



Stilla Technologies lance la solution Naica™ System : Une révolution sur le marché de la PCR digitale !

La société Stilla Technologies, fondée en 2013 au sein de l'École Polytechnique, a développé et lancé sur le marché européen, il y a quelques semaines, le premier système de PCR digitale doté d'une capacité de détection à trois couleurs : une solution révolutionnaire pour la recherche en biologie moléculaire et... bien au-delà ! Explications.

Une société essaimée du Laboratoire d'Hydrodynamique de l'École polytechnique

Stilla Technologies est née il y a trois ans des travaux de thèse d'un doctorant à l'École Polytechnique, Rémi DANGLA. Ses premières recherches, débutées en 2009 au sein du Laboratoire d'hydrodynamique (LadHyX,

UMR CNRS - Polytechnique, à Palaiseau), portent sur la manipulation de gouttes dans des canaux bidimensionnels et le conduisent à développer des technologies microfluidiques dont il comprend très vite l'intérêt en analyse génétique, pour répondre notamment au besoin d'intégration et de miniaturisation de la PCR (Polymerase Chain Reaction) digitale.

Des demandes de dépôt de brevets sont alors déposées et dès 2012, Rémi DANGLA - accompagné par son directeur de thèse, Charles BAROUD - lance le projet Stilla. S'entourant d'une équipe pluridisciplinaire d'ingénieurs, de biologistes et de commerciaux, ils travaillent ensemble à la preuve de concept, rencontrent de nombreux utilisateurs et acquéreurs potentiels, et obtiennent le soutien de plusieurs industriels et institutions

(Zodiac Aérospatiale, Ecole Polytechnique, IncubAlliance, BPI France...).

En septembre 2013, la société Stilla Technologies est officiellement créée par Rémi DANGLA, Charles BAROUD, Magali DRONIOU et Clément GAY. « Magali, virologue forte de dix ans d'expérience en biologie moléculaire - aujourd'hui directrice des applications pour Stilla Technologies - réalise notamment la preuve de concept, démontrant qu'il est possible de faire une PCR digitale dans nos systèmes microfluidiques », précise Rémi DANGLA. « Clément, directeur financier - diplômé d'un master en management HEC Paris - veille quant à lui à garantir à l'Entreprise les ressources financières nécessaires à son développement rapide ». Mettant à profit leurs expériences et savoir-faire complémentaires, tous quatre collaborent autour d'une même ambition pour Stilla Technologies : faire de la PCR digitale une technologie d'analyse génétique incontournable, de la recherche en biologie moléculaire aux applications

médicales de routine, au service en particulier de la médecine individualisée.

Un développement rapide, de la preuve de concept au lancement commercial

En 2014, l'équipe Stilla Technologies reçoit plusieurs subventions et prix. Elle est notamment lauréate du Concours Mondial de l'Innovation (phase 1) et du Concours i-LAB (concours national d'aide à la création d'entreprises de technologies innovantes) dans la catégorie « création-développement », tandis que Rémi DANGLA se voit distingué du MIT TR35, concours organisé par le magazine The MIT Technology Review du prestigieux Massachusetts Institute of Technology (MIT) récompensant 10 jeunes innovateurs de moins de 35 ans, pour la qualité de leur projet, leur technologie innovante et son potentiel d'application.

La preuve de concept et les premiers prototypes sont finalisés en septembre 2014, démontrant de fait la faisabilité du système de PCR digitale en développement chez Stilla. En août 2015, l'Entreprise déménage pour intégrer de nouveaux locaux, plus vastes, sur le campus de Villejuif Biopark (94) : 300 m² de bureaux et de laboratoires où collaborent aujourd'hui près de vingt personnes, aux cursus très diversifiés et fortement internationaux (ingénieurs mécaniciens, électroniciens et informaticiens, chimistes, biochimistes ou encore designers...), dont une large majorité se consacre à la recherche, au développement et à la validation des solutions Stilla Technologies.

« En octobre 2015, à l'occasion du 3^{ème} qPCR et Digital PCR Congress, à Londres, nous avons annoncé l'introduction prochaine de notre solution de PCR digitale, Naica™ System. Son lancement commercial a été officialisé en février dernier à San Francisco, puis à Lisbonne, en avril, dans le cadre du congrès Molecular Diagnostic Europe », nous confie Rémi DANGLA.

