



WaferGen Biosystems révolutionne la PCR quantitative haut débit et la préparation de banques pour le Séquençage NGS grâce à sa technologie propriétaire SmartChip et développe sa présence en Europe

WaferGen Biosystems, société Californienne spécialisée depuis plus de dix ans sur le marché de la PCR quantitative, a inauguré l'année passée son siège Européen au Luxembourg et vient de recruter Nicolas BARDONNET à la tête de la structure pour accroître sa visibilité en Europe et se positionner au plus près des laboratoires et de leurs besoins. M. BARDONNET, Directeur Général WaferGen Biosystems Europe et ancien Directeur Général de QIAGEN France, nous présente l'Entreprise, sa technologie SmartChip™ - véritable révolution pour l'analyse génétique haut débit - et ses projets de développement, notamment en France, pour mieux vous servir.

LGdL : « Bonjour. Pouvez-vous nous expliquer l'origine de la société WaferGen Biosystems ? Quels mots sur son histoire et sa vocation première ? »

Nicolas BARDONNET : « La société WaferGen Biosystems a été créée il y a une dizaine d'années aux Etats-Unis au cœur de la Silicon Valley. Ses fondateurs, entrepreneurs à succès dans le domaine informatique, se sont fixé comme défi de valoriser leur savoir-faire aux problématiques du haut débit en génomique et sciences de la vie.

L'idée première est née du constat que le nombre d'analyses augmentant très rapidement, les supports se devaient d'évoluer vers des formats mieux adaptés. Les formats plaques 96, 384 ou 1536 puits, trouvent rapidement leurs limites tant en nombre d'analyses, que par leur taille et la consommation de volumes importants d'échantillons souvent précieux et de milieu réactionnel coûteux. Les nouveaux supports doivent donc permettre une miniaturisation du milieu réactionnel tout en permettant le traitement d'un nombre beaucoup plus important d'échantillons en parallèle. Les créateurs de WaferGen Biosystems imaginent donc de travailler non plus sur microplaques, mais sur des nano-plaques : des puces d'environ 3 cm de côté, contenant 5184 puits [72x72]. L'Entreprise se consacre dans un premier temps à l'élaboration de ces nano-puces révolutionnaires en forme de mini-gaufrettes « Wafer » – les SmartChip®. Afin de permettre leur utilisation, WaferGen fait appel à une équipe expérimentée d'ingénieurs spécialisés dans le nanopipetage qui développent alors un système ultra-précis le « Multi-Sample-Nano-Dispenser® » et particulièrement rapide, 5 minutes pour remplir une plaque 5184 puits avec 100 nL par puit. Afin de satisfaire la demande d'analyses génomiques haut-débit, WaferGen BioSystems met au point un appareil de PCR temps-réel capable d'analyser 1 puces simultanément le SmartCycler® et développe un logiciel de traitements de données particulièrement complet. Cet ensemble appelé « SmartCore system » permet aux laboratoires de réaliser aussi bien des analyses de PCR temps-réel que des analyses SNP en point final à très haut débit. »

En 2011, après une profonde réorganisation de son équipe managériale et le recrutement de professionnels de ce domaine issus de grands groupes, la société WaferGen Biosystems redéfinit totalement son offre et ses marchés. D'une activité principalement de prestation de services, dans le domaine de l'analyse génomique à haut débit, elle devient fournisseur de solutions et développe une approche particulièrement novatrice et originale pour la préparation de banques en

NGS. Pour y parvenir, WaferGen BioSystems multiplie ses collaborations et intensifie sa R&D autour de sa technologie propriétaire SmartChip™.

La société WaferGen Biosystems est située au sein de la prestigieuse « Silicon-valley » où elle bénéficie d'un environnement particulièrement favorable à son développement. Cette région très dynamique dans le domaine des biotechnologies, tant au niveau instrumental que biologique, est encadrée notamment par les prestigieuses universités californiennes que sont Berkeley et Stanford. Connaissant dès lors une forte croissance aux USA, WaferGen décide alors d'implanter au Luxembourg sa tête de pont Européenne, proche du Centre de Génétique Médical de Ghent en Belgique avec laquelle elle collabore au développement de ses différents systèmes et à proximité directe de l'IBBL (Integrated Biobank of Luxembourg) avec lequel elle établit un partenariat stratégique.

