

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2018/172688 A1

(43) Date de la publication internationale
27 septembre 2018 (27.09.2018)

WIPO | PCT

(51) Classification internationale des brevets :
G01N 3/40 (2006.01) C12M 1/42 (2006.01)
G01N 3/42 (2006.01)

COMTE [FR/FR] ; 1 rue Claude Goudimel, 25000 Besançon (FR). ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DE MECANIQUE ET DES MICROTECHNIQUES [FR/FR] ; 26 rue de l'Epitaphe, 25000 Besançon (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2018/050670

(72) Inventeurs : ABADIE, Joel ; 7 chemin de la Combe Portier, 25000 Besançon (FR). GANA, Racha ; Cité El Agba, N°205, Monastir, 5000 (TN). PIAT, Emmanuel ; 11 rue du Mouthier, 25660 Fontain (FR).

(22) Date de dépôt international :
20 mars 2018 (20.03.2018)

(25) Langue de dépôt : français

(74) Mandataire : LE CACHEUX, Samuel et al. ; Jacobacci Coralis Harle, 32 rue de l'Arcade, 75008 Paris (FR).

(26) Langue de publication : français

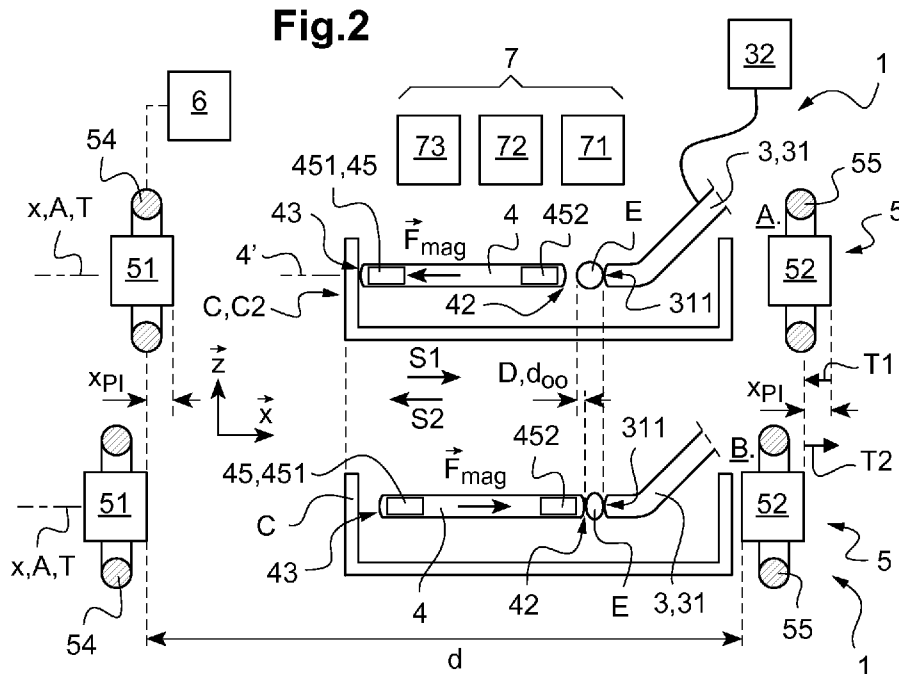
(30) Données relatives à la priorité :
1752330 21 mars 2017 (21.03.2017) FR

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR,

(71) Déposants : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR] ; 3 rue Michel Ange, 75016 Paris (FR). UNIVERSITE DE FRANCHE-

(54) Title: DEVICE FOR MECHANICALLY CHARACTERIZING AN ELEMENT OF INTEREST SUCH AS AN OOCYTE

(54) Titre : DISPOSITIF POUR LA CARACTERISATION MECANIQUE D'UN ELEMENT D'INTERET PAR EXEMPLE UN OVOCYTE



(57) Abstract: The invention relates to a device for mechanically characterizing an element of interest (E), for example an oocyte. The mechanical characterization device comprises: - support means (2) for receiving a container (C) suitable for containing a liquid medium, - holding means (3) for holding said element of interest (E), - an indenting member (4), - magnetic means (5) for generating a magnetic field in which said indenting member (4) is intended to move and which participates in suspending said indenting member (4) with an unstable horizontal direction (x) oriented coaxially to the longitudinal axis (4'), - control means (6), intended to control said magnetic means (5) so as to maneuver the indenting member (4) in translation along the unstable horizontal direction (x), and - means (7) for determining the mechanical characteristics of the element of interest (E).

(57) Abrégé : L'invention concerne un dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E), par exemple un ovocyte.

[Suite sur la page suivante]



WO 2018/172688 A1

KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

Le dispositif de caractérisation mécanique comprend: -des moyens supports (2), pour la réception d'un contenant (C) adapté à contenir un milieu liquide, -des moyens de maintien (3), pour le maintien dudit élément d'intérêt (E), -un organe indenteur (4), -des moyens magnétiques (5), pour générer un champ magnétique dans lequel ledit organe indenteur (4) est destiné à se déplacer et qui participe à la sustentation dudit organe indenteur (4) avec une direction horizontale instable (x) orientée coaxialement audit axe longitudinal (4'), -des moyens de commande (6), destinés à piloter lesdits moyens magnétiques (5) de sorte à manœuvrer ledit organe indenteur (4) en translation selon ladite direction horizontale instable (x), et -des moyens (7) pour déterminer les caractéristiques mécaniques dudit élément d'intérêt (E).

**DISPOSITIF POUR LA CARACTERISATION MECANIQUE D'UN ELEMENT D'INTERET PAR EXEMPLE
UN OVOCYTE**

DOMAINE TECHNIQUE AUQUEL SE RAPPORTE L'INVENTION

5 La présente invention concerne, de manière générale, le domaine de la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt.

Elle concerne plus particulièrement un dispositif adapté à la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt microscopique, éventuellement de nature biologique, voire une cellule, de préférence un ovocyte.

10

ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE

La caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt consiste à analyser ses propriétés intrinsèques (module d'Young, coefficient de Poisson, etc.), à partir de tests et d'essais mécaniques.

15 La plupart des essais actuels sont destinés à caractériser des métaux et des polymères à l'échelle macroscopique.

Ils ne sont généralement pas adaptés pour caractériser les éléments de nature organique, et le sont encore moins à l'échelle microscopique.

20 Or, la caractérisation mécanique des cellules vivantes constitue une problématique à part entière, notamment dans le domaine de l'assistance médicale à la procréation.

En effet, une telle caractérisation mécanique est probablement un critère important à prendre en compte lors de la sélection d'ovocytes, notamment ceux ayant la capacité à être fécondé.

25 De nouvelles techniques ont ainsi été développées spécialement pour la caractérisation mécanique des cellules vivantes. Ces techniques consistent généralement à déformer la cellule en lui appliquant une charge ou une contrainte connue, et à mesurer la déformation qui en résulte.

30 Parmi les techniques les plus employées, il existe la micro-indentation et l'aspiration à l'aide d'une pipette.

Mais, en pratique, ces techniques actuelles offrent des possibilités de caractérisation très limitées.

Il existe par conséquent un besoin pour un dispositif qui permettrait une caractérisation mécanique par indentation pour mesurer les efforts appliqués sur un

élément d'intérêt microscopique (notamment une cellule vivante), de manière performante, fiable et étalonnée.

OBJET DE L'INVENTION

5 Dans ce contexte, la présente invention propose un dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt, avantageusement un élément d'intérêt microscopique, éventuellement de nature biologique, voire une cellule, de préférence un ovocyte.

10 Plus particulièrement, on propose selon l'invention un dispositif de caractérisation mécanique qui comprend :

- des moyens supports, pour la réception d'un contenant adapté à contenir un milieu liquide,

- des moyens de maintien, pour le maintien dudit élément d'intérêt dans ledit milieu liquide,

15 - un organe indenteur présentant un axe longitudinal et destiné à rester en sustentation dans ledit milieu liquide avec ledit axe longitudinal orienté horizontalement, lequel organe indenteur comporte au moins un aimant permanent et une extrémité proximale destinée à indenter ledit élément d'intérêt,

20 - des moyens magnétiques, pour générer un champ magnétique dans lequel ledit organe indenteur est destiné à se déplacer et qui participe à la sustentation dudit organe indenteur avec une direction horizontale instable (avantageusement orientée coaxialement audit axe longitudinal),

25 - des moyens de commande, destinés à piloter lesdits moyens magnétiques de sorte à générer une variation dudit champ magnétique qui est adaptée à manœuvrer ledit organe indenteur en translation selon ladite direction horizontale instable, et

30 - des moyens pour déterminer les caractéristiques mécaniques dudit élément d'intérêt, cela tenant compte des caractéristiques dudit champ magnétique et de la valeur du déplacement en translation dudit organe indenteur selon ladite direction horizontale instable lorsque ladite extrémité proximale dudit organe indenteur génère une force de compression sur ledit élément d'intérêt.

En pratique, les moyens magnétiques permettent d'appliquer une charge connue à l'élément d'intérêt, par l'intermédiaire de l'organe indenteur.

Pour cela, cet organe indenteur est maintenu dans un champ magnétique destiné à varier de manière contrôlée.

