-dessous et en signant le présent document. Je suis libre de révoquer à tout moment ce consentement sans que cela n'affecte en rien ma prise en charge thérapeutique. Dans ce cas, toutes mes Ressources Biologiques conservées pour la recherche seront détruites si elles n'ont pas déjà été utilisées ou si les résultats des projets de recherche n'ont pas encore été publiés.

J'accepte que mes Ressources Biologiques soient conservées au C.R.B. et utilisées à des fins de recherche :

Oui                       Non

<b><u>Patient exprimant sa volonté</u></b>	<b><u>Médecin ayant donné l'information</u></b>
Date :	Nom :
Signature :	Prénom :
	Date :
	Signature :

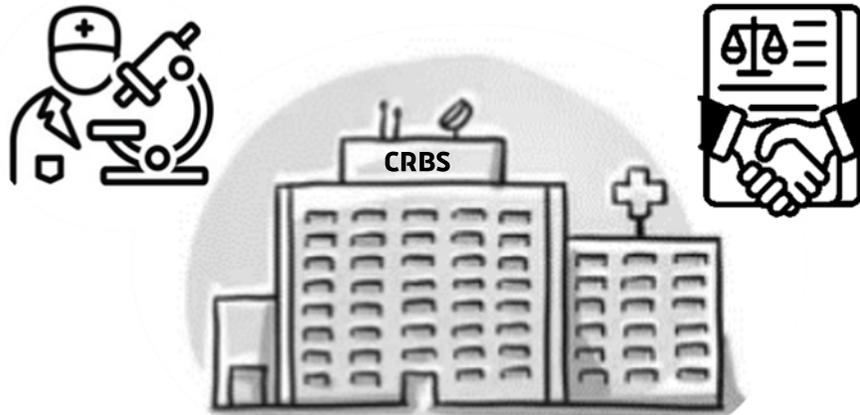
Conformément à la loi (art 16-1 et 16-6 du code civil), les prélèvements ne pourront être cédés à titre commercial ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice. Ils pourront être utilisés pour des recherches effectuées en partenariat avec un ou plusieurs organismes publics ou privés.  
 Les données médicales associées aux prélèvements sont confidentielles et couvertes par le secret médical. A aucun moment, elles n'apparaîtront lors de la publication des résultats des travaux de recherche.  
 Elles pourront en revanche, dans les conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises.

Les prélèvements ainsi que les données médicales associées seront rendus anonymes, permettant leur traitement automatisé dans le cadre des recherches. Vous disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification et d'opposition conformément à la loi. Ce droit pourra être exercé directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix (article 40 de la loi 78.17 du 6 janvier 1978 et loi n° 2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et article L 1111-7 du Code de Santé Publique).  
 Les fichiers informatiques du CRB ont été déclarés à la Commission Informatique et Liberté sous le numéro **1970 390 v0**.

Si vous ne souhaitez pas que vos Ressources Biologiques soient conservées dans un but de recherche ou si vous changez d'avis, vous pouvez en demander la destruction à tout moment au CRB à l'adresse suivante : [crb@chu-strasbourg.fr](mailto:crb@chu-strasbourg.fr) ou auprès de son responsable opérationnel, le Professeur Marie-Pierre Chenard, au 03.88.12.71.94.

# 📄 - Paperwork!

## Material transfer agreement with the biological resource center (CRBS)



Dr Chenard (Pathologist et CO CRBS) & Dr Burgy (Oncologist) & Dr Martin (Scientist)

	<b>DEMANDE DE PROJET</b>	<b>CRB/MNGT/ENRG/013</b>	
		Version 8 : 09/05/2017 P.1/4	

Centre de Ressources Biologiques / Hôpitaux Universitaires de Strasbourg  
 Responsable opérationnel : Pr. Marie-Pierre CHENARD  
 Contact : crb@chru-strasbourg.fr



Numéro CRB (si applicable) : CRB 2013-13  
 Numéro HUS (si applicable) :

### PARTIE ADMINISTRATIVE

Titre du projet : Génération de cellules tumorales primitives et d'organoïdes de cancers ORL pour le testing de drogues

Promoteur (si applicable):

Coordonnateur, responsable du projet : Dr Sophie MARTIN  
 Organisme - Etablissement : UMR7021 CNRS LBP  
 Adresse : Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, 74 route du Rhin, 67401 ILLKIRCH  
 E-mail : sophie.martin@unistra.fr  
 Numéro de téléphone : 03.68.85.43.13

- Main users
- **Funding**
- Description of the project with the objectives
- Description of the biological resource requirements: pathology, organs, size, nbr of patients/year, nbr of samples/year, clinical data associated, type of samples (tissues, blood, plasma, fresh or frozen, RNA, DNA, ...)
- HNSCC / oral cavity + oropharynx + hypopharynx HPV- /  $\geq T3$  and/or  $\geq N2a+M0$  10 to 15 patients (40) / year /  $1\text{cm}^3$  / clinical data / IHC / RNA / DNA
- Engagement

Le demandeur s'engage à respecter la Charte du CRB (<http://www.chru-strasbourg.fr/Hus/HTML/drc/pdf/crb/charteCRB.pdf>)

Le demandeur s'engage à citer le CRB dans la rubrique « Remerciements » de toute communication et/ou publication en incluant l'intitulé : "Centre de Ressources Biologiques des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg".