En 2014, elle confie le développement de sa filiale Européenne à M. Nicolas BARDONNET qui a déjà une forte expérience d'implantation en Europe avec la création de la filiale française de QIAGEN en 1996 qu'il quittera en 2012 assurant alors la Direction Générale. La structure Européenne récente est en pleine expansion. Elle réunit désormais quatre personnes, Mr BARDONNET, Directeur Général Europe, M. Stefaan DERVEAUX, PhD, Spécialiste Applications et membre de l'équipe R&D, Mme Marizela KULISIC, PhD, responsable Marketing Europe, et vient de recruter M. Philippe JOANIN, PhD en qualité de Spécialiste Applications Europe.

LGdL : « Quels sont ces nouveaux systèmes proposés par WaferGen : SmartChip MyDesign™, SmartChip TE™, SmartChip Nanodispenser™ et Apollo 324™ ? Quels sont leurs atouts ? »

N. B. : « En 2011, la première application visée est l'analyse PCR temps réel et le Génotypage à haut débit. L'objectif est ici d'offrir un système qui se démarque significativement des autres systèmes existants de par les possibilités qu'il offre aux laboratoires. Il permet de réaliser jusqu'à 5184 réactions d'amplifications singleplex dans des nano-volumes. Le but affiché est d'éviter les écueils et les difficultés de mises au point rencontrés avec les analyses « multiplex ». Chaque puits est le lieu d'une réaction unique parfaitement maîtrisée et dont le résultat peut être contrôlé. Ce système offre une flexibilité totale et une grande simplicité de mise en œuvre grâce au concept **SmartChip MyDesign™**. Ce concept vise à associer notre système qPCR, **SmartCycler™**, et les nano-puces **SmartChip™** à un équipement de pipetage de haute précision, le **Multi Sample Nano Dispenser™ (MSND)**. La plate-forme ainsi constituée permet aux laboratoires de disposer dans un volume réduit des outils nécessaires pour utiliser à leur guise les 5184 puits à leur disposition comme bon leur semble.

Le système PCR SmartChip™ fonctionne sur des nano-volumes de 100 nL d'échantillon seulement par puit ce qui permet une économie importante en quantité d'échantillon et en volume réactionnel. Aucune modification de protocole n'est requise, ni aucun besoin de ré-optimisation, les conditions expérimentales restent identiques. Le concept **SmartChip MyDesign™** permet de traiter, sans aucune pré-amplification, en moins de 2 heures, une puce SmartChip™ contenant 5184 réactions, soit l'équivalent de 54 plaques de 96 puits ! Cette capacité se traduit par un gain de temps particulièrement significatif par rapport



Le SmartCycler en fonctionnement

aux systèmes de plaques de micro-titration. Le système SmartChip permet ainsi de cribler, identifier et valider les biomarqueurs d'intérêt avec un coût réduit et une rapidité inégalée. En une journée, un seul système SmartChip™ peut aisément permettre de réaliser plus de 20 000 réactions.

Notez que l'utilisateur a également la possibilité d'obtenir des SmartChips pré-remplies avec les couples de primers correspondants aux séquences d'intérêt. WaferGen dispose pour cela d'une unité de production équipée de plusieurs plateformes propriétaires de nano-pipetage à très haut débit, capables de remplir un grand nombre de SmartChips en parallèle. Pour le génome humain, WaferGen collabore avec la société IDT pour le design des primers. Il est également possible pour le laboratoire de fournir ses propres primers. Dans tous les cas de figure, il est possible de valider expérimentalement et non « in-silico » les couples de primers sélectionnés grâce aux SmartCycler et de réaliser des courbes de fusion. Cette validation constitue un contrôle qualité et un avantage fort de ce concept par rapport à une approche multiplex. »

Le SmartChip TE™, destiné à l'enrichissement de séquences cibles pour le NGS (Next Generation Sequencing).

Il s'agit de bénéficier ici de la technologie parfaitement maîtrisée des SmartChips et leurs nombreux avantages pour la préparation de banques en vue du séquençage. « Le SmartChip TE™ » offre la possibilité de réaliser en une seule étape l'enrichissement et le « barcoding » des échantillons à séquencer.

