



(86) **Date de dépôt PCT/PCT Filing Date:** 2012/09/17
(87) **Date publication PCT/PCT Publication Date:** 2013/03/28
(45) **Date de délivrance/Issue Date:** 2020/07/14
(85) **Entrée phase nationale/National Entry:** 2014/03/11
(86) **N° demande PCT/PCT Application No.:** FR 2012/052077
(87) **N° publication PCT/PCT Publication No.:** 2013/041803
(30) **Priorité/Priority:** 2011/09/19 (FR1158317)

(51) **Cl.Int./Int.Cl. C12N 5/00** (2006.01)
(72) **Inventeurs/Inventors:**
LE BERRE, MAEL, FR;
PIEL, MATTHIEU, FR;
LIU, YANJUN, FR
(73) **Propriétaires/Owners:**
INSTITUT CURIE, FR;
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE - CNRS, FR;
SOCIETE DE DEVELOPPEMENT ET DE RECHERCHE
INDUSTRIELLE, FR
(74) **Agent:** BCF LLP

(54) **Titre : DISPOSITIF DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE ET PROCEDE DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE METTANT EN OEUVRE UN TEL DISPOSITIF**
(54) **Title: DEVICE FOR GUIDING CELL MIGRATION AND METHOD OF GUIDING CELL MIGRATION IMPLEMENTING SUCH A DEVICE**

(57) **Abrégé/Abstract:**

Dispositif de guidage (1) dans lequel des cellules (3) sont confinées entre une surface support (2) et une surface texturée (6) d'un substrat (5), ladite surface texturée (6) ayant une structure tridimensionnelle anisotrope (8) présentant un motif de répétition selon un axe de répétition (X), ledit motif de répétition présentant une succession d'espaces de guidage (15) adjacents selon l'axe de répétition (X), chacun desdits espaces de guidage (15) étant adapté pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules (3) et orienté selon une direction d'anisotropie (A1) pour guider un déplacement des cellules (3) dans la direction d'anisotropie (A1).

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
28 mars 2013 (28.03.2013)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2013/041803 A1

- (51) Classification internationale des brevets :
C12N 5/00 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2012/052077
- (22) Date de dépôt international :
17 septembre 2012 (17.09.2012)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
1158317 19 septembre 2011 (19.09.2011) FR
- (71) Déposants : INSTITUT CURIE [FR/FR]; 26, rue d'Ulm, F-75005 Paris (FR). CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS - [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75016 Paris Cedex 16 (FR). SOCIÉTÉ DE DÉVELOPPEMENT ET DE RECHERCHE INDUSTRIELLE [FR/FR]; 42, rue de Longvic, F-21300 Chenove (FR).
- (72) Inventeurs : LE BERRE, Maël; 30, rue de la Réunion, F-75020 Paris (FR). PIEL, Matthieu; 11, rue Emile Gilbert, F-75012 Paris (FR). LIU, Yanjun; 8, rue Pierre Lhomme, F-92400 Courbevoie (FR).
- (74) Mandataires : DUPIRE, Philippe et al.; Cabinet Plasse-raud, 52, rue de la Victoire, F-75440 Paris Cedex 09 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Publiée :
— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : DEVICE FOR GUIDING CELL MIGRATION AND METHOD OF GUIDING CELL MIGRATION IMPLEMENTING SUCH A DEVICE

(54) Titre : DISPOSITIF DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE ET PROCÉDE DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE METTANT EN OEUVRE UN TEL DISPOSITIF

(57) Abstract : A guiding device (1) in which cells (3) are confined between a support surface (2) and a textured surface (6) of a substrate (5), said textured surface (6) having an anisotropic three-dimensional structure (8) having a repeating pattern that repeats according to a repeat axis (X), said repeating pattern having a succession of guide spaces (15) adjacent to one another according to the repeat axis (X), each of said guide spaces (15) being capable of receiving at least one portion of one of the cells (3) and being oriented according to a direction of anisotropy (A1) to guide a movement of the cells (3) in the direction of anisotropy (A1).

(57) Abrégé : Dispositif de guidage (1) dans lequel des cellules (3) sont confinées entre une surface support (2) et une surface texturée (6) d'un substrat (5), ladite surface texturée (6) ayant une structure tridimensionnelle anisotrope (8) présentant un motif de répétition selon un axe de répétition (X), ledit motif de répétition présentant une succession d'espaces de guidage (15) adjacents selon l'axe de répétition (X), chacun desdits espaces de guidage (15) étant adapté pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules (3) et orienté selon une direction d'anisotropie (A1) pour guider un déplacement des cellules (3) dans la direction d'anisotropie (A1).



WO 2013/041803 A1

**DISPOSITIF DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE ET PROCEDE
DE GUIDAGE DE LA MIGRATION CELLULAIRE METTANT EN ŒUVRE UN
TEL DISPOSITIF**

L'invention se rapporte à un dispositif de guidage de la migration cellulaire et à une
5 méthode de guidage de la migration cellulaire mettant en œuvre un tel dispositif.

En particulier, l'invention se rapporte à un dispositif de guidage de la migration cellulaire
comprenant une surface support pourvue de cellules et un substrat, ledit substrat présentant
une surface texturée placée en regard de la surface support et mise en contact avec les
cellules placées sur la surface support.

10 La migration des cellules est essentielle pour de nombreux processus physiologiques
comme l'organogénèse ou la cicatrisation des plaies. Dans leur environnement naturel, la
direction et la vitesse de migration des cellules sont guidées par de nombreux signaux qui
peuvent être chimiques (chimiokines) ou physiques (microenvironnement).

In vitro, ces phénomènes peuvent être reproduits ou détournés pour imposer une direction
15 de migration aux cellules en utilisant, par exemple, des chemoattractants, des champs
électriques ou encore en modulant l'environnement mécanique de la cellule.

Le document EP-A-1199354 décrit, par exemple, la formation d'un motif de cellules sur
une surface par un contrôle chimique de la migration des cellules. En effet, dans le
document EP-A-1199354, la surface est traitée de manière à présenter un pré-motif
20 constitué de composés favorisant le développement des cellules et d'autres composés ne
favorisant pas le développement des cellules. La culture des cellules est ensuite initiée sur
ce pré-motif. Cependant, l'efficacité du contrôle de la migration des cellules par ce type de
système dépend principalement du choix des composés chimiques favorisant ou empêchant
le développement cellulaire en fonction de la nature des cellules cultivées.

25 Le document US 2007/0009572 décrit, quant à lui, une méthode de préparation d'un film
biodégradable micro- ou nano-texturé comprenant des canaux dont la largeur peut varier de
10 μm à 160 μm , sur lequel sont déposées des cellules musculaires. Les essais réalisés
montrent que les cellules musculaires s'alignent les unes par rapport aux autres le long des
canaux, et que leur morphologie se modifie pour prendre une forme allongée. Cette
30 méthode n'a pas pour finalité de faire migrer les cellules dans une direction préférée mais

juste de favoriser leur alignement les unes par rapport aux autres pour obtenir un empilement cellulaire régulier.

Le document US 2009/02481445 décrit également une méthode pour guider l'orientation des cellules suivant une structure tridimensionnelle en utilisant une surface comprenant un
5 micro-canal ou une série de micro-canaux parallèles les uns aux autres, dont la largeur est supérieure à celle des cellules afin que les cellules puissent s'y introduire et dont la section est arbitraire. Comme pour le document précédent, cette méthode n'a pas pour finalité de faire migrer les cellules dans une direction préférée, mais juste de favoriser leur alignement les unes par rapport aux autres.