Le champ magnétique mis en œuvre présente alors les propriétés :

- il préserve une direction horizontale instable pour l'organe indenteur,
- il assure le maintien stable de l'organe indenteur, hors direction de mesure,

et

- 5 - il agit comme un ressort magnétique à raideur négative (ou le cas échéant à raideur positive) sur l'organe indenteur dans ladite direction horizontale instable, pour effectuer le chargement sur l'élément d'intérêt.

10 La raideur du ressort magnétique est négative (ou le cas échéant positive) dans la direction horizontale instable ; l'élément d'intérêt assure alors la stabilité de l'organe indenteur qui le comprime.

Le système est donc stabilisé par l'élément d'intérêt que l'on souhaite caractériser, ce qui confère une simplicité et une efficacité optimales.

15 Avec cette technologie, il est possible de mettre en œuvre des raideurs de l'ordre de 10^{-3} N/m, permettant ainsi de contrôler le chargement à moins de 10 nN près, tout en assurant une excellente linéarité de mesure de la force appliquée.

Un tel dispositif de caractérisation mécanique est en plus intéressant pour son faible coût, sa robustesse et sa facilité de mise en œuvre.

20 D'autres caractéristiques non limitatives et avantageuses du dispositif de caractérisation mécanique conforme à l'invention, prises individuellement ou selon toutes les combinaisons techniquement possibles, sont les suivantes :

25 - l'organe indenteur comporte au moins deux aimants permanents qui sont agencés, d'une part, avec des champs magnétiques coaxiaux et dans un même sens NS - NS et, d'autre part, dans une position d'équilibrage horizontal, dans laquelle le centre de poussée est destiné à être confondu avec le centre de gravité ; avantageusement, la poussée d'Archimède produite par le milieu liquide sur l'organe indenteur est égale, et opposée, au poids de l'organe indenteur ;

30 - ledit organe indenteur présente les caractéristiques suivantes : une longueur comprise entre 1 cm et 3 cm, un diamètre compris entre 0,5 et 1,5 mm, et une masse comprise entre 1 mg et 15 mg ;

 - ledit organe indenteur comprend un corps réalisé par un capillaire, par exemple en verre, délimitant une chambre étanche qui est remplie d'air et qui renferme ledit au moins un aimant permanent ;

 - le contenant comprend un fond raccordé à une paroi latérale dont une bordure supérieure libre délimite une ouverture supérieure, par exemple une boîte de

Pétri ;

- les moyens magnétiques comprennent au moins deux aimants permanents qui sont agencés coaxialement, selon un axe horizontal, et dans le même sens NS - NS, et des moyens pour la manœuvre en translation desdits aimants permanents ; de
5 préférence, lesdits au moins deux aimants permanents sont disposés chacun au sein d'une bobine électromagnétique, lesquelles bobines électromagnétiques sont agencées coaxialement selon l'axe horizontal et sont raccordées à des moyens pour piloter le courant électrique alimentant lesdites bobines électromagnétiques ; lesdits au moins deux aimants permanents, et le cas échéant lesdites au moins deux bobines
10 électromagnétiques, sont avantageusement disposés de part et d'autre du contenant, à une distance constante d l'un par rapport à l'autre ; par exemple, les moyens de manœuvre consistent en des platines de microtranslation ;

- les moyens de maintien comprennent une pipette d'aspiration ;

- les moyens pour déterminer les caractéristiques mécaniques dudit élément
15 d'intérêt comprennent des moyens pour déterminer la valeur de déplacement en translation de l'organe indenteur selon ladite direction horizontale instable ; ces moyens de détermination comprennent avantageusement des moyens optiques, adaptés à la capture d'images comprenant l'élément d'intérêt coopérant avec l'extrémité proximale de l'organe indenteur, et des moyens d'analyse desdites images capturées, adaptés à
20 déterminer la valeur du déplacement en translation dudit organe indenteur selon ladite direction horizontale instable ;

- les moyens supports comportent des moyens pour le chauffage dudit contenant.

L'invention propose également un poste d'injection en procréation médicale
25 assistée, équipé d'un dispositif selon l'invention.

L'invention concerne également un procédé pour étudier les caractéristiques mécaniques d'un élément d'intérêt, avantageusement un élément d'intérêt microscopique, éventuellement de nature biologique, voire une cellule, de préférence un ovocyte, par la mise en œuvre d'un dispositif selon l'invention.

30 Ce procédé comprend :

a) une phase de préparation au cours de laquelle, d'autre part, ledit élément d'intérêt est maintenu dans le milieu liquide du contenant par lesdits moyens de maintien et, d'autre part, les moyens magnétiques génèrent un champ magnétique initial qui permet le maintien dudit organe indenteur dans une position initiale au repos,

à distance dudit élément d'intérêt,

b) une phase de chargement au cours de laquelle les moyens magnétiques sont pilotés de sorte à modifier (éventuellement progressivement) le champ magnétique depuis ledit champ magnétique initial jusqu'à un champ magnétique modifié
5 (avantageusement constant ou évolutif ; par exemple par une manœuvre en translation des moyens magnétiques et/ou par un pilotage du courant électrique injecté dans les bobines électromagnétiques) pour manœuvrer ledit organe indenteur en translation selon ladite direction horizontale instable, cela dans un sens de chargement dans lequel ladite extrémité proximale dudit organe indenteur génère une force de compression sur
10 ledit élément d'intérêt maintenu par lesdits moyens de maintien,

c) une phase de déchargement au cours de laquelle les moyens magnétiques sont pilotés de sorte à rétablir (avantageusement progressivement) ledit champ magnétique initial dans lequel ledit organe indenteur est manœuvré en translation selon ladite direction horizontale instable, cela dans un sens de déchargement dans lequel
15 ladite extrémité proximale dudit organe indenteur s'écarte par rapport audit élément d'intérêt maintenu par lesdits moyens de maintien,

lequel procédé comprend une étape de collecte de la valeur du déplacement en translation dudit organe indenteur selon ladite direction horizontale instable, au moins au cours de la phase de chargement, et

20 lequel procédé comprend une étape de détermination des caractéristiques mécaniques dudit élément d'intérêt, tenant compte de la valeur du déplacement en translation dudit organe indenteur selon ladite direction horizontale instable et des caractéristiques dudit champ magnétique (à savoir, le cas échéant, de la valeur du courant électrique injecté dans les bobines électromagnétiques et/ou de la valeur de
25 déplacement des moyens magnétiques).

De préférence, les étapes de chargement et de déchargement sont effectuées à une très faible vitesse comprise entre 0,1 et 50 micromètres par seconde.

DESCRIPTION DETAILLÉE D'UN EXEMPLE DE RÉALISATION

30 La description qui va suivre en regard des dessins annexés, donnés à titre d'exemples non limitatifs, fera bien comprendre en quoi consiste l'invention et comment elle peut être réalisée.

Sur les dessins annexés :

- la figure 1 est une vue générale, et schématique, d'une partie du dispositif de

caractérisation mécanique selon l'invention ;

- la figure 2 représente les principales étapes du procédé pour étudier les caractéristiques mécaniques d'un élément d'intérêt, avantageusement un ovocyte, par la mise en œuvre du dispositif de caractérisation mécanique selon la figure 1, avec en particulier une phase de préparation (figure 2A) et une phase de chargement (figure 2B) ;

- la figure 3 est une vue générale, schématique et en perspective, du dispositif de caractérisation mécanique selon les figures 1 et 2 (les moyens supports et les moyens de maintien ne sont pas représentés sur cette figure 3 dans un souci de simplification) ;

- la figure 4 représente un exemple de réponse mécanique d'un ovocyte, mesurée au cours du procédé selon la figure 2 (ordonnée : force en Newton ; abscisse : valeur du déplacement en translation de l'organe indenteur en phase de chargement puis en phase de déchargement).

15

Dispositif de caractérisation mécanique

Le dispositif 1 selon l'invention, représenté sur les figures 1 et 2, consiste en un dispositif 1 pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt.

Par « caractérisation mécanique », on entend l'analyse des propriétés mécaniques intrinsèques de l'élément d'intérêt, cela à partir de tests et d'essais mécaniques.

Le dispositif de caractérisation mécanique 1 selon l'invention est destiné en particulier à permettre la détermination de la réponse mécanique de l'élément d'intérêt.

Il permet en particulier d'établir l'évolution de la distance de compression D (par exemple en μm) en fonction de la force de compression (indentation) \hat{F}_E (par exemple en nN), cela au cours d'une procédure d'indentation (chargement / déchargement) sur cet élément d'intérêt (comme illustré par l'Exemple décrit ci-après en relation avec la figure 4).

Pour cela, selon l'invention, le dispositif de caractérisation mécanique 1 présente un capteur magnétique de nanoforce, qui repose sur l'utilisation d'un ressort magnétique passif et sur l'utilisation de la direction instable de ce ressort magnétique passif pour effectuer les mesures de caractérisation mécanique.

Par « ressort magnétique », on entend un dispositif comprenant un aimant

maintenu en équilibre stable par des forces de rappel issues d'action à distance et pour lequel aucun frottement sec venant perturber le mouvement de l'aimant n'est présent. Ces actions sont équivalentes aux actions produites par un ressort non matérialisé dont les extrémités sont reliées, d'une part, à cet aimant et, d'autre part, à un point fixe de référence.

Un ressort magnétique dit « passif » assure la stabilité du dispositif d'indentation, sans apport d'énergie ni asservissement.