Les plaques SmartChip™ sont préparées en intégrant directement dans chaque puits les sets de primers individualisés. Il suffit d'injecter l'échantillon par simple pipetage à l'aide d'un instrument dédié pour remplir de façon homogène les puits. Cette opération simple est réalisée en moins d'une minute. Une fois cette étape réalisée, les SmartChips sont transférées sur un appareil PCR traditionnel équipé d'un adaptateur spécial pour 2 puces pour l'amplification. Les réactions croisées et les interférences occasionnées par le multiplexage sont ainsi évitées, ce qui permet une amplification des régions cibles plus uniforme et plus reproductible tout en minimisant considérablement l'obtention de gaps.

Après l'étape d'amplification, une centrifugation d'une dizaine de minutes suffit pour récupérer l'ensemble des amplicons dans un seul tube. Si les échantillons ont été distribués sur la puce en présence de primers contenant des codes-barres spécifiques, l'enrichissement et le marquage par codes-barres peuvent être réalisés simultanément en une seule étape.

Avec l'utilisation de la plateforme de nanopipetage MSND, le laboratoire peut travailler avec plusieurs échantillons sur une seule puce en faisant varier comme il le souhaite

la combinaison nb d'échantillons x nombre d'amplicons. Le laboratoire peut ainsi concevoir le panel qu'il souhaite et le faire évoluer à sa guise sans avoir à ré-optimiser le panel entier à chaque modification. Outre la possibilité d'augmenter le nombre d'analyses réalisées simultanément, cela permet de réduire considérablement les coûts.

A noter que WaferGen propose également des SmartChip™ composés de panels de gènes prédéfinis, offrant ainsi l'opportunité de découvrir et de valider des biomarqueurs à haut débit et à moindre coût. Le Seq-Ready™ BRCA 1/2 TE Panel, par exemple, contient 139 paires de primers uniques couvrant 100% des régions codantes des gènes suppresseurs de tumeur, BRCA 1 et BRCA 2, dont les mutations seraient impliquées dans le développement de cancer des ovaires et du sein. L'ensemble du processus dure moins de quatre heures avec seulement 45 minutes de préparation manuelle, à l'inverse des autres techniques de capture, hybridation ou PCR multiplex qui requièrent souvent plusieurs étapes d'optimisation et un pooling délicat des primers. Sur une seule SmartChip Seq-Ready™ TE, de multiples banques peuvent ainsi être préparées simultanément permettant l'analyse de plusieurs centaines d'échantillons par jour via l'utilisation du SmartChip MultiSample Nanodispenser. »

Apollo 324™, pour la préparation totalement automatisée de vos banques NGS avant séquençage

« Le système Apollo 324™ et les réactifs PrepX® sont venus compléter la gamme WaferGen en janvier dernier, avec l'acquisition du département Préparation de banques NGS de la société IntegenX Inc. Apollo 324™ est un appareil entièrement automatisé, dédié à la préparation et la reconnaissance codes-barres des fragments d'ADN, avant séquençage. Il est commercialisé avec une large variété de trousseaux et trouve parfaitement sa place au sein de l'offre WaferGen Biosystems, en complément notamment du SmartChip TE™. Il permet notamment de préparer jusqu'à 48 échantillons pour alimenter les séquenceurs Illumina ou Ion Torrent/Thermo pour les applications de séquençage génome entier, exomes, RNA-seq ou ChIP-Seq. »

LGdL : « Quels sont les grands domaines d'applications des produits WaferGen ? Qui en sont les principaux utilisateurs ? »

N. B. : « Les produits WaferGen sont utilisés par les chercheurs et les professionnels de la santé pour l'analyse génétique. La découverte de biomarqueurs, la recherche génétique et les tests diagnostiques, avec l'avènement notamment de la « médecine personnalisée ». Les organismes de recherche académiques et privés, les laboratoires de diagnostic ainsi que l'industrie pharmaceutique et les sociétés de biotechnologie sont nos principaux clients.

Souignons à ce titre la collaboration établie entre WaferGen Biosystems et l'IBBL, Integrated Biobank ▶▶▶