



HAL
open science

Etude exploratoire et transdisciplinaire par analogie des mouvements de cellules et d'humains au sein d'architectures équivalentes

Maxime Bonnefoy

► To cite this version:

Maxime Bonnefoy. Etude exploratoire et transdisciplinaire par analogie des mouvements de cellules et d'humains au sein d'architectures équivalentes. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2022. Français. NNT : 2022GRALY008 . tel-03813659

HAL Id: tel-03813659

<https://theses.hal.science/tel-03813659>

Submitted on 13 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : Physique pour les Sciences du Vivant

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Maxime BONNEFOY

Thèse dirigée par **Martial BALLAND**, Université Grenoble Alpes, co-encadrée par **Thomas BOUDOU**, Chargé de Recherches, CNRS et par **Philippe LIVENEAU**, professeur à l'ENSAG.

préparée au sein du **Laboratoire Interdisciplinaire de Physique** dans l'**École Doctorale de Physique**

Étude exploratoire et transdisciplinaire par analogie des mouvements de cellules et d'humains au sein d'architectures équivalentes

Exploratory and transdisciplinary study by analogy of cell and human movements within equivalent architectures

Thèse soutenue publiquement le **31 janvier 2022**, devant le jury composé de :

Monsieur ALEXANDER VERKHOVSKY

Docteur en sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Rapporteur

Monsieur DENIS BRUNEAU

Professeur, École Nationale Supérieure d'Architecture et de Paysage de Bordeaux, Rapporteur

Madame AYSEGUL CANKAT

Professeur, École Nationale Supérieure d'Architecture de Grenoble, Examinatrice

Monsieur PHILIPPE PEYLA

Professeur des Universités, Université Grenoble Alpes, Président



Remerciements

Mes premiers remerciements vont aux institutions / unités / équipes / structures, en bref, à ces entités, et surtout à leurs membres, qui ont apporté les fondations solides et nécessaires à la thèse et assuré son bon déroulé :

La thèse a été réalisée en collaboration transdisciplinaire entre deux structures de recherche membres de l'**UGA**¹ : Le **LIPhy**² et le **CRESSON**³, lui-même membre du laboratoire **AAU**⁴ et rattaché à l'**ENSAG**⁵.

Elle a bénéficié de deux soutiens financiers : par le **Labex CEMAM**⁶ d'une part et à l'aide d'un demi-contrat doctoral en architecture du **Ministère de la Culture** d'autre part.

Les expérimentations architecturales ont été menées à l'**ENSAG**, au sein de **L.E.I.C.A.**⁷, un outil pédagogique développé dans le cadre de la chaire partenariale d'enseignement et de recherche en architecture *L'écologie numérique, le design environnemental, l'architecture 2.0 : Digital RDL, Research by Design Laboratory*.

Merci à l'**École Doctorale de Physique** pour avoir accompagné cette thèse atypique.

Je souhaite ensuite remercier les membres de mon jury de thèse :

Alexander Verkhovsky et **Denis Bruneau** pour vos rôles de rapporteurs. **Ayşegül Cankat** pour votre rôle d'examinatrice et **Philippe Peyla** pour la présidence du jury. Merci à tous les quatre d'avoir accepté mes invitations et de composer un jury qui soit certes, administrativement valable mais surtout riche de sens scientifiquement et véritablement transdisciplinaire.

Évidemment, je tiens à remercier mes trois encadrants :

Martial pour ton encadrement dévoué, pour avoir partagé de belles complicités, scientifiques et humaines, tout au long de cette aventure, à travers un large spectre d'émotions mêlant doutes, ambitions, abattements ou excitations. Merci d'avoir mis la main à la pâte, en gérant les platines, pour mixer microscopie et groove musical en salle d'expérimentation. Merci pour ta compagnie énergétique, ta parole généreuse et réconfortante, en un mot : ta présence. Merci.

¹ **UGA** = Université Grenoble Alpes

² **LIPHY** = Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (UMR CNRS 5588)

³ **CRESSON** = Centre de Recherche sur l'Espace Sonore et l'Environnement Urbain

⁴ **AAU** = Ambiance Architectures Urbanités (UMR CNRS 1563)

⁵ **ENSAG** = École Nationale Supérieure d'Architecture de Grenoble

⁶ **CEMAM** = Centre of Excellence of Multifunctional Architected Materials

⁷ **L.E.I.C.A.** = Laboratoire d'Étude Immérgé des Conduites Ambiantes

Thomas pour m'avoir accueilli dans cet univers physicien et pour m'avoir souvent aidé avec ce cocktail explosif de rapidité, efficacité et constructivité. C'est bénéfique pour la recherche et inspirant pour les autres aspects de la vie. Merci aussi pour le soin que tu as apporté à nos poissons, sous cette forme subtile de nihilisme bienveillant.

Philippe pour m'avoir entraîné, depuis le master en architecture, sur cette piste originale et inattendue où nous avons bel et bien questionné le *vivant* et l'architecture. Merci aussi de m'avoir fait confiance et de m'avoir ouvert les portes de la recherche puis celles de l'enseignement.

Je remercie également ces généreuses personnes, s'étant rendues disponibles et très attentives tant à mon bien-être qu'à mon travail :

Nicolas^{Tixier} et **Salima**^{Rafai} pour avoir suivi attentivement le déroulement de ma thèse, en enrichissant de manière heureuse nos discussions *explorato-transdisciplinaires*.

Giovanni^{Cappello} pour tes bonnes idées, mises en perspective et conseils pédagogiques bien dosés tout au long de nos réunions d'équipe.

Sylvain^{Gabriele} pour avoir accompagné le développement de mes expérimentations biologiques à leur tout début, en m'accueillant dans ton équipe de recherche à Mons.

Magali^{Paris}, pour m'avoir aidé à assumer et à m'affirmer dès mes premiers balbutiements architecturaux : ce sont quelques-unes de tes remarques qui m'auront, après dé clic, accompagné tout au long de ces études en leur donnant beaucoup de sens. Merci pour la confiance que tu m'as accordée ensuite, en m'invitant à la rédaction, à la recherche et à la rencontre de belles personnes.

Philippe^{Moreau} pour ton efficacité et ta grande générosité, tant pour nos échanges labo-techniques liés à cette thèse que ceux socio-techniques liés à cette Terre.

Eleonore^{Vercruysee} et **Danahé**^{Mohammed} pour m'avoir appris à pêcher scientifiquement et à inviter correctement les kératocytes à envahir mes *architectures*.

Irène^{Wang}, pour ta bonne humeur contagieuse lors de nos très fugaces entrevues et pour ton aide programmatique précieuse.

Françoise^{Acquier}, pour tes apparitions soudaines avec des références congrues.

Alain^{Lombard}, pour ces heures assis côte à côte, à partager un intérieur : une pièce à l'atmosphère tantôt studieuse tantôt ludique et à rêver de grands extérieurs.

Théo^{Marchal}, **Grégoire**^{Chelkoff}, **Amal**^{Abu-Daya}, pour nos brefs mais constructifs échanges, depuis le studio de projet, pendant la mention recherche puis pendant la thèse.

Daniel^{Siret}, **Maroua**^{En-Nejjari}, **Nicolas**^{Houel}, pour votre accueil, lors des temps forts de AAU, à Grenoble comme à Nantes, pour ma véritable intégration dans la vie du labo.

Merci à **tous les membres du CRESSON**. Malgré ma volonté de rester pleinement immergé dans l'univers physicien, je me suis senti chaleureusement accueilli à chacune de mes visites architecturales. Merci pour cela.

Merci aux **membres de la commission recherche** pour m'avoir fait découvrir les coulisses de la recherche en école d'architecture et m'avoir initié au rôle d'élu dans une instance collective comme celle-ci, ce fut fort instructif.

Je remercie également mes collègues doctorants et les étudiants en stage au sein de mon équipe pour vos deux points communs : avoir collaboré à cette recherche en consentant à ce que je vous exploite et avoir grandement aidé à ce que je m'améliore, à ce que je comprenne bien nos objets d'étude, à ce que je m'acculture au fonctionnement de la biophysique. Je vous suis très reconnaissant :

Adrien^{Méry}, pour ton soutien technique, des lignes de code à l'utilisation des caméras en passant par le nettoyage de la salle de culture, une activité des plus rebutante, qu'on transforme pourtant en moments rebeutants. Mais surtout ! Merci pour ces heures de discussion, de la pure torture intellectuelle au déballage complet des derniers potins, merci pour ton écoute à toute épreuve.

Artur^{Ruppel}, pour le partage de toutes ces discussions fantaisistes, avec tes salutaires surcouches de rigueur, de clarté et de sérénité, celles-là mêmes qui aident au recul critique pour les discussions plus sérieuses. Merci aussi pour les milles-et-une aides par-ci par-là à chacune de mes apparitions intempestives.

Vanni^{Petrolli}, pour ton rôle de grand frère et ton accueil : pour m'avoir fait découvrir la mécanobiologie, la microscopie et tous les instruments d'un labo, pour ta bienveillance et ta modestie sans faille. Pour notre virée mémorable à l'autre bout du globe. Tu as été vraiment inspirant.

Maëlys^{Ropars}, pour ton esprit vif et agile qui a su ouvrir de nouvelles pistes à notre recherche et pour ton aide précieuse dans le suivi de ces pistes, dans la maîtrise des cellules, des microenvironnements, des trackings, des cartographies, de tout quoi. Je suis ravi d'avoir travaillé avec toi.

Ryslène, pour avoir pris le temps avec moi de découvrir, d'appriivoiser les poissons et les kératocytes dans la bonne humeur.

Elena^{Erben}, pour avoir jonglé avec nos premières mesures et nos premiers algorithmes.

Bernard^{Pato}, pour ta contribution à la qualité de nos protocoles et pour avoir débusqué les petits détails qui bloquaient tout.

Merci à **Tomas, Katha, Axelle, Agathe, Guillaume** et **Vladimir** :))

Je souhaite aussi remercier les **étudiants architectes**, du master *Architecture, Ambiances et Cultures Numériques*, des promotions 2018-2019 et 2019-2020, merci d'avoir été complices de ma recherche et de m'avoir bien accueilli pour ma toute première expérience en tant qu'enseignant, même si nous avons le même âge à quelques mois près.

Et puis, à mes colocs, mes amis et ma famille, pleins de remerciements pour vos faces de quetsche :

360 + 90 = c'est un très grand nombre.

Donc voici un énoOORme merci à **Laureen, Clémentin, Mathieu et Camille, Olivier, Anna, Sabine et Cindy, Alex, Joyceline, Delphine, Anaëlle et Pierre, Luce, Franck et Antonin**. Des sorties festives, sportives ou nonchalantes, des jeux de société, des bricolages, un vidéoprojecteur, des bières finement sélectionnées, des repas de qualité, c'est très rassérénant. Merci à vous tous qui avez partagé mon quotidien pendant toutes les phases de cette thèse, de l'euphorie à la déprime, de la déprime à l'euphorie, les phases maniaques, les phases excitées, les phases banales. Merci d'avoir été là, d'avoir été vous, de m'avoir raconté vos histoires, vos émotions, d'avoir écouté les miennes, d'avoir partagé avec moi ces fragments de vie.

Petit remerciement additionnel à **Scandalf** pour nos discussions aussi vastes que le cosmos et aussi *techniquement* précises qu'un roulement à bille de qualité, qui ont largement contribué à la réduction de mes *apéro-leucosélo-atélophobies* de thèse. Notez que je n'ai pas dit *apéro*.

Virgile, vieux frère, merci pour le partage de tes aventures, de ta vision et de ton parcours. J'aime lorsque tu t'affirmes et la manière dont tu évolues. C'est pour ça qu'au-delà de nos excursions au centre de Grenoble, à Prague et à Bruxelles, je te glisse ici un petit remerciement pour le sens que tu donnes au mot « architecture » à mes yeux.

Laureen, ma bro. J'aimerais prendre une courte vidéo de chaque instant de vie que nous avons partagé depuis cette dernière année d'archi : les euphoriques, les déjantés, les ennuyants et les blessants puis en faire un montage haut en couleurs.

« ♪♪ Môme a 27 ans,
c'est comme arrêter le temps,
c'est comme mettre en boucle le meilleur du film. ♪♪ »

Merci pour cette complicité sans nom qui en a surpris plus d'un, avec laquelle on peut faire des concours d'architecture, des thèses, traverser la planète, habiter de beaux lieux et danser avec des paillettes... Merci pour la belle partie de moi que tu as fait naître.

Luce, ma go. On l'a attaquée cette thèse, n'est-ce pas ? Elle ne sera pas ingrate pour autant. Merci d'avoir foulé en ma compagnie cette piste caillouteuse, de m'avoir offert ta confiance, d'avoir par-dessus tout donné du sens à ce que nous faisons en parallèle. Merci pour cette rencontre ensoleillée. Je me risque aussi, à te dire par avance, merci pour les névroses qu'il reste à démêler dans ce tas d'interprétations et projections en pagaille.

Maëlleku, merci pour toutes nos petites connivences artistiques, artisanales ou architecturales, de la modélisation à la bidouille, du sonore au visuel. Est-ce qu'on n'envisagerait pas de monter un biofabvideomusicon'importequoilab maintenant ?

Les "**Chauds de la techno**", nom moyennement subtile mais équivoque, merci **Lo, Alex, Lara, Glenn** et **Joanna** d'avoir exploré avec moi une vie Grenobloise festive, contre-point essentiel à la vie de thésard !

Les **Zarzas** éparpillés depuis 2012, merci pour l'inspiration continuelle d'une décennie maintenant. En particulier, **Daniel, Pierrick, Martin, Kévin, Kéniv** et **David**, vos esprits libres, vos talents (oui, sacrément, chacun de vous sans exception) sont une source d'inspiration incroyablement forte pour moi.

Le **groupe de la Gang**, éparpillé depuis 2017. Merci pour votre accompagnement intense durant mes études. Merci **Thomas** pour ta présence aujourd'hui, pour ma soutenance, tu m'avais prévenu, tu es venu, c'est simple mais mégachouette, un mot qui te va bien. Merci **Ahude, Tonio**, et **Élodie**, merci **Mawie**. Vous êtes tellement les chefs de la gang. Susmentionus **anirade** dedicacea. Je n'ai pas la traduction exacte par contre.

Papa, maman, un remerciement qui n'a pas de sens limité à ce manuscrit. Pour l'alignement des étoiles et des billets (ben oui, faut le dire) mais surtout pour l'alignement des beaux moments de mon enfance, de mon adolescence et de mes premiers balbutiements d'adulte. J'ai parfois un genre de vertige. Je suis né avec une cuillère bordée de nouille dans la bouche. Quoi, c'est pas ça qu'on dit ? Infographie, architecture, biophysique ? Vous m'auriez offert la même sérénité pour poney, maraîchage et aquagym ? En tout cas, confiance, ouverture et passion : voilà un fragment de ce que vous m'avez donné, dont je suis fier. Merci.

Florine, pour les douze millions trois cent quarante-et-un mille deux cent trente-quatre moments forts qui nous ont constitués. Pour le partage pur de ce que nous avons été, sommes et serons. Pour le recul que tu m'apportes. Je t'expliquerai (parce que c'est moi le grand frère qui joue un rôle dans notre société normée donc c'est moi qui explique, en quoi c'est toi la petite sœur qui m'apprend des choses cruciales pour la vie). Merci frangine.

Merci **Phinih** pour le consentement, **Solma** et **Buddhet** pour vos efforts.

Attendez, je crois que j'ai oublié quelqu'un !

Martial !

Oui, oui, je sais que j'ai déjà partagé quelques mots. Mais... Ce n'est pas mon directeur de thèse que je souhaite remercier avec ces quelques mots supplémentaires, c'est un ami.

Un ami avec qui partager une petite "roteuse" faite maison et se passionner pour la fabrication de yourtes, de tiny-houses ou de vans, pour la permaculture en mandala, la découpe de caddies ou de bûches, le démontage de palettes, pour le low-tech et l'avenir. Je t'ai remercié pour ta présence, je te remercie aussi pour la confiance que tu m'as portée malgré mes ratés, pour ta vivacité malgré quelques impétuosités, pour ta belle humanité en quelques sortes.

Petits objectifs, grandes satisfactions.

Table des matières

Remerciements.....	4
Table des matières	10
Table des figures	14
Avant-propos	16
Résumé	18
Abstract	20
Chapitre 1 : Contextes et approches théoriques.....	23
1.1. Architecture et recherche	24
1.1.1. Introduction	24
1.1.2. Esquisse des propriétés de l'architecture	25
1.1.3. Interactions entre architecture, recherche et théorie.....	27
1.1.4. Les différentes méthodes pour la recherche architecturale	27
1.1.4.1. Les méthodes des sciences humaines et sociales	28
1.1.4.2. Les méthodes des sciences expérimentales.....	30
1.1.4.3. Les méthodes des disciplines de conception	31
1.1.4.4. Synthèse sur les méthodes de recherche pour l'architecture.....	32
1.2. Architecture et mouvements	34
1.2.1. Le mouvement dans la pratique de l'architecture.....	35
1.2.1.1. Le Corbusier et la promenade architecturale.....	36
1.2.1.2. Bernard Tschumi et les Manhattan Transcripts	37
1.2.1.3. Zaha Hadid et l'architecture fluide.....	39
1.2.1.4. Le mouvement des corps dans la conception architecturale.....	40
1.2.2. Les sciences expérimentales pour l'architecture portant sur les mouvements d'individus ou de groupes d'individus.....	41
1.2.2.1. Mouvements d'un individu dans un espace restreint en interaction avec un autre individu	42
1.2.2.2. Mouvements d'un groupe de personne évacuant une pièce	43
1.2.2.3. Comportement à échelle macroscopique d'une foule orientée	44
1.2.2.4. Le mouvement des corps dans les sciences expérimentales	45
1.2.3. Les sciences humaines et sociales pour l'architecture portant sur la perception des ambiances et le mouvement.	46
1.2.3.1. Les ambiances architecturales et urbaines	46
1.2.3.2. Le mouvement.....	46
1.2.3.3. Le mouvement des corps dans les sciences humaines et sociales.....	50
1.2.5. Émergence d'une problématique architecturale sur le mouvement des corps dans nos environnements construits.....	51
1.3. Mouvements et environnements	52

1.3.1. Espaces et espèces.....	52
1.3.1.1. Au-delà de l'architecture, à travers les espaces.....	52
1.3.1.2. Au-delà de l'humain, à travers les espèces.....	52
1.3.2.3. Êtres vivants et environnements.....	54
1.3.2. La plus petite unité du vivant.....	55
1.4. Biologie et physique.....	55
1.4.1 Émergence de la mécanobiologie.....	56
1.4.1.1. Les cellules interprètent des signaux mécaniques.....	56
1.4.2. La migration des cellules.....	57
1.4.2.1. Cellules uniques et tissus.....	57
1.4.2.2. Matrice extracellulaire (in-vivo) et substrat (in-vitro).....	58
1.4.2.3. Orientations de la migration des cellules.....	59
1.4.2.4. La rigidité du substrat.....	59
1.4.3. La géométrie de l'environnement.....	60
1.4.4. Émergence d'une problématique en mécanobiologie sur le mouvement des cellules au sein d'environnements spatiaux contrôlés.....	62
Chapitre 2 : Analogies et dialogue.....	65
2.1. Architecture et biologie.....	66
2.1.1. Définition d'une recherche commune.....	66
2.1.2. Le concept d' <i>affordance</i>	67
2.2. Démarche méthodologique.....	69
2.2.1. Transdisciplinaire et exploratoire.....	69
2.2.2. Acculturation et immersion.....	71
2.2.3. Itérations et réactualisations.....	72
2.3. Nos observables : cellules et humains.....	72
2.2.1. Le choix d'un modèle cellulaire.....	73
2.2.1.1. De la cellule à la lignée cellulaire.....	73
2.2.1.2. Les critères de notre analogie.....	73
2.2.2. Multiples situations humaines.....	73
2.2.2.1. Des étudiants en architecture dans un environnement contrôlé.....	74
2.2.2.2. Des participants invités à traverser des dispositifs.....	74
2.2.2.3. De nombreux individus à l'échelle d'un territoire.....	74
2.2.3. Échelles.....	74
Chapitre 3 : Méthodes, outils et techniques.....	77
3.1. Micro- et macro- architectures.....	79
3.1.1. Fabrication des microenvironnements.....	79
3.1.1.1. Principe général de la fabrication de microenvironnements.....	79
3.1.1.2. Préparation initiale : fonctionnalisation des lamelles de verre.....	80
3.1.1.3. Fabrication de micropatterns par photolithographie.....	80
3.1.1.4. Optimisations du protocole.....	81
3.1.1.5. Fabrication de micropatterns à l'aide du dispositif PRIMO (Alvéole).....	83
3.1.1.6. Optimisation du protocole.....	83
3.1.1.7. Préparation finale : revêtement des protéines.....	86
3.1.1.8. Complémentarités des deux méthodes.....	88
3.1.2. Construction de prototypes à échelle humaine.....	90
3.1.2.1. Mesurer le déplacement humain dans un espace contraint.....	90
3.1.2.2. La migration humaine étudiée est bidimensionnelle.....	90
3.1.2.3. Nous menons des expériences in vitro.....	90
3.1.2.4. Constructions des environnements.....	91

3.1.3. Conception des géométries	91
3.1.3.1. La modélisation paramétrique	91
3.1.3.2. De la conception à la fabrication	93
3.2. Élaboration de deux protocoles pour la culture des kératocytes	94
3.2.1. Protocole A (EGTA+Trypsine) : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles	95
3.2.1.1. Résumé	95
3.2.1.2. Objectifs	96
3.2.1.3. Concentrations et dilutions de la trypsine	97
3.2.2. Protocole B (EGTA) : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement	97
3.2.2.1. Résumé	97
3.2.2.1. Objectifs	98
3.2.2.2. Migration de l'écaille : observation de la sortie du tissu	98
3.2.2.3. Un indice éphémère : la formation de microgouttelettes	99
3.2.2.4. Un geste précis : le marquage de la lamelle	99
3.3. Méthodes pour observer les déplacements	100
3.3.1. Techniques de microscopies pour l'observation de la migration cellulaire	100
3.3.1.1. La microscopie à champ clair	101
3.3.1.2. La microscopie à fluorescence : le noyau de la cellule	101
3.3.1.3. La microscopie à fluorescence : le pattern	102
3.3.1.4. Paramètres d'acquisition	103
3.3.1.5. Optimisation du protocole	104
3.3.2. Installation d'un dispositif filmique pour la captation des déplacements à l'échelle architecturale	107
3.3.2.1. Placement des caméras	107
3.3.2.2. L'objet exact de la captation	108
3.3.2.3. Gestion des participants	109
3.3.2.4. Conclusions sur la captation filmique	109
3.4. Méthodes pour analyser les trajectoires et les spatialités	109
3.4.1 Extraire les trajectoires des cellules et des humains	110
3.4.1.1. L'analyse d'image avec Fiji et la détection des particules avec TrackMate	110
3.4.1.2. Les données que nous exportons	110
3.4.2. Analyse des trajectoires	112
3.4.3. Du point de vue de l'espace	114
Chapitre 4 : Résultats méthodologiques et expérimentaux	117
4.1. Résultats méthodologiques pour la production de microenvironnements	118
4.1.1. Évaluation des microenvironnements	118
4.1.2. Résolution atteinte	119
4.1.3. Netteté atteinte	119
4.1.4. Environnements centimétriques microstructurés	121
4.1.4.1. Repères et dimensions techniques	121
4.2. Résultats méthodologiques pour la culture et l'observation des cellules	123
4.2.1. Résultats du protocole A (EGTA+Trypsine)	123
4.2.2. Résultats du protocole B (EGTA)	124
4.2.3. Résultats du marquage des cellules	128
4.3. Résultats méthodologiques pour l'observation des humains	129
4.3.1. Structures obtenues pour la fabrication des environnements à échelle humaine	129
4.3.2. Adaptabilité du système d'acquisition d'image	130
4.3.2. Précision obtenue lors du suivi des trajectoires humaines	131

4.4. Résultats expérimentaux	132
4.4.1. Biais mesurés dans les déplacements cellulaires et humains à l'échelle du corps.....	133
4.4.1.1. Chez les cellules kératocytes	133
4.4.1.2. Chez les humains	135
4.4.1.3. Comparaison analogique, consigne et sociologie	137
4.4.2. Occupation et exploration des spatialités à l'échelle du groupe.....	138
4.4.2.1. Les couloirs en « L » et en « T ».....	139
4.4.2.2. Configuration spatiale du bottleneck et phénomène de blocage du mouvement	140
4.4.2.3. Alternance des mouvements : le phénomène du « stop-and-go »	142
4.4.2.4. Comparaison analogique, consigne et sociologie	143
4.4.3. Exploration analogique à très grande échelle : observation comparée des cellules kératocytes et des taxis pékinois.....	144
Conclusions, discussions et perspectives.....	149
I - Conclusions.....	149
II – Discussions.....	150
Retours sur l'analogie fonctionnelle et l'analogie directe.....	150
Entre subjectivités et aspect réducteur, hybridation disciplinaire.....	151
III – Perspectives	152
Nouvelles itérations et nouvelles géométries	152
Un outil de représentation	153
Un outil pour penser l'espace, le temps et le mouvement	154
Bibliographie.....	155
Annexes	161
A – Protocole A : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles	162
B – Protocole B : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement	164
C – Fabrication de microenvironnements par photolithographie	165
Passivation du PLL-g-PEG avec un masque de photolithographie	165
Revêtement de protéines de la matrice extracellulaire	166
D – Préparation du milieu kératocyte filtré	167
E – Nettoyage préalable de lamelles de $\varnothing 22$ mm	167
F – Script Python pour l'acquisition d'image	168

Table des figures

Figure 1. Tableau des similitudes entre <i>design</i> et <i>recherche</i>	31
Figure 2. Tableau des différences entre <i>design</i> et <i>recherche</i>	31
Figure 3. La Villa Savoye conçue par Le Corbusier	37
Figure 4. Un <i>Manhattan Transcript</i> de Bernard Tschumi.	38
Figure 5. Deux réalisations architecturales de Zaha Hadid.	40
Figure 6. Mouvements d'un individu dans un espace restreint en interaction avec un autre individu.....	42
Figure 7. Mouvements d'un groupe de personne évacuant une pièce	43
Figure 8. Comportement à échelle macroscopique d'une foule orientée.....	45
Figure 9. Analyse des méthodes d'enquêtes employées au laboratoire CRESSON	48
Figure 10. Tableau des phénomènes sensori-moteurs repérés dans l'espace public lors d'une observation ethnographique.	50
Figure 11. Occupation territoriale d'un groupe de singe.....	53
Figure 12. Comportements migratoires d'un banc de poissons	53
Figure 13. Déplacements de moutons influencés par la présence d'un obstacle.....	54
Figure 14. Schéma de la forme en canoé d'une cellule kératocyte migrante.....	58
Figure 15. Schéma des processus cellulaires entraînant la durotaxie	59
Figure 16. Différenciation cellulaire dépendamment de la rigidité de son substrat	60
Figure 17. Évolution de la géométrie des cellules kératocytes en fonction de la rigidité du substrat sur lequel elles migrent.....	60
Figure 18. Migration cellulaire directionnelle dans des géométries <i>ratchets</i> triangulaires connectées	62
Figure 19. Rapport de proportion et variations d'échelle entre cellules et humains	75
Figure 20. Diagramme de notre méthode complète	78
Figure 21. Fabrication de micropatterns par photolithographie	81
Figure 22. Fabrication de micropatterns avec le dispositif PRIMO d'Alvéole.....	83
Figure 23. Traitement des jonctions avec le système PRIMO d'Alvéole.....	84
Figure 24. Microenvironnements inexploitable en raison du séchage irrégulier du gel photo-initiateur	85
Figure 25. Comparaison de microenvironnements réalisés avec différents temps de séchage du gel photo-initiateur	86
Figure 26. Apparition d'un artefact dépendamment de la position de la lamelle lors du revêtement des protéines.....	87
Figure 27. Échelles de grandeur entre architecture et mécanobiologie.....	89
Figure 28. Modélisation paramétrique de géométries <i>ratchets</i>	92
Figure 29. Du poisson <i>Hypsophrys Nicaraguensis</i> aux cellules kératocytes	96
Figure 30. Migration du tissu de kératocytes depuis l'écaille	99
Figure 31. Marquages des lamelles avant de déposer l'écaille.....	100
Figure 32. Groupe de cellules migrant sur un microenvironnement.....	103

Figure 33. Mouvements de la platine du microscope.....	105
Figure 34. Cellules mortes perturbant l'acquisition d'image	106
Figure 35. Captation filmique des déplacements humains avec trois caméras.....	108
Figure 36. Dispositif filmique complet pour la captation des déplacements humains.....	109
Figure 37. Détection de la trajectoire d'un participant.....	111
Figure 38. Paramétrage du logiciel TrackMate pour le suivi des trajectoires.....	112
Figure 39. Réalisation de motifs précis	119
Figure 40. Mauvaise réalisation d'un microenvironnement.....	120
Figure 41. Excellente réalisation d'un microenvironnement.....	120
Figure 42. Histogramme et aperçu de la fluorescence d'un microenvironnement.....	121
Figure 43. Ordres de grandeur au sujet de la fabrication des microenvironnements.....	121
Figure 44. Réalisation de grands microenvironnements	122
Figure 45. Nombre de cellules obtenues avec le protocole A	124
Figure 46. Nombre de cellules obtenues avec le protocole B.....	125
Figure 47. <i>Entrée</i> des cellules dans un microenvironnement après la dépose directe d'une écaïlle sur ce dernier	126
Figure 48. Positionnement de l'écaïlle sur le microenvironnement	127
Figure 49. Motifs avec <i>piste</i> pour assurer la migration directe du tissu depuis l'écaïlle	128
Figure 50. Marquage fluorescent des cellules	129
Figure 51. Adaptation de notre système d'acquisition dans un espace d'exposition	131
Figure 52. Suivi de la trajectoire d'un participant lors d'un mouvement de tête ample.....	132
Figure 53. Biais mesurés dans les déplacements cellulaires à l'intérieur de géométries <i>ratchets</i>	134
Figure 54. Construction de six couloirs aux géométries <i>ratchets</i> à échelle humaine.....	135
Figure 55. Comparaison des vitesses mesurées lors de la traversée d'installations architecturales composées de parois aux géométries <i>ratchet</i>	136
Figure 56. Comparaison des vitesses mesurées lors de la traversée d'installations architecturales <i>ratchets</i> en fonction de la consigne expérimentale donnée	137
Figure 57. Cartographies d'accumulation des présences, des passages uniques et des temps de résidence moyens et maximums.....	140
Figure 58. Comparaison des mouvements humains et cellulaires dans des configurations spatiales <i>bottleneck</i>	141
Figure 59. Modélisation d'un effet « stop-and-go » par Dirk Helbing et ses collègues	142
Figure 60. Effet « stop-and-go » mesuré chez les cellules kératocytes franchissant une configuration spatiale de <i>bottleneck</i>	143
Figure 61. Plans de la ville de Pékin parcourue par des taxis ou des cellules	146
Figure 62. Deux cartographies représentant les mouvements des cellules kératocytes dans un quartier de Pékin micrométrique.....	147

Avant-propos

Au fil des covoiturages, des barbecues de famille et des retrouvailles entre amis, des rencontres les plus étrangères aux plus intimes, présenter l'objet de ma thèse en quelques phrases est un défi. Cette thèse est incongrue et surprenante, force est de le constater. Il est très rare que je puisse facilement fuir une conversation avec un rapide « *Oh ? Euh... Je fais une thèse en architecture et biophysique, c'était sympa notre discussion, à la prochaine.* » ou « *Ce n'est pas banal ce que tu fais, moi, je regarde les comportements des humains ou des cellules en fonction de l'espace qui les entoure, finalement ça se ressemble beaucoup nos boulots.* » Étrangement, il me faut toujours développer un peu plus. C'est un plaisir d'échanger avec autant de personnes curieuses. C'est au travers de ces courtes présentations que j'ai trouvé un défi amusant : essayer de ne pas me répéter d'une fois à l'autre, de présenter mon travail sous un angle nouveau, quitte à ce qu'il soit partiel. Ce n'est pas très rigoureux mais toujours stimulant : parfois, je ne parle que d'architecture, parfois que de physique voire de biologie ou de psychologie... Je cible un objet, une technique ou une discipline particulière, en me rassurant : « Si j'arrive à expliquer juste cette partie et que ça semble cohérent à mon interlocuteur, c'est que j'ai compris ma thèse ! » Vous ne croyez pas ?

De cet exercice, je me suis aperçu que l'angle disciplinaire est la manière la plus simple pour communiquer facilement les enjeux de la thèse. Je me permets de croire qu'il s'agit là d'un reflet de notre société structurée en silos disciplinaires avec des connaissances et des expertises propres à chaque profession. À ce moment, mes interlocuteurs piochent dans une représentation de la discipline qu'ils se sont probablement déjà construite au préalable, qu'ils connaissent et l'amendent en fonction de notre conversation. Ils ont - ou se créent - donc un aperçu des enjeux et de la portée sociétale de ce qui est produit et s'en servent pour structurer leur pensée et notre conversation.

Lorsque je ne parle que de biophysique, mes interlocuteurs me suivent aisément : « Nous voulons comprendre la mécanique de la cellule. Nous plaçons des cellules dans des espaces confinés de différentes géométries et nous regardons comment elles se déplacent. » Évidemment, cela soulève ensuite beaucoup de questions vers lesquelles la discussion se dirige ou non, principalement d'ordre technique, mais au premier abord, cela leur semble être une recherche valide et légitime.

Lorsque je ne parle que d'architecture, la discussion coince bien plus rapidement, de deux manières possibles. D'abord sur le plan philosophique, sur l'objet de la recherche : l'observation de l'humain et l'infinie profondeur de son libre-arbitre... Puis ensuite, sur le cadre institutionnel et la nature de la discipline : « *De la recherche en architecture, qu'est-ce que cela veut dire ?* ». La récurrence des questions liées à la nature d'une

recherche en architecture me laisse penser que celle-ci est probablement moins ancrée dans nos imaginaires collectifs.

Enfin, lorsque je présente les deux à la fois, architecture et biophysique, la discussion se cristallise immédiatement sur des rapports d'analogie. « *Un humain se déplace comme une cellule tu penses ?* ». Je précise alors que l'analogie ici n'est pas dans la recherche de telle démonstrations mais qu'il s'agit avant tout d'un outil méthodologique et qu'effectivement, cela soulève de nombreuses questions épistémologiques.

Quoi qu'il en soit, c'est un jeu amusant pour moi que de présenter succinctement ma thèse de la manière la plus inédite possible. Mes interlocuteurs m'interrogent constamment sur les aspects techniques, méthodologiques, épistémologiques, philosophiques ou même institutionnels de ma thèse, avec naïveté ou minutie. Ils challengent vivement mes capacités de synthèses et de communication claire. À présent, il est temps de faire une présentation plus sérieuse et plus complète.

Résumé

Cette recherche transdisciplinaire propose une collaboration synergique entre deux disciplines : la biophysique et l'architecture. Elle porte sur l'observation des interactions entre un être vivant et l'environnement spatial dans lequel il évolue à deux échelles conjointement : celle microscopique d'une cellule épithéliale et celle macroscopique d'un être humain. Bien que la biophysique et l'architecture manient des concepts en apparence éloignés et héritent d'outils et méthodes radicalement différents, elles se révèlent confrontées à des problématiques similaires. Nous nous proposons ici d'explorer la pertinence d'une mise en perspective scientifique de protocoles de recherche analogues au sein des deux disciplines.

En plaçant les cellules et les humains dans des espaces à la géométrie contrôlée et en observant leurs mouvements, nous faisons l'hypothèse qu'il nous est possible d'identifier des phénomènes récurrents ou invariants dans leurs organisations spontanées, que ces phénomènes peuvent nous renseigner sur certaines de leurs capacités de mouvement ou de perception et enfin, qu'il est possible de qualifier spatialement les environnements en retour, c'est-à-dire en fonction des potentiels d'actions qu'ils offrent aux cellules ou aux humains. Pour chaque être-vivant, l'étude est faite à trois échelles : celle d'un corps en mouvement, dans des couloirs aux parois pliées, celle du groupe, dans des intersections de couloirs et celle du territoire, à l'aide de plans urbains. Nous étudions plusieurs séries d'environnements en faisant varier leurs largeurs, leurs longueurs, la géométrie de leurs angles ou de leurs intersections.

Concrètement, nous cultivons des cellules kératocytes que nous plaçons dans des microarchitectures fabriquées par photolithographie aux UV. Notre protocole permet de réaliser des environnements sur de grandes surfaces (mm^2) pouvant accueillir de nombreuses cellules avec une résolution spatiale élevée (μm^2). Parallèlement, à échelle humaine, nous invitons des participants à se déplacer dans des dispositifs architecturaux construits dans un espace de recherche dédié. Dans les deux cas, nous concevons les environnements à l'aide d'outils de modélisation paramétrique et, le cas échéant, nous nous appuyons sur des résultats d'expériences publiés par des tiers. Nous observons les trajectoires des cellules à l'aide de techniques de microscopie à fluorescence et les analysons avec des programmes de suivi (TrackMate, ImageJ). Nous reproduisons ensuite ce système d'acquisition et ce protocole d'analyse à l'échelle humaine avec des caméras et un équipement pour les participants.

Nos expérimentations produisent un ensemble de résultats : nous mesurons notamment un biais de direction de la migration chez les cellules kératocytes et un biais de vitesse du déplacement chez les humains dans les géométries de couloirs aux parois pliées. Également, dans les intersections de couloirs, nous identifions, au-delà de

phénomènes propres à chaque être vivant, deux types de mouvement communs, à savoir un blocage des déplacements et un phénomène de *stop-and-go*. En outre, la mise en perspective de nos protocoles de recherche se révèle utile pour l'amélioration de la fabrication de microenvironnements à grande échelle, le développement de variantes de culture cellulaire adaptées aux configurations spatiales étudiées, la production d'un dispositif architectural pour l'étude de déplacements humains et la caractérisation des spatialités en fonction des mouvements cellulaires ou humains.

Abstract

This transdisciplinary research proposes a synergistic collaboration between two disciplines: biophysics and architecture. It focuses on the observation of interactions between a living being and the spatial environment in which it evolves at two scales: the microscopic scale of an epithelial cell and the macroscopic scale of a human being. Although biophysics and architecture handle apparently distant concepts and inherit radically different tools and methods, they are confronted with similar problems. We propose here to explore the relevance of putting into scientific perspective analogous research protocols within the two disciplines.

By placing cells and humans in spaces with controlled geometry and by observing their movements, we hypothesize that it is possible to identify recurrent or invariant phenomena in their spontaneous organizations, that these phenomena can inform us about some of their capacities of movement or perception and finally, that it is possible to spatially qualify the environments in return, i.e. according to the potentials of actions that they offer to the cells or humans. For each living being, the study is made at three scales: the scale of a body in motion, in corridors with folded walls, the scale of the group, in intersections of corridors and the scale of the territory, using urban plans. We study several series of environments by varying their widths, their lengths, the geometry of their angles or their intersections.

Concretely, we cultivate keratocyte cells that we place in microenvironments built by UV photopatterning. Our protocol allows us to create environments on large surfaces (mm^2) where many cells can spread with a high spatial resolution (μm^2). In parallel, on a human scale, we invite participants to move in architectural devices built in a dedicated research space. In both cases, we design the environments using parametric modeling tools and, if necessary, we rely on experimental results published by third parties. We observe cell trajectories using fluorescence microscopy techniques and analyze them with tracking programs (TrackMate, ImageJ). We then replicate this acquisition system and analysis protocol on a human scale with cameras and equipment for participants.

Our experiments produce a set of results: in particular, we measure a direction bias in keratocyte cells migration and a movement speed bias in humans walks in corridor geometries with folded walls. Also, in corridor intersections, we identify, beyond phenomena specific to each living being, two common types of movement: a blocking of movements and a stop-and-go phenomenon. Furthermore, the perspective of our research protocols is useful for the improvement of the fabrication of large-scale microenvironments, the development of cell culture variants adapted to the studied

spatial configurations, the production of an architectural device for the study of human displacements, and the characterization of spatialities as a function of cellular or human movements.

Chapitre 1 : Contextes et approches théoriques

Plan du chapitre

1.1. Architecture et recherche	24
1.1.1. Introduction	24
1.1.2. Esquisse des propriétés de l'architecture.....	25
1.1.3. Interactions entre architecture, recherche et théorie.....	27
1.1.4. Les différentes méthodes pour la recherche architecturale	27
1.2. Architecture et mouvements	34
1.2.1. Le mouvement dans la pratique de l'architecture.....	35
1.2.2. Les sciences expérimentales pour l'architecture portant sur les mouvements d'individus ou de groupes d'individus.....	41
1.2.3. Les sciences humaines et sociales pour l'architecture portant sur la perception des ambiances et le mouvement.	46
1.2.5. Émergence d'une problématique architecturale sur le mouvement des corps dans nos environnements construits.....	51
1.3. Mouvements et environnements	52
1.3.1. Espaces et espèces.....	52
1.3.2. La plus petite unité du vivant	55
1.4. Biologie et physique	55
1.4.1 Émergence de la mécanobiologie.....	56
1.4.2. La migration des cellules.....	57
1.4.3. La géométrie de l'environnement	60
1.4.4. Émergence d'une problématique en mécanobiologie sur le mouvement des cellules au sein d'environnements spatiaux contrôlés	62

Cette thèse s'inscrit dans un double contexte entre l'architecture d'un côté et la mécanobiologie de l'autre. Il s'agit d'une recherche ouvertement transdisciplinaire. D'une part, nous étudions le mouvement de l'homme dans des environnements architecturaux et d'autre part, nous étudions la migration des cellules à l'aide d'outils et de méthodes issus de la biophysique. C'est également une recherche exploratoire. Le pont qui tente de relier ces deux contextes disciplinaires est particulièrement atypique et cache quelques surprises. Il est très probable que vous, lecteur ou lectrice de ce manuscrit ne connaissiez pas en profondeur les deux contextes à la fois.

Ayant de mon côté, passé de nombreux mois à faire des aller-retours sur ce pont, je me suis rendu compte que certains éléments, qu'ils soient relativement simples ou réellement complexes, pouvaient très rapidement devenir confus et nécessitaient d'être clarifiés dans le contexte théorique de la thèse. Par conséquent, afin de vous accompagner sur ce pont entre les disciplines, puis de vous permettre de le parcourir en confiance et en autonomie, je vous présenterai tout au long de ce chapitre chacun des deux univers et les problématiques formulées pour chacun d'eux. Ce chapitre est donc structuré en quatre temps :

Dans un premier temps, nous aborderons la relation entre l'architecture et la recherche. Nous nous pencherons donc sur quelques jalons importants témoignant de la construction contemporaine de la recherche architecturale et nous en explorerons les formats.

Dans un deuxième temps, nous adresserons plus particulièrement la question du mouvement en architecture. Nous définirons d'abord la notion de mouvement des corps et analyserons ensuite la manière dont celle-ci est traitée dans la pratique et dans la recherche en architecture. Nous en dresserons un état de l'art pluridisciplinaire qui s'appuie à la fois sur la pratique des architectes, les études en sciences humaines et sociales et les sciences expérimentales. Enfin, nous poserons les bases d'une problématique architecturale portant sur l'observation du mouvement des corps.

Dans un troisième temps, relativement court, nous prendrons un peu de recul sémantique sur la définition de notre objet de recherche architectural afin d'appréhender les possibles points de rencontre entre les deux disciplines.

Et dans un quatrième temps, nous aborderons les fondements biophysiques qui étayaient cette recherche. Nous présenterons la récente émergence de la mécanobiologie et expliciterons les objectifs de cette discipline en ce qui concerne les processus de migration des cellules et la géométrie de leurs environnements. Là aussi, nous poserons les bases d'une problématique de recherche portant sur l'observation des mouvements des cellules.

1.1. Architecture et recherche

1.1.1. Introduction

L'architecture est un terme qui définit un large éventail d'objets et d'activités, il désigne principalement la conception et la supervision de la construction de bâtiments.

Cependant, il est difficile, voire impossible, d'en donner une définition exacte et universelle. Souvent, l'architecture est présentée comme une expression de la culture :

« [L'architecture] est ce qui reste des civilisations et des sociétés et, à cet égard, elle ne peut être considérée comme la simple manifestation d'un état de la technique, d'une demande sociale sans équivoque ou d'un engouement passager pour le beau. » [1].

Elle implique que sa signification dépend d'une société donnée et d'une époque donnée. Il n'est donc pas surprenant que l'on trouve de nombreuses définitions, tant dans l'histoire de l'architecture que dans la théorie de l'architecture.

Sans doute, le but de cette recherche n'est pas de répondre à une ambition aussi large. Nous n'avons nullement l'intention de développer une définition précise de l'architecture ni historique ni actuelle. Cependant, il reste indispensable de faire un travail théorique préalable afin de nous donner une vision globale de ce contexte disciplinaire polymorphe.

C'est pourquoi, à travers cette partie, nous allons d'abord esquisser les caractéristiques de l'architecture et comprendre quelles sont ses spécificités. Ensuite, nous examinerons les interactions entre l'architecture et la recherche, y compris son contexte théorique, et nous verrons comment la recherche en architecture se positionne en tant que discipline. Enfin, nous aborderons les formats que peut prendre cette recherche.

1.1.2. Esquisse des propriétés de l'architecture

Nous avons établi une première représentation de l'architecture dans l'introduction en tant qu'activité de conception et de construction de bâtiments.

Afin de remplir ce rôle, **l'architecture est fondamentalement une discipline plurielle**. Elle relie largement les métiers et les expertises puisque ses domaines de compétence s'étendent aux techniques et à l'économie de la construction (moyens), à la conception du mobilier et à l'urbanisme (échelles), à l'histoire et aux cultures (contextes), à la sociologie et aux coutumes (usages), à l'anthropologie et aux philosophies (représentations), etc.

L'architecte est fondamentalement un expert dans le dialogue entre tous les métiers évoqués. Il définira les espaces et les éléments de construction de manière complexe, en fonction de ce grand nombre de paramètres. Il opérera une synthèse de toutes les questions inhérentes à chaque partie du projet. Sa responsabilité, face à l'aspect transversal et interdisciplinaire de son travail, est de maintenir une forme de cohérence. Pour ce faire, il utilisera deux outils méthodologiques et conceptuels : le projet et la critique.

« L'architecture définit son principe de pertinence tout d'abord autour du processus de projet. » [2].

Ici, le terme de projet va de pair avec l'idée de processus, nous pouvons le considérer comme une approche méthodologique.

« [Le projet] peut être circonscrit dans une approche itérative capable de fédérer des informations complexes et parfois même contradictoires. [...] C'est une façon de penser, pas un objet identifiable. C'est un processus, une posture, pas une expression » [1].

C'est ainsi que sont menés les travaux de toute discipline de conception, y compris l'architecture. À cet égard, lorsqu'ils tentent d'élaborer un cadre théorique et méthodologique pour la recherche architecturale en 2007, Anne Coste et Alain Findeli étendent même la notion de *discipline de projet* à toutes celles qui impliquent une activité de conception. Pour donner ce sens élargi au terme de *design*, ils s'appuient sur la définition qu'en donne Herbert Simon, c'est-à-dire celle-ci :

« Le design est l'activité de quiconque conçoit des actions ayant pour but de transformer des situations existantes en des situations préférées. [...] L'ingénierie, la médecine, le management, l'enseignement, le droit, l'architecture et la peinture sont tous concernés dans le fond par le processus de design » [3]⁸.

La discipline est basée sur des processus de conception, sur une activité de projection.

Le deuxième outil conceptuel et méthodologique de l'architecte est la critique. La production architecturale est constamment critiquée :

« La composante professionnelle de l'architecture trouve son champ d'évaluation/valorisation selon des protocoles parfaitement établis. Car personne n'ignore l'importance des concours d'architecture, des prix et des grands prix, des revues et des publications par et pour les architectes et de leur production, des critiques dans les journaux et les quotidiens, et parfois même de la médiation par la télévision » [4].

Pour l'architecture, c'est ce que l'on appellerait "*l'examen par les pairs*" dans les disciplines scientifiques. Cette discipline est basée sur une logique de critique. En d'autres termes, il y a une articulation entre l'analyse et l'interprétation d'un contexte donné d'une part, et un diagnostic accompagné d'une prescription conduisant à la modification de ce contexte d'autre part.

« Contrairement au point de vue descriptif, analytique, critique, explicatif et/ou interprétatif des différentes disciplines scientifiques, le point de vue de l'architecture est diagnostic, car il cherche à améliorer, ou du moins à préserver, l'habitabilité du monde » [3].

Il y a donc de nombreux échanges entre tout projet architectural et les énoncés politiques, historiques ou théoriques culturellement présents dans la société. L'architecture est façonnée par la critique, du premier niveau, concernant l'insertion d'un projet architectural dans un contexte donné très spécifique, au dernier et le plus large, par lequel une pensée théorique faisant autorité est construite dans un groupe d'architectes.

⁸ Alain Findeli et Anne Coste se réfèrent à cette définition du mot *design*, qu'ils traduisent en français ainsi dans leur travail à partir de l'ouvrage en anglais d'Herbert Simon : H. Simon, "The Sciences of The Artificial," Cambridge, MIT Press, 3ème édition, 1999 (1969).

1.1.3. Interactions entre architecture, recherche et théorie

Nous pouvons aisément concevoir le fait que les racines de la recherche architecturale se retrouvent dans de nombreux travaux passés, tant dans les constructions physiques que théoriques et ce, à travers toutes les époques.

La théorie et l'histoire de l'architecture sont des formes de connaissances très riches et diverses. À tel point qu'il nous semble présentement plus pertinent de revenir sur la structuration de l'enseignement et de la recherche universitaires au cours des dernières décennies pour comprendre la construction contemporaine de la recherche architecturale en général. L'histoire de l'enseignement de l'architecture présentée ici est spécifique à la situation en France. Cette présentation révèle à la fois le contexte spécifique de la présente thèse et la structuration complexe de la recherche dans le domaine de l'architecture.

Quelques années auparavant, l'enseignement de l'architecture dépendait de l'académie des beaux-arts. Après les événements politiques et sociaux survenus en France en 1968, l'architecture a quitté l'académie pour acquérir plus d'autonomie. Les unités pédagogiques d'architecture (UPA) sont mises en place pour répondre à cet objectif [5]. Cette période de bouleversement académique a donné lieu à des revendications sur l'architecture. La discipline est à la recherche d'une meilleure considération dans les sphères intellectuelles et crée des liens avec les universités, notamment avec les sciences humaines et sociales. Elle se rapproche ainsi des méthodologies et paradigmes de ces dernières. Les premiers doctorats liés à des objets de recherche que l'on pourrait considérer comme architecturaux sont hébergés dans des domaines connexes.

Dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle, les unités pédagogiques d'architecture sont devenues des écoles et de nombreuses réformes ont été menées, ayant un impact sur les études d'architecture. Le changement le plus important dans l'organisation des études et donc de la recherche se fait en 2005 afin d'uniformiser l'enseignement à l'échelle européenne. Il s'agit de l'adoption du système LMD (licence, master et doctorat). Cela permet donc la création à part entière du doctorat en architecture.

Comme nous l'avons vu, la recherche en architecture dans sa forme contemporaine est nouvelle. Elle s'enracine, d'une part, dans la richesse culturelle et théorique de la profession, dans son évaluation par les critiques et, d'autre part, dans les diverses évolutions de l'enseignement au sein d'un univers dont la reconnaissance en tant que discipline de recherche a été lente. Il est très complexe de se repérer dans cet univers car les formes que prend la recherche sont très variées, les méthodes employées également.

1.1.4. Les différentes méthodes pour la recherche architecturale

L'interdisciplinarité est une caractéristique intrinsèque de l'architecture et conditionne sa validité. C'est en adoptant ce point de vue que nous abordons le sujet des méthodes de la recherche pour l'architecture, cette dernière étant, elle aussi, intrinsèquement interdisciplinaire.

En parcourant quelques exemples de types de recherches menées en lien avec l'architecture, qu'elles soient réalisées par des chercheurs architectes ou par des chercheurs issus de disciplines connexes, nous constatons effectivement une grande diversité de travaux de recherche. Nous ne ferons pas une liste exhaustive de ces travaux ou des méthodes associées car, de nouveau, nous ne cherchons pas à faire un travail épistémologique de fond. Plus succinctement, nous constatons que **les recherches en architecture se construisent autour de trois grandes familles de stratégies méthodologiques**, que l'on peut rapprocher de cadres épistémologiques disciplinaires.

Nous présentons ces trois familles de méthode de recherche qui sont toutes conduites dans le champ de l'architecture. La première famille de recherche que nous abordons est relative à la construction historique de la discipline, proche des sciences humaines et sociales comme nous venons de le voir, particulièrement utilisée dans les études portant sur les usages, les politiques et les sensibilités liés à l'architecture. La seconde famille de recherche que nous introduirons est celle des sciences expérimentales, correspondante à une approche plus physicienne et technique, particulièrement utilisée pour l'étude des matériaux et des constructions, pour la normalisation et la réglementation de l'architecture. La troisième et dernière famille de recherche sur laquelle nous nous pencherons est celle qui associe les méthodes de la recherche aux méthodes de la conception, puisque ces processus sont parfois hybridés.

Ensuite, nous faisons le lien entre ces différentes familles en esquissant une courte critique des aspects objectifs, subjectifs et réducteurs d'une recherche. Cela nous aidera à nous positionner méthodologiquement et ainsi nous repérer dans la construction de notre propre recherche.

1.1.4.1. Les méthodes des sciences humaines et sociales

Il nous semble pertinent de questionner en premier lieu l'héritage des sciences humaines et sociales. L'architecture étant une discipline qui, de par son développement académique et scientifique, s'est construite au plus proche de celles-ci, elle s'est, par conséquent, intensivement imprégnée de leurs méthodes de recherche.

Pour dégager les principes méthodologiques d'une recherche dans les sciences humaines et sociales, nous nous appuyons sur l'ouvrage « *In situ. Situations. Interactions et récits d'enquête* » d'Éric Perera et de Yann Beldame [6]⁹. Il constitue pour nous une parfaite introduction aux notions d'*immersion*, d'*enquête* et d'*intersubjectivité*.

L'immersion

Le chercheur en sciences humaines et sociales est engagé dans une recherche de nature in-situ et est acteur de sa recherche. Il est immergé dans le terrain qu'il étudie, il ne cherche pas obstinément à se soustraire en tant qu'observateur extérieur mais

⁹ Ouvrage publié en 2016, faisant suite au congrès international « *Chercheur(se) in situ. Immersion par corps, normes et déviances* » tenu en 2014 à l'Université Paul-Valéry de Montpellier. Ce congrès a été l'occasion pour les chercheurs et chercheuses invité.es d'échanger sur leurs situations de recherche ethnographique et ainsi aborder la diversité des méthodes qu'ils utilisent.

accomplit son rôle face aux personnes étudiées. Le chercheur ne peut se permettre de faire abstraction de certains éléments de contextualisation. Il est nécessaire pour lui de savoir rendre compte du contexte global de la recherche in-situ. Il a pour mission de : « *saisir la place du recueil des données entre le terrain et l'analyse et montrer comment données de terrain, en comparaison avec les données précédemment recueillies, connaissances du milieu, rapport à soi, ressentis et distanciation réflexive se combinent pour donner naissance à l'écriture et à l'analyse sociologique* » [7]. Il se doit d'associer les éléments évoqués ici dans la structure de la connaissance qu'il élabore : distanciation réflexive, rapport à soi et connaissance du milieu. Nous identifions un premier point : **par son immersion dans le terrain d'étude, le chercheur en sciences humaines et sociales fait nécessairement intervenir sa propre subjectivité au cœur d'une recherche in situ.**

La situation d'enquête

Dans les méthodes de recherche en sciences humaines et sociales, nous appelons *enquêtes* les situations pour lesquelles se construit un dialogue entre le chercheur qui se place dans un rôle d'enquêteur et l'enquêté, lui-même faisant partie des objets de la recherche. Le dernier témoigne de son expérience subjective. De ce fait, l'enquêteur s'appuie implicitement sur une forme de connivence avec l'enquêté afin d'établir un accès à ce qui lui est intime. Il est, par conséquent, cohérent dans cette démarche que le chercheur puisse établir des stratégies afin de créer des relations de complicités entre l'enquêteur et l'enquêté. « *L'enquête doit être réciproque, faite de dons et de contre-dons d'informations et d'expériences* » [6]¹⁰. De ce rôle préétabli et nécessaire au recueil d'informations, nous identifions un deuxième point : **le chercheur, en tant qu'enquêteur, est engagé par le dialogue face à l'enquêté.** Il se retrouve une nouvelle fois en présence de sa subjectivité.

L'intersubjectivité

Une partie essentielle de la recherche étant basée sur le dialogue établi entre l'enquêteur et l'enquêté, la nature même de ce dialogue peut devenir problématique pour le recueil d'informations. En effet, l'expérience vécue est verbalisée par l'enquêté, transmise à l'enquêteur puis analysée par ce dernier. Ce sont trois étapes clés de la recherche pendant lesquelles la nature de l'information peut éventuellement se retrouver transformée. « *Toute expérience est positive, le problème [...] c'est de passer d'une expérience physique ou sensitive qui ne passe pas par la parole et de la transformer en mots, de la verbaliser* » [6]¹¹. Par exemple, une critique peut être faite à l'égard de certaines recherches dans lesquelles les chercheurs tentent maladroitement de faire entrer la parole des enquêtés dans un cadre conceptuel restreint. Cette déformation académique peut être néfaste pour la production des énoncés. C'est du moins la critique que soutient Christian Bromberger dans la préface de l'ouvrage *In Situ*. Nous identifions ici un troisième point : **il y a une intervention subjective du chercheur lorsque celui-ci communique autour de son objet d'étude et transmet son expérience.**

¹⁰ Extrait de la préface de Christian Bromberger, texte original en français.

¹¹ *Idem.*

Ces trois notions que sont l'immersion, l'enquête et la considération de l'intersubjectivité nous renseignent sur la nature des informations recueillies lors de la recherche. Nous y voyons l'impossibilité d'une objectivité impartiale et universelle de la part du chercheur. Ce dernier n'aura aucun intérêt à ignorer le caractère subjectif de l'expérience de l'enquêté, sa propre subjectivité et l'intersubjectivité du partage de cette expérience, de son recueil et de son traitement.

En conséquence, nous notons que **la recherche en sciences humaines et sociales ne fonde pas sur un principe d'exactitude mais préférera observer la récurrence de phénomènes, également, elle se construira par l'inclusion des subjectivités dans les données de la recherche.**

1.1.4.2. Les méthodes des sciences expérimentales

Le principe de la méthode expérimentale est simple : il s'agit de mettre en place un dispositif expérimental pour vérifier une hypothèse formulée à propos d'un objet de recherche. À partir de ce dispositif expérimental, un paramètre seul ou un groupe de paramètres peuvent être modulés. Ensuite, nous mesurons l'impact de ce ou ces paramètres sur l'objet de la recherche. Enfin, c'est à partir de cette modulation et de la mesure qui s'en suit que nous pouvons valider ou infirmer les hypothèses initialement formulées.