10 Mahmud *et al.* (Nature Physics 2009, 4, pp. 606) proposent des motifs adhésifs en forme de cliquets (« ratchet ») pour guider la migration cellulaire. L'effet observé est basé sur un contraste d'adhésion entre les parties adhésives des canaux et les parties non-adhésives d'un substrat de sorte que, lorsque la qualité du contraste entre les parties adhésives et non-
15 observé. En outre, l'adhésion sur les canaux, linéaires ou présentant une forme de cliquets (« ratchet »), ne permet de maintenir les cellules que sur ces motifs adhésifs, c'est-à-dire sur une seule dimension dans l'espace, et ne permet pas, par exemple, l'organisation d'un tissu sur une surface en deux dimensions. Enfin, les motifs décrits dans Mahmud *et al.* sont toujours des projections perpendiculaires au plan constitué par la surface véhiculant les
20 cellules.

Ces méthodes permettant de détourner les phénomènes naturels de migration cellulaire peuvent également trouver des applications *in vivo*.

Le document US 2009/0093879 propose notamment un implant présentant en surface des motifs tridimensionnels micro- ou nanométriques. Ces motifs permettent notamment de
25 contrôler l'adhésion de micro-organismes ou de fibroblastes à la surface de l'implant lorsque celui-ci est mis en place chez un être vivant, améliorant ainsi la cicatrisation des blessures. Ce document US 2009/0093879 suggère que les micro- ou nanostructures de surface peuvent guider les cellules à l'origine de la cicatrisation, leur permettant ainsi de s'organiser de manière ordonnée à la surface de l'implant.

30 Or un tel contrôle de la migration cellulaire selon une direction donnée pourrait également présenter des applications dans le domaine médical autres que l'organisation forcée des

cellules autour d'un implant, telles que la migration dirigée des cellules à la surface d'une plaie ou la réalisation d'organes artificiels en ingénierie tissulaire.

Il existe donc un besoin pour de nouveaux dispositifs permettant de guider les cellules dans leur migration selon une direction choisie, dont l'efficacité ne dépend pas du type de cellule motile considérée, simples à mettre en œuvre, peu invasifs pour les tissus et robuste
5 dans le temps.

Par guider la migration cellulaire on entend, au sens de la présente demande, que l'on impose aux cellules de migrer préférentiellement dans une direction plutôt que dans toutes les autres. En d'autres termes, le guidage de la migration brise la symétrie de migration
10 suivant la direction considérée. Le « guidage » de la migration diffère de « l'orientation » de la migration cellulaire où les cellules migrent préférentiellement dans deux directions opposées sans que l'une de ces directions ne soit favorisée par rapport à l'autre.

A cet effet, l'invention propose un dispositif de guidage de la migration cellulaire comprenant une surface support pourvue de cellules et un substrat, ledit substrat présentant
15 une surface texturée placée en regard de la surface support et mise en contact avec les cellules placées sur la surface support de telle manière que les cellules soient confinées entre la surface support et la surface texturée, ladite surface texturée ayant une structure tridimensionnelle anisotrope présentant un motif de répétition selon un axe de répétition, ledit motif de répétition présentant une succession d'espaces de guidage adjacents selon
20 l'axe de répétition, chacun desdits espaces de guidage étant adapté pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules et orienté selon une direction d'anisotropie pour guider un déplacement des cellules dans la direction d'anisotropie.

Ainsi le dispositif de guidage selon l'invention peut assurer un contrôle de la migration des cellules par l'intermédiaire d'une structure particulière au sein de laquelle les cellules
25 confinées sont reçues et déplacées dans une direction (un sens) privilégié, indépendamment du type de cellule utilisé. Par ailleurs, le dispositif de guidage est peu invasif car il repose sur l'application d'une surface texturée sur une surface support. Enfin, le dispositif de guidage peut être obtenu de manière simple, par une simple texturation de surface réalisable en grande série par moulage.

30 En outre, contrairement aux documents de l'art antérieur décrivant des canaux ou des micro-canaux contraignant s'alignement des cellules, la présente invention permet le guidage des cellules selon une direction d'anisotropie formant ainsi un réseau dans le plan compatible avec l'organisation d'un tissu selon une surface donnée.

Le dispositif de guidage selon l'invention peut notamment trouver des applications dans les domaines de la dermatologie, de l'implantologie ou de l'ingénierie tissulaire.

Par « structure anisotrope » ou « structure à géométrie anisotrope », on entend, au sens de la présente demande, une structure dont la géométrie possède une direction d'anisotropie déterminée selon un axe donné. La direction d'anisotropie de la structure anisotrope est notamment, dans le cadre de la présente invention, la direction préférentielle de la migration des cellules.

La surface texturée peut comprendre une surface de base et la structure tridimensionnelle anisotrope peut comprendre une pluralité de paires de surfaces de guidage, lesdites paires de surfaces de guidage étant adjacentes les unes aux autres selon l'axe de répétition et définissant le motif de répétition, chacune des paires comprenant des première et deuxième surfaces de guidage qui s'étendent depuis la surface de base en regard l'une de l'autre et qui délimitent entre elles l'un des espaces de guidage.

En particulier, la structure tridimensionnelle anisotrope peut comprendre une pluralité d'éléments de guidage en saillie par rapport à la surface de base, lesdits éléments de guidage étant adjacents les uns aux autres selon l'axe de répétition et portant chacun l'une des premières surfaces de guidage et l'une des deuxièmes surfaces de guidage, la première surface de guidage de l'un des éléments de guidage étant en regard de la deuxième de surface de guidage de l'élément de guidage adjacent.

Dans un mode de réalisation, les première et deuxième surfaces de guidage de chaque paire sont adaptées pour que la direction d'anisotropie s'étende selon l'axe de répétition. Dans chacune des paires de surfaces de guidage, la première surface de guidage peut alors être adaptée pour bloquer le déplacement des cellules dans une direction opposée à la deuxième surface de guidage et la deuxième surface de guidage peut être adaptée pour autoriser le déplacement des cellules dans une direction opposée à la première surface de guidage, de telle manière que la direction d'anisotropie soit orientée depuis la première surface vers la deuxième surface. Pour ce faire, la première surface de guidage peut être perpendiculaire à l'axe de répétition et la deuxième surface de guidage peut s'écarter de la première surface de guidage selon l'axe de répétition.

En particulier, dans une première variante, la deuxième surface de guidage peut être perpendiculaire à la surface de base et présenter une concavité tournée vers la première surface de guidage. Par exemple, la structure tridimensionnelle anisotrope peut comprendre

une pluralité de rangées de projections triangulaires adjacentes selon l'axe de répétition, chacune desdites rangées comprenant au moins deux projections alignées selon un axe transversal perpendiculaire à l'axe de répétition, chacun des espaces de guidage comprenant une cavité sensiblement triangulaire avec une base formée sur la première surface de guidage de l'une des rangées de projections triangulaires et un sommet formé sur la deuxième surface de guidage de la rangée de projections triangulaires adjacente.

Dans une deuxième variante, la première surface de guidage peut être perpendiculaire à l'axe de répétition et la deuxième surface de guidage peut être inclinée par rapport à un plan perpendiculaire à la surface de base.

Dans un autre mode de réalisation, les première et deuxième surfaces de guidage de chaque paire sont adaptées pour que la direction d'anisotropie s'étende selon un axe transversal perpendiculaire à l'axe de répétition. Dans chacune des paires de surfaces de guidage, les première et deuxième surfaces de guidage peuvent alors être adaptées pour bloquer le déplacement des cellules dans l'une ou l'autre des directions de l'axe de répétition. En particulier, la structure tridimensionnelle anisotrope peut comprendre une pluralité de projections allongées adjacentes selon l'axe de répétition, chacune desdites projections allongées s'étendant selon l'axe transversal, chacun des espaces de guidage comprenant une rainure entre la première surface de guidage de l'une des projections allongées et la deuxième surface de guidage de la projection allongée adjacente.