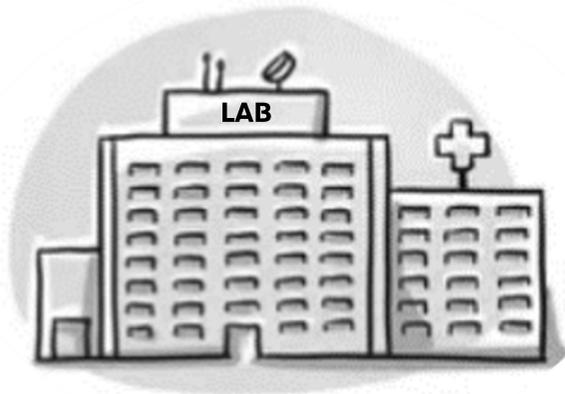
Le demandeur s'engage à respecter la législation en vigueur concernant l'utilisation et la conservation de ressources biologiques

# 📄 - Paperwork!

## Authorization of conservation/preparation of human body elements for scientific purposes



CODECOH



Université  
de Strasbourg

Dr Martin (Scientist) + President of the University

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR, DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION  
https://appliweb.dgri.education.fr/appli\_web/codecoh/IdentCodec.jsp

### CODECOH : Identification

#### Bienvenue sur CODECOH

Cette page d'accueil a pour vocation de vous permettre d'effectuer vos démarches s'agissant des préparations et conservations ou des importations et exportations d'échantillons biologiques humains destinés à la recherche.

**Important : à l'attention des déposants**

Nous rencontrons actuellement des difficultés de service. La prise en charge des dossiers est par conséquent ralentie.

**Nous privilégions la prise en charge des dossiers. Ainsi ne pouvons nous répondre pour le moment aux sollicitations téléphoniques, aux relances et aux demandes d'entretien.**

Pour toute information, veuillez en premier lieu, vous référer aux informations ci-dessous :

- I. pour les conservations d'échantillons biologiques humains ;
- II. pour leur importation ou exportation.

Veuillez d'envoyer vos messages **sur la messagerie consignée par votre démarche**, les doublons retardent le traitement :

- [gestion.conservations@recherche.gouv.fr](mailto:gestion.conservations@recherche.gouv.fr) pour les conservations d'échantillons biologiques humains ;
- [dossiers.import-export@recherche.gouv.fr](mailto:dossiers.import-export@recherche.gouv.fr) pour leur importation ou exportation.

Merci de votre compréhension.

**En cas de recherche urgente liée au COVID-19 :**

- pour les démarches prévues au I ci-dessous, veuillez signaler le dépôt et l'urgence par un mail à [gestion.conservations@recherche.gouv.fr](mailto:gestion.conservations@recherche.gouv.fr) ;
- pour la démarche prévue au II, veuillez signaler l'urgence dans le mail de transmission du dossier à [dossiers.import-export@recherche.gouv.fr](mailto:dossiers.import-export@recherche.gouv.fr) ;

La recherche en biologie, médecine et santé nécessite couramment l'utilisation d'échantillons biologiques humains, pour la plupart issus de soins hospitaliers. En vue de cette utilisation, la loi cascade (activités de préparation et de conservation ou d'importation et d'exportation de ces échantillons).

10 du 10/11/2017 : Publications du décret relatif à la préparation / conservation des éléments du corps humain à des fins scientifiques, modifiant le **code de la santé publique**.

Chargement réglementaires induits par l'entrée en vigueur de la **loi dite "sain"** (N°11-2017).

⚠️ Deux procédures distinctes sont applicables selon que l'activité est prévue par le déposant pour ses besoins de recherche (procédure de déclaration) ou en vue de cession (procédure d'autorisation).

#### 1. CONSTITUER UN DOSSIER

Deux types de formulaires électroniques sont donc à votre disposition pour la saisie de vos dossiers.

Conformément à la réglementation la saisie électronique est obligatoire avant toute soumission formelle des dossiers.

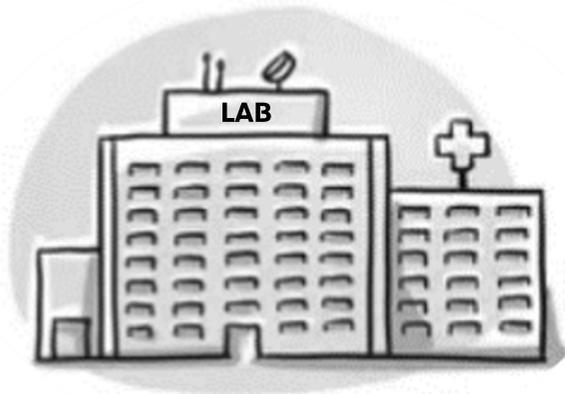
"The law provides for the possibility that an organization can carry out preparation or conservation activities for the needs of its own research programs or with a view to ceding to other organizations for their research use. The first activity must be **declared** to the authorities, the second is **subject to authorization** ..... The regulatory requirements relating to these activities are based on **technical and scientific criteria** as well as **ethical criteria**. The entire scientific community working in the fields of biology, medicine and health is affected by these regulations. "