Concernant l'architecture, ce modèle épistémologique est employé dans des recherches d'ordre plutôt technique, s'adressant aux missions de la discipline quant à la mise en forme de la matière, la disponibilité des ressources ou la sécurité des usagers pour ne donner que quelques exemples. En général, ce sont des recherches portées sur les propriétés physiques de matériaux ou de configurations spatiales.

Nous pouvons citer l'exemple de l'étude expérimentale menée par Leonardo Agurto [8] et ses collègues qui ont étudié le comportement thermique d'un mur Trombe¹² à faible coût dans le contexte environnemental et économique des logements sociaux au Chili. Pour mener à bien leur expérimentation, ils ont au préalable construit un prototype de mur Trombe qu'ils ont associé à une cellule de logement correspondant aux critères normatifs des logements sociaux tels que définis par l'état du Chili. Des capteurs thermiques ont été placés au sein de la cellule et du prototype afin de mesurer les évolutions de la température puis, ces données ont été analysées afin d'évaluer le dispositif.

Les connaissances produites à partir de ces méthodes de recherche se veulent objectives et universelles car vérifiables et répétables. Nous retrouvons le même principe de récurrence de l'observation, visant cette fois-ci une forme d'exactitude. Le principe étant que la reconduction d'une même expérience permette d'obtenir les mêmes résultats sur l'objet d'étude. Lorsqu'elles sont appliquées, ces connaissances

¹² Un mur trombe est un dispositif thermique passif placé sur la façade sud d'un bâtiment. L'objectif de cette installation est d'utiliser l'énergie solaire pour améliorer les performances thermiques du bâtiment. En hiver, le rayonnement solaire chauffe une lame d'air (qui transmet cette chaleur immédiatement à l'intérieur par ventilation) et les maçonneries (qui accumulent cette chaleur de jour pour la restituer ensuite de nuit). En été, la convection générée par le dispositif aide à l'évacuation de l'air chaud et aux entrées d'air frais dans le bâtiment.

forment une base à partir de laquelle sont souvent constitués les cadres normatifs et les réglementations.

1.1.4.3. Les méthodes des disciplines de conception

L'architecture est une discipline de conception. Il est par conséquent fréquent de voir s'hybrider des activités de recherche et des activités de conception dans le champ de l'architecture. Pour nous donner un cadre théorique et ainsi cerner les spécificités, les similitudes et les divergences de ces deux activités, nous prenons appui sur l'ouvrage de Linda Groat et David Wang qui les caractérise et les compare [9].

Nous nous appuyons en particulier sur deux tableaux réalisés par les auteurs : le premier présentant les similitudes entre conception et recherche et le second présentant les divergences.

Similarité	Design	Recherche
Programmation	Processus de design systématique	Méthode <i>scientifique</i>
Logiques multiples	Abductive Inductive Dédutive	Abductive (mise en place de la recherche/formation de l'hypothèse) Inductive Dédutive
Logiques utilisées	Modèle Générateur / Conjecture Problème / Solution	Séquences logiques multiples, dépendamment des questionnements et objectifs de la recherche
Portée	Niveaux macro / moyen / micro dans un cadre appliqué / clinique.	Petite / moyenne / grande théorie
Contexte social	Pratique située	Recherche située

Figure 1. Tableau des similitudes entre *design* et *recherche*

Extrait de [9], traduction personnelle depuis l'anglais.

Nous retenons de ce premier tableau les éléments suivants : 1) Les deux activités se structurent à partir de protocoles systématiques, ce qui les rend rigoureuses. 2) On y retrouve des raisonnements logiques par induction et déduction pour établir les relations entre principes généraux et phénomènes, ainsi que des raisonnements par abduction, permettant la construction préalable d'hypothèses et une ouverture vers des éléments nouveaux. 3) Elles sont menées depuis un contexte social donné mais ont une portée à toutes les échelles possibles (l'application de la recherche, sa valeur théorique ou l'objet de la conception peuvent tout autant viser un cas particulier qu'avoir une portée universelle).

Différence	Design	Recherche
Contribution	Proposition d'artefact	Connaissance et/ou application généralisable
Processus dominant	Génératif	Analytique et systématique
Temporalité	Futur	Passé et présent
Dynamique	Problème	Question

Figure 2. Tableau des différences entre *design* et *recherche*

Extrait de [9], traduction personnelle depuis l'anglais.

Nous retenons de ce second tableau que si le processus de la recherche est analytique, celui du design est *génératif* et cette différenciation est relative à leurs objectifs réciproques. Celui de la recherche serait d'apporter des réponses à une ou plusieurs questions posées et donc de statuer sur l'état du réel, actuel ou passé, tandis que celui de la conception serait l'apport de « *stratégies visant à transformer les situations existantes en situations préférées* » [9]¹³ donc une action transformative du réel souhaitant en modifier le futur.

Malgré des finalités différentes, les analogies de fonctionnement entre les deux processus que sont la recherche et la conception permettent de les hybrider. Par exemple, l'apport de connaissances de la recherche peut rendre plus pertinente la conception et réciproquement l'action transformative de cette dernière peut ouvrir de nouvelles perspectives de recherche. Ces hybridations sont constitutives de démarches exploratoires dont l'intérêt est de créer de fortes synergies et rendent possible la production de connaissances nouvelles.

1.1.4.4. Synthèse sur les méthodes de recherche pour l'architecture

La recherche en architecture convoque fondamentalement l'interdisciplinarité et aborde une grande variété d'objets de recherche. Par conséquent, elle se construit méthodologiquement en empruntant à la fois aux champs des sciences humaines et sociales, des sciences expérimentales et en s'hybridant aux processus de conceptions. En croisant les trois approches méthodologiques, nous notons deux critiques récurrentes qui portent sur la nature même de la recherche et sur la nature des connaissances produites par la conduite de ces recherches. La première concerne la balance entre subjectivité et objectivité. La seconde concerne le cadrage de la recherche, qualifié de « réducteur ».

De la balance entre subjectivité et objectivité

Nous adhérons au paradigme selon lequel la production de connaissances répond à une quête d'objectivité. Pourtant, lors du développement d'une recherche et dépendamment des méthodes employées par les scientifiques de tout domaine, il est possible d'intégrer des éléments subjectifs susceptibles de biaiser tout ou partie de cette recherche. Nous avons vu que parmi les paradigmes qui encadrent la production de connaissances dans les sciences humaines et sociales, il est celui de l'impossibilité d'un observateur pleinement neutre et extérieur.

« Les techniques de neutralisation de la situation d'enquête, la volonté d'atteindre une réalité sociale authentique et celle d'obtenir des données de recherche pures peuvent être considérées dans cette perspective comme des illusions. » [6].

¹³ Linda Groat et David Wang citent ici la définition élargie du terme de *design* tel qu'Herbert Simon la présente dans : H. Simon, "The Sciences of The Artificial," Cambridge, MIT Press, 3ème édition, 1999 (1969). Il s'agit ici d'une traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "courses of action aimed at changing existing situations to preferred ones."

Nous avons également vu que cela n'est nullement une fatalité pour les chercheurs et chercheuses de ces domaines qui, plutôt que d'ignorer ces formes de subjectivités, préfèrent les intégrer en tant que données de la recherche. Cette stratégie leur permet de produire une forme de connaissance partageable bien qu'elle soit hautement contextualisée et spécifique.

Dans notre recherche, nous nous situons précisément à l'interface entre des formes de recherche proches des sciences humaines et sociales et des formes de recherche expérimentales. Nous avons intégré cette critique dans l'élaboration méthodologique de notre recherche. En particulier, nous avons mené des expérimentations en prenant en considération l'impact d'une consigne expérimentale sur le déplacement des corps au sein d'une architecture [p.137]. Cela nous conduit à formuler l'hypothèse selon laquelle il nous est malgré tout possible de définir des observables et par conséquent de suivre une démarche « *physicienne* » de quantification de ces observables. En ce sens, les deux approches méthodologiques peuvent coexister [p.150].

De l'aspect « réducteur » d'une recherche

Rapprochons-nous à présent de la seule définition de la recherche. D'après Groat et Wang à nouveau, la recherche serait une « *enquête systématique orientée vers la production de connaissance* » [9]¹⁴. Il s'agit d'une définition qui place donc *la production de connaissance* comme objectif de la recherche. Elle est relativement générique et nous pouvons aisément nous mettre en accord collectivement. En d'autres termes, nous évoquons plus tôt la recherche en tant que réponse à des interrogations, visant à statuer sur l'état du réel.

En revanche, elle place l'activité d'*enquête systématique* comme démarche à adopter pour la recherche. Or, ces termes-ci, bien qu'eux aussi génériques, peuvent être interprétés très différemment selon nos origines disciplinaires. Justement, l'usage de cette notion d'*enquête systématique* n'est pas anodin pour les auteurs. Ils entendent par ces mots prendre en compte la critique souvent faite aux expérimentations scientifiques leur reprochant leur aspect réductionniste, jugé très approprié pour certaines tâches mais parfois pénalisant pour d'autres.

« Au-delà du problème épistémologique se profile la diversité refoulée des sciences, notamment la question de la singularité des sciences dites expérimentales, c'est-à-dire des sciences qui peuvent isoler et manipuler leurs objets. Dans quelle mesure les sciences qui n'ont pas cette liberté peuvent-elles fonder leurs prétentions sur le même modèle ? [10] »

Cependant, toute forme de réduction est caractéristique de la recherche puisqu'il est nécessaire de cadrer l'objet de la recherche dans un contexte donné et de faire certains choix méthodologiques en conséquence. « *Pour que la recherche soit de la recherche, elle implique nécessairement de réduire l'expérience vécue ou les phénomènes observés à des morceaux d'information qui sont notés et traités d'une manière ou d'une autre* »

¹⁴ Traduction personnelle depuis l'anglais. Cette définition qu'utilisent Linda Groat et David Wang est empruntée à James C. Snyder dans son ouvrage "*Architectural Research*" paru en 1984. Texte original : "*systematic inquiry directed toward the creation of knowledge.*"

[9]¹⁵. Pour les auteurs, l'affirmation que la réduction est en quelque sorte le propre de la recherche leur permet de mettre sur un pied d'égalité plusieurs méthodologie de la recherche. Ils citent trois exemples : une expérimentation de laboratoire, une étude qualitative d'un paramètre et une narration historique.

Dans l'élaboration de notre propre démarche *d'enquête systématique* nous faisons le choix méthodologique de nous rapprocher d'une situation d'expérimentation en laboratoire. Ce choix est motivé par le caractère exploratoire et transdisciplinaire de notre recherche, construite dans le dialogue entre l'architecture et la mécanobiologie et se focalisant sur la construction d'un objet d'étude commun [p.51].

En effet, pour les deux êtres-vivants, cellules et humains, nous avons mis en place des situations expérimentales que l'on peut qualifier d'*in-vitro* car réalisées dans des conditions spatiales contrôlées [p.72]. Comme évoqué, cette démarche n'est qu'une modalité possible d'une *enquête systématique*. Elle permet néanmoins de produire des résultats valides à partir de phénomène récurrents observés et identifiés [p.133-144]. En conclusion finale, nous faisons un retour critique et discutons ouvertement des perspectives possibles à notre recherche (complémentarité méthodologique, intégration d'éléments plus complexes, ...) [p.151].

1.2. Architecture et mouvements

Architecture

Pour rappel, lorsque les architectes conçoivent et construisent des objets architecturaux à destination des hommes, ils opèrent une transformation du monde, symbolique ou matérielle, dont le but est *a priori* d'apporter une amélioration du cadre de vie, de subvenir à un besoin humain comme par exemple le fait d'apporter habitabilité, confort, sécurité ou tout type de ressources. En d'autres termes, pour correspondre à l'aspect *génératif* évoqué plus tôt, ils projettent une situation privilégiée à partir d'une situation donnée.

Néanmoins, pour chacune de ces architectures projetées et produites, il reste très difficile d'évaluer toutes leurs qualités et en particulier d'évaluer ce qu'elles proposent comme expérience et comme vécu à leurs usagers. Il s'agit d'un questionnement très vaste, très ouvert, sur lequel beaucoup de recherches dans le champ de l'architecture sont menées, dont la nôtre.

Mouvements

Du point de vue de la physique, le terme de *mouvement* décrit le déplacement d'une entité (substance ou objet matériel) par rapport à un référentiel : il sera absolu s'il se fait par rapport à un point fixe de l'espace, il sera relatif s'il se fait par rapport à des repères eux-mêmes mouvants. Cette définition décrit de fait une infinité de phénomènes ayant cours en permanence et à toutes les échelles du réel.

¹⁵ Extrait p.8, traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "*For research to be research, it necessarily involves reducing lived experience or observed phenomena to chunks of information that are noted and categorized in some way.*"

Rapportés à l'humain, nous pouvons dire que nos mouvements influencent fondamentalement l'expérience que nous faisons du monde. C'est à travers ceux-ci que nous percevons, nous explorons, nous parcourons, nous habitons le monde, perpétuellement, à chaque seconde de nos vies.

Rapportés à l'architecture, nous pouvons cadrer la définition du mouvement un peu plus précisément. Il s'agit alors de décrire l'ensemble des déplacements, des animations, des gestes, en somme toute l'activité humaine qui se déroule dans un référentiel spatial que nous avons conçu et construit architecturalement.

Nous retenons de ces éléments de définition que le mouvement occupe une place prépondérante dans l'expérience que nous faisons du monde. En conséquence, l'étude de ce dernier, à l'échelle de l'architecture, vue comme une interface entre soi et le monde, et à l'échelle du corps, celui des humains qui habitent, occupe également une place prépondérante dans la recherche architecturale. Ces mouvements apparaissent dès lors comme un point d'entrée privilégié pour l'évaluation de l'expérience en architecture.

Architecture et mouvements

L'objet de cette partie est de faire un état de l'art pluridisciplinaire de la recherche architecturale portant sur la notion de corps en mouvement, en se penchant sur les trois approches méthodologiques explicités plus tôt [p.27].

Premièrement, nous étudions l'approche d'architectes praticiens qui font du mouvement une notion opérante centrale à partir de laquelle penser le projet architectural et lui donner forme. Pour ces architectes, il s'agit d'accompagner, d'orienter, d'influencer le mouvement de l'utilisateur à travers les volumes et les espaces.

Deuxièmement, nous étudions des exemples de recherche menées dans les sciences expérimentales qui décrivent et modélisent les mouvements d'individus ou de groupes d'humains dans des configurations spatiales dont la géométrie est contrôlée.

Troisièmement, nous analysons des exemples de recherche dans les sciences humaines et sociales, qui utilisent le mouvement comme un outil pour accéder au sensible, pour appréhender les ambiances architecturales et urbaines et le vécu des usagers de l'espace.

Enfin, nous prendrons appui sur l'ensemble de ces éléments pour faire émerger une problématique architecturale autour de la notion de corps en mouvement.

1.2.1. Le mouvement dans la pratique de l'architecture

Les architectes praticiens prennent nécessairement en considération les mouvements des usagers au sein des bâtiments qu'ils conçoivent. Ils configurent leurs architectures en vue d'offrir des espaces fonctionnels, emblématiques ou confortables. En quelques sortes, ils adaptent les morphologies construites aux mouvements de la vie des humains qui les habitent. Pour certaines figures emblématiques de l'architecture, reconnues pour leurs productions théoriques ou construites, le mouvement est même, en tant que concept opérant, placé au cœur de leur démarche.

Nous présentons dans cette partie trois exemples de production, théoriques ou pratiques, empruntées à l'histoire de l'architecture et à son actualité. Il s'agit de la production d'architectes, appartenant à des époques différentes au cours des XX^{ème} et XXI^{ème} siècles et donc traditionnellement rattachées à trois mouvements (au sens culturel) différents. Le point commun entre ces productions est leur construction explicite autour de la notion de mouvement, seul aspect de leurs œuvres respectives très succinctement analysé ci-après. Nous présentons donc : Le Corbusier et la *promenade architecturale*, jalons historique indétrônable du mouvement moderne, Bernard Tschumi et ses *Manhattan Transcripts*, témoignant de la part sociologique de l'architecture des villes dans les années 1970-80 et enfin, Zaha Hadid et l'*architecture fluide*, rendue accessible grâce aux outils numériques contemporains pour la conception et la production de l'architecture.

1.2.1.1. Le Corbusier et la promenade architecturale

Le Corbusier est un architecte suisse et français très emblématique du mouvement moderne, ayant un impact majeur dans l'architecture du XX^{ème} siècle, tant par sa pratique que dans son corpus théorique. Parmi les éléments de son œuvre prolifique, nous retenons en particulier la théorisation de la *promenade architecturale* et sa concrétisation dans le projet de la Villa Savoye (1929-1931).

La *promenade architecturale* est un outil conceptuel qui permet de penser l'architecture en fonction de la déambulation des corps dans l'espace, une pensée qui inscrit l'expérience architecturale dans l'espace mais également dans le temps. Lorsque nous nous déplaçons au sein d'une architecture, les surfaces et les volumes que nous percevons bougent les uns par rapports aux autres. Cela produit des perceptions différentes sur les espaces environnants. Sur le plan visuel, nous percevons des successions de volumes, des effets de profondeurs, des percées, des cadrages multiples.

Ces principes sont mis en exergue dans la Villa Savoye, un projet d'habitation particulièrement représentatif de la *promenade architecturale* :

« Dans la villa Savoye (1931), la découverte architecturale est basée sur la promenade, sur une déambulation qui met en jeu les sens de la proprioception, les muscles, mais dans l'objectif principal de mettre en scène l'environnement à la manière d'un kaléidoscope. Il propose des dispositifs spatiaux épurés, des machines visuelles qui magnifient, par des successions de cadrages et de recadrages, le regard vers l'extérieur en le détachant en chemin de la réalité concrète de l'environnement. » [11]

Ainsi, lorsqu'il réalise la Villa Savoye, Le Corbusier prend en considération les mouvements des habitants de la maison. Il prolonge même ce principe en intégrant une autre cinématique de mouvement liée aux usages de la villa, liée aux mouvements des habitants, celle de l'automobile :

« On va donc à la porte de la maison en auto, et c'est l'arc de courbure minimum d'une auto qui fournit la dimension même de la maison. L'auto s'engage sous les pilotis, tourne autour des services communs, arrive au milieu,

à la porte du vestibule, entre dans le garage ou poursuit sa route pour le retour : telle est la donnée fondamentale. »

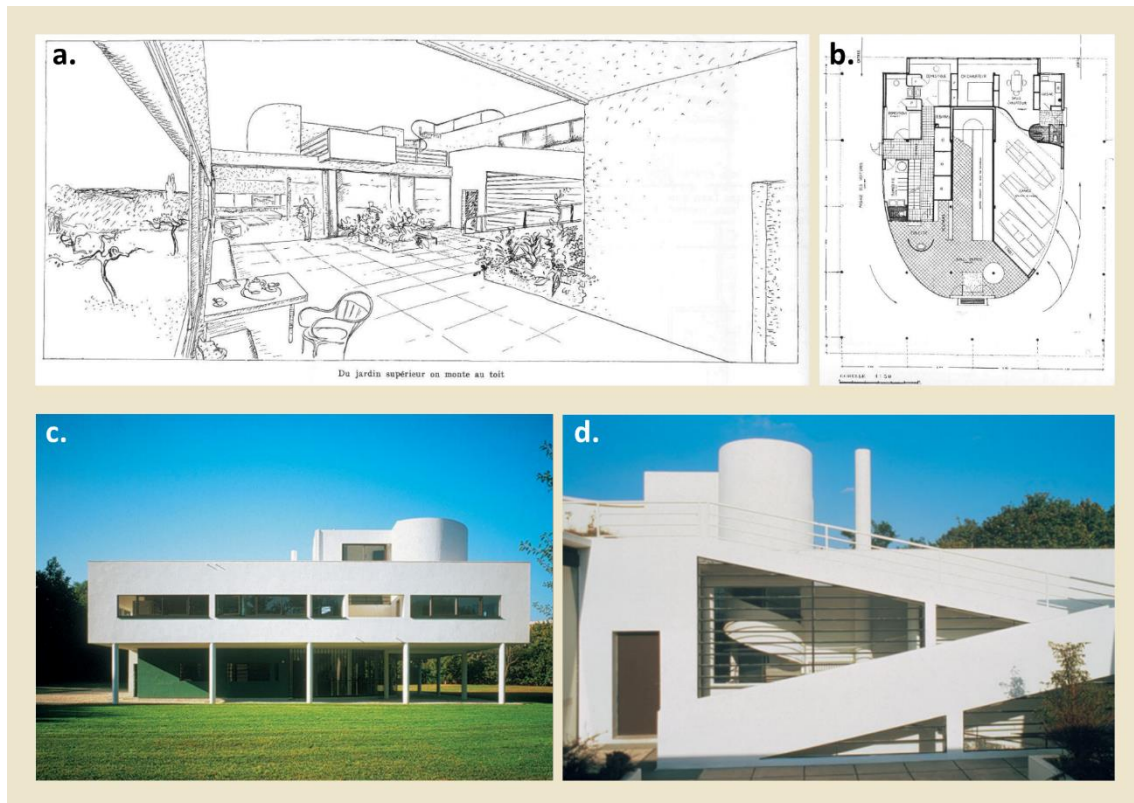


Figure 3. La Villa Savoye conçue par Le Corbusier

a.) Croquis du jardin supérieur avec accès au toit. b.) Plan du RDC avec circulation des autos. c.) Photographie de la façade Nord-Est. d.) Photographie de la rampe d'accès au solarium. a.) et b.) sont extraits de [12]. c.) et d.) sont extraites de [13].

Pour résumer, d'après Le Corbusier, le mouvement des corps est **un outil pour apprécier l'architecture**. Ce mouvement est celui de l'observateur qui, au cours de sa *promenade architecturale*, sera amené à percevoir, principalement de manière visuelle, différentes perspectives sur les composantes de l'architecture : ses volumes, ses surfaces, ses couleurs. Le Corbusier prend appui sur ce phénomène de déplacement des corps pour en tirer des principes esthétiques et spatiaux qui sont abordés lors de la conception architecturale.

1.2.1.2. Bernard Tschumi et les *Manhattan Transcripts*

Bernard Tschumi est un architecte praticien et théoricien. Il est notamment connu pour ses écrits et autres réalisations théoriques comme par exemple les *Manhattan Transcripts* (1976-1981). Tschumi décrit ces derniers comme étant des retranscription d'une réalité architecturale. C'est pour lui un moyen d'introduire l'expérience dans le dessin et dans la pratique de l'architecture. « *Le sens explicite des "Transcripts" était de transcrire les choses normalement radiées de la représentation architecturale classique, à savoir la relation complexe entre les espaces et leur utilisation, entre le plateau et le script, entre le "type" et le "programme", entre les objets et les événements.* » [14] Il met donc au point un système de notation, de représentation de l'architecture, construit autour des concepts d'évènement, de mouvement et d'espace.

« *Prolongement des codes conventionnels du dessin ou de la chorégraphie, cette notation tente d'éliminer le sens préconçu donné à des actions particulières afin de se concentrer sur leurs effets spatiaux : le mouvement des corps dans l'espace.* » [15]¹⁶

Puis il construit les *Manhattan Transcripts* comme des séries d'images articulant trois vignettes, une pour chacun des concepts évoqués. *L'évènement* se traduit généralement par une photographie. *L'espace* est un assemblage de volumes à partir d'interprétations de plans, de cartographies ou encore de photographies. *Le mouvement* est en quelques sortes une abstraction à partir de chorégraphies ou d'autres schémas de mouvements : « *Plutôt que d'indiquer simplement des flèches directionnelles sur une surface neutre, la logique de la notation du mouvement suggère finalement de véritables espaces de couloirs, comme si le danseur avait "taillé l'espace dans une substance déformable" ; ou à l'inverse, en façonnant des volumes continus, comme si un mouvement entier avait été littéralement solidifié, "gelé" en un vecteur permanent et massif.* » [15]¹⁷

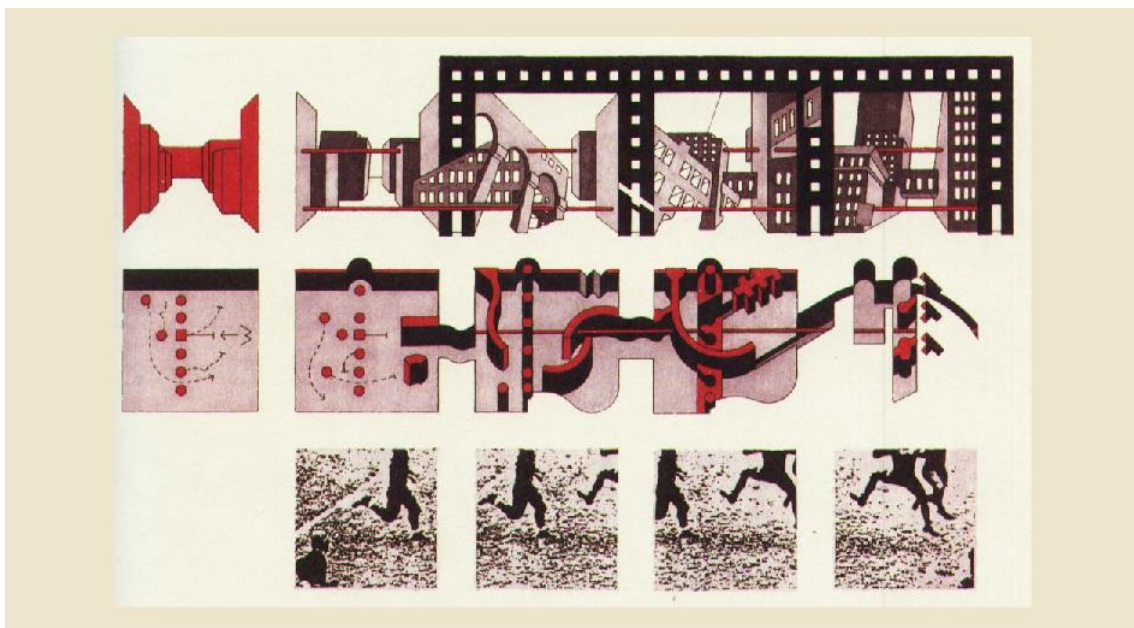


Figure 4. Un *Manhattan Transcript* de Bernard Tschumi.

La première ligne représente l'espace, la deuxième ligne représente le mouvement et la troisième ligne représente l'évènement. Extrait de [15].

Pour résumer, d'après Bernard Tschumi, le mouvement des corps est **un activateur d'espace** et de ce fait un générateur d'architecture. C'est lui qui traduit l'expérience de l'espace faite par ses usagers en une représentation architecturale. Du point de vue de la conception, ce sont donc ces représentations (schémas et chorégraphies) des

¹⁶ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "An extension of the drawn conventions or choreography, this notation attempts to eliminate the preconceived meaning given to particular actions in order to concentrate on their spatial effects : the movement of bodies in space."

¹⁷ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "Rather than merely indicating directional arrows on a neutral surface, the logic of movement notation ultimately suggests real corridors of space, as if the dancer has been 'carving space out of a pliable substance' ; or the reverse, shaping continuous volumes, as if a whole movement has been literally solidified, 'frozen' into a permanent and massive vector."

mouvements qui prennent corps graphiquement et en volumétrie, pour former l'architecture.

1.2.1.3. Zaha Hadid et l'architecture fluide

L'architecte Zaha Hadid est entre autre reconnue pour la géométrie originale de ses bâtiments. Nous pouvons retenir de son œuvre, un travail porté sur la courbe, sur la fluidité de l'architecture. Le mouvement est partie prenante de ses réalisations. Il est un point fondamental dans l'articulation des espaces et donc dans la matérialisation de l'architecture.

Par exemple, les projets du musée MAXXI à Rome en Italie et du bâtiment central de BMW à Leipzig en Allemagne illustrent pleinement ce fonctionnement. Ces projets ont un langage architectural construit à partir de la notion de *flux* : « *Chacun de ces projets se penche sur l'organisation d'un certain nombre de trajectoires à différents niveaux, sur la complexité résultant du croisement et de l'intersection de ces trajectoires, et sur l'expérience spatiale de leur traversée.* » [16]¹⁸ Dans le cas du projet MAXXI, qui est un musée d'art contemporain, c'est le mouvement des visiteurs qui est mis en scène, celui de leurs possibles trajectoires à travers des successions de volumes, dans les expositions. Dans le cas du projet pour BMW, qui associe bureaux et usine, c'est le mouvement des employés et autres usagers des bâtiments qui est articulé à celui des automobiles.

Conceptuellement, son travail n'est pas pensé comme étant l'assemblage d'entités finies et closes, mais plutôt comme la matérialisation d'un champ physique, à l'image d'un champ électromagnétique par exemple. « *On pourrait appeler le projet BMW un projet de champ (field). Plutôt que de travailler avec une série d'espaces segmentés, fermés, statiques, nous nous sommes appliqués à créer un espace de mouvement continu et fluide.* » [16]¹⁹

Pour caractériser cette fluidité des formes, inspirée de géométries naturelles telles que les mouvements de l'eau ou la formation des dunes de sable, nous utilisons en anglais le terme de *seamlessness*, signifiant *sans couture*. C'est un mot qui décrit bien la continuité géométrique entre les espaces, sans raccord, sans rupture et donc les continuités de mouvement dont les usagers peuvent faire l'expérience : que ce soit visuellement, en suivant les formes, leurs lignes de forces ou physiquement en parcourant les surfaces courbes, les déformations locales du champ.

¹⁸ Extrait p.20, traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : *"Each of these projects deals with the organization of a number of trajectories over different levels, with the complexity that arises from these trajectories crossing and intersecting, and with the spatial experience of moving through them."*

¹⁹ Extrait p.20, traduction personnelle depuis l'anglais, texte original : *"One might call BMW a field project. Rather than work with a series of segmented, enclosed, and static spaces, we endeavored to provide a continuous, fluid space of movement."*

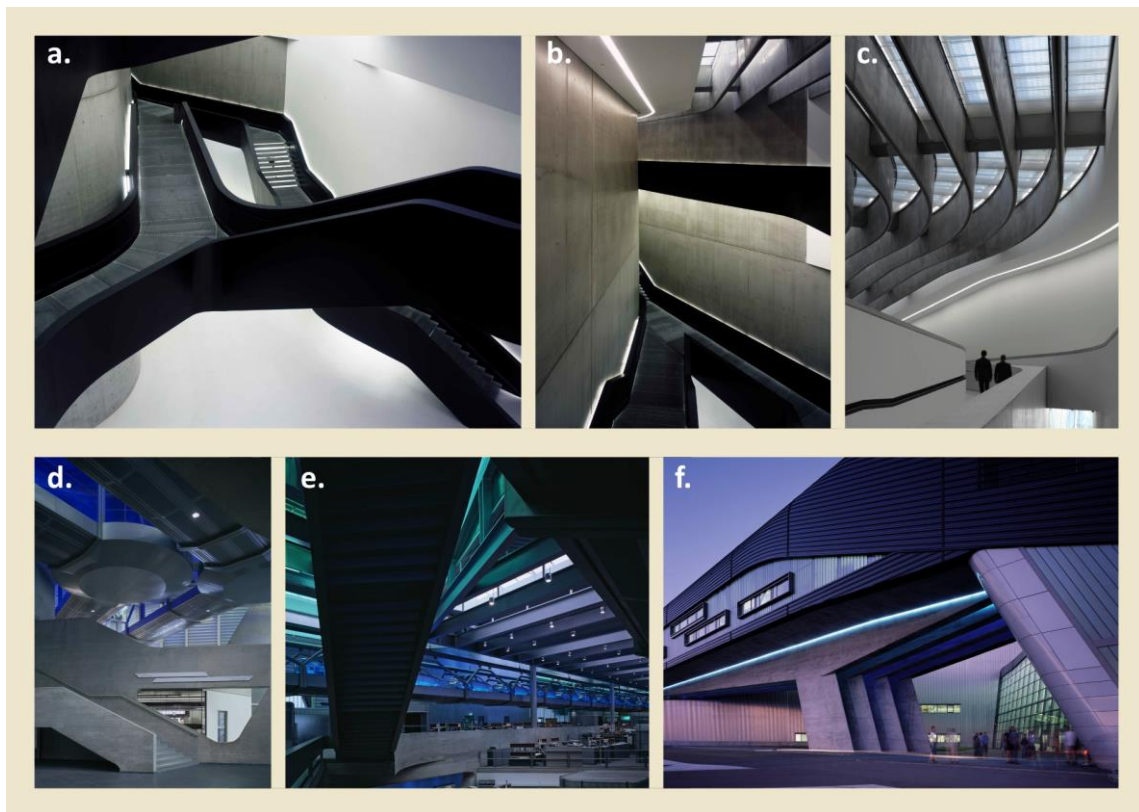


Figure 5. Deux réalisations architecturales de Zaha Hadid.

a.) b.) et c.) le musée MAXXI à Rome (1998-2009). **d.) e.) et f.)** le BMW Central Building à Leipzig en Allemagne (2001-2005). Photographies extraites de [17] **c.) et d.)** © Roland Halbe **a.) b.) e.) et f.)** © Hélène Binet.

Pour résumer, d'après Zaha Hadid, le mouvement des corps est **une prescription formelle et spatiale**. Son vocabulaire fluide et continu inspire l'architecture dans ses principes de composition. En effet, cette dernière se construit au travers d'une continuité formelle (à l'inverse de l'assemblage d'éléments distincts) qui vise l'immersion des usagers, leur propose des perspectives sans cesse changeantes, les conduit dans leurs déplacements et finalement met en scène ce mouvement.

1.2.1.4. Le mouvement des corps dans la conception architecturale

En conclusion, les trois approches traitent le mouvement de différentes manières. Nous voyons que chez Le Corbusier, il s'agit avant tout d'un argument visuel, séquentiel. Le mouvement conditionne une succession de perspectives auxquelles l'architecture s'adapte de par sa composition géométrique. Cependant ce mouvement aborde peu les autres formes de sensorialité. Nous voyons que Bernard Tschumi traite plus profondément la question du mouvement, en lui donnant le rôle de générateur d'architecture. Cependant ce mouvement est singulier. Il résulte d'une composition, d'un imaginaire projeté. Il n'y est pas question d'observation récurrente. Nous voyons que chez Zaha Hadid, le mouvement se traduit presque *littéralement* dans la conception formelle. Le mouvement des corps est accompagné par la forme architecturale.

Contrairement à Le Corbusier, ce n'est pas le mouvement qui met en scène l'architecture mais l'inverse.

Malgré tout, les trois approches ont en commun le fait de penser l'architecture dans son lien fort avec le mouvement des corps, en priorisant cet aspect. Dans les trois cas décrits, c'est la notion de mouvement des corps qui génère une compréhension de l'architecture : Celle-ci est perçue dans le temps à travers différents points de vue, elle apparaît comme un évènement dans la vie des usagers, elle accompagne les corps de ceux-ci, modèle leur perception de l'espace. En conséquence, c'est ce mouvement qui transforme, qui conditionne fortement la conception architecturale, qui en devient un principe génératif.

Au travers de ces exemples, **nous voyons émerger un véritable besoin de la profession de cerner les enjeux et l'impact du mouvement des corps sur l'architecture et de s'appuyer sur lui pour en informer la conception.** Pour autant, nous questionnons ouvertement les résultats obtenus par les architectes. Au-delà des formulations théoriques et de l'application de ces principes architecturaux dans des constructions matérielles, **comment ces architectures sont-elles reçues par leurs usagers ? Les objectifs annoncés sont-ils atteints ? Plus pragmatiquement, nous est-il possible d'évaluer cela ?** La recherche en architecture, à laquelle nous contribuons par notre travail de thèse, aborde ces questions en s'appuyant sur les sciences expérimentales et les sciences humaines et sociales notamment. Nous explorons ces pistes de recherche dans les paragraphes ci-après.

1.2.2. Les sciences expérimentales pour l'architecture portant sur les mouvements d'individus ou de groupes d'individus

Dans les sciences expérimentales, la question du mouvement lié à des objets architecturaux est très fortement abordée dans le champ de recherche portant sur les mouvements d'individus, de groupes voire de foules.

Ces études sont régulièrement menées avec pour objectif de prédire les mouvements de foules, d'optimiser les évacuations d'urgence en planifiant des stratégies adaptées et donc d'évaluer les configurations matérielles architecturales ou urbaine sur cet aspect. Également, ces études améliorent les capacités de l'industrie du cinéma à créer des effets visuels de mouvements de foule de qualité.

Ce domaine de recherche est très actif et fertile. Nous nous concentrerons ici sur trois exemples que nous avons sélectionnés afin qu'ils correspondent à trois échelles différentes. Le premier exemple est celui du mouvement d'un individu dans un espace restreint en interaction avec un autre individu. Le second exemple est celui d'un groupe de personne ayant pour objectif d'évacuer une pièce et le troisième exemple est celui du comportement à échelle macroscopique d'une foule orientée (polarisée).

1.2.2.1. *Mouvements d'un individu dans un espace restreint en interaction avec un autre individu*

Le chercheur Mehdi Moussaïd et ses collègues ont mené une recherche expérimentale afin d'observer la modification du comportement d'un marcheur due à son interaction avec d'autres marcheurs [18]. Pour ce faire, ils ont préparé trois situations expérimentales dans lesquelles un individu, portant un dispositif léger pour le suivi des trajectoires se déplace à travers un couloir, équipé de caméras. L'intérêt de ce dispositif réside dans le fait de pouvoir observer facilement les déplacements et de les décrire statistiquement dans un cadre expérimental très contrôlé. Les marcheurs sont étudiés dans trois situations. Pour la première situation, le marcheur est seul dans le couloir qu'il traverse. Pour la deuxième situation, celui-ci traverse le couloir en présence d'une autre personne, immobile. Pour la troisième situation, deux marcheurs traversent le couloir dans les deux directions opposées. À partir des résultats obtenus par cette recherche, les scientifiques ont pour objectif d'établir un lien entre les interactions locales entre individus et des comportements collectifs qui émergent à grande échelle.

Dans la troisième configuration, ils mesurent la formation de deux lignes avec une asymétrie gauche-droite prononcée. À partir de leurs observations, ils construisent un modèle et l'utilisation de celui-ci dans des simulations avec un plus grand nombre de piétons montrent également le phénomène de formation de lignes asymétriques de par la superposition de l'ensemble des interactions binaires (c'est-à-dire entre deux piétons).

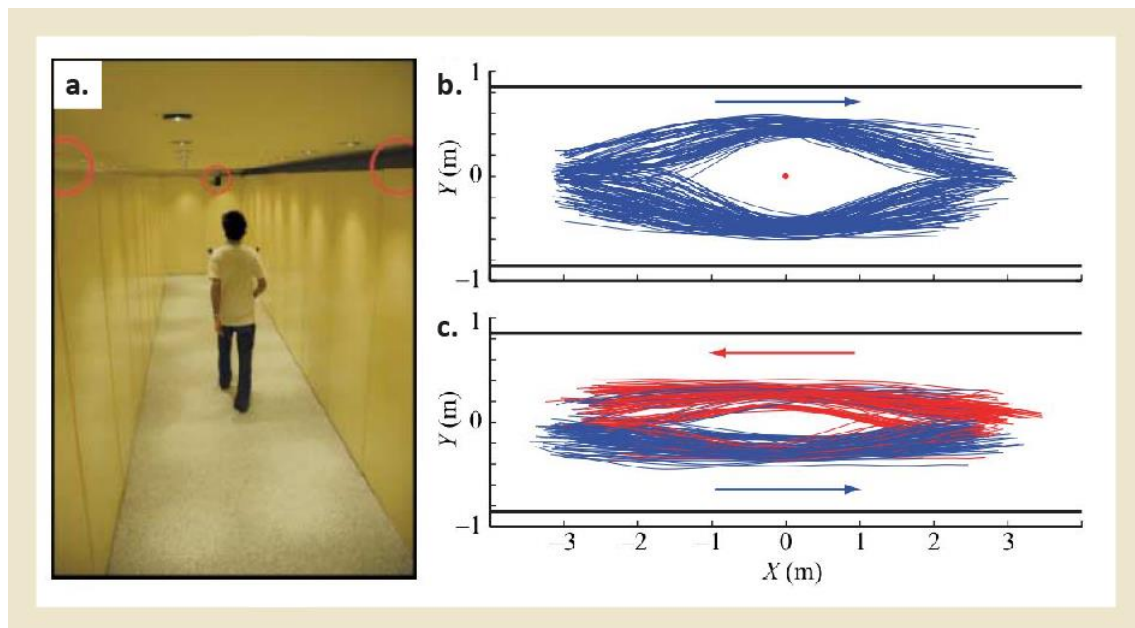


Figure 6. Mouvements d'un individu dans un espace restreint en interaction avec un autre individu.

a.) Aperçu de la mise en place expérimentale avec la position des caméras (cercles rouges). **b.)** Trajectoires observées dans la seconde configuration (N=148) et **c.)** dans la troisième configuration (N=123). Les déplacements des marcheurs de la gauche vers la droite sur le schéma sont représentés en bleu tandis que les déplacements dans la direction opposée sont représentés en rouge. Emprunté à [18].

1.2.2.2. Mouvements d'un groupe de personne évacuant une pièce

Le chercheur Ángel Garcimartín et ses collègues ont analysé le comportement d'un groupe de personne lors de l'évacuation d'une pièce [19]. Pour leur expérimentation, près d'une centaine de participants sont équipés d'un dispositif et placés à l'intérieur de la pièce puis l'évacuent en suivant différentes instructions tandis que les chercheurs opèrent un suivi des trajectoires grâce à une caméra et une mesure de la pression au niveau du passage de porte. Ces derniers mesurent ainsi l'évolution dans le temps de la densité, de la vélocité et de la *pression des piétons* par analogie avec une mesure physique propre à la description des matériaux granuleux. Cette *pression des piétons*, qu'ils nomment également *stress cinétique*, est obtenue dans la construction expérimentale de leur étude, par la *compétitivité* des participants, c'est-à-dire en fonction de la manière dont les participants sont autorisés à entrer en contact ou à se bousculer les uns avec les autres. Les chercheurs comparent ainsi trois situations : la première dans laquelle les participants n'entrent pas en contact de manière intentionnelle, la seconde dans laquelle le contact physique est autorisé et la dernière dans laquelle il est possible de pousser modérément les autres participants. Enfin, les chercheurs démontrent ainsi que la compétitivité affecte fortement la vélocité et la densité des participants lorsqu'ils tentent d'évacuer rapidement une pièce.

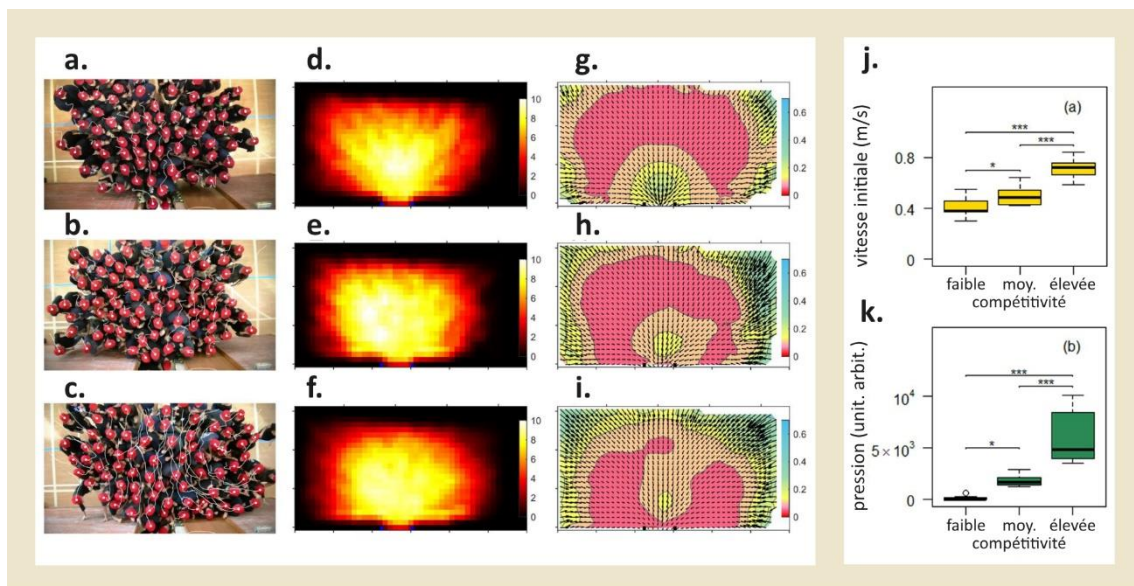


Figure 7. Mouvements d'un groupe de personne évacuant une pièce

a.), b.) et c.) Captures d'image d'un groupe de personne évacuant la pièce dans trois niveaux de *compétitivité* différents. Les panneaux supérieur (a.), au milieu (b.) et inférieur (c.) correspondent respectivement à une compétitivité faible, moyenne et élevée. Il en va de même pour les deux autres colonnes. **d.), e.) et f.)** Densités moyennes obtenues dans le laps de temps allant de N=10 à N=50 (N étant le nombre de personnes ayant évacué la pièce). L'échelle de couleur indique la densité locale en personne/m². **g.), h.) et i.)** Champs de vitesse moyenne obtenus de N=10 à N=50 pour tous les exercices d'évacuation dans une condition de compétitivité donnée. Les flèches représentent les vitesses moyennes obtenues et la carte de couleur représente le module moyen de la vitesse dont la valeur est indiquée dans la barre latérale. **j.)** Vitesses initiales du groupe utilisée comme approximation de la vitesse souhaitée. **k.)** Pression sur le montant des portes. Adapté et traduit à partir de [19].

1.2.2.3. Comportement à échelle macroscopique d'une foule orientée

Les chercheurs Nicolas Bain et Denis Bartolo ont analysé le comportement de grandes foules et ont caractérisé ces dernières en les comparant à des objets hydrodynamiques. Le type de foule sur lequel ils se sont penché est celui d'un départ de Marathon. Il s'agit donc d'une foule polarisée puisque la trajectoire de tous les participants se fait dans la même direction. Ils ont analysé la foule dans son ensemble, en ignorant toute interaction à échelle individuelle et ont donc mesuré la densité locale et le champ de vélocité de cette foule. Ils ont ainsi observé la présence de vagues de propagation dans le comportement des coureurs : « *nous démontrons que l'information se propage à l'échelle du système sous forme d'ondes hybrides combinant des fluctuations de densité et de vitesse dans cette foule polarisée.* » [20]²⁰. En outre, ils attirent notre attention sur l'intérêt expérimental d'une observation à l'échelle macroscopique : « *Nous nous appuyons sur les lois de conservation et les principes de symétrie pour construire une théorie prédictive des flux de piétons sans avoir recours à aucune hypothèse comportementale.* » [20]²¹

²⁰ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : “*we demonstrate that information propagates over system-spanning scales in the form of hybrid waves combining density and speed fluctuations in this polarized crowd.*”

²¹ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : “*we build on conservation laws and symmetry principles to construct a predictive theory of pedestrian flows without resorting to any behavioral assumption.*”

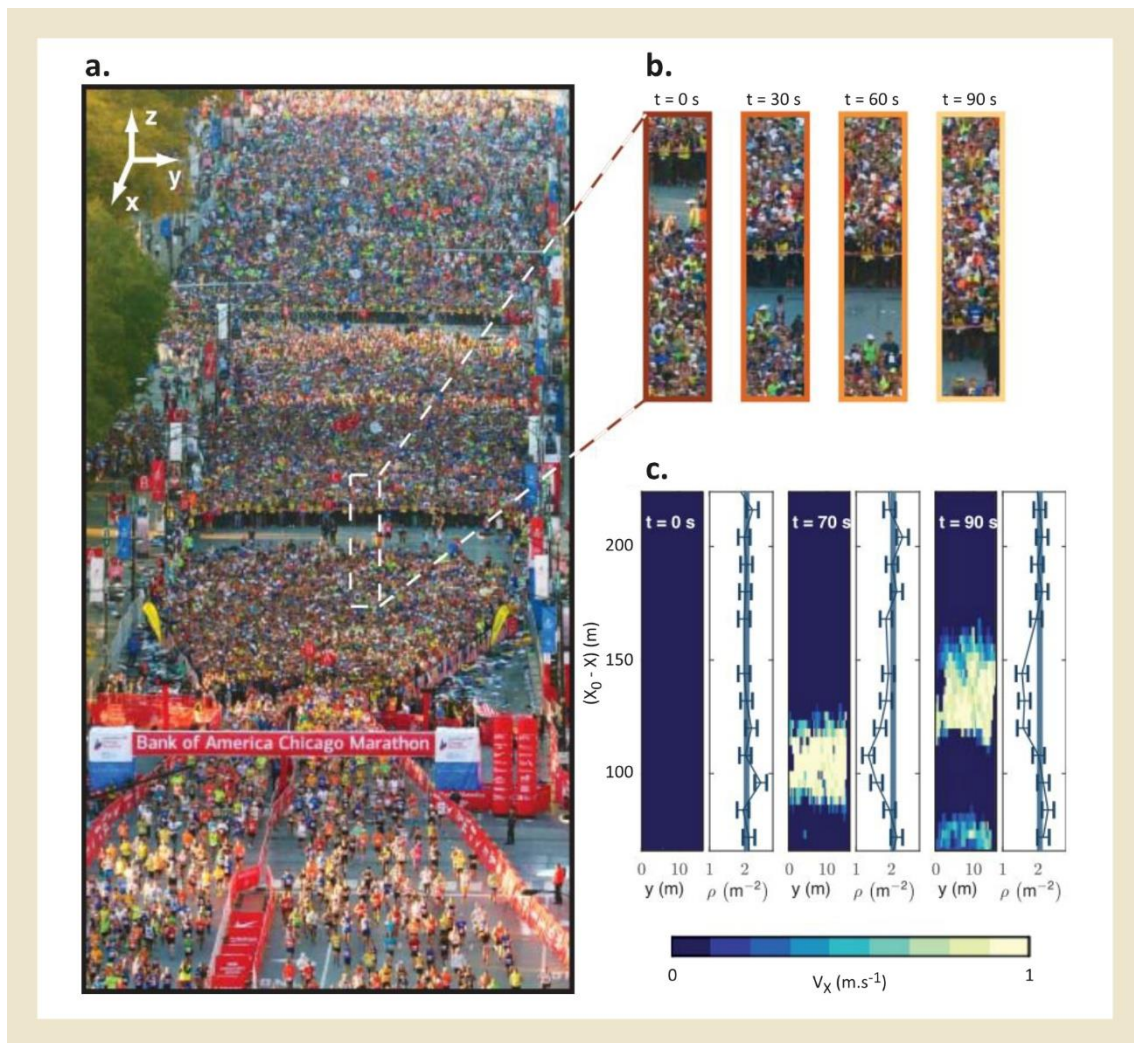


Figure 8. Comportement à échelle macroscopique d'une foule orientée.

Propagation d'ondes hybrides dans des foules en file d'attente. a.) Photographie du couloir de départ du *Bank of America Chicago Marathon* (2017) prise depuis un point d'observation surélevé. Des milliers de coureurs progressent vers la ligne de départ sous la direction des organisateurs de la course. *b.)* La chaîne formée par les organisateurs avance par successions de marches et d'arrêts. *c.)* Champs de vitesse et de densité à trois instants successifs. À $t = 0$ s, la foule est statique et a une densité uniforme. À $t > 0$, lorsque les organisateurs déplacent la limite aval de la foule, un ensemble d'ondes hybrides couplant fluctuations de vitesse et de densité se propage en amont. $X_0 - X$ indique la distance par rapport à la ligne de départ, située à X_0 . Adapté et traduit à partir de [20].

1.2.2.4. Le mouvement des corps dans les sciences expérimentales

Nous voyons avec ces exemples que les chercheurs dans les sciences expérimentales s'adressent aux différentes échelles micro-, meso- et macroscopiques afin de caractériser les mouvements des usagers de l'espace. Ils se réfèrent à un ensemble d'observations extérieures et à un ou plusieurs modèles qu'ils formulent, développent ou adaptent. **L'objectif est de décrire et prédire les différents phénomènes de mouvements.** Nous voyons dans ces trois exemples que les chercheurs opèrent des analogies entre modèles issus d'autres disciplines ou d'autres objets de recherche afin

de comparer les données mesurées et caractériser les comportements observés. Dans le second cas il s'agit d'une analogie avec les propriétés de matériaux granulaires et dans le troisième cas, avec des propriétés hydrodynamiques.

La question de l'existence ou non de lien entre les phénomènes d'interaction à échelle de deux individus et les phénomènes d'émergence de mouvements collectifs à l'échelle des foules reste une question scientifique ouverte et actuelle. Pour autant, certains questionnements restent d'actualité. Quels sont les limites de ces modèles pour décrire une expérience architecturale ? Pouvons-nous identifier des liens qui relient les phénomènes d'interactions entre deux individus à ceux des foules ? Quels phénomènes de mouvement des corps sont observables et peuvent nous renseigner sur les caractéristiques spatiales d'une architecture ?

1.2.3. Les sciences humaines et sociales pour l'architecture portant sur la perception des ambiances et le mouvement.

1.2.3.1. Les ambiances architecturales et urbaines

Un champ de recherche qui emprunte aux méthodes des sciences humaines et sociales, qui lie l'architecture et la notion de corps en mouvement attire notre attention en particulier. Il s'agit du champ de recherche portant sur les ambiances architecturales et urbaines. Dans ce domaine, le travail des chercheurs porte spécifiquement sur les expériences sensibles que les usagers d'un espace vont faire de ce dernier. Nous entendons par *usagers* les personnes habitant ou visitant cet espace. Cette recherche en appelle donc à la compréhension de leur perception et de leur vécu. À ce titre, « *[elle] procède davantage sur un mode phénoménologique, en mettant l'accent sur la compréhension des phénomènes observés, leur typification et l'explicitation de leurs modes de composition et de leurs effets, à des fins d'aide à la conception ou à la gestion des espaces vécus.* » [21] Il s'agit pour les chercheurs d'identifier des phénomènes sensibles et ambiants, de les décrire, de les catégoriser. Il s'agit également d'observer le lien entre ces phénomènes et l'espace à la fois tel qu'il est décidé et aménagé par des experts et tel qu'il est habité, approprié par ses usagers ordinaires. [22]

1.2.3.2. Le mouvement

Dans ces recherches, le mouvement occupe une place importante du fait de son étroite corrélation avec les phénomènes de perception située dans l'espace. Nous le retrouvons de deux différentes manières :

- Sous la forme d'un outil méthodologique. C'est-à-dire que le mouvement des protagonistes de la recherche, que ce soit l'enquêteur ou l'enquêté, est vu comme un moyen pour eux d'accéder au sensible, c'est-à-dire de percevoir les ambiances et de les restituer. Ils se déplacent le long d'un parcours, ensemble, séparément, en aveugle, etc. Puis l'expérience des enquêtés est restituée par la parole ou par l'écrit,

en direct (in-situ) ou plus tard (réactivation), à travers des entretiens plus ou moins directifs, individuels ou collectifs.

- En tant que phénomène observable et donc objet de la recherche. Il est analysé depuis un point de vue extérieur, dans sa spontanéité. Il est alors utilisé pour établir des corrélations entre le contexte du site (spatial, physique, ambiant, ...) et l'expérience potentielle des usagers. Il permet d'identifier des phénomènes récurrents d'usages de l'espace.

En vue d'étayer ces propos, nous prenons appui sur un travail préliminaire à notre recherche, effectué lors d'un stage dans le laboratoire de recherche en architecture d'accueil, le laboratoire CRESSON (AAU)²². Nous avons analysé un corpus de treize thèses réalisées au sein du laboratoire, portant sur les ambiances architecturales et urbaines. Nous en avons extrait les différentes méthodes employées par les chercheurs et les avons classifiées en fonction de deux critères, présentés dans la figure ci-dessous le long de deux axes. Le premier est l'axe des acteurs (avec d'un côté les enquêteurs et de l'autre les enquêtés). Le second est l'axe des objets (avec d'un côté les faits objectifs observés et de l'autre les récits subjectifs retranscrits).

²² Bonnefoy Maxime, Gomez Laureen, *analyse bibliographique des protocoles d'observation sur un corpus de treize thèses développées au sein du laboratoire CRESSON entre 2000 et 2016*. Document interne non publié, stage recherche sous la direction de Philippe Liveneau au Laboratoire Digital RDL, AAU-CRESSON (UMR CNRS 1563), ENSAG, 2017.

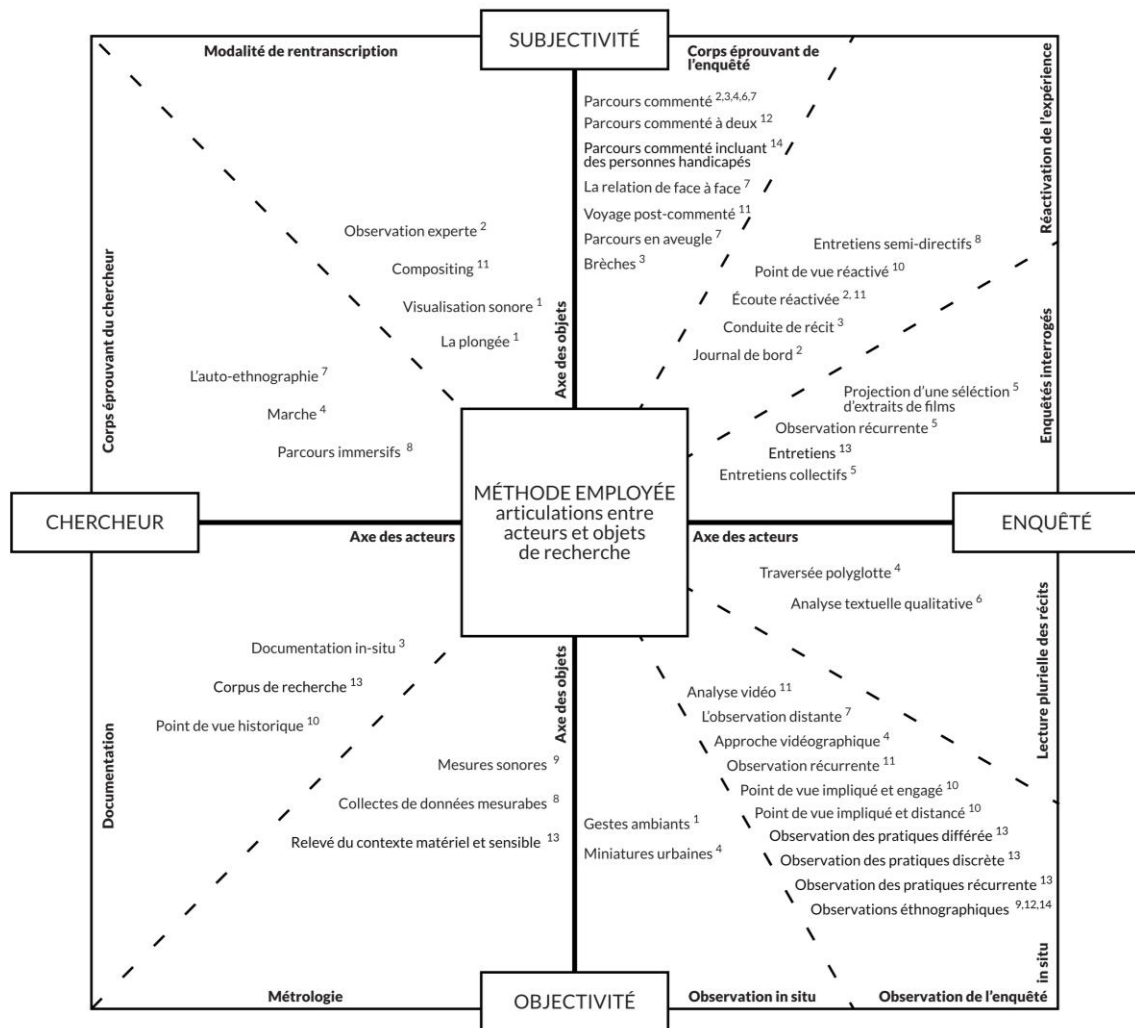


Figure 9. Analyse des méthodes d'enquêtes employées au laboratoire CRESSON

Représentation diagrammatique des méthodes employées dans le développement de treize thèses préparées au laboratoire CRESSON. Les méthodes sont nommées et placées le long de deux axes : l'axe des acteurs de la méthode et l'axe des objets de la recherche. Méthodes extraites de [23], [24], [25], [26], [27], [28], [29], [30], [31], [32], [33], [34], [35], [36].