Dans ce dispositif de caractérisation mécanique 1, la mesure est effectuée dans une direction horizontale instable x magnétique et en utilisant la réaction répulsive de l'élément d'intérêt \underline{E} pour stabiliser la direction de mesure.

Pour cela, tel que représenté sur les figures 1 et 2, le dispositif de caractérisation mécanique 1 comprend :

- des moyens supports 2, pour la réception d'un contenant \underline{C} adapté à contenir un milieu liquide,

- des moyens de maintien 3, pour le maintien de l'élément d'intérêt \underline{E} dans le milieu liquide,

- un organe indenteur 4 (transducteur du capteur), présentant un axe longitudinal 4' et destiné à rester en sustentation dans le milieu liquide avec ledit axe longitudinal 4' orienté horizontalement,

- des moyens magnétiques 5, pour générer un champ magnétique dans lequel ledit organe indenteur 4 est destiné à se déplacer, qui participent à la sustentation dudit organe indenteur 4 et qui définissent une direction horizontale instable x (matérialisée par l'axe de référence \vec{x} sur les figures 1 à 3),

- des moyens de commande 6, pour commander la manœuvre de l'organe indenteur 4 en translation selon la direction horizontale instable, et

- des moyens de détermination 7, pour déterminer les caractéristiques mécaniques de l'élément d'intérêt \underline{E} .

De manière générale, dans un souci de simplification, la direction horizontale instable et l'axe de référence précités sont parfois désignés par un même repère \vec{x} .

Moyens supports

Les moyens supports 2 sont classiques en soi, par exemple sous la forme d'une plaque.

Ces moyens supports 2 comportent avantageusement des moyens 21 pour le

chauffage du contenant C, par exemple sous la forme d'une thermoplaque.

De son côté, le contenant C comprend un fond C1 raccordé à une paroi latérale C2 dont une bordure supérieure libre C21 délimite une ouverture supérieure C22.

5 Un tel contenant C consiste ainsi avantageusement en une boîte de Pétri, réalisée en verre ou en plastique.

Le milieu liquide consiste quant à lui avantageusement en un milieu aqueux, adapté à l'élément d'intérêt.

10 Par exemple, dans le cas d'un ovocyte, le milieu aqueux consiste avantageusement en un milieu de culture embryonnaire qui est classique en soi.

Moyens de maintien

Tel que représenté sur la figure 2, les moyens de maintien 3 sont adaptés à maintenir l'élément d'intérêt E dans le milieu liquide (non représenté).

15 Ces moyens de maintien 3 comprennent ici une pipette d'aspiration 31, dont une extrémité libre 311 est destinée à plonger dans le milieu liquide.

Cette extrémité libre 311 définit avantageusement une surface verticale destinée à s'étendre perpendiculairement à la direction horizontale instable \vec{x} .

20 La pipette d'aspiration 31 est encore associée à des moyens d'aspiration 32, adaptés à assurer la force de préhension de l'élément d'intérêt E au niveau de son extrémité libre 311.

Organe indenteur

25 L'organe indenteur 4 est destiné, d'une part, à rester en sustentation dans le milieu liquide, avec son axe longitudinal 4' orienté horizontalement et, d'autre part, à être soumis à un effort magnétique capable de le déplacer dans la direction horizontale instable x (matérialisée par l'axe horizontal de référence \vec{x} sur les figures 1 à 3).

30 De préférence, en pratique, l'axe longitudinal 4' de l'organe indenteur 4 est destiné à être orienté coaxialement (ou au moins parallèlement) autour de la direction horizontale instable x et de l'axe horizontal de référence \vec{x} .

En l'espèce, l'organe indenteur 4 comprend un corps 41 qui est de forme allongée et cylindrique.

Le corps 41 comporte deux extrémités, situées sur l'axe longitudinal 4', à savoir une extrémité proximale 42 destinée à indenter l'élément d'intérêt E et une

extrémité distale 43, opposée.

La forme de l'extrémité proximale 42 est adaptée à l'essai réalisé et à la forme de l'élément d'intérêt \underline{E} étudié

5 Ce corps 41 est formé par un capillaire, par exemple en verre, délimitant une chambre étanche 44 remplie d'air. Cette caractéristique participe à la sustentation de l'organe indenteur 4 dans le milieu liquide.

De préférence, la fabrication de l'organe indenteur 4 permet d'avoir une poussée d'Archimède \vec{P}_a égale (ou au moins quasiment égale), et opposée, à son poids \vec{P} .

10 L'organe indenteur 4 reste ainsi piégé à altitude constante, ou au moins approximativement constante, autour de l'axe de référence horizontal \vec{x} .

L'organe indenteur 4 comporte encore au moins un aimant permanent 45 (interne), pour participer, d'une part, à la sustentation dans le milieu liquide et, d'autre part, pour maintenir son axe longitudinal 4' coaxial (ou au moins parallèle) à l'axe horizontal de référence \vec{x} .

Par « aimant permanent », on entend un corps ferromagnétique qui produit et entretient un champ magnétique sans l'intervention d'un courant électrique. L'aimant permanent consiste par exemple en un aimant en néodyme fer bore. Un tel aimant permanent comporte classiquement des pôles nord (N) et sud (S).

20 Plus précisément, ledit au moins un aimant permanent 45 permet à l'organe indenteur 4 de se comporter comme un système relié à un ressort magnétique passif.

En l'espèce, le corps 41 de l'organe indenteur 4 renferme deux aimants permanents 451, 452 (par exemple cylindrique) qui sont ménagés au sein de la chambre étanche 44.

25 Les aimants permanents 451, 452 sont agencés avec des champs magnétiques coaxiaux et dans un même sens NS – NS.

En d'autre termes, les aimants permanents 451, 452 sont ici agencés coaxialement l'un par rapport à l'autre et par rapport à l'axe longitudinal 4' de l'organe indenteur 4. En outre, le pôle sud de l'un des aimants permanents 451, 452 se situe en regard du pôle nord de l'autre des aimants permanents 451, 452.

30 Les aimants permanents 451, 452 sont également agencés selon une position d'équilibrage horizontal, dans laquelle le centre de poussée est destiné à être confondu (ou au moins quasiment confondu) avec le centre de gravité \underline{G} de l'organe indenteur 4.

Uniquement à titre indicatif et sans être aucunement limitatif, l'organe indenteur 4 présente les caractéristiques suivantes :

- une longueur (distance entre les deux extrémités 42, 43 de son corps 41) comprise entre 1 cm et 3 cm,
- 5 - un diamètre (section perpendiculaire à l'axe longitudinal 4') compris entre 0,5 et 1,5 mm, et
- une masse comprise entre 1 mg et 15 mg.

Moyens magnétiques

10 Les moyens magnétiques 5, couplés à l'organe indenteur 4, sont conçus pour former un ressort magnétique passif.

Pour cela, les moyens magnétiques 5 génèrent un champ magnétique dans lequel l'organe indenteur 4 est destiné à se déplacer. Ce champ magnétique participe à la sustentation, au guidage et à l'orientation de cet organe indenteur 4 suivant la
15 direction horizontale instable x .

En particulier, les moyens magnétiques 5 sont capables de générer, suivant les directions \vec{y} et \vec{z} , de très faibles forces de rappel qui maintiennent en équilibre (en position et en orientation) l'organe indenteur 4 autour de l'axe horizontal de référence \vec{x} .

20 On notera que les directions y et z consistent en des directions perpendiculaires à la direction horizontale instable x , orientées respectivement horizontalement et verticalement.

Ces moyens magnétiques 5 sont en outre destinés à exercer une force magnétique \vec{F}_{mag} , contrôlée sur l'organe indenteur 4, orientée coaxialement à la direction horizontale instable x (figure 2).

25 Cette force magnétique \vec{F}_{mag} conditionne les déplacements et l'équilibre de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x .

En l'espèce, cette force magnétique instable \vec{F}_{mag} correspond à la résultante de la force magnétique ramenée au centre de gravité \underline{G} de l'organe indenteur 4.

30 A cet effet, les moyens magnétiques 5 comprennent ici deux aimants permanents 51, 52 (externes), du type cylindrique par exemple, qui sont agencés coaxialement, selon un axe horizontal \underline{A} et dans le même sens NS – NS.

L'axe horizontal \underline{A} de ces deux aimants permanents 51, 52 est confondu avec l'axe horizontal de référence \vec{x} . En d'autres termes, la magnétisation des aimants

permanents 51, 52 est coaxiale à l'axe horizontal A.

L'axe horizontal A de ces deux aimants permanents 51, 52 définit ainsi l'axe horizontal de référence \vec{x} et la direction horizontale instable x .

Les deux aimants permanents 51, 52 sont disposés de part et d'autre du contenant C, à une distance constante d l'un par rapport à l'autre.

Ces deux aimants permanents 51, 52 sont ici disposés chacun au sein d'une bobine électromagnétique 54, 55.

Les deux bobines électromagnétiques 54, 55 sont agencées coaxialement par rapport à l'axe horizontal A précité des deux aimants permanents 51, 52 associés.

Ces deux bobines électromagnétiques 54, 55 sont avantageusement câblées en série et orientées SN-NS.

Ainsi, les deux aimants permanents 51, 52, et les deux bobines électromagnétiques 54, 55, sont disposés de part et d'autre du contenant C, à une distance constante d l'un par rapport à l'autre.