# 📄 - Paperwork!

## Authorization of conservation/preparation of human body elements for scientific purposes



CODECOH



Dr Martin (Scientist) + President of the University

 **MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR, DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION**

**CODECOH : Identification**  
[https://appliweb.dgri.education.fr/appli\\_web/codecoh/IdentCodec.jsp](https://appliweb.dgri.education.fr/appli_web/codecoh/IdentCodec.jsp)

**I. Activité(s) faisant l'objet de la déclaration :**  
Cocher la ou les cases correspondantes

- Préparation
- Conservation
- Utilisation
- Constitution de collections d'échantillons biologiques (\*)

*(\*) Article L. 1243-3 du code de la santé publique : « les termes "collections d'échantillons biologiques humains" désignent la réunion, à des fins scientifiques, de prélèvements biologiques effectués sur un groupe de personnes identifiées et sélectionnées en fonction des caractéristiques cliniques ou biologiques d'un ou plusieurs membres du groupe, ainsi que des dérivés de ces prélèvements. »*

**ADMINISTRATION**

- 1- Facilities (surface, description, cleaning and decontamination procedures)
- 2- Equipment (centrifuge, tissue culture hoods, incubators,...)
  - Quality control
  - Safety device for conservation
- 3- Dedicated Staff
- 4- Transport conditions and material
- 5- Management of activities
  - Coding system and confidentiality rules
  - Methods of labeling and identifying resources
  - Procedures for managing the supporting documents for the collection of consent or the absence of opposition from donors

**SCIENTIFIC**

- 1- Samples origin, organs, tissues, cells, blood,...
- 2- Project description
- 3- Origin and methods of obtaining the samples (context, confidentiality, anonymization, consent,...)
- 4- What are you doing with the samples or the collection at the end of the research work

# 📄 - Paperwork!

## Authorization of conservation/preparation of human body elements for scientific purposes



CODECOH



Dr Martin (Scientist) + President of the University



Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR,  
DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION

En l'absence de décision expresse d'opposition de l'autorité administrative, l'activité déclarée peut commencer à l'issue d'un délai de deux mois à compter de la date de cet accusé de réception. Toutefois, ce délai peut être suspendu s'il est demandé de fournir des informations manquantes ou incomplètes ou des compléments nécessaires à l'expertise du dossier.

CODECOH : Identification  
[https://appliweb.dgri.education.fr/appli\\_web/codecoh/IdentCodec.jsp](https://appliweb.dgri.education.fr/appli_web/codecoh/IdentCodec.jsp)

**Bienvenue sur CODECOH**

Cette page d'accueil a pour vocation de vous permettre d'effectuer vos démarches s'agissant des préparations et conservations ou des importations et exportations d'échantillons biologiques humains destinés à la recherche.

Code utilisateur

niques, aux relances et aux demandes d'entretien.

recherche.gouv.fr  
recherche.gouv.fr

tenus de tous hospitaliers. En vue de cette utilisation, la loi cascade les  
pres programmes de recherche ou encore en vue de cessions à d'autres  
recherche. La mise en œuvre de ces deux types d'activité peut nécessiter,  
étiques,  
ces réglementations.

ette lettre présente l'activité et **mentionne explicitement que le signataire**  
**STINES A LA RECHERCHE**

⚠️ Divers procédures distinctes sont applicables selon que l'activité est prévue par le déposant pour ses besoins de recherche (procédure de déclaration) ou en vue de besoins (procédure d'autorisation).

**1. CONSTITUER UN DOSSIER**

Deux types de formulaires électroniques sont donc à votre disposition pour la saisie de vos dossiers.

Conformément à la réglementation la saisie électronique est obligatoire avant toute soumission formelle des dossiers.

## 📌 - Choose the right protocol

The protocols and the media are **specific** to the organoids that you want to produce