Le mouvement des corps est présent dans la majorité des méthodes relevées ci-dessus, quelle que soit leur position le long des deux axes. Nous le retrouvons sous ces deux formats, outil : parcours commentés, auto-ethnographie, ..., et objet de recherche : observation distante, récurrente, approche vidéographique, etc. Régulièrement, les deux formats sont associés dans une même recherche, l'objectif étant d'étudier les complémentarités et articulations entre des données de nature plus subjectives sur l'expérience de l'enquêté et celles, plus objectives, sur les conduites des usagers.

Une méthode représentative de l'utilisation du mouvement en tant qu'outil méthodologique est celle du *parcours commenté en aveugle*, utilisé par Julien Delas dans son travail de thèse [28]. Celui-ci s'inspire de la méthode des *parcours commentés*, développée par Jean-Paul Thibaud et ses collègues, qui, résumé très sommairement, consiste à marcher dans un environnement architectural ou urbain, à percevoir cet environnement, en mouvement, à travers nos sens et à décrire, retranscrire les ambiances perçues. Pour une meilleure compréhension de cette méthode et des postulats

épistémologiques qui l'ont vu émerger, voir [37] et [38]. Un intérêt selon lui à l'usage de cette méthode est son infinie possible déclinaison, afin d'appréhender les différentes facettes de l'expérience sensible :

« En faisant varier les consignes dans le cheminement (se concentrer que sur certains sens par exemple ou se faire guider par le participant plutôt que de lui imposer un itinéraire), en jouant sur les lieux et les mobilités (pourquoi pas un parcours commenté en vélo, ou même en empruntant différents modes de transport) ou sur les temporalités (jour/nuit), nous pouvons approcher de façon fine les multiples dimensions qui composent l'expérience sensible dans un espace public. » [28].

Ce que Julien Delas fait dans sa recherche est d'ajuster cette méthode en proposant de retirer le sens de la vue, en organisant des *parcours commentés en aveugle*. Son argument principal pour l'application de cette méthode réside dans le fait de mettre en tension l'inhabituel et la pratique ordinaire chez les participants.

En agissant de la sorte, il entend faire émerger des associations sensorielles qui, d'après lui sont habituellement absentes dans la parole des participants. Il s'agit d'*accéder à l'implicite de l'expérience sensible*, comme le suggère le titre de sa recherche.

« Les objets d'expérience sont tous multisensoriels, ne serait-ce que parce qu'ils se sont constitués dans des contextes qui eux mobilisent l'ensemble de nos sens. Par exemple, un morceau de musique n'est pas qu'une suite de sons, c'est aussi des goûts, des saveurs, des couleurs, des formes, des textures ou de la chaleur car l'expérience sensible de ce morceau de musique ne s'est pas faite isolément du reste de ses modalités sensorielles. [...] quand nous recueillons du discours sur l'expérience sensible in situ, ces associations sensorielles sont quasiment absentes, mis à part à travers quelques mots qui portent en eux cette intersensorialité - comme le mot « calme » qui ne renvoie pas qu'au sonore, mais réfère plutôt à un ensemble de pratiques aux multiples dimensions sensorielles. » [28]

En résumé, l'enquêté et l'enquêteur parcourent ensemble un lieu, et c'est à travers cette marche que sont révélées les sensibilités de l'enquêté et qu'est mise en évidence son expérience du lieu.

Un exemple représentatif d'une méthode construite autour du mouvement en tant qu'objet de recherche est l'observation ethnographique à partir d'enregistrements vidéos qu'utilise Sarawut Preamechai. Ce dernier met en place sa méthode afin d'identifier des situations de mouvement remarquables dans l'espace public et ainsi créer ce qu'il nomme *un répertoire de phénomènes sensori-moteurs*. Il donne à chacun de ces phénomènes une définition très précise et décrit également les conditions, tant construites que sociales et sensibles, favorables à leur émergence.

« Pour cela, nous essayons d'identifier dans nos terrains d'étude les phénomènes spatiaux émergents : leur dimension physique, sensible, sociale, à

chaque fois en rapport avec la qualité des mouvements des passants repérés »
[26]

Pour la mise en place de cette observation ethnographique, le chercheur a recours à une caméra discrète et portable (intégrée à des lunettes) afin de filmer les conduites des passants dans les espaces publics sélectionnés.

Situations	Phénomènes moteurs concernés
1. Emprunter un escalier	1.1 Grimper
	1.2 Équilibrer
	1.3 Sautiller
	1.4 Déterminer les pas
2. Descendre une rampe	2.1 Préparer un pas
3. Franchir une porte	3.1 Tenir la porte et se retourner pour voir la personne suivante
	3.2 Se retourner puis pousser la porte avec le dos
4. Croiser quelqu'un	4.1 S'arrêter pour laisser passer les autres
	4.2 Modifier la direction de déplacement
	4.3 S'arrêter en s'adossant au mur
5. Rencontrer quelqu'un	5.1 Tourner immédiatement et s'orienter vers une personne
6. Être suivi par quelqu'un	6.1 Se retourner pour voir derrière
7. Marcher avec quelqu'un	
8. Chercher son chemin	8.1 Tourner brutalement d'un côté (1)
	8.2 Tourner brutalement d'un côté (2)
9. Choisir une direction	9.1 Hésiter pour le choix des directions
	9.2 Prendre le choix habituel
	9.3 Changer brutalement de direction
10. Emprunter un raccourci	10.1 Retrouver un déplacement libre
	10.2 Diminuer la distance
11. Traverser une rue	11.1 Se dépêcher
	11.2 Se retarder
	11.3 Dévier la trajectoire

Figure 10. Tableau des phénomènes sensori-moteurs repérés dans l'espace public lors d'une observation ethnographique.
Emprunté à [26].

1.2.3.3. Le mouvement des corps dans les sciences humaines et sociales

Nous voyons avec ces exemples que les recherches portant sur les ambiances architecturales et urbaines apportent des connaissances fondamentales sur le rapport sensible que nous entretenons avec nos environnements construits, en démontrant la place prépondérante du mouvement des corps. Cela permet en partie d'évaluer les architectures conçues. Pour autant, nous nous questionnons encore sur la compréhension de nombreux phénomènes. **Quels sont précisément les facteurs environnementaux, et en particulier spatiaux, qui offrent les conditions nécessaires à l'émergence des phénomènes récurrents observés ? Pouvons-nous préciser leurs natures ou leurs limites ? Les connaissances produites sont-elles applicables dans la conception architecturale ?**

1.2.5. Émergence d'une problématique architecturale sur le mouvement des corps dans nos environnements construits

La notion de mouvement dans l'architecture est une notion dont les contours sont indécis. Nous avons vu que l'angle disciplinaire avec lequel nous abordons le mouvement peut faire varier sa définition, son cadrage sémantique précis et l'intérêt que nous lui portons. Dans la pratique, certains architectes revendiquent lui porter une attention particulière et par conséquent donner une place centrale aux mouvements des usagers de l'espace dans la conception architecturale. Dans la recherche, le mouvement est parfois vu comme un outil pour accéder au sensible, comme une modalité de l'expérience architecturale et parfois comme un objet d'étude en lui-même, dont l'analyse vise à une meilleure compréhension de nos cadres de vie bâtis et de leurs usages ordinaires ou à une meilleure représentation de nos comportements vis-à-vis des contraintes spatiales environnantes.

Nous avons présenté trois modalités de recherche pour l'observation et la compréhension du mouvement en architecture : par la conception et l'expérience empirique de celle-ci, par l'expérimentation de déplacements d'individus, groupes ou foules dans des environnements spatiaux contrôlés ainsi que par l'analyse des rapports sensibles que nous entretenons avec nos environnements. Ces modalités de recherche sont toutes qualifiables d'« *enquête systématique orientée vers la production de connaissance* » [9] liées aux mouvements des corps dans nos environnements construits. Cependant, notre compréhension de ces phénomènes reste mince à ce jour. Pour chacune de ces modalités de la recherche, nous avons identifié un ensemble de questionnements ouverts :

- Les conceptions architecturales parviennent-elles aux objectifs annoncés par les architectes quant à l'expérience des usagers ? Quelle est la nature des éléments à partir desquels les architectes construisent leurs propos sur le mouvement ? Pouvons-nous évaluer les projets ou nos environnements architecturaux de manière générale dans leur rapport au mouvement des corps ? Existe-t-il des outils pour cela ?
- Les expérimentations scientifiques apportent des réponses partielles. Pourtant, quelles sont les limites d'un cadrage si précis pour l'analyse de phénomènes si complexes ? Pouvons-nous interroger l'espace en terme de potentialités d'usage, de qualité d'expériences à partir de ces modèles expérimentaux ?
- Les sciences humaines et sociales apportent également des réponses partielles. Pourtant, quelles sont les limites d'un cadrage immersif et *in-situ* ? Pouvons-nous viser une plus grande reproductibilité des résultats de la recherche ? Serait-il pour cela pertinent de réaliser les recherches dans des environnements spatiaux plus contrôlés ?

Ces trois ensembles de questions forment un vaste champ de recherche pour l'architecture. En les faisant dialoguer, nous formulons deux problématiques transverses et duales : **Existe-t-il des outils appropriés pour observer les mouvements situés**

d'usagers au sein d'une architecture à la géométrie contrôlée ? Est-il possible de caractériser l'architecture en retour, à partir des mouvements observés ?

Pour répondre à ces problématiques, nous souhaitons approfondir le dialogue entre les différentes modalités de recherche en architecture, entre l'approche des sciences humaines et sociales et celle des sciences expérimentales.

1.3. Mouvements et environnements

1.3.1. Espaces et espèces.

1.3.1.1. Au-delà de l'architecture, à travers les espaces

Après avoir établi les caractéristiques générales de la recherche en architecture et après avoir précisé notre objet de recherche du point de vue de la discipline, nous nous apercevons que **l'objet de notre recherche même, que nous pouvons reformuler comme étant l'interaction entre la géométrie d'une architecture et les mouvements d'une personne qui se trouvant au sein de cette architecture, ne peut prétendre à une forme d'exclusivité architecturale.**

Bien entendu, beaucoup d'études à ce sujet peuvent être menées pertinemment et en complète autonomie au sein de la discipline, nous n'affirmons pas le contraire. Cependant, lorsque nous prenons un peu de recul et que nous introduisons ici des rapports d'homologie dans la sémantique de cet objet de recherche, nous pouvons en élargir le sens. Ainsi, nous pouvons voir la géométrie d'une architecture comme une condition particulière de la géométrie d'un environnement.

1.3.1.2. Au-delà de l'humain, à travers les espèces

De la même manière, nous pouvons voir l'être humain comme une condition particulière d'un animal, et plus largement d'un être vivant.

Avec ces deux termes, « environnement » et « être vivant », aux définitions bien plus larges, nous ouvrons de fait notre objet d'étude. Effectivement, ce lien fort qui associe la géométrie d'un environnement aux mouvements des êtres vivants est étudié à maintes reprises par les sciences, avec plusieurs angles disciplinaires.

Nous choisissons ici de présenter succinctement trois publications à titre d'exemple. Afin de montrer la diversité possible de ces études, nous les avons sélectionnées d'après deux critères : portées chacune sur un animal différent et à une échelle spatiale différente.

En effet la première publication est une étude menée en écologie comportementale sur les singes *Pithecia aequatorialis* [39]. Cette étude porte sur l'utilisation exclusive d'un territoire spatial par un groupe de singe et sa défense contre les intrusions de congénères.

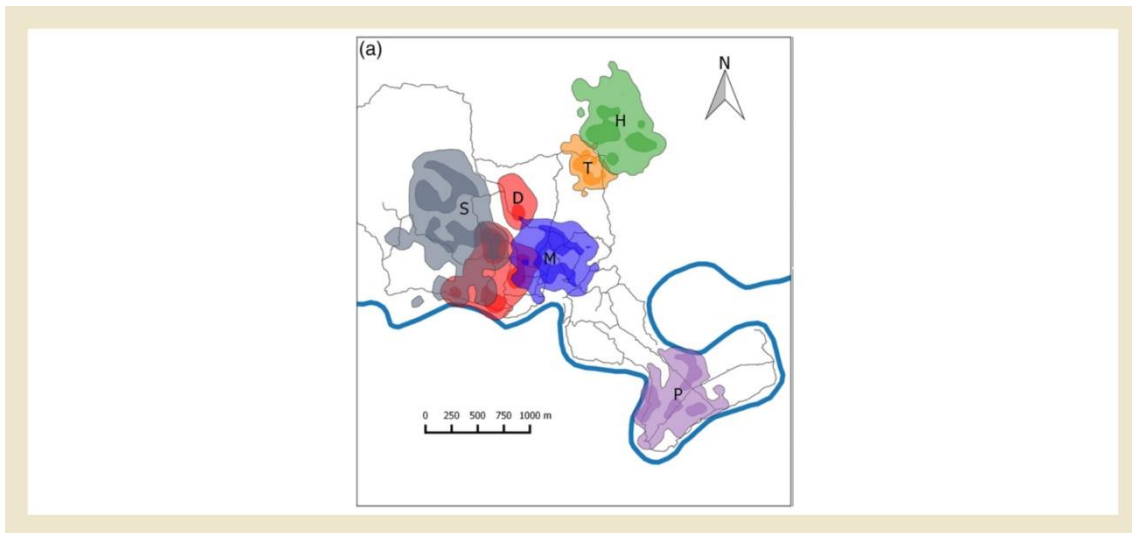


Figure 11. Occupation territoriale d'un groupe de singe

Zones de résidence (couleurs claires) et zones principales (couleurs foncées) de six groupes de Sakis équatoriaux (*Pithecia aequatorialis*) à la Station de la Biodiversité de Tiputini en Équateur. La rivière Tiputini est représentée par une épaisse ligne bleue, le réseau de sentiers par de fines lignes grises. Emprunté à [39].

La deuxième publication est une revue qui porte sur les mécanismes de migration de bancs de poissons, elle s'attache à décrire un grand nombre de comportements à l'échelle de l'individu et à l'échelle du groupe. Cela entraîne la considération de plusieurs niveaux de spatialité : l'individu évoluant en fonction de son environnement immédiat composé des autres individus et le groupe évoluant en fonction des caractéristiques territoriales.

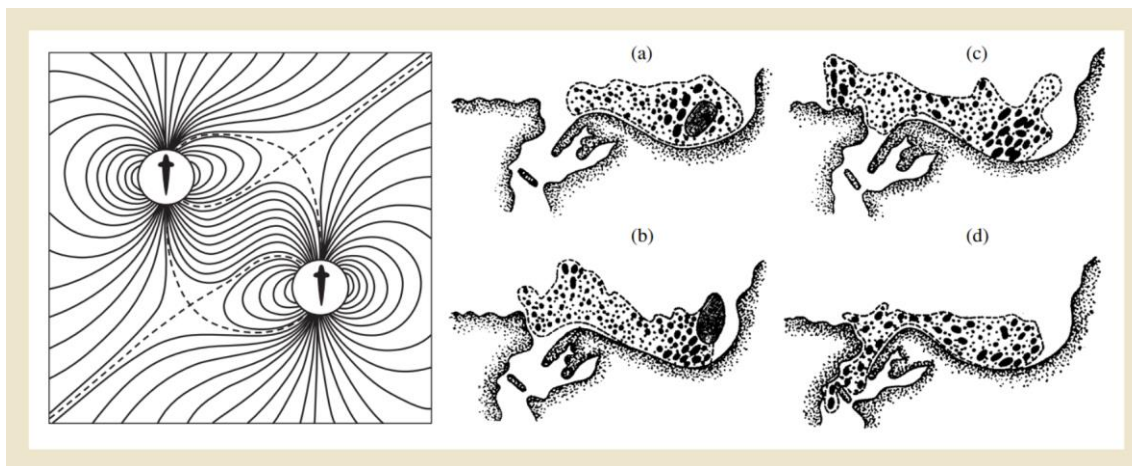


Figure 12. Comportements migratoires d'un banc de poissons

(À gauche) Schéma des forces hydrodynamiques de répulsion-attraction entre deux poissons évoluant en banc. Emprunté à [40]. (À droite) Schéma des mouvements d'un grand banc d'*Engraulis encrasicolus* lors de leur passage de la mer d'Azov vers la mer Noire (basé sur les résultats d'un repérage aérien). a.) b.) c.) d.) Emplacements des bancs dans les jours consécutifs de l'observation. Emprunté à [40].

La troisième publication, est une étude issue de la physique. Elle engage le déplacement de moutons en rapport avec une spatialité construite contraignante. Les chercheurs ont démontré que le positionnement d'un obstacle devant l'entrée d'une

étable pouvait avoir un effet bénéfique sur le débit de passage des moutons lorsqu'ils entrent dans cette étable.

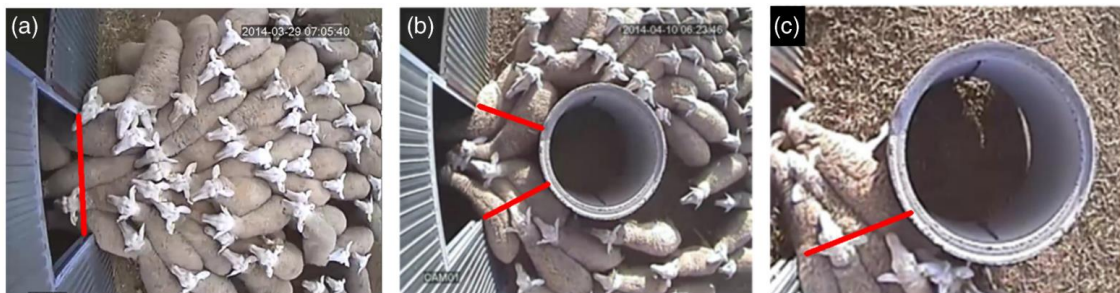


Figure 13. Déplacements de moutons influencés par la présence d'un obstacle

Les trois images illustrent trois différents types de blocage. **a.)** Blocage typique observé lorsqu'il n'y a pas d'obstacle ou lorsque l'obstacle est loin de la porte : les hanches des moutons se bloquent à la porte même. **b.)** Situation rencontrée lorsque l'obstacle est placé à 60 cm, les moutons s'engorgent entre l'obstacle et le chambranle de la porte. **c.)** Situation où l'obstruction entre l'obstacle à 60 cm et l'encadrement de la porte devient évidente car elle se produit d'un seul côté ; tous les moutons de l'autre côté sont déjà entrés dans la grange. Les lignes tracées en **a.)** et **b.)** indiquent l'endroit le plus étroit par lequel les animaux doivent passer dans chaque cas. Notez que **c.)** correspond à une vidéo qui a été enregistrée avec un zoom différent de **a.)** et **b.)**. Emprunté à [41].

Ce vaste champ de recherches et d'études a l'intérêt de nous confronter par analogie à un grand nombre de situations pouvant faire preuve chacune d'un haut niveau de complexité. **La comparaison de notre objet d'étude architectural à ces exemples de recherches par analogie peut nous apporter quelques stimulations scientifiques, sur les plans méthodologiques ou théoriques et nous offrir un recul critique sur les recherches au sein de notre discipline.**

1.3.2.3. Êtres vivants et environnements

Nous remarquons donc que les exemples sont nombreux. À vrai dire, ils pourraient être infinis, à l'image de la diversité du vivant, à l'image de l'infinité de moyens de perception et de locomotion développés par toutes les espèces, au fur et à mesure de leur longue et patiente évolution sur notre planète.

Par ailleurs, ces exemples choisis arbitrairement pour illustrer la diversité des possibles ne portent que sur le règne animal. Or, dans notre analogie sémantique, nous établissons un lien avec l'ensemble des êtres vivants. À titre d'exemple encore, certains végétaux migrent, les champignons ont des logiques spatiales qui leur sont propres et le physarum polycephalum, curiosité biologique communément connue sous le nom de blob, cet être unicellulaire dont nous avons récemment découvert certaines propriétés, se déplace d'une bien surprenante manière [42]. Les dimensions et la nature même du blob restent exceptionnelles en ce qui concerne les êtres unicellulaires, mais cela illustre l'échelle jusqu'à laquelle nous pouvons nous placer pour étudier le rapport entre un être vivant et son environnement, c'est-à-dire auprès de l'être vivant le plus petit qui soit, à l'échelle microscopique de la cellule.

Nous remarquons donc que la question que nous nous posons est valable à toutes ces échelles et ce constat nous amène à la reformuler ainsi : **Pouvons-nous mesurer la qualité d'un espace, évaluer une forme de vécu de cet espace, à travers**

l'observation d'un être vivant lorsqu'il évolue en son sein ? Et nous suggérons *a priori*, en réponse à cette question et sous forme d'hypothèse méthodologique, que la quantification métrique des mouvements de cet être-vivant situé dans l'espace nous permette d'extraire des informations portant sur des qualités spatiales.

1.3.2. La plus petite unité du vivant

Si nous cherchons une définition de base pour décrire ce qu'est la cellule, nous pouvons nous appuyer sur la plus commune, la suivante : « *La cellule est l'unité fondamentale de la vie, représentant la plus petite quantité de matière vivante capable de subsister à l'état autonome et de se reproduire.* » [43].

Étymologiquement, nous attribuons la paternité du terme de cellule à Robert Hooke, au XVII^{ème} siècle. C'est un terme qu'il emploie pour décrire la structure du liège lors de ses observations au microscope, instrument mis au point parallèlement par Antoni van Leeuwenhoek et lui-même à cette époque. Plus tard, le mot cellule trouve sa place comme concept scientifique opérant au XIX^{ème} siècle avec la « théorie cellulaire », développée par Matthias Jakob Schleiden et Theodor Schwann, affirmant que « *la cellule représente l'unité structurale et fonctionnelle commune à l'organisation de tous les êtres vivants.* » [44]. Cette définition est aujourd'hui insuffisante et partiellement fautive, on lui préférera celle évoquée plus tôt. De nombreuses avancées scientifiques depuis cette époque sont venues enrichir notre compréhension de la cellule, citons par exemple la description de la reproduction des cellules par division, la découverte des chromosomes, l'élaboration du concept de macromolécule, le décryptage de la génomique, etc.

Ces quelques lignes ne sont qu'une maigre introduction à l'origine de la cellule en tant que concept scientifique, à la théorie cellulaire en tant que construction historique et à la biologie cellulaire en tant que discipline actuelle. Notre objectif ici n'est pas de faire état de la discipline, cela nous permet en toute modestie de nous rendre compte de l'origine très récente de nos connaissances sur les cellules.

Lorsque les physiciens, les biologistes et tout autre chercheur issu des disciplines connexes étudient le comportement, la composition et la nature des cellules, ceux-ci le font le plus souvent à partir de lignées cellulaires. Ce sont des cellules spécifiquement sélectionnées pour certaines de leurs caractéristiques et qui répondent aux besoins d'une recherche. Dans le cas de cette recherche, nous décrivons dans le chapitre suivant les critères qui nous ont orientés afin de choisir un modèle de cellule.

1.4. Biologie et physique

La cellule est décrite comme l'élément de base fondamental du vivant. Il en existe une diversité infinie, de différentes compositions, aux fonctionnalités tout aussi infinies. Il s'agit donc d'une entité complexe et beaucoup de disciplines comme la cytologie, l'histologie, la biologie clinique, la biochimie, etc. s'attachent à la décrire, à expliciter ses attributs et ses processus. Historiquement, les études de la biologie cellulaire se sont majoritairement portées sur les éléments biochimiques des cellules et beaucoup

d'avancées scientifiques sont faites dans cette direction. Toutefois, certains phénomènes restent inexpliqués et certains indices amènent à considérer que la mécanique des cellules ou des tissus y joue un rôle. « *La majorité des processus biologiques, à différentes échelles allant de la molécule aux organismes, sont sensibles aux contraintes mécaniques et aux déformations.* » [45]. De ce constat émerge depuis quelques années une nouvelle discipline : la mécanobiologie.

1.4.1 Émergence de la mécanobiologie

Comme son nom l'indique, cette discipline propose d'étudier la mécanique au sein des objets biologiques. Techniquement, il s'agit d'étudier l'ensemble des forces mécaniques qui sont en jeu dans le comportement des cellules uniques ou des tissus cellulaires. Cela peut se traduire par l'étude des forces que la cellule exerce sur son environnement et sur ses voisines ou réciproquement ses réponses aux forces exercées sur elle par l'ensemble de ces facteurs environnementaux.

« *L'idée de prendre en compte les intrants mécaniques était déjà présente, mais la prise de conscience de leur importance n'est apparue que récemment, parallèlement au développement d'outils et de techniques permettant d'observer et de mesurer ces interactions.* » [46]²³ En effet, son essor va de pair avec le développement d'outils pour imager le vivant aux échelles microscopiques et nanométriques. Plus encore, ce sont les avancées technologiques dans le domaine de la micro fabrication qui ont rendu possibles de telles études et l'apport multi-échelle de la mécanobiologie.

Enfin la mécanobiologie se définit par une approche nécessairement pluridisciplinaire de ses objets d'étude. C'est le ralliement des mécaniciens, des physiciens, biophysiciens, mathématiciens et biologistes qui permet l'agrégation de suffisamment de compétences pour décrire ces objets complexes et permettre l'élaboration de nouvelles théories, le développement des outils et l'analyse des expérimentations.

1.4.1.1. Les cellules interprètent des signaux mécaniques

Les résultats expérimentaux de la mécanobiologie nous prouvent donc aujourd'hui que la mécanique joue un rôle extrêmement important dans la régulation des processus cellulaires [47] comme la migration [48] (les cellules peuvent *nager* ou *ramper*), la prolifération [49] (reproduction par division des cellules), la différenciation [50] (spécialisation de la cellule en un type particulier) ou encore l'apoptose [51] (la mort de la cellule). Ces phénomènes mécaniques conditionnent clairement le développement et le devenir de la cellule modifiant à la fois ses mécanismes (fonctions) et la géométrie des tissus (forme).

Nous nous rendons compte ici qu'à cette échelle microscopique, l'unité fondamentale du vivant même qu'est **la cellule adapte son comportement en fonction**

²³ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "The idea of considering mechanical inputs was already present, but the awareness of their importance only emerged recently, together with the development of tools and techniques to observe and measure such interactions."

d'éléments perçus de son environnement. Les exemples précédemment cités illustrent tous des formes de *perception*, composées d'un ou plusieurs systèmes complexes de récepteurs et d'interpréteurs mécaniques. Par libre analogie avec l'humain, nous pourrions éventuellement parler d'un sens du toucher.

1.4.2. La migration des cellules

Intéressons-nous maintenant de plus près aux éléments concernant la migration des cellules. Il est évident que certains processus biologiques dépendent de la capacité des cellules à migrer, lors d'une réponse immunitaire ou lors de la cicatrisation d'une plaie pour ne donner que deux exemples.

À ce titre, plusieurs modes de migration sont possibles. Il existe par exemple des cellules qui, dotées de cils ou flagelles, se déplacent dans un espace tridimensionnel grâce à ce type d'appendice [52]. Dans notre cas, nous nous intéressons à des cellules que nous disons hautement motiles, qui *rampent*, c'est-à-dire qu'elles exercent des forces sur des surfaces pour se déplacer [53] (2D). Les raisons de ce choix sont explicités dans le chapitre suivant [p.73]. Le déplacement de ces cellules se fait au sein d'une matrice extracellulaire, un environnement composé de diverses macromolécules comme par exemple des fibres de collagène qui la structurent, des facteurs de croissance qui régulent certains processus cellulaires ou des glycoprotéines aux multiples rôles. Les cellules utilisent pour leur motilité des protéines spécifiques, transmembranaires, qui créent un lien mécanique entre la structure de la cellule (son cytosquelette) et certaines protéines de la matrice extracellulaire (comme la fibronectine dont nous parlerons ci-après [p. 86]). La mécanique des adhésions et des déplacements de ces cellules est d'ores-et-déjà bien décrite par la mécanobiologie et pour un exposé plus complet, accompagné de la description physique des principaux modes de migration cellulaire en rapport avec l'adhésion à des surfaces, voir [54].

1.4.2.1. Cellules uniques et tissus

Dépendamment du type cellulaire que nous étudions et en fonction de son environnement, la migration peut être l'affaire d'une cellule unique ou d'un groupe de cellules cohésives formant un tissu. Dans la recherche présentée ici, nous nous concentrons sur la migration de cellules uniques. De la sorte, nous abordons un système physique dont la complexité est réduite car nous excluons les facteurs fortement impactant sur la migration que sont les jonctions intercellulaires et l'ensemble des contraintes mécaniques propres aux tissus cellulaires. Également, nous nous rapprochons de la nature du déplacement humain, moteur analogique de l'élaboration théorique et expérimentale de cette thèse.

Toutefois, nous distinguons *cellule unique* et *cellule seule*. Nous observerons des groupes plus ou moins importants de cellules uniques, celles-ci pouvant en conséquence interagir ensemble du fait de leur rencontre fortuite et ceci, que ce soit par un choc frontal, par des trajectoires tangentes ou par le passage dans les traces les unes des autres. Ces niveaux d'interactions seront évidemment considérés le cas échéant mais ils ne sont pas identiques aux comportements de tissus cohésifs.

Une cellule est un objet complexe. Nous avons vu que beaucoup de disciplines se penchent sur cette unité vivante et appréhendent sa complexité par de multiples moyens. À l'échelle à laquelle nous plaçons notre regard et au prisme de nos entrées disciplinaires sur la cellule, nous ne nous concentrerons en premier lieu que sur quelques points fondamentaux concernant l'organisation de la cellule motile, que l'on peut dire composée en deux parties : le corps de la cellule et son lamellipode. Le corps de la cellule correspond au volume principal de la cellule dans lequel sont contenus les principales organelles nécessaires à sa survie dont le noyau (ce dernier hébergeant l'ADN de la cellule). Le lamellipode quant à lui est une protrusion, une extension du corps cellulaire, dédié à la migration de la cellule.

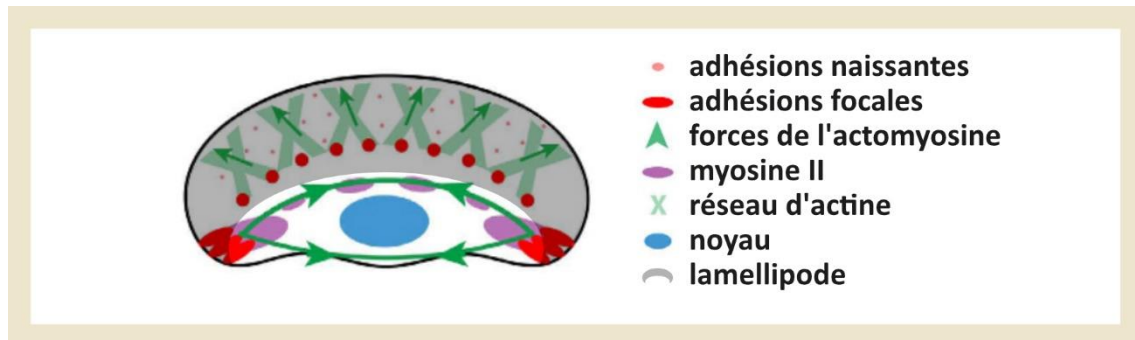


Figure 14. Schéma de la forme en canoé d'une cellule kératocyte migrante

Vue du dessus. Très succinctement, la migration de la cellule est en partie due à trois processus : 1. La protrusion du lamellipode due à la formation de l'actine qui pousse sur la membrane de la cellule. 2. La production d'adhésions focales liant la cellule à son substrat. 3. La rétraction de l'arrière de la cellule, due aux forces de contractions de la myosine. Adapté à partir de [55].

1.4.2.2. Matrice extracellulaire (in-vivo) et substrat (in-vitro)

L'environnement naturel des cellules que nous étudions, nous l'avons évoqué, est celui de la matrice extracellulaire. Il s'agit donc d'un environnement tridimensionnel. Il est courant en mécanobiologie d'étudier la migration de tissus de cellules en trois dimensions, d'étudier des tissus épithéliaux monocouches en deux dimensions, voire même d'observer leur comportement sur une seule dimension. Dans notre cas, nous nous concentrons sur la migration sur des surfaces, donc en deux dimensions. D'une part, nous nous rapprochons une nouvelle fois de systèmes analogiques avec l'architecture et le déplacement des humains (dans un environnement tridimensionnel mais majoritairement sur un sol, lui bidimensionnel). D'autre part nous savons que, malgré la réduction opérée du réel vers la fabrication artificielle de l'environnement pour la culture des cellules, une grande partie des mécanismes de migration restent similaires, rendant pertinentes les études sur des surfaces [46].

En ce qui concerne la fabrication in-vitro de ces environnements propices à la migration cellulaire, le processus est conceptuellement simple : nous greffons des protéines issues de la matrice extracellulaire sur une surface de verre, celles permettant aux cellules d'adhérer. Nous nommons « substrat » le résultat que nous obtenons. C'est grâce à la possibilité technique de fabriquer ces environnements que nous pouvons aujourd'hui mener de telles expérimentations. Nous abordons dans le chapitre dédié aux

méthodologies le processus technique, un peu plus complexe, pour la production de ces environnements [p.79].

1.4.2.3. Orientations de la migration des cellules

Nous savons d'ores-et-déjà qu'il existe plusieurs phénomènes qui dirigent la migration des cellules, que ce soit à l'échelle de la cellule unique ou à l'échelle multicellulaire.

Parmi ces phénomènes, la chimiotaxie consiste en la migration de la cellule en réaction à un gradient de substance chimique présent dans l'environnement. Cela peut être par attrait, la cellule se déplaçant en direction des zones où la substance est la plus concentrée ou par rejet, en fuyant cette substance. Pour une bonne compréhension des phénomènes de chimiotaxie et de leurs interactions avec des phénomènes mécaniques dans la migration des cellules, voir [56]. Autrement, l'haptotaxie est la migration des cellules en réaction à un gradient de *sites d'adhésions cellulaires*, c'est-à-dire que la cellule se déplace en fonction de la disponibilité des protéines qui lui permettent d'adhérer à la matrice extracellulaire. Il existe également d'autres phénomènes qui dirigent la migration cellulaire comme par exemple l'électrotaxie (en fonction du champ électrique), la plithotaxie et la kénotaxie (dépendant des contraintes mécaniques internes aux cellules, elles-mêmes relatives à leur position dans le tissu multicellulaire).

Enfin, la durotaxie consiste en la migration des cellules dépendamment de la rigidité de leur environnement. En effet, il a été observé que les cellules se comportent différemment sur des substrats ayant une rigidité plus ou moins grande et donc s'orientent à travers ce substrat lorsque la rigidité évolue.

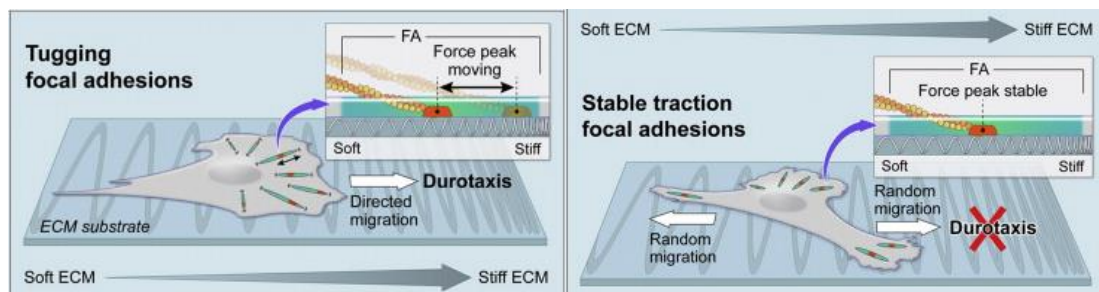


Figure 15. Schéma des processus cellulaires entraînant la durotaxie

L'étude de laquelle est extraite cette image compare le comportement de zones d'adhésions focales (mécanisme d'adhésion de la cellule à la matrice) sur une matrice extracellulaire dont la rigidité est graduée. D'après les auteurs, la fluctuation des forces de traction au sein de ces zones d'adhésion serait responsable de la capacité de la cellule à percevoir la rigidité de la matrice extracellulaire et engagerait la durotaxie. Extrait de [57].

1.4.2.4. La rigidité du substrat

De surcroît, il a été démontré que la rigidité du substrat est à l'origine d'autres types de comportement des cellules. Un phénomène très marquant par exemple est celui de la différenciation d'une cellule mésenchymateuse, un type de cellule souche présent dans le tissu embryonnaire. En fonction de la rigidité du substrat sur lequel cette cellule se

trouve, elle se spécialisera en un type cellulaire différent : un neurone si elle est sur une matrice élastique, une cellule osseuse si elle est sur une matrice rigide. [50]

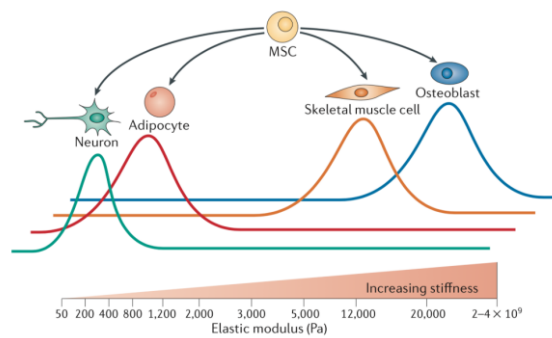


Figure 16. Différenciation cellulaire dépendant de la rigidité de son substrat

Ce schéma représente quatre types de différenciation d'une cellule mésenchymateuse (« MSC ») en fonction de la rigidité du substrat sur lequel elle se trouve. Les lignes colorées représentent la distribution des cellules. L'axe des abscisses représente la rigidité du substrat. Emprunté à [46], adapté de [50].

Pour en revenir à la migration des cellules, outre l'orientation de cette migration, différentes rigidités de substrats provoquent différents comportements des cellules. Par exemple, la géométrie du lamellipode d'une cellule kératocyte est plus ronde lorsque le substrat est mou et plus étalée lorsqu'à l'inverse le substrat est plus rigide [58], [55]. Outre la géométrie, c'est l'ensemble de la migration qui est transformée par la même occasion. Nous savons par exemple, toujours au sujet de la cellule kératocyte, que la rigidité du substrat impacte la capacité de la cellule sur sa persistance – c'est-à-dire sa capacité à se déplacer en ligne droite sur une longue distance.

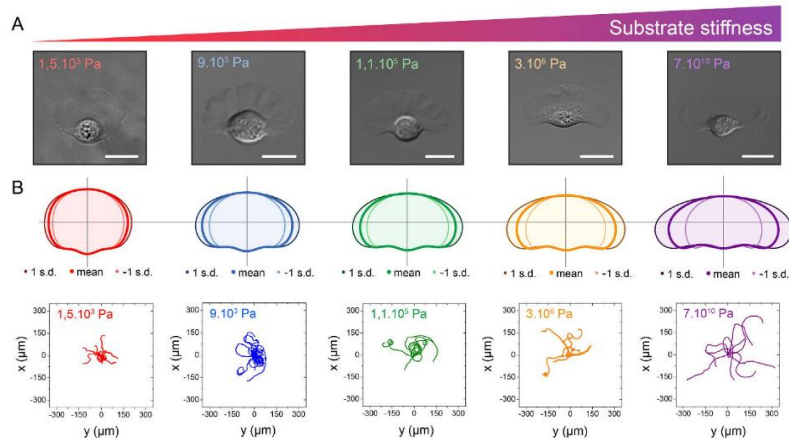


Figure 17. Évolution de la géométrie des cellules kératocytes en fonction de la rigidité du substrat sur lequel elles migrent

Les graphiques représentent les trajectoires dans le plan des cellules. Nous voyons qu'avec une plus forte rigidité, les cellules ont des trajectoires plus rectilignes. Adapté à partir de [55].

1.4.3. La géométrie de l'environnement

La grande différence entre les exemples d'expérimentation *in-vitro* sur la migration des cellules cités précédemment et la migration *in-vivo* de ces mêmes cellules repose sur le confinement de la cellule par son environnement. En effet, *in-vivo*, les cellules ont

besoin de modifier leurs formes et de s'adapter aux forces exercées sur elles par leurs voisines ou par la matrice extracellulaire.

Assurément, l'un des challenges de la mécanobiologie – et l'une des raisons de sa récente émergence en tant que discipline autonome – fut de reproduire le confinement des cellules à travers un setup expérimental. Cela a été rendu possible par la micro-fabrication de patterns adhésifs.

« Le contrôle spatial de l'adhésion entre les cellules vivantes et les substrats synthétiques est une clé majeure pour de nombreuses applications biotechnologiques et biomédicales [...] les méthodes de fabrication de microenvironnements cellulaires sont des outils puissants pour effectuer une analyse statistique fiable de la réponse cellulaire aux signaux environnementaux ou pour concevoir des modèles de tissus à l'architecture bien définie qui imitent l'agencement des cellules in vivo. » [59]²⁴

Le principe de cette technique consiste en une forme d'*impression*. Il s'agit de préparer des substrats en les structurant avec deux types de surface : une première surface sur laquelle la cellule peut adhérer, composée des protéines de la matrice extracellulaire et une seconde surface qui, à l'inverse, empêche toute forme d'adhésion [p.80]. Nous nommons ces entités « microenvironnements » ou parfois « (micro)patterns » par anglicisme.

Les techniques pour confiner les cellules sont robustes et ont fait leurs preuves sur le plan expérimental. Elles permettent donc de rapprocher les situations expérimentales des situations *in-vivo*. En conséquence, leur application est pertinente pour étudier les phénomènes cellulaires mécaniques conditionnés par l'environnement de la cellule. Pour cela, les chercheurs en mécanobiologie multiplient les expérimentations avec des dessins géométriques variés, correspondant chaque fois à leurs questionnements et au processus mécaniques étudiés.

En ce qui concerne plus spécifiquement la migration cellulaire, certaines géométries par exemple, ce sont révélées avoir un impact fort et guider la polarisation de la cellule. C'est ce qu'a mis en évidence un groupe de chercheurs lorsqu'ils ont identifié une réponse biaisée de cellules motiles en fonction de la géométrie de leur environnement [60]. Autrement dit, ils ont placé des cellules dans un environnement asymétrique et ont mesurer en réponse une asymétrie dans le déplacement des cellules. Les chercheurs ont pu rattacher ce phénomène de biais migratoire à la structure de la cellule et sa mécanique de migration même. Ce type de biais de la migration est appelé « *ratchetaxie* », néologisme construit à partir de l'anglais *ratchet* signifiant cliquet.

²⁴ Extrait p.146, traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : “*Spatial control of adhesion between living cells and synthetic substrates is a major key to many biotechnological and biomedical applications [...] cell patterning methods are powerful tools to perform reliable statistical analysis of cellular response to environmental cues or to design model tissues of well-defined architectures that mimic cell arrangement in vivo.*”

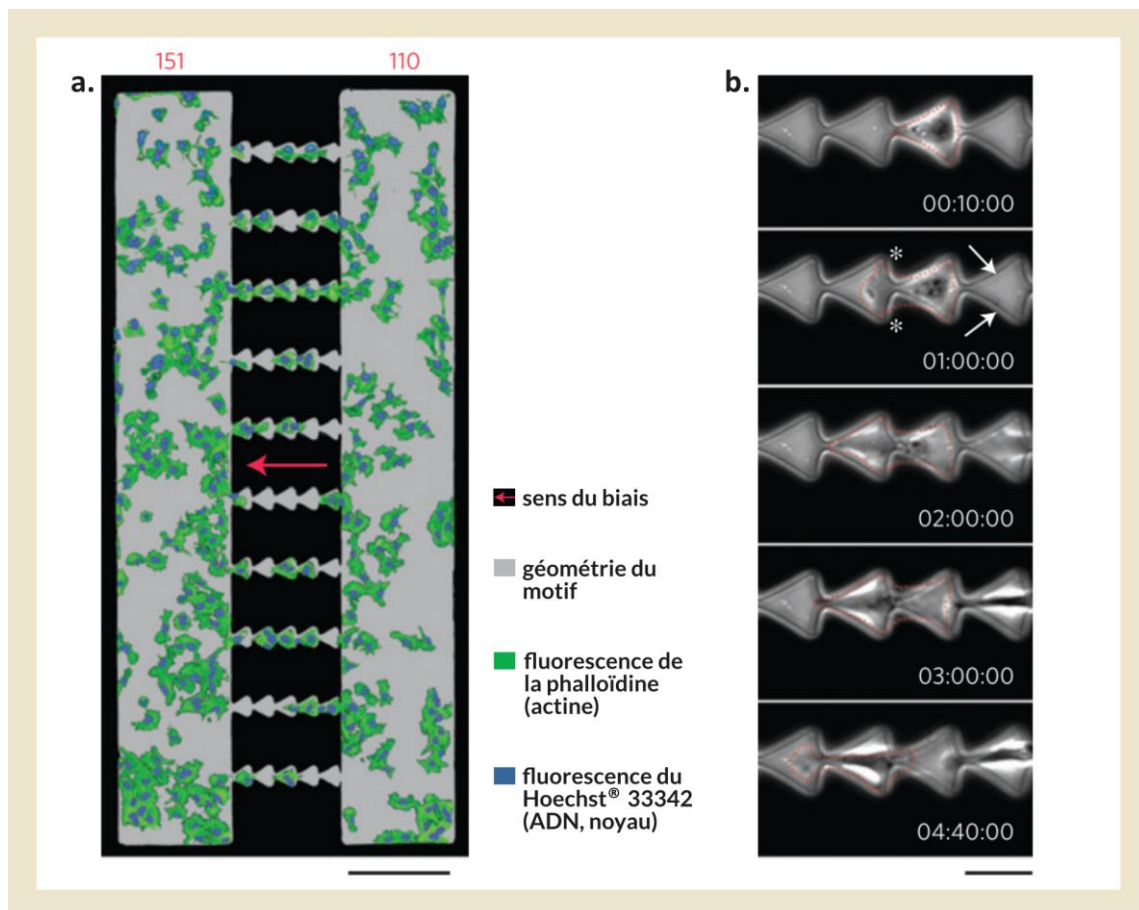


Figure 18. Migration cellulaire directionnelle dans des géométries *ratchets* triangulaires connectées

a.) Distribution des cellules B16F1 dans un pattern composé de deux réservoirs et de dix *ratchets* après 48h de migration. Le biais ici est de 57.8%, il correspond à 151 cellules collectées dans le réservoir de gauche et 110 cellules dans celui de droite. Barre d'échelle : 250 μm . **b.)** Images à faible grossissement et à contraste de phase d'une cellule B16F1 migrant dans une géométrie *ratchet*. Les lignes pointillées rouges délimitent le bord de la cellule. La géométrie du motif contraint la forme de la cellule et détermine sa polarité. La cellule migre en répétant un cycle de protrusion (au bord avant de la cellule, dans le sens de l'entonnoir) et de rétraction (à l'arrière). À ~10 min après l'implantation de la cellule, celle-ci adopte une forme triangulaire, étend une protrusion vers le plus proche triangle (~1h), s'étend sur deux triangles (~2h), déplace son noyau sur l'ouverture étroite entre les deux triangles (~3h) et finit par contracter l'arrière tout en étendant une protrusion dans le nouveau triangle. (~4h40). Barre d'échelle : 50 μm . Adapté et traduit de [60].

1.4.4. Émergence d'une problématique en mécanobiologie sur le mouvement des cellules au sein d'environnements spatiaux contrôlés

En conclusion, nous savons donc que les cellules sont capables mécaniquement de *percevoir* leurs environnements. Elles interagissent avec eux en interprétant entre autres un ensemble de signaux mécaniques comme des pressions, des élasticités, des transferts de force, etc.

La mécanobiologie s'attache à la description et à l'étude de ces interactions et de l'ensemble des phénomènes associés. Elle observe ce qui lie les processus cellulaires à leurs environnements du point de vue de la mécanique. Autrement dit, **elle questionne l'influence de cet environnement sur le comportement de la cellule.**

Parmi les axes de recherche de ce vaste domaine, nous nous concentrons dans notre étude sur la migration des cellules et sur l'influence qu'un environnement, de par sa géométrie, peut avoir sur celle-ci. Comme nous l'avons vu, dans ce cadre, l'apparition de techniques nouvelles comme la fabrication des microenvironnements nous ont permis d'élaborer de nouvelles situations expérimentales, pour lesquelles nous pouvons concevoir une infinité d'environnements différents. Naturellement apparaît dès lors une question primordiale : **quelle géométrie donner à ces microenvironnements ?** Les chercheurs en mécanobiologie répondent à cette problématique en adaptant leurs géométries aux processus cellulaires qu'ils étudient. Concernant la migration cellulaire, il est régulièrement observé des mécaniques à l'échelle de la cellule et de ses composantes internes (l'expression de certaines protéines d'adhésion, la structuration du cytosquelette, les capacités locales de traction des cellules, etc.) mais il reste nécessaire de développer nos connaissances des processus de migration plus globaux, à l'échelle du déplacement de la cellule entière. En explorant ouvertement ce sujet, de nouveaux questionnements émergent : **quels facteurs géométriques impactent la migration des cellules à une échelle relativement large**, celle par exemple d'une pièce, par libre analogie anthropomorphique ? **Plus ouvertement encore, pouvons-nous étudier la perception de l'espace par une cellule ?** Quelles géométries concevoir pour répondre à ces questionnements ?

Pour appréhender cet objet d'étude, nous proposons d'explorer une approche nouvelle, en engageant un dialogue avec une discipline experte de la conception spatiale : l'architecture.

Chapitre 2 : Analogies et dialogue

Plan du chapitre

2.1. Architecture et biologie	66
2.1.1. Définition d'une recherche commune	66
2.1.2. Le concept d' <i>affordance</i>	67
2.2. Démarche méthodologique	69
2.1.1. Transdisciplinaire et exploratoire	69
2.1.2. Acculturation et immersion	71
2.1.3. Itérations et réactualisations	72
2.3. Nos observables : cellules et humains	72
2.2.1. Le choix d'un modèle cellulaire	73
2.2.2. Multiples situations humaines.....	73
2.2.3. Échelles	74

Ce second chapitre est consacré aux dialogues engagés entre l'architecture et la biophysique. Il se concentre sur les liens que nous constituons entre nos problématiques de recherche, nos méthodes et nos objets d'études. Il est ainsi organisé en trois parties, correspondantes aux éléments mentionnés.

D'abord, nous identifions les éléments analogiques de nos problématiques respectives afin de formuler une problématique commune, puis nous dégageons les hypothèses à partir desquelles structurer notre recherche. Conjointement à cela, nous nous appuyons sur le concept d'*affordance*, pour appréhender théoriquement le rapport entre mouvement et environnement chez les êtres-vivants.

Ensuite, nous développons notre démarche méthodologique commune, transdisciplinaire et exploratoire, ainsi que les stratégies que nous mettons en place afin d'orchestrer le dialogue entre l'architecture et la biophysique.

Enfin, nous ciblons nos objets d'étude respectifs avec plus de précision afin de déterminer nos observables.

2.1. Architecture et biologie

2.1.1. Définition d'une recherche commune

Dans le chapitre précédent, nous avons fait émerger une problématique de recherche architecturale, portant sur le mouvement des corps au sein d'environnements construits. Il s'agit de questionner l'existence d'outils qui puissent permettre l'observation des mouvements situés des usagers d'une part et de questionner la potentielle caractérisation de l'architecture à partir des mouvements observés d'autre part.

Ensuite, nous avons fait émerger une problématique de recherche en biophysique, portant sur la migration des cellules au sein d'environnements contrôlés. Il s'agit d'étudier l'impact de paramètres géométriques sur la migration des cellules puis par extension d'interroger la perception de l'espace de cet organisme vivant.

Ces deux problématiques se font écho et nous identifions deux éléments analogiques.

Le premier est d'ordre épistémologique, il s'agit du souhait d'étudier le mouvement. Nous avons notamment vu, au travers de la recherche architecturale, que le mouvement, à la fois en tant qu'outil et en tant qu'objet d'étude permettait de nous informer sur des caractéristiques propres aux êtres vivants en question ou propres à leur environnement.

Le second est d'ordre méthodologique, il s'agit de lier cette observation du mouvement à un environnement construit. Nous avons notamment vu, au travers de la recherche en biophysique, que le contrôle géométrique de l'environnement est vu comme un outil pour mieux identifier et comprendre le comportement des cellules.

Nous voyons dans ces éléments analogiques l'opportunité d'un dialogue fructueux entre les deux disciplines qui nous amène à explorer de nouvelles pistes de recherche en créant des passerelles épistémologiques ou méthodologiques. Nous pouvons par exemple nous inspirer des méthodes expérimentales de la biophysique afin de les

appliquer à l'architecture et évaluer leurs potentiels intérêts ou, dans l'autre direction, nous pouvons inspirer la recherche en biophysique, et particulièrement en mécanobiologie en posant un regard nouveau sur les recherches de ce domaine, en apportant de nouvelles réflexions sur la spatialité.

Nous proposons dès lors de saisir cette opportunité de dialogue entre nos disciplines et au travers de ce dernier, d'explorer la mise en perspective scientifique de protocoles de recherche analogues, d'en évaluer la pertinence face à nos objets d'étude respectifs et plus largement de questionner de manière transverse le lien entre les mouvements d'un être vivant et l'environnement construit dans lequel il évolue.

À ce titre, nous élaborons trois hypothèses de travail qui sont communes à l'architecture et à la biophysique :

- Nous faisons l'hypothèse qu'en observant les mouvements respectifs des cellules et des humains, il nous est possible de repérer des phénomènes récurrents ou invariants.
- Nous faisons une seconde hypothèse, selon laquelle les phénomènes ainsi identifiés peuvent nous renseigner sur certaines propriétés propres aux cellules ou aux humains, notamment des capacités de mouvement ou de perception.
- Enfin, nous faisons une troisième hypothèse, en suggérant que ces connaissances nouvelles permettent en retour de qualifier spatialement les environnements. C'est-à-dire de les désigner en fonction des potentiels d'action qu'ils offrent à la cellule ou à l'humain.

2.1.2. Le concept d'*affordance*

La *théorie des affordances* est un outil conceptuel auquel nous nous référons à plusieurs reprises au cours de notre recherche. Il s'agit d'une construction théorique qui décrit une modalité de la perception qu'un animal a de son environnement en fonction des possibilités d'action que lui offre cet environnement. Dans cette partie, nous allons clarifier la définition d'*affordance* et exposer notre utilisation de ce concept dans la recherche.

Le terme « *affordance* » lui-même a été construit par James J. Gibson dans son ouvrage « *The Ecological Approach to Visual Perception* » [61] à la fin des années 1970. Il est construit à partir du verbe anglais « *to afford* » dans le sens de « *to furnish* », « *to provide* ». Une traduction française de ce verbe serait « *offrir* ». Dans les textes en français, le mot *affordance* est régulièrement utilisé sous cette forme, parfois il lui sera préféré les termes d'*offre* ou plus communément de *prise*. En résumé, **l'affordance décrit les circonstances dans lesquelles un environnement, par ses composantes physiques, offre des possibilités d'action à un animal qui le perçoit.**

« Nous avons des milliers de noms pour désigner ces objets, et nous les classons de nombreuses façons : les tenailles et les clés à molette sont des outils ; les casseroles et les poêles sont des ustensiles ; les épées et les pistolets sont des armes. On peut dire que tous ces objets ont des propriétés ou des qualités : couleur, texture, composition, taille, forme et caractéristiques de forme, masse,

élasticité, rigidité et mobilité. La psychologie orthodoxe affirme que nous percevons ces objets dans la mesure où nous discriminons leurs propriétés ou qualités. Les psychologues réalisent des expériences élégantes en laboratoire pour découvrir comment et dans quelle mesure ces qualités sont discriminées. Les psychologues supposent que les objets sont composés de leurs qualités. Mais je suggère maintenant que ce que nous percevons lorsque nous regardons des objets sont leurs affordances, et non leurs qualités. Nous pouvons distinguer les degrés de différence si on nous demande de le faire dans une expérience, mais ce que l'objet nous offre est ce à quoi nous prêtons normalement attention. La combinaison spéciale de qualités à partir de laquelle un objet peut être analysé n'est généralement pas remarquée. » [61]²⁵

Pour illustrer sa signification dans la situation où un humain se trouve dans un environnement architectural, voici un exemple : Nous prenons trois planches de bois identiques ayant les mêmes dimensions, la même couleur, le même poids, en bref, le même aspect physique. Ensuite, nous les plaçons à trois hauteurs différentes dans un espace donné. Nous pouvons dès lors percevoir les différentes planches de bois comme un objet sur lequel s'asseoir, une surface sur laquelle travailler ou une protection sous laquelle s'abriter ; nous percevons activement le même élément comme un banc, une table ou un toit. Dans les situations comme celle-ci, **la théorie des affordances nous indique que, dans un environnement donné, ce que nous percevons activement en premier lieu, ce sont nos capacités d'action liées à cet environnement.**

Depuis sa première apparition en 1979, la théorie des affordances a été utilisée et formalisée à de nombreuses reprises et a donné lieu à de nombreux débats et controverses [62], principalement du fait de ses multiples définitions, comme l'évoquent M. Luyat et T. Regia-Corte « *La complexité du concept d'affordance réside dans l'absence d'une définition univoque* » [63]. De manière générale, elle est élaborée dans un contexte disciplinaire qui aborde la perception d'un point de vue écologique. Il est important de noter que dans ce contexte disciplinaire, nous positionnons notre regard au niveau de l'interaction entre un animal et son environnement. L'ensemble des deux forme un *système animal-environnement* que l'on nomme une *niche écologique*. D'après James J. Gibson, **c'est au sein de ce système animal-environnement qu'émergent les affordances**. Elles ne peuvent donc pas être considérées comme une caractéristique de l'animal seul ou de l'environnement seul. Plus encore, à ses yeux, cette indissociabilité animal-environnement va de pair avec une indissociabilité action-perception.