Les moyens magnétiques 5 comprennent également des moyens 53 pour la manœuvre en translation de ces deux aimants permanents 51, 52, et des bobines électromagnétiques 54, 55 associées, selon une direction horizontale I qui est orientée coaxialement à l'axe horizontal A.

Cette direction horizontale I est ainsi coaxiale, ou au moins parallèle, à la direction horizontale instable x .

Cette manœuvre en translation selon la direction horizontale I des deux aimants permanents 51, 52, et des bobines électromagnétiques 54, 55, est destinée à s'effectuer sur une distance x_{PI} contrôlée et déterminée (figure 2).

Par exemple, ces moyens de manœuvre 53 consistent en des platines de microtranslation.

Les moyens magnétiques 5 comprennent encore des moyens 56 pour piloter le courant électrique alimentant les bobines électromagnétiques 54, 55, de sorte à générer une variation du champ magnétique destiné à assurer (ou au moins à participer à) une manœuvre en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x .

Par exemple, ces moyens de pilotage 56 consistent en un circuit d'alimentation électrique, classique en soi, apte à générer un courant électrique d'une valeur déterminée dans les bobines électromagnétiques 54, 55.

Moyens de commande

Les moyens de commande 6 sont destinés à piloter les moyens magnétiques 5 de sorte à générer une variation du champ magnétique. Cette variation de champ magnétique assure alors une manœuvre en translation de l'organe indenteur 4, selon la direction horizontale instable \vec{x} .

Ces moyens de commande 6 consistent avantageusement en une partie commande d'un système automate programmable industriel. Ils comprennent en particulier un programme d'ordinateur comportant des moyens de code de programme destinés à être exécutés par un ordinateur.

Ces moyens de commande 6 sont en particulier conçus pour piloter ici :

- les moyens 53 pour la manœuvre en translation de ces deux aimants permanents 51, 52 et des bobines électromagnétiques 54, 55 associées, et/ou
- les moyens 56 pour piloter le courant électrique appliqué aux bobines électromagnétiques 54, 55.

Comme abordé précédemment, la manœuvre en translation des deux aimants permanents 51, 52 et des bobines électromagnétiques 54, 55 associées, selon la direction horizontale \underline{I} , s'effectue avantageusement sur une distance x_{PI} contrôlée et déterminée (figure 2).

Moyens de détermination

Les moyens de détermination 7 sont configurés pour déterminer les caractéristiques mécaniques de l'élément d'intérêt \underline{E} , cela tenant compte :

- des caractéristiques du champ magnétique généré par les moyens magnétiques 5 (par exemple de la constante de raideur du ressort magnétique) et
- de la valeur \underline{D} du déplacement en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x , lorsque l'organe indenteur 4 génère une force de compression sur l'élément d'intérêt \underline{E} (figure 2B).

Les moyens de détermination 7 comprennent des moyens 71, 72 pour déterminer la valeur \underline{D} de déplacement en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x .

Pour déterminer cette valeur de déplacement \underline{D} , les moyens de détermination 7 comprennent par exemple des moyens optiques 71, adaptés à la capture d'images comprenant l'élément d'intérêt \underline{E} coopérant avec l'extrémité proximale 42 de l'organe indenteur 4 (figure 2B).

Ces moyens optiques 71 comprennent par exemple un système de caméra / tube / objectif, placé au-dessus du contenant C.

Ces moyens optiques 71 permettent de suivre les déformations de l'élément d'intérêt E, mais aussi de calculer par traitement d'image automatisé les positions de l'organe indenteur 4.

Encore pour déterminer cette valeur de déplacement D, les moyens de détermination 7 comprennent également avantageusement des moyens d'analyse 72 qui sont adaptés à déterminer, à partir des images capturées par les moyens optiques 71, la valeur D du déplacement en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x .

En d'autres termes, cette valeur de déplacement D correspond à la distance entre, d'une part, une position initiale x_i^{init} de l'organe indenteur 4 et, d'autre part, une position finale x_i^{max} de l'organe indenteur 4 (avantageusement provoqué par le déplacement x_{PI} des aimants permanents 51, 52 et deux bobines électromagnétiques 54, 55 des moyens magnétiques 5 et/ou par le courant injecté dans les deux bobines électromagnétiques 54, 55 associées).

De manière générale, cette valeur D est encore désignée « d_{oo} » dans le cas d'un élément d'intérêt du type ovocyte.

Les moyens d'analyse 72 comprennent encore avantageusement un programme d'ordinateur du type logiciel d'analyse d'image, comportant des moyens de code de programme destinés à être exécutés par un ordinateur.

Ces moyens de code de programme utilisent par exemple un algorithme de traitement d'image, basé sur la méthode de corrélation croisée normalisée (CCN).

En pratique, la charge appliquée à l'élément d'intérêt E est modulée à partir de la mesure de la valeur de déplacement D (dite encore « distance de compression »), du contrôle de la distance x_{PI} de manœuvre en translation des deux aimants permanents 51, 52 et/ou du contrôle du courant injecté dans les deux bobines électromagnétiques 54, 55 associées.

Les moyens de détermination 7 comprennent encore des moyens de calcul 73 (par exemple un programme d'ordinateur) qui sont configurés pour déterminer, partant des données capturées précitées, les caractéristiques mécaniques de l'élément d'intérêt E.

Ces caractéristiques mécaniques comprennent avantageusement une courbe représentant l'évolution de la valeur de déplacement D (compression) en fonction de la

valeur de la force \hat{F}_E (effort appliqué par l'élément d'intérêt \underline{E} sur l'organe indenteur 4), au cours d'une procédure d'indentation (en chargement, voire également en déchargement) sur cet élément d'intérêt \underline{E} .

5 Une distance de compression maximale D^{max} (à appliquer à l'élément d'intérêt pour un test donné) peut être fixée (prédéterminée).

La force \hat{F}_E^{max} est la valeur de la force \hat{F}_E qui est obtenue pour :

- un déplacement des aimants permanents 51, 52 externes sur la distance x_{PI} prédéterminée et/ou

10 - une valeur prédéterminée de courant injecté dans les deux bobines électromagnétiques 54, 55 associées.

La particularité de ce dispositif réside dans le fait que l'instabilité de l'organe indenteur 4 suivant l'axe horizontal de référence x est évitée en créant un effort égal, et opposé, à la force magnétique instable \vec{F}_{mag} en plaçant l'élément d'intérêt \underline{E} (par exemple l'ovocyte) en face de l'organe indenteur 4.

15 A l'équilibre, on aura ainsi :

$$\vec{F}_{mag} + \vec{F}_E = 0$$

où \vec{F}_E (dit encore \vec{F}_{oo} pour un ovocyte) est l'effort appliqué par l'élément d'intérêt \underline{E} sur l'organe indenteur 4.

20 Le débattement relatif à appliquer entre l'organe indenteur 4 et les aimants permanents 51, 52 externes, et/ou le courant injecté dans les deux bobines électromagnétiques 54, 55 associées, se situeront chacun dans une fourchette déterminée.

Lors d'un chargement idéal, on s'efforce de maintenir la vitesse de l'organe indenteur 4 constante et de faible amplitude.

25 Dans ces conditions :

$$\hat{F}_E = K(x_i - x_i^{init} - x_{PI} + x_{PI}^{init}) + K_{elec}I$$

avec

\hat{F}_E la force appliquée à l'élément d'intérêt (en N),

30 K, la raideur du ressort magnétique (obtenue par exemple à partir de simulations réalisées avec les paramètres réels du dispositif) en N/m,

x_{PI} le déplacement appliqué aux aimants permanents 51, 52 des moyens magnétiques 5,

x_i , l'ensemble des positions de l'organe indenteur,

K_{elec} , la raideur électrique des bobines électromagnétiques 54, 55 (en N/A),

I , le courant injecté dans les bobines électromagnétiques 54, 55 (en A), ces bobines électromagnétiques 54, 55 étant câblées en série et orientées SN-NS,

5 x_{pI}^{init} et x_i^{init} , les positions initiales des aimants permanents 51, 52 et des bobines électromagnétiques 54, 55 appartenant aux moyens magnétiques 5 et de l'organe indenteur 4, respectivement.

De son côté, la distance de compression D^{max} est la valeur de la distance de compression \underline{D} , obtenue pour un déplacement de la distance x_{pI} maximale prédéterminée et/ou ou un courant I maximal prédéterminé.

Cette distance \underline{D} de compression de l'élément d'intérêt \underline{E} (désignée « d_{oo} » dans le cas d'un élément d'intérêt du type ovocyte) est donnée par la formule suivante :

$$D = \frac{U_{pixel}}{m} (x_{px} - x_{px}^{init})$$

15 dans laquelle :

$\frac{U_{pixel}}{m}$ est le gain de conversion entre les mesures de déplacement fournies par le système de vision (en pixel) et les déplacements réels de l'organe indenteur 4 (en m), x_{px} , l'ensemble des positions de l'organe indenteur 4 mesurées en pixel, et x_{px}^{init} , la position initiale de l'organe indenteur 4 mesurée en pixel.

20 A partir de ces valeurs, les moyens de détermination 7 peuvent tracer une courbe de réponse mécanique de l'élément d'intérêt (voir par exemple la figure 4).

De manière générale, la distance \underline{D} de compression pourrait être mesurée par le biais de tous moyens appropriés, autres que des moyens optiques.