Par ailleurs, l'espace de guidage peut présenter une dimension maximale, mesurée entre les première et deuxième surfaces de guidage, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm , notamment correspondant sensiblement à une taille des cellules, par exemple comprise entre 5 μm et 60 μm , de préférence entre 15 μm et 30 μm . L'espace de guidage peut également présenter une profondeur inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm , notamment inférieure à une taille des cellules, par exemple inférieure à 6 μm .

Le substrat peut être non adhésif. Dans ce cas, il peut être constitué d'un matériau non adhésif tel qu'un polymère fluoré ou d'un matériau rendu non adhésif par traitement chimique tel que le greffage de molécules de polyéthylène glycol (PEG). La surface texturée non adhésive, c'est-à-dire sur laquelle les cellules ne peuvent pas adhérer, peut donc être retirée sans risque de détériorer les cellules.

En variante, le substrat peut être adhésif.

En outre, la surface support sur laquelle se déplacent les cellules peut être une surface artificielle telle qu'une surface de culture cellulaire (par exemple un gel), une lamelle de verre, l'intérieur d'un canal microfluidique, ou une surface de l'environnement naturel desdites cellules telle que la surface d'un tissu vivant ou la surface d'une plaie.

- 5 La surface support et la surface texturée peuvent être espacées d'une distance comprise entre 0 μm et 10 μm , de préférence entre 3 μm et 6 μm .

Au moins l'une des surfaces choisies parmi la surface support et la surface texturée peut comprendre au moins une saillie supplémentaire permettant de contrôler la distance entre la surface support et la surface texturée. En particulier, la saillie supplémentaire peut se
10 présenter sous la forme d'un pilier de diamètre compris entre 100 μm et 500 μm , et de hauteur inférieure à 10 μm , de préférence entre 3 μm et 6 μm .

Selon des applications particulières, le dispositif de guidage peut se présenter sous la forme d'un pansement, d'un implant, d'une prothèse, d'un support de tissus artificiels, d'un canal microfluidique, d'un laboratoire sur puce intégrant des canaux, et de préférence, ledit
15 dispositif de guidage est un pansement.

Selon un autre aspect, l'invention propose une méthode de guidage de la migration cellulaire mettant en œuvre un dispositif de guidage tel que défini ci-dessus, ladite méthode de guidage prévoyant de mettre en contact les cellules placées sur la surface support avec la surface texturée du substrat de telle manière que les cellules soient confinées entre la
20 surface support et la surface texturée, les cellules se déplaçant dans la direction d'anisotropie.

Description des figures

D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description qui suit de modes de réalisation particuliers de l'invention donnés à titre d'exemple non
25 limitatif, la description étant faite en référence aux dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 est une représentation en perspective d'un premier mode de réalisation d'un substrat d'un dispositif de guidage de migration cellulaire, le substrat présentant une surface texturée pourvue d'une pluralité de rangées de projections triangulaires définissant une succession de cavités de guidage triangulaires adjacents selon un axe de répétition, les
30 cavités de guidages étant adaptées pour guider un déplacement de cellules portées par une surface support dans l'une des directions de l'axe de répétition,

- la figure 2 est une représentation en vue de dessus du substrat de la figure 1 dont la surface texturée est placée en regard d'une surface support dans un dispositif de guidage, la figure 2 illustrant le déplacement d'une cellule entre une surface support et la surface texturée du substrat,
- 5 - la figure 3 est une représentation en perspective du détail référencé III sur la figure 2, dans la direction de déplacement de la cellule,
- la figure 4A est une image en contraste de phase des cellules confinées sous les projections triangulaires, et la figure 4B est un histogramme donnant un biais induit dans la direction de migration des cellules,
- 10 - la figure 5 est une représentation en coupe du dispositif de guidage comprenant un substrat selon une variante du premier mode de réalisation de la figure 1, le substrat présentant une surface texturée pourvue d'une pluralité de projections allongées définissant une succession de rainures de guidage adjacentes selon l'axe de répétition, les rainures de guidages guidant le déplacement de cellules portées par la surface support dans l'une des
- 15 directions de l'axe de répétition,
- la figure 6 est une représentation en perspective d'un deuxième mode de réalisation d'un substrat d'un dispositif de guidage de migration cellulaire, le substrat présentant une surface texturée pourvue d'une pluralité de projections allongées définissant une succession de rainures de guidage adjacentes selon un axe de répétition, les rainures de
- 20 guidage étant adaptées pour guider un déplacement de cellules portées par une surface support dans l'une des directions d'un axe perpendiculaire à l'axe de répétition,
- la figure 7 est une représentation en vue de dessus du substrat de la figure 1 dont la surface texturée est placée en regard d'une surface support dans un dispositif de guidage, la figure 5 illustrant le déplacement d'une cellule entre une surface support et la surface
- 25 texturée du substrat.

Description détaillée

Sur les figures, les mêmes références désignent des éléments identiques ou analogues.

Les figures représentent un dispositif de guidage 1 de migration cellulaire comprenant une surface support 2 pourvue de cellules 3 et un substrat 5 adapté pour guider le déplacement

30 des cellules selon un axe et dans l'une des deux directions de l'axe privilégiés.

Selon un mode préféré de réalisation, le substrat 5 est non adhésif, c'est-à-dire que les cellules ne peuvent pas adhérer sur le substrat 5, de manière, comme il apparaîtra de la suite de la description, à pouvoir retirer le substrat 5 de la surface support 2 sans détériorer les cellules. Un tel substrat 5 non adhésif est aussi appelé substrat anti-encrassement (ou
5 « anti-fouling » selon la terminologie anglosaxonne).

Le caractère non adhésif du substrat 5 correspond à une faible capacité d'adsorption protéique du substrat 5 ainsi qu'une faible capacité d'adhésion cellulaire, ce qui permet généralement de limiter les réactions inflammatoires.

Les matériaux non adhésifs pouvant convenir au substrat 5 non adhésif peuvent notamment
10 être superhydrophobes - comme c'est le cas des polymères fluorés (par exemple, le polytétrafluoroéthylène (PTFE)) - ou des gels comme le polyacrylamide (PAM) ou le polyéthylène-glycol-diacrylate (PEGDA).

Alternativement, le substrat 5 non adhésif peut être constitué d'un matériau rendu non adhésif par traitement chimique.

15 Les traitements chimiques permettant de rendre le substrat 5 non adhésif peuvent notamment être le greffage sur le substrat d'une couche de gel mono-moléculaire, par exemple de type polyéthylène glycol (PEG), par exemple un PEG silanisé sur les oxydes ou thiolé sur les métaux ou conjugué avec un polyélectrolyte pour lui conférer la capacité de s'adsorber durablement par interaction électrostatique sur le substrat 5, comme c'est le
20 cas pour le greffage de Polylysine-PEG (PLL-PEG).

De préférence, le matériau non adhésif est un polymère fluoré ou un matériau rendu non adhésif par traitement chimique tel que le greffage de molécules, par exemple de polyéthylène glycol (PEG).

Le substrat 5 peut, toutefois, notamment en fonction de l'application dans laquelle le
25 dispositif de guidage 1 est mis en œuvre, être adhésif.