Caroline CHARKY, riche de treize années d'expérience dans le développement commercial de jeunes sociétés sur le marché des sciences de la vie, a rejoint l'équipe Stilla Technologies fin mars 2016, en tant que directrice du Business Development.

Le Naica™ System, une révolution pour la biologie moléculaire, en particulier pour les applications aux biopsies liquides

Le système Naica™, développé et aujourd'hui commercialisé par Stilla Technologies, révolutionne le monde de la biologie moléculaire en proposant le premier système de PCR digitale multiplex (détection à trois couleurs), tout en simplifiant et accélérant grandement le processus d'analyse.

La PCR digitale - troisième génération de PCR après la PCR point final et la PCR temps réel - est une technique de détection et de quantification extrêmement précise des acides nucléiques contenus dans des échantillons biologiques.

Permettant de compter individuellement chaque molécule d'ADN ou d'ARN recherchée, cette technique très puissante, imaginée il y a presque vingt ans, a longtemps vu son champ d'utilisation limité à la recherche de pointe en biologie. Avec l'arrivée récente de nouvelles solutions commerciales, la PCR digitale se démocratise progressivement dans les laboratoires de biologie moléculaire, une transition que Stilla Technologies souhaite accélérer en offrant le système de PCR digitale le plus simple d'utilisation et le plus rapide du marché.

Les applications cliniques se précisent également, avec des applications prometteuses dans le domaine des biopsies liquides pour lesquelles la PCR digitale apporte la précision et la sensibilité nécessaire à l'analyse de séquences en faible concentration dans les fluides biologiques (sang, urine, salive,...). Les applications les plus avancées concernent notamment la médecine individualisée en oncologie, avec l'espoir d'une classification et d'un suivi des patients à partir de simples prises de sang.

Le Sapphire Chip, un concentré d'innovation au cœur du Naica™ System

« La solution Naica™ System est basée sur un concept simple, consistant »



Concentrated

Instruments pour:

Mesure de masse volumique et concentration | Science des colloïdes
Rhéométrie et viscosimétrie | Préparation d'échantillons par micro-ondes
Analyse de structure par rayons X | Mesure de CO₂ | Refractométrie
Polarimétrie | Mesure de température haute précision | Essais pétroliers

Get in touch

info.fr@anton-paar.com | info.ch@anton-paar.com | www.anton-paar.com



à scinder l'échantillon avant son analyse, en dizaines, voire centaines de milliers de micro-gouttelettes, assemblées ensuite dans un tableau de cristaux de gouttes au sein d'une puce», explique M. DANGLA. Les acides nucléiques présents dans l'échantillon sont ainsi séparés dans différents compartiments dont certains contiennent les molécules d'intérêt et d'autres pas. Les cibles sont identifiées par différents fluorochromes - pour distinguer l'ADN sain de l'ADN tumoral, par exemple - puis amplifiées par PCR avant d'être comptées une à une.

« La grande difficulté de cette approche réside dans la capacité à manipuler massivement des volumes fluides de l'ordre du microlitre, et à fractionner ces volumes en centaines de milliers de micro-gouttelettes », poursuit Rémi DANGLA. « C'est sur ce point que l'expertise du LadhYX en matière de microfluidique, et tout particulièrement le savoir-faire et les technologies brevetées en amont de la création de Stilla Technologies, sont entrées en jeu. »

L'innovation majeure portée par Stilla Technologies dans le domaine de la PCR digitale repose sur l'intégration de la totalité du procédé d'analyse au sein d'un simple consommable passif, une puce en plastique à bas coût. Véritable concentré d'innovation, cette puce microfluidique baptisée Sapphire Chip assure à la fois le partitionnement de l'échantillon, son amplification puis la détection trois couleurs des molécules d'ADN ou d'ARN recherchées.

Grâce à cette avancée technologique clé, Stilla Technologies est en mesure de proposer le premier système de PCR digitale hautement intégré et automatisé, simple d'utilisation et capable d'analyser un grand nombre d'échantillons en parallèle, pour un coût comparable à celui des autres instruments. Ses atouts, particulièrement intéressants à des fins de recherche, constituent également les qualités essentielles et nécessaires pour ouvrir l'utilisation de la PCR digitale au marché du diagnostic, hôpitaux et laboratoires d'analyse.