25 **Procédé pour étudier les caractéristiques mécaniques d'un élément d'intérêt**

La mise en œuvre du dispositif de caractérisation mécanique 1 est décrite ci-dessous en relation avec la figure 2. Ce procédé de mise en œuvre comprend les phases successives suivantes.

30 Tout d'abord, ce procédé est initié par une phase de préparation (figure 2A),

au cours de laquelle l'élément d'intérêt \underline{E} est positionné et maintenu, dans le milieu liquide du contenant \underline{C} , par les moyens de maintien 3.

En l'espèce, l'élément d'intérêt \underline{E} est maintenu par aspiration à l'aide de la pipette de contention 31.

5 D'une manière générale, l'organe indenteur 4, couplé aux moyens magnétiques 5, flotte dans le milieu liquide du contenant \underline{C} , entre deux eaux.

Dans cette configuration, l'organe indenteur 4 est soumis à des forces magnétiques par l'intermédiaire des aimants permanents 51, 52 des moyens magnétiques 5. Le courant \underline{I} injecté dans les bobines électromagnétiques 54, 55 est à
10 zéro.

Toujours dans cette configuration, l'organe indenteur 4 est stable selon les directions horizontale y et verticale z perpendiculaires à son axe longitudinal $4'$.

En revanche, l'organe indenteur 4 est instable dans la direction horizontale instable x orientée coaxialement audit axe longitudinal $4'$. La mesure de la force est
15 alors destinée à être réalisée le long de cette direction horizontale instable x .

Pendant cette phase de préparation, les moyens magnétiques 5 génèrent un champ magnétique initial $\underline{P1}$ qui permet le maintien de l'organe indenteur 4 dans une position initiale au repos, à distance de l'élément d'intérêt \underline{E} .

Plus précisément, il s'exerce une force magnétique instable \vec{F}_{mag} (orientée
20 vers la gauche sur la figure 2), qui tend à écarter l'organe indenteur 4 par rapport à l'élément d'intérêt \underline{E} .

L'extrémité distale 43 de l'organe indenteur 4 est alors maintenue au contact de la paroi latérale $\underline{C2}$ du contenant \underline{C} ; l'extrémité proximale 42 de cet organe indenteur 4 se trouve à distance de l'élément d'intérêt \underline{E} (par exemple quelques
25 dizaines de micromètres).

Cette phase de préparation est suivie d'une phase de basculement de l'instabilité (l'extrémité proximale 42 vient au contact de l'élément d'intérêt \underline{E} sans appliquer aucun effort sur ce dernier $\hat{F}_E = 0$).

L'organe indenteur 4 perd le contact avec le contenant \underline{C} lorsque le module de
30 la force magnétique instable \vec{F}_{mag} devient supérieur à la force d'adhésion entre l'organe indenteur 4 et le contenant \underline{C} .

Les moyens de manœuvre 53 sont utilisés de manière à ajuster la position des aimants 51 et 52, et pour garantir $\hat{F}_E = 0$ lorsque l'organe indenteur 4 est au contact

de l'élément d'intérêt \underline{E} juste avant le démarrage de la phase de chargement.

Le procédé est poursuivi par la phase de chargement au cours de laquelle l'organe indenteur 4 est manœuvrée en translation de sorte que son extrémité proximale 42 vienne générer une force de compression sur l'élément d'intérêt \underline{E} porté
5 par les moyens de maintien 3 (figure 2B).

A cet effet, les moyens magnétiques 5 sont pilotés de sorte à modifier le champ magnétique, depuis le champ magnétique initial $\underline{P1}$ vers un champ magnétique modifié $\underline{P2}$ (constant ou évolutif), dans lequel l'organe indenteur 4 est manœuvré en translation selon la direction horizontale instable x , cela dans un sens de chargement
10 $\underline{S1}$.

En l'espèce, la modification du champ magnétique, depuis le champ magnétique initial $\underline{P1}$ vers le champ magnétique modifié $\underline{P2}$, est obtenue par :

- une manœuvre en translation des deux aimants permanents 51, 52, selon la direction horizontale \underline{I} et dans un premier sens $\underline{T1}$ (vers la gauche sur la figure 2), et/ou
15 - en appliquant un courant \underline{I} contrôlé et déterminé aux bobines électromagnétiques 54, 55.

Le cas échéant, la manœuvre en translation des deux aimants permanents 51, 52, selon la direction horizontale \underline{I} , s'effectue sur la distance x_{PI} contrôlée et déterminée.

En pratique, cette étape de chargement est avantageusement effectuée à une
20 très faible vitesse de l'organe indenteur 4 (chargement quasi-statique), par exemple comprise entre 0,1 et 50 micromètres par seconde.

Le module de la force \vec{F}_E appliquée à l'élément d'intérêt \underline{E} est alors avantageusement égal au module de la force magnétique instable \vec{F}_{mag} .

En pratique, la charge appliquée à l'élément d'intérêt \underline{E} est ainsi modulée à partir du contrôle :

- de la distance x_{PI} de manœuvre en translation des deux aimants permanents 51, 52, et/ou
25 - du courant \underline{I} appliqué aux bobines électromagnétiques 54, 55.

Suite à cette phase de chargement, il est mis en œuvre une phase de
30 déchargement au cours de laquelle l'extrémité proximale 42 de l'organe indenteur 4 est écartée par rapport à l'élément d'intérêt \underline{E} qui est toujours maintenu par les moyens de maintien 3 (passage de la figure 2B vers la figure 2A).

Pour cela, les moyens magnétiques 5 sont pilotés de sorte à revenir au champ magnétique initial P1 dans lequel l'organe indenteur 4 est manœuvré en translation selon la direction horizontale instable x , cela dans un sens de déchargement S2.

En l'espèce, le retour au champ magnétique initial P1 est obtenu par :

- 5 - une manœuvre en translation (retour) des deux aimants permanents 51, 52 sur la distance x_{PI} , selon la direction horizontale T et dans un second sens T2 (inverse au premier sens T1), et/ou
- en annulant la valeur du courant I appliqué aux bobines électromagnétiques 54, 55.

10 Au cours de ce procédé, les moyens de détermination 7 effectuent une étape de collecte de la valeur D du déplacement en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x , et le cas échéant de la valeur du courant I appliqué aux bobines électromagnétiques 54, 55.

15 Cette étape de collecte est mise en œuvre au cours de la phase de chargement, et avantageusement aussi au cours de la phase de déchargement.

A partir des données collectées, les moyens de détermination 7 effectuent une étape de détermination des caractéristiques mécaniques de l'élément d'intérêt E, dite encore étape de visualisation de la réponse mécanique de l'élément d'intérêt E.

20 Comme précisé précédemment, cette étape de détermination (ou visualisation) tient avantageusement compte des caractéristiques du champ magnétique (notamment de la constante de raideur K et K_{elec}), de la valeur D du déplacement en translation de l'organe indenteur 4 selon la direction horizontale instable x et de la valeur du courant électrique I injecté dans les bobines électromagnétiques 54, 55.

25 Les données obtenues peuvent se présenter par exemple sous la forme d'une courbe caractéristique de la réponse mécanique de l'élément d'intérêt E mesurée lors d'un essai de charge / décharge à vitesse constante.

30 Cette courbe représente par exemple la corrélation entre, d'une part, la valeur de la force appliquée à l'élément d'intérêt et, d'autre part, la valeur de la distance de compression dudit élément d'intérêt par l'organe indenteur.

Une telle courbe est par exemple illustrée sur la figure 4 pour un élément d'intérêt E consistant en un ovocyte humain.

Domaine d'application

Le dispositif de détermination 1 selon l'invention est ainsi adapté à la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt E.

Par « élément d'intérêt », on entend avantageusement un élément d'intérêt présentant une taille microscopique, c'est-à-dire un élément ayant une taille inférieure à
5 1 mm, de préférence entre 10µm et 1 mm.

Cet élément d'intérêt microscopique est avantageusement de nature biologique, c'est-à-dire par exemple une cellule, de préférence un ovocyte.

Une « cellule » est l'unité structurée constitutive de tout être vivant, formée d'un cytoplasme entouré d'une membrane et pouvant contenir un noyau.

10 Par « ovocyte », on entend la cellule sexuelle femelle des métazoaires, de préférence un ovocyte humain.

Dans ce cas, les composants utilisés, qui sont en contact avec l'ovocyte et son milieu de culture, sont avantageusement non-gamétotoxiques et à usage unique.

15 Ainsi, le dispositif de caractérisation mécanique 1 est tout-à-fait adapté à équiper un poste d'injection en procréation médicale assistée.

Un tel poste comporte classiquement une seringue de contention, une seringue d'injection et un microscope inversé.

20 Plus généralement, ce dispositif de détermination 1 selon l'invention peut être intéressant dans les domaines d'application où il est intéressant de mesurer des caractéristiques mécaniques sur tout type de cellules.

On peut citer les domaines suivants :

- le domaine de la reproduction, et des gamètes sens large (humain et animal) ;
- l'étude des cellules cancéreuses (la mesure des caractéristiques d'une
25 cellule cancéreuse permet, entre autre, de mesurer si cette cellule est invasive) ;
- le domaine vétérinaire ;
- le domaine bactériologique ;
- le domaine de la zoologie et du monde unicellulaire ;
- le domaine de la botanique ;
- 30 - le domaine de la nanotribologie.

Exemple

Matériel

Un exemple de dispositif de caractérisation 1 est décrit ci-dessous.