The media are **sophisticated** and **expensive!**

critical **niche components** for organoid growth media

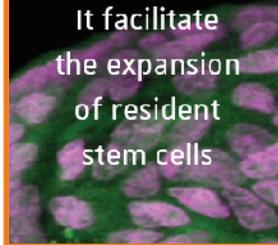
### R-spondin-1

R-spondin-1 is a substrate for Lgr5 that potentiate Wnt signaling



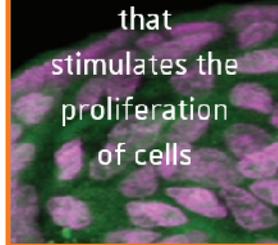
### Noggin

Noggin is a BMP inhibitor. It facilitate the expansion of resident stem cells



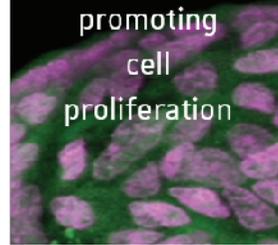
### EGF

EGF is a growth factor that stimulates the proliferation of cells



### FGF

FGF is a growth factor promoting cell proliferation



### Y-27632

Y-27632 is a ROCK inhibitor that increase cloning efficiency



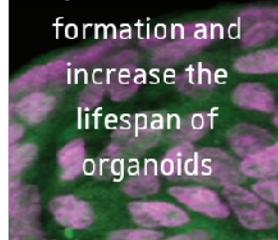
### NAC

N-acethyl-L-cysteine is an antioxidant preventing apoptosis



### Nicotinamide

Nicotinamide promote the formation and increase the lifespan of organoids



### PGE2

PGE2 promote optimal organoid growth by promoting proliferation