Une solution unique : le système Naica™

Stilla Technologies s'impose ainsi comme la première société européenne à se positionner sur le marché de la PCR digitale. Offrant une vraie alternative à l'existant, avec l'intégration de l'ensemble du procédé dans un seul consommable, elle est également la première à proposer une solution de PCR digitale multiplex, dotée d'une capacité de détection à 3 couleurs.

Autour de la SapphireChip, le Naica System se compose de deux instruments et d'un logiciel : → **La SapphireChip**, préchargée en huile, nécessite à peine deux minutes de préparation. 20 µl de mix PCR y sont injectés par ses ports d'entrée, reliés à un peigne de canaux au bout desquels se forment les microgouttelettes, avant qu'elles ne s'assemblent au sein de la puce en un gigantesque cristal de gouttes.

Chaque puce intègre quatre de ces tableaux ou cristaux de gouttes ; elle peut donc gérer en parallèle l'analyse PCR digitale de quatre échantillons.

→ **Le Naica Geode** permet ensuite de réaliser en 75 minutes les deux premières étapes de la PCR digitale : partitionnement et amplification. En premier lieu, il force l'écoulement de l'échantillon à travers les micro-canaux de la puce. En quelques minutes, l'échantillon est ainsi scindé en un cristal de dizaines de milliers de microgouttes (généralement 25 à 30 000 gouttes), de taille identique. Une fois cette étape de partitionnement réalisée dans la puce, l'amplification PCR y génère de manière exponentielle des copies des séquences recherchées dans les gouttes où ces séquences étaient initialement présentes. Celles qui ne contenaient pas d'ADN portant au moins une séquence cible, restent vides.

Jusqu'à trois puces peuvent être traitées simultanément par le Geode, soit 1 à 12 échantillons par run. L'étape d'amplification PCR est ultra-rapide (moins d'une heure) grâce à une excellente diffusion thermique dans la Sapphire Chip.

→ **Le Prism3** permet ensuite d'acquérir 3 photos haute résolution de chacun des cristaux de gouttes de la puce, chaque photo étant prise sous une condition distincte d'illumination par fluorescence. L'utilisation de 3 fluorophores différents au cours de la réaction de PCR permet ainsi la détection de trois cibles distinctes dans chacun des 12 échantillons analysés, en une dizaine de minutes (50 secondes par échantillon).

→ **Le Logiciel Crystal Miner**, enfin, a été spécifiquement conçu pour l'interprétation des photos de cristaux de gouttes obtenues. Ce logiciel intuitif assiste l'utilisateur dans le comptage des partitions négatives (ne contenant pas la cible, fluorescence faible) et des partitions positives (contenant la cible, fluorescence forte) afin *in fine* déterminer la quantité d'ADN / ARN recherchée dans l'échantillon.

Le logiciel permet également de visualiser directement les images des cristaux de gouttes, de regarder chaque gouttelette individuellement. Avec d'autres fonctionnalités innovantes, Crystal Miner offre tout un panel d'outils pour un contrôle qualité inégalé.

Simple, rapide et performante, intégrée, automatisée et robuste...

Les atouts de la solution Naica™ System sont nombreux et découlent pour la plupart de l'intégration complète du procédé dans un unique consommable.

Très simple de prise en main - aussi simple que le procédé de PCR temps réel - le système de PCR digitale Naica™ limite le travail de manipulation à une seule opération de pipetage, pour la préparation de la puce Sapphire. La transition de la PCR quantitative à la PCR digitale est par ailleurs très aisée.

Robuste, la technologie Stilla permet de réduire les biais liés à l'utilisateur et d'éliminer le risque de contamination grâce au confinement de l'échantillon et à la préprogrammation des opérations de PCR digitale dans la puce.

Rapide, le procédé mis au point par Stilla



De gauche à droite : Etienne Fradet : Directeur Développement de Produits, Magali Droniou : Directrice Applications, Rémi-Dangla : CEO et Co-fondateur, Clément GAY : CFO et Co-fondateur, Caroline Charky : Directrice Business Development

Technologies offre un temps d'analyse de 2 heures, comparable à celui d'une PCR standard et bien inférieur aux 7 à 8 heures normalement observées avec les autres instruments de PCR digitale. « Un atout clé en terme de gestion du temps de travail en laboratoire, avec l'opportunité désormais de réaliser plusieurs runs dans la même journée », commente M. DANGLA.