Les matériaux adhésifs susceptibles de convenir pour le substrat adhésif 5 peuvent notamment être hydrophiles ou hydrophobes, en étant le cas échéant traités avec un promoteur d'adhésion cellulaire, et notamment choisis parmi :

- les plastiques biocompatibles : par exemple, le polystyrène (PS), couramment
30 utilisé en culture cellulaire, des polymères siliconés comme le polydiméthylsiloxane (PDMS) notamment utilisés dans les laboratoires sur puce,

- des gels de copolymères blocks comme le styrène-éthylène/butylène-styrène (SEBS) utilisés pour la fabrication de pansements ou les polyacides lactiques et glycoliques (PLGA, PLA : hydrophile) qui sont biodégradables et peuvent être utilisés pour des implants ou comme support de tissus artificiels ; certains de ces
- 5 plastiques peuvent avantageusement être activés par plasma oxygène pour augmenter leur hydrophilie et promouvoir l'adhésion cellulaire,
- les céramiques, généralement hydrophiles, telles que les oxydes métalliques ou les nitrures, comme par exemple le verre (SiO_2), le nitrure de silicium (Si_3N_4), le dioxyde de titane (TiO_2) ou d'autres ; ces matériaux sont utilisés en culture
- 10 cellulaire, dans les laboratoires sur puce ou en implantologie ; ces matériaux peuvent avantageusement être activés par plasma oxygène pour augmenter leur hydrophilie et promouvoir l'adhésion cellulaire,
- les métaux inertes comme l'or, le platine, le palladium ou les métaux dont la surface oxydée ou nitrurée est stable comme le chrome ou le titane qui sont utilisés
- 15 pour les implants ; avantageusement, les métaux peuvent être traités avec des molécules de la famille des thiols pour augmenter ou diminuer leur capacité d'adhésion cellulaire.

Il est, par ailleurs, possible de promouvoir l'adhésion cellulaire, en traitant chimiquement un matériau support. On peut alors utiliser :

- 20 - des polymères chargés (polyélectrolytes) qui s'adsorbent fortement par interaction électrostatique sur les surfaces oxydées (naturellement comme pour les oxydes ou artificiellement en activant les surfaces à l'aide d'un plasma oxygène) : par exemple la Poly-L-lysine (PLL) ou la Polyhornitine (PORN) ; ou
- des protéines d'adhésion cellulaire (Intégrines) ou de la matrice extracellulaire
- 25 (Fibronectine, laminine, collagène) ou des peptides mimant ces protéines, comme le motif RGD (Arginyl glycyL aspartic acid).

Il est également possible, dans le cadre de la présente invention, de moduler l'adhésion du substrat 5 pour optimiser la motilité des cellules. En effet, le niveau d'adhésion des cellules sur un substrat 5 peut être modulé en traitant ce substrat avec un mélange ratiométrique de

30 molécules adhésives et de molécules non-adhésives. Par exemple, un mélange de pLL-PEG et de pLL-PEG-RGD ou un mélange de pLL-PEG et de Fibronectine peuvent être utilisés.

Le substrat 5 présente une surface texturée 6 ayant une surface de base 7 et une structure tridimensionnelle anisotrope 8, visible sur la figure 1 et représentée en transparence de la surface de base 7 sur les figures 2 et 3. La structure tridimensionnelle anisotrope 8 comprend une pluralité d'éléments de guidage en saillie par rapport à la surface de base 7 selon un axe vertical Z perpendiculaire à la surface de base 7. Les éléments de guidage sont agencés sur la surface de base 7 de manière adjacente les uns aux autres selon un axe de répétition X, perpendiculaire à l'axe vertical Z. Sur les figures, le substrat 5 est représenté à plat avec une description correspondante des axes pour clarifier l'orientation et le positionnement relatif des éléments du substrat 5. Comme il ressort de ce qui précède et comme il ressortira de la suite de la description, et notamment des applications du dispositif de guidage 1, le substrat 5 peut, toutefois, être déformable et présenter toute autre configuration que la configuration à plat représentée.

Dans le premier mode de réalisation représenté sur les figures 1 à 3, chaque élément de guidage se présente sous la forme d'une rangée 10 de projections triangulaires. Chaque rangée 10 comprend cinq projections triangulaires 11 alignées selon un axe transversal Y perpendiculaire à l'axe de répétition X et à l'axe vertical Z. Dans d'autres modes de réalisation, chaque rangée 10 peut comprendre deux, trois, quatre ou plus de cinq projections triangulaires 11.

Chaque projection triangulaire 11 présente une base 12 et un sommet 13. Dans chaque rangée 10, les bases 12 forment une première surface de guidage 14, perpendiculaire à la surface de base 7 et à l'axe de répétition X, et les sommets 13 forment une deuxième surface de guidage 16, perpendiculaire à la surface de base 7 et présentant une succession de concavités formant une denture.

La première surface de guidage 14 de l'une des rangées de projections triangulaires 10 est placée en regard de la deuxième surface de guidage 16 de la rangée de projections triangulaires 10 adjacente. Les projections triangulaires 11 de deux rangées 10 adjacentes ont, par ailleurs, leurs bases 12 et leurs sommets 13 alignés. Les rangées de projections triangulaires 10 forment ainsi, entre elles, une pluralité de paires de surfaces de guidage adjacentes les unes aux autres selon l'axe de répétition X et définissent un motif de répétition selon cet axe de répétition X.

Chacune des paires de surfaces de guidage comprend l'une des premières surfaces de guidage 14 et la deuxième surface de guidage 16 en regard, en délimitant entre elles un espace de guidage. Dans le premier mode de réalisation, l'espace de guidage comprend une

pluralité de cavités 15 sensiblement triangulaires avec chacune une base 17 formée sur la première surface de guidage 14 de l'une des rangées de projections triangulaires 10 et un sommet 18 formé sur la deuxième surface de guidage 16 de la rangée de projections triangulaires 10 adjacente. En particulier, pour chaque cavité 15, la base 17 est formée par des parties des bases 12 de deux projections triangulaires 11 de l'une des rangées 10 et le sommet 18 est formé par deux parois latérales convergeant l'une vers l'autre de deux projections triangulaires 11 de la rangée 10 adjacente. Le motif de répétition présente alors une succession de cavités 15 selon l'axe de répétition X.

Chacune des cavités 15 est adaptée pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules 3. La cavité 15 présente une dimension maximale, mesurée entre les première 14 et deuxième 16 surfaces de guidage, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm . Avantageusement, la dimension maximale de la cavité 15 correspond sensiblement à une taille des cellules 3 et est, par exemple, comprise entre 5 μm et 60 μm , de préférence entre 15 μm et 30 μm . La cavité 15 présente, par ailleurs, une profondeur, mesurée perpendiculairement à la surface de base 7, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm . Avantageusement, la profondeur de la cavité 15 est inférieure à une taille des cellules 3, par exemple inférieure à 20 μm , ou encore inférieure à 6 μm . Par exemple, chacune des cavités 15 a une profondeur de 2 μm et est réalisée sous la forme d'un triangle équilatéral dont le côté B mesure 32 μm , soit une distance maximale entre les première 14 et deuxième 16 surfaces de guidage de 27,71 μm .

Dans le mode de réalisation représenté, les projections triangulaires 11 sont représentées attenantes les unes aux autres au sein d'une même rangée 10 et entre deux rangées 10 adjacentes. Des écarts entre les projections triangulaires 11 pourraient, toutefois, être prévus notamment pour adapter la dimension de la cavité 15. En outre, chaque rangée 10 a été représentée avec une pluralité de cavités 15, étant entendu que chaque rangée 10 pourrait ne comprendre qu'une seule cavité 15.

Une telle structure tridimensionnelle peut être réalisée, par exemple, par photolithographie, optionnellement suivie par une étape de gravure, ou par tout procédé de microfabrication.

En relation avec les figures 2 et 3, on décrit une méthode de guidage de migration cellulaire mettant en œuvre le substrat 5 décrit ci-dessus.

La surface texturée 6 du substrat 5 est placée en regard de la surface support 2 et mise en contact avec les cellules 3 placées sur la surface support 2 de telle manière que les cellules

3 soient confinées entre la surface support 2 et la surface texturée 6. Le confinement des cellules 3 permet de renforcer leur guidage, en particulier lorsque le substrat 5 sur lequel les cellules 3 sont véhiculées est non adhésif.