### CHIR 99021

CHIR99021 is a selective inhibitor of GSK-3 maintaining stem cells



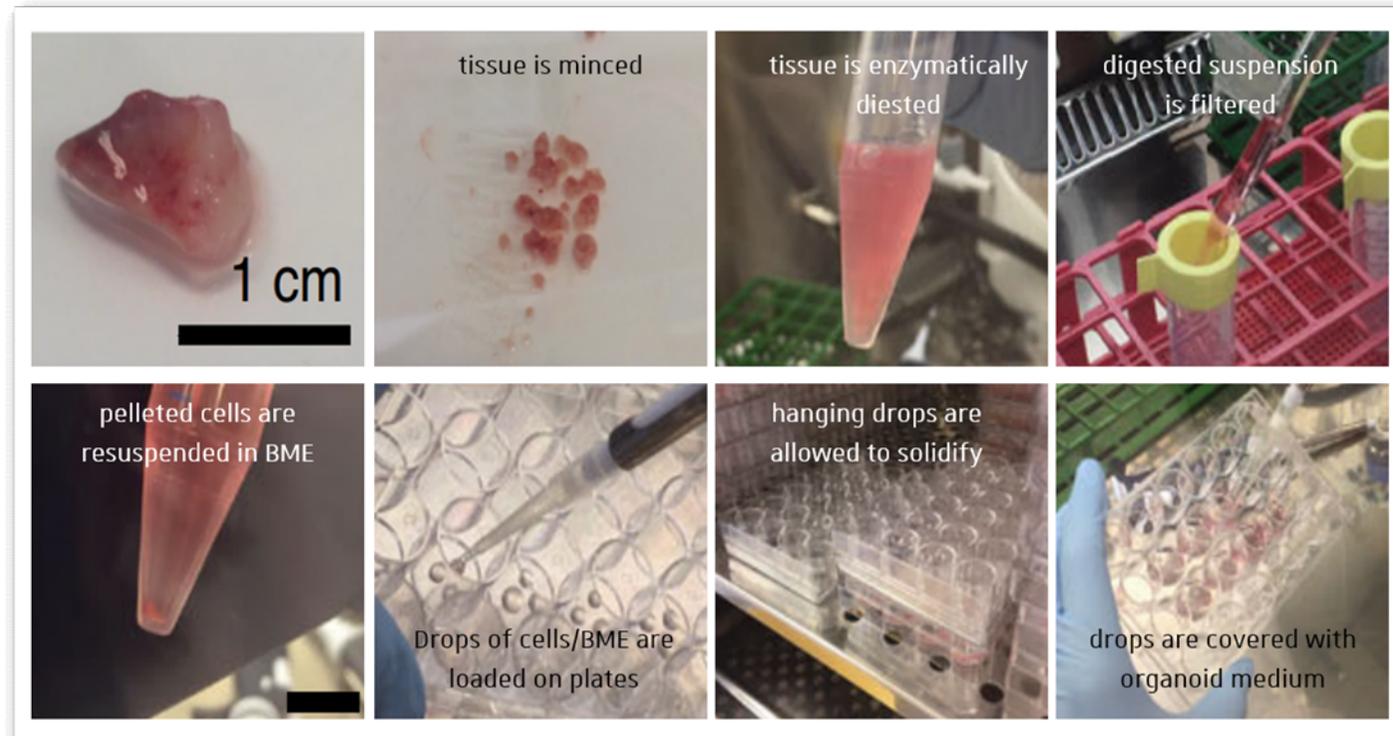
### A83

A83 is a ALK4/5 inhibitor. It maintain in vitro cellular self-renewal



## 📄 - Choose the right protocol

The protocol we choose was developed by Hans Clevers's team



nature  
protocols

PROTOCOL

<https://doi.org/10.1038/s41596-020-0379-4>

Check for updates

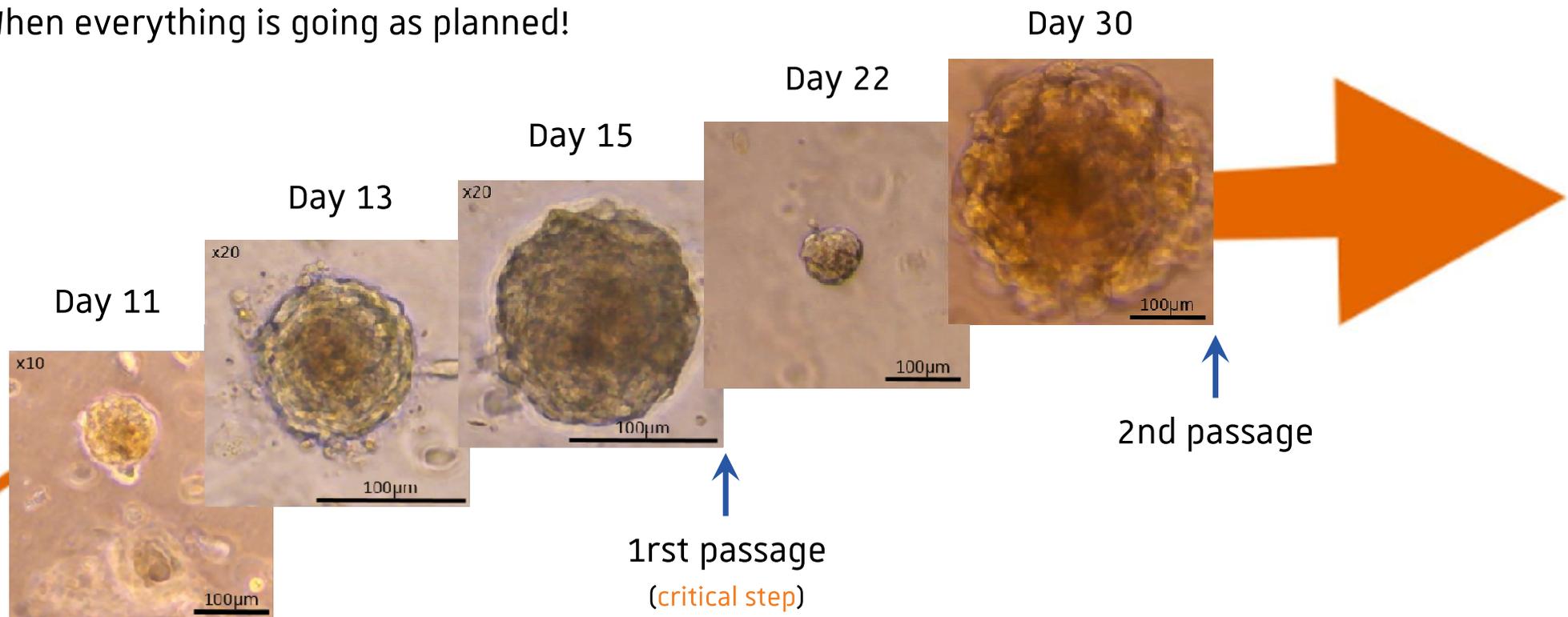
### Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications

Elsie Driehuis<sup>1,2,3</sup>, Kai Kretschmar<sup>1,4</sup> and Hans Clevers<sup>1,5</sup>

Published online: 14 September 2020

# ☒ - Choose the right protocol

When everything is going as planned!



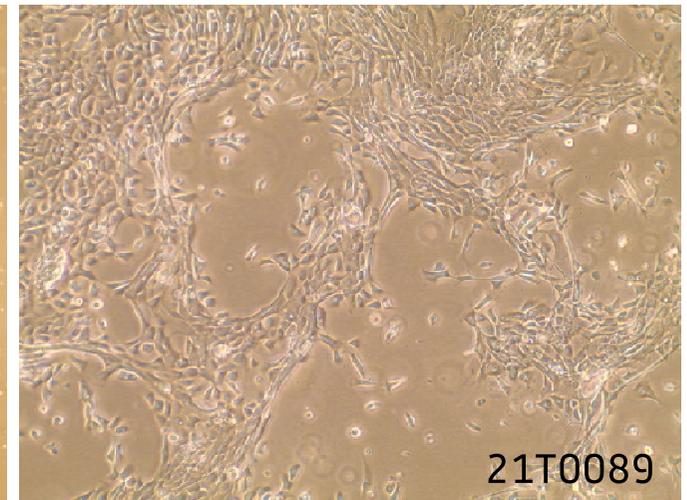
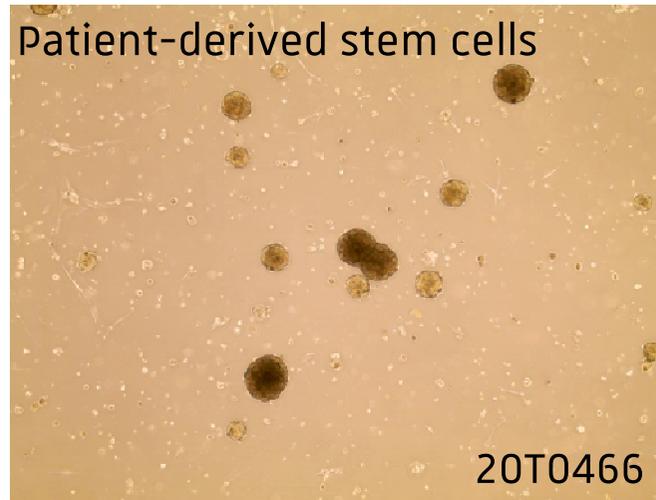
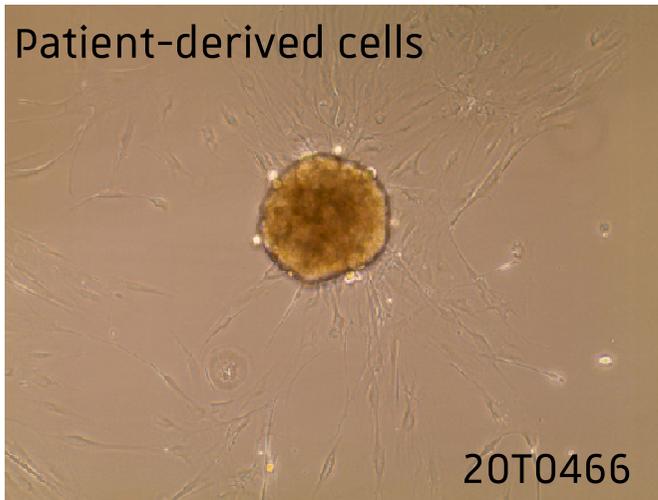
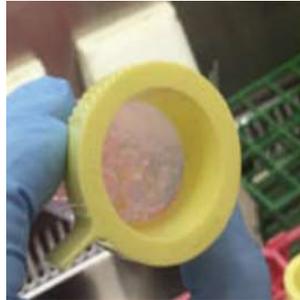
Example with our latest biopsy (21T0089)