²⁵ Traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : "We have thousands of names for such objects, and we classify them in many ways: pliers and wrenches are tools; pots and pans are utensils; swords and pistols are weapons. They can all be said to have properties or qualities: color, texture, composition, size, shape and features of shape, mass, elasticity, rigidity, and mobility. Orthodox psychology asserts that we perceive these objects insofar as we discriminate their properties or qualities. Psychologists carry out elegant experiments in the laboratory to find out how and how well these qualities are discriminated. The psychologists assume that objects are composed of their qualities. But I now suggest that what we perceive when we look at objects are their affordances, not their qualities. We can discriminate the dimensions of difference if required to do so in an experiment, but what the object affords us is what we normally pay attention to. The special combination of qualities into which an object can be analyzed is ordinarily not noticed."

« *Pour l'approche écologique, la perception est considérée comme la capture d'informations dans la configuration optique par l'action-exploration dans le but d'adapter l'organisme à son environnement* » [63].

Dans notre recherche, nous nous appuyons sur le concept d'affordance et sur les éléments théoriques associés pour construire le dialogue entre nos deux disciplines et pour nourrir un imaginaire à partir duquel interroger les corrélations entre le mouvement d'un corps – cellulaire ou humain – et son environnement.

La théorie des affordances apparaît donc **comme un cadre conceptuel utile pour décrire cette interaction animal-environnement**. En conséquence, nous nous appuyons sur cette théorie pour renforcer notre seconde hypothèse de travail selon laquelle l'observation du mouvement des humains ou des cellules peut nous renseigner sur leurs capacités de perception.

Pour une meilleure actualité de l'utilisation du concept d'affordance dans la recherche en architecture, voir les travaux de Zakaria Djebbara qui articulent architecture et neurosciences. [64]

2.2. Démarche méthodologique

2.1.1. Transdisciplinaire et exploratoire

Les trois notions que sont la pluridisciplinarité, l'interdisciplinarité et la transdisciplinarité ont en commun le fait de dépasser les limites d'une discipline donnée, ce que nous faisons en établissant notre dialogue. Cependant elles définissent des modalités de recherche différentes. Pour qualifier notre échange et plus généralement notre recherche, nous nous appuyons sur l'ensemble de définitions données par Nicolescu Basarab, dans son manifeste sur la transdisciplinarité [65] :

« ***La pluridisciplinarité** concerne l'étude d'un objet d'une seule et même discipline par plusieurs disciplines à la fois. Par exemple, un tableau de Giotto peut être étudié par le regard de l'histoire de l'art croisé avec celui de la physique, la chimie, l'histoire des religions, l'histoire de l'Europe et la géométrie. [...] La connaissance de l'objet dans sa propre discipline est approfondie par un apport pluridisciplinaire fécond. La recherche pluridisciplinaire apporte un plus à la discipline en question.* » [65]

« ***L'interdisciplinarité** [...] concerne le transfert des méthodes d'une discipline à l'autre. On peut distinguer trois degrés de l'interdisciplinarité : a) un degré d'application. Par exemple, les méthodes de la physique nucléaire transférées à la médecine conduisent à l'apparition de nouveaux traitements du cancer ; b) un degré épistémologique. Par exemple, le transfert des méthodes de la logique formelle dans le domaine du droit génère des analyses intéressantes dans l'épistémologie du droit ; c) un degré d'engendrement de nouvelles disciplines. Par exemple, le transfert des méthodes de la mathématique dans le domaine de la physique a engendré la physique mathématique.* » [65]

Il différencie plus fortement ces deux premiers termes de la transdisciplinarité à partir d'un critère particulier qui est la finalité de la recherche. D'après lui, la transdisciplinarité ne peut s'inscrire dans la recherche disciplinaire.

« La transdisciplinarité concerne, comme le préfixe "trans" l'indique, ce qui est à la fois entre les disciplines, à travers les différentes disciplines et au delà de toute discipline. Sa finalité est la compréhension du monde présent, dont un des impératifs est l'unité de la connaissance. » [65]

D'après les définitions données par Nicolescu, notre recherche peut être considérée comme interdisciplinaire, car nous envisageons le transfert de méthodes de l'une à l'autre des deux disciplines. Cependant, celle-ci adopte également une posture transdisciplinaire car nous nous plaçons de manière transversale, entre les problématiques de l'architecture et de la biophysique, en posant une question elle aussi volontairement transversale : existe-t-il des invariants ou des récurrences dans ce qui lie le mouvement d'un être vivant à l'environnement construit dans lequel il se trouve ? Chacune des disciplines sort donc de son cadre usuel en vue d'une confrontation épistémologique et méthodologique dont la finalité n'est pas circonscrite à la recherche disciplinaire seule.

En outre, nous qualifions cette recherche d'exploratoire. L'exploration, si nous en croisons les définitions communes²⁶, est un acte dans lequel deux éléments coexistent : une activité et un objectif justifiant cette activité. L'activité de l'exploration est celle d'un parcours, d'une visite, d'un examen. Il s'agit tout autant de partir à la découverte que d'étudier profondément un lieu, un terrain ou un objet. L'objectif de l'exploration est celui de la trouvaille, de la découverte, de la reconnaissance. Il s'agit d'une apparition, de quelque chose ou de quelqu'un, tant sur le plan réel (un butin ou une rencontre) que dans un contexte imaginaire (une nouveauté ou une inspiration).

Cet objectif de l'exploration n'est pas nécessairement explicité au moment de l'exploration elle-même, les définitions mentionnent « quelque chose » ou « quelqu'un » sans pour autant le nommer plus précisément, et ce, dans tous les acceptions du terme. En effet, si nous caractérisons trop rigoureusement cet objet, l'exploration n'est alors plus qu'une consultation : il s'agit d'arpenter un lieu connu. À l'inverse, si nous abandonnons cet objet, l'exploration n'est alors qu'une errance : il s'agit de déambuler sans nul but.

Ainsi l'exploration se fait dans cette forme singulière d'équilibre entre la définition d'un objet de recherche préalable, qui justifie l'activité d'exploration elle-même et son manque de définition exacte : il y a une incertitude sur la nature, l'existence, la localisation de cet objet. Enfin, l'exploration se fait dans le temps. Nous pouvons, au fur et à mesure du déroulement de cette activité déterminer si des informations utiles ont pu être recueillies, si les objets découverts correspondent à leurs potentiels imaginés avant l'exploration ou au contraire si rien de fructueux ne peut en être extrait.

Notre démarche pour la présente recherche est donc celle du franchissement des cadres usuels des disciplines et celle de l'exploration de nouveaux environs

²⁶ Définition du Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales. Accessible à cet URL : <https://www.cnrtl.fr/definition/exploration>, consulté le 25.01.2021.

scientifiques. Elle se construit à partir des analogies que nous avons identifiées et dans le dialogue que nous instaurons. D'une part, nous visons une meilleure compréhension de nos objets d'étude respectifs et un éventuel transfert de méthode ou technique si celles-ci s'avèrent utiles à la discipline. D'autre part, nous restons ouverts à toute forme de sérendipité qui émergerait de ce dialogue.

2.1.2. Acculturation et immersion

Pour mener à bien notre recherche transdisciplinaire et exploratoire et s'assurer de la mise en place d'un dialogue effectif, nous adoptons une stratégie d'*acculturation*. Ce terme issu de la sociologie et de l'éthologie est utilisé pour caractériser des variations culturelles au sein de groupes sociaux. D'après sa définition, une acculturation est le résultat des modifications culturelles qui s'opèrent dans un groupe social donné suite à un contact direct et permanent avec un autre groupe social. Il ne s'agit pas de découvrir et comprendre la culture de l'autre tout en y restant étranger mais plutôt d'établir un contact de longue durée, de s'en imprégner jusqu'à modifier ses propres manières de percevoir, de juger et d'agir. Si la définition porte majoritairement sur les groupes sociaux et est utile à grande échelle pour caractériser anthropologiquement des phénomènes sociaux humains, elle reste néanmoins valide à l'échelle de l'individu. Pour ce dernier, l'acculturation consiste à intégrer et être accepté par le nouveau groupe social grâce à l'apprentissage et à la reproduction de ses normes et de ses comportements.

Dans notre cas, c'est le mot idéal pour décrire le déroulement de ce travail de thèse car nous sommes à l'interface entre deux disciplines différentes, composées chacune d'un écosystème de financeurs, de responsables universitaires, d'enseignants, de chercheurs et d'étudiants et cette posture hybride nécessite une bonne compréhension de chacune des disciplines. Pour ce faire nous avons souhaité maximiser ma propre acculturation à la mécanobiologie en décidant stratégiquement de mon immersion au laboratoire interdisciplinaire de physique.

Cette immersion à l'échelle du laboratoire permet de découvrir les lieux, les outils, les protocoles. Un laboratoire de physique est composé de bureaux individuels ou groupés et d'espaces partagés mais surtout de salles expérimentales qui sont équipées d'outils de toutes dimensions. Ces espaces nous obligent à adopter rigoureusement certains comportements, pour l'utilisation d'un outil, pour la protection de soi ou des autres. Ils configurent l'organisation du travail. En ce qui concerne la culture cellulaire par exemple, il est souvent nécessaire de maintenir les cellules à certaines températures, dans des environnements aux taux de CO₂ ou à l'humidité contrôlés et surtout dans des milieux stériles. Cela implique des installations de grand gabarit, des vêtements particuliers à porter et des gestes spécifiques à réaliser. L'immersion se fait aussi à l'échelle d'une équipe. J'ai été, dès les débuts de ce projet de recherche, intégré au sein de l'équipe *microtiss* (anciennement *MOTIV*). Nous faisons généralement une réunion par semaine. Cette réunion est l'occasion pour chacun de présenter l'avancement de son projet, que ce soit au sujet du développement des expériences, sur l'interprétation des résultats, sur leur présentation ou sur les réflexions techniques et théoriques du projet. Je partage un bureau avec d'autres doctorants mécanobiologistes et participe aux

séminaires internes du laboratoire. De ce partage, je découvre le quotidien d'un chercheur physicien et donc ses réflexions et ses activités. J'apprends de la formulation de ses hypothèses et de la mise en place de ses expérimentations.

L'immersion se fait aussi à l'échelle d'un domaine. En dehors de l'équipe et du laboratoire, j'ai participé à des colloques nationaux et internationaux et j'ai suivi une formation à l'étranger. De ce fait, j'ai rencontré d'autres chercheurs du domaine. L'immersion est donc on ne peut plus complète, et celle-ci est l'occasion d'apprendre encore sur la structuration de la discipline, sur l'envergure des questionnements scientifiques qu'elle couvre et sur les modes de communication des chercheurs autour des résultats qu'ils obtiennent.

Ce sont des éléments rarement évoqués lors d'une description méthodologique. Ils relèvent de l'expérience personnelle et peuvent paraître anodin face au sujet de la recherche. Pourtant, dans notre cas, ils révèlent une certaine importance que j'évalue ici du fait de ma migration disciplinaire. En effet, tous ces éléments cadrant la recherche participent pleinement à son développement technique et à la reformulation théorique des hypothèses. Ils suivent certains paradigmes dont il est important de prendre conscience.

À ces trois échelles d'immersion dans le domaine de la biophysique, j'incarne mon rôle de doctorant biophysicien. Au-delà des apprentissages d'ordre passif dus à mon observation au sein de ce nouvel univers, mon immersion se résout également dans mes propres activités. J'ai été formé et accompagné pour la réalisation d'expériences avec pour objectif la plus grande autonomie possible en culture cellulaire, acquisition d'image, traitement et interprétation des données.

2.1.3. Itérations et réactualisations

Cette première immersion au sein du laboratoire interdisciplinaire de physique n'est qu'une première étape au dialogue transdisciplinaire. Elle permet d'acquérir un ensemble de compétences préalables. Il s'agit ensuite de générer plusieurs aller-retours entre les deux disciplines afin de redéfinir et réactualiser nos objets de recherche et nos hypothèses aux prismes des connaissances nouvellement produites. En effet, la définition d'un objet de recherche, d'un observable ou la mise en place d'un dispositif d'observation ne se fait pas en une seule fois. Cela suit un processus continu de réévaluation des expériences planifiées et des résultats obtenus. Nous avons donc procédé à plusieurs itérations au sein de ce dialogue.

2.3. Nos observables : cellules et humains

Les cellules et les humains sont tous deux des êtres hautement complexes et extrêmement pluriels puisque leurs descriptions nécessitent chacune de mobiliser des disciplines entières tout en restant incomplètes à ce jour. Pour notre recherche, nous devons définir avec plus de précision quels sont ses objets, de quelles cellules ou de quels humains il est question. Ce cadrage est fait en mettant en perspective les deux

contextes disciplinaires, en tirant parti des éléments analogiques que nous pouvons déterminer entre les deux êtres vivants.

2.2.1. Le choix d'un modèle cellulaire

2.2.1.1. De la cellule à la lignée cellulaire

Comme nous l'avons décrit plus tôt, la définition biologique de la cellule la qualifie d'élément fondamental du tissu vivant²⁷. Elle forme une unité de base à partir de laquelle est composé tout être vivant. Il existe donc un nombre incommensurable de type de cellules et par conséquent un tout aussi grand nombre de porte d'entrée scientifique pour leur observation, pour l'analyse et la compréhension de cette richesse du vivant. Afin de garantir la reproductibilité des expériences, pour consolider les échanges entre collègues et par efficacité technique, les scientifiques effectuent leurs expérimentations sur des lignées cellulaires. Ce sont des cellules modèles cultivées dans des laboratoires spécialisés, choisies dépendamment de leurs caractéristiques et éventuellement modifiées pour certains besoins expérimentaux.

2.2.1.2. Les critères de notre analogie

Nos besoins expérimentaux émergent de notre volontaire passerelle méthodologique avec la recherche architecturale. Par libre analogie de système, nous nous sommes rapprochés des disciplines étudiant la migration de cellules. C'est le cas de la mécanobiologie, qui s'attache à décrire les interactions physiques et mécaniques de ces cellules, en particulier avec leurs environnements et donc la géométrie de ces derniers. Les cellules épithéliales sont rampantes, c'est-à-dire qu'elles adhèrent à une surface et se déplacent le long de cette surface en modifiant leurs adhésions de manière coordonnée. Si ces processus de migration sont déjà bien décrits par la mécanobiologie [58], il reste encore de nombreux phénomènes complexes à élucider.

Après une première rencontre culturelle et technique entre nos disciplines – et donc une première itération de notre dialogue – avec l'utilisation de cellules MDCK [46], disponibles dans notre laboratoire, nous nous sommes très rapidement appliqués à renforcer notre analogie en cherchant un modèle cellulaire dont la vitesse de migration est plutôt rapide, dont la subdivision cellulaire est très lente voire inexistante et dont les cellules peuvent se déplacer seules ou en groupe sans former ou reformer de tissu cohésif. Cette recherche analogique nous a conduit vers les cellules kératocytes, qui correspondent aux critères évoqués ci-dessus.

2.2.2. Multiples situations humaines

Dans le chapitre portant sur les résultats de nos expériences, nous vous présentons trois ensembles expérimentaux dans lesquelles interviennent des données sur les

²⁷ Définition du Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales. Accessible à cet URL : <https://www.cnrtl.fr/definition/cellule>, consulté le 25.01.2021.

mouvements humains. En fonction des paramètres à étudier avec chacun de ces ensembles expérimentaux, nous avons défini des observables différents puis produit ou récupéré des données par divers moyens. Nous les présentons donc dans cette série de paragraphes.

2.2.2.1. Des étudiants en architecture dans un environnement contrôlé

Dans notre principale étude, nous faisons intervenir une trentaine de participants étudiants de l'École Nationale Supérieure d'Architecture de Grenoble. En effet, nous avons construit et placé les dispositifs architecturaux au sein de l'école d'architecture car nous désirions mener nos expérimentations dans un environnement dédié, dans des conditions d'expérience que l'on peut qualifier d'*in vitro* par analogie avec le système cellulaire. Ces étudiants portent un regard averti sur l'architecture. Ils développaient eux-mêmes plusieurs expérimentations ayant trait à la perception de l'espace et ont utilisé à ce titre notre dispositif technique de captation d'image [p.107].

2.2.2.2. Des participants invités à traverser des dispositifs

Un ensemble d'expériences ont été menées par la section *Civil Safety Research*, de l'*Institute for Advanced Simulation* du Centre de recherche de Jülich en Allemagne et sont disponibles en accès libre sur internet, sous forme d'archives téléchargeables²⁸. Ce sont des expériences réalisées entre 2009 et 2018 dans des conditions de laboratoire avec pour objectif de relever l'influence d'une seule variable sur la mobilité des piétons. Nous réutilisons certaines de ces données et précisons leur origine ainsi que les caractéristiques énoncées des participants dans notre chapitre portant sur les résultats.

2.2.2.3. De nombreux individus à l'échelle d'un territoire

Enfin, nous sortons du cadre et de l'échelle de notre recherche sur l'observation des mouvements humains au sein d'architectures sensibles pour ouvrir la discussion vers une autre perspective potentielle de ce travail de recherche. Nous nous intéressons à des déplacements motorisés sur un grand territoire. Pour cela nous comparons nos données sur la migration des cellules avec les données, recueillies et traitées par le chercheur Will Geary, de flux de taxi dans la ville de Pékin [66].

2.2.3. Échelles

Une cellule est microscopique. Ses dimensions sont de l'ordre de la dizaine de micromètre, c'est donc cette unité de mesure que nous utilisons pour la décrire. En comparaison, à notre échelle macroscopique, nos dimensions sont de l'ordre de la dizaine de centimètre. Si nous mesurons notre hauteur en mètre, nos autres mensurations seront, elles, décrites en centimètre. Ainsi, **il y a un rapport d'échelle de 1 : 15 000 entre la cellule et l'humain**. Lorsque nous les observons du dessus, la

²⁸ Archives accessibles à cet URL : <https://ped.fz-juelich.de/db/doku.php>

largeur d'une cellule kératocyte sera de l'ordre de 40 μm , tandis que celle d'un humain sera de l'ordre de 60 cm.

Ce sont les dimensions de nos deux êtres vivants, dans leurs univers microscopique ou macroscopique respectifs. Cependant, chacun d'eux peut évoluer dans des environnements dont les dimensions varient largement. En prenant l'exemple d'un être humain, celui-ci peut se déplacer dans une pièce, dans une galerie ou sur une place publique.

Au travers des multiples itérations de notre recherche, nous avons été amenés à étudié trois échelles différentes. La première, proche du corps, où les dimensions de l'espace correspondent à quelques fois la dimension de l'être vivant en son sein ; la seconde, celle du groupe, dans laquelle peuvent s'entrecroiser plusieurs êtres vivants ; et la troisième, plutôt étendue que l'on pourrait associer à la notion de territoire, qui peut accueillir des centaines voire des milliers d'êtres vivants. Nous avons appliqué ces trois échelles à l'univers microscopique des cellules et à celui macroscopique des humains, en maintenant à chaque fois le même rapport de proportion entre les deux univers.

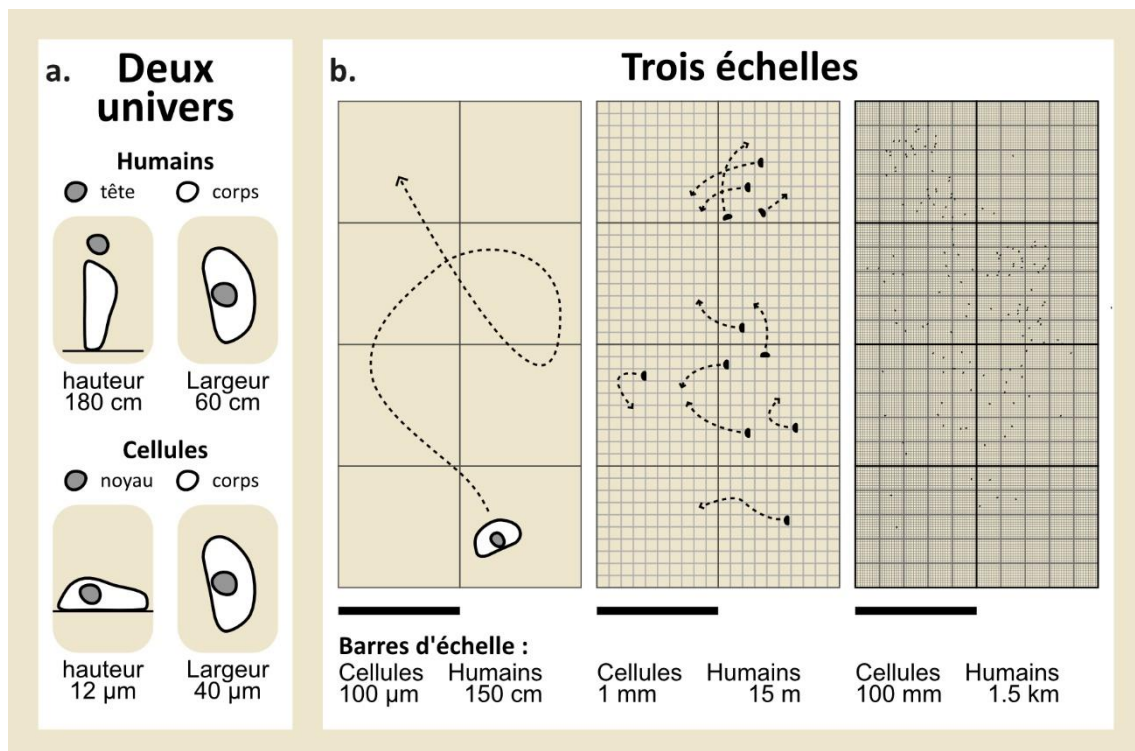


Figure 19. Rapport de proportion et variations d'échelle entre cellules et humains

a.) Rapport de proportion entre l'univers macroscopique des humains, dont les dimensions sont de l'ordre de la dizaine de centimètre et celui microscopique des cellules, de l'ordre de la dizaine de micromètre. **b.)** Trois échelles d'environnement étudiées pour chacun de ces univers : l'échelle du corps en mouvement, l'échelle du groupe et l'échelle du territoire.

Chapitre 3 : Méthodes, outils et techniques

Plan du chapitre

3.1. Micro- et macro- architectures.....	79
3.1.1. Fabrication des microenvironnements	79
3.1.2. Construction de prototypes à échelle humaine.....	90
3.1.3. Conception des géométries	91
3.2. Élaboration de deux protocoles pour la culture des kératocytes	94
3.2.1. Protocole A (EGTA+Trypsine) : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles	95
3.2.2. Protocole B (EGTA) : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement	97
3.3. Méthodes pour observer les déplacements.....	100
3.3.1. Techniques de microscopies pour l'observation de la migration cellulaire.....	100
3.3.2. Installation d'un dispositif filmique pour la captation des déplacements à l'échelle architecturale.....	107
3.4. Méthodes pour analyser les trajectoires et les spatialités	109
3.4.1 Extraire les trajectoires des cellules et des humains	110
3.4.2. Analyse des trajectoires.....	112
3.4.3. Du point de vue de l'espace.....	114

Par ce travail de thèse, nous avons mis au point **une méthodologie structurante pour observer le déplacement d'êtres vivants dans des espaces donnés dont nous maîtrisons la géométrie**. Elle est double car elle s'applique en mécanobiologie, portée à l'échelle des cellules ainsi qu'en architecture, portée à l'échelle des êtres humains. Et elle est **transverse** puisqu'elle lie les outils de la mécanobiologie et ceux de l'architecture.

Dans son intégralité, notre méthodologie permet de concevoir puis fabriquer des microenvironnements à échelle cellulaire et des dispositifs architecturaux à notre échelle, puis de placer les deux êtres vivants au sein de leurs environnements respectifs en vue d'analyser leurs mouvements et enfin de qualifier l'espace en retour. Ce sont ces différentes étapes que nous exposons dans ce chapitre, en décrivant la mise en place de nos outils, techniques et méthodes ainsi que les obstacles que nous avons rencontrés et les optimisations que nous avons apportées au fur et à mesure de notre recherche.

Ainsi, la première partie est dédiée à la conception et à la production de microenvironnements. Il s'agit de l'amélioration d'un protocole existant en biophysique et de son adaptation à des nouveaux besoins (grandes surfaces). Il s'agit également de l'articulation de ce protocole avec l'usage d'un outil de modélisation (paramétrique) efficace et simple à mettre en œuvre, qui offre à la recherche un gain en temps et en précision.

La deuxième partie est dédiée à la culture cellulaire liée aux microenvironnements. Nous avons en effet mis en place deux protocoles dérivés afin de répondre à différents enjeux expérimentaux quant au placement initial des cellules dans les microenvironnements.

La troisième partie est dédiée à l'acquisition d'images, c'est-à-dire à l'application des outils connus de la mécanobiologie pour l'observation de la migration des cellules et à leur adaptation à échelle humaine pour la captation des déplacements.

La quatrième partie est dédiée à l'analyse des trajectoires et des spatialités. À propos des trajectoires d'abord, par la mise en place d'une routine avec le logiciel TrackMate qui permet efficacement de réaliser une segmentation des images tant des cellules que des humains. À propos de la spatialité ensuite, avec la réalisation d'un programme permettant de caractériser l'espace dépendamment des trajectoires qui lui sont rattachées.

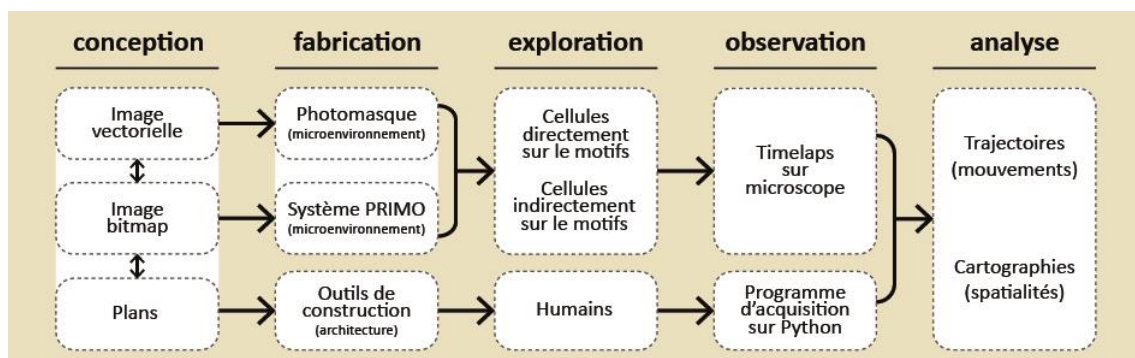


Figure 20. Diagramme de notre méthode complète

La première étape et la dernière sont toutes deux communes aux deux échelles tandis que les trois étapes intermédiaires se développent parallèlement dans chaque discipline.

3.1. Micro- et macro- architectures

Dans les paragraphes suivants, nous exposons nos procédés de conception et de construction des environnements dans lesquels les cellules ou les humains évolueront. En premier lieu, nous abordons la fabrication des microenvironnements. Nous en exposons les principes généraux puis nous détaillons deux procédés différents, que nous comparons. En second lieu, nous abordons la construction de prototypes à l'échelle humaine. Enfin, en troisième lieu, nous abordons la conception des microenvironnements et de leurs homologues macroscopique en présentant notre utilisation des outils de modélisation paramétrique. Également, au fur et à mesure, nous faisons le point sur les obstacles rencontrés et les optimisations apportées.

3.1.1. Fabrication des microenvironnements

Nous souhaitons créer des environnements pour contraindre spatialement la migration des cellules. Notre objectif avec un tel dispositif est de tendre vers une situation expérimentale dans laquelle le seul paramètre variable dont nous pouvons mesurer l'impact sur la migration de la cellule est celui de la géométrie de l'environnement.

Nous utilisons dans nos expériences des cellules kératocytes. Ce sont des cellules qui adhèrent et migrent sur des surfaces. Nous savons que ces cellules sont capables de migrer sur une lamelle en verre ou dans le fond d'une boîte de Pétri. Cependant leurs adhésions ne seront pas robustes sur ces surfaces. Nous savons également que les cellules migrent mieux lorsqu'elles se trouvent sur un substrat de protéines issues de la matrice extracellulaire (ECM) et, à l'inverse, qu'elles ne peuvent aucunement adhérer sur d'autres types de surface comme des brosses de polymères (PNIPAM, PLL-g-PEG, PEG-SVA, ...). Rapidement, les polymères sont des matériaux composés de plusieurs macromolécules, c'est-à-dire de chaînes de molécules qui se répètent. Nous parlons de brosse de polymères car ceux-ci recouvrent toute la surface : chacun voit l'une de ses extrémités greffée sur la lamelle de verre tandis qu'il se prolonge perpendiculairement à cette surface, à l'image d'une brosse faite de poil ou des brins d'herbes sur une parcelle de pelouse. La densité des polymères empêche l'adhésion des cellules à la lamelle de verre.

3.1.1.1. Principe général de la fabrication de microenvironnements

Afin de contrôler la géométrie limite dans laquelle peut se faire la migration des cellules et donc les contraindre spatialement, nous fabriquons ce que nous appelons des micropatterns. Ce sont des lamelles de verre fonctionnalisées composées d'une brosse de polymère dans les zones où nous ne souhaitons pas voir de migration cellulaire ou d'une couche de protéines ECM dans les autres zones, celles dont nous mesurons l'impact de la géométrie sur la migration.

Pour fabriquer ces micropatterns, nous disposons de deux méthodes, fonctionnant sur un même principe : appliquer la brosse de polymère sur toute la surface de la

lamelle, brûler ce polymère par une exposition aux UV sur les zones où nous souhaitons voir les cellules adhérer puis appliquer une couche de protéines ECM sur ces zones. Ce qui diffère entre les deux méthodes est la technique que nous employons afin de brûler le polymère dans les zones souhaitées.

3.1.1.2. Préparation initiale : fonctionnalisation des lamelles de verre

Dans les domaines scientifiques et industriels, nous parlons de fonctionnalisation de la surface lorsque nous intervenons sur un matériau pour modifier les propriétés physiques et chimiques de sa surface sans pour autant interférer sur ses propriétés structurales. Dans notre cas, nous opérons une fonctionnalisation de la lamelle de verre lorsque nous fabriquons la brosse de polymère susmentionnée.

Nous commençons tout d'abord par nettoyer et dégraisser la lamelle de verre en l'immergeant dans un solvant (éthanol à 70°) dans un bain à ultrasons : les ondes ultrasonores vont produire des turbulences mécaniques dans le liquide (pressions et dépressions, phénomène de cavitation) qui détachent les éventuelles impuretés présentes sur la lamelle. Ensuite, nous la plaçons dans un nettoyeur plasma. Il s'agit d'une chambre dans laquelle nous remplaçons l'air ambiant par de l'oxygène puis nous en diminuons la pression (0.4 mbar) et créons un champ électromagnétique générant du plasma. Ce dernier peut être vu comme un gaz très énergétique comportant une forte proportion d'atomes ionisés. Du fait du champ électromagnétique, les ions sont propulsés vers les surfaces que l'on souhaite nettoyer, ici notre lamelle de verre. C'est cette interaction des ions avec la surface qui la nettoie en profondeur. De plus l'utilisation de l'oxygène augmente l'efficacité du plasma pour retirer les contaminants organiques présents à la surface du verre. Pour plus de détail sur ce procédé, se référer à [67].

Nous plaçons ensuite la lamelle de verre contre une goutte de solution (8.70 μ L/cm²) contenant le polymère. Le fait de déposer la solution sur un film de paraffine, puis de retourner la lamelle contre la goutte (le côté de la lamelle ayant été nettoyé au plasma se retrouvant au contact de la solution) nous assure du meilleur étalement possible de la solution. Nous laissons incubé 30 minutes pour que les polymères se fixent sur le verre puis rinçons la lamelle.

Ensuite, Comme évoqué plus haut, nous créons les micropatterns en brûlant localement cette couche de polymère. Pour ce faire nous disposons de deux méthodes.

3.1.1.3. Fabrication de micropatterns par photolithographie

La première méthode est celle utilisant un masque de photolithographie. D'abord, nous fabriquons une brosse de polymère sur une lamelle de verre préalablement nettoyée dans un bain d'ultrason et au plasma. Cette brosse empêche l'adhésion des protéines ECM et des cellules. Nous utilisons à ce titre du PLL-g-PEG. Ensuite, nous plaçons cette lamelle fonctionnalisée au PLL-g-PEG contre un masque dans une lampe UV. Ce dernier est placé entre la source lumineuse et la lamelle et agit comme pochoir. C'est pour cela que nous parlons de photolithographie. C'est un support en verre sur

lequel est déposé un film de chrome. Nos motifs sont découpés dans ce film de chrome. Ainsi, les UV sont réfléchis lorsqu'ils atteignent la surface chromée, ils n'impactent pas la brosse. À l'inverse, dans les zones où le film de chrome est absent, ils traversent le masque entier et brûlent la brosse de polymère. Enfin, nous incubons la lamelle dans une solution contenant les protéines ECM qui s'attacheront naturellement au verre mais non au polymère. Le protocole complet de fabrication de micropatterns par photolithographie est en annexe de ce manuscrit.

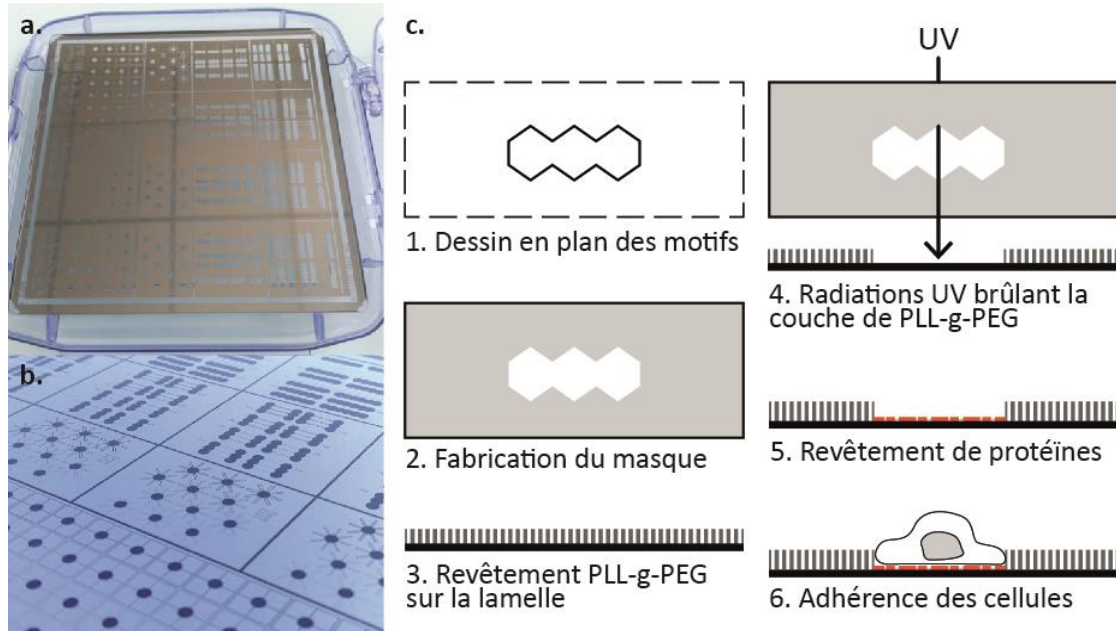


Figure 21. Fabrication de micropatterns par photolithographie

a.) et b.) Masque de 5x5'' (Toppan Photomask inc. ©). **c.)** Explications des différentes étapes de la méthode.

3.1.1.4. Optimisations du protocole

Le placage de la lamelle contre le masque

Une étape clé de la réalisation de microenvironnements avec le processus de photolithographie est celle pendant laquelle nous plaçons la lamelle de verre, avec le revêtement de polymère sur toute sa surface, contre le masque avant de placer ce dernier dans la lampe à UV en vue de détruire le polymère aux zones voulues.

Nous déposons une goutte d'eau déionisée sur le masque puis nous plaçons la lamelle sur cette goutte. **La dimension de cette goutte est un critère important pour la réalisation avec précision des motifs.**

- Elle doit être minimale afin de s'assurer que l'espace entre la lamelle et la face chromée du masque soit également minimale. Les rayons UV de la lampe, traversant le film de chrome, ne sont ainsi que peu diffractés lorsqu'ils atteignent le polymère et entraînent sa destruction. Une trop grosse quantité d'eau implique une trop faible netteté du contour des motifs.

- Néanmoins, elle doit être suffisante pour recouvrir la totalité de la surface de la lamelle malgré l'aspect hydrophobe du polymère tout en évitant de piéger des bulles d'air.

Nous avons réalisé plusieurs essais en variant la quantité d'eau présente entre la lamelle et le masque (10, 7, 5 et 2 μL). L'objectif de ces essais était de réduire la quantité d'eau utilisée car cette étape semblait potentiellement responsable de la mauvaise réalisation de microenvironnement. Cependant, avec de si petites quantités, il était très récurrent de piéger des bulles d'air et ainsi créer des irrégularités de revêtements de protéines sur la lamelle par la suite.

Nous avons finalement adopté la stratégie inverse, c'est-à-dire d'augmenter la quantité d'eau déposée sur le masque. Cela nous permet d'ensuite déposer la lamelle avec plus de souplesse. Il est même possible de la repositionner sur quelques centaines de micromètres voire millimètres. Cela limite la quantité de bulle d'air emprisonnées entre la lamelle et le masque. Il suffit ensuite de chasser les bulles d'air et l'excédent d'eau en appuyant fortement avec le doigt contre la lamelle, accompagné d'un papier absorbant. Faire rouler la pression du doigt du centre de la lamelle vers l'extérieur présente de meilleurs résultats. Enfin, l'excédent d'eau est naturellement absorbé par le papier.

Le nettoyage du masque

La propreté du masque est fondamentale pour la réalisation correcte des microenvironnements par photolithographie. En effet, les poussières ou graisses présentes à sa surface lors de l'illumination aux UV sont responsables de dégradations de la qualité des motifs par la suite.

Pour s'assurer de la propreté du masque, nous suivons deux étapes de nettoyage : l'une en amont de son utilisation et la seconde en aval. Le nettoyage après utilisation du masque est la plus cruciale, car des composants organiques restent à sa surface. C'est pour cela que le protocole prévoit initialement un lavage complet après utilisation (eau chaude du robinet, savon, eau déionisée, isopropanol, friction mécanique, et enfin système plasma) tandis qu'un lavage plus réduit suffit en début de séance (eau chaude du robinet, eau déionisée, isopropanol et friction mécanique).

Cependant, par soucis de perfection lorsque nos microenvironnements produits étaient de mauvaise facture (et avouons-le, par suspicion entre collègues utilisant les mêmes outils) **nous avons estimé préférable de procéder à un lavage complet en début de séance**. L'étape première pour la fabrication des microenvironnements étant le nettoyage des lamelles au système plasma, il est pertinent de procéder au nettoyage du masque à la même occasion, en les plaçant simultanément dans le système plasma.

En intégrant ce lavage complet dans le protocole de fabrication, nous avons observé un meilleur étalage de la goutte d'eau déionisée sur le masque, ce qui limite le nombre de bulles d'air emprisonnées lors du placement de la lamelle tel que décrit dans le paragraphe précédent.

3.1.1.5. Fabrication de micropatterns à l'aide du dispositif PRIMO (Alvéole)

La seconde méthode pour la fabrication de nos micropatterns utilise le dispositif PRIMO, un outil commercialisé par la société Alvéole²⁹. Pour cette technique, nous fabriquons une brosse de polymère en PEG-SVA sur une lamelle de verre également nettoyée au préalable dans un bain d'ultrason et au plasma. Nous choisissons d'utiliser le PEG-SVA pour sa compatibilité avec le dispositif et pour sa robustesse. Ensuite, le dispositif PRIMO remplace le masque et le processus de photolithographie de la méthode précédente. C'est un boîtier, installé sur le microscope et piloté numériquement. Il envoie des UV sur la lamelle à travers l'objectif du microscope, brûlant directement les zones souhaitées de la brosse polymère en interprétant une image numérique. Enfin, comme dans la technique précédente, nous incubons la lamelle dans une solution contenant les protéines ECM.

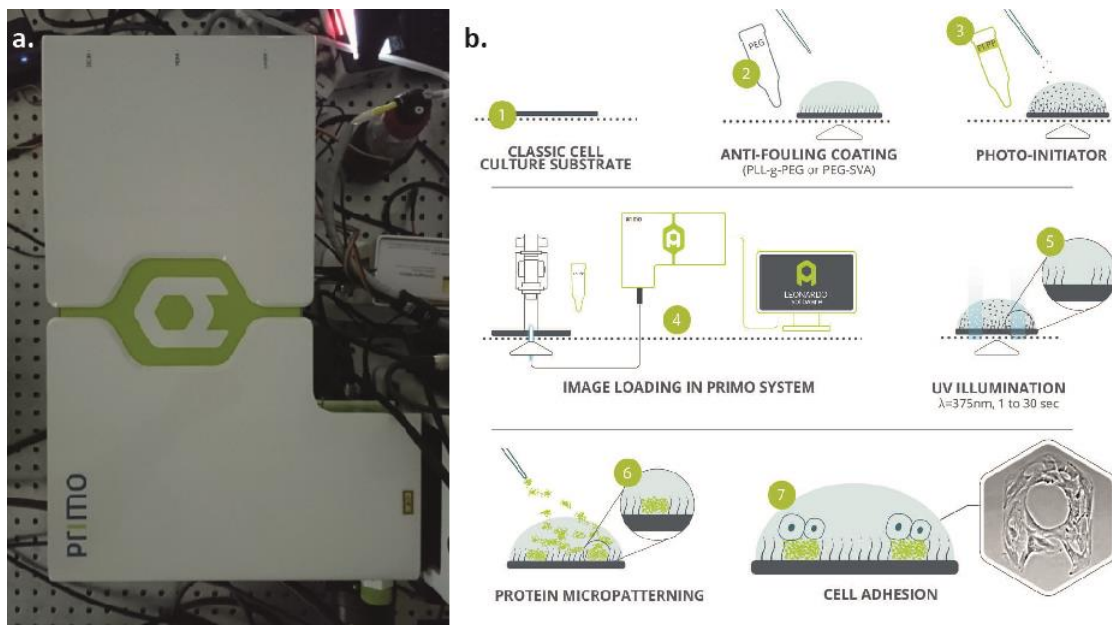


Figure 22. Fabrication de micropatterns avec le dispositif PRIMO d'Alvéole

a.) Dispositif Alvéole PRIMO connecté au microscope (Nikon Ti-2 Eclipse). **b.)** Schémas d'explication de la méthode de fabrication de microenvironnements avec le dispositif PRIMO (source : Alvéole) (traduction : **1**, substrat classique pour la culture cellulaire. **2**, revêtement anti-fouling (empêchant la fixation d'organismes). **3**, photo-initiateur. **4**, chargement de l'image dans le système PRIMO. **5**, illumination aux UV. **6**, revêtement des protéines suivant le motif des microenvironnements. **7**, adhésion des cellules.

3.1.1.6. Optimisation du protocole

Le paramétrage du système PRIMO pour le traitement des jonctions

Techniquement, le système PRIMO envoie un faisceau laser sur un miroir, qui le réfléchit et illumine de la sorte le polymère présent sur la lamelle afin de le détruire

²⁹ Alvéole est une entreprise spécialisée dans les dispositifs de contrôle du microenvironnement cellulaire. Website accessible à cet URL : <https://www.alveolelab.com/>

localement. Ce dispositif de miroir, appelé DMD (*digital mirror device*) est composé de 1824 x 1140 parties. Ces parties réfléchissent ou non le faisceau laser en fonction de l'interprétation d'une image de 1824 x 1140 pixels (en 8bits) envoyée par le logiciel. Les différents niveaux de gris de l'image correspondent à des différents temps d'illumination (et entraînent donc une plus ou moins grande destruction de la couche de polymère).

Lorsque nous envoyons au système PRIMO des images dont les dimensions (en pixel) dépassent celles du DMD, celui-ci découpe automatiquement l'image en sous-parties. Il nous est ensuite laissé le choix de traiter ou non les jonctions entre les sous-parties. **Pour réaliser nos microenvironnements de grandes dimensions, nous souhaitons traiter les jonctions afin qu'il n'y ait pas de rupture dans la couche de protéines.** Or, le système PRIMO fonctionne avec deux modes d'illumination. L'impression par le mode logarithmique est plus rapide mais les jonctions sont toujours légèrement visibles, tandis que **l'impression par le mode linéaire est plus lente mais très précise.**

Le traitement des jonctions correspond à une gestion de différents temps d'illumination. Les bords de l'image sont interprétés comme des gradients de niveaux de gris. Sans entrer dans les détails et en se plaçant du point de vue d'un utilisateur du dispositif, pour **réaliser des jonctions propres, nous devons réduire la puissance du laser (20%).** Cela augmente automatiquement le temps d'illumination pour maintenir la dose d'énergie finale. Il faut au minimum 4 secondes par champs de vue pour que le mode d'illumination linéaire s'active.

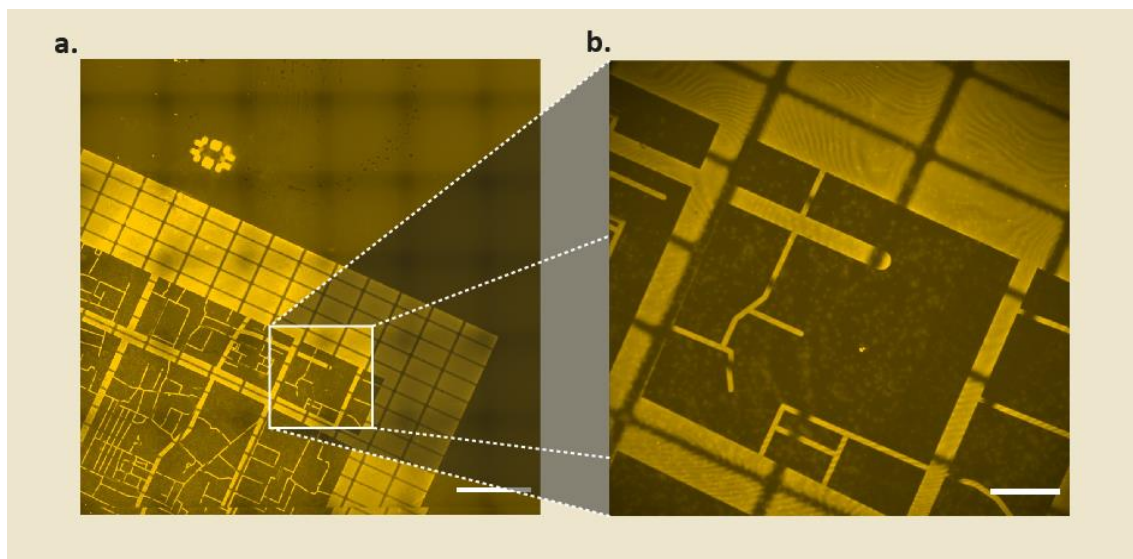


Figure 23. Traitement des jonctions avec le système PRIMO d'Alvéole

a.) Grand motif réalisé avec le système PRIMO, sans utiliser l'option de traitement des jonctions. Barre d'échelle : 1000 μm . **b.)** Zoom sur ce même motif. Barre d'échelle : 200 μm .

Le séchage irrégulier du gel photo-initiateur

Malheureusement, nombreuses sont nos lamelles de microenvironnements fabriquées avec cette méthode pour lesquelles nous observons des problèmes au niveau

du revêtement de protéines : hétérogénéités, grandes zones saturées ou non revêtues et phénomènes de *coulure*, de *bavure* des protéines.

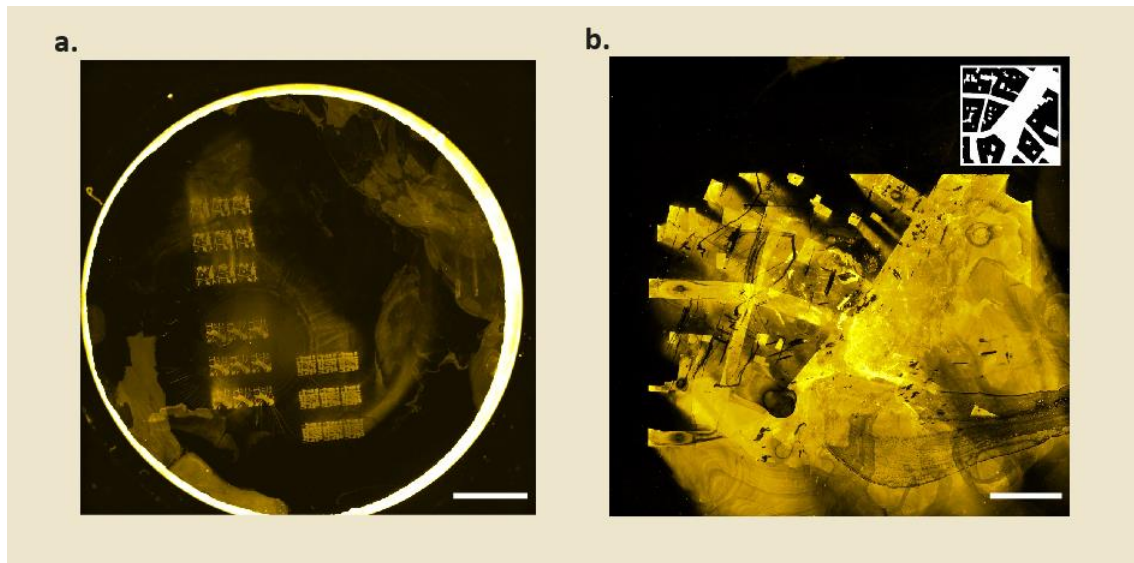


Figure 24. Microenvironnements inexploitable en raison du séchage irrégulier du gel photo-initiateur

a.) Lamelle entière fabriquée avec le système PRIMO sur laquelle nous voyons de nombreuses traces de mouvements de liquide (cratère, coulures, ...). Barre d'échelle : 5000 μm . **b.)** Un motif de mauvaise facture sur lequel nous observons rayures et bavures. L'encart en haut à droite représente la géométrie voulue. Barre d'échelle : 250 μm .

Nous déduisons de l'ensemble de ces microenvironnements de mauvaise facture que le séchage du PLPP-Gel, le photo-initiateur qui permet la destruction de la couche de polymère, est une étape clé de la fabrication de microenvironnement avec le système PRIMO et que nous ne parvenons pas à maîtriser lorsque nous souhaitons réaliser des microenvironnements de grande dimension. Il est possible de vérifier l'état de séchage du gel à l'œil. Un gel parfaitement lisse est encore trop liquide, tandis que la présence d'aspérités en surface du gel indique qu'il est sec. Nous nous appuyons donc sur l'observation de l'échantillon lors du séchage et sur l'observation de la fluorescence des protéines après l'*impression* pour identifier les raisons suivantes :

- Les caractéristiques thermiques et hydrométriques environnantes peuvent affecter le séchage du gel or nous n'avons pas mis en place un moyen de contrôle de ces conditions.
- Un long temps de séchage peut faire se rétracter le gel, ce qui abîme la couche de polymère, indépendamment de toute *impression*.
- Il est possible de modifier le temps de séchage du gel en contrôlant sa dilution dans plus ou moins d'éthanol. Cependant, au-delà du temps de séchage, cela modifie également l'étalement du gel et donc l'uniformité ou non de son épaisseur sur la lamelle.
- Le temps de l'*impression* pour un grand motif est très long (en raison de sa surface et de la graduation de l'illumination linéaire pour les jonctions) ce qui rend le séchage inégal à l'échelle de la lamelle.

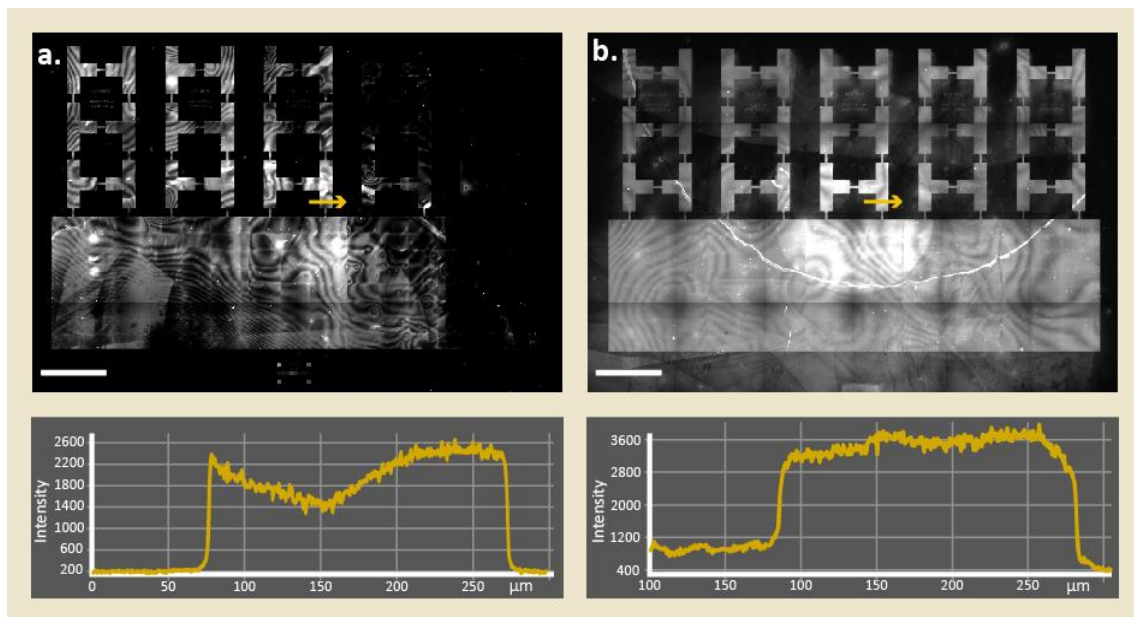


Figure 25. Comparaison de microenvironnements réalisés avec différents temps de séchage du gel photo-initiateur

Deux exemples d'un même motif imprimé après deux temps de séchage du gel différents : 10 minutes (a.) et 60 minutes (b.). Des zones n'ont pas été imprimées et des marques irrégulières sont notables dans le premier cas. Des traces diffuses en dehors des motifs sont présentes dans le second cas. Nous observons un rapport signal/bruit identique bien que le signal est moins fort dans le premier cas tandis qu'il y a beaucoup de bruit de fond dans le second. Barres d'échelle : 1 mm.

En conclusion, nous n'utilisons pas ce procédé de fabrication de microenvironnement pour des motifs de grandes dimensions. Nous préférons les résultats que nous obtenons en appliquant la méthode de photolithographie. Cependant, **nous l'utilisons lorsque nous souhaitons réaliser des motifs de petites dimensions et pour la rapidité du protocole entier depuis la conception à la fabrication.**

3.1.1.7. Préparation finale : revêtement des protéines

Lorsque la brosse de polymère est préparée puis les motifs *brûlés*, nous appliquons un revêtement de protéines. Nous utilisons de la fibronectine (qui permet aux cellules d'adhérer) et du fibrinogène (qui est associé à une protéine fluorescente, pour observer les motifs au microscope). Nous les mélangeons dans une solution de bicarbonate de sodium puis nous laissons incuber la lamelle trente minutes en contact avec cette solution.

Nous avons identifié deux éléments importants permettant d'optimiser cette étape de la préparation des microenvironnements : un mauvais positionnement de la lamelle lors de l'incubation peut rendre irrégulier le revêtement et laissera des traces tandis que le retrait de la solution de protéines à la fin de l'incubation peut endommager le revêtement. Nous présentons ici ces optimisations.

Positionnement de la lamelle lors de l'incubation

Nous avons amélioré notre capacité à produire un revêtement de protéine homogène sur la surface de la lamelle et **cette amélioration est commune aux deux protocoles**, avec la photolithographie et avec le système PRIMO.

Avant la modification, nous avons constaté un élément récurrent sur un grand nombre de lamelle revêtue de protéines dont l'homogénéité, la qualité du signal et le rapport signal/bruit étaient mauvais. **Cet élément récurrent est la présence d'un disque dans lequel le signal de fluorescence est extrêmement fort.** Cependant, cette fluorescence traduisant la présence des protéines ne respecte que peu la géométrie du motif, elle l'emplit entièrement et en déborde généreusement. Nous voyons même la formation de ce qui s'apparente à des *films* de protéines.

Nous avons par la suite constaté que **ce disque de fluorescence chaotique correspond à l'emplacement sur la lamelle où le premier contact avec la goutte de solution a lieu.** En effet, au moment de déposer la lamelle sur la solution de protéine (elle-même déposée sur un parafilm), nous faisons attention à bien présenter la face de la lamelle revêtue du polymère contre la goutte de solution mais n'avons aucune autre contrainte. Par conséquent, dans la majorité des cas, nous alignions le milieu de la lamelle avec l'emplacement de la goutte. Il ne s'écoule que quelques millisecondes entre le premier contact solution-lamelle et le recouvrement totale de la lamelle par capillarité lorsque cette dernière est déposée platement sur le plan de travail. Pourtant la récurrence de ce phénomène indique que ce geste technique empêche le revêtement homogène de la lamelle entière. La figure ci-après présente ce disque fluorescent.

La stratégie que nous avons implémentée dans le protocole afin d'enrayer ce phénomène est de déposer la goutte de solution contenant les protéines hors du centre du parafilm, puis de **déposer la lamelle de sorte à ce que son bord soit le premier point de contact avec la solution.**

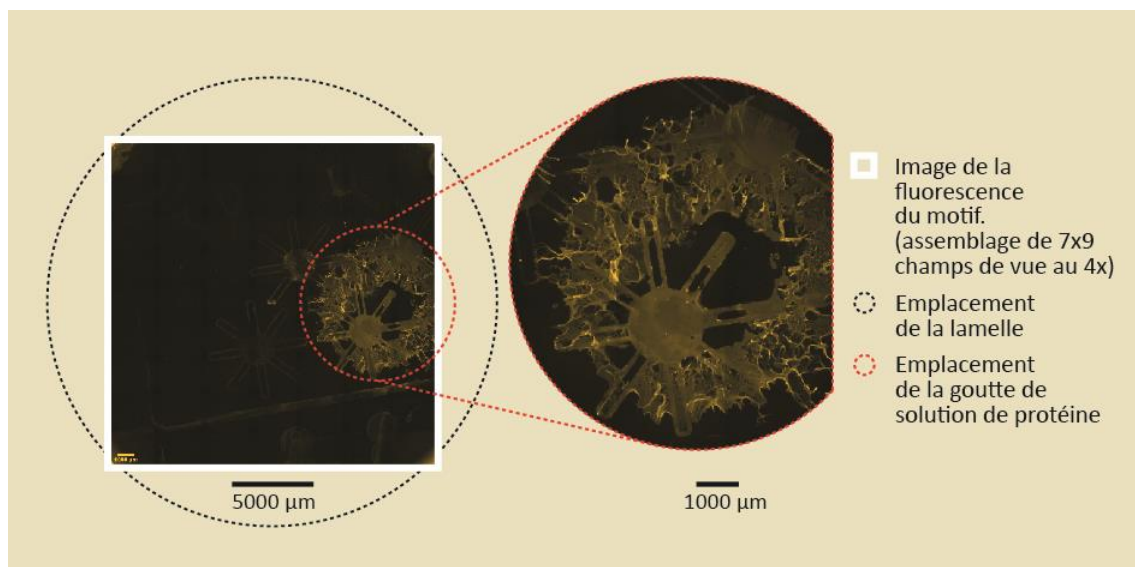


Figure 26. Apparition d'un artefact dépendant de la position de la lamelle lors du revêtement des protéines

Nous pouvons voir la goutte de l'incubation des protéines car cette région est saturée de signal, en dehors des motifs tandis que la majorité de la lamelle manque de signal. Il s'agit

d'un échec de fabrication, synonyme de mauvaise technique pour la préparation du revêtement.