La capacité de multiplexage de la technologie Stilla Technologies confère en outre à la solution Naica™ la possibilité de caractériser simultanément plusieurs éléments génétiques dans un même échantillon, ce qui permet une utilisation optimale d'échantillons précieux et/ou rares et la réduction des coûts des tests. Ainsi, capable de détecter trois cibles (trois couleurs) par tableau de cristaux de gouttes, le Naica™ System - qui peut intégrer trois puces à la fois, composées chacune de quatre tableaux - permet d'analyser jusqu'à 12 échantillons, soit 36 cibles par run.

Très compétitive également en termes de coût, la solution Stilla Technologies se distingue tout particulièrement sur le marché de la PCR digitale grâce à un consommable peu onéreux. « Notre but est de développer et positionner la PCR digitale comme la technologie standard en biologie moléculaire pour toutes applications nécessitant la quantification d'acides nucléiques », commente Clément GAY.

De la quantification absolue, à la détection d'événements rares, expression génique et copy number variation, jusqu'en amont du séquençage de nouvelle génération (NGS) pour la calibration des bibliothèques de séquences ou encore la validation des résultats de NGS : le Naica™ System de Stilla Technologies dessert à un champ d'applications extrêmement vaste. « L'oncologie est le domaine où la demande pour le Naica™ System est aujourd'hui la plus forte », ajoute Caroline CHARKY. « Sa capacité de multiplexage lui confère un atout majeur pour la caractérisation des tumeurs, mais également pour assurer le suivi de leur évolution et de l'efficacité du traitement ainsi que la surveillance et la caractérisation de possibles résistances à la thérapie administrée ».

A partir d'une simple biopsie liquide, la solution développée par Stilla Technologies permet en effet de quantifier précisément les molécules d'ADN tumoral circulant ou µARN. « Grâce aux trois couleurs de détection, il est possible de distinguer au sein d'un même test la cible de référence, les mutations de résistance et les mutations de susceptibilité au traitement, ce qu'aucun autre équipement de PCR digitale ne proposait jusque-là », poursuit Rémi DANGLA. Au-delà, de nombreux autres secteurs tels que la virologie, la bactériologie, la biologie prénatale et les greffes, ou encore la recherche pharmaceutique et la détection d'OGM en agro-alimentaire, pourront découvrir les nombreux atouts de la PCR digitale au travers la solution proposée par Stilla Technologies.

Prochains objectifs désormais pour l'Entreprise : augmenter le degré de multiplexage (le nombre de couleurs de lecture) du Naica™ System pour proposer de nouveaux kits multiplex et enrichir sa gamme de consommables, afin d'accroître encore davantage le débit et la précision d'analyse, avec pour ambition à terme de porter les applications de la PCR digitale de la recherche au diagnostic. Les premiers systèmes Naica™ sont aujourd'hui en cours d'installation au sein de laboratoires leaders en Europe et aux Etats-Unis. Stilla Technologies prévoit ainsi d'étendre ses activités de l'Europe vers l'international, dès 2017, avec l'appui d'un réseau de partenaires commerciaux.

Pour en savoir plus :
Stilla Technologies - www.stilla.fr
Caroline CHARKY
Directrice Développement des Affaires /
Directrice Business Development
Tél. : (+33) 09 82 29 50 50
Mob. : (+33) 06 17 73 60 47
caroline.charky@stilla.fr

Clément GAY
Co-fondateur, directeur financier et administratif
Tél. : 09 82 29 50 50 - Fax : 09 81 40 96 02
Mob. : 06 74 62 54 9

S. DENIS

LA POLYVALENCE AU CŒUR DE VOS LABORATOIRES



KNF FACILITE
CHAQUE JOUR
VOS APPLICATIONS
DE LABORATOIRE

Evaporateur, Groupe de pompage, Chiller

CONCEPTEUR | FABRICANT
POMPES & SYSTEMES OEM
EQUIPEMENTS DE LABORATOIRE



www.knf.fr