Les aimants permanents 51, 52 des moyens magnétiques 5 ont un diamètre et une longueur égale à 10 mm et une densité de charge égale à $1,25 \text{ A/m}^2$.

Ils sont disposés horizontalement, suivant l'axe x , de façon à respecter la configuration magnétique N-S N-S suivant leur axe longitudinal (axe x) et séparés d'une distance d égale à 10,4 cm.

L'organe indenteur 4, quant à lui, comporte les deux aimants permanents 45, de longueur égale à 1 mm et de diamètre égal à 0,5 mm, placés horizontalement. Leur magnétisation est également horizontale, orientée suivant l'axe x et dans le même sens. Elle vaut $3 \cdot 10^5 \text{ A/m}$.

La distance entre les deux aimants permanents 45 de l'organe indenteur 4 est égale à 1,5 cm.

Le centre de gravité G de l'organe indenteur 4 est défini au centre du segment séparant les aimants permanents 45.

La direction z représente la verticale de l'organe indenteur 4, direction pour laquelle le poids s'exerce.

Raideur du ressort magnétique

Pour effectuer des mesures sur les ovocytes, la gamme de force à appliquer est comprise entre 0 et environ $1 \mu\text{N}$.

Le débattement relatif à appliquer entre l'organe indenteur 4 et les aimants permanents externes 51, 52 se situera dans la fourchette $[-2 \text{ mm}, 2 \text{ mm}]$.

En effet si $G^x = 2 \text{ mm}$ alors $F_{mag}^x = 2,6 \mu\text{N}$.

Un tel effort permet d'assurer un chargement sur l'ensemble des ovocytes humains dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation.

Une courbe, pour laquelle une fonction affine a été superposée sur l'intervalle $[-2 \text{ mm}, 2 \text{ mm}]$, permet de valider la linéarité de F_{mag}^x en fonction de G^x :

$$F_{mag}^x = K \cdot G^x$$

avec K la raideur du ressort magnétique suivant la direction x .

Dans la configuration retenue, la raideur du ressort magnétique vaut $0,0013 \text{ N/m}$. Il s'agit d'une valeur très faible par rapport, par exemple, à la raideur du levier d'un microscope à force atomique dont les leviers les plus souples sont environ dix fois plus

raides.

Résultat

La figure 4 représente la réponse mécanique d'un ovocyte immature.

5 L'ovocyte présente un diamètre égal à 144 μm et un diamètre de cytoplasme de 106 μm .

La courbe d'évolution de la force \hat{F}_{oo} illustre la phase de chargement (partie supérieure – V1).

10 Au cours de cette phase, l'ovocyte est comprimé par l'organe indenteur jusqu'à atteindre une distance de compression d_{oo}^{max} égale à 14 μm qui correspond à la déformation maximale de l'ovocyte pour une force \hat{F}_{oo}^{max} de 150 nN (repère carré Z1 sur la figure 4).

La partie inférieure de la courbe (V2) représente la phase de décharge. Elle correspond au recul de l'organe indenteur jusqu'au repère carré Z2 de la figure 4.

15 Cette courbe met bien en évidence une hystérésis, due à la nature visqueuse de l'ovocyte. Une déformation résiduelle (d_r) de l'ovocyte est observable à la fin du déchargement.

REVENDEICATIONS

1. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E),
avantageusement un élément d'intérêt microscopique, éventuellement de nature
5 biologique, voire une cellule,

lequel dispositif de caractérisation mécanique (1) comprend :

- des moyens supports (2), pour la réception d'un contenant (C) adapté à
contenir un milieu liquide,

10 - des moyens de maintien (3), pour le maintien dudit élément d'intérêt (E) dans
ledit milieu liquide,

- un organe indenteur (4) présentant un axe longitudinal (4') et destiné à rester
en sustentation dans ledit milieu liquide avec ledit axe longitudinal (4') orienté
horizontalement, lequel organe indenteur (4) comporte au moins un aimant permanent
(45) et une extrémité proximale (42) destinée à indenter ledit élément d'intérêt (E),

15 - des moyens magnétiques (5), pour générer un champ magnétique dans
lequel ledit organe indenteur (4) est destiné à se déplacer et qui participe à la
sustentation dudit organe indenteur (4) avec une direction horizontale instable (x),

20 - des moyens de commande (6), destinés à piloter lesdits moyens
magnétiques (5) de sorte à générer une variation dudit champ magnétique qui est
adaptée à manœuvrer ledit organe indenteur (4) en translation selon ladite direction
horizontale instable (x), et

25 - des moyens (7) pour déterminer les caractéristiques mécaniques dudit
élément d'intérêt (E), cela tenant compte des caractéristiques dudit champ magnétique
et de la valeur (D) du déplacement en translation dudit organe indenteur (4) selon ladite
direction horizontale instable (x) lorsque ladite extrémité proximale (42) dudit organe
indenteur (4) génère une force de compression sur ledit élément d'intérêt (E).

2. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E),
selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'organe indenteur (4) comporte au
moins deux aimants permanents (45) qui sont agencés :

30 - avec des champs magnétiques coaxiaux et dans un même sens NS - NS, et
- dans une position d'équilibrage horizontal, dans laquelle le centre de
poussée est destiné à être confondu avec le centre de gravité.

3. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E),
selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que ledit organe

indenteur (4) comprend un corps (41) réalisé par un capillaire délimitant une chambre étanche (44) qui est remplie d'air et qui renferme ledit au moins un aimant permanent (45).

4. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E),
5 selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le contenant (C) comprend un fond (C1) raccordé à une paroi latérale (C2) dont une bordure supérieure libre (C21) délimite une ouverture supérieure (C22), par exemple une boîte de Pétri.

5. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E),
selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les moyens
10 magnétiques (5) comprennent :

- au moins deux aimants permanents (51, 52) qui sont agencés coaxialement, selon un axe horizontal (A), et dans le même sens NS - NS, et

- des moyens (53) pour la manœuvre en translation desdits aimants permanents (51, 52).

15 6. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E), selon la revendication 5, caractérisé en ce que lesdits au moins deux aimants permanents (51, 52) sont disposés chacun au sein d'une bobine électromagnétique (54, 55),

lesquelles bobines électromagnétiques (54, 55) sont agencées coaxialement
20 selon l'axe horizontal (A) et sont raccordées à des moyens (56) pour piloter le courant électrique alimentant lesdites bobines électromagnétiques (54, 55).

7. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E), selon l'une quelconque des revendications 5 ou 6, caractérisé en ce que lesdits au moins deux aimants permanents (51, 52), et le cas échéant lesdites au moins deux
25 bobines électromagnétiques (54, 55), sont disposés de part et d'autre du contenant (C), à une distance constante d l'un par rapport à l'autre.

8. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E), selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que les moyens de maintien (3) comprennent une pipette d'aspiration (31).

30 9. Dispositif pour la caractérisation mécanique d'un élément d'intérêt (E), selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que les moyens (7) pour déterminer les caractéristiques mécaniques dudit élément d'intérêt (E) comprennent des moyens (71, 72) pour déterminer la valeur (D) de déplacement en translation de l'organe indenteur (4) selon ladite direction horizontale instable (x).

10. Poste d'injection en procréation médicale assistée, équipé d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.

11. Procédé pour étudier les caractéristiques mécaniques d'un élément d'intérêt (E), avantageusement un élément d'intérêt (E) microscopique, éventuellement de nature biologique, voire une cellule, par la mise en œuvre d'un dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 9,

lequel procédé comprend :

a) une phase de préparation au cours de laquelle, d'une part, ledit élément d'intérêt (E) est maintenu dans le milieu liquide du contenant (C) par lesdits moyens de maintien (3) et, d'autre part, les moyens magnétiques (5) génèrent un champ magnétique initial (P1) qui permet le maintien dudit organe indenteur (4) dans une position initiale au repos, à distance dudit élément d'intérêt (E),

b) une phase de chargement au cours de laquelle les moyens magnétiques (5) sont pilotés de sorte à modifier le champ magnétique, depuis ledit champ magnétique initial (P1) jusqu'à un champ magnétique modifié (P2), dans lequel ledit organe indenteur (4) est manœuvré en translation selon ladite direction horizontale instable (x), cela dans un sens de chargement dans lequel ladite extrémité proximale (42) dudit organe indenteur (4) génère une force de compression sur ledit élément d'intérêt (E) maintenu par lesdits moyens de maintien (3),

c) une phase de déchargement au cours de laquelle les moyens magnétiques (5) sont pilotés de sorte à rétablir ledit champ magnétique initial (P1) dans lequel ledit organe indenteur (4) est manœuvré en translation selon ladite direction horizontale instable (x), cela dans un sens de déchargement dans lequel ladite extrémité proximale (42) dudit organe indenteur (4) s'écarte par rapport audit élément d'intérêt (E) maintenu par lesdits moyens de maintien (3),

lequel procédé comprend une étape de collecte de la valeur (D) du déplacement en translation dudit organe indenteur (4) selon ladite direction horizontale instable (x), au moins au cours de la phase de chargement, et

lequel procédé comprend une étape de détermination des caractéristiques mécaniques dudit élément d'intérêt (E), tenant compte des caractéristiques dudit champ magnétique et de la valeur (D) du déplacement en translation dudit organe indenteur (4) selon ladite direction horizontale instable (x).