La gestion de l'eau à la fin de l'incubations des protéines

Le retrait de la lamelle à la fin d'une incubation est un geste technique réalisé à plusieurs reprises à travers tout le protocole. Pour une réalisation correcte de cette étape, il est préférable que la lamelle soit détachée complètement de la surface du parafilm avant d'être attrapée à la pince et retirée. Cela évite d'exercer des forces capillaires d'arrachement sur le revêtement faisant l'objet de l'incubation.

La stratégie adoptée pour faciliter ce retrait en douceur et ainsi s'assurer du meilleur revêtement possible est de **recouvrir généreusement la lamelle et le parafilm d'eau déionisée**. Ce dernier étant hydrophobe, une goutte d'eau bien ronde se forme, englobant la lamelle qui incube et facilitant son détachement.

Nous attirons votre attention sur le fait que ce geste n'est pas suffisant pour rincer la lamelle. En effet, malgré la dilution de la goutte de solution de protéines dans un volume d'eau jusqu'à 100 fois supérieur, nous avons pu observer au microscope une fluorescence parasite en mouvement. Cette fluorescence s'explique par la présence d'une fine couche d'eau étant restée sur le verso de la lamelle, contenant des protéines fluorescentes.

En conséquence de ces deux éléments technique, l'incubation des protéines doit être suivie d'un rinçage très abondant des deux côtés de la lamelle.

3.1.1.8. Complémentarités des deux méthodes

Grandes quantités et dimensions des micropatterns (photolithographie)

L'utilisation de la photolithographie pour la préparation des patterns nous offre deux avantages : nous pouvons produire une très grande quantité de micropatterns en une seule préparation et nous pouvons produire des micropatterns de grande dimension. En effet, le masque est grand, c'est un carré de onze centimètres de côté. Nous pouvons aisément disposer sur sa surface une dizaine de lamelle de verre de trente-deux millimètres de diamètre et donc obtenir un très grand nombre de micropatterns de même facture. Cela est un gain de temps expérimental considérable. En réalisant tous les micropatterns dans les mêmes conditions, on s'assure de pouvoir comparer les résultats entre eux avec un minimum de variabilité expérimentale. Cependant, le temps nécessaire à l'obtention du masque auprès d'un fournisseur extérieur se compte en semaines et les motifs géométriques voulus pour la recherche doivent être décidés en amont. Chaque nouveau questionnement géométrique entraîne des coûts monétaires et temporels non négligeables.

Rapidité et nombres d'itérations (PRIMO)

L'utilisation du dispositif PRIMO, à l'inverse, nous permet de réaliser des micropatterns sur une seule lamelle à la fois, sur une zone de dimension plus réduite. Le facteur limitant en terme de dimension du pattern semble résulter de l'inadéquation

entre le temps d'exposition aux UV nécessaire pour brûler le polymère (trop long) et le temps de séchage du gel photo-initiateur (trop court). Nous n'avons réussi à produire des micropatterns de qualité qu'à petite échelle, soit quelques centaines de microns.

Cependant, le processus de préparation des micropatterns n'étant que de quelques heures, c'est un formidable gain de temps. Ce protocole est très utile pour le prototypage des géométries de confinement car il permet de passer directement de la conception à la réalisation. En conséquence, c'est un outil extrêmement pertinent pour l'aspect itératif de notre recherche.

Couplage des deux méthodes

Ces deux méthodes sont donc complémentaires pour nos besoins expérimentaux. Nous utilisons le dispositif PRIMO pour de petits motifs ou lorsque nous souhaitons rapidement étudier une nouvelle géométrie et nous utilisons la photolithographie pour produire de très grands motifs ou produire un grand nombre de micropatterns dans les mêmes conditions. Nous couplons les deux méthodes afin d'être créatifs, de tester et de diversifier rapidement nos hypothèses (PRIMO) puis afin de valider ces dernières, multiplier les données statistiques et démontrer la répliquabilité d'un phénomène observé (photolithographie).

Quatre ordres de grandeurs

Grâce à la maîtrise de ces différents points de la méthode, nous pouvons donc produire des microenvironnements ayant une précision de l'ordre du micromètre tout en ayant des dimensions de l'ordre du centimètre. Il y a donc quatre ordres de grandeurs qui séparent l'un de l'autre. Pour l'analogie, si nous plaçons cette précision à échelle humaine au niveau de la dizaine de centimètre (la position d'une porte dans une pièce par exemple), cela revient à construire une surface de quelques kilomètres de côté.



Figure 27. Échelles de grandeur entre architecture et mécanobiologie

Nous remarquons l'analogie des rapports de proportions entre le niveau de précision et la surface totale de la fabrication de microenvironnements ou d'éléments architecturaux. $2 \text{ km} = 20\,000 \text{ dm}$; $2 \text{ cm} = 20\,000 \text{ μm}$.

Il s'agit d'une performance technique appréciable qui nous offre un très grand potentiel quant à la conception des microenvironnements et donc une très grande liberté sur le choix de nos objets d'étude géométriques.

De ce fait, nous avons évidemment exploré plusieurs rapports d'analogie et d'échelle lors de nos expérimentations : à l'échelle du mouvement d'un humain dans un dispositif, de l'ordre du décimètre et du mètre : [p.135] et à l'échelle plus large, urbaine, des mouvements de véhicules dans la ville, de l'ordre du kilomètre [p.144].

3.1.2. Construction de prototypes à échelle humaine

3.1.2.1. Mesurer le déplacement humain dans un espace contraint

Nous souhaitons créer une analogie expérimentale entre l'échelle cellulaire et l'échelle humaine. Nous créons à ce titre des environnements dans lesquels des personnes invitées peuvent se déplacer et interagir avec la géométrie qui les entourent. L'échelle à laquelle nous menons nos expériences est celle d'un corps en mouvement, celle du déplacement usuel d'un être humain lorsqu'il déambule ou marche sur quelques mètres.

3.1.2.2. La migration humaine étudiée est bidimensionnelle

La migration humaine est tridimensionnelle. Nous évoluons dans un monde que nous percevons en trois dimensions. Cependant, dans le cadre de nos observations, nous nous intéressons aux déplacements du corps dans son ensemble, lors d'une activité de déambulation ou de marche. Par conséquent, nous faisons abstraction de capacités de mouvement plus complexes tels que l'enjambement de petits objets ou l'inclinaison du buste pour contourner un obstacle en paroi ou au plafond par exemple. Nous cadrans nos expérimentations sur le déplacement au sol, sur une surface. Les géométries de nos environnements sont donc définies par leurs plans. À partir de cette abstraction et de ce cadrage, nous pouvons considérer dans nos expérimentations que la migration humaine est – comme pour les cellules – une migration bidimensionnelle.

3.1.2.3. Nous menons des expériences in vitro

Par analogie avec la création de microenvironnements pour l'observation de la migration des cellules, les expériences menées à l'échelle des humains sont faites en dehors d'un contexte que l'on pourrait qualifier de *naturel*. C'est-à-dire que nous reproduisons un environnement géométrique artificiel, car construit de toute pièce dans des conditions expérimentales maîtrisées. En ce sens, nous pouvons dire que nos expériences sont *in vitro*. Nous nous assurons de la sorte de la réduction au maximum du nombre de paramètres autres que la géométrie pouvant interagir avec le déplacement des personnes.

Nous avons construit nos dispositifs expérimentaux dans L.E.I.C.A. (le Laboratoire d'Étude Immérgé des Conduites Ambiantes) qui est situé au sein de l'ENSAG. Il s'agit d'une plateforme pédagogique développée dans le cadre de la chaire partenariale d'enseignement et de recherche en architecture *L'écologie numérique, le design environnemental, l'architecture 2.0 : Digital RDL (Research by Design Laboratory)*. Elle est conçue et équipée pour répondre aux besoins de la recherche architecturale portant sur la perception de l'architecture. Il s'agit d'un espace de 26 m² dans lequel nous pouvons construire des dispositifs architecturaux, produire des ambiances architecturales et en faire l'expérience.

3.1.2.4. Constructions des environnements

Pour construire nos environnements à échelle humaine, nous faisons le choix d'utiliser des ossatures bois. Cela nous permet de répondre à un ensemble de contraintes et de besoins :

- L'installation doit disposer de grandes surfaces car nous souhaitons *envelopper* les participants.
- L'installation doit être au maximum uniforme et neutre visuellement.
- L'installation doit être autoportante et légère.
- L'installation doit être amovible ou modulable pour être réutilisée dans différentes configurations.
- La mise en œuvre doit être rapide et relativement simple, les outils nécessaires doivent être accessibles et facilement maîtrisables.
- Le coût global doit rester bas.

Concrètement, nous avons utilisé des panneaux de contreplaqué de faible épaisseur que nous avons rigidifiés à l'aide de tasseaux de bois. Pour leur mise en œuvre, nous avons fait des découpes à la scie circulaire et à la scie à onglet et nous avons fait des assemblages à l'aide d'une perceuse-visseuse. Ces constructions sont légères sans être fragiles et sont amplement suffisantes pour délimiter les déplacements humains. Évidemment, il est possible de détruire l'installation en s'appuyant avec entrain dessus. Nous avons supposé que ce type de situation ne se produirait pas lors de l'exploration par les participants. Nous n'avons en effet relevé aucun comportement compromettant la tenue de l'installation ou la sécurité des participants.

Enfin, nous avons configuré l'espace en plaçant nos installations au centre de la plateforme L.E.I.C.A. par ailleurs propre et vide. Cela permet d'obtenir des dégagements autour des points d'entrée ou de sortie déterminés. Ces constructions ont été faites en alliance avec les étudiants du master Architecture, Ambiances et Cultures Numériques (AACN). En effet, la plateforme L.E.I.C.A. est dédiée aux activités architecturales de recherche et de pédagogie. Nous avons tiré parti des locaux pour instaurer un cadre expérimental propice à nos observations. Parallèlement, grâce à notre outil, nous avons contribué au développement pédagogique des travaux étudiants, qui ont pu mesurer l'impact d'une géométrie sur un comportement spatial.

3.1.3. Conception des géométries

3.1.3.1. La modélisation paramétrique

Que ce soit à l'échelle cellulaire ou à l'échelle humaine, la conception de nos environnements est identique. Nous générons nos géométries en utilisant un outil de modélisation paramétrique. Il s'agit d'une pratique émergente dans le champ de l'architecture bien qu'encore peu rependue dans la profession.

Techniquement, il s'agit du programme *Grasshopper* en tant que plug-in du logiciel de CAO *Rhinoceros 3D*. Ce dernier, développé par *Robert McNeel & Associates* est un modèleur surfacique. Il permet de modéliser des tracés vectoriels, des surfaces et des

volumes (en tant que polysurfaces fermées). Nous l'utilisons pour le tracé et l'exportation de nos géométries, comme support du programme *Grasshopper*. Ce dernier, développé par *David Ruitten*, est un éditeur graphique d'algorithmes intégré aux outils de *Rhinoceros 3D*. Il permet de programmer sans connaissance préalable de langage informatique, à travers une interface visuelle. Nous l'utilisons pour générer nos géométries à partir d'un script. Contrairement aux logiciels de modélisations classiques utilisés dans le champ de l'architecture qui permettent de créer ou transformer des géométries par manipulation, ajouts, suppressions, déformations d'éléments, il s'agit ici d'énoncer l'ensemble de règles qui génèrent une morphologie.

L'avantage de la modélisation paramétrique réside dans le fait qu'il est possible de générer des séries de géométries toutes différentes en un seul script, ce qui implique un gain de temps sur la conception. C'est un outil très maniable. Le script génératif établit les relations logiques entre les différents éléments géométriques à partir de paramètres. Une fois le script réalisé, il est possible d'en figer le schéma logique et de n'en éditer que les paramètres.

Pour illustrer ce fonctionnement et son avantage considérable en terme de maniabilité de la modélisation, voici par exemple une série d'environnement que nous avons conçus. Sur la figure ci-dessous, nous présentons la modélisation d'un couloir dont les parois suivent une géométrie de *ratchet* [p.133].

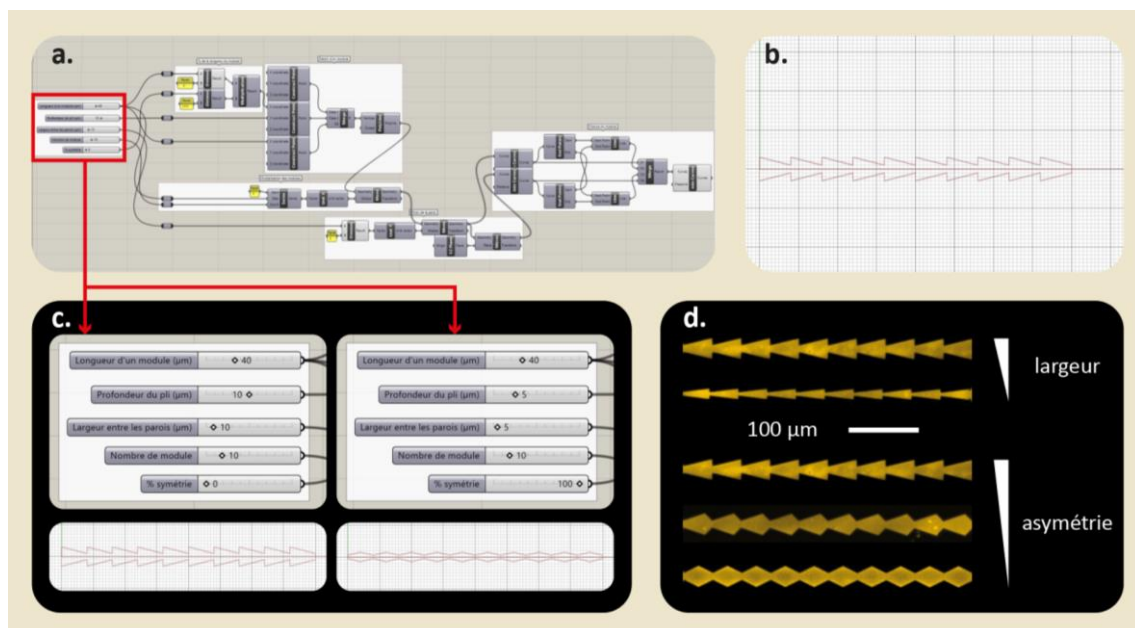


Figure 28. Modélisation paramétrique de géométries ratchets

a.) Script génératif des motifs réalisé sur le programme *Grasshopper*. b.) Visualisation de la géométrie du script génératif dans l'espace de modélisation de *Rhinoceros 3D*. c.) Deux options de paramétrage du script génératif, produisant deux géométries *ratchets* différentes. d.) Résultat : série de microenvironnements réalisés pour la culture cellulaire. Le script unique permet de générer 6 motifs (deux déclinaisons de largeurs et trois déclinaisons de symétrie).

Voici la logique du script [Figure 28.a] qui décrit la modélisation du couloir :

- Traçage d'un module d'une paroi en fonction des dimensions du *ratchet* (profondeur et symétrie du pli, longueur du module),
- Duplication de ce module un certain nombre de fois,

- Duplication en miroir de cette série de module pour faire la seconde paroi,
- Clôture des deux parois pour obtenir une géométrie fermée.

Le résultat est celui que nous visualisons dans l'espace de modélisation [Figure 28.b]. Une fois le script réalisé, il est très facile d'éditer les paramètres, au nombre de cinq dans notre exemple [Figure 28.c]. Dans les deux modélisations présentées, deux paramètres restent identiques : la longueur d'un module et le nombre de module tandis que les trois autres sont modifiés : la distance entre les deux parois, la profondeur et la symétrie du pli. Les résultats respectifs sont également visualisés dans l'espace de modélisation.

Nous voyons qu'il est très simple, une fois le script construit, d'éditer la géométrie en faisant varier un ou plusieurs paramètres. À l'aide de cet outil, nous avons produit six variations de couloirs *ratchets* en modifiant les largeurs entre les parois et leurs profondeurs ainsi que le niveau d'asymétrie des parois [Figure 28.d].

3.1.3.2. De la conception à la fabrication

Les outils de modélisation paramétrique de l'architecture offrent aux architectes la possibilité de s'inscrire dans un continuum conception – fabrication – expérimentation. C'est-à-dire que cet outil propose d'élaborer un fichier numérique unique permettant à la fois de modéliser un objet architectural mais également de le produire à partir de machines à commande numérique. Ce processus de design est l'un des objets de recherche étudiés par la chaire partenariale Digital RDL. Ici, les différentes options de production de nos environnements nous conduisent à adopter trois stratégies :

- Pour la fabrication de microenvironnements avec la photolithographie, nous exportons nos géométries sous forme de tracés vectoriels vers le logiciel KLayout afin de le rendre compatible avec les équipements de notre fournisseur de masque.
- Pour la fabrication de microenvironnements avec le dispositif PRIMO, nous exportons nos géométries sous forme d'images bitmap afin qu'elles soient interprétées par Leonardo, le logiciel développé par Alveole, associé au dispositif PRIMO.
- Enfin, pour la fabrication de dispositifs architecturaux à échelle humaine, nous appliquons des cotations aux tracés vectoriels avec le logiciel *Rhinoceros 3D* puis nous les imprimons. Nous fabriquons ensuite les dispositifs simplement en suivant les plans.

Enfin, les résultats obtenus par les expérimentations à partir de ces environnements produits réinterrogent leurs géométries et engagent une nouvelle itération par la modification des paramètres et la production des nouveaux environnements.

Dans cette logique, nous notons un très grand intérêt à la maniabilité de cet outil qu'il est pratique de coupler avec l'utilisation du dispositif PRIMO pour la fabrication des microenvironnements. Il y a une synergie qui s'installe lors de l'utilisation conjointe des deux outils. Cela permet par exemple de suivre l'enchaînement suivant :

modification d'un paramètre dans le script → exportation de la géométrie → chargement dans le programme Leonardo (PRIMO) → fabrication du microenvironnement, le tout en moins d'une heure. La maîtrise de ces deux outils permet d'établir un temps record entre l'étape de conception et celle de fabrication.

3.2. Élaboration de deux protocoles pour la culture des kératocytes

Hypsophrys Nicaraguensis et kératocytes

Les cellules kératocytes se trouvent chez certains poissons, dont les *Hypsophrys Nicaraguensis*, originaires d'Amérique centrale et de la famille des Cichlidae. Elles sont réputées pour leur vitesse de migration très rapide : 0.37 $\mu\text{m}/\text{sec}$ [68]. À titre de comparaison, les cellules classiquement étudiées en biologie ont plutôt une vitesse de migration de 0.1 à 0.8 $\mu\text{m}/\text{min}$ (ce qui est de 30 à 200 fois plus lent) [69]. Également, elles ne semblent pas se diviser et sont pratiques pour les expérimentations car elles sont cultivées à température ambiante (contre 37°C pour la majorité des cellules) et ne nécessitent pas de contrôle du CO₂. Nous élevons des poissons *Hypsophrys Nicaraguensis* au laboratoire et leur prélevons des écailles lorsque nécessaire.

Notre méthode de culture des cellules kératocytes à partir des écailles est adaptée des méthodes usuelles [55]. Nous l'avons déclinée en deux variantes complémentaires. Le choix de l'une ou l'autre de ces variantes dépend du paramètre que l'on souhaite étudier et concerne plus particulièrement la géométrie des environnements. Le premier protocole (A) sera utile pour une configuration initiale de l'expérience où les cellules sont réparties de manière aléatoire et homogène sur l'ensemble du motif étudié. À l'inverse, le second protocole (B) sera utile pour une configuration initiale de l'expérience où les cellules sont regroupées en un endroit particulier à partir duquel elles explorent le motif. Chacun implique quelques modifications de la méthode initiale afin de répondre à certaines contraintes techniques que nous avons rencontrées et que nous vous présentons ici. Ces variantes sont toutes deux décrites en détail dans les protocoles en annexe de ce manuscrit.

Découplage de l'EGTA et de la trypsine

La trypsine et l'EGTA sont deux substances actives que nous utilisons pour individualiser les cellules. Elles sont régulièrement associées dans la culture cellulaire. Diluées en solution, elles permettent de *couper* les jonctions intercellulaires et de *couper* les adhésions des cellules avec le substrat. Nous avons souhaité découpler leur usage afin de pouvoir contrôler avec précision la concentration de chacune d'entre elles. L'enjeu était de développer les deux méthodes que nous présentons avec une utilisation de l'EGTA commune, mais une utilisation de la trypsine que dans l'un des cas.

Également, une raison historique justifie ce découplage. En isolant chacun des paramètres du protocole, cela nous a permis de diagnostiquer plus aisément les éléments potentiellement problématiques lorsque nous rencontrions des anomalies dans

l'ensemble du protocole, de la fabrication des microenvironnements à la culture cellulaire.

3.2.1. Protocole A (EGTA+Trypsine) : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles

3.2.1.1. Résumé

Cela consiste à déposer plusieurs écailles dans des boîtes de Pétri individuelles et les recouvrir chacune d'un milieu de culture³⁰ et d'une lamelle de verre ($\varnothing=22\text{mm}$). Il faut ensuite laisser les échantillons pendant 16h dans le noir à température ambiante, pour que l'intégralité des tissus de kératocytes migrent depuis leurs écailles respectives vers le substrat des boîtes de Pétri. Pour chaque échantillon, les kératocytes sont ensuite rincés trois fois au PBS, séparés les uns des autres en incubant dans une solution de PBS contenant de l'EGTA à 2.5mM pendant 20 minutes. Puis elles sont détachées de la boîte de Pétri en incubant dans une solution de PBS contenant de la Trypsine à 0.005% pendant 2-3 minutes. Après quoi, elles sont resuspendues dans du milieu de culture puis les populations de chaque échantillon sont toutes transférées sur une même lamelle de verre ($\varnothing=32\text{mm}$) avec un revêtement de protéines composé de microenvironnements [p.79]. Enfin, nous attendons 60-70 minutes que les cellules aient adhéré au substrat pour pouvoir les imager [p.100].

³⁰ Le milieu de culture utilisé est préparé sous conditions stériles. Il s'agit de Leibovitz's Media L-15, complété de 10% de FBS et d'1% de pénicilline-streptomycine. Il est stocké à 4°C pendant plusieurs semaines. Immédiatement avant la culture des cellules, il est de nouveau complété de 30% d'eau déionisée et 3% d'HEPES à 1M (pH 7.4) puis il est filtré avec un filtre de 0.22 μm . Les détails sont accessibles en annexe.

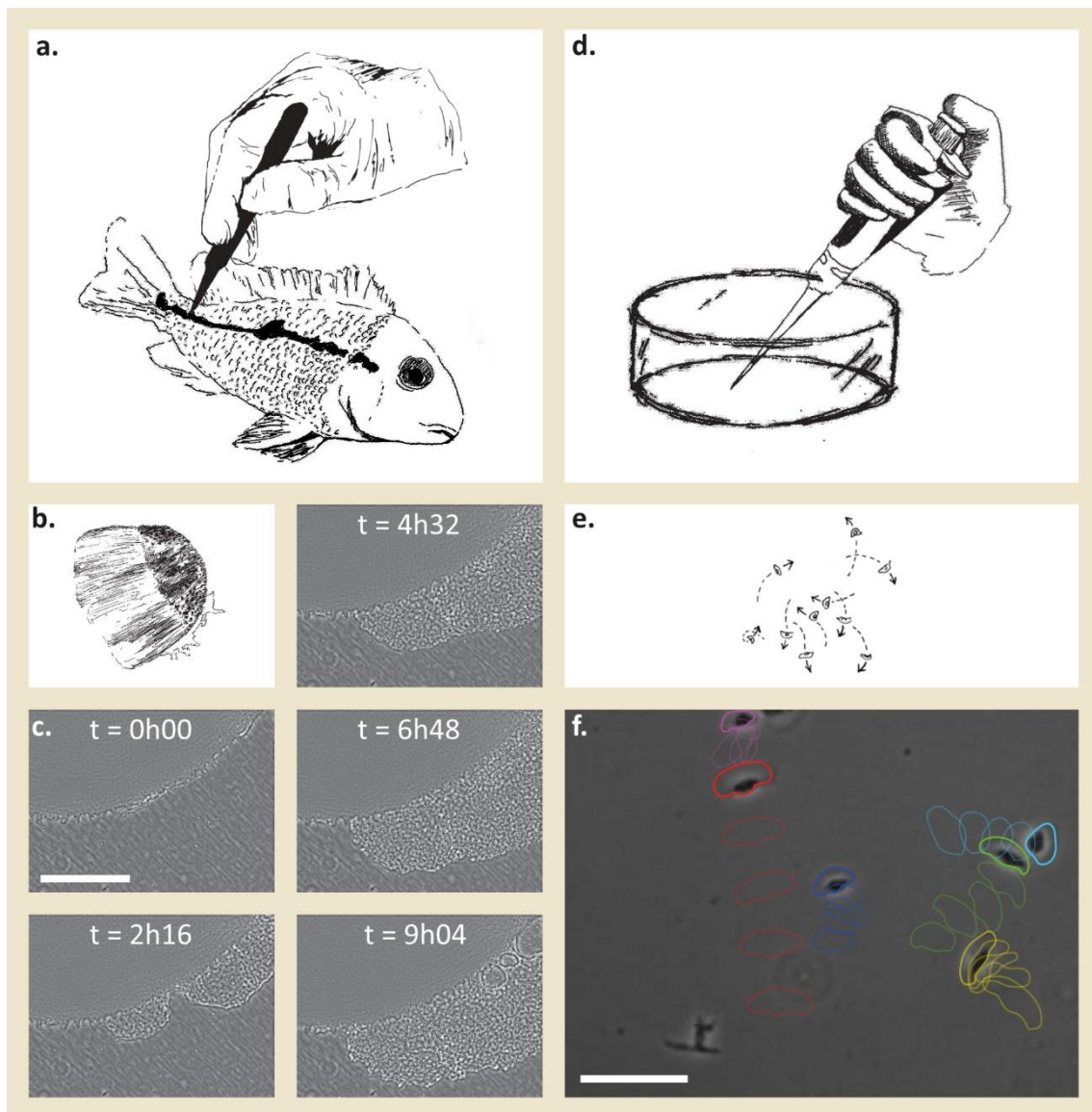


Figure 29. Du poisson *Hypsophrys Nicaraguensis* aux cellules kératocytes

Principales étapes en suivant le protocole A. Suivi d'une écaille. **a.)** Une écaille est prélevée sur le poisson. **b.)** L'écaille est déposée dans une boîte de pétri. **c.)** Le tissu migre et quitte l'écaille, il lui faut entre 12 et 24h (barre d'échelle : 1 mm). **d.)** Les cellules sont immergées dans un milieu de séparation contenant de l'EGTA afin de les détacher les unes des autres puis dans un milieu de séparation contenant de la Trypsine afin de les détacher du support. **e.)** Les cellules sont ensuite déposées sur une lamelle recouverte de protéines de la matrice extracellulaire. **f.)** Les cellules migrent individuellement (Une couleur par cellule ; intervalle entre deux images : 5 min ; barre d'échelle : 100 µm).

3.2.1.2. Objectifs

Cette méthode répond à trois objectifs expérimentaux. Le premier est d'obtenir une population de cellule qui soit distribuée de manière homogène sur l'ensemble des motifs ou même sur un motif en particulier. Le second objectif est de placer les cellules dans des motifs clos sans éléments géométriques additionnels, tels que des entrées-sorties ou des surfaces connectant les motifs entre eux. Le troisième objectif est d'utiliser une

lamelle dont le revêtement de protéine est *frais*, car préparé immédiatement avant l'arrivée des cellules.

3.2.1.3. Concentrations et dilutions de la trypsine

À la fin de l'étape de trypsinisation, les cellules sont détachées les unes des autres et du substrat. Elles se retrouvent en suspension dans la solution de trypsinisation. Dès lors, nous diluons (4x) cette solution – et les cellules qu'elle contient – dans du milieu de culture filtré pour kératocytes, lui-même étant préalablement placé dans le porte-échantillon avec les microenvironnements. Notre protocole prévoit la dilution d'1 mL de solution de trypsinisation dans 4 mL de milieu de culture. Cette concentration finale réduite de la trypsine permet de désactiver pleinement ses effets et en conséquence les cellules peuvent de nouveau adhérer au substrat.

Or, la contenance maximale de nos portes-échantillons est de 5 mL. Cette contrainte se cumulant avec celle de la disposition d'une écaille par boîte de Pétri [p. 123], nous ne pouvons cumuler la population cellulaire de plusieurs écailles en maintenant ces proportions de solution. Afin de remédier à ce verrou technique, nous avons décidé de réduire la quantité de solution de trypsinisation par écaille. En réduisant à 200 µL par écaille, il est possible de cumuler la population en cellule kératocyte de cinq écailles par échantillon.

Néanmoins, cela impose une nouvelle contrainte technique. Le volume que représente 200 µL ne permet pas de couvrir l'intégralité du fond des boîtes de Pétri que nous utilisons pour la migration du tissu. Il est donc nécessaire de viser l'emplacement du tissu (visible à l'œil nu) lors du dépôt de la solution de trypsinisation. De surcroît, nous obtenons de meilleurs résultats lorsque nous pipetons la solution et tapotons la boîte de Pétri afin d'aider mécaniquement au détachement des cellules.

3.2.2. Protocole B (EGTA) : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement

3.2.2.1. Résumé

Cela consiste à déposer une seule écaille, directement sur une lamelle de verre ($\varnothing=32\text{mm}$) composée de microenvironnements [p.79], la recouvrir d'un milieu de culture³¹ puis d'une lamelle de verre ($\varnothing=22\text{mm}$) et de laisser l'échantillon pendant 16h dans le noir à température ambiante. Les kératocytes sont ensuite rincées trois fois au PBS, séparées les unes des autres en incubant dans une solution de PBS contenant de l'EGTA à 2.5mM pendant 20 minutes. Et enfin, diluée dans du milieu de culture.

³¹ Le milieu de culture est identique dans les deux protocoles.

3.2.2.1. Objectifs

Cette méthode répond à plusieurs objectifs. Un premier objectif qui peut être un critère expérimental est d'obtenir une grande densité de cellule sur une zone réduite de la lamelle. Les cellules sortent directement de l'écaïlle vers la zone du motif que nous souhaitons étudier, nous nous assurons donc de leur présence en grand nombre. Un second objectif est de répondre stratégiquement à une analogie issue de l'architecture, car l'entrée sur site est orientée. Les cellules n'adhèrent pas de manière homogène sur l'ensemble des motifs mais accèdent à un ou plusieurs d'entre eux depuis une zone définie, comme le font des humains invités à parcourir un espace. Un troisième objectif, de l'ordre du détail pratique est de réduire le temps de l'expérimentation. Dans le premier protocole, les cellules, suspendues après utilisation de la trypsine et transférée sur le microenvironnement ensuite, adhèrent à nouveau au substrat après 60 à 70 minutes et nécessitent un nouveau rinçage. Ce temps peut être économisé. Un quatrième objectif est la réduction du nombre d'étape expérimentale. Automatiquement, cela va de pair avec une réduction de certaines marges d'erreurs ou d'incertitudes. Comme évoqué précédemment, il est nécessaire de rincer les cellules après leur adhésion dans le cas d'utilisation de trypsine. Cette étape est potentiellement responsable de la suppression de cellules saines n'ayant pas eu le temps d'adhérer (temps trop court) ou de l'ancrage maladroit de cellules en dehors des motifs, qui mourront rapidement et pollueront le milieu (temps trop long). Également, nous ne modifions pas les adhésions initiales de la cellule au substrat avec l'usage de trypsine.

En ce qui concerne l'application de cette méthode, il est important de prendre quelques repères lorsque nous souhaitons déposer l'écaïlle sur la lamelle, directement sur des zones recouvertes de protéines. Ces repères concernent l'écaïlle elle-même, le tissu de kératocytes qui s'en échappe ainsi que la position et l'orientation du microenvironnement sur la lamelle.

3.2.2.2. Migration de l'écaïlle : observation de la sortie du tissu

Nous avons observé la migration du tissu en sortie d'écaïlle, quel que soit le protocole suivi par la suite car il s'agit bien évidemment d'une étape commune à toutes nos expérimentations. Si une cellule kératocyte unique est indécélable à l'œil nu, le tissu, lui, est bien visible. Il est donc possible d'observer la manière dont il s'échappe de l'écaïlle. Tout en corrélant cela avec une prise de vue au microscope pour obtenir plus de détails.

Il est important de placer l'écaïlle sur le microenvironnement en fonction des zones dans lesquelles le tissu se reprendra le plus. De manière générale, nous avons observé deux zones dans lesquelles les cellules quittent l'écaïlle en priorité et s'étalent plus largement : ce sont les points de jonctions entre la zone sombre de l'écaïlle et la zone claire. Ensuite, le tissu est également susceptible de s'échapper dans toutes les directions depuis la partie sombre.

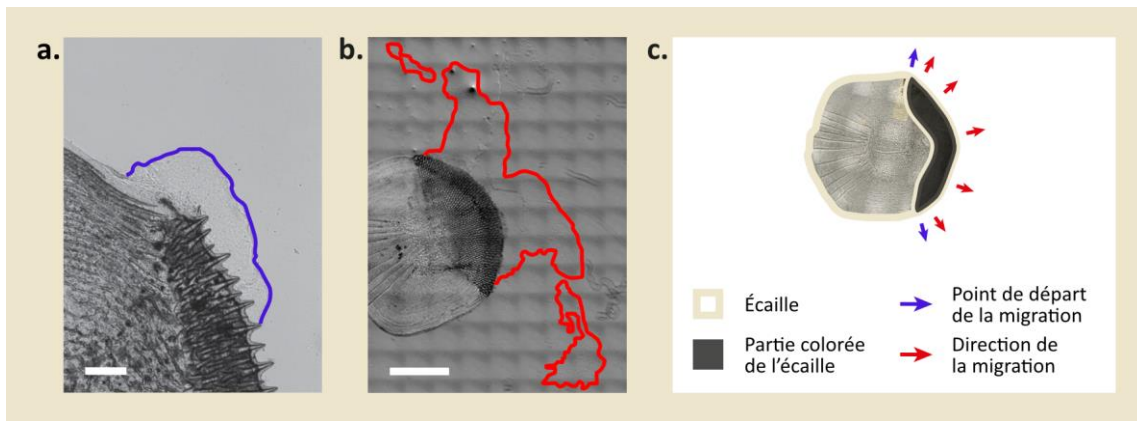


Figure 30. Migration du tissu de kératocytes depuis l'écaïlle

Migration sur boîte de Pétri. **a.)** Zone à partir de laquelle la migration hors de l'écaïlle démarre. Barre d'échelle : 250 µm. **b.)** Surface occupée par le tissu après 16h de migration. Barre d'échelle : 2000 µm. **c.)** Schéma de la direction de migration du tissu.

Pour placer convenablement l'écaïlle sur le microenvironnement, il convient de placer l'une de ces régions, une zone de jonction ou le front sombre de l'écaïlle sur une aire accessible aux cellules, revêtue de protéines. Pour cela, il faut connaître le motif du microenvironnement en amont, car celui-ci n'est évidemment pas visible à l'œil nu.

3.2.2.3. *Un indice éphémère : la formation de microgouttelettes*

Il est possible de repérer l'emplacement du microenvironnement grâce aux mouvements liquides (eau déionisée, PBS ou milieu de culture) sur la lamelle. Effectivement, le revêtement de polymère étant hydrophobe et le revêtement de protéines ne l'étant pas, des microgouttelettes visibles à l'œil nu peuvent se former à l'emplacement des microenvironnements lorsque nous rinçons la lamelle. Or, il s'agit d'une étape préliminaire à la dépose de l'écaïlle : retirer le volume d'eau déionisée dans lequel la lamelle est stockée. Il faut un court temps entre les deux étapes pour éviter que la lamelle ne sèche complètement et que la couche de protéine ne se dégrade en conséquence. Cependant, il ne faut pas laisser les gouttelettes d'eau sur la lamelle pour ne pas modifier les propriétés du milieu de culture dans lequel le tissu migrera hors de l'écaïlle. Pour ces raisons, le repérage de l'emplacement du microenvironnement dû à sa caractéristique hydrophile n'est que peu précis. Cela reste néanmoins une technique utilisable dans le cas d'un faible besoin de précision et sur un microenvironnement de grande surface.

3.2.2.4. *Un geste précis : le marquage de la lamelle*

Une technique plus précise, consiste à placer un repère au verso de la lamelle afin de spécifier l'emplacement du microenvironnement. En amont du retrait de l'écaïlle, il faut placer la lamelle préparée au microscope et activer la source lumineuse correspondante à la fluorescence des protéines du microenvironnement. Il faut ensuite positionner la platine de sorte à ce que le faisceau lumineux éclaire la zone que vous souhaitez marquer. Puis il suffit de placer un repère à l'aide d'un marqueur sur le verso de

l'écaïlle, en s'aidant du faisceau lumineux. La difficulté de ce geste technique réside dans la précision de ce marquage. Il est possible de vérifier le bon emplacement du repère à l'image puisque celui-ci bloquera la lumière et sera donc visible. Pour cette raison, il faudra également penser à le retirer avant l'acquisition d'image finale si besoin.

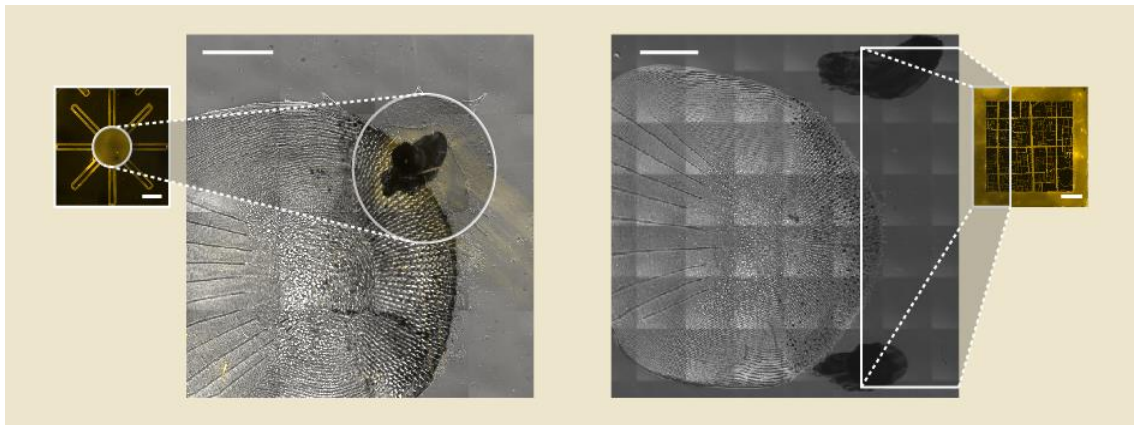


Figure 31. Marquages des lamelles avant de déposer l'écaïlle

Deux exemples de marquage au feutre sur le verso de la lamelle, à adapter en fonction du motif. Barres d'échelles : 1000 μm .

3.3. Méthodes pour observer les déplacements

Du micron au mètre, encore une fois les échelles sont très éloignées l'une de l'autre. Les instruments que nous équipons pour observer les cellules migrantes et les humains en déplacement le sont tout autant. Pourtant, la méthode est elle aussi, encore une fois, très semblable. Nous enregistrons la position dans le temps des êtres vivants à travers l'interprétation et le stockage numérique de signaux lumineux que l'on capture grâce à des outils optiques sophistiqués. Autrement dit, un capteur optique est placé derrière un objectif de microscope grossissant ou derrière une lentille de caméra, il enregistre sur un support numérique les signaux lumineux qu'il reçoit sous forme de série d'image. Nous exposons ici les différents types de microscopie que nous utilisons pour observer les cellules et la mise en place d'un dispositif filmique à échelle humaine.

3.3.1. Techniques de microscopies pour l'observation de la migration cellulaire

Une fois les cellules placées dans les microenvironnements, nous observons leur migration. Pour ce faire, nous utilisons deux microscopes. Le premier est un Nikon Eclipse Ti2-E équipé d'un objectif 4X et d'un objectif 10X à contraste de phase. Nous le pilotons par ordinateur depuis le logiciel NIS-Elements de Nikon. Le second est un Nikon Eclipse Ti-E également équipé d'un objectif 4X et d'un objectif 10X à contraste de phase. Nous le pilotons par ordinateur depuis le logiciel Micromanager. Nous avons exploré plusieurs techniques de microscopie au cours de la recherche et nous retenons les techniques présentées ci-dessous.

3.3.1.1. La microscopie à champ clair

Il s'agit du type de microscopie le plus courant. Nous éclairons par le dessus notre échantillon. La lumière le traverse et nous captions cette lumière avec l'objectif par le dessous. Cependant, la cellule est un corps principalement transparent et cette technique ne nous offre qu'un très faible contraste. Par conséquent, il est très compliqué de repérer les cellules en analysant les images tant visuellement que numériquement. Pour compenser la lacune de cette technique de microscopie, nous utilisons le contraste de phase. Cela consiste à équiper la source lumineuse et l'objectif d'anneaux de phase, des dispositifs qui filtrent les rayons lumineux en fonction de leur déphasage. En effet, les rayons lumineux traversant le verre de la lamelle et ceux traversant le corps de la cellule n'ont pas subi la même réfraction, les ondes lumineuses sont donc déphasées. Nous repérons la cellule à l'image bien plus aisément.

✦ La microscopie à champ clair et le contraste de phase ont pour avantage de ne pas intervenir sur la biochimie de la cellule et de pouvoir imager la totalité de la cellule, son noyau et son lamellipode.

— Cependant il reste relativement difficile d'identifier efficacement les cellules lors de l'analyse d'image car cela demande une bonne résolution et la géométrie de la cellule peut-être très changeante.

Nous avons utilisé cette méthode lors de l'observation des cellules dans des microenvironnements de quelques centaines de microns. Cependant, malgré l'amélioration du dispositif de contraste de phase, le contraste sur les images obtenues reste faible. Il est difficile d'isoler clairement l'objet (la cellule) du reste de l'image et cela est insuffisant pour automatiser convenablement l'analyse d'image et donc le suivi de la position des cellules. Nous avons cherché un meilleur moyen d'imager nos cellules en recréant un contraste artificiellement, cela est possible grâce à la microscopie à fluorescence.

3.3.1.2. La microscopie à fluorescence : le noyau de la cellule

Comme son nom l'indique, il s'agit d'une technique qui consiste à observer des objets grâce à leur fluorescence. Nous éclairons l'échantillon avec une lumière ayant la bonne longueur d'onde pour exciter la substance fluorescente, que l'on appelle fluorophore. Celui-ci émet à son tour une lumière avec une autre longueur d'onde, que l'on observe via l'objectif. Un jeu de filtres et un miroir dichroïque (filtrant les lumières en fonction de leurs longueurs d'onde) assurent l'ensemble du chemin optique.

Nos cellules ne sont aucunement fluorescentes naturellement, nous devons au préalable les marquer grâce à un fluorochrome. Dans notre cas, nous souhaitons imager le noyau de la cellule. Nous utilisons pour ce faire du Hoechst® 33342 qui va traverser les membranes de la cellule et marquer l'ADN. Nous l'éclairons avec un laser UV d'une longueur d'onde de 350nm.

✦ La microscopie à fluorescence avec marquage du noyau nous apporte quelques avantages. Sa mise en place expérimentale est rapide et efficace, nous préparons la fluorescence des cellules en cinq minutes. Les images obtenues sont facilement

analysables, même à faible résolution car le noyau reste ovoïde malgré les diverses orientations de la cellule.

— Cependant, la trop longue ou trop forte illumination de l'échantillon aux UV provoque la mort prématurée des cellules par phototoxicité. Cela nous oblige à réduire les temps d'exposition ou la fréquence des images lors de l'acquisition d'image.

Nous utilisons cette méthode pour l'observation des cellules dans des microenvironnements de quelques centaines de micron à quelques millimètres. Cependant cette technique seule ne permet pas d'imager l'environnement en question. C'est pour cela que nous la couplons avec un second type de fluorescence.

3.3.1.3. La microscopie à fluorescence : le pattern

Nous utilisons la même technique de fluorescence pour imager la géométrie du microenvironnement. C'est lors de l'incubation des protéines, étape que nous avons décrite précédemment pour la fabrication des microenvironnements, que nous ajoutons un fluorophore à la solution de protéines : le fibrinogène. Nous utilisons 5 μ L de fibrinogène associé à 2 μ L de fibronectine pour l'adhésion des cellules, que nous diluons dans 100 μ L de sodium bicarbonate.

Cette fluorescence du motif géométrique est pour nous un indicateur qui nous permet d'évaluer la bonne préparation du pattern. C'est également un outil avec lequel nous pouvons nous assurer du cadrage du microscope. En effet, en prenant une image du motif à chaque temps d'une acquisition, nous enregistrons la dérive et nous pouvons la corriger au moment de l'analyse des données. Enfin cela nous permet de vérifier la bonne adhésion des cellules. Nous pouvons ainsi exclure de nos analyses les cellules adhérant très difficilement en dehors des motifs mais étant malgré tout présente à l'image.

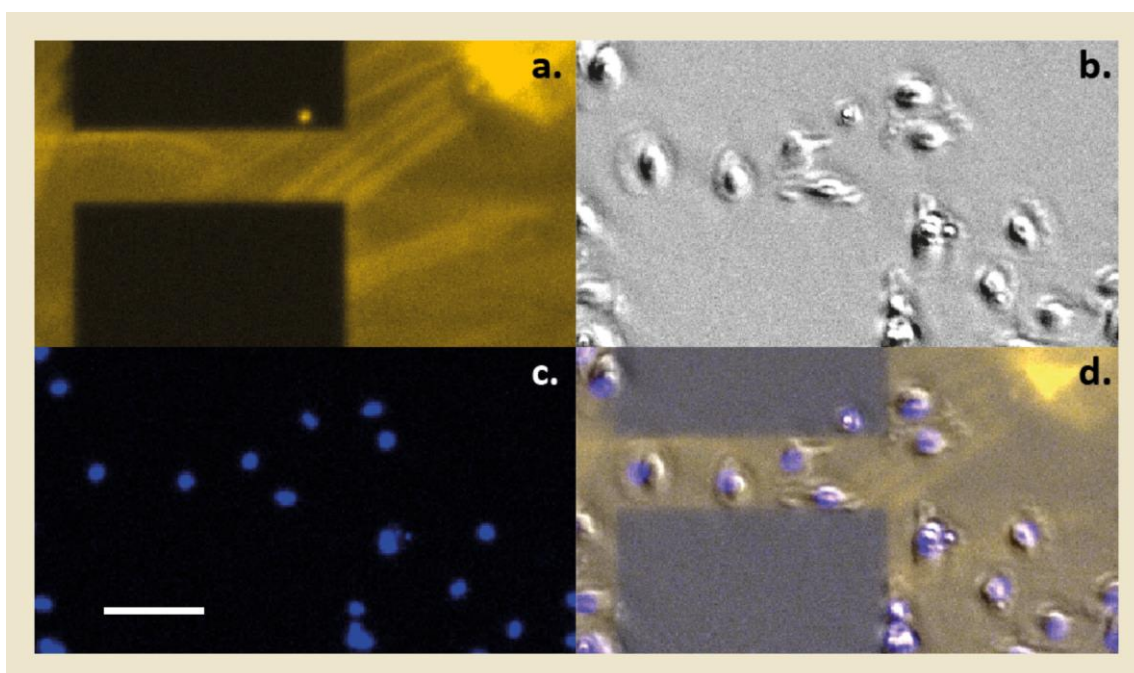


Figure 32. Groupe de cellules migrant sur un microenvironnement

a.) Fluorescence du fibrinogène représentant le motif sur lequel les cellules peuvent migrer. **b.)** Image au champ clair des cellules. **c.)** Fluorescence Hoechst (noyaux des cellules). **d.)** Superposition des trois images. Barre d'échelle : 50 μm .

3.3.1.4. Paramètres d'acquisition

Nous utilisons au sein de l'équipe de recherche des microscopes qui nous permettent de cumuler les trois catégories de microscopie présentées ci-dessus lors d'une unique acquisition et ceci automatiquement sur de longues durées. Nous devons pour cela programmer le logiciel d'acquisition et il nous est malheureusement nécessaire, en fonction de l'expérimentation, de faire des compromis en s'accordant sur les critères suivants :

- **L'intervalle de temps entre deux images** : Nous définissons un intervalle d'acquisition également compte tenu de deux critères. Le premier est celui de la vitesse de migration des cellules keratocyte, comme décrit en [p.73]. Il faut qu'une cellule migrante se soit suffisamment déplacée d'une image à l'autre pour que l'information soit utile, mais qu'elle ne se soit pas trop déplacée pour ne pas confondre sa trajectoire avec celle d'une autre cellule rencontrée [p.112]. Le second critère est celui du temps d'exposition des cellules aux UV pour la fluorescence du noyau. L'éclairage trop intensif des cellules pouvant favoriser leur mort.
- **La surface du microenvironnement imagée** : Nous pouvons réaliser des images de grande dimensions en assemblant plusieurs champs de vue avec les deux microscopes utilisés. Pour le microscope fonctionnant avec *NIS-Elements*, la construction de l'image est faite directement, pendant l'acquisition. Pour le microscope fonctionnant avec *micromanager*, la construction de l'image est faite après l'acquisition, à partir d'un script développé par nous-même sur ImageJ. Dans les deux situations, le raccord entre deux images est fait en

intégrant une superposition de 20 à 30% de la dimension de l'image. Cette superposition généreuse nous assure la plus grande précision sur l'assemblage des images et donc la validité de nos mesures de trajectoires sur des grands microenvironnements, de l'ordre de plusieurs millimètres carrés.

- **Le nombre de canaux** : Nous choisissons de combiner deux canaux maximum lors d'une acquisition : le champ clair et la fluorescence du motif ou la fluorescence du noyau et celle du motif. De la sorte, nous enregistrons les informations de la position des cellules en rapport avec la géométrie des microenvironnements, en notant également la dérive du microscope, contrainte technique inévitable due à tous les mouvements de platine.
- **L'ordre d'acquisition** : Nous pouvons paramétrer les microscopes en priorisant soit la position de la platine, soit l'éclairage de l'échantillon. Dans le premier cas, la platine se déplace sur la première position, l'éclairage s'allume et la caméra enregistre puis l'éclairage s'éteint et enfin, la platine se déplace à la position suivante. Dans le second cas, l'éclairage reste allumé tout le temps de l'imagerie et la platine se déplace de position en position. Dans ce cas-ci, le temps global d'acquisition est réduit mais l'exposition à la source lumineuse est augmentée, en particulier l'éclairage indirect de l'ensemble de l'échantillon.
- **Le binning de la caméra** : Dans le cas de l'imagerie avec la fluorescence des noyaux, nous choisissons d'enregistrer des images avec un binning de 3, c'est-à-dire avec une résolution trois fois en dessous de la capacité de la caméra. Comme décrit plus tôt, la fluorescence du noyau de la cellule nous permet de faire un suivi de sa trajectoire de manière efficace, même avec un nombre réduit de pixel. En diminuant la résolution de la caméra, nous accélérons la vitesse d'acquisition générale et la vitesse d'écriture des données.

Chacun des critères présentés ont une influence sur les autres. Pour chaque acquisition d'image, il est nécessaire de faire des compromis. Nous cherchons à recueillir le maximum d'information tout en limitant le temps d'exposition des cellules aux UV afin de diminuer la phototoxicité et en évitant de saturer nos capacités techniques de stockage des données.

3.3.1.5. Optimisation du protocole

Lors de l'acquisition d'image sur des motifs de grande surface ou sur de longues périodes de temps, nous avons rencontré quelques obstacles dégradant la qualité de nos images et donc la qualité de notre suivi des trajectoires. Nous présentons ici les mesures prises pour optimiser le protocole.

Pollutions visuelles dues aux cellules flottantes sur des motifs de grande surface

Il est nécessaire de cadrer la zone d'acquisition d'image d'une certaine manière afin d'éviter l'observations de pollutions. Cette modification fait suite à l'observation récurrente d'un phénomène de pollution en particulier : nous avons observé qu'une quantité importante de cellules flottantes polluait le milieu de culture, tout

particulièrement du fait de se regrouper dans une même zone. Nous parlons de pollution car ces cellules flottantes génèrent elles aussi une fluorescence, ce qui parasite le repérage des cellules migrantes lors de l'analyse d'image.

Nous avons initialement associé ce phénomène à une mauvaise gestion de la fabrication des microenvironnements ou de la culture cellulaire et donc à la mort prématurée des cellules. Cependant, il s'agit d'un phénomène persistant malgré la stabilisation de ces protocoles. Plus précisément, le nettoyage par rinçage de la lamelle est une étape clé du protocole que nous opérons immédiatement avant l'acquisition d'image. Or, nous avons observé que cette étape n'est pas suffisante pour enrayer le phénomène.

Néanmoins, nous avons identifié l'origine du regroupement de ces cellules. Cela est dû aux mouvements du milieu de culture dans le porte-échantillon, eux-mêmes conséquence des mouvements de la platine du microscope lors d'une acquisition d'image couvrant un motif de grande dimension. En effet, la taille de l'image totale dépasse la dimension d'un seul champ de vision de la caméra à travers l'objectif choisi (10x). Pour couvrir un grand motif, nous devons réaliser un assemblage correspondant à une grille d'images. Les mouvements de la platine du microscope se déplaçant d'un champ de vision à l'autre sont par défaut optimisés par le logiciel. Ils suivent le schéma présenté ci-après. En conséquence, cela génère plus de mouvements sur l'axe X que sur l'axe Y. La somme de ces mouvements a pour résultat la formation d'une bande de cellules mortes au centre de la lamelle comme représenté ci-après également.

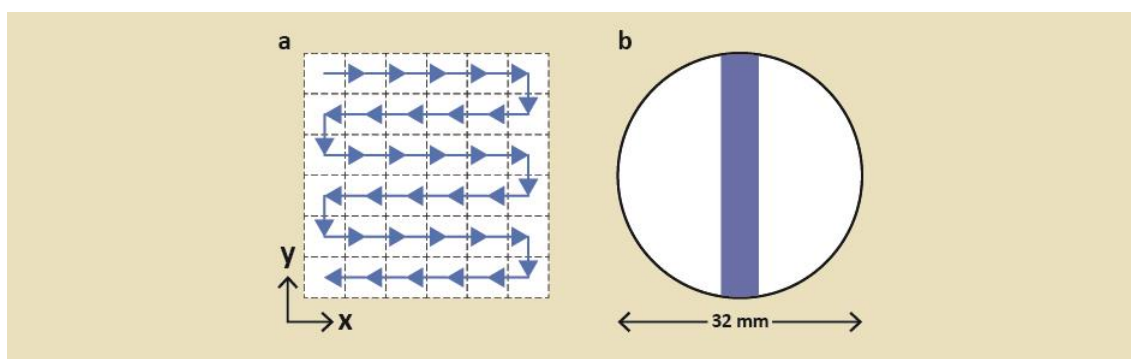


Figure 33. Mouvements de la platine du microscope

a.) Schéma des déplacements sur les axes X et Y de la platine du microscope. **b.)** Représentation de la zone centrale en X d'une lamelle où les cellules mortes parasitent l'observation.

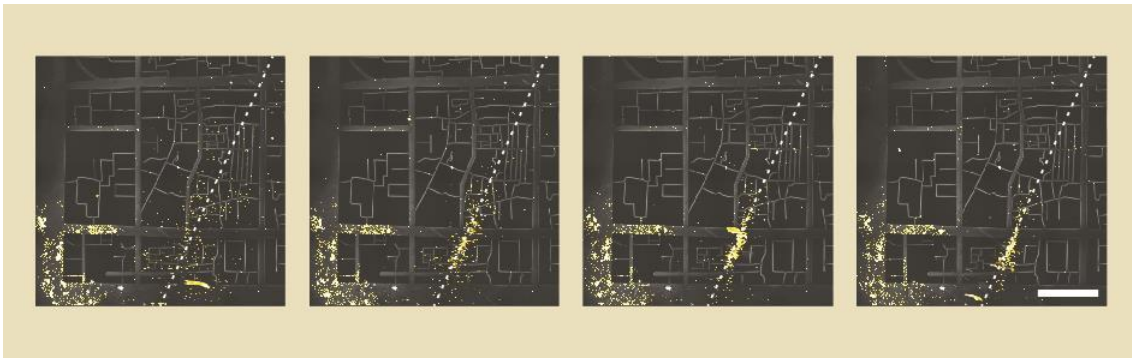


Figure 34. Cellules mortes perturbant l'acquisition d'image

Nous voyons apparaître une bande centrale de cellules flottantes qui parasitent l'observation des déplacements des cellules kératocytes. En niveaux de gris, la fluorescence du motif (fibrinogène). En jaune, la fluorescence des cellules (hoechst 33342). Le temps s'écoule de gauche à droite, intervalle entre deux images : 10 min. Barre d'échelle : 1000 μm .

Il est possible d'amoindrir l'impact de ce phénomène de deux manières :

- Avant ou pendant l'acquisition en procédant à un rinçage supplémentaire de la lamelle. Cependant, le phénomène peut se reproduire de nouveau après quelques minutes ou heures.
- Après l'acquisition, lors du suivi des particules. Le logiciel reconnaît les particules puis les associe à des trajectoires. Le mouvement des cellules mortes en suspension étant plus ample que celui des cellules migrantes, il est possible d'en filtrer certaines. Malheureusement, ce n'est pas vrai en toutes circonstances, certaines peuvent perturber nos données.

Nous estimons que ces deux stratégies ne sont pas suffisantes pour s'assurer d'une analyse correcte et préférons en conséquence imager en dehors de cette bande polluée. Cela nous permet de maintenir nos acquisitions sur de longue période et de rendre plus fiable notre analyse des trajectoires.

Gestion des temps et de la phototoxicité sur de longues périodes d'acquisition

Il est nécessaire de privilégier certains paramètres d'acquisition en adéquation avec l'objet imagé tout en réduisant l'exposition trop longue ou trop forte des cellules aux lumières UV, qui leur sont potentiellement mortelles. Nous avons donc cherché à réduire cette phototoxicité, sans nuire à l'analyse des images par la suite. Techniquement, nous avons obtenu de bons résultats en paramétrant un court temps d'exposition (100 ms) et une faible puissance de la source lumineuse (5%) Nous avons compensé ces mesures par une augmentation du *binning* de la caméra (4x4), ce qui permet d'augmenter le rapport de signal sur bruit et donc de maintenir un niveau de contraste satisfaisant pour l'analyse des images. Également, lorsqu'une zone en train d'être imagée est directement éclairée par le faisceau lumineux de la lampe, l'ensemble de l'échantillon est également indirectement éclairé. Cette illumination parasite paraît négligeable lorsqu'il s'agit d'imager un seul champ de vue une seule fois. Cependant, la grande répétition de ces illuminations spatialement et temporellement décuple l'exposition totale des cellules aux UV. Il est possible de limiter ce phénomène en

paramétrant un mode d'acquisition pour lequel l'illumination de l'échantillon est minimale : le microscope doit ouvrir et clore l'obturateur à chacune des positions.