Organoids 3/6 (50%) - Expended 2/6 (30%)

Aude Jehl and Omblin Conrad

# ☒ - Choose the right protocol

And some extra bits....



Culture in PneumaCult™-Ex Plus Medium (serum- and BPE-free cell culture medium, StemCell)

Aude Jehl

# 🔗 - Quality control

Almost there...

## Cytopathology

Organoids	Tumor	Pankeratin	Vimentin	CD68

**Morphology/histology of carcinoma**  
 (ΔNp63, p63, p53, p16, Ki67)  
**Epithelial cells** (EpCAM, pankreatin), **fibroblasts** (FSP, CD90, CD44), **stem cells** (CD44, CD133, ALDH1A), **mesenchymal cells** (Vimentin), **macrophages** (CD68), **tumor infiltrating lymphocytes** (CD45), ...

Driehuis et al., Cancer Discovery, 2019 & Tanaka et al., Oral Oncol, 2018

## Sequencing

	T1	T2	T3	T4	T6	T7	T9	T10	T20	T24	T25	T27	T28	T29
ATM														
ATR														
BRAF														
CDKN2A														
EGFR														
ERBB2														
ESR1														
FGFR2														
HRAS														
KDR														
KRAS														
MDM2														
MET														
MPL														
PDGFRA														
PIK3CA														
RET														
TP53														
VHL														

**Mutation:**  
 ■ Missense  
 ■ Stop gain  
 ■ Frame shift  
 ■ Deletion  
 ■ Splice variant

**VAF**  
 0 ————— 1

**Anatomic location:**  
 ■ Larynx  
 ■ Oral cavity  
 ■ Salivary gland  
 ■ Neck

Tissue

Targeted sequencing (p53 71% mutation), Whole exome sequencing, whole genome sequencing