12. Procédé selon la revendication 11, en combinaison avec les revendications 5 ou 6, caractérisé en ce que les caractéristiques dudit champ

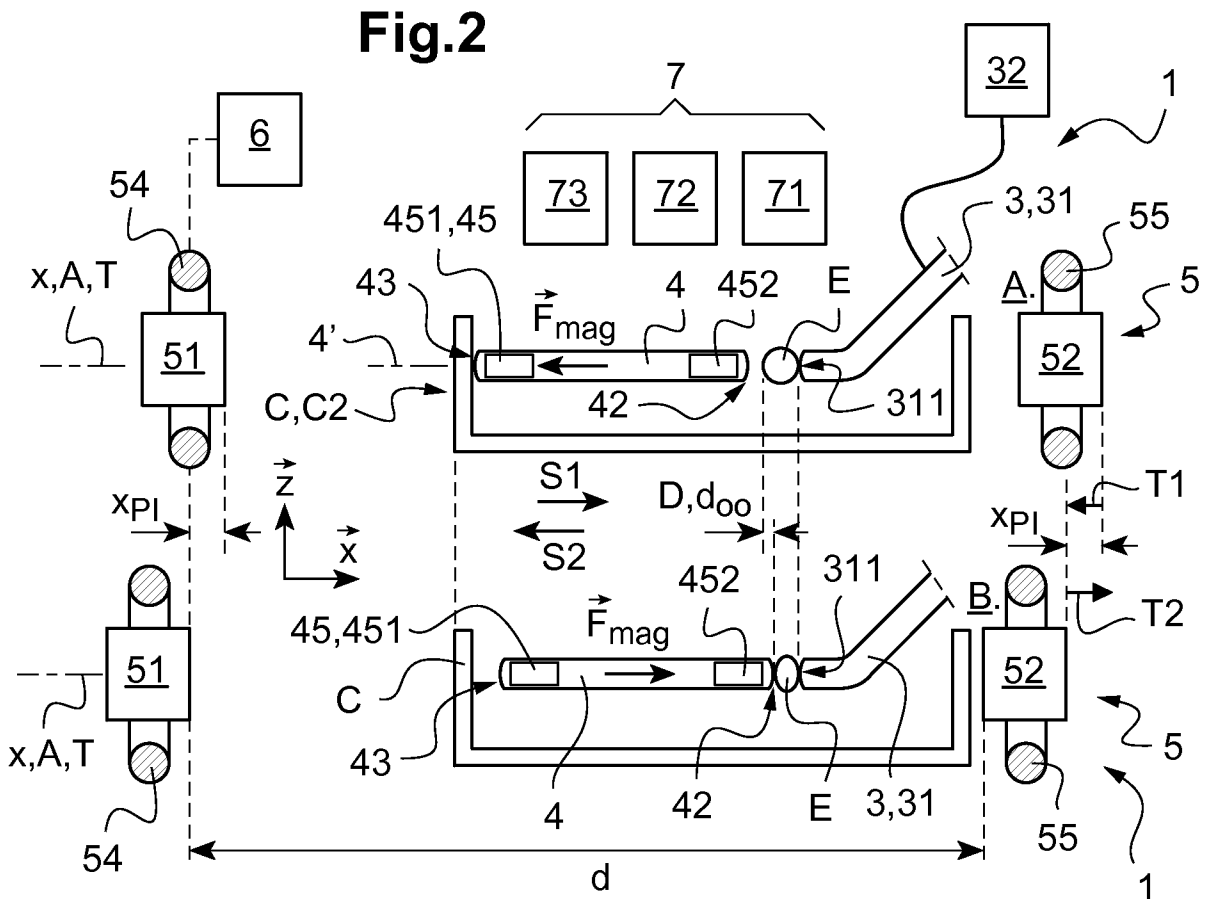
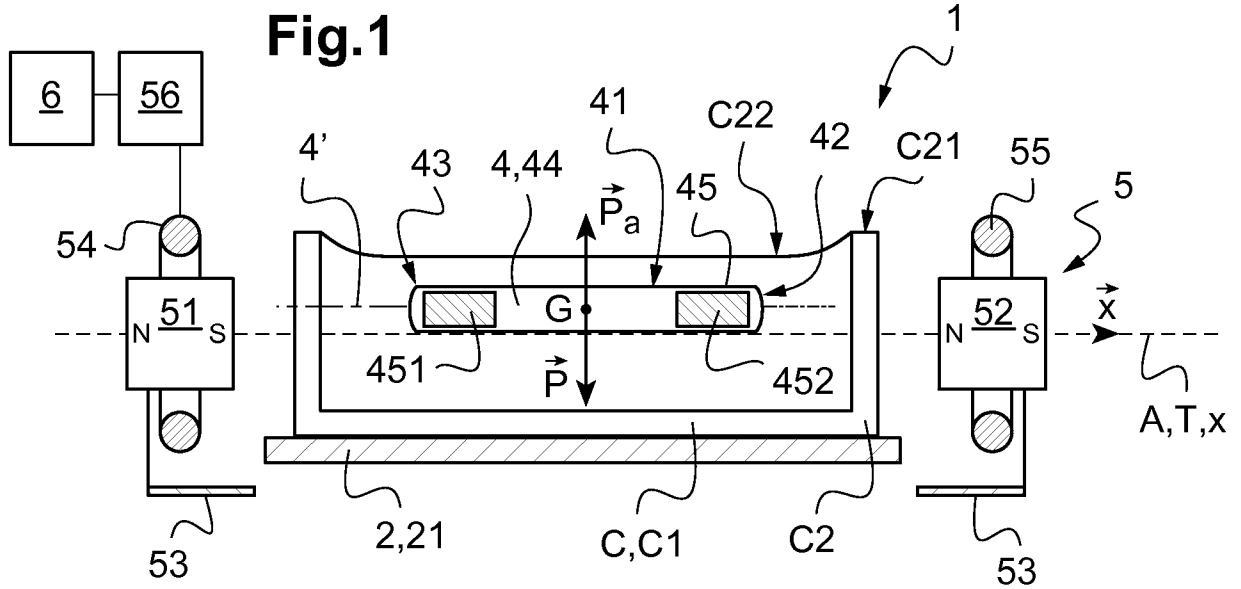
magnétique sont fonction de :

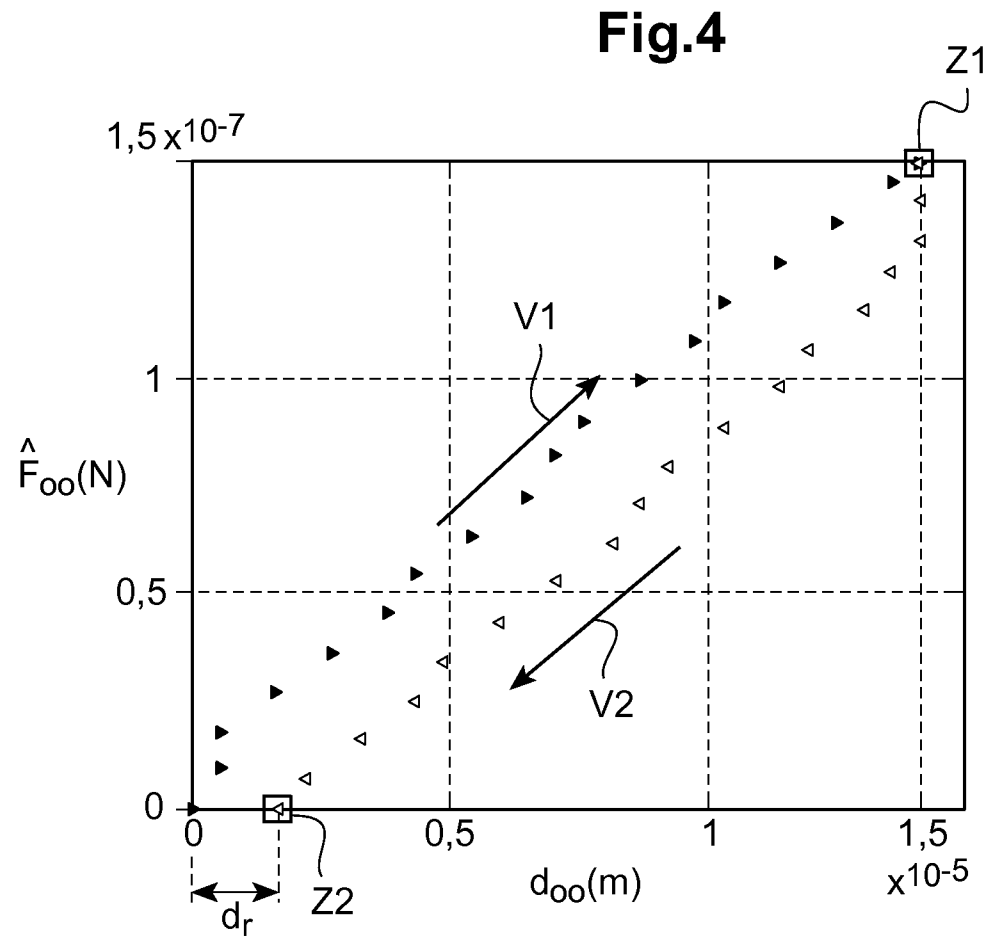
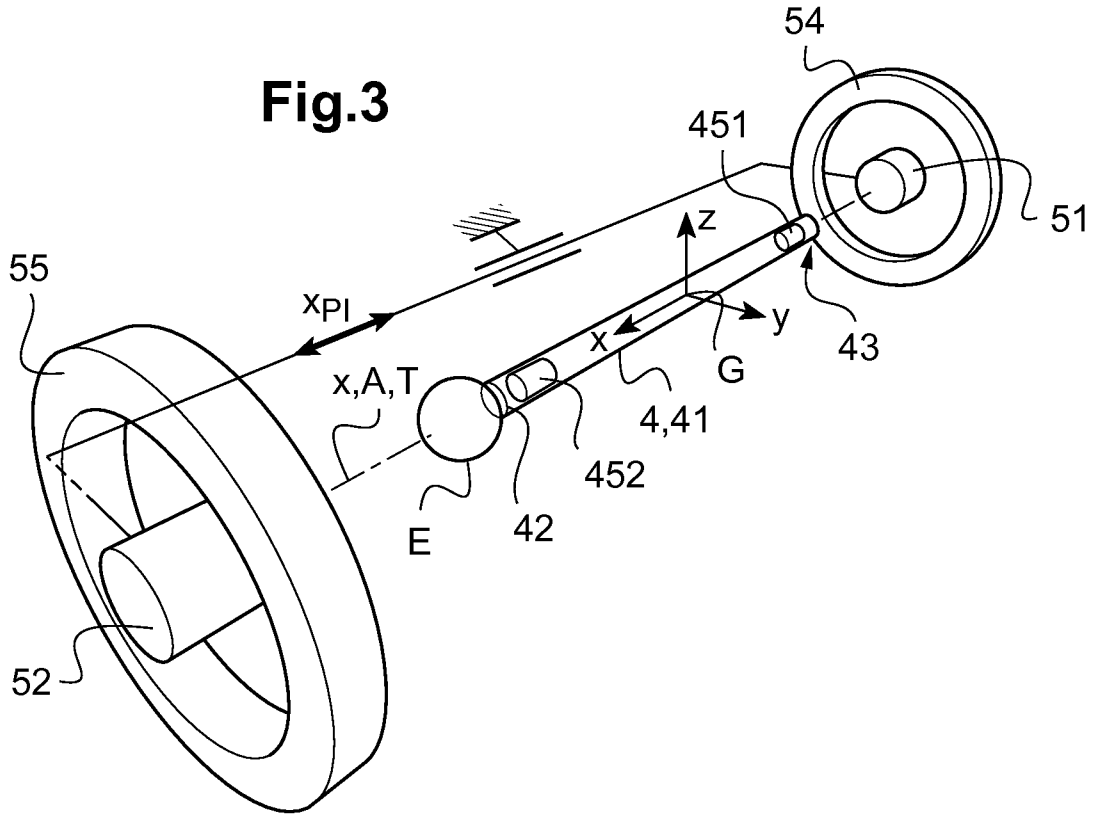
- la valeur de déplacement des moyens magnétiques (5) et/ou
- la valeur du courant électrique injecté dans les bobines électromagnétiques