3.3.2. Installation d'un dispositif filmique pour la captation des déplacements à l'échelle architecturale

Pour mener nos observations à échelle humaine, nous adoptons une approche similaire à celle que nous avons pour l'observation de la migration cellulaire. Nous souhaitons capter les mouvements des personnes qui se déplacent au sein de dispositifs architecturaux et donc pour cela, les filmer. Puis nous souhaitons être capable, grâce à cette captation, de connaître leur position exacte dans l'espace.

Pour ce faire, nous avons disposé des caméras dans l'espace, nous avons équipé les participants d'un dispositif technique et nous les avons invités à déambuler dans les environnements.

3.3.2.1. Placement des caméras

Nous avons présenté plus tôt la plateforme L.E.I.C.A. dans laquelle nous avons placé nos dispositifs. En considérant les dimensions de cette plateforme, les dimensions de nos dispositifs architecturaux, des zones ouvertes à la déambulation des participants et le gabarit de ces derniers, nous avons positionné un ensemble de trois caméras. Ce sont trois webcams Logitech C930e. Nous avons décidé du nombre et de la position des caméras afin que la superposition de leurs champs de vue nous permette à la fois d'imager l'entièreté de notre installation (4x2m) et de suivre de manière continue le déplacement d'une personne entière debout (nous avons pris comme référence une hauteur de 2m), sur le plan horizontal du sol. Elles sont donc situées au plafond et orientées vers le sol. Nous avons préalablement pris des mesures pour connaître l'éventuelle déformation d'angle des caméras et pour calibrer leurs positions relatives dans l'espace.

Ces trois caméras sont reliées à un ordinateur dédié à cette activité, lui-même placé dans la régie de la plateforme L.E.I.C.A. Avec la collaboration d'Adrien Méry³², nous avons mis en place un programme en langage Python utilisant la bibliothèque OpenCV sur cet ordinateur. Le script original est disponible en annexe de ce manuscrit. Ce programme enregistre plusieurs éléments dans un dossier unique par caméra : les images de la caméra en format PNG, l'heure de départ de l'acquisition et l'intervalle de temps entre chaque image. Lors de l'expérimentation type, le programme est lancé par l'un des organisateurs de l'expérience au moment où un participant entre dans le dispositif architectural, l'acquisition est continue tout le temps de la présence du participant puis l'organisateur interrompt le programme lorsque le participant est sorti.

³² Doctorant au sein de l'équipe *microtiss*, au LIPhy, UGA.



Figure 35. Captation filmique des déplacements humains avec trois caméras

Ces trois images sont prises simultanément et permettent de suivre le déplacement d'un humain en continu dans un dispositif d'une longueur de 4 mètres.

L'éclairage utilisé pour les expérimentations est celui de la plateforme L.E.I.C.A. Il s'agit de deux luminaires néons placés sur le plafond. Ils éclairent la pièce fortement et de manière relativement homogène. La présence des dispositifs ou des participants ne crée aucune ombre projetée directe sur les parois bien qu'elles assombrissent globalement l'espace. Cependant, l'ombre des participants est forte sur le sol. Il y a une graduation de luminosité visible à l'image du bas plus sombre vers le haut plus lumineux des parois des dispositifs.

3.3.2.2. L'objet exact de la captation

L'enregistrement vidéo réalisé par les caméras équivaut en quelque sorte à la microscopie à champ clair présenté précédemment. En filmant les participants ainsi, nous pouvons aisément repérer leur passage lorsque nous visionnons la vidéo par la suite. Cependant, lorsque nous devons extraire de ces images la position de la personne dans l'espace, cela devient particulièrement compliqué. Les outils de reconnaissance d'image que nous présentons par la suite sont difficilement utilisables sur des images si complexes car les formes et les couleurs des participants et de leurs vêtements sont très variées, leurs ombres projetées au sol peuvent également diminuer la lisibilité de l'image.

Il est évident que nous ne pouvons pas nous permettre de teindre les participants d'une couleur fluorescente comme une analogie stricte et absurde avec les cellules nous le suggérerait. Nous avons mis en place un système très simple et peu intrusif pour répondre à ce besoin de l'expérience. Nous avons donné aux participants des casquettes d'un bleu sombre sur lesquelles sont fixées des balles oranges. De la sorte, nous nous assurons d'avoir un objet facilement repérable à l'image : la balle est sphérique, donc identique dans toutes les directions de l'espace et d'une couleur qui contraste fortement avec son support. C'est aussi un dispositif très léger, peu encombrant, que les participants peuvent porter aisément. Enfin, la préparation est minimale puisqu'il suffit de donner le dispositif au participant avant son entrée dans l'installation.

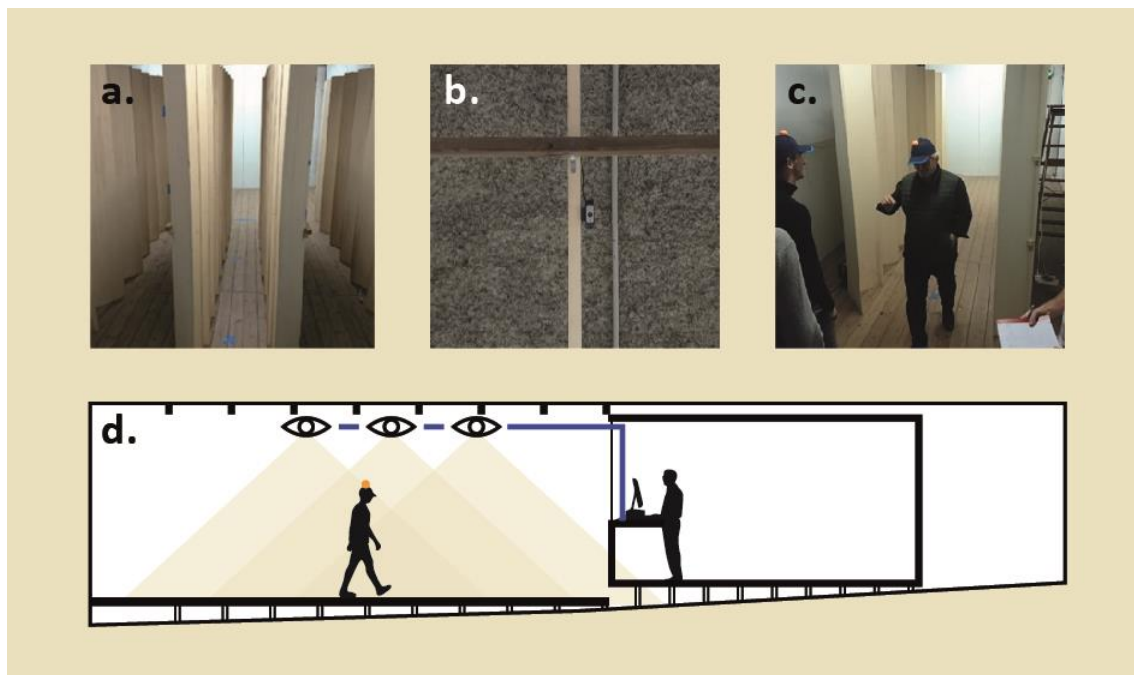


Figure 36. Dispositif filmique complet pour la captation des déplacements humains

a.) Dispositif architectural construit au sein de l'espace d'immersion. **b.)** Une caméra discrète et placée au-dessus de l'espace. **c.)** Dispositif de suivi placé sur le tête d'un participant. **d.)** Les trois caméras sont reliées à un ordinateur qui coordonne l'acquisition d'image via l'exécution d'un script python. L'organisateur est positionné dans la régie, le participant déambule dans l'espace équipé du dispositif de suivi.

3.3.2.3. *Gestion des participants*

Les participants sont invités par petits groupes à s'approcher de la plateforme L.E.I.C.A. À ce moment, nous relevons leurs prénoms et leurs tailles puis leur attribuons un ordre de passage, en prévision d'une calibration future. Nous leur donnons la casquette qu'ils équipent. Les participants sont au courant qu'ils participent à une expérience filmée ayant trait à l'architecture, mais le contenu plus précis de la recherche ne leur est pas communiqué. Un organisateur annonce les consignes à un participant à la fois et l'invite à déambuler dans l'espace de l'expérimentation.

3.3.2.4. *Conclusions sur la captation filmique*

Lors de notre utilisation de cet outil, nous avons réussi à obtenir des séries d'image de bonne qualité, sur lesquelles la position d'une personne est facilement repérable. Cet outil est également facile à installer et peut s'adapter à d'autres contraintes liées au lieu de l'expérimentation.

3.4. Méthodes pour analyser les trajectoires et les spatialités

La finalité méthodologique de notre travail consiste en la mise au point d'un procédé d'analyse des déplacements qui soit commun pour les cellules et les humains. La

technique que nous proposons est composée de deux éléments : une analyse des trajectoires puis une analyse des spatialités. Nous répondons ainsi à notre objectif transdisciplinaire de développement d'une méthode analogue d'observation des déplacements humains et cellulaires qui puisse être utile aux deux disciplines.

Techniquement, nous analysons les images produites lors des acquisitions, qu'elles soient réalisées avec un microscope ou avec notre dispositif filmique à échelle humaine. Il s'agit tout d'abord d'extraire depuis les images des informations quant aux positions des êtres vivants, grâce au seuillage de ces images et à la détections d'objets. Il s'agit ensuite d'étudier les trajectoires identifiées selon des paramètres de direction ou de vitesses. Enfin, il s'agit d'analyser les informations de ces trajectoires du point de vue de l'espace, à l'aide d'un outil de représentation cartographique des données développé spécifiquement pour cela.

3.4.1 Extraire les trajectoires des cellules et des humains

3.4.1.1. L'analyse d'image avec Fiji et la détection des particules avec TrackMate

Nous utilisons le logiciel *open-source ImageJ*, sous sa distribution *Fiji* pour l'analyse des images. *Fiji* intègre une large bibliothèque de scripts prêts à être utilisés et permet de créer des programmes automatiques ou semi-automatiques dans plusieurs langages informatiques pour l'analyse et le traitement de tout type d'image.

Cette distribution est très utilisée dans le domaine de la biologie puisque développée avec la volonté d'offrir une plateforme d'échange pour cette communauté scientifique. La preuve en est le développement d'un programme, lui aussi *open-source*, en tant que plugin de *Fiji* : *TrackMate*. Développé par Jean-Yves Tinevez et ses collaborateurs [70], cet outil permet de détecter des objets (que nous nommons « *particules* ») dans une image, puis dans le cas d'une série d'image de lier les particules d'une image avec celles de l'image suivante de sorte à enregistrer une trajectoire. C'est ce suivi de particule que nous nommons régulièrement « *tracking* » par anglicisme (verbe signifiant l'action de traçage).

3.4.1.2. Les données que nous exportons

Le programme intègre des outils de visualisation très utiles. Il trace la position des particules et leurs trajectoires en surimpression sur les images. À partir de cette fonctionnalité, nous pouvons :

- Calibrer précisément les paramètres de détections des *particules* (taille de la particule, contraste attendu, etc.), de manière itérative. En effet, selon le microscope utilisé, l'objectif, la caméra associée et le traitement d'image (correction du drift, recadrage, mise à l'échelle), il est possible que l'objet *cellule* n'ait pas les mêmes propriétés d'une acquisition à l'autre. Il en va de même pour la nature du bruit de fond. Il est donc impératif de faire un calibrage manuel à partir d'un ensemble de visualisations [Figure 38].

- Exporter directement des vidéos très expressives et inspirantes, utiles pour le recul critique (qu'est-ce que je suis en train de regarder ?) et pour la communication (qu'est-ce que nous analysons ?).

Ainsi, nous seuillons préalablement les images, afin d'isoler les *particules* à détecter : la balle orange dans le cas des humains et la fluorescence du noyau dans le cas des cellules puis nous calibrons le script pour détecter les particules. Un fois le script calibré pour un ensemble de films, nous lançons le suivi de trajectoire automatique sur cet ensemble et nous exportons les données complètes de ces trajectoires sous forme de tableurs. De la sorte, nous obtenons les coordonnées de toutes les trajectoires et donc, une quantification du mouvement des cellules et des humains.

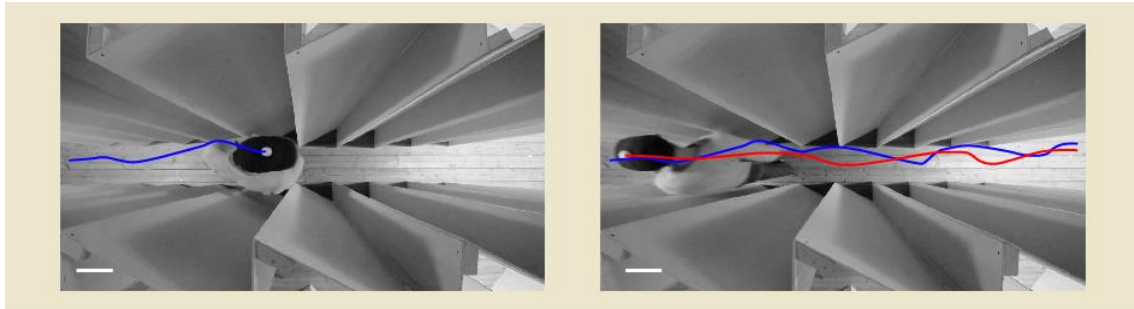


Figure 37. Détection de la trajectoire d'un participant

Sa trajectoire est tracée en bleu lorsqu'il se dirige vers la droite, en rouge lorsqu'il se dirige vers la gauche. Barre d'échelle : 40 cm (au sol, au centre de l'image). Il s'est écoulé 9 secondes entre ces deux images.

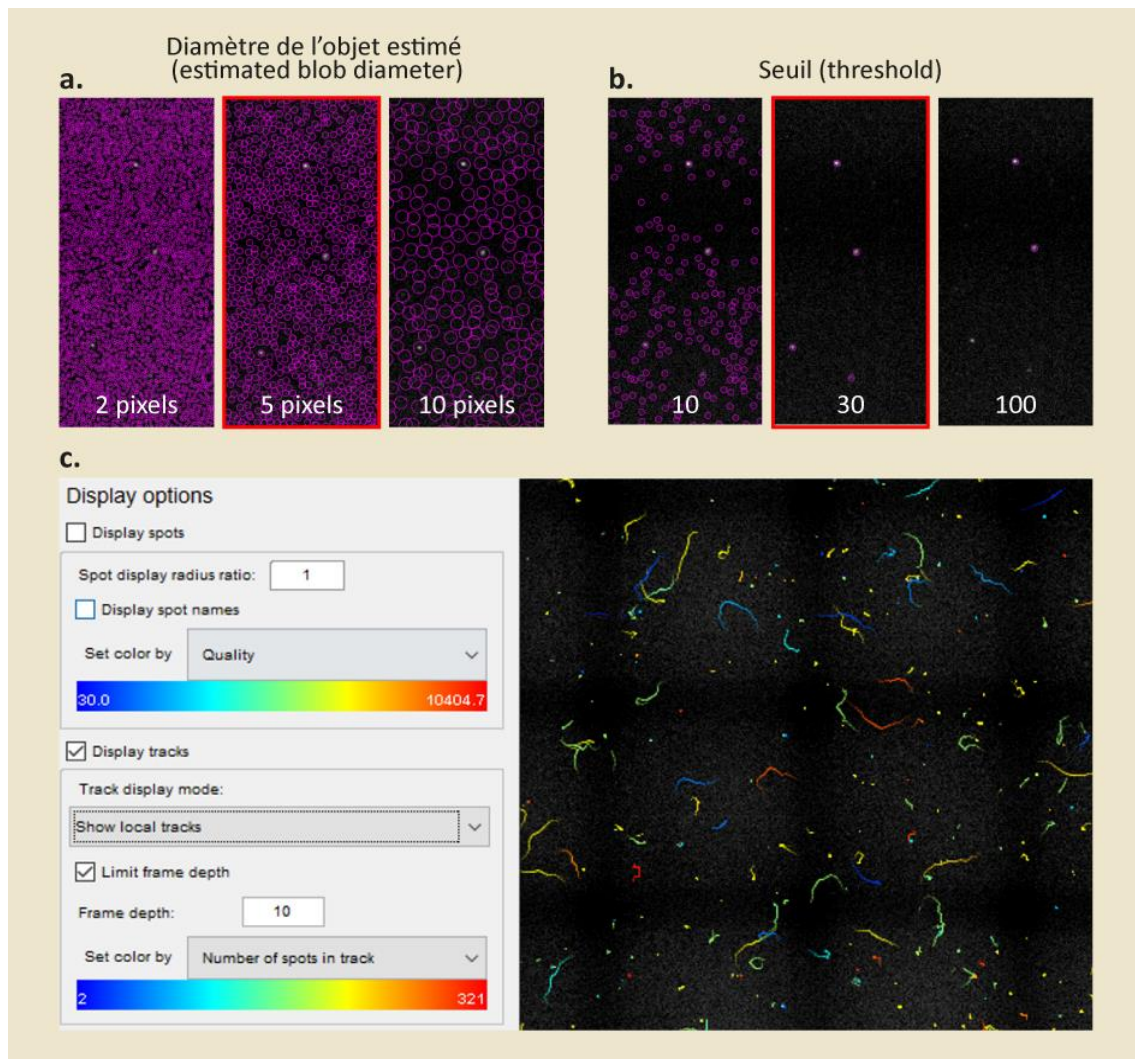


Figure 38. Paramétrage du logiciel TrackMate pour le suivi des trajectoires

Ces images sont des captures d'écran pendant le paramétrage du *tracking*. a.) et b.) Aperçus sur une image de la détection de quatre cellules par TrackMate, l'encadré rouge représente le paramètre retenu. c.) Options d'affichage permettant de vérifier graphiquement la qualité du *tracking*.

3.4.2. Analyse des trajectoires

Une fois que nous avons obtenu les trajectoires, nous procédons à la même analyse pour les humains comme pour les cellules, que nous nommons communément *particules*. Pour rappel, nous cherchons à connaître l'influence d'un motif géométrique sur la trajectoire de ces particules, nous sommes donc à la recherche d'indicateurs de biais migratoires ou plus largement, de modifications du comportement migratoire des particules.

Premièrement, nous voulons reconnaître s'il existe un mouvement privilégié par les particules dans une direction de l'espace lorsqu'elles sont confinées dans certaines géométries. Pour cela, lors de l'analyse de la trajectoire, pour chaque segment, c'est-à-dire la ligne qui relie la position en XY de la particule sur la première image à la position en XY de la particule sur la seconde image, nous notons :

- **La direction des particules** : dans le cas de géométries couloirs dans lesquelles les déplacements ne sont possibles que dans une direction de l'espace (1D) nous notons le sens de chaque déplacement observé (positif ou négatif).
- **L'orientation des particules** : dans le cas de géométries plus complexes dans lesquelles les déplacements sont possibles dans deux directions de l'espace (2D), nous notons l'orientation de ce déplacement.
- **La vitesse des particules** : Nous multiplions la distance de ce déplacement par l'intervalle de temps entre les deux positions.

Également, nous surveillons l'évolution dans le temps de ces paramètres et nous relevons pour chaque trajectoire :

- **Le nombre de polarisation** : Dans le cas des géométries couloirs (1D) En comparant la direction d'une particule sur un segment avec la direction de la même particule sur le segment suivant.
- **Les modulations de vitesse** : Les possibles accélérations ou décélérations des particules.

Afin de caractériser cette éventuelle propension des particules à s'orienter spatialement, nous déduisons à partir de ces paramètres s'il existe :

- **Des biais directionnels**, c'est-à-dire si l'environnement incite la particule à se diriger dans une direction de l'espace en particulier.
- **Des biais de vitesse**, c'est-à-dire si l'environnement incite la particule à se déplacer plus rapidement dans une direction plutôt qu'une autre.

Deuxièmement nous voulons reconnaître si la géométrie, au-delà d'un simple biais, modifie le comportement de la particule dans son déplacement. Pour cela, nous observons son déplacement de deux manières différentes :

- **Le déplacement total** : la distance que parcourt la particule sur la totalité de son trajet.
- **Le déplacement linéaire total** : la distance directe entre le point de départ de la particule et son point d'arrivée, indépendamment de ses éventuelles déviations ou repolarisations.

Puis nous comparons ces deux types de déplacement afin d'obtenir **la persistance de la particule** : c'est-à-dire le rapport entre le déplacement linéaire total et le déplacement total. Un rapport de 1 signifie que la particule évolue en ligne droite tandis qu'un rapport qui tend vers 0 signifie que la particule aura fait beaucoup de détours, de demi-tours, d'oscillations lors de son trajet.

Enfin, nous comparons les données récoltées sur les trajectoires en fonction des caractéristiques géométries des motifs. Nous discutons de ces résultats dans le chapitre dédié aux résultats.

3.4.3. Du point de vue de l'espace

Un objectif de cette recherche vise à caractériser des spatialités par rapports aux mouvements observés en leurs seins. En réponse à ce besoin de la recherche, nous avons donc élaboré un programme qui retranscrit les informations de trajectoire dans l'espace. Ce programme fonctionne en produisant des cartographies.

En effet, une cartographie est un outil qui s'avère idéal pour analyser des configurations spatiales. C'est une technique de représentation graphique efficace qui est en quelque sorte une projection spatiale de phénomènes physiques ou sensibles relevés dans un environnement donné. Dans notre cas, ce sont les déplacements des êtres vivants qui sont analysés. Nous avons préalablement quantifié ces déplacements (par la mesure des trajectoires) et nous les représentons sous forme graphique afin de les appréhender et d'évaluer qualitativement les spatialités qui leur sont associées.

Le programme que nous utilisons a été mis au point par Irène Wang³³ au sein du laboratoire. Il récupère les informations de trajectoire (le suivi des trajectoires présenté ci-dessus), et analyse l'espace (c'est-à-dire une grille de coordonnées sur un plan XY) en fonction de certaines propriétés de ces trajectoires. Concrètement, il s'agit de découper l'image en unités spatiales puis, pour chacune de ces unités, d'extraire certaines informations contenues dans les trajectoires qui la traversent.

Le programme produit alors une série de cartographies en fonction de nos choix quant aux informations à représenter. Nous avons retenu quatre types de cartographies à travers lesquelles nous pouvons repérer des phénomènes et caractériser les espaces en retour.

- 1) La cartographie de *l'accumulation des présences* est obtenue en cumulant le nombre total de *spots* localisés dans l'unité spatiale tout au long de l'expérimentation. Un *spot* est une position d'une cellule ou d'un humain dans une seule image (donc à un instant t).
 - Cette cartographie permet d'identifier les zones qui sont les plus ou les moins fréquentées.
- 2) La cartographie des *passages uniques* est obtenue également en cumulant un nombre de *spot* par unité spatiale. Cependant, nous ne comptabilisons qu'un seul *spot* par trajectoire unique (donc par cellule ou humain unique).
 - Cette cartographie permet de repérer les zones qui accueille plus ou moins d'êtres-vivants uniques. De la sorte, cela nous renseigne sur la probabilité qu'une zone donnée soit visitée par un grand nombre d'individus ou non.
- 3) La cartographie des *temps de résidences moyens* est obtenue en mesurant, pour chaque unité spatiale, le temps continu (c'est-à-dire le nombre d'images successives) pendant lequel les cellules ou les humains sont restés dans cette zone en moyenne.

³³ Irène Wang est ingénieure de recherche au Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (UGA, CNRS).

- Cette cartographie nous montre si les humains ou les cellules restent longtemps dans une zone ou s'en échappent rapidement. Lorsque nous comparons cette cartographie avec celle des *accumulations des présences*, nous pouvons éventuellement distinguer si un espace fortement traversé est dû à un phénomène de grande fréquentation (beaucoup de passages, plutôt rapides) ou à une occupation continue (peu de passages, plutôt lents).
- 4) La cartographie des *temps de résidence maximums* est obtenue de la même manière mais ne représente, pour chaque zone, que le temps de résidence de l'être vivant étant resté le plus longtemps.
- Cette cartographie n'est pas statistiquement représentative, elle permet toutefois de repérer des phénomènes exceptionnels. Cela peut s'avérer particulièrement utile dans le cas de l'architecture pour repérer des détournements usagers par exemple. En comparant les deux cartographies de temps de résidence il est possible de distinguer des situations singulières de situations récurrentes.

Ces cartographies sont des objets graphiques que nous pouvons ensuite interpréter. Elles nous renseignent sur différents aspects des mouvements. Nous obtenons des informations nouvelles, localisées, qui n'étaient pas accessibles avec la description des trajectoires seule et grâce auxquelles nous pouvons qualifier directement les espaces.

Ainsi, nous répondons à nos objectifs de repérer des récurrences, des invariants, des seuils ou des divergences dans l'organisation spontanée des êtres vivants et de qualifier certaines configurations spatiales dépendamment de ces comportements qu'elles génèrent, ou tout du moins qu'elles rendent possibles.

Chapitre 4 : Résultats méthodologiques et expérimentaux

Plan du chapitre

4.1. Résultats méthodologiques pour la production de microenvironnements	118
4.1.1. Évaluation des microenvironnements	118
4.1.2. Résolution atteinte	119
4.1.3. Netteté atteinte	119
4.1.4. Environnements centimétriques microstructurés	121
4.2. Résultats méthodologiques pour la culture et l'observation des cellules	123
4.2.1. Résultats du protocole A (EGTA+Trypsine)	123
4.2.2. Résultats du protocole B (EGTA)	124
4.2.3. Résultats du marquage des cellules	128
4.3. Résultats méthodologiques pour l'observation des humains	129
4.3.1. Structures obtenues pour la fabrication des environnements à échelle humaine	129
4.3.2. Adaptabilité du système d'acquisition d'image	130
4.3.2. Précision obtenue lors du suivi des trajectoires humaines	131
4.4. Résultats expérimentaux	132
4.4.1. Biais mesurés dans les déplacements cellulaires et humains à l'échelle du corps	133
4.4.2. Occupation et exploration des spatialités à l'échelle du groupe	138
4.4.3. Exploration analogique à très grande échelle : observation comparée des cellules kératocytes et des taxis pékinois	144

4.1. Résultats méthodologiques pour la production de microenvironnements

Nous avons décrit deux protocoles pour la fabrication de microenvironnements : l'un requérant l'usage de la photolithographie à l'aide d'un masque et l'autre requérant le dispositif PRIMO commercialisé par la société Alvéole. Nous avons également décrit leurs avantages et inconvénients. Pour rappel, la photolithographie offre la possibilité de réaliser en une fois un très grand nombre et de très grands motifs tandis que le dispositif PRIMO permet le passage extrêmement rapide de la conception à la réalisation mais sur un nombre plus réduit de motifs, de plus petites dimensions également. Dans cette partie, nous évaluons la qualité des microenvironnements que nous avons produits et nous présentons leurs caractéristiques.

4.1.1. Évaluation des microenvironnements

L'évaluation de la réalisation de nos microenvironnements est faite à partir de trois critères : lorsque nous les observons au microscope, nous notons **le rapport signal/bruit** sur différentes zones du motif, **la netteté** de la transition entre motif et arrière-plan ainsi que **l'homogénéité globale** des motifs sur la lamelle.

Les trois critères d'évaluation sont des indicateurs qualitatifs et relatifs. Ils sont qualitatifs car nous ne quantifions pas la fluorescence du pattern avec exactitude, cela représente un coût temporel et technique que nous jugeons excessif pour ce niveau d'analyse. Nous estimons ces indicateurs par observation de l'image de la fluorescence du microenvironnement au microscope. Ils sont relatifs car les paramètres d'acquisition du microscope sont identiques d'une expérimentation à l'autre pour comparer les microenvironnements entre eux et ainsi constater notre amélioration du protocole de fabrication.

- 1) Le rapport signal/bruit est obtenu en relevant l'histogramme des valeurs des pixels de l'image le long d'une ligne qui traverse le motif. Il s'agit du niveau de contraste de l'image. Nous notons le signal comme étant la valeur moyenne des pixels dans les zones fluorescentes revêtues de protéines et nous notons le bruit correspondant à la valeur moyenne des pixels dans les zones sans protéines. Dans le cas d'un faible rapport signal/bruit, nous relevons si cela est dû à un grand bruit de fond ou à une faible fluorescence des protéines. Nous imageons une ou plusieurs zones de la lamelle avec un grossissement moyen (10x).
- 2) Sur la ou les même(s) image(s), nous plaçons la ligne de l'histogramme perpendiculairement à la ligne de contour du motif afin de mesurer si la transition entre le motif et l'arrière-plan est nette (bonne réalisation du microenvironnement) ou au contraire si elle est graduée (mauvaise réalisation).
- 3) Nous imageons ensuite l'intégralité de la lamelle avec un plus faible grossissement (4x). Nous observons ensuite cette image pour relever l'homogénéité globale des motifs, c'est-à-dire si le rapport de signal/bruit et la netteté que nous avons observés sont représentatifs de l'ensemble de la lamelle (bonne réalisation). Dans le cas inverse, nous notons la présence de films de

protéines, de rayures, d'hétérogénéités de fluorescence comme autant d'éléments témoignant de la mauvaise réalisation du microenvironnement.

4.1.2. Résolution atteinte

Grâce à la maîtrise de l'ensemble des étapes du protocole de fabrication des microenvironnements, nous atteignons un niveau de définition très satisfaisant. Nous pouvons en effet réaliser des microenvironnements dont certaines portions ont une largeur de 5 μm , ce qui représente la moitié de la largeur du noyau d'une cellule kératocyte. Cela satisfait l'ensemble de nos besoins expérimentaux.

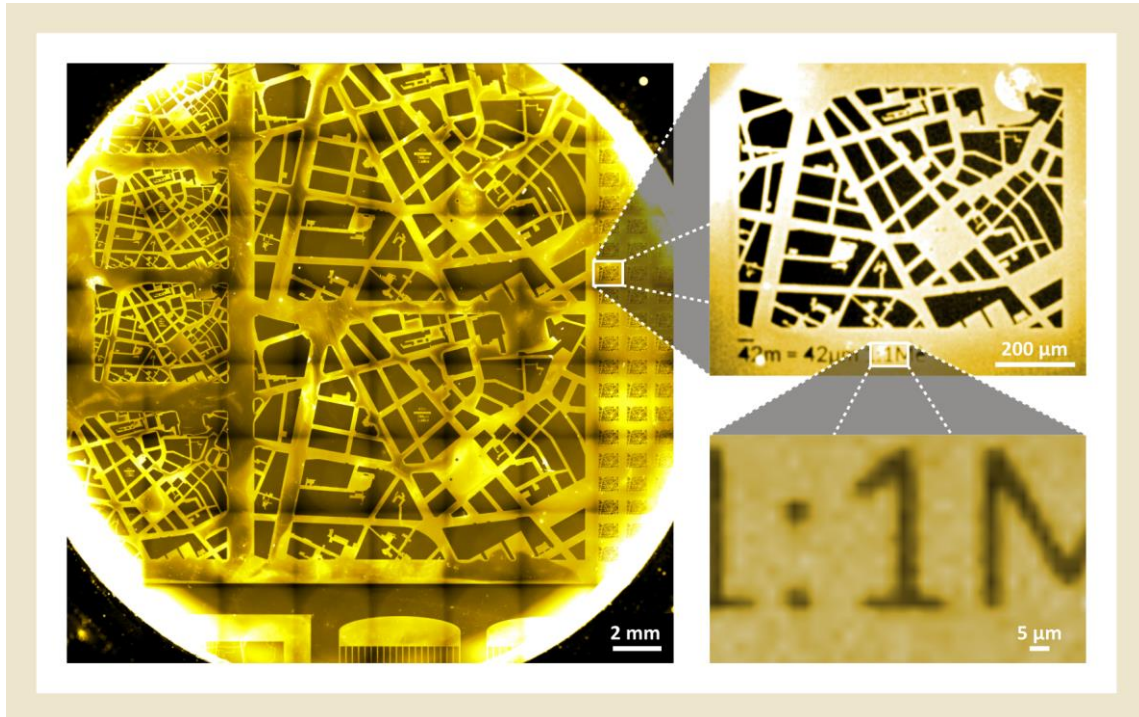


Figure 39. Réalisation de motifs précis

Certaines portions des motifs peuvent être très précises. Dans cet exemple, nous ajoutons des éléments de textes en accompagnement à notre motif à des fins techniques. Cette portion du motif contient des éléments faisant 5 μm de large (diamètre du point, barre du chiffre 1).

4.1.3. Netteté atteinte

Les deux optimisations que nous avons apportées au protocole de fabrication de microenvironnements avec la photolithographie [p.81] et les deux optimisations concernant le revêtement des protéines [p.86] nous ont permis d'améliorer la netteté des motifs. Nous pouvons observer dans les deux exemples ci-dessous la différence entre un motif de mauvaise facture et un motif net et homogène. Dans le premier cas, nous voyons apparaître des traces dans le revêtement des protéines [Figure 40b]. Également, l'histogramme montre un faible rapport signal/bruit et des limites entre zones avec motifs et zones de fond qui sont peu précises [Figure 40c]. Les cellules migrent sans respecter la délimitation des motifs. Dans le second cas, au contraire, il n'y a aucun

bruit de fond (l'histogramme reste plat sur sa valeur minimale) et la distinction entre les zones de motifs et le fond est très forte, avec un haut contraste [Figure 41].

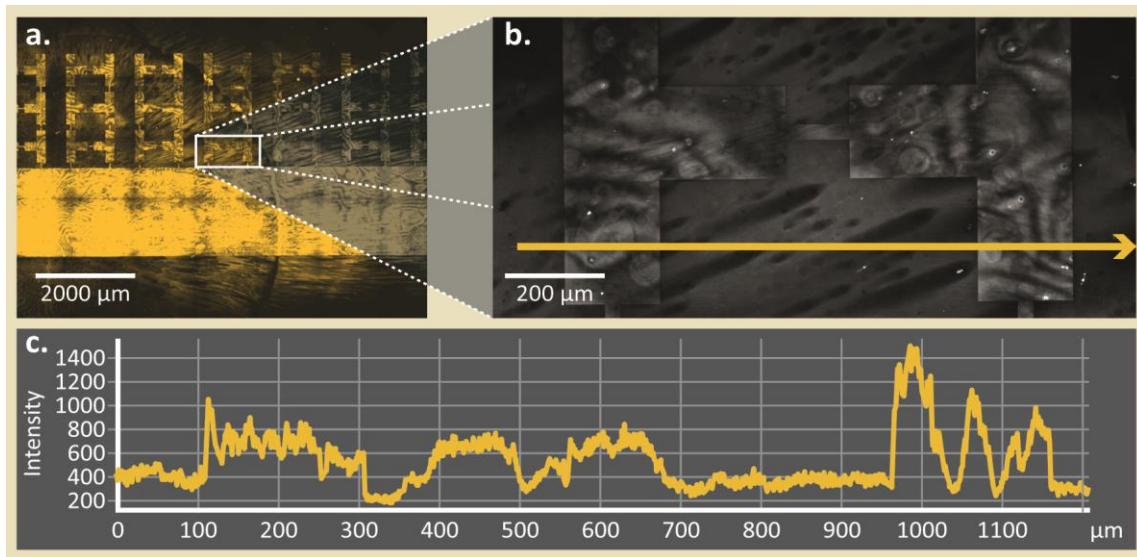


Figure 40. Mauvaise réalisation d'un microenvironnement

a.) Fluorescence des protéines du motif sur la lamelle (objectif 4x, assemblage) : forte hétérogénéité et nombreuses traces. **b.)** Détail du motif (objectif 10x) et position du relevé de l'intensité de la fluorescence (flèche jaune). **c.)** Histogramme de la fluorescence des protéines le long de la flèche jaune : signal faible et très mauvais rapport signal/bruit, netteté du motif quasi inexistante.

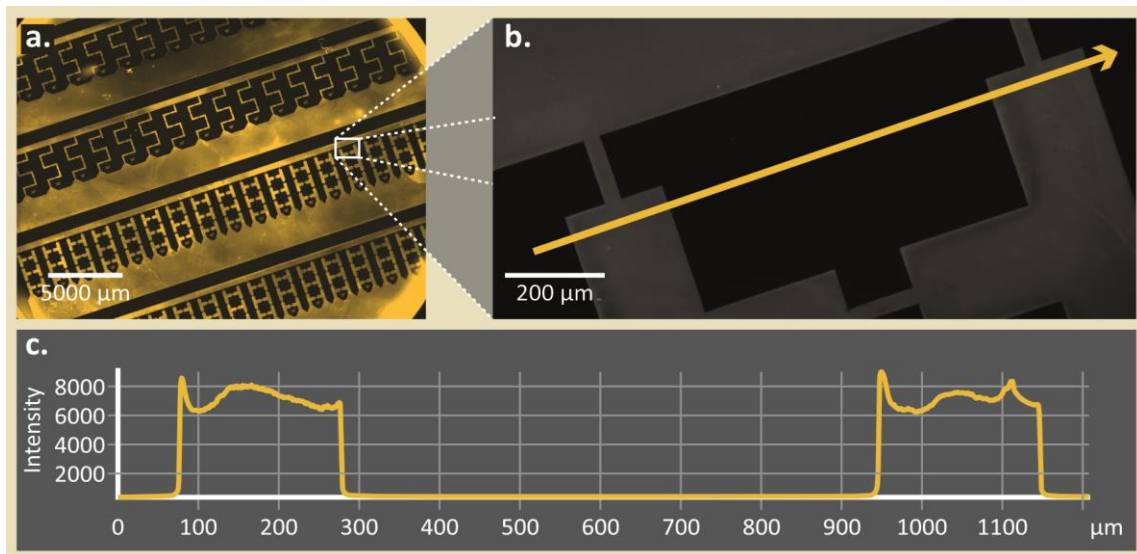


Figure 41. Excellente réalisation d'un microenvironnement

a.) Fluorescence des protéines du motif sur la lamelle (objectif 4x, assemblage) : homogénéité des motifs sur l'intégralité de la lamelle. **b.)** Détail du motif (objectif 10x) et position du relevé de l'intensité de la fluorescence (flèche jaune). **c.)** Histogramme de la fluorescence des protéines le long de la flèche jaune : excellent rapport signal/bruit, motifs très nets.

Un second exemple ici montre un microenvironnement contenant des portions de motifs plus fins (20 μm). Nous pouvons voir également que le rapport signal/bruit est très élevé et que les limites des motifs sont très nettes [Figure 42].

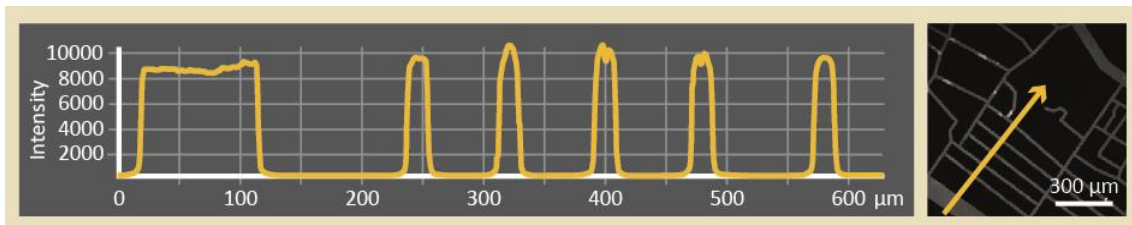


Figure 42. Histogramme et aperçu de la fluorescence d'un microenvironnement

Le motif de ce microenvironnement dispose d'un fort contraste signal/bruit, d'un fort signal et d'une netteté franche entre les zones du motif et le fond.

4.1.4. Environnements centimétriques microstructurés

4.1.4.1. Repères et dimensions techniques

Nous pouvons réaliser des microenvironnements dont le rapport signal/bruit, la netteté du motif et l'homogénéité sont constants à l'échelle d'une lamelle entière. Au sein de notre équipe de recherche, nous utilisons dans la majorité de nos expérimentations des lamelles dont le diamètre est de 32 millimètres. L'ensemble de nos outils pour la culture cellulaire et l'observation des cellules est réglé ou dimensionné en conséquence.

Nous avons la possibilité de fabriquer des microenvironnements sur la surface totale d'une lamelle de 32 mm de diamètre, ce qui correspond à 804 mm², soit 804 millions de µm². Or, nous savons que la surface moyenne d'adhésion d'une cellule keratocyte seule est de l'ordre de 550 µm² [71]. Une lamelle représente donc la surface de près d'1.5 millions de cellules kératocytes. La [Figure 43] permet de se représenter visuellement l'écart de mesure important que nous mentionnons.

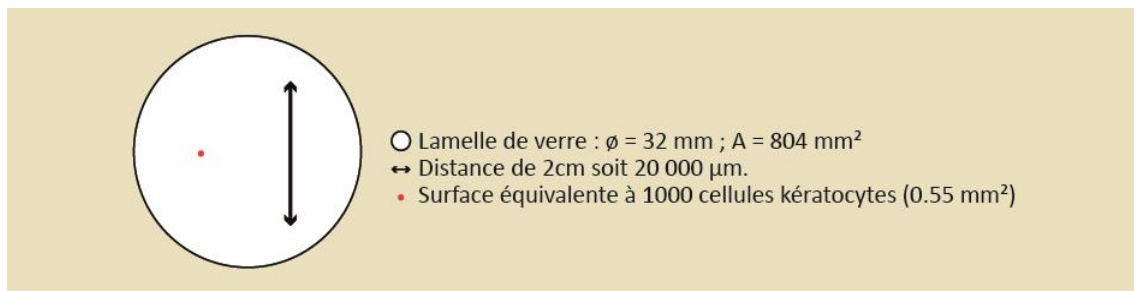


Figure 43. Ordres de grandeur au sujet de la fabrication des microenvironnements

La surface d'une lamelle de 32 millimètres de diamètre équivaut à la surface d'adhésion d'1.5 millions de cellules kératocytes.

Lorsque nous souhaitons étudier le comportement de cellules dans des espaces confinés dont les dimensions sont proches de celles d'une cellule unique ou d'un petit groupe de cellule (prenons l'exemple d'un groupe déjà conséquent d'un millier de cellules), il n'est a priori pas nécessaire de produire des microenvironnements dont la surface dépasse plusieurs millimètres carrés. De ce fait, l'homogénéité des microenvironnements sur l'ensemble de la lamelle n'est pas une nécessité. En effet, si nous prenons arbitrairement l'exemple d'une lamelle présentant un motif de 600x600

µm dupliqué en 2000 exemplaires, si plusieurs centaines d'entre eux seulement sont viables, l'expérimentation peut être menée à bien sans difficulté.

Or, par analogie entre cellules et humains, nous avons envisagé pour le présent travail exploratoire de fabriquer à « *grande échelle microscopique* » des motifs architecturaux allant jusqu'aux plans urbains. L'amélioration du protocole de fabrication de microenvironnements pour obtenir une meilleure homogénéité sur ce type de motif en est une condition.

Les améliorations du protocole utilisant la photolithographie décrites dans le chapitre précédent ont rendu possible cette fabrication à grande échelle. La [Figure 44] montre des exemples de microenvironnements réalisés à l'échelle centimétrique, de bonne facture d'après nos trois critères précédemment évoqués.

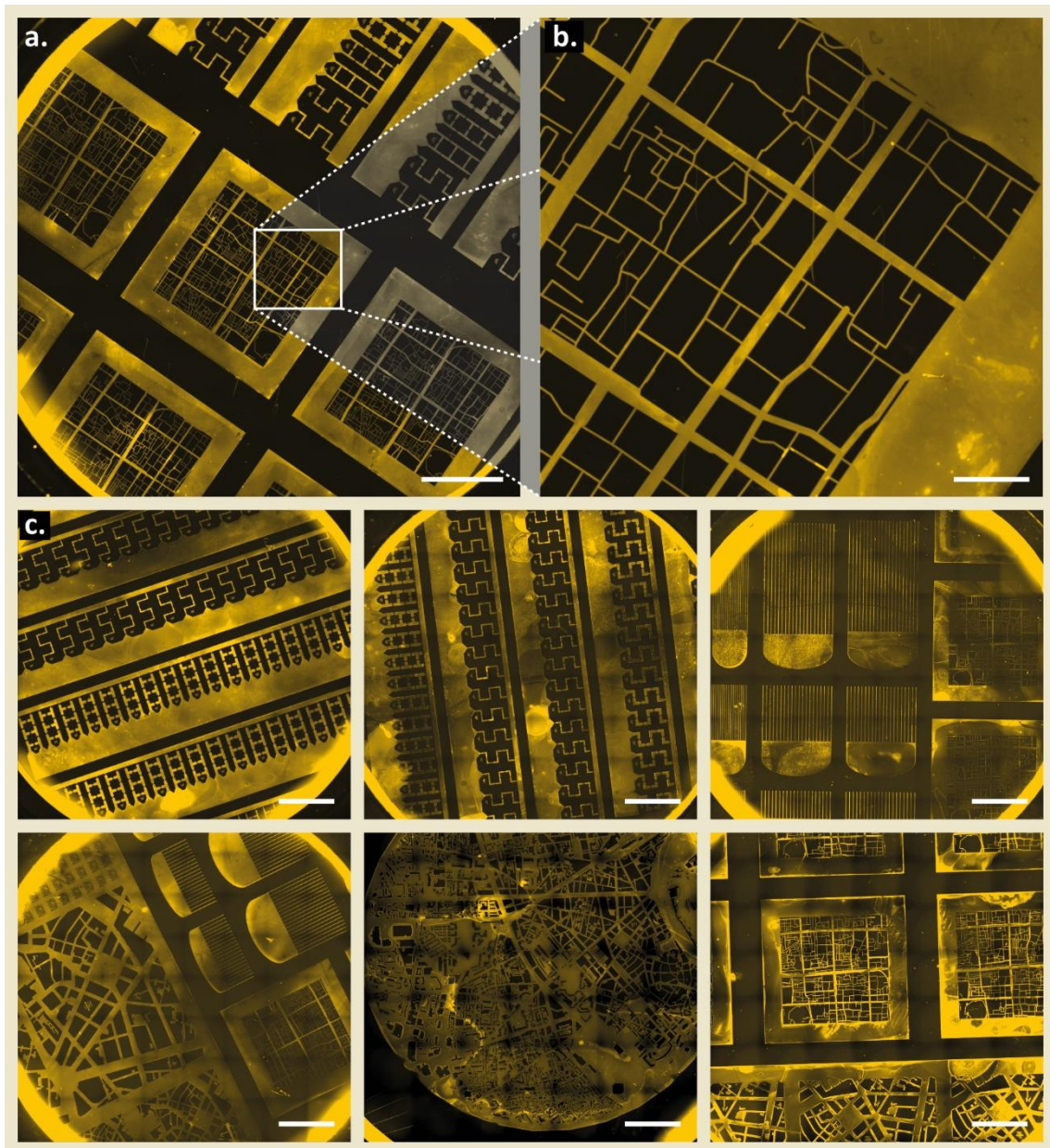


Figure 44. Réalisation de grands microenvironnements

Images obtenues par fluorescence des protéines de fibronectine du motif (prises de vue avec un objectif 4x, assemblage de plusieurs images) a.) Lamelle entière, nous voyons que

le revêtement de protéine est homogène sur l'intégralité de la lamelle. (Le motif carré répété ici est de 9000 x 9000 μm). Barre d'échelle : 4000 μm . **b.)** Zoom sur ce motif, nous voyons qu'il reste très net dans ses plus petites composantes (20 μm de largeur ici). Barres d'échelle : 600 μm . **c.)** Six autres exemples de motifs pour lesquels le revêtement de protéine est homogène et net sur l'intégralité des lamelles (motifs de 8x32, 28x28 et 9x9 mm). Barres d'échelle : 4000 μm .

4.2. Résultats méthodologiques pour la culture et l'observation des cellules

4.2.1. Résultats du protocole A (EGTA+Trypsine)

Nombre de cellules et nombre d'écailles

Dépendamment du ou des motifs observés, il peut être important de contrôler la quantité de cellule que nous plaçons sur la lamelle. Or, lorsqu'elle est répartie sur la surface entière d'une lamelle, la population de cellules d'une seule écaille peut rapidement se révéler insuffisante : elle peut par exemple ne pas recouvrir l'ensemble du motif étudié. En conséquence, cela peut engendrer des difficultés pour l'observation en nous forçant à multiplier les champs de vue ou les expérimentations pour peu de données extraites en fin de compte. Pour pallier à ce problème, nous avons adapté le protocole initial afin de pouvoir utiliser plusieurs écailles en simultanément et ainsi doubler, tripler, voire davantage la densité finale des cellules sur nos motifs étudiés.

Dans le cas de l'utilisation de plusieurs écailles, une contrainte technique est à prendre en considération. Lorsque nous retirons une écaille, nous la plaçons dans une boîte de Pétri afin que les cellules adhèrent sur le fond de cette boîte et migrent hors de l'écaille. Il faut que l'écaille soit plaquée sur le fond afin que cela fonctionne (dans le cas inverse, le tissu reste sur l'écaille). C'est pourquoi nous utilisons une lamelle de 22 mm de diamètre pour appuyer sur l'écaille et ajoutons 70 μL de milieu de culture entre la lamelle et la boîte pour plaquer encore plus l'écaille grâce aux forces capillaires. Cela permet de sustenter les cellules également. Au vu des forces en jeu, il est impossible d'ajouter une seconde écaille dans ce dispositif. **Le tissu ne migre que très peu ou pas lorsque plusieurs écailles sont disposées dans une même boîte de pétri.** Il y a deux raisons à cela : la quantité de milieu est insuffisante pour assurer la bonne santé des cellules sur seize heures de migration et les forces capillaires plaquant les écailles au fond de la boîte sont insuffisantes. Il est donc préférable de disposer d'une boîte de Pétri par écaille [voir p.95].

Nous avons mesuré la densité de population finale sur six expérimentations pour chacune desquelles nous avons utilisé la population de trois écailles. Nous avons ainsi obtenu entre **33 et 87 cellules par millimètre carré de motif**. Il y a une très forte variabilité pour laquelle nous identifions plusieurs facteurs : la variation en taille des écailles et donc de la population initiale de cellules kératocytes par écaille, la variation de la proportion des motifs sur la surface entière de la lamelle.

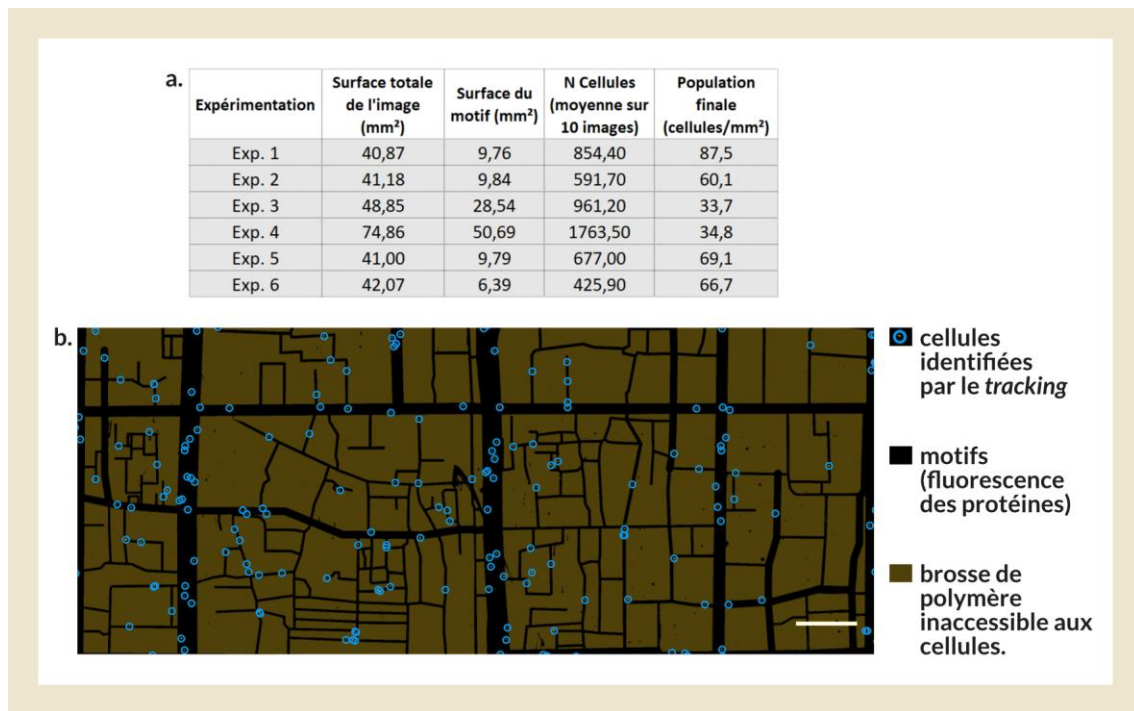


Figure 45. Nombre de cellules obtenues avec le protocole A

a.) Mesure de la surface du motif et du nombre moyen (sur dix images) de cellules identifiées lors du tracking. Utilisation de trois écailles pour chaque expérimentation. Il y a entre 33 et 87 cellules par millimètre carré de motif. **b.)** Aperçu visuel du nombre de cellules (marquées d'un cercle bleu) sur l'un de nos motifs étudiés.

En particulier, le suivi de ce protocole en utilisant la population de trois écailles nous permet d'**obtenir une population répartie de manière homogène** d'une moyenne de 700 cellules pour notre motif d'un quartier urbain [p.144]. Peu de cellule sont regroupées en amas, la migration de chacune se fait individuellement, comme espéré lors de la construction analogique de notre étude.

4.2.2. Résultats du protocole B (EGTA)

Une population de cellule localement dense

L'objectif principal de cette méthode est de déposer une grande quantité de cellule sur un motif donné. En l'appliquant, nous pouvons obtenir localement une densité de population de plusieurs milliers de cellules par millimètre carré. Nous avons mesuré qu'à une distance de l'ordre du millimètre de l'écaille, après une migration d'une durée de 17 heures, nous obtenons une population d'environ 5000 cellules par millimètre carré.

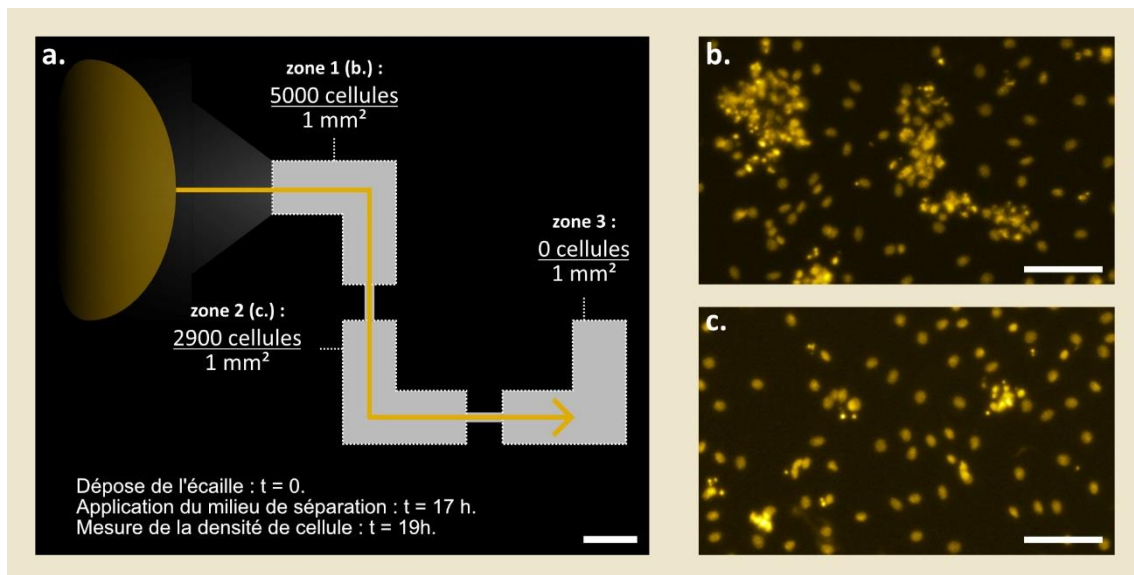


Figure 46. Nombre de cellules obtenues avec le protocole B

Exemple des densités de population obtenues dans un motif avec plusieurs spatialités connectées après application du protocole B. **a.)** Schéma de la migration et des densités de cellule. La flèche jaune indique la migration du tissu depuis l'écaille vers les différentes zones du motif. Barre d'échelle : 200 µm. **b.)** Image de la fluorescence des noyaux (Hoechst 33342®) dans la zone 1 et **c.)** dans la zone 2. Barres d'échelle : 50 µm.

Nous avons mené à bien plusieurs expérimentations en appliquant ce protocole, l'observation de la migration d'un groupe dense de cellule dans une géométrie donnée est reproductible. Malgré cela, la mesure que nous présentons n'est obtenue qu'à partir d'une seule expérimentation. Or, bien évidemment, la densité exacte de la population de cellule est très variable et dépend des quatre paramètres suivants :

- de la variabilité biologique des dimensions du tissu et de l'écaille,
- de la vitesse de migration du tissu,
- de la distance entre l'écaille et le motif étudié,
- de la spatialité de ce dernier (géométries des contours et surfaces des zones adhésives).

Une perspective d'amélioration à ce travail serait donc de réaliser une mesure plus précise, voire une modélisation du comportement de migration du tissu depuis l'écaille. Pour ce faire, voici quelques suggestions :

- Mesurer la variabilité biologique des dimensions des tissus en les faisant migrer sur des lamelles entièrement recouvertes de protéines, sans motifs limitant.
- Mesurer la vitesse de migration du tissu en sortie d'écaille, à différentes distances de celle-ci.

De surcroît, le positionnement de l'écaille avec précision sur la zone souhaitée constitue une contrainte expérimentale majeure : il faut placer un objet de quelques millimètres à l'œil nu puis contrer les forces capillaires et liquides en jeu lors de l'ajout d'une lamelle sur le dessus de l'échantillon. Cette contrainte expérimentale implique un fort taux d'expérimentation sans succès : les cellules ne quittent parfois pas l'écaille, se concentrent dans des zones non désirées des motifs ou recouvrent des zones de la brosse de polymère, en dehors de tout motif.

Pour pallier à ces contraintes, nous conseillons alors de multiplier le nombre d'expérimentations, c'est-à-dire de préparer plusieurs échantillons simultanément, avec les mêmes motifs géométriques à étudier.

L'entrée des cellules dans un motif

Le second objectif de cette méthode est de pouvoir se rapprocher d'une analogie architecturale en créant, comme pour les humains, une entrée-sortie dans un microenvironnement. Nous avons réussi à placer le tissu de kératocytes sur une partie du motif, puis à détacher les cellules les unes des autres et ensuite, à observer leur migration vers une autre partie du motif. **Nous pouvons de ce fait contrôler l'entrée des cellules dans un microenvironnement.**

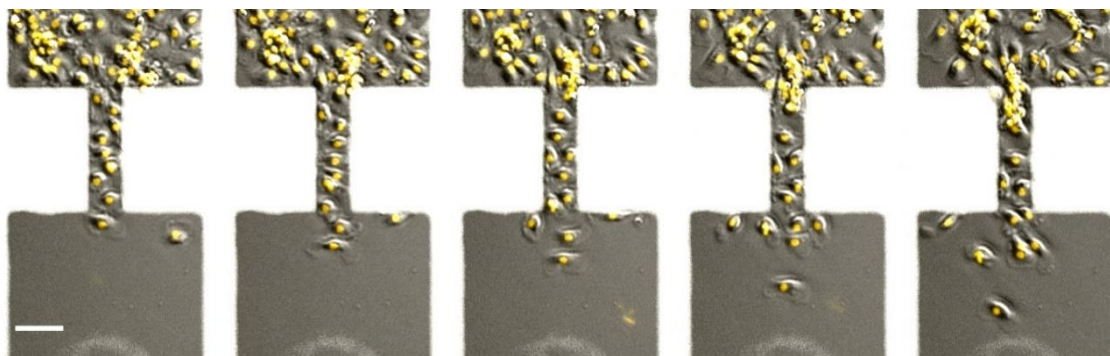


Figure 47. Entrée des cellules dans un microenvironnement après la dépose directe d'une écaille sur ce dernier

Les cellules sont imagées au champ clair (niveaux de gris). Le noyau des cellules est imagé avec la fluorescence du HOECHST 33342 (jaune). Le motif est imagé par fluorescence du revêtement de protéines (contour blanc par seuillage). Le temps s'écoule de gauche à droite, intervalle entre deux images : 4 min. Barre d'échelle : 50 μm .