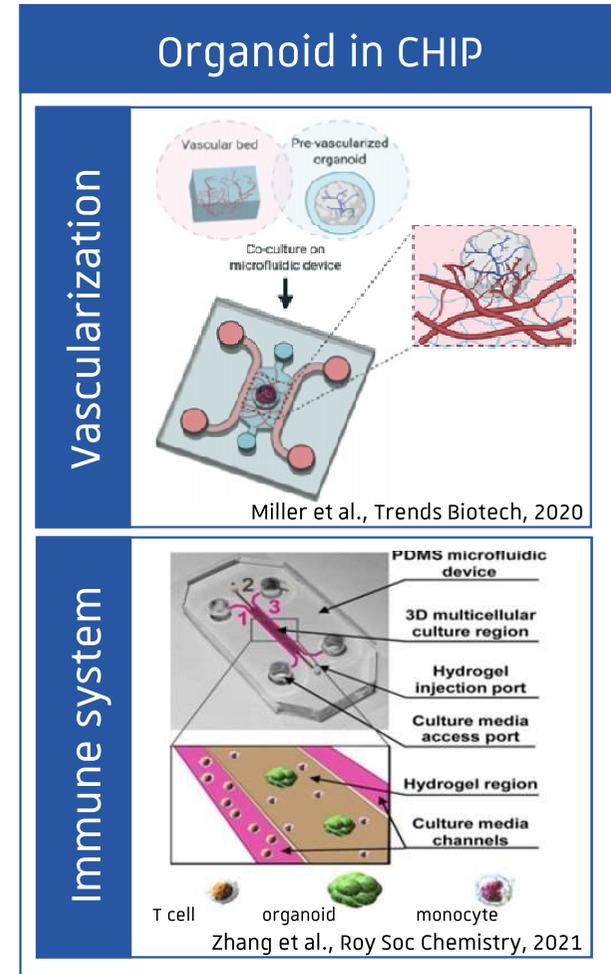
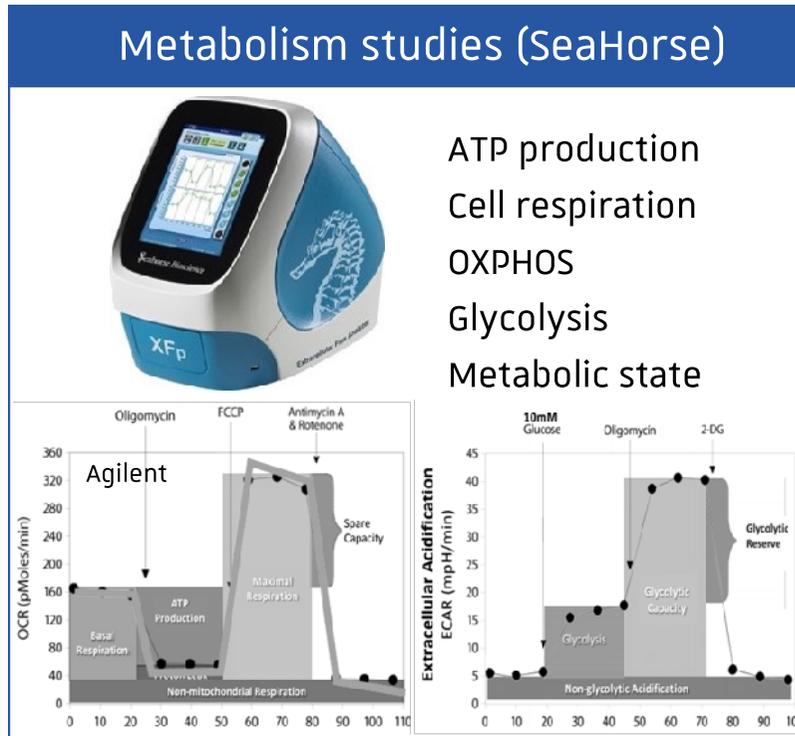
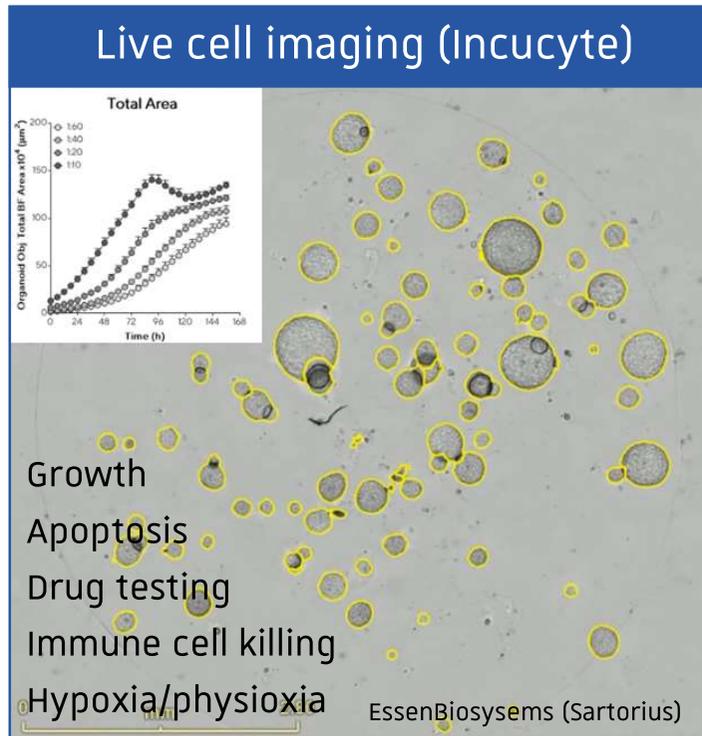
**OR**

Single-nucleotide polymorphism (SNP)/short tandem repeat (STR) analysis

Driehuis et al., -Cancer Discovery, 2019

# Analysis techniques

The light at the end of the tunnel...