(54, 55).

5 13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 ou 12, caractérisé en ce que l'élément d'intérêt (E) est une cellule choisie parmi :

- les ovocytes, ou
- les cellules cancéreuses.





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2018/050670

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N3/40 G01N3/42 C12M1/42
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N C12M H02K
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/105919 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; UNIV BOLOGNA ALMA MATER [IT]; GIMZEWSKI JAMES K) 4 September 2008 (2008-09-04) paragraphs [0001] - [0068]; figures 1-8 -----	1-13
X	US 2011/053241 A1 (DEN TOONER JACOB M J [NL] ET AL) 3 March 2011 (2011-03-03) paragraphs [0034] - [0076]; figure 3 -----	1-13
X	L. GUILLOU ET AL: "dynamic monitoring of cell mechanical properties using profile microindentation", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 6, 9 February 2016 (2016-02-09), pages 1-13, XP002775574, the whole document ----- -/--	1-13

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 30 May 2018	Date of mailing of the international search report 07/06/2018
---	---

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Cantalapiedra, Igor
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2018/050670

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 486 457 A (BUTLER JAMES P [US] ET AL) 23 January 1996 (1996-01-23) abstract; figure 1 -----	1-13
A	US 2009/068701 A1 (ELSON ELLIOT [US] ET AL) 12 March 2009 (2009-03-12) the whole document -----	1-13
A	WO 2017/020006 A1 (THE USA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY DEPT OF HEALTH AND HUMAN SERVI) 2 February 2017 (2017-02-02) the whole document -----	1
A	US 5 723 793 A (SUZUKI YOSHIHIKO [JP] ET AL) 3 March 1998 (1998-03-03) the whole document -----	1
A	US 2014/312251 A1 (BARBET FRÉDÉRIC [FR]) 23 October 2014 (2014-10-23) the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/FR2018/050670

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008105919	A2	04-09-2008	NONE

US 2011053241	A1	03-03-2011	CN 101983335 A 02-03-2011
			EP 2263081 A1 22-12-2010
			JP 2011516060 A 26-05-2011
			US 2011053241 A1 03-03-2011
			WO 2009122359 A1 08-10-2009

US 5486457	A	23-01-1996	US 5486457 A 23-01-1996
			WO 9506248 A1 02-03-1995

US 2009068701	A1	12-03-2009	AT 426015 T 15-04-2009
			AU 2002356043 A1 03-03-2003
			CA 2497343 A1 27-02-2003
			EP 1425385 A2 09-06-2004
			EP 1983043 A1 22-10-2008
			JP 4638146 B2 23-02-2011
			JP 2005523417 A 04-08-2005
			US 2003064358 A1 03-04-2003
			US 2009068701 A1 12-03-2009
			WO 03016860 A2 27-02-2003

WO 2017020006	A1	02-02-2017	NONE

US 5723793	A	03-03-1998	JP H09196663 A 31-07-1997
			US 5723793 A 03-03-1998

US 2014312251	A1	23-10-2014	CN 104126268 A 29-10-2014
			EP 2792057 A1 22-10-2014
			ES 2635424 T3 03-10-2017
			FR 2984633 A1 21-06-2013
			HK 1202714 A1 02-10-2015
			US 2014312251 A1 23-10-2014
			US 2017098988 A1 06-04-2017
			WO 2013088235 A1 20-06-2013

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2018/050670

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01N3/40 G01N3/42 C12M1/42 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N C12M H02K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 2008/105919 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; UNIV BOLOGNA ALMA MATER [IT]; GIMZEWSKI JAMES K) 4 septembre 2008 (2008-09-04) alinéas [0001] - [0068]; figures 1-8 -----	1-13
X	US 2011/053241 A1 (DEN TOONER JACOB M J [NL] ET AL) 3 mars 2011 (2011-03-03) alinéas [0034] - [0076]; figure 3 -----	1-13
X	L. GUILLOU ET AL: "dynamic monitoring of cell mechanical properties using profile microindentation", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 6, 9 février 2016 (2016-02-09), pages 1-13, XP002775574, le document en entier ----- -/--	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 30 mai 2018	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 07/06/2018	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Cantalapiedra, Igor	

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 5 486 457 A (BUTLER JAMES P [US] ET AL) 23 janvier 1996 (1996-01-23) abrégé; figure 1 -----	1-13
A	US 2009/068701 A1 (ELSON ELLIOT [US] ET AL) 12 mars 2009 (2009-03-12) le document en entier -----	1-13
A	WO 2017/020006 A1 (THE USA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY DEPT OF HEALTH AND HUMAN SERVI) 2 février 2017 (2017-02-02) le document en entier -----	1
A	US 5 723 793 A (SUZUKI YOSHIHIKO [JP] ET AL) 3 mars 1998 (1998-03-03) le document en entier -----	1
A	US 2014/312251 A1 (BARBET FRÉDÉRIC [FR]) 23 octobre 2014 (2014-10-23) le document en entier -----	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2018/050670

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2008105919	A2	04-09-2008	AUCUN	
US 2011053241	A1	03-03-2011	CN 101983335 A	02-03-2011
			EP 2263081 A1	22-12-2010
			JP 2011516060 A	26-05-2011
			US 2011053241 A1	03-03-2011
			WO 2009122359 A1	08-10-2009
US 5486457	A	23-01-1996	US 5486457 A	23-01-1996
			WO 9506248 A1	02-03-1995
US 2009068701	A1	12-03-2009	AT 426015 T	15-04-2009
			AU 2002356043 A1	03-03-2003
			CA 2497343 A1	27-02-2003
			EP 1425385 A2	09-06-2004
			EP 1983043 A1	22-10-2008
			JP 4638146 B2	23-02-2011
			JP 2005523417 A	04-08-2005
			US 2003064358 A1	03-04-2003
			US 2009068701 A1	12-03-2009
			WO 03016860 A2	27-02-2003
WO 2017020006	A1	02-02-2017	AUCUN	
US 5723793	A	03-03-1998	JP H09196663 A	31-07-1997
			US 5723793 A	03-03-1998
US 2014312251	A1	23-10-2014	CN 104126268 A	29-10-2014
			EP 2792057 A1	22-10-2014
			ES 2635424 T3	03-10-2017
			FR 2984633 A1	21-06-2013
			HK 1202714 A1	02-10-2015
			US 2014312251 A1	23-10-2014
			US 2017098988 A1	06-04-2017
			WO 2013088235 A1	20-06-2013