Le phénomène de pont.

Nous identifions un phénomène problématique pour nos analyses dans la migration du tissu : il s'agit d'un phénomène de « *pont* ». En effet, lorsque le tissu quitte l'écaille, il est cohésif et peut couvrir partiellement des zones en dehors du motif [Figure 48]. Ce n'est à priori pas une contrainte immédiate car cela n'empêche pas la migration générale et nous n'observons les cellules que dans un second temps, après les avoir individualisées.

Malheureusement, nous avons régulièrement identifié des cellules qui, après individualisation, migrent en dehors des motifs, dans ces zones-ci. En déduction de ces observations, il nous apparaît probable qu'à l'état de tissu, certaines cellules modifient la nature du substrat dans ces zones, les rendant accessibles par la suite aux cellules individualisées. Ce phénomène semble être plus fréquent lorsque le motif étudié est trop proche de l'écaille, de l'ordre du millimètre-et-demi.

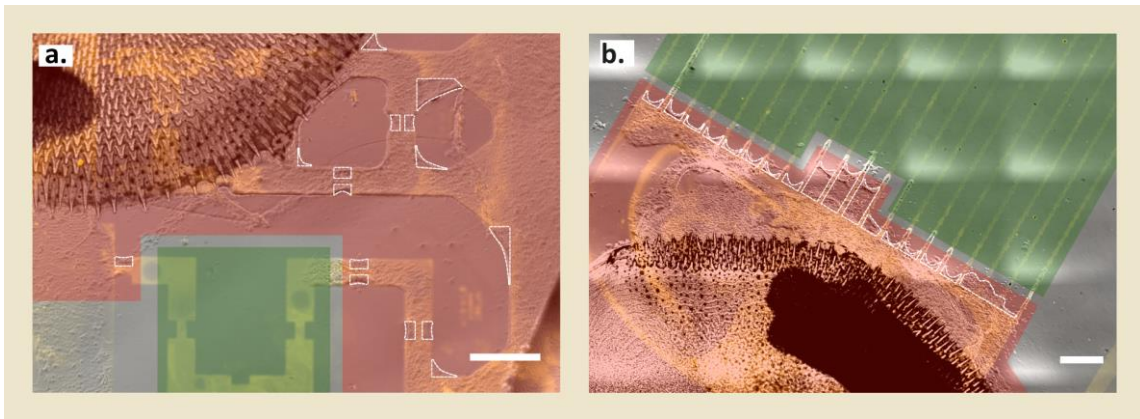


Figure 48. Positionnement de l'écaïlle sur le microenvironnement

Images au champ clair de l'écaïlle et du tissu de cellules kératocytes après 16h de migration et avant l'individualisation des cellules. En niveaux de gris : marquages de la lamelle, écaïlles et tissus de kératocytes. En jaune : superposition à l'image de la fluorescence du motif. Nous voyons apparaître des *ponts de migration* (zones contournées en blanc). La zone rouge est considérée comme inexploitable pour le suivi des cellules (migration des cellules individualisées en dehors des motifs, au niveau des *ponts*). La zone verte à l'inverse est exploitable pour le suivi des cellules après individualisation de celles-ci. **a.)** Exemple de mauvais positionnement de l'écaïlle. La migration respecte globalement le motif, mais le tissu établit de nombreux ponts. **b.)** Exemple de bon positionnement de l'écaïlle. Le tissu établit encore quelques ponts sur les franges du motif mais se régule par la suite. Barres d'échelle : 500 μm .

Pour éviter les problèmes que pose cette migration des cellules en dehors des motifs, il est préférable d'observer une zone éloignée de la position initiale de l'écaïlle ou de prévoir des *pistes* dans la géométrie des motifs afin de mieux accompagner la migration du tissu hors de l'écaïlle.

L'observation plus éloignée permet d'ignorer les ponts qui se forment à proximité de l'écaïlle. Pour ce faire, il apparaît utile d'implémenter une nouvelle étape au protocole : il faut prendre une image fluorescente des motifs et une image au champ clair du tissu à la fin de sa migration hors de l'écaïlle, avant de retirer cette dernière et d'individualiser les cellules. De la sorte, nous pouvons identifier les zones de *ponts* et les considérer non-observables.

Création de pistes dans le motif

Autrement, il est plus pertinent de créer des *pistes* dans les motifs pour prévoir la migration du tissu. Il s'agit de connecter la géométrie du motif que l'on souhaite étudier à une aire de quelques millimètres.

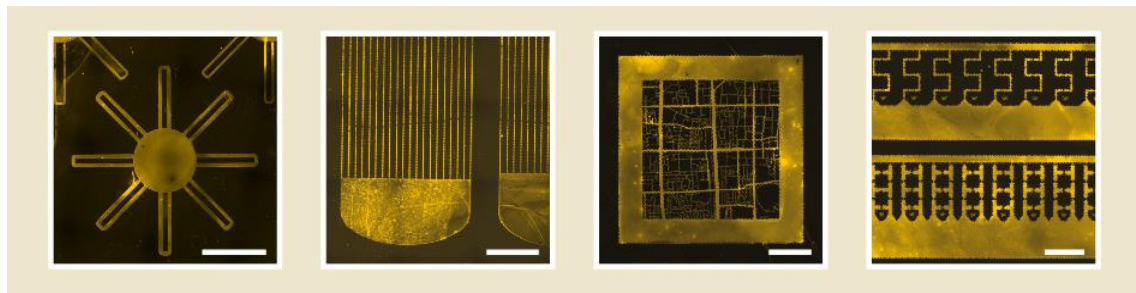


Figure 49. Motifs avec piste pour assurer la migration directe du tissu depuis l'écaïlle
 Il faut placer le bout de l'écaïlle sur ces *pistes* pour diriger le début de la migration vers les motifs souhaités. Barres d'échelle : 2000 μm .

Lorsque le bord de l'écaïlle est placé sur une *piste* telle que décrite ci-dessus, le tissu migre en premier lieu sur cette piste, puis s'étend vers le motif que l'on souhaite étudier. Par la suite, après le retrait de l'écaïlle et le détachement des cellules, celles-ci évoluent dans le motif en restant contrainte par sa géométrie.

4.2.3. Résultats du marquage des cellules

Le marquage fluorescent des noyaux de nos cellules kératocytes avec le fluorochrome Hoechst[®] 33342 est efficace et permet d'obtenir des images adaptées à nos observations. Les noyaux des cellules sont nets, ils contrastent fortement avec l'arrière-plan de l'image et sont en conséquence très facilement identifiables [Figure 50].

L'identification des noyaux à l'image reste aisée même lorsque nous choisissons volontairement de modifier fortement certains paramètres d'acquisition impactant la qualité d'image : réduction du temps d'exposition aux UV afin d'éviter la phototoxicité et binning de l'image afin de réduire la dimension des fichiers informatiques et augmenter les vitesses d'acquisition et d'écriture. Le marquage Hoechst[®] s'adapte parfaitement à ces autres contraintes expérimentales.

Le niveau de définition est également suffisant dans les situations où les cellules sont très proches les unes des autres et s'entrecroisent dans leurs trajectoires, cela n'empêche nullement leur identification. Dans certains cas seulement, le groupement des cellules sous forme d'amas peut perturber l'analyse car il devient difficile de les identifier individuellement et de reconnaître leurs déplacements respectifs. Cependant, ces observations dépendent de facteurs expérimentaux liés à la culture des cellules en amont et nous n'analysons pas ces expérimentations.

Dans le temps, lorsque les cellules meurent après plusieurs heures d'acquisition (entre quatre heures pour les plus prématurées et une dizaine d'heures en général), il y a une augmentation globale du signal de fluorescence qui peut empêcher la continuité de l'expérience car le contraste n'est plus suffisant pour identifier correctement les cellules. L'acquisition devient inutile.

La mort des cellules est observable, grâce à la fluorescence du Hoechst[®], en fonction de deux paramètres : ces dernières finissent par s'immobiliser et leur noyau *éclate*. Il est donc possible de le détecter lors de l'analyse des trajectoires en surveillant à intervalle de temps régulier la vitesse moyenne des cellules ou leur nombre total.

En conclusion, le marquage des noyaux des cellules kératocytes avec le fluorochrome Hoechst® 33342 est parfaitement adapté à l'ensemble de notre protocole d'analyse de la trajectoire de ces cellules dans des microenvironnements à la géométrie contrôlée.

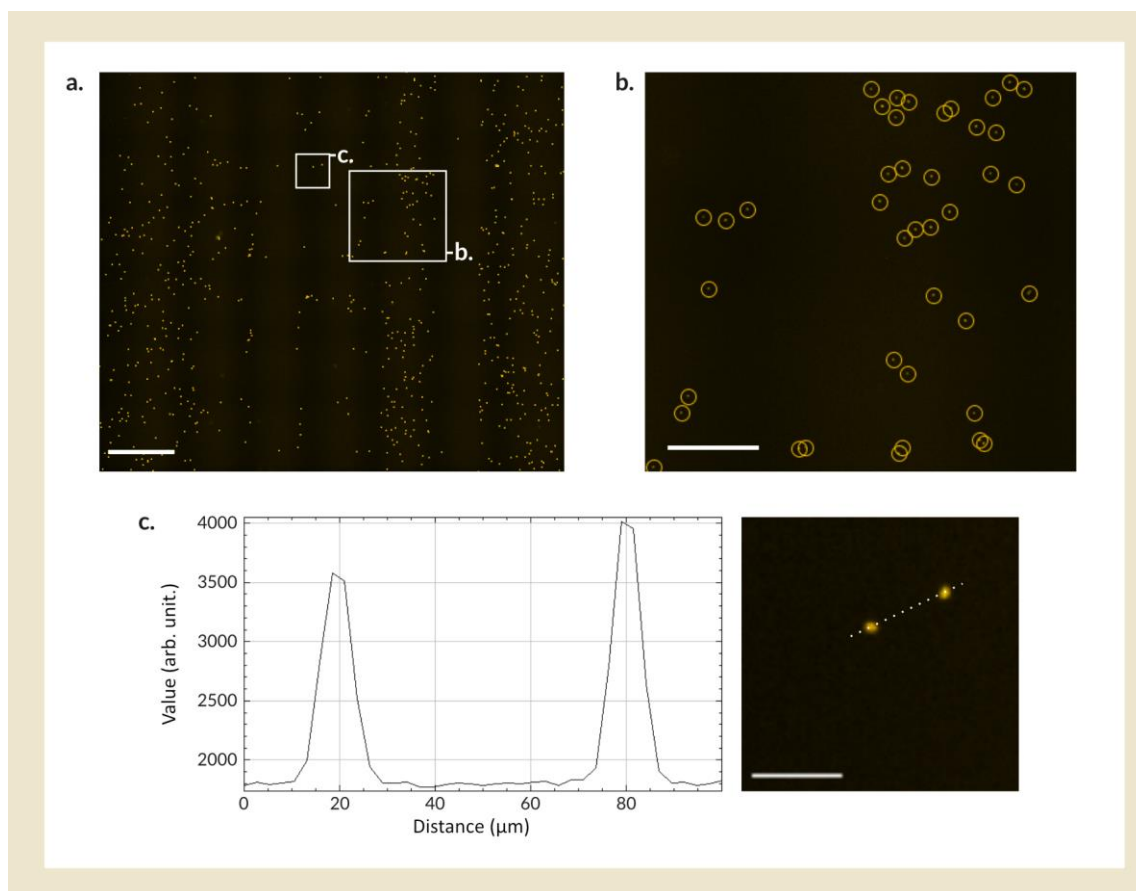


Figure 50. Marquage fluorescent des cellules

a.) et b.) Repérage de plusieurs centaines de cellules sur un échantillon (cercles jaunes superposés) grâce à la fluorescence du Hoechst® 33342 (petits points jaunes au centre des cercles). Barres d'échelle : 1000 µm (**a.**) et 300 µm (**b.**). **c.)** Profil d'intensité de la fluorescence du Hoechst® 33342 le long de la ligne pointillée représentée sur l'image à droite. Barre d'échelle : 50 µm.

4.3. Résultats méthodologiques pour l'observation des humains

4.3.1. Structures obtenues pour la fabrication des environnements à échelle humaine

À l'inverse de la méthode employée pour la production en grand nombre ou en séries de variations des microenvironnements pour cellules, nous ne pouvons à échelle humaine construire qu'un petit nombre d'environnements. Nos environnements se sont révélés légèrement adaptables, potentiellement réutilisables mais peu transformables.

Ce sont des environnements légèrement adaptables car l'utilisation des matériaux légers que sont les panneaux et les tasseaux de bois nous permet de déplacer les structures et donc de légèrement modifier les configurations spatiales. Pour autant, les structures restent stables et conservent l'aspect lisse et uniforme initialement souhaité.

Ce sont des environnements potentiellement réutilisables car ces matériaux sont facilement travaillés. Il est possible de réutiliser tout ou partie des pièces de bois dans de nouvelles installations, moyennant leur désassemblage, de nouvelles découpes et de nouveaux assemblages. Cependant, ces modifications représentent un très grand coût en temps. Il est malheureusement difficile de privilégier ce processus dans la recherche.

Ce sont des environnements peu transformables pour les mêmes raisons, car la modification d'une partie ou d'un paramètre géométrique seul, sans les autres, reste coûteuse en temps. Il sera préférable d'anticiper l'intégralité des modifications et des géométries à étudier en amont de toute construction.

En conclusion, nos environnements, comme premiers prototypes à notre méthodologie de recherche sont satisfaisants en tant que démonstrateurs. Cependant, il serait préférable pour la conduite future de recherches similaires de développer les étapes de conception, en optimisant certaines pièces d'articulation des structures notamment afin de les rendre modulaires ou en préférant l'utilisation plus générale d'outils de prototypage rapide par exemple.

4.3.2. Adaptabilité du système d'acquisition d'image

Le système d'acquisition d'image que nous avons développé a été adapté dans deux contextes différents au cours du développement de cette thèse : au sein de la plateforme L.E.I.C.A. dans laquelle ont été développées et menées les différentes expérimentations présentées dans ce document ainsi que dans un espace d'exposition, dans lequel nous avons évalué l'adaptabilité de notre système mais n'avons pas extrait d'analyse des trajectoires. À partir de ces deux situations très différentes, nous retenons que ce système est aisément adaptable à divers dispositifs expérimentaux malgré des dimensions observables variables et un cadre architectural et structurel différent.

Au sein de la plateforme L.E.I.C.A., le dispositif a démontré son efficacité. Le mouvement des participants est aisément observable et le suivi des trajectoires est efficient (voir p.111 et p.135).

Dans l'espace d'exposition dans lequel nous avons mis à l'épreuve notre système d'acquisition d'image, le résultat est plus mitigé. Nous avons pu confirmer l'adaptabilité du dispositif en ce qui concerne sa mise en place, c'est-à-dire le placement des caméras, leur raccordement à l'ordinateur et l'adaptation du script à une configuration spatiale et une temporalité expérimentale nouvelles. En cela, nous soulignons la simplicité du dispositif, sa facilité de mise en œuvre et donc son adaptabilité à divers besoins expérimentaux.

Cependant, le résultat de l'analyse d'image qui s'ensuit n'est pas aussi performant. Le suivi des trajectoires est rendu extrêmement difficile pour deux raisons que nous identifions : premièrement, nous n'avons pas équipé les visiteurs de l'exposition d'un dispositif de suivi (afin de répondre à une nouvelle contrainte expérimentale) et

deuxièmement, la reconnaissance des visiteurs en tant qu'objet dans l'image est dépendant des conditions d'éclairage et d'agencement des matériaux, de leurs couleurs et de leurs textures. Ainsi, pour mener à bien l'expérimentation, ces critères doivent être pensés en amont.

En conclusion, le système d'acquisition d'image composé des caméras, de l'ordinateur qui les relie et du programme informatique d'enregistrement des images est adaptable, facile à installer et se révèle parfaitement utilisable dans différentes conditions architecturales. Il nécessite néanmoins une adaptation minimale des configurations spatiales, lumineuses et visuelles pour être utilisé dans les meilleurs conditions expérimentales possibles et garantir un suivi des trajectoires de qualité.

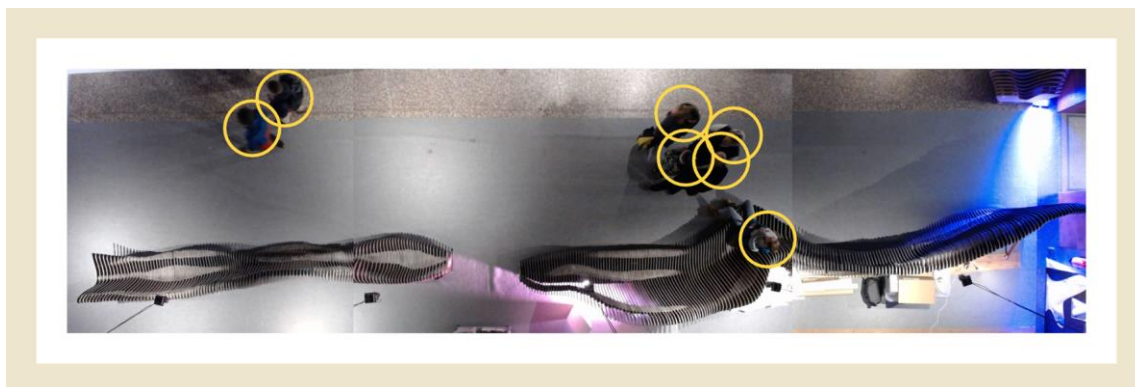


Figure 51. Adaptation de notre système d'acquisition dans un espace d'exposition

L'installation des trois caméras, de l'ordinateur et du programme informatique dans un contexte architectural hors laboratoire est possible et aisée. Cependant, la reconnaissance automatique de la position des personnes nécessiterait d'adapter la configuration lumineuse ou d'équiper les participants de dispositifs de suivi. Les cercles jaunes ont été ajoutés manuellement.

4.3.2. Précision obtenue lors du suivi des trajectoires humaines

Pour la mise en place de nos expérimentations, nous avons fait le choix d'observer les déplacements des participants en les équipant des dispositifs présentés précédemment. En conséquence, l'objet exact nous permettant de capter les déplacements du participant est placé sur sa tête.

De ce fait, nous rencontrons une difficulté car il peut y avoir des imprécisions dans nos suivis de trajectoire. En effet, chez l'humain, l'articulation entre la tête et le buste est très mobile lors de nos déplacements, en particulier, afin d'observer, de percevoir et comprendre l'environnement qui nous entoure. Nous avons observé que cette articulation est d'autant plus marquée lorsqu'un individu se réoriente fortement (lors d'un demi-tour par exemple). Nous constatons que nos observations perdent en précision et en qualité dans ces situations.

Nous avons malgré tout fait le choix de faire abstraction de cette difficulté dans notre construction expérimentale et de maintenir ce dispositif. Nous l'estimons valable et nous considérons la précision qu'il apporte suffisante dans la majorité des expérimentations que nous avons menées. Cela est particulièrement dû au fait que le

déplacement des participants que nous avons observé est majoritairement fait en ligne droite, avec seulement quelques réorientations légères du corps.

Toutefois, une perspective d'amélioration serait d'opérer un suivi plus précis du corps humain en déplacement. Par exemple, il semblerait pertinent d'équiper les participants d'un dispositif permettant de repérer la position de leurs épaules ou bien de cumuler les deux informations : épaules et tête. Pour plus de précision, il serait avisé également de mener quelques recherches expérimentales ou bibliographiques afin de développer une meilleure connaissance de la gestuelle complexe du déplacement humain.

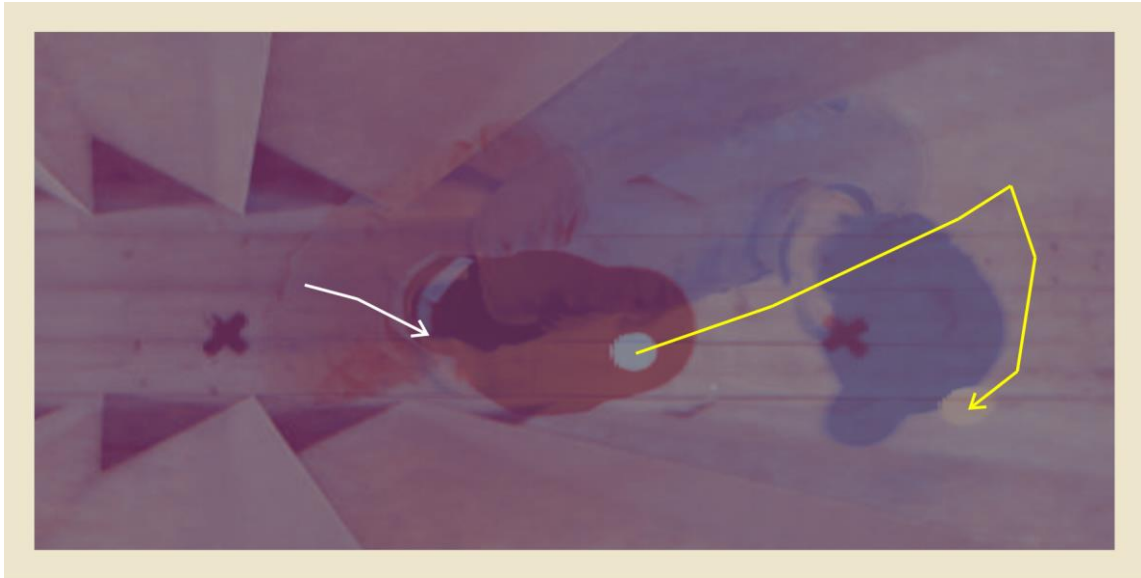


Figure 52. Suivi de la trajectoire d'un participant lors d'un mouvement de tête ample

Exemple d'une différence de mouvement importante entre le déplacement d'un pied et de la tête d'un participant dans une installation. Analyse de la séquence de mouvement : l'image rouge est enregistrée à $t = 0$, l'image bleue est enregistrée à $t = 3$ sec, les flèches représentent le mouvement du pied droit (flèche blanche) et de la tête (flèche jaune), leurs positions respectives sont relevées pour chaque image enregistrée par le système d'acquisition, avec une fréquence de 2 images par seconde.

4.4. Résultats expérimentaux

La suite de ce chapitre est dédiée à la présentation de nos mesures expérimentales. Celles-ci sont regroupées en trois catégories, correspondantes aux trois échelles explorées :

Premièrement, nous avons mené une expérimentation avec les deux êtres vivants, à l'échelle du *corps en mouvement*. Il s'agit d'un cadrage volontairement proche de l'être vivant en question. La spatialité étudiée est celle du couloir à géométrie de type *ratchet*. Pour les humains comme pour les cellules, nous mesurons certains biais dans la direction ou la vitesse des déplacements.

Deuxièmement, nous avons mené plusieurs expérimentations et comparaisons entre des situations humaines et cellulaires à une échelle un peu plus grande, celle du groupe. Les spatialités étudiées sont celles de couloirs avec différentes géométries d'intersection

et différents resserrements spatiaux. Pour les deux êtres-vivants étudiés, nous constatons des phénomènes similaires de blocages des déplacements.

Troisièmement, nous avons profité de nos capacités de production de microenvironnement de grande dimension pour modéliser l'équivalent cellulaire de ce qu'est un quartier à l'échelle d'un humain. Cela nous porte sur une construction analogique à cette échelle plus vaste et nous amène à comparer le déplacement des cellules aux trajets de véhicules. Nous notons que le dimensionnement des différentes rues et intersections a un impact sur la vitesse des cellules.

4.4.1. Biais mesurés dans les déplacements cellulaires et humains à l'échelle du corps

Un objectif majeur de ce travail de thèse consiste en la mise en place et en l'évaluation de la pertinence d'un protocole de recherche analogue à l'observation des mouvements humains et cellulaires en rapport à leurs environnements respectifs. Par conséquent, au fur et à mesure de son développement, nous avons déroulé l'entièreté de ce protocole parallèlement dans chacune des deux disciplines.

Plus spécifiquement, dans le cas de la mécanobiologie, nous nous sommes attachés à la reproduction d'une expérience. En effet, il a été démontré un phénomène de ratchetaxie sur des cellules murines de mélanome (B16F1), des cellules murines fibroblastes (Rat2) ou des cellules humaines d'adénocarcinome (MDA-MB-231) [60] et nous avons souhaité observer l'existence ou non de ce phénomène pour la migration des cellules kératocytes. Parallèlement, dans le cas de l'architecture, nous avons entièrement conduit une étude inspirée de ce phénomène de ratchetaxie, en suivant des protocoles proches de ceux de la mécanobiologie. Nous avons souhaité mesurer si des biais dans la direction ou la vitesse de déplacement d'une personne pouvaient être relevés au sein d'une installation architecturale aux géométries de type *ratchet*.

Nous avons décrit dans le chapitre contextuel ce phénomène de ratchetaxie puis nous avons exposé les techniques de construction et d'imagerie employées pour chacune des expériences, à l'échelle cellulaire et à l'échelle architecturale. Nous présentons ici leurs résultats réciproques, c'est-à-dire l'analyse de la trajectoire des cellules en premier lieu puis l'analyse de la trajectoire des humains.

4.4.1.1. Chez les cellules kératocytes

Concrètement, les cellules kératocytes sont placées dans les géométries *ratchets* que nous avons présentées précédemment. Il y a six variations géométriques dont deux paramètres de largeur et trois paramètres de symétrie du pli. La position de la cellule au moment du départ de l'observation n'est pas contrôlée. Nous notons la somme de ses déplacements et des vitesses liées à ces déplacements, dans l'une ou l'autre des directions de la géométrie.

Nous observons alors un biais. Il y a 58% des cellules qui migrent dans la direction du *ratchet* dans le cas du *ratchet* asymétrique à la plus grande largeur et 56% dans le cas du *ratchet* asymétrique plus fin. Dans les autres cas, nous ne mesurons pas de biais

directionnel. Cela suggère qu'il existe un seuil géométrique en dessous duquel l'asymétrie n'est pas *perçue* par les cellules [Figure 53]. Notre mesure se rapproche de celles réalisées par Goher Mahmud et ses collègues [60]. Dans des conditions expérimentales similaires, ils enregistrent un biais de 56.1% pour les cellules B16F1, de 57.3% pour les cellules MDA-MB-231 et de 68.0% pour les cellules Rat2.

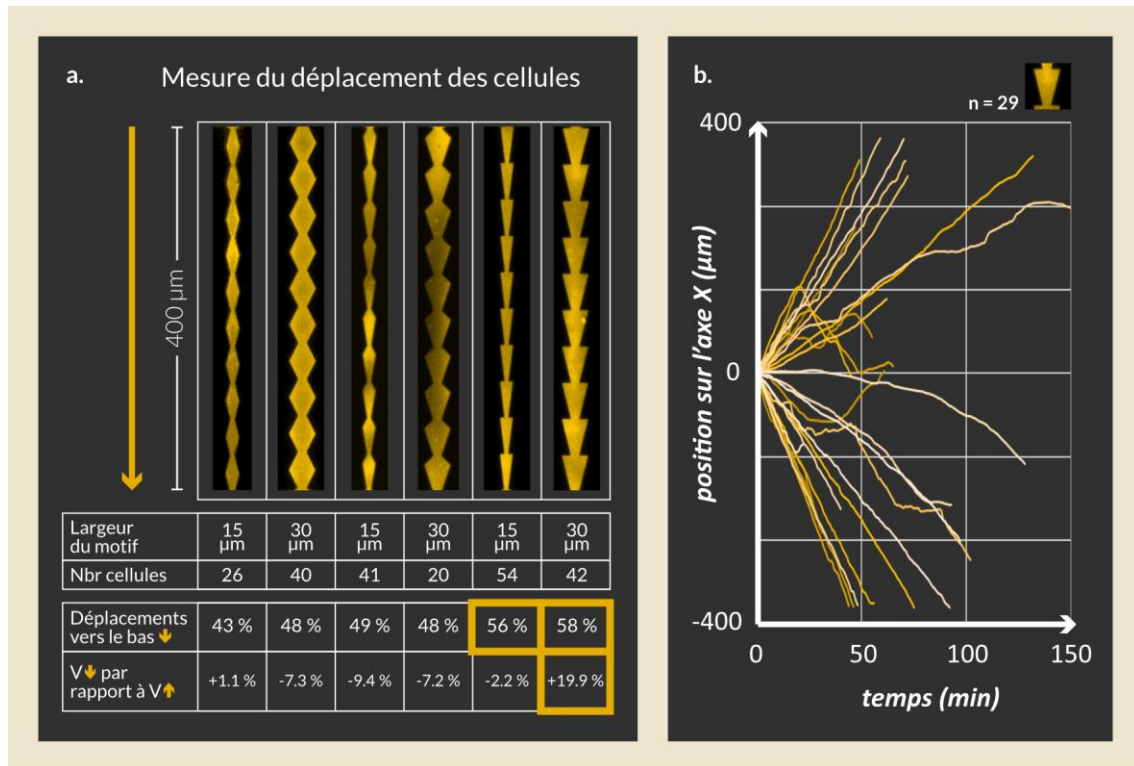


Figure 53. Biais mesurés dans les déplacements cellulaires à l'intérieur de géométries ratchets

a.) Tableau de mesure des biais. Les déplacements vers le bas sont indiqués en pourcentage du nombre total de déplacement. Nous notons la différence entre les vitesses moyennes vers le bas et les vitesses moyennes vers le haut par rapport à ces dernières. **b.)** Graphique représentant la position au cours du temps de 29 cellules kérocytes dans la géométrie ratchet large et asymétrique (motif encadré).

Lorsqu'ils étudient ce phénomène sur les cellules B16F1, Goher Mahmud et ses collègues décrivent la séquence de mouvements d'une cellule migrant d'un module triangulaire du ratchet à l'autre dans le sens du biais : d'abord, la cellule se conforme à la géométrie du premier module. Ensuite, elle forme une large protrusion de son lamellipode dans le second module (en franchissant la partie resserrée comme à travers un entonnoir, puis en s'ancrant dans les angles du second module). Enfin, elle se propulse entièrement dans le second module en rétractant son arrière. Pour plus de précision, ils décrivent également la configuration mécanique des filaments d'actine qui, lors de la protrusion, forment des faisceaux continus connectant les deux modules ratchets (ce qui favorise la formation du lamellipode dans la direction du ratchet). Ils ont aussi observé le redressement et l'alignements d'éléments contractiles (α -actinin, un agent de réticulation de l'actine) qui dirigent les forces intracellulaires dans la direction du biais. Ils notent enfin que les différents types cellulaires suivent globalement la même séquence de mouvement mais avec de légères différences : les cellules Rat2 s'allongent beaucoup plus par exemple.

Ce que nous retenons, c'est que la géométrie *ratchet* crée des conditions asymétriques qui modifient la structure de la cellule. C'est cela qui engendre le biais de migration. Nous n'avons pas mené notre observation à cette échelle de précision. Nous constatons bel et bien un biais directionnel similaire chez les cellules kératocytes. En outre, nous observons également un biais dans la vitesse de migration, ces mêmes cellules étant également plus rapides lorsque migrant dans le sens du *ratchet*. En facilitant la production du lamellipode dans une direction et l'ancrage de la cellule dans le module *ratchet* suivant, la géométrie *ratchet* accélère la migration de la cellule.

4.4.1.2. Chez les humains

Les environnements aux géométries *ratchets* sont construits pour les humains comme des couloirs d'une longueur de 4 mètres dont les parois sont pliées. Ces environnements créent une enveloppe spatiale dans laquelle sont contenus nos déplacements. Nous avons opté pour la construction de deux paires de parois : motifs *ratchets* symétriques et motifs *ratchets* asymétriques. Nous avons ensuite modifié aisément les paramètres de largeur grâce à l'éloignement des parois l'une de l'autre.



Figure 54. Construction de six couloirs aux géométries *ratchets* à échelle humaine

Les variations de ces géométries sont faites à partir de deux paramètres : il y a trois largeurs différentes et deux modèles de pli, symétriques ou non.

Concrètement, nous avons organisé l'étude avec les participants sous forme de deux expérimentations, correspondant à deux consignes différentes :

- Consigne n°1 : ils sont invités à traverser les installations architecturales dans un sens puis dans l'autre à partir d'un signal de départ et sans contrainte temporelle spécifiée.
- Consigne n°2 : ils sont invités à se rendre dans l'installation architecturale, à l'emplacement de leur choix. À leur signal, l'acquisition d'image est lancée et ils disposent d'une minute pour se mouvoir ou non, librement, dans l'installation.

Dans les deux cas, la taille des participants est relevée, ceux-ci portent le dispositif de suivi des trajectoires et sont informés de la captation vidéo mais le contenu de l'étude ne leur est pas transmis afin de ne pas orienter leur comportement.

En suivant la consigne n°1, nous n’observons aucun biais directionnel en ce qui concerne la distance du déplacement des participants. Ce dernier correspond simplement à la traversée entière de l’installation architecturale. La variation géométrique n’influence pas la direction du déplacement des participants. Cela est, par conséquent, en adéquation avec la consigne donnée.

En ce qui concerne la vitesse du déplacement, cela est différent. Nous n’observons pas de biais significatif qui dépende de la direction : pour chaque installation, les vitesses dans un sens comme dans l’autre sont très proches. Cependant, nous observons un biais de vitesse en fonction de la largeur entre les deux parois et ce biais est plus marqué dans les installations aux plis asymétriques [Figure 55].

Nous remarquons donc que le largueur de ces espaces, formés de parois aux géométries *ratchets* situées proches du corps, peut influencer la vitesse de déplacement de ce dernier.

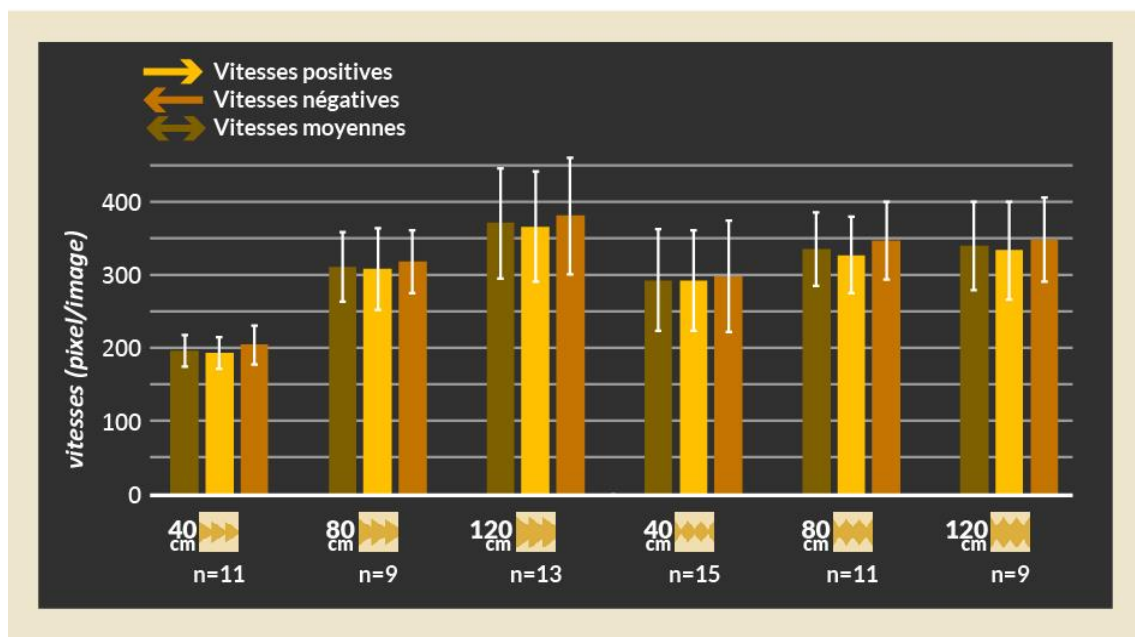


Figure 55. Comparaison des vitesses mesurées lors de la traversée d’installations architecturales composées de parois aux géométries *ratchet*

En comparant les deux expérimentations en fonction de leurs consignes, nous mesurons un écart significatif des vitesses moyennes. Avec la consigne n°2, lorsqu’il faut choisir un emplacement puis évoluer librement dans l’installation, la vitesse des participants est plus réduite. De ce fait, nous interprétons que le mode de déplacement des participants est différent d’un cas à l’autre. Nous pourrions préciser la nature de ce phénomène et les raisons sous-jacentes à son émergence en corrélant nos mesures à une étude sensible et sociologique plus approfondie. L’observation menée nous permet d’or-et-déjà de démontrer notre capacité technique à mesurer ce phénomène.

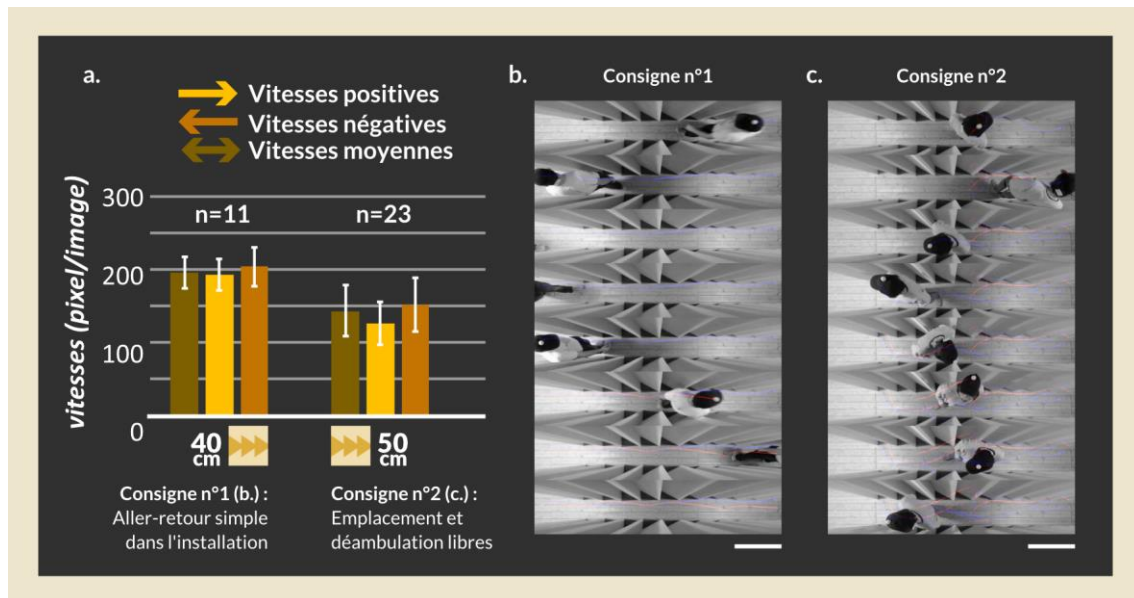


Figure 56. Comparaison des vitesses mesurées lors de la traversée d'installations architecturales *ratchets* en fonction de la consigne expérimentale donnée

a.) Histogrammes des vitesses positives, négatives et moyennes mesurées lors de la traversée d'installations architecturales composées de parois aux géométries *ratchets*. Comparaison entre un aller-retour dans l'installation (consigne n°1) et une déambulation libre (consigne n°2). b.) et c.) Extraits de déplacements au sein d'une géométrie *ratchet* asymétrique. Nous voyons un participant traverser linéairement l'installation de droite à gauche puis de gauche à droite en suivant la consigne n°1 (b.) tandis qu'un autre participant se réoriente à plusieurs reprises au centre de l'installation en suivant la consigne n°2 (c.). Le temps s'écoule de haut en bas. Intervalle entre deux images : 2 secondes. Barres d'échelle : 1 m.

4.4.1.3. Comparaison analogique, consigne et sociologie

Lorsque nous comparons nos analyses des trajectoires des cellules et des humains dans les géométries de type *ratchet*, nous remarquons que les biais observés ne sont absolument pas similaires. Plus précisément, lorsque nous faisons varier le paramètre de symétrie des motifs, nous ne mesurons aucun biais chez les humains, tandis que nous en mesurons un chez les cellules [Figure 53] et à l'inverse, nous n'avons pas relevé de différence significative du côté des cellules en comparant deux largeurs de motif tandis que la modification de ce paramètre impacte la vitesse des déplacements humains [Figure 55]. Nous remarquons ici que **l'analogie méthodologique est utile pour l'observation des phénomènes mais qu'une analogie plus directe ne l'est pas car le comportement des êtres vivants concernés n'est pas similaire.**

Sur le plan architectural, nous pouvons discuter d'une limite potentielle à notre configuration expérimentale : il s'agit de l'effet que l'énoncé d'une consigne aux participants peut avoir sur leurs déplacements. Il s'agit d'une limite méthodologique car il nous semble assurément complexe de comprendre avec exactitude un tel phénomène et ce qu'il implique sur l'expérimentation. Celui-ci dépend fortement d'un ensemble de biais subjectifs, dû à l'énoncé d'une consigne par le chercheur et à l'interprétation de cette consigne par les participants à l'expérimentation. Nous avons vu que ce type de biais subjectif dans la recherche est particulièrement présent dans les sciences humaines

et sociales et qu'une critique est construite à ce sujet, indiquant qu'il est préférable d'intégrer de tels biais aux données de la recherche plutôt que de les ignorer en s'efforçant d'atteindre une forme d'objectivité jugée impossible.

Or, nous avons pu observer le déplacement des humains dans deux situations d'énoncé de la consigne différentes bien que la configuration spatiale du dispositif architectural soit similaire et nous avons mesuré une différence significative de la vitesse des trajectoires entre les deux situations [Figure 56]. À partir de ces faits, bien qu'il ne s'agisse que d'une unique expérience, nous reconnaissons que la consigne expérimentale donnée peut avoir un grand impact sur l'expérimentation et générer une forte variabilité dans les résultats. La prise en compte de cette variabilité nous semble nécessaire. Il est important de l'avoir en tête lors du design de l'expérimentation et lors de l'interprétation des résultats.

En même temps, la mesure significative que nous évoquons démontre notre capacité à rendre compte de cette variabilité. Nous pensons qu'il est possible de mesurer plus précisément certains phénomènes similaires, impliquant d'éventuels biais subjectifs en imaginant des protocoles expérimentaux dédiés et conseillons aux expérimentateurs futurs de chercher à réduire cette variabilité.

4.4.2. Occupation et exploration des spatialités à l'échelle du groupe

Nous avons mené plusieurs expérimentations et comparaisons entre les situations humaines et cellulaires à une échelle un peu plus élargie, c'est-à-dire à celle du groupe. Dans cette partie, nous abordons deux séries d'expérimentation : tout d'abord, nous avons mené une série d'expérimentation avec des configurations spatiales de couloirs en "L" et en "T" dans lesquelles nous identifions trois phénomènes de mouvement, propres aux humains ou propres aux cellules. Ensuite, dans une seconde série d'expérimentation, à l'aide de configurations spatiales dites *bottleneck*, nous identifions deux phénomènes qui, à l'inverse, sont communs aux humains et aux cellules.

Aussi, est-il important de préciser que le travail portant sur les configurations spatiales *bottleneck* est mené par Maëlys Ropars³⁴ à son initiative³⁵. Il est étroitement lié au contenu de notre thèse et peut être considéré comme une exploration, une nouvelle itération dans l'application de sa méthodologie.

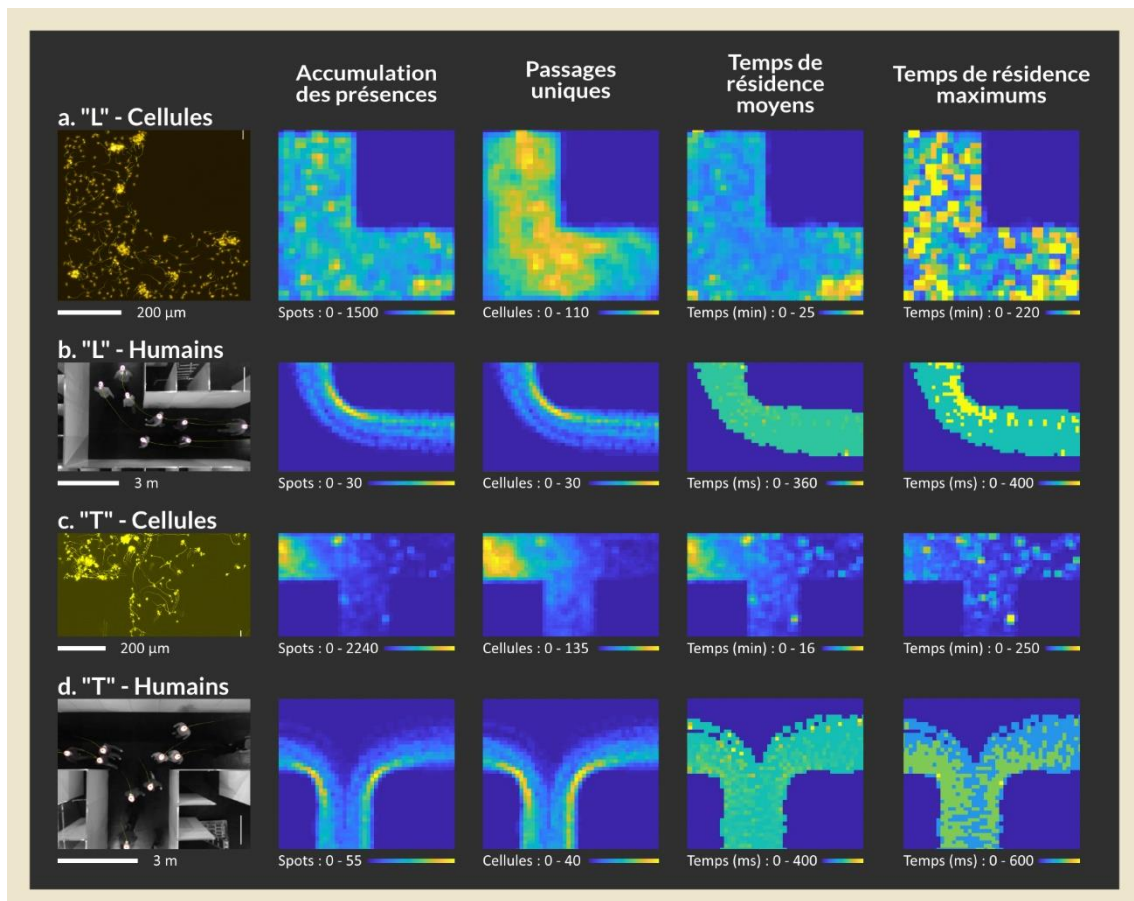
³⁴ Maëlys Ropars était élève ingénieure en dernière année à Grenoble INP Phelma au moment de la tenue de ces expérimentations. Elle prolonge actuellement son travail au sein de notre équipe, à travers le développement d'une thèse.

³⁵ Pour l'ensemble des expérimentations portant sur les *bottlenecks*, les phénomènes de blocage et de *stop-and-go*, le choix de la typologie spatiale étudiée et la production de *tracking* et des cartographies sont menés par Maëlys Ropars tandis que les expérimentations cellulaires et l'articulation de ces résultats aux autres explorations expérimentales de la présente thèse sont miennes. Mon propre travail sur cette série d'expérimentation est alors à considérer comme une contribution.

4.4.2.1. Les couloirs en « L » et en « T »

Nous nommons *couloirs en « L »* les géométries de couloir formant un angle droit et *couloirs en « T »* une intersection entre trois branches de couloirs, à l'image de la forme de ces lettres. Du côté humain, nous avons pris appui sur les recherches de Maik Boltes, Armin Seyfried et leurs collègues [72], [73]. Ces derniers ont mené un ensemble d'expérimentations portant sur les flux de personnes et leurs densités dans des environnements contrôlés. Ils ont construit des couloirs à échelle humaine et ont mesuré le déplacement de groupes d'individus qui les traversent. Nous avons téléchargé les vidéos de ces expérimentations depuis les archives associées aux publications que les chercheurs ont déposées en libre accès sur le site web *Pedestrian Dynamics Data Archive*³⁶. Nous avons ensuite appliqué notre méthode de suivi des trajectoires à ces vidéos puis nous avons extrait les cartographies des temps de résidence et d'accumulation des présences.

Du côté cellulaire, nous nous sommes basé sur la description des environnements spatiaux faite par les chercheurs et les avons reproduits à l'échelle des cellules, c'est-à-dire au 1 : 15 000^{ème}. Également, nous avons ensuite appliqué notre méthode de suivi des trajectoires et de production des cartographies.



³⁶ Accessible à cet URL : <https://ped.fz-juelich.de/da/doku.php?id=start#t-junction>

Figure 57. Cartographies d'accumulation des présences, des passages uniques et des temps de résidence moyens et maximums

Deux géométries de couloirs sont comparées : le couloir en « L » (a. et b.) et le couloir en « T » (c. et d.). Les situations a. et c. représentent des trajectoires cellulaires tandis que les situations b. et d. représentent des trajectoires humaines. Sous chaque image sont précisées les valeurs extrêmes des gradients de couleur.

Nous avons donc comparé entre elles quatre situations : un couloir en « L » pour les humains et son équivalent cellulaire ainsi qu'un couloir en « T », également décliné pour humains et pour cellules. En comparant les cartographies des temps de résidence et d'accumulation des présences, nous pouvons observer certains phénomènes de mouvements :

Un premier phénomène que nous remarquons est que **les cartographies d'accumulation des présences et de passages uniques sont quasiment identiques pour chaque situation humaine**. Nous interprétons ce fait comme une conséquence de la consigne expérimentale. En effet, les participants sont invités à traverser le couloir, leur déplacement est continu et orienté lorsqu'ils répondent à l'exercice donné par les chercheurs.

Un second phénomène que nous remarquons est que **les temps de résidences moyens sont uniformes dans les espaces traversés par les humains**. Là aussi, nous interprétons ce phénomène comme une conséquence de la consigne expérimentale. Le mouvement des personnes est continu. La quantité de personne traversant cet espace ne semble pas trop important compte tenu de la spatialité disponible (il n'y a aucun phénomène de blocage). Cependant, nous notons **une délimitation spatiale franche entre ces espaces traversés par les humains et les espaces non traversés**. Dans le cas du couloir en « L », la forme de l'espace suit un angle droit tandis que l'espace traversé par les humains forme une courbe. Dans le cas du couloir en « T », ce sont deux courbes qui se superposent. Nous interprétons que ce phénomène témoigne d'une occupation utilitariste de cet espace puisque le mouvement observé est orienté et répond à un but donné (cadre par la consigne).

Un troisième phénomène que nous remarquons est que **l'exploration de l'espace disponible est plus complet chez les cellules que chez les humains**. En effet, les cartographies d'accumulation des présences et des passages uniques montrent bien que la quasi-totalité de la spatialité disponible est visitée au moins par une cellule tandis que certaines zones ne sont pas du tout traversées par les humains.

4.4.2.2. Configuration spatiale du bottleneck et phénomène de blocage du mouvement

Dans la littérature physicienne portant sur les déplacements des humains, nous retrouvons plusieurs études qui portent sur les situations appelées en anglais *bottleneck* [74] [75], (que l'on peut traduire par *goulot d'étranglement* en français). Ce sont des configurations spatiales dans lesquelles il y a un rétrécissement, ce qui a un impact clairement mesurable sur la vitesse et la densité d'un groupe de personnes qui le franchissent.

Nous avons comparé le mouvement des humains et des cellules dans ce type de configuration spatiale. Du côté des humains, nous nous sommes appuyés sur les données de recherche publiées par Juliane Adrian *et al.* [76] [77]³⁷. Du côté des cellules, nous avons reproduit les géométries humaines à échelle microscopique³⁸. Ensuite, dans les deux cas, nous avons appliqué notre méthode de suivi des particules et de génération des cartographies.

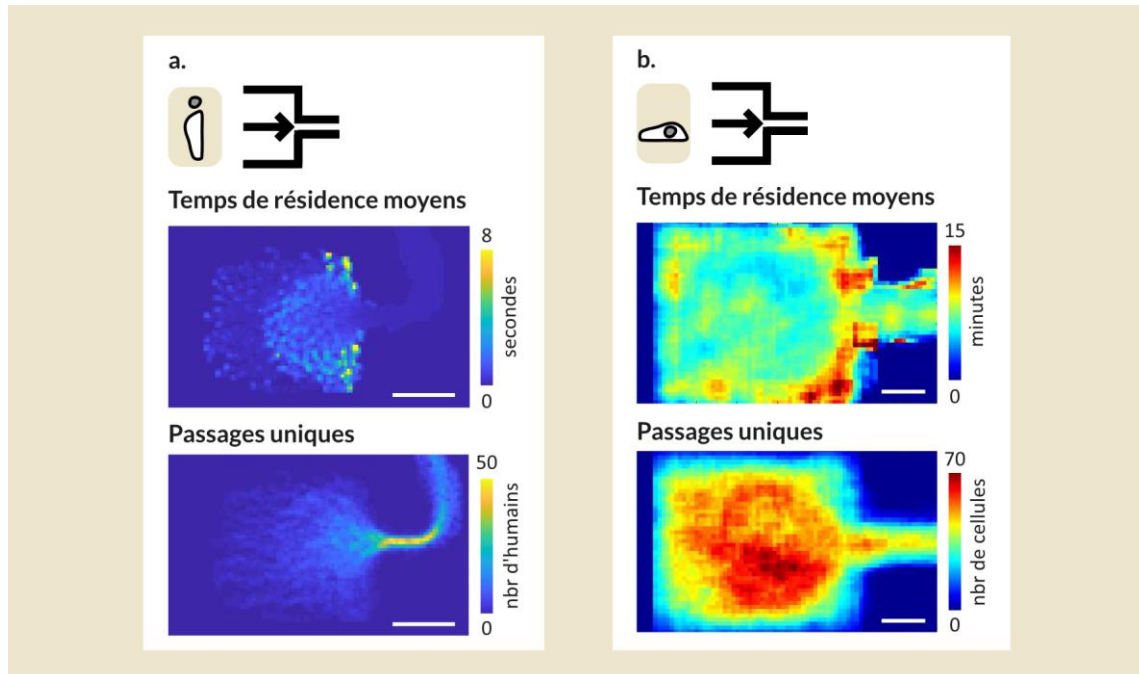


Figure 58. Comparaison des mouvements humains et cellulaires dans des configurations spatiales *bottleneck*

Le *tracking* et les cartographies sont réalisés aux deux échelles en suivant la même méthode. **a.)** Cartographies des mouvements humains, les données utilisées sont extraites de [77]. Barres d'échelle : 2 m. **b.)** Cartographies des mouvements cellulaires. Barres d'échelle : 50 μm . Analyses réalisées par Maëlys Ropars.

Nous identifions **un phénomène identique aux deux échelles : le blocage des déplacements dans les angles de l'espace proches de l'ouverture** [Figure 58.a]. Malgré tout, toujours dans ces angles, le nombre d'êtres humains ou de cellules uniques est plus réduit [Figure 58.b]. Par contraste, il y a moins de stagnation au centre de l'espace malgré le passage d'un plus grand nombre d'individus uniques. Cela diffère légèrement entre les deux situations en ce qui concerne le centre de l'espace car il y a une plus forte circulation du côté des cellules.

Nous interprétons du côté des humains que la consigne de l'exercice (étant de quitter la pièce en franchissant l'espace restreint) peut être une condition d'émergence de ce phénomène de blocage et par extension peut expliquer la différence observée au centre de l'espace (les personnes ne pouvant accomplir l'objectif demandé patientent le temps que l'espace soit désengorgé). Or, le phénomène est commun aux deux situations. Du côté des cellules, nous interprétons que l'ouverture de l'espace sur un côté offre aux

³⁷ Vidéos accessibles à cet URL : <https://ped.fz-juelich.de/da/doku.php?>

³⁸ À partir d'une idée originale de Maëlys Ropars, ayant fortement contribué à cette recherche dans le cadre de son stage de master.

cellules la possibilité de franchir ce seuil dans un sens et dans l'autre. Cette configuration spatiale constitue une condition d'émergence du phénomène de blocage.

4.4.2.3. Alternance des mouvements : le phénomène du « stop-and-go »

Le phénomène de *stop-and-go* est régulièrement observé et décrit dans les études portant sur les mouvements de piétons dans des *goulots d'étranglement* [78] [79]. Une traduction en français de ce terme anglais serait : l'*effet accordéon*. C'est un phénomène qui se définit par une alternance de blocages puis de passages lorsqu'un groupe d'individu traverse un rétrécissement, comme c'est le cas dans une configuration spatiale de *bottleneck*.

En nous appuyant sur les simulations réalisées par Dirk Helbing et ses collègues [80], nous pouvons voir que ce phénomène de *stop-and-go* est corrélé à la vitesse des individus : plus celle-ci est élevée, plus le phénomène se produit [Figure 59].