La surface support 2 et la surface texturée 6 sont espacées d'une distance comprise entre 5 0 μm et 10 μm , de préférence entre 3 μm et 6 μm de sorte que l'épaisseur de la cellule 3 après confinement soit au moins comprise entre 3 et 6 μm pour permettre sa migration. La surface de base 7 du substrat 5 est placée à une distance D de la surface support 2, par exemple de 5 μm , et les projections triangulaires 11 sont placées à une distance d de la surface support 2, inférieure à la distance D entre la surface de base 7 et la surface support 10 2, par exemple de 3 μm .

La surface support 2 sur laquelle reposent les cellules 3 peut être une surface artificielle telle qu'une surface de culture cellulaire (par exemple un gel), une lamelle de verre, l'intérieur d'un canal microfluidique, ou une surface de l'environnement naturel desdites cellules telle que la surface d'un tissu vivant ou la surface d'une plaie.

15 Lorsque les cellules sont véhiculées sur un support portant la surface support 2 et présentant une rigidité supérieure à environ 20 kPa, il est souhaitable, dans le cadre de la présente invention, qu'au moins l'une des surfaces choisies parmi la surface support 2 et la surface texturée 6 comprenne au moins une saillie supplémentaire, non représentée, permettant de contrôler une distance entre la surface support 2 et la surface texturée 6 et 20 ainsi d'éviter d'altérer les cellules 3. La hauteur de ces saillies est mesurée par rapport à la surface sur laquelle elles sont disposées. La saillie supplémentaire peut se présenter sous la forme d'un ou plusieurs piliers de diamètre compris entre 100 μm et 500 μm , et de hauteur inférieure à 10 μm , de préférence entre 3 μm et 6 μm , et en tout état de cause, de hauteur telle que l'épaisseur de la cellule 3 après confinement est au moins comprise entre 3 et 6 25 μm .

A l'inverse, lorsque les cellules sont véhiculées sur un support portant la surface support 2 et « mou », c'est-à-dire présentant une rigidité inférieure à environ 20 kPa, notamment comprise entre 100 Pa et 20 kPa, de préférence entre 500 Pa et 10 kPa, il n'est pas nécessaire qu'il possède des saillies supplémentaires dans la mesure où la surface support 2 30 est suffisamment « molle » pour permettre aux cellules 3 de ne pas être écrasées par le substrat, les cellules 3 définissant leur espace de confinement en déformant la surface support 2. Ces supports « mous » sont de type gel de faible rigidité ou tapis cellulaire. Les gels utilisés peuvent être des gels d'origine artificielle tels que le polyacrylamide (PAM)

ou le polyéthylène-glycol-diacrylate (PEGDA) ou encore des gels d'origine naturelle comme le collagène, le matrigel ou l'acide hyaluronique (HA). La rigidité de ces gels peut être ajustée par leur composition et par les conditions de leur réticulation.

5 Chaque cavité 15 dont la deuxième surface de guidage 16 s'écarte de la première surface de guidage 14 selon l'axe de répétition X est orientée selon une direction d'anisotropie A1 parallèle à l'axe de répétition X et dirigée depuis la première surface de guidage 14 vers la deuxième surface 16.

Dans chaque cavité 15, la première surface de guidage 14 est adaptée pour bloquer le déplacement des cellules 3 dans une direction opposée à la deuxième surface de guidage 16 et la deuxième surface de guidage 16 est adaptée pour autoriser le déplacement des cellules 3 dans une direction opposée à la première surface de guidage 14.

Les cavités 15 peuvent alors guider un déplacement des cellules 3 portées par la surface support 2 dans la direction d'anisotropie A1, c'est-à-dire dans la direction de l'axe de répétition X allant de la base 17 vers le sommet 18 de la cavité 15.

15 La figure 4A est une image en contraste de phase des cellules confinées sous les projections triangulaires 10. Les triangles clairs sur la figure 4A représentent les cavités 15, les projections triangulaires 10 étant représentées par les triangles foncés. La figure 4B est un histogramme donnant un biais induit dans la direction de migration de 167 cellules confinées sous la structure décrite précédemment, après 24 heures de migration. Sur les 20 figures 4A et 4B, une flèche donne la direction des pointes des cavités 15 triangulaires.

L'histogramme montre alors une direction privilégiée de migration correspondant à la direction selon laquelle les cavités 15 sont orientées.

La méthode de guidage qui vient d'être décrite utilise une surface texturée 6 dont la structure tridimensionnelle 8 ou texture est biaisée dans une direction, dite direction 25 d'anisotropie A1, de manière à ce que les cellules 3 puissent appliquer une pression plus facilement dans une direction (ici, vers la deuxième surface de guidage 16) que dans une autre (ici, vers la première surface de guidage 14), ou puissent s'accrocher plus facilement dans une direction (ici, vers la première surface de guidage 14) que dans une autre (ici, vers la deuxième surface de guidage 16), ou puissent se déformer plus facilement dans une 30 direction (ici, vers la deuxième surface de guidage 16) que dans une autre (ici, vers la première surface de guidage 14). Une telle anisotropie d'interaction entre la cellule 3 et le

substrat 5 induit une direction de migration préférentielle, à l'image de la structure dite du cliquet Brownien (« Brownian ratchet ») décrite ci-dessus.

Dans le mode de réalisation décrit précédemment, la direction d'anisotropie A1 est définie par une concavité tournée vers la première surface de guidage 14 et formée par deux parois latérales rectilignes convergeant l'une vers l'autre. D'autres formes peuvent, toutefois, être prévues pour l'espace de guidage de manière à réaliser une concavité tournée vers la première surface de guidage 14 et, de là, une direction d'anisotropie A1 parallèle à l'axe de répétition X, allant de la première surface de guidage 14 à la deuxième surface de guidage 16. Par exemple, la concavité pourrait être arrondie, en étant notamment formée par deux parois latérales courbes convergeant l'une vers l'autre ou par une seule paroi latérale courbe.

L'invention n'est, par ailleurs, pas limitée à la réalisation d'une concavité pour orienter la direction d'anisotropie A1 parallèlement à l'axe de répétition X, depuis la première surface de guidage 14 vers la deuxième surface de guidage 16.

Par exemple, dans une variante représentée sur la figure 5, les éléments de guidage sont réalisés sous la forme de projections allongées 20 s'étendant chacune selon l'axe transversal Y, perpendiculaire à l'axe de répétition X. Chaque projection allongée 20 porte une première surface de guidage 24, perpendiculaire à l'axe de répétition X, et une deuxième surface de guidage 26, inclinée par rapport à un plan perpendiculaire à la surface de base 7.

Dans cette variante, seule la surface texturée 6' du substrat 5 diffère de celle décrite précédemment. La description détaillée du substrat 5 et des autres éléments identiques ne sera donc pas reprise et l'on se réfèrera à la description qui en a déjà été faite pour plus de détails.

Comme décrit précédemment, la première surface de guidage 24 de l'une des projections allongées 20 est placée en regard de la deuxième de surface de guidage 26 de la projection allongée 20 adjacente. Les projections allongées 20 forment ainsi, entre elles, une pluralité de paires de surfaces de guidage adjacentes les unes aux autres selon l'axe de répétition X et définissent un motif de répétition selon cet axe de répétition X.

Chacune des paires de surfaces de guidage comprend l'une des premières surfaces de guidage 24 et la deuxième surface de guidage 26 en regard, en délimitant entre elles un espace de guidage.