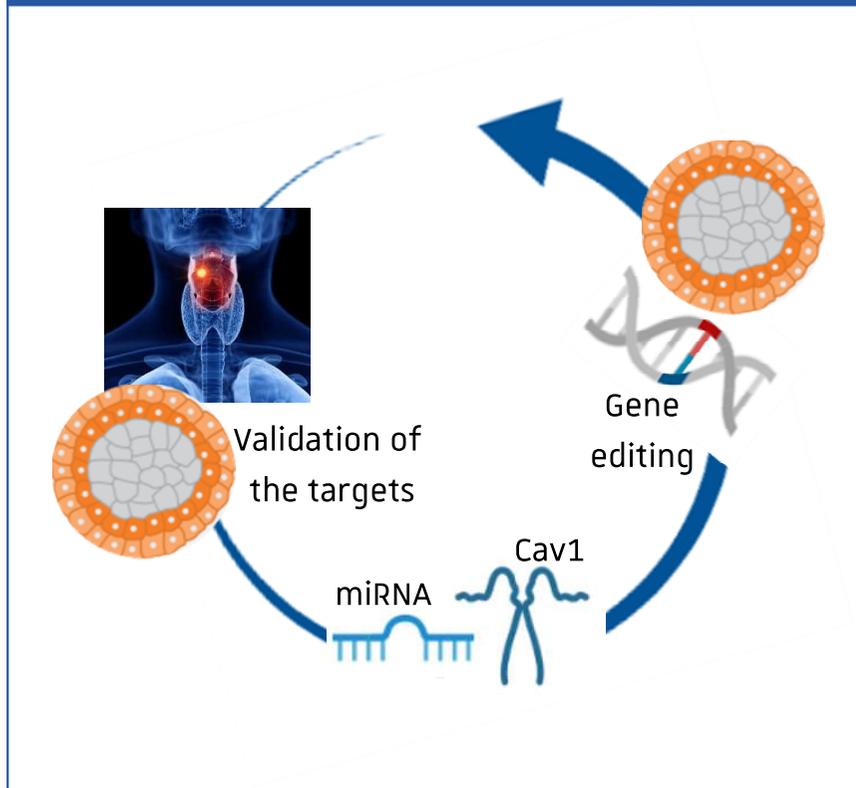


And of course (single cell) RNAseq, NGS/WGS, miRNome, epigenetic studies...

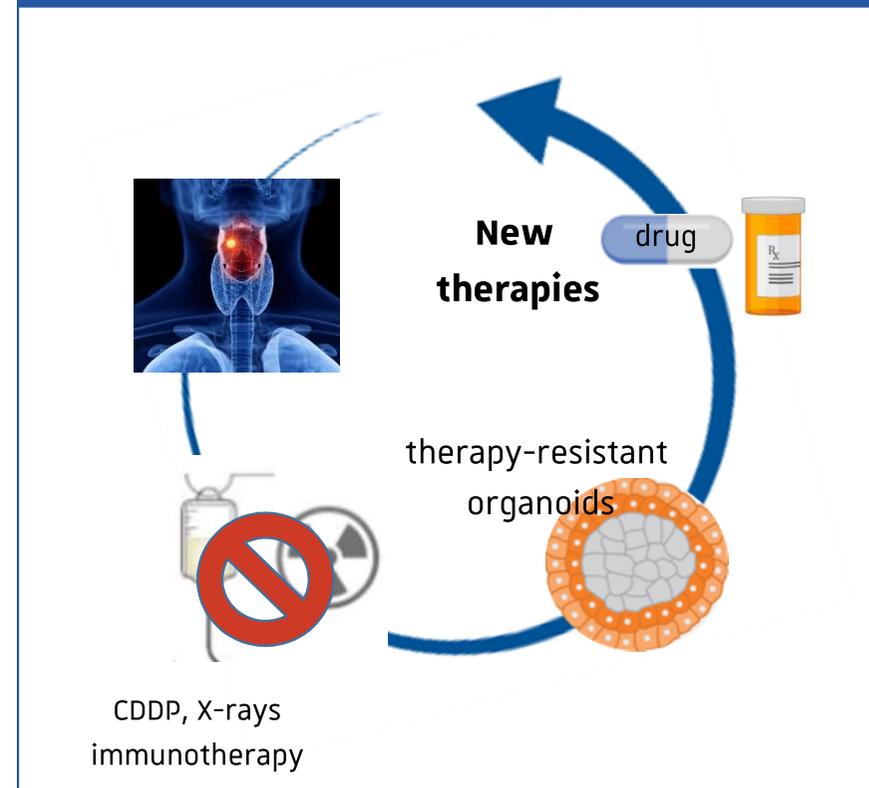
# 💡 What are we going to do with it ?

## Our projects

### Modeling and amending the pathology



### Finding alternative or new cure





- Ombine CONRAD (PhD stud)
- Dr Aude JEHL (PharmD, PhD stud)
- Sophie FOPPOLO (technician)
- Dr Mickaël BURG Y (MD, PhD stud)
- Dr Véronique BRUBAN (MCU, PhD stud)

## Partners

Oncology ↔ Pr Borel, Dr Burgy (ICANS, CRLCC Strasbourg)  
Surgery ↔ Pr Schultz (HUS, Strasbourg)  
Biology ↔ Dr Jung (Inserm U1113 IRFAC, Strasbourg)  
Chemistry ↔ Dr Klymchenko (UMR7021 CNRS, Illkirch)  
Radiotherapy & protontherapy ↔ Pr Noël, Dr Burckel, Dr Guihard (ICANS, CRLCC, Strasbourg)  
Pathology ↔ Pr Chenard, Dr Onea (HUS Strasbourg)



## Funding