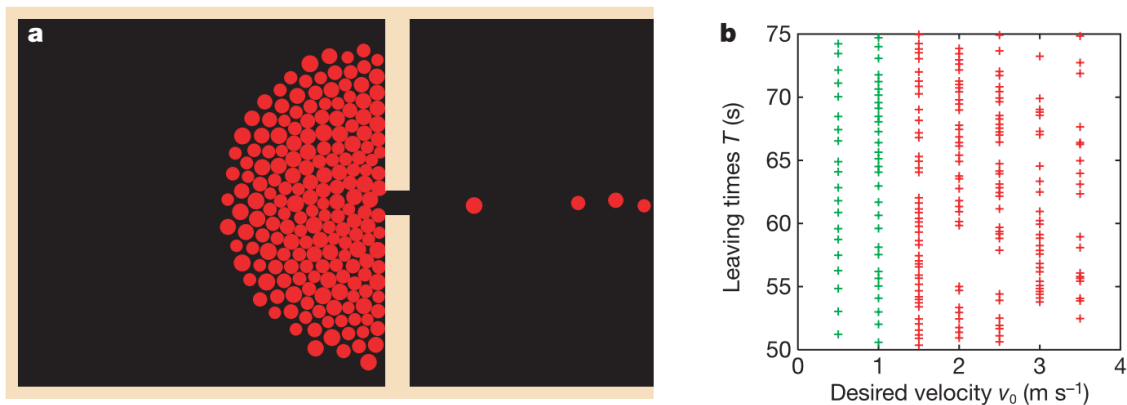
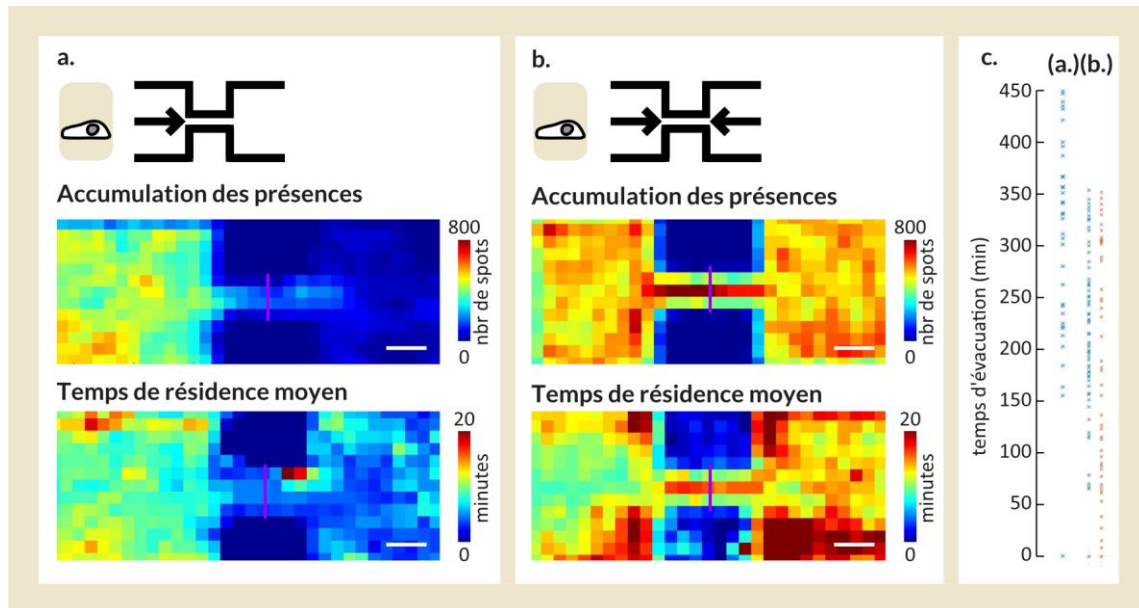


Figure 59. Modélisation d'un effet « stop-and-go » par Dirk Helbing et ses collègues

Emprunté à [80]. a.) Représentation de la simulation avec des particules cherchant à quitter une pièce de 15*15m à travers un passage de 1m de large. b.) Graphique représentant les particules franchissant le seuil. Sept simulations sont faites en fonction de sept vitesses initiales des particules différentes et les temps auxquels passent les particules sont relevés. En vert, les deux simulations où l'effet n'est pas observé. En rouge, les cinq simulations où nous pouvons voir des alternances entre passages simultanées et blocages.

Dans la poursuite de notre exploration analogique, nous avons reproduit à l'échelle des cellules une expérimentation permettant d'observer l'émergence ou non d'un phénomène de *stop-and-go*. Nous avons étudié deux configurations : une première dans laquelle les cellules migrent d'un espace donné vers un autre, dans une seule direction, et une seconde dans laquelle les cellules sont placées de part et d'autre du franchissement.



Nous remarquons que **dans les deux situations il y a un phénomène de *stop-and-go***. Les cellules franchissent le rétrécissement spatial par groupes. Également, nous remarquons que dans la situation avec double direction, il y a un phénomène d'alternance entre les groupes allant de gauche à droite et les groupes allant en sens inverse. En prolongation des éléments présentés plus tôt, nous interprétons que la configuration spatiale, constituant une condition d'émergence du phénomène de blocage, est également une condition d'émergence du phénomène de *stop-and-go*.

4.4.2.4. Comparaison analogique, consigne et sociologie

Il est à noter que pour chacune des situations présentées ici (les couloirs en « L » et en « T », ainsi que les espaces voyant émerger les phénomènes de blocage et de *stop-and-go*), nous n'avons mené qu'une seule expérimentation pour chaque configuration. Il s'agit clairement d'une limite expérimentale et il serait à présent intéressant de prolonger cette expérience afin de vérifier statistiquement sa validité. Ce travail s'affirme ici en tant que preuve de concept, afin de valider l'avancée méthodologique de la recherche. Il est bien évidemment préférable de rester prudents quant aux conclusions tirées de ces résultats préliminaires.

Lorsque nous comparons nos analyses du mouvement des cellules et des humains à travers la spatialité des différentes géométries de couloir, nous remarquons que l'analogie est plus forte que dans l'expérimentation avec les géométries *ratchets*. Nous

observons des correspondances bien plus marquées entre les deux catégories de mouvement qui dépendent de la géométrie environnante.

Les configurations spatiales proposées aux humains sont conçues comme des espaces de circulation et les consignes expérimentales données aux participants vont également en ce sens : ces derniers sont invités à traverser les espace d'un point à un autre. Il ne nous apparaît alors pas surprenant de repérer des modalités de mouvements comme ceux décrits ci-dessus. Nos mesures permettent néanmoins de les décrire plus précisément.

En prenant un peu de recul, nous pensons que les éléments mesurés dans le cas des couloirs parcourus par les humains – à savoir la très forte corrélation entre temps de résidence et passages uniques ainsi que le contraste marqué entre espaces traversés et espaces non-traversés – puissent devenir des critères de description d'un espace de circulation. Nous pouvons en effet les considérer comme des propriétés émergentes de la relation entre les mouvements et la spatialité. Plus encore, nous pouvons imaginer repérer ces espaces au sein de configurations spatiales plus grandes, plus complexes, imbriquées avec d'autres éléments par le fait d'observer l'émergence de ces modalités de mouvement.

Nous avons vu que la consigne expérimentale pouvait avoir un rôle important et se révéler en partie responsable de certains phénomènes de mouvement. Cependant, nous avons également remarqué que d'autres phénomènes émergents de mouvement, comme les blocages, pouvaient être indépendants et peuvent en conséquence être considéré en tant que propriété de l'ensemble *être vivant – spatialité*. À ce titre, il semble possible d'ignorer les biais sociologiques induits par une consigne, en restant évidemment dans un cadre expérimental donné.

4.4.3. Exploration analogique à très grande échelle : observation comparée des cellules kératocytes et des taxis pékinois

Le potentiel utile de notre protocole réside dans sa capacité à produire des motifs adhésifs de grande dimension, à placer des cellules sur ces motifs et à analyser les trajectoires de leur migration sur des temps longs. De ce fait, il questionne les échelles de la fabrication de microenvironnements et des études sur la migration cellulaire. Nous proposons ici d'explorer cette potentialité en observant le déplacement de cellules kératocytes dans un très grand microenvironnement, reproduisant à l'échelle microscopique un quartier de la ville de Pékin.

Par extension, nous questionnons les échelles de notre analogie. Comme évoqué au sujet de la dimension des motifs, nous travaillons dans le monde cellulaire sur des métriques de quatre ordres de grandeur allant de la taille d'une cellule unique (quelques microns) à la taille des microenvironnements (jusqu'à plusieurs centimètres). Nous avons vu que, par analogie, à échelle humaine, cette métrique sur quatre ordres de grandeur correspond au passage du centimètre à la dizaine de kilomètre, ce qui nous conduit à l'échelle urbaine.

Le travail des architectes et surtout des urbanistes à ces échelles s'appuie sur des outils comme les cartographies. L'analyse des trajectoires est faite à partir de grandes quantités de données. En questionnant ces échelles, nous avons remarqué le travail de Will Geary, portant sur l'analyse de trajectoires automobiles à grande échelle et proposant des représentations cartographiques de ces données. Nous reportons ici l'une de ses réalisations [66] [Figure 61] : une vidéo représentant les trajets sur une journée (en février 2008) des taxis de la ville de Pékin. Les données utilisées sont elles-mêmes extraites d'une recherche Microsoft³⁹.

Nous avons reproduit un quartier de la ville de Pékin d'environ 10 km². Ce quartier, réduit au 1 : 450 000ème est alors d'une surface d'environ 40 mm². Les dimensions de cette réduction sont déterminées par rapport à la largeur des différentes avenues, rues et ruelles. Ainsi, les plus étroits passages ont une largeur de 20 µm, permettant le passage de la cellule kératocyte. L'objet que nous détectons à l'image, c'est-à-dire le noyau fluorescent de la cellule, mesure approximativement 10 µm. Cela représente un objet de 4.50 m à l'échelle 1 : 1, soit l'équivalent d'un véhicule.

Nous avons ensuite placé les cellules sur le quartier de Pékin. L'adhésion des cellules sur le motif est homogène. Nous avons observé qu'elles parcouraient la quasi-entière du motif sur une période de 10h.

³⁹ Accessible à cet URL : <https://www.microsoft.com/en-us/research/publication/t-drive-trajectory-data-sample>

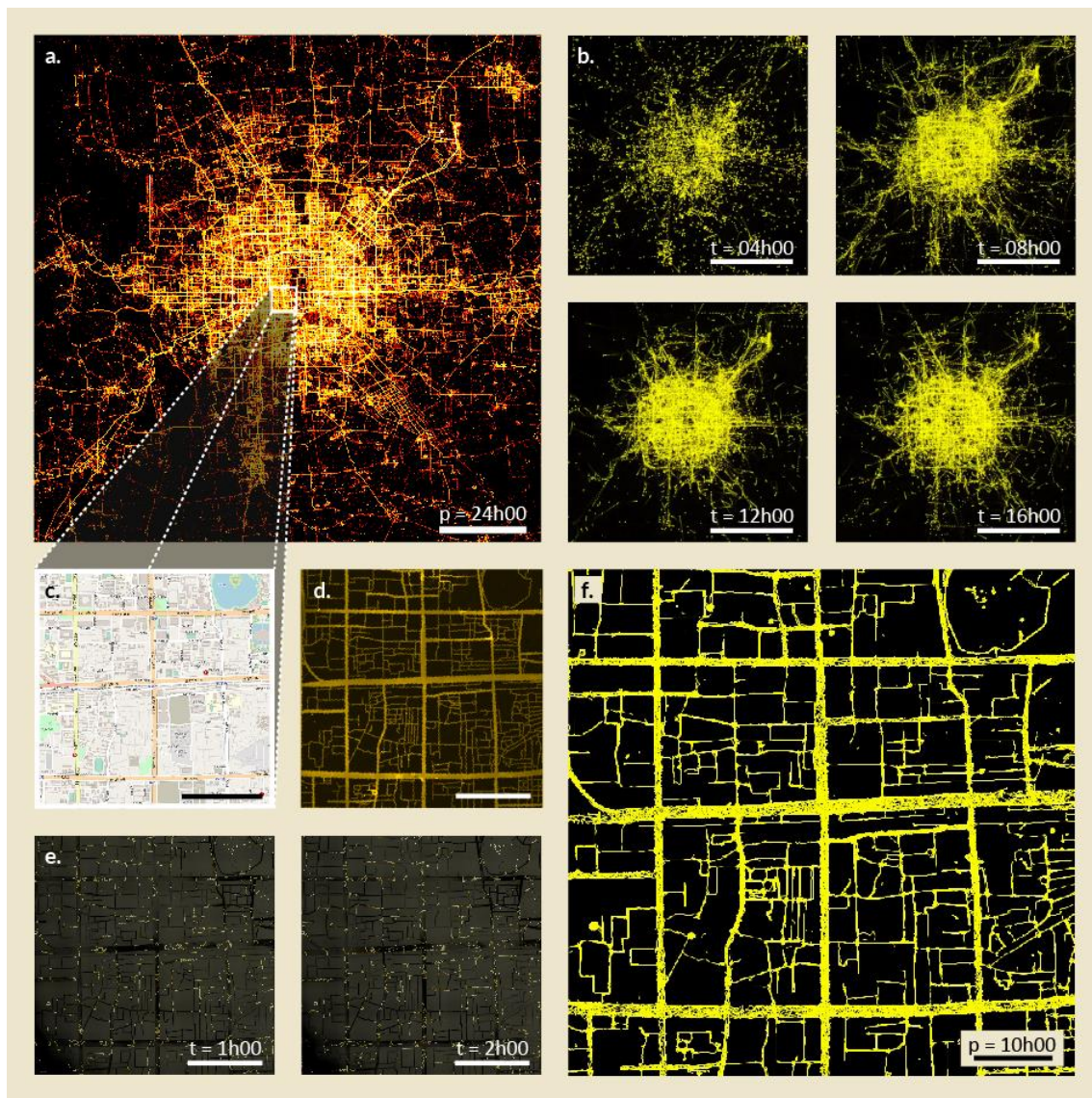


Figure 61. Plans de la ville de Pékin parcourus par des taxis ou des cellules

a.) Représentation des déplacements sur une semaine (en 2008) de 10 357 taxis pékinois. Ce sont 15 millions de points, les trajets totalisent 9 millions de km. Barre d'échelle : 10 km. **b.)** Quatre extraits de la vidéo représentant la position des taxis pékinois à chaque minute, au cours d'une seule journée. Barre d'échelle : 20 km. **c.)** Plan d'un quartier du centre de Pékin. Barre d'échelle : 1000 m. **d.)** Reproduction de ce plan à échelle micrométrique (1/450 000 ème), image issue de la microscopie : le jaune correspond au signal fluorescent des protéines. Barre d'échelle : 2000 μm . **e.)** Deux extraits d'une vidéo représentant les trajectoires des cellules dans la quartier de Pékin micrométrique. Chaque image correspond à la position de toutes les cellules sur 30 minutes (intervalle de 2 min). Barre d'échelle : 2000 μm . **f.)** Intégralité des trajectoires des cellules kératocytes ayant parcouru le plan de Pékin micrométrique sur une période de 10h. Barre d'échelle : 1000 μm .

Sur l'image que nous avons produite en opérant un suivi des trajectoires et en traçant ces dernières sur l'image (une cellule repérée donne un point jaune sur l'image) [Figure 61.f], nous pouvons voir leur intégralité. Il n'y a dans cette image aucune superposition du motif, pourtant, il se devine aisément grâce à la quantité de trajectoire. Nous remarquons que sur cette période de dix heures, les cellules ont parcouru la quasi-totalité du quartier.

Cependant, cette visualisation ne nous permet pas d'évaluer la présence ou non de phénomènes locaux de migration. Il y a une uniformité à l'échelle du motif entier. Il n'est par exemple pas possible de reconnaître le nombre exact de cellule ayant parcouru une rue en particulier. Pour obtenir une analyse plus précise et des informations plus localisées sur les déplacements des cellules à cette échelle, nous observons nos données du point de vue de l'espace, en générant des cartographies des passages uniques et des temps de résidence moyens.

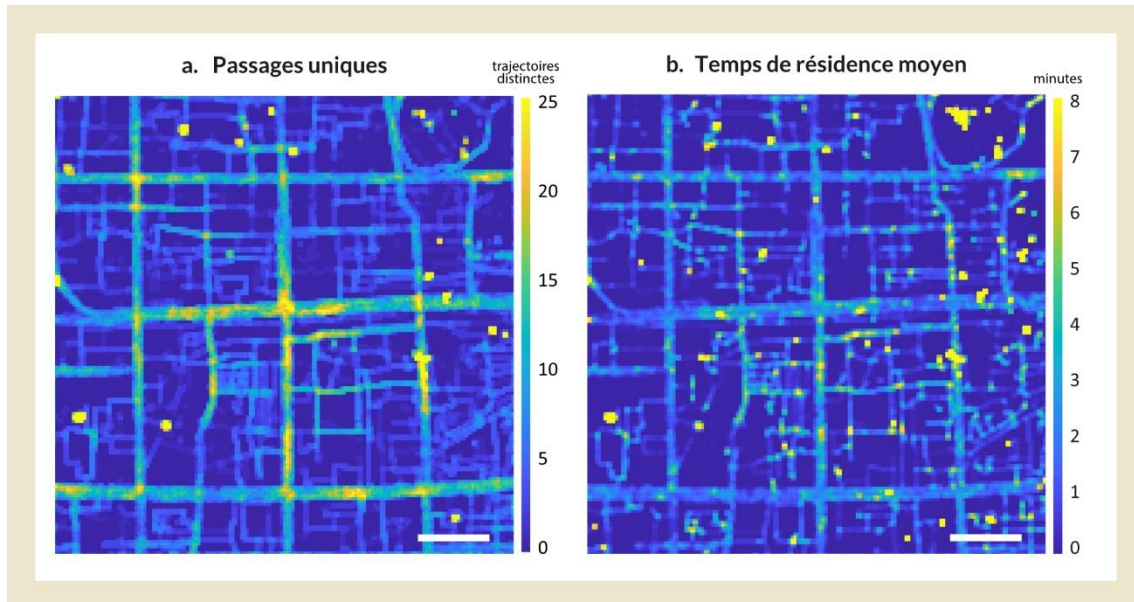


Figure 62. Deux cartographies représentant les mouvements des cellules kératocytes dans un quartier de Pékin micrométrique

Les deux cartographies sont générées à partir d'un même suivi de trajectoire sur une période totale de migration de 10h. **a.)** Cartographie des passages uniques, nous remarquons une hausse dans les grosses intersections. **b.)** Cartographie du temps de résidence moyen, nous remarquons le ralentissement des cellules dans les petites intersections. Barres d'échelle : 1000 μm (équivalent à 450 m à échelle humaine).

En observant et comparant les deux cartographies [Figure 62], nous notons que **les cellules explorent l'ensemble du quartier de Pékin, se retrouvent plus nombreuses et restent plus longtemps dans les axes plus larges que dans les petites rues.** Nous voyons également des valeurs plus élevées dans les intersections (dans les deux mesures). Nous interprétons cela comme un effet statistique, car ce sont des points de rencontre de plusieurs trajectoires : nous remarquons effectivement une nette hausse des passages uniques dans les grosses intersections. Cependant, dans les petites intersections, il n'y a qu'une très légère hausse des passages uniques tandis qu'il y a une forte hausse des temps de résidence : les cellules sont ralenties dans ces intersections.

Pour approfondir ce travail, il serait intéressant d'établir une comparaison analogique avec les trajectoires des taxis et les spatialités associées en analysant plus précisément ces dernières. Nous concluons de cette expérimentation que le repérage de ces phénomènes récurrents (mouvements des cellules modifiés dans les intersections et dépendamment des largeurs des rues) est un élément nous permettant de valider le fonctionnement de notre méthodologie.

Conclusions, discussions et perspectives

I - Conclusions

Dans le premier chapitre, nous avons pu voir que l'architecture est intrinsèquement interdisciplinaire et que la recherche menée sur des objets architecturaux le sont par conséquent tout autant. Nous avons de plus évoqué le fait que les formes actuelles de la recherche en architecture sont très récentes et qu'elles explorent très ouvertement plusieurs méthodes de recherche, issues des sciences humaines et sociales, des sciences expérimentales ou liées aux pratiques de la conception. Au travers de notre recherche exploratoire, construite à partir d'une homologie fonctionnelle avec la mécanobiologie, nous contribuons à cette exploration méthodologique par l'apport d'outils expérimentaux à la recherche architecturale.

Nous avons également vu au cours de ce chapitre que le mouvement est un élément incontournable de l'architecture, que certains architectes le placent au centre de leur pratique sans pour autant disposer d'outils intelligibles favorisant sa maîtrise. En vue de contribuer tout particulièrement au développement de tels outils, nous avons souligné l'utilité et la potentialité d'une analyse expérimentale du mouvement au sein d'architectures.

Dans le second chapitre de ce manuscrit, nous avons décrit la posture méthodologique suivie lors de cette recherche. Nous avons exploré un format original de recherche pour l'architecture et pour la mécanobiologie en nous appuyant sur l'homologie fonctionnelle identifiée entre le déplacement d'êtres humains au sein d'architectures macroscopiques et le déplacement de cellules au sein d'architectures microscopiques. Nous avons décrit notre stratégie d'immersion disciplinaire dont l'objectif était d'établir un dialogue effectif entre les deux univers, chose à laquelle nous sommes parvenus.

Nous pouvons convenir en effet du bénéfice de cette acculturation à la mécanobiologie, qui se révèle utile pour l'amélioration d'outils propres à cette discipline et pour l'adaptation de ces outils à l'architecture. Dans ce manuscrit, nous avons présenté notre contribution à l'amélioration des protocoles de fabrication de microenvironnements, en particulier à grande échelle (de l'ordre du centimètre). Nous avons aussi présenté notre contribution au développement de deux variantes de culture cellulaire utiles pour l'exploration de différentes configurations spatiales par les cellules. Nous avons également réussi à reproduire à échelle humaine un dispositif architectural dans lequel nous pouvons mener des observations sur le déplacement humain. Nous avons démontré notre capacité expérimentale à extraire des informations

sur la trajectoire des humains évoluant au sein de dispositifs architecturaux puis notre capacité à décrire une spatialité à partir de l'analyse de ces mouvements. Conjointement, notre capacité d'analyse et de description des rapports entre mouvements et spatialités démontre sa pertinence également à l'échelle des cellules.

II – Discussions

Retours sur l'analogie fonctionnelle et l'analogie directe

Notre projet de recherche est construit autour de l'exploration des analogies possibles entre les deux disciplines. Au cours de son développement, et en particulier à l'aide des expérimentations préliminaires que nous présentons en tant que preuves de concept, **nous avons rencontré deux niveaux d'analogie :**

Nous avons en premier lieu **une analogie légère, inexacte par comparaison directe mais fonctionnellement utile** : il s'agit de l'observation des biais de direction et de vitesse des déplacements dans les configurations spatiales *ratchets*. La comparaison directe est inexacte car les cellules et les humains ne sont pas influencés par les mêmes paramètres spatiaux. Pour autant, le fonctionnement est utile car il met en exergue notre capacité à mesurer des différences significatives de mouvement dépendamment d'un paramètre spatial d'une part et d'un biais social expérimental d'autre part.

Cette analogie légère se retrouve de nouveau, lorsque nous étudions les connexions entre spatialité et mouvement à une échelle très vaste (par rapport aux dimensions respectives des êtres vivants concernés). Cette analogie ne se repose pas non plus sur une comparaison directe (nous n'avons pas identifié de phénomène commun aux deux échelles) mais se révèle fonctionnellement utile. Nous avons pu identifier des phénomènes de migration cellulaire en opérant un changement d'échelle similaire à celui qui lie l'architecture proche du corps en mouvement à l'urbanisme d'une grande ville.

Nous avons en second lieu **une analogie forte, voyant émerger des mouvements similaires dans des configurations spatiales identiques chez les cellules et les humains** : il s'agit des situations de *bottleneck*, avec des phénomènes de blocage et de *stop-and-go*. La comparaison directe est alors plus convaincante et nous fait entrevoir de nouveaux questionnements : pouvons-nous dès lors considérer la spatialité comme un facteur déterminant dans la conduite du mouvement, et ce, indépendamment de l'espèce étudiée ? Pouvons-nous nous affranchir de certains biais sociologiques (préalablement identifiés) lorsque nous étudions le mouvement des êtres humains au sein d'architectures contrôlées ? Notre recherche ne fait qu'introduire ces questionnements très vastes en démontrant dans un premier temps l'intérêt d'une analogie épistémologique dans l'étude des deux êtres-vivants.

Entre subjectivités et aspect réducteur, hybridation disciplinaire

La nature transdisciplinaire de notre recherche fait émerger une discussion sur la justesse du cadrage expérimental, les limites de validité des expérimentations et l'équilibre de la recherche entre subjectivités et aspect réducteur. Nous avons initié cette discussion à partir d'une critique formulée dans les sciences humaines et sociales qui, pour rappel [p.32], préconise l'intégration des subjectivités des enquêteurs et des enquêtés dans la recherche, en reconnaissant l'impact de possibles biais subjectifs plutôt que de viser une objectivité alors considérée comme inaccessible. Nous apportons deux éléments à cette discussion :

- D'une part, il nous semble important de considérer en premier lieu les mesures effectuées pour elles-mêmes : nous voyons que nos mesures nous permettent d'identifier des phénomènes de mouvements émergents ou récurrents. La validité de ces observations est certes, d'abord restreinte au contexte de l'expérience. Effectivement, des biais peuvent empêcher la généralisation de ces observations à un contexte plus ouvert et fragiliser l'identification exacte des conditions d'émergence de ces phénomènes. Cependant, il est possible de réduire ces contraintes problématiques en multipliant les situations expérimentales, notamment en faisant varier plusieurs paramètres spatiaux ou sociologiques et en comparant les résultats entre eux.
- D'autre part, nous sommes capables de mesurer l'impact d'un biais sociologique lors d'une expérimentation : l'exemple des *ratchets* à échelle humaine [p.135] nous démontre qu'un biais sociologique dû à l'énoncé et à l'interprétation d'une consigne expérimentale donnée peut impacter fortement les résultats que nous obtenons. En même temps, notre capacité à le mesurer nous permet de préciser le contexte de validité de ces résultats. Nous pouvons ensuite envisager des expériences avec plusieurs consignes et consolider notre compréhension des phénomènes observés, là encore, en comparant les résultats obtenus entre eux.

Ces deux éléments nous renvoient tous deux vers une précision du cadrage expérimental en vue de réduire, sans ignorer pour autant, l'importance des biais sociologiques dans nos expérimentations. Il ne s'agit donc pas de neutraliser la situation d'enquête mais de savoir que les biais peuvent être minimisés en favorisant des situations d'enquête adaptées (consignes), ou mesurés le cas échéant. Nous retrouvons donc l'aspect *réducteur* parfois reproché aux sciences expérimentales dont nous proposons de discuter ici.

Nous avons adopté cette posture expérimentale et exploratoire en proposant de structurer notre recherche sur une homologie fonctionnelle entre la mécanobiologie et l'architecture, c'est-à-dire en suivant une approche physicienne pour l'étude d'un objet complexe.

En mécanobiologie, nous étudions la cellule en utilisant des outils et techniques issus de la mécanique, donc de la physique. Caricaturalement, cela peut être considéré comme une démarche réductrice voire invalide du point de vue de la biologie. Tout aussi caricaturalement, lorsque nous étudions l'être humain, et en particulier ses

déplacements seuls, sous l'angle de la physique, cela peut être considéré comme une démarche réductrice voire invalide du point de vue des sciences humaines et sociales.

Pourtant dans les deux cas, il ne s'agit non pas de définir de manière complète et totalitaire l'objet étudié : l'être humain tout comme la cellule sont des entités d'une extrême complexité et il reste encore beaucoup de travail aux chercheurs de chaque domaine avant de ne pouvoir caractériser de façon exhaustive ces êtres vivants. Il s'agit plutôt d'adopter une posture modeste d'observateur pour certains phénomènes repérés et d'apporter une approche disciplinaire qui puisse être complémentaire avec d'autres pour mesurer et décrire ces phénomènes et leurs conditions d'émergences.

Le développement de notre recherche à partir de cette homologie fonctionnelle nous offre la capacité d'imager et de quantifier des phénomènes liés aux déplacements spatiaux d'êtres complexes à l'aide de métriques simples.

Le dialogue transdisciplinaire est à présent ouvert et cherche à tendre vers un point d'équilibre dans le positionnement de la recherche entre subjectivités et cadrage réduit. En vue de développer ce dialogue et d'étudier la validité de cette recherche dans sa poursuite, nous entrevoyons trois pistes à explorer :

- En premier lieu, nous proposons d'extraire les outils développés : représentations des mouvements et évaluation des configurations spatiales associées [p.152] afin d'explorer leurs potentialités, notamment dans la pratique de l'architecture.
- En second lieu, nous proposons d'approfondir les expérimentations en visant des statistiques plus robustes.
- Enfin, nous proposons de prolonger la recherche en visant des formes de complémentarités disciplinaires, notamment par l'intégration plus élaborée d'enquêtes sociologiques et sensibles.

III – Perspectives

Nouvelles itérations et nouvelles géométries

Lors des étapes de conception des géométries que nous proposons aux êtres humains ou aux cellules, nous nous sommes questionnés à plusieurs reprises sur la notion de seuil. En effet, lorsque nous souhaitons observer si un paramètre géométrique donné (l'asymétrie du couloir *ratchet* par exemple), biaise la trajectoire de l'être vivant qui le parcourt (un biais de direction dans cet exemple), nous définissons une série de géométries pour lesquelles nous proposons plusieurs variations de ce paramètre (très asymétrique, légèrement asymétrique et symétrique). Après l'obtention de résultats significatifs quant aux trajectoires étudiées dans ces géométries, il est possible de préciser des variations du paramètre qui soit plus proches de la géométrie significative (le *ratchet* très asymétrique biaise la direction de migration des cellules). Cela permet d'affiner, par itération les résultats expérimentaux et par conséquent d'identifier éventuellement la présence d'un seuil dans la réponse de l'être vivant liée à la géométrie de son environnement.

À la suite du développement des deux protocoles expérimentaux à échelle cellulaire et à échelle humaine, nous notons le grand potentiel du couplage des outils du dessin paramétrique de l'architecture et des capacités de production de microenvironnements. Cela offre de grandes potentialités à la recherche en mécanobiologie :

- Il est possible de générer un petit nombre de géométries et de les tester rapidement avec le dispositif PRIMO, puis de « reparamétriser » ces géométries en fonction des résultats (en quelques secondes) et refaire une nouvelle itération expérimentale (en quelques heures).
- Il est possible, avec la photolithographie, de produire en masse un très grand nombre de géométries toutes différenciées (qui suivent toutes le même modèle tout en variant par petites incréments certains paramètres sur une très grande gamme), puis d'étudier précisément tout phénomène de seuil.

Parallèlement, ces outils de dessin paramétrique associés à des modalités de production rapide de dispositifs architecturaux offrent une perspective attrayante à la production d'expérimentations telles que celles présentées dans la recherche.

Nous suggérons en conséquence de développer l'utilisation de ces solutions dans la continuité de recherches similaires, dans chacune des disciplines.

Un outil de représentation

Les architectes utilisent de nombreux outils de représentation de l'architecture. Nous pouvons citer par exemple les perspectives, les géométriques (plans, coupes), les modélisations tridimensionnelles (BIM, VR), ou encore les maquettes et les prototypes. Il est évident que ce sont des outils primordiaux et nécessaires à la pratique de l'architecture. Ils permettent de communiquer efficacement sur toutes les dimensions d'un projet architectural, que ce soit entre professionnels ou dirigé vers le grand public.

Cependant, lorsqu'il s'agit de la représentation du mouvement, cela peut s'avérer complexe et nécessiter des animations ou des formes de schématisation particulièrement élaborées. Par ailleurs, Bernard Tschumi [p.37] évoque ce besoin : « *Les mouvements - des foules, des danseurs, des combattants - rappellent l'intrusion inévitable des corps dans les espaces architecturaux [...] La nécessité d'enregistrer avec précision ces confrontations, sans tomber dans des formules fonctionnalistes, a suggéré des formes précises de notation du mouvement.* » [15]⁴⁰ Nous pouvons voir les *Manhattan Transcripts* qu'il développe comme un moyen de noter le mouvement puisqu'ils intègrent par leur format celui des usagers de l'espace. En revanche, nous pouvons constater que cet outil n'est pas utilisé de manière générale dans l'enseignement et dans la profession.

À l'issue de notre travail de recherche, nous avons produit des cartographies des *temps de résidence* et d'*accumulation des présences*. Celles-ci permettent d'interpréter

⁴⁰ Extrait p.XXIII, traduction personnelle depuis l'anglais. Texte original : “*The movements - of crowds, dancers, fighters - recall the inevitable intrusion of bodies into architectural spaces, [...]. The need to record accurately such confrontations, without falling into functionalist formulas suggested precise forms of movement notation.*”

les données mesurées de nos expériences en les représentant graphiquement. En effet, au travers de la cartographie, nous pouvons représenter efficacement la quantification des mouvements et ainsi décrire leurs spatialités et temporalités. Par conséquent, nous pensons que cet outil de représentation peut se révéler utile aux architectes tant dans la recherche que dans la pratique du métier.

Nous imaginons par exemple une implémentation dans un logiciel de modélisation tridimensionnelle, qui, après la reconnaissance de certaines configurations spatiales, pourrait générer ces cartographies. Ce serait un outil d'aide à la conception pour *penser le projet architectural* à partir du mouvement.

Nous imaginons également que le dispositif d'expérimentation dans lequel il est possible de construire un élément architectural et de mesurer les déplacements des personnes évoluant en son sein puisse se révéler grandement utile pour produire des prototypes architecturaux, que ce soit pour une structure professionnelle ou à visée pédagogique, dans le but d'éprouver et valider une hypothèse de conception.

Un outil pour penser l'espace, le temps et le mouvement

Les systèmes que nous observons aux deux échelles sont deux systèmes très complexes. Les résultats expérimentaux présentés permettent de repérer des phénomènes liés aux déplacements, de caractériser ces phénomènes ainsi que les spatialités qui les ont vu émerger. Ce sont des observations factuelles et statistiques qui nous semblent pertinentes pour décrire ces configurations spatiales.

Nous pensons que cette méthode se révèle utile pour l'architecture dans deux cas : Premièrement, lors de l'analyse et l'évaluation *a posteriori* d'architectures construites puisque nous pouvons étudier les configurations spatiales et mesurer l'un de leurs impacts sur les déplacements des usagers.

Deuxièmement, lors de la modélisation de l'architecture, car ce peut être un élément supplémentaire dans les outils de l'architecte pour orienter son projet en fonction des usages souhaités. Nous pouvons imaginer par exemple qu'une configuration spatiale produisant ce que nous avons nommé un grand *temps de résidence* puisse être privilégiée dans des lieux d'expositions ou particulièrement sociaux, de partages et de discussions.

Au-delà, nous suggérons que ces outils, et en particulier l'émergence de concepts opérants nouveaux – tels que les *temps de résidence* et *l'accumulation des présences* – puisse nourrir une approche disciplinaire fondée sur le mouvement des corps et appréhendant la spatialité à partir de rapports de vitesses, de lenteurs, de superpositions des mouvements, de fréquentations, en bref, dans un rapport au temps.

Bibliographie

- [1] T. Verdier, "Le doctorat en architecture," *Les Cahiers de la recherche architecturale et urbaine*, no. 30/31, pp. 41-50, 2014.
- [2] C. Mazzoni, "L'architecture urbaine, cinquante ans après," *Les Cahiers de la recherche architecturale et urbaine*, no. 30/31, pp. 35-40, 2014.
- [3] A. Findeli and A. Coste, "De la recherche création à la recherche projet : un cadre théorique et méthodologique pour la recherche architecturale," *Lieux communs*, no. 10, pp. 139-161, 2007.
- [4] P. Mantziaras, "Avant-propos, l'architecture est-elle une discipline ?," *Les Cahiers de la recherche architecturale et urbaine*, no. 30/31, pp. 5-10, 2014.
- [5] J.-L. Bonillo, "La recherche en architecture à la croisée des chemins," *Rives méditerranéennes*, no. 48, pp. 209-218, 2014.
- [6] E. Perera (dir.) and Y. Beldame (dir.), *In Situ, Situations, interactions et récits d'enquête*, L'Harmattan, 2016.
- [7] F. Fernandez, "L'engagement émotionnel durant l'enquête sociologique : retour sur une observation "anonyme" auprès d'ex-usagers de drogues," *Carnets de bord de la recherche en sciences humaines*, no. 9, pp. 78-87, 2005.
- [8] L. Agurto, K. Allacker, A. Fissore, C. Agurto and F. De Troyer, "Design and experimental study of a low-cost prefab Trombe wall to improve indoor temperatures in social housing in the Biobio region in Chile," *Solar Energy*, vol. 198, pp. 704-721, 2020.
- [9] L. Groat and D. Wang, *Architectural Research Methods*, 2ème ed., Wiley, 2013.
- [10] I. Stengers, *D'une science à l'autre. Des concepts nomades.*, Éditions Seuil, 1987.
- [11] X. Bonnaud, "L'expérience architecturale, réflexions sur une notion, points de vue sur une discipline," *Habilitation à diriger les recherches, Université Paris 8 Vincennes-Saint-Denis*, 2014.
- [12] W. Boesiger and O. Stonorov, "Oeuvre complète, Vol. 1: 1910-1929," *Les Éditions d'Architecture*, 2015.
- [13] J. Sbriglio, "Le Corbusier: The Villa Savoye," *Éditions Birkhäuser*, 2008.

- [14] B. Tschumi, "Bernard Tschumi Architectes," [Online]. Available: <http://www.tschumi.com/projects/18>.
- [15] B. Tschumi, *The Manhattan Transcripts: Theoretical Projects*, Academy Editions, 1995.
- [16] Z. Hadid and T. Gannon, *Zaha Hadid: BMW Central Building. Source Book in Architecture 7*, Princeton Architectural Press, 2006.
- [17] "Zaha Hadid Architects Website," <https://www.zaha-hadid.com/architecture/bmw-central-building/>, Consulté le 25.06.2021.
- [18] M. Moussaïd, D. Helbing, S. Garnier, A. Johansson, M. Combe and G. Theraulaz, "Experimental study of the behavioural mechanisms underlying self-organization in human crowds," *Proceedings of the royal society B*, vol. 276, no. 1668, 2009.
- [19] A. Garcimartin, J. Pastor, C. Martin-Gomez, D. Parisi and I. Zuriguel, "Pedestrian collective motion in competitive room evacuation," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 10792, 2017.
- [20] N. Bain and D. Bartolo, "Dynamic response and hydrodynamics of polarized crowds," *Science*, vol. 363, no. 6422, pp. 46-49, 2019.
- [21] R. Thomas (coordination scientifique), S. Fiori, P. Garcia Sanchez, D. Masson, G. Chelkoff and et al., "Les énigmes sensibles des mobilités urbaines contemporaines," ANR MUSE Programme "Espace et Territoire", 2014.
- [22] N. Tixier, "Morphodynamique des ambiances construites," *Thèse en sciences de l'ingénieur, Université de Nantes*, 2001.
- [23] M. C. Couic, "La dimension intersensorielle dans la pratique de l'espace urbain : Une approche méthodologique pluridisciplinaire," *Thèse en Sciences de l'Homme et Société. Université de Nantes*, 2000.
- [24] P. Liveneau, "Outils d'intégration des facteurs sonores et lumineux à la conception architecturale : le geste comme outil cognitif et opératoire," *Thèses en Architecture, aménagement de l'espace. Université de Nantes*, 2005.
- [25] I. Léothaud, "Ambiances architecturales et comportements psychomoteurs : de l'observation à l'aide à la conception, le cas de structures pédopsychiatriques," *Thèse de doctorat en Sciences pour l'ingénieur, Architecture. Université de Nantes.*, 2006.
- [26] S. Preamechai, "Dispositifs architecturaux et mouvements qualifiés : recherche exploratoire sur les conduites sensori-motrices des passants dans les espaces publics intermédiaires," *Thèse en Urbanisme mention Architecture, Université Pierre Mendès-France, Grenoble*, 2006.
- [27] H. Ben Slama, "Parcours urbains quotidiens : l'habitude dans la perception des ambiances," *Thèse de doctorat en Urbanisme. Université de Grenoble*, 2007.
- [28] J. Delas, "La ville imprévisible : dynamiques de cheminement, expérience sensible partagée et épreuve du surgissement dans les espaces publics du quotidien," *Thèse de*

doctorat en Aménagement, Université de Grenoble, 2012.

- [29] A. Bonnet, "Qualification des espaces publics urbains par les rythmes de marche : approche à travers la danse contemporaine," *Thèse de doctorat en Urbanisme mention architecture. Université de Grenoble, 2013.*
- [30] G. Bérubé, "Expériences sensibles et design urbain, un projet de recherche création : les productions sonores ordinaires des usagers en espace collectif urbain, le cas des traces sonores de pas," *Thèse de doctorat en Architecture, Université de Grenoble, 2014.*
- [31] L. Brayer, "Dispositifs filmiques et paysage urbain : la transformation ordinaire des lieux à travers le film," *Thèse de doctorat en Architecture. Université de Grenoble, 2014.*
- [32] S. Laroche, "L'architecture commerciale à l'usage des villes : ambiances, pratiques et projets," *Thèse de doctorat en Architecture, Université de Grenoble, 2014.*
- [33] G. Meigneux, "Le territoire à l'épreuve du compositing : pratiques vidéographiques et ambiances urbaines," *Thèse de doctorat en Aménagement. Université de Grenoble, 2015.*
- [34] E. Bak, "Habiter l'in-vu : formes de visualisations sonores," *Thèse de doctorat en Architecture. Université de Grenoble, 2016.*
- [35] P. Thiollière, "L'urbain et la mort : ambiances d'une relation," *Thèse de doctorat en Architecture. Université Grenoble Alpes, 2016.*
- [36] R. Thomas, "Ambiances publiques, mobilité, sociabilité : approche interdisciplinaire de l'accessibilité piétonnière des villes," *Thèse de doctorat en Sciences pour l'Ingénieur, spécialité architecture, option Sciences Humaines et Sociales. Université de Nantes, 2000.*
- [37] J.-P. Thibaud, "La méthode des parcours commentés," in *L'espace urbain en méthode*, Parenthèses, 2001.
- [38] G. Chelkoff, J.-P. Thibaud, J.-L. Bardyn, B. Belchun and M. Leroux, "Ambiances sous la ville : une approche écologique des espaces publics souterrains," [*Rapport de recherche*] *CRESSON; Plan Urbain, 1997.*
- [39] S. Van Belle, A. Porter, E. Fernandez-Duque and A. Di Fiore, "Ranging behavior and potential for territoriality in equatorial sakis (*Pithecia aequatorialis*) in Amazonian Ecuador," *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 167, no. 4, pp. 701-712, 2018.
- [40] D. S. Pavlov and A. O. Kasumyan, "Patterns and Mechanisms of Schooling Behavior in Fish: A Review," *Journal of ichthyology*, Vols. 40, suppl. 2, pp. 163-231, 2000.
- [41] I. Zuriguel, J. Olivares, J. M. Pastor, C. Martin-Gomez, L. M. Ferrer, J. J. Ramos and A. Garcimartin, "Effect of obstacle position in the flow of sheep through a narrow door," *Physical review E*, vol. 94, no. 3, 2016.
- [42] C. R. Reid, T. Latty, A. Dussutour and M. Beekman, "Slime mold uses an externalized spatial "memory" to navigate in complex environments," *PNAS*, vol. 109, no. 43, pp. 17490-17494, 2012.

- [43] B. Macé (dir), "Histologie, bases fondamentales," *Omniscience*, 2008.
- [44] P. Cau and R. Seïte, "Cours de biologie cellulaire," 4^{ème} édition, *Ellipses*, 2009.
- [45] R. Mège and B. Ladoux, "De l'irruption de la mécanique dans la chimie du vivant," *Médecines/Sciences*, no. 34-11, pp. 963-971, 2018.
- [46] V. Petrolli, "Confinement induced transition between wave-like migration modes," *Thèse en Physique pour les Sciences du Vivant, Université Grenoble Alpes*, 2019.
- [47] J. Eyckmans, T. Boudou, X. Yu and C. S. Chen, "A Hitchhiker's Guide to Mechanobiology," *Developmental Cell*, vol. 21, no. 1, pp. 35-47, 2011.
- [48] L. Aoun, P. Nègre, A. Farutin, N. Garcia-Seyda, M. S. Rizvi, R. Galland, A. Michelot, X. Luo, M. Biarnes-Pelicot, C. Hivroz, S. Rafaï, J. B. Sibarita, M. P. Valignat, C. Misbah and O. Theodoly, "Mammalian Amoeboid Swimming is propelled by molecular and not protrusion-based paddling in Lymphocytes," *Biophysical Journal*, vol. 119, no. 6, pp. 1157-1177, 2020.
- [49] D. M. Pirone, W. F. Liu, S. A. Ruiz, L. Gao, S. Raghavan, C. A. Lemmon, L. H. Romer and C. S. Chen, "An inhibitory role for FAK in regulating proliferation : a link between limited adhesion and RhoA-ROCK signaling," *Journal of Cell Biology*, vol. 174, no. 2, pp. 277-288, 2006.
- [50] G. Halder, S. Dupont and S. Piccolo, "Transduction of mechanical and cytoskeletal cues by YAP and TAZ," *Nature reviews. Molecular cell biology*, vol. 13, no. 9, pp. 591-600, 2012.
- [51] Y. Toyama, X. G. Peralta, A. R. Wells, D. P. Kiehart and G. S. Edwards, "Apoptotic force and tissue dynamics during Drosophila embryogenesis," *Science*, vol. 321, pp. 1683-1686, 2008.
- [52] S. Rafaï, L. Jibuti and P. Peyla, "Effective Viscosity of Microswimmer Suspensions," *Physical Review Letters*, vol. 104, no. 9, 2010.
- [53] K. Keren and J. A. Theriot, "Biophysical aspects of actin-based cell motility in fish epithelial keratocytes," *Cell Motility*, pp. 31-58, 2008.
- [54] K. Hennig, "Dynamics of motile forces and symmetry breaking in the migrating cell," *Thèse en Physique pour les Sciences du Vivant, Université Grenoble Alpes*, 2018.
- [55] M. Riaz, M. Versaavel, D. Mohammed, K. Glinel and S. Gabriele, "Persistence of fan-shaped keratocytes is a matrix-rigidity- dependent mechanism that," *Scientific Reports*, vol. 6, 2016.
- [56] P. Rosa-Cusachs, R. Sunyer and X. Trepas, "Mechanical guidance of cell migration: lessons from chemotaxis," *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 25, no. 5, pp. 543-549, 2013.
- [57] S. V. Plotnikov, A. M. Pasapera, B. Sabass and C. M. Waterman, "Force fluctuations within focal adhesions mediate ECM-rigidity sensing to guide directed cell migration," *Cell* 151, pp. 1513-1527, 2012.
- [58] E. L. Barnhart, K-C. Lee, K. Keren, A. Mogilner and J. A. Theriot, "An Adhesion-Dependent

- Switch between Mechanisms That Determine Motile Cell Shape," *PLoS Biology*, vol. 9, no. 5, 2011.
- [59] L. Bureau and M. Balland, "Thermosensitive Micropatterned Substrates," *Methods in Cell Biology*, no. 120, 2014.
- [60] G. Mahmud, C. J. Campbell, K. J. M. Bishop, Y. A. Komarova, O. Chaga, S. Soh, S. Huda, K. Kandere-Grzybowska and B. A. Grzybowski, "Directing cell motions on micropatterned ratchets," *Nature Physics*, 2009.
- [61] J. J. Gibson, *The ecological approach to visual perception*, Taylor & Francis Group, 2015 (1979).
- [62] R. Shaw, J. Kinsella-Shaw and W. Mace, "Affordance types and affordances tokens: Are Gibson's affordances trustworthy?," *Ecological Psychology*, no. 31-1, pp. 49-75, 2019.
- [63] M. Luyat and T. Regia-Corte, "Les affordances : de James Jerome Gibson aux formalisations récentes du concept," *L'année psychologique*, no. 109-2, 2009.
- [64] Z. Djebbara, L. Fich and K. Gramann, "The brain dynamics of architectural affordances during transition," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, pp. 1-16, 2021.
- [65] B. Nicolescu, *La transdisciplinarité, manifeste*, Le Rocher, 1996.
- [66] W. Geary, "Beijing Taxi Flows".url : <https://github.com/willgeary/BeijingTaxiFlows>.
- [67] A. Belkind and S. Gershman, "Plasma Cleaning of Surfaces," *édité par Jinghong Vacuum Thin Film Co., Ltd.*, 2008.
- [68] A. D. Lieber, S. Yehudai-Resheff, E. L. Barnhart, J. A. Theriot and K. Keren, "Membrane tension in rapidly moving cells is determined by cytoskeletal forces," *Current Biology*, vol. 23, no. 15, pp. 1409-1417, 2013.
- [69] P. Maiuri, E. Terriac, P. Paul-Gilloteaux, T. Vignaud, K. McNally, J. Onuffer, K. Thorn, P. A. Nguyen, N. Georgoulia, D. Soong, A. Jayo, N. Beil, J. Beneke, J. Chooi Hong Lim, C. Pei-Ying Sim, Y.-S. Chu, WCR participants, A. Jiménez-Dalmaroni, J.-F. Joanny, J.-P. Thiery, H. Erfle, M. Parsons, T. J. Mitchison, W. A. Lim, A.-M. Lennon-Duménil, M. Piel and M. Théry, "The first World Cell Race," *Current Biology*, vol. 22, no. 17, pp. R673-R675, 2012.
- [70] J. Y. Thinevez, N. Perry, J. Schindelin, G. M. Hoopes, G. D. Reynolds, E. Laplantine, S. Y. Bednarek, S. L. Shorte and K. W. Eliceiri, "TrackMate: An open and extensible platform for single-particle tracking," *Methods*, vol. 115, pp. 80-90, 2017.
- [71] E. L. Barnhart, J. Allard, S. S. Lou, J. A. Theriot and A. Mogilner, "Adhesion-Dependent Wave Generation in Crawling Cells," *Current Biology*, vol. 27, pp. 27-38, 2017.
- [72] M. Boltes and A. Seyfried, "Collecting pedestrian trajectories," *Neurocomputing*, vol. 100, pp. 127-133, 2013.
- [73] M. Boltes, J. Zhang, A. Seyfried and B. Steffen, "T-junction: Experiments, Trajectory Collection, and Analysis," *IEEE International Conference on Computer Vision Workshops*,

2011.

- [74] C. Von Krüchten, F. Müller, A. Svachiy, O. Wohak and A. Schadschneider, "Empirical study of the influence of social groups in evacuation scenarios," *Traffic and Granular Flow*, no. 15, pp. 65-72, 2016.
- [75] S. P. Hoogendoorn and W. Daamen, "Pedestrian behavior at bottlenecks," *Transportation Science*, vol. 39, no. 2, pp. 147-159, 2005.
- [76] J. Adrian, A. Seyfried and A. Sieben, "Crowds in front of bottlenecks at entrances from the perspective of physics and social psychology," *Journal of the royal society - interface*, vol. 17, no. 165, 2020.
- [77] J. Adrian, M. Boltjes, S. Holl, A. Sieben and A. Seyfried, "Crowding and Queuing in Entrance Scenarios: Influence of Corridor Width in Front of Bottlenecks," *Proceedings Pedestrian and Evacuation Dynamics*, 2018.
- [78] F. Cisse, "Hétérogénéités des fluides piétonniers : une matière active individuelle et collective," *Thèse en Physique, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6*, 2016.
- [79] Z. Shahhoseini and M. Sarvi, "Pedestrian crowd flows in shared spaces: Investigating the impact of geometry based on micro and macro scale measures," *Transportation Research Part B: Methodological*, vol. 122, pp. 57-87, 2019.
- [80] D. Helbing, I. Farkas and T. Vicsek, "Simulating dynamical features of escape panic," *Nature*, vol. 407, pp. 487-490, 2000.
- [81] M. Grosjean and J. Thibaud, *L'espace urbain en méthodes*, éditions Parenthèses, 1995.

Annexes

Plan des annexes

A – Protocole A : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles	162
B – Protocole B : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement	164
C – Fabrication de microenvironnements par photolithographie	165
D – Préparation du milieu kératocyte filtré	167
E – Nettoyage préalable de lamelles de $\varnothing 22$ mm	167
F – Script Python pour l'acquisition d'image	168

A – Protocole A : Préparation puis transfert des cellules depuis plusieurs écailles

Le protocole est présenté ici en utilisant trois écailles. Il peut être adapté pour un nombre d'écaille allant de deux à cinq. Il suffit, le cas échéant, d'adapter les proportions indiquées.

Retrait de trois écailles :

1. *Préparez 3 boîtes de pétri, des feuilles de papier absorbant, une pince, du bleu de méthylène et déposez 3 gouttes de KM filtré sur du parafilm (3x 100 µL).*
2. *Attrapez le poisson et déposez-le sur le papier absorbant.*
3. *Récupérez 3 écailles de la partie du poisson située près de la queue (gardez à l'esprit de quel côté se trouve l'intérieur de l'écaille).*
4. *Placez les écailles dans les gouttes de KM filtré, face intérieure vers le bas. Assurez-vous qu'elles ne se retournent pas d'elles-mêmes.*
5. *Mettez quelques gouttes de bleu de méthylène sur la peau du poisson et remettez-le dans l'eau.*

Ensuite, pour chacune des écailles :

6. *Retirez l'écaille de sa goutte de KM filtré. Séchez ses deux côtés avec du papier absorbant. Déposez-la dans la boîte de Pétri, face intérieure tournée vers le bas. Appuyez sur l'écaille pour vous assurer qu'elle est bien en contact avec la boîte de Pétri (elle devrait coller).*
7. *Placez une lamelle de \varnothing 22 mm (préalablement nettoyée au bain ultrasonique et au nettoyeur plasma) sur l'écaille, côté propre vers l'écaille.*
8. *Ajouter 70 µL de KM filtré entre les deux lamelles, en utilisant la capillarité. Appuyez sur la lamelle supérieure.*

Ensuite, pour les 3 échantillons :

9. *Placez les 3 boîtes de Pétri dans une plus grande boîte et ajoutez de l'eau déionisée tout autour pour maintenir une atmosphère humide.*
10. *Laissez les tissus migrer de 12 à 24 heures dans l'obscurité à température ambiante. Par exemple, récupérez l'écaille vers 17 heures et poursuivez l'expérience à 9 heures le lendemain matin (nous avons relevé empiriquement un temps de migration idéal de 16 heures).*

Individualisation des cellules et dépose sur microenvironnement :

11. *Veillez à ce que tous les éléments utilisés par la suite soient à température ambiante.*
12. *Préparez un porte-échantillon avec votre lamelle de PLL-g-PEG revêtue de protéines. Ajoutez 4 mL de KM filtré.*
13. *Préparez la solution Hoechst : 3 mL de KM filtré + 3 µL de Hoechst 33342 (10mg/mL).*
14. *Préparez 3 mL de milieu de séparation (SM) : 2550 µL de PBS + 300 µL d'H₂O déionisée + 150 µL d'EGTA (50 mM, pH 7).*
15. *Préparez 1 mL de milieu de séparation avec trypsine (SMT) : 898 µL de PBS + 100 µL d'eau déionisée + 2 µL de trypsine (concentration finale de la trypsine : 0.005%).*

Ensuite, pour chacun des échantillons, suivre les trois étapes ci-dessous :

16. Étape 1 :

- Ajoutez 1 mL de solution Hoechst sur l'échantillon et démarrez le minuteur pour 5 minutes.
- La lamelle de \varnothing 22 mm devrait flotter. Récupérez-la et jetez-la.
- Retirez l'écaille, en prenant soin de ne pas détacher le tissu. Vous pouvez voir ce dernier à l'œil nu et retirer l'écaille dans le sens opposé à la migration.

17. Étape 2 :

- Retirez la solution Hoechst à la fin des 5 minutes.
- Rincez trois fois en ajoutant puis retirant 1 mL de KM filtré.
- Ajoutez 1 mL de SM et démarrez le minuteur pour 20 minutes.

18. Étape 3 :

- Retirez le SM à la fin des 20 minutes.
- Ajoutez 200 μ L de SMT en le versant directement sur le tissu (visible à l'œil nu). Mixez plusieurs fois et tapotez contre la boîte de Pétri pendant 80 secondes.
- Récupérez les 200 μ L de SMT, contenant les cellules en suspensions et reversez les sur la lamelle avec les microenvironnements (dilué dans les 4 mL de KM)

19. Vous pouvez utiliser le tableur suivant pour organiser votre temps de manipulation :

	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Étape 1	Start: 00'00". End: 01'20".	Start: 01'40". End: 03'00".	Start: 03'20". End: 04'40".
Étape 2	Start: 05'00". End: 06'20".	Start: 06'40". End: 08'00".	Start: 08'20". End: 09'40".
Étape 3	Start: 26'20". End: 27'40".	Start: 28'00". End: 29'20".	Start: 29'40". End: 31'00".

Adhésion des cellules :

20. Attendez 70 minutes que les cellules adhèrent à la lamelle.
21. Retirez tout le KM, rincez trois fois avec 1 mL de KM filtré puis ajoutez 3 mL de KM filtré.
22. Observez les cellules et les microenvironnements au microscope.

B – Protocole B : Dépose directe d'une écaille sur un microenvironnement

Retirer une écaille :

1. *Préparez un porte-échantillon avec votre lamelle de PLL-g-PEG revêtue de protéines. Ajoutez de l'eau pour éviter qu'elle ne se dessèche.*
2. *Observez la lamelle au microscope grâce à la fluorescence du motif et repérez l'endroit sur lequel vous souhaitez voir les cellules migrer.*
3. *Placez une marque à l'aide d'un feutre indélébile sur le dessous de la lamelle. Vous pouvez vous aider du faisceau laser comme repère.*
4. *Préparez des feuilles de papier absorbant, une pince, du bleu de méthylène et déposez une goutte de KM filtré sur du parafilm (100 µL).*
5. *Attrapez le poisson et déposez-le sur le papier absorbant.*
6. *Récupérez une écaille de la partie du poisson située près de la queue. Gardez à l'esprit quel est le côté intérieur de l'écaille.*
7. *Placez l'écaille dans la goutte de KM filtré, face intérieure vers le bas. Assurez-vous qu'elle ne se retourne pas d'elle-même.*
8. *Mettez quelques gouttes de bleu de méthylène sur la peau du poisson et remettez-le dans l'eau.*
9. *Retirez toute l'eau qui se trouve dans le porte-échantillon, sur la lamelle.*
10. *Retirez l'écaille de sa goutte de KM filtré. Séchez ses deux côtés avec du papier absorbant. Déposez-la sur la lamelle, face intérieure tournée vers le bas, à l'endroit que vous avez repéré.*
11. *Appuyez sur l'écaille pour vous assurer qu'elle est bien en contact avec la lamelle (elle devrait coller).*
12. *Placez une lamelle de \varnothing 22 mm (préalablement nettoyée au bain ultrasonique et au nettoyeur plasma) sur l'écaille, côté propre vers le bas.*
13. *Ajoutez 70 µL de KM filtré entre les deux lamelles, en utilisant la capillarité. Appuyez sur la lamelle supérieure.*
14. *Mettez l'échantillon entier dans une grande boîte de pétri et ajoutez de l'eau déionisée tout autour pour maintenir une atmosphère humide.*
15. *Laissez le tissu migrer de 12 à 24 heures dans l'obscurité à température ambiante. Par exemple, récupérez l'écaille vers 17 heures et poursuivez l'expérience à 9 heures le lendemain matin (nous avons relevé empiriquement un temps de migration idéal de 16 heures).*

Détacher les cellules du tissu :

16. *Veillez à ce que tous les éléments utilisés par la suite soient à température ambiante.*
17. *Préparez la solution Hoechst : 1 mL de KM filtré + 1 µL de Hoechst 33342 (10mg/mL).*
18. *Préparez 1mL de milieu de séparation (SM) : 850 µL de PBS + 100 µL d'H₂O déionisée + 50 µL d'EGTA (50 mM, pH 7).*
19. *Ajoutez la solution Hoechst à l'échantillon et démarrez le minuteur pour 5 minutes.*

20. *La lamelle de $\varnothing 22$ mm devrait flotter. Récupérez et jetez-la.*
21. *Retirez l'écaille en veillant à ne pas détacher le tissu. Il est possible de voir ce dernier à l'œil nu et de retirer l'écaille dans le sens opposé de la migration.*
22. *Retirez la solution Hoechst après les 5 minutes et rincez 3 fois avec 1 mL de KM.*
23. *Ajoutez 1 mL de SM, laissez