Dans cette variante du premier mode de réalisation, l'espace de guidage comprend une rainure 25 s'étendant selon l'axe transversale Y. Le motif de répétition présente alors une succession de rainures 25 selon l'axe de répétition X. Chacune des rainures 25 est adaptée pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules 3. La rainure 25 présente une dimension maximale, mesurée au fond de la rainure 25 entre les première 24 et deuxième surfaces 26 de guidage, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm .
5 Avantageusement, la dimension maximale de la rainure 25 correspond sensiblement à une taille des cellules 3 et est, par exemple, comprise entre 5 μm et 60 μm , de préférence entre 15 μm et 30 μm . La rainure 25 présente, par ailleurs, une profondeur, mesurée perpendiculairement à la surface de base 7, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm . Avantageusement, la profondeur de la rainure 25 est inférieure à une taille des cellules 3, par exemple inférieure à 20 μm , ou encore inférieure à 6 μm .
10

Une telle structure tridimensionnelle peut être réalisée, par exemple, par photolithographie, optionnellement suivie par une étape de gravure anisotrope type RIE, ICP ou DRIE en inclinant l'échantillon lors de la photolithographie ou gravure pour obtenir les faces inclinées, ou encore par photolithographie à niveau de gris (« Gray-tone lithography »).
15

Comme représenté sur la figure 5, chaque rainure 25 dont la deuxième surface de guidage 26 s'écarte de la première surface de guidage 24 selon l'axe de répétition X est orientée selon une direction d'anisotropie A2 parallèle à l'axe de répétition X et dirigée depuis la première surface de guidage 24 vers la deuxième surface de guidage 26. Dans chaque rainure 25, la première surface de guidage 24 bloque le déplacement des cellules 3 dans une direction opposée à la deuxième surface de guidage 26 et la deuxième surface de guidage 26 autorise le déplacement des cellules 3 dans une direction opposée à la première surface de guidage 24. Les rainures 25 peuvent alors guider un déplacement des cellules 3 portées par la surface support 2 dans la direction d'anisotropie A2, c'est-à-dire dans la direction de l'axe de répétition X allant de la première surface de guidage 24 vers la deuxième surface de guidage 26.
20
25

Les figures 6 et 7 représentent un deuxième mode de réalisation de l'invention dans lequel les espaces de guidage 35 sont orientés dans une direction d'anisotropie A3a, A3b qui s'étend selon l'axe transversal Y, perpendiculaire à l'axe de répétition X, de manière à guider le déplacement des cellules 3 selon l'axe transversal Y.
30

Dans ce deuxième mode de réalisation, seule la surface texturée 6'' du substrat 5 diffère de celle du premier mode de réalisation décrit précédemment. La description détaillée du

substrat 5 et des autres éléments identiques ne sera donc pas reprise et l'on se réfèrera à la description qui en est faite en relation avec le premier mode de réalisation pour plus de détails.

Les éléments de guidage sont réalisés sous la forme de projections allongées 30 s'étendant
5 chacune selon l'axe transversal Y. Chaque projection allongée 30 porte des première 34 et deuxième 36 surfaces de guidage, perpendiculaires à l'axe de répétition X.

Comme décrit précédemment, la première surface de guidage 34 de l'une des projections allongées 30 est placée en regard de la deuxième de surface de guidage 36 de la projection allongée 30 adjacente. Les projections allongées 30 forment ainsi, entre elles, une pluralité
10 de paires de surfaces de guidage adjacentes les unes aux autres selon l'axe de répétition X et définissent un motif de répétition selon cet axe de répétition X.

Chacune des paires de surfaces de guidage comprend l'une des premières surfaces de guidage 34 et la deuxième surface de guidage 36 en regard, en délimitant entre elles un espace de guidage.

15 Dans ce deuxième mode de réalisation, l'espace de guidage comprend une rainure 35 qui s'étend selon l'axe transversal Y. Le motif de répétition présente alors une succession de rainures 35 selon l'axe de répétition X. Chacune des rainures 35 est adaptée pour recevoir au moins une partie de l'une des cellules 3. La rainure 35 présente une dimension maximale, mesurée entre les première 34 et deuxième 36 surfaces de guidage, inférieure à
20 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm . Avantagement, la dimension maximale de la rainure 35 correspond sensiblement à une taille des cellules 3 et est, par exemple, comprise entre 5 μm et 60 μm , de préférence entre 15 μm et 30 μm . La rainure 35 présente, par ailleurs, une profondeur, mesurée perpendiculairement à la surface de base 7, inférieure à 200 μm , de préférence inférieure à 100 μm . Avantagement, la profondeur
25 de la rainure 35 est inférieure à une taille des cellules 3, par exemple inférieure à 20 μm , ou encore inférieure à 6 μm .

Chaque rainure 35 dont les première 34 et deuxième 36 surfaces de guidage s'étendent selon l'axe transversal Y peut être orientée selon l'une des directions d'anisotropie A3a, A3b parallèle à l'axe transversal Y par tout moyen approprié, comme par exemple des
30 crans ou cliquets agencés sur les première 34 et deuxième 36 surfaces de guidage ou sur le fond de la rainure 35. Dans chaque rainure 35, les première 34 et deuxième 36 surfaces de guidage bloquent le déplacement des cellules 3 dans l'une ou l'autre des directions de

l'axe de répétition X. Les rainures 35 peuvent alors guider un déplacement des cellules 3 portées par la surface support 2 dans l'une des directions d'anisotropie A3a, A3b.

Le dispositif de guidage 1 selon l'invention peut notamment trouver de nombreuses applications de guidage de la migration des cellules *in vivo* ou *in vitro*.

- 5 On entend par guidage *in vitro* le guidage de la migration des cellules en culture dans un milieu entièrement artificiel. Les cellules peuvent, par exemple, être cultivées sur une surface support artificielle telle qu'une boîte de culture cellulaire, la surface texturée étant alors appliquée sur la surface support pour confiner les cellules. Dans un autre mode de réalisation, la surface texturée peut être intégrée sur l'une des faces d'un canal
- 10 microfluidique pour guider la migration des cellules dans ledit canal microfluidique. Les surfaces texturées du dispositif selon l'invention peuvent être utilisées, soit pour l'étude des mécanismes biologiques et physiques de migration et de prolifération des cellules en culture, soit pour réaliser du tri cellulaire en séparant les cellules suivant leurs caractéristiques de migration. Alternativement, le dispositif selon l'invention peut
- 15 permettre de guider des cellules sur des supports bidimensionnels ou tridimensionnels couvert au moins partiellement d'une surface de guidage texturée pour la réalisation d'organes artificiels (ingénierie tissulaire). Le dispositif selon l'invention peut trouver une application dans tout domaine nécessitant de guider les cellules artificiellement et indépendamment de leur comportement chimiotactique.
- 20 On entend par guidage *in vivo* le guidage de la prolifération et de la migration des cellules chez un être vivant, par exemple chez l'homme. Dans ce cas, la surface support est constituée du support physiologique naturel des cellules sur lequel est appliquée la surface texturée. Selon un mode préféré de réalisation de guidage *in vivo*, la surface texturée peut être utilisée pour guider les cellules présentes à la surface d'une plaie de manière à
- 25 favoriser la répartition des cellules sur la plaie. Le dispositif est alors un pansement présentant des microstructures à sa surface. Selon un autre mode de réalisation de guidage *in vivo*, la surface texturée peut être utilisée pour guider les cellules autour d'une prothèse de manière à favoriser la répartition des cellules autour de la prothèse. Selon encore un autre mode de réalisation de guidage *in vivo*, la surface texturée peut être utilisée pour
- 30 guider les cellules autour d'un film ou d'un pansement interne placé à l'intérieur du corps d'un être vivant de manière à favoriser la répartition des cellules dans ou autour d'un organe.

Dans une application particulière, le dispositif de guidage peut avantageusement être mis en œuvre *in vivo*, comme pansement, pour favoriser la cicatrisation d'une plaie. Outre l'application particulièrement avantageuse comme pansement, le dispositif de guidage selon l'invention trouve des applications comme implant, prothèse, support de tissus

5 artificiels, canal microfluidique, ou laboratoire sur puce intégrant des canaux.

REVENDEICATIONS

1. Dispositif de guidage de la migration cellulaire comprenant une surface support
pourvue de cellules, et un substrat, ledit substrat présentant une surface texturée placée
en regard de la surface support à une distance selon une direction verticale, ladite
5 surface texturée étant mise en contact avec les cellules placées sur la surface support de
telle manière que les cellules soient confinées entre la surface support et la surface
texturée, ladite surface texturée ayant une surface de base et une structure
tridimensionnelle anisotrope présentant un motif de répétition selon un axe de
répétition perpendiculaire à la direction verticale, ledit motif de répétition présentant
10 une succession d'espaces de guidage adjacents selon l'axe de répétition, la structure
tridimensionnelle anisotrope comprenant une pluralité de paires de surfaces de guidage,
lesdites paires de surfaces de guidage étant adjacentes les unes aux autres selon l'axe
de répétition et définissant le motif de répétition, chacune des paires comprenant des
première et deuxième surfaces de guidage qui s'étendent depuis la surface de base en
15 regard l'une de l'autre et qui délimitent entre elles l'un des espaces de guidage, chacun
desdits espaces de guidage étant adapté pour recevoir au moins une partie de l'une des
cellules et orienté selon une direction d'anisotropie perpendiculaire à la direction
verticale pour guider un déplacement des cellules dans la direction d'anisotropie.
2. Dispositif de guidage selon la revendication 1, dans lequel la structure
20 tridimensionnelle anisotrope comprend une pluralité d'éléments de guidage en saillie
par rapport à la surface de base, lesdits éléments de guidage étant adjacents les uns aux
autres selon l'axe de répétition et portant chacun l'une des premières surfaces de
guidage et l'une des deuxièmes surfaces de guidage, la première surface de guidage de
l'un des éléments de guidage étant en regard de la deuxième de surface de guidage de
25 l'élément de guidage adjacent.
3. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, dans lequel les
première et deuxième surfaces de guidage de chaque paire sont adaptées pour que la
direction d'anisotropie s'étende selon l'axe de répétition.
4. Dispositif de guidage selon la revendication 3, dans lequel, dans chacune des paires de
30 surfaces de guidage, la première surface de guidage est adaptée pour bloquer le
déplacement des cellules dans une direction opposée à la deuxième surface de guidage

et la deuxième surface de guidage est adaptée pour autoriser le déplacement des cellules dans une direction opposée à la première surface de guidage, de telle manière que la direction d'anisotropie soit orientée depuis la première surface de guidage vers la deuxième surface de guidage.

- 5 5. Dispositif de guidage selon la revendication 4, dans lequel la première surface de guidage est perpendiculaire à l'axe de répétition et la deuxième surface de guidage s'écarte de la première surface de guidage selon l'axe de répétition.
6. Dispositif de guidage selon la revendication 5, dans lequel la deuxième surface de guidage est perpendiculaire à la surface de base et présente une concavité tournée vers
10 la première surface de guidage.
7. Dispositif de guidage selon la revendication 6, dans lequel la structure tridimensionnelle anisotrope comprend une pluralité de rangées de projections triangulaires adjacentes selon l'axe de répétition, chacune desdites rangées de projections triangulaires comprenant au moins deux projections alignées selon un axe
15 transversal perpendiculaire à l'axe de répétition, chacun des espaces de guidage comprenant une cavité sensiblement triangulaire avec une base formée sur la première surface de guidage de l'une des rangées de projections triangulaires et un sommet formé sur la deuxième surface de guidage de la rangée de projections triangulaires adjacente.
- 20 8. Dispositif de guidage selon la revendication 5, dans lequel la première surface de guidage est perpendiculaire à l'axe de répétition et la deuxième surface de guidage est inclinée par rapport à un plan perpendiculaire à la surface de base.
9. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, dans lequel les première et deuxième surfaces de guidage de chaque paire sont adaptées pour que la
25 direction d'anisotropie s'étende selon un axe transversal perpendiculaire à l'axe de répétition.
10. Dispositif de guidage selon la revendication 9, dans lequel, dans chacune des paires de surfaces de guidage, les première et deuxième surfaces de guidage sont adaptées pour bloquer le déplacement des cellules dans l'une ou l'autre des directions de l'axe de
30 répétition.

11. Dispositif de guidage selon la revendication 10, dans lequel la structure tridimensionnelle anisotrope comprend une pluralité de projections allongées adjacentes selon l'axe de répétition, chacune desdites projections allongées s'étendant selon l'axe transversal, chacun des espaces de guidage comprenant une rainure entre la première surface de guidage de l'une des projections allongées et la deuxième surface de guidage de la projection allongée adjacente.
12. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans lequel l'espace de guidage présente une dimension maximale, mesurée entre les première et deuxième surfaces de guidage, inférieure à 200 μm .
13. Dispositif de guidage selon la revendication 12, dans lequel la dimension maximale de l'espace de guidage est inférieure à 100 μm .
14. Dispositif de guidage selon la revendication 13, dans lequel la dimension maximale de l'espace de guidage correspond sensiblement à une taille des cellules.
15. Dispositif de guidage selon la revendication 14, dans lequel la dimension maximale de l'espace de guidage est comprise entre 5 μm et 60 μm .
16. Dispositif de guidage selon la revendication 14, dans lequel la dimension maximale de l'espace de guidage est comprise entre 15 μm et 30 μm .
17. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 2 à 16, dans lequel l'espace de guidage présente une profondeur, mesurée perpendiculairement à la surface de base, inférieure à 200 μm .
18. Dispositif de guidage selon la revendication 17, dans lequel la profondeur de l'espace de guidage est inférieure à 100 μm .
19. Dispositif de guidage selon la revendication 17, dans lequel la profondeur de l'espace de guidage est inférieure à une taille des cellules.
20. Dispositif de guidage selon la revendication 19, dans lequel la profondeur de l'espace de guidage est inférieure à 6 μm .
21. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, dans lequel le substrat est non adhésif pour les cellules.
22. Dispositif de guidage selon la revendication 21, dans lequel le substrat non adhésif est constitué d'un matériau non adhésif.

23. Dispositif de guidage selon la revendication 22, dans lequel le matériau non adhésif est un polymère fluoré.
24. Dispositif de guidage selon la revendication 22, dans lequel le matériau non adhésif est rendu non adhésif par un greffage de molécules de polyéthylène glycol (PEG).
- 5 25. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 24, dans lequel le substrat est adhésif pour les cellules.
26. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 25, dans lequel la surface support sur laquelle se déplacent les cellules est une surface artificielle, une lamelle de verre, l'intérieur d'un canal microfluidique, ou une surface de
10 l'environnement naturel desdites cellules.
27. Dispositif de guidage selon la revendication 26, dans lequel la surface artificielle est une surface de culture cellulaire.
28. Dispositif de guidage selon la revendication 27, dans lequel la surface de culture cellulaire est un gel.
- 15 29. Dispositif de guidage selon la revendication 26, dans lequel la surface de l'environnement naturel desdites cellules est la surface d'un tissu vivant ou la surface d'une plaie.
30. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 29, dans lequel la surface support et la surface texturée sont espacées d'une distance comprise entre 0 μm et 10 μm .
20
31. Dispositif de guidage selon la revendication 30, dans lequel la distance entre la surface support et la surface texturée est comprise entre 3 μm et 6 μm .
32. Dispositif de guidage selon la revendication 30 ou 31, dans lequel au moins l'une des surfaces choisies parmi la surface support et la surface texturée comprend au moins une saillie supplémentaire permettant de contrôler la distance entre la surface support et la surface texturée.
25
33. Dispositif de guidage selon la revendication 32, dans lequel l'au moins une saillie supplémentaire se présente sous la forme d'un pilier de diamètre compris entre 100 μm et 500 μm , et de hauteur inférieure à 10 μm .

34. Dispositif de guidage selon la revendication 33, dans lequel la hauteur du pilier est comprise entre 3 μm et 6 μm .
35. Dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 34, se présentant sous la forme d'un pansement, d'un implant, d'une prothèse, d'un support de tissus artificiels, d'un canal microfluidique, d'un laboratoire sur puce intégrant des canaux.
- 5
36. Méthode de guidage *in vitro* de la migration cellulaire mettant en œuvre un dispositif de guidage selon l'une quelconque des revendications 1 à 35, ladite méthode de guidage prévoyant de mettre en contact les cellules placées sur la surface support avec la surface texturée du substrat de telle manière que les cellules soient confinées entre la surface support et la surface texturée, les cellules se déplaçant dans la direction
- 10
- d'anisotropie.

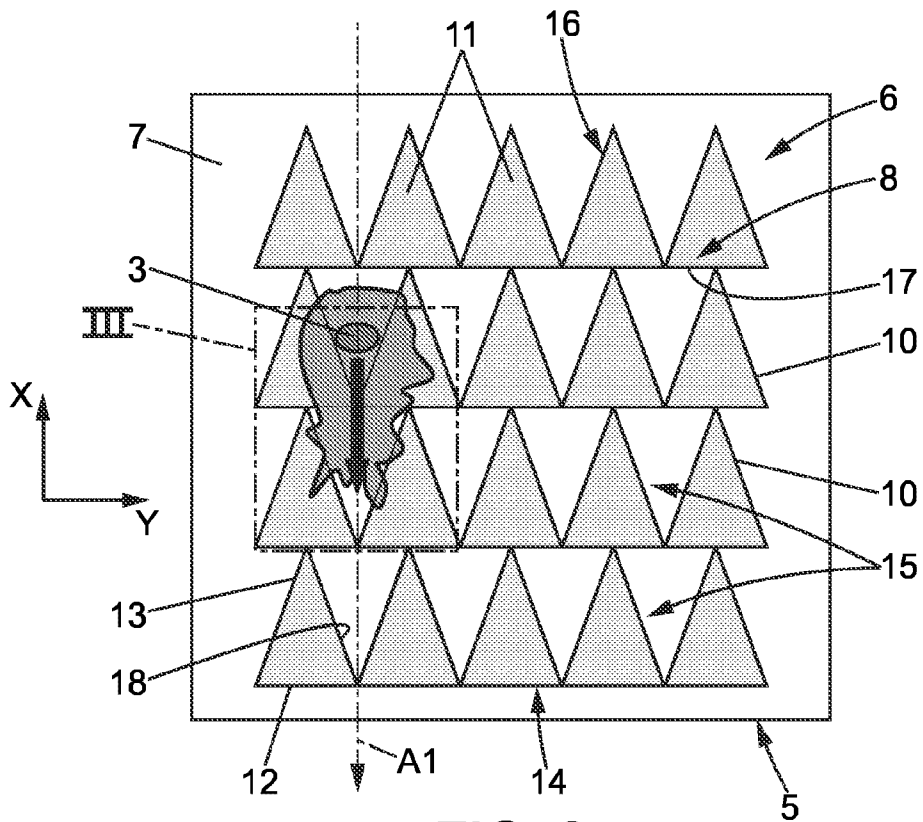
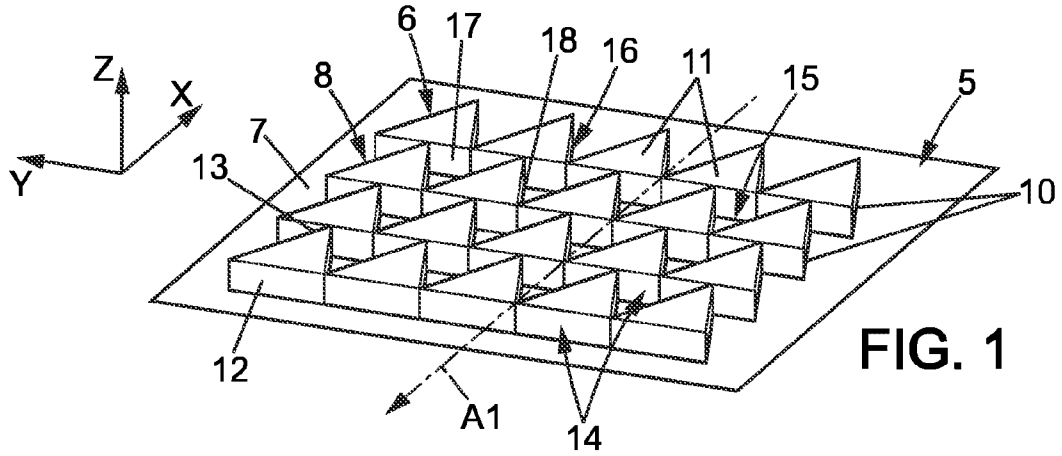


FIG. 2

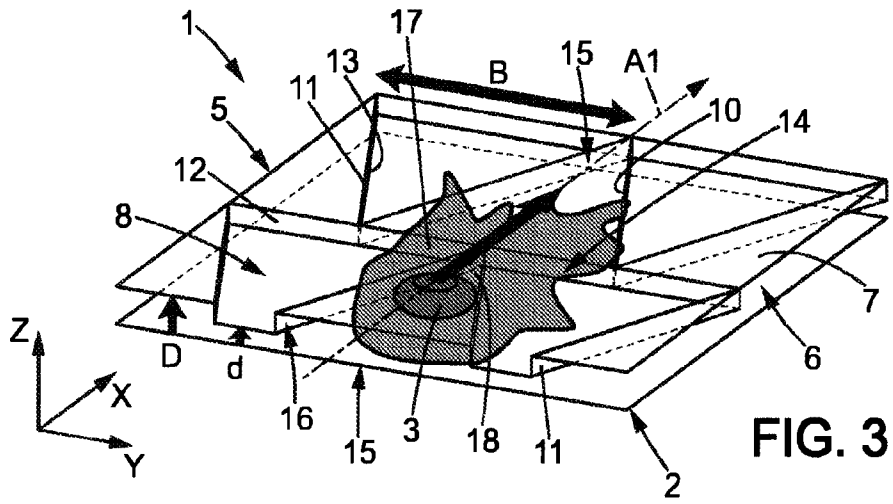


FIG. 3

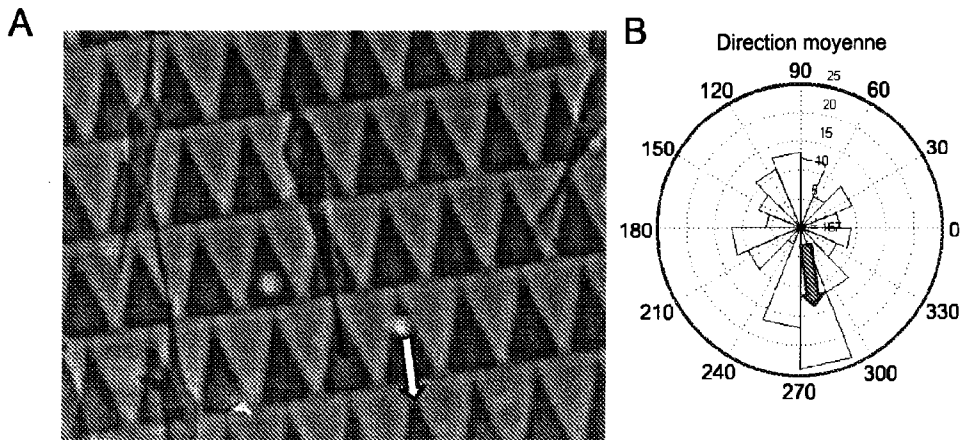


FIG. 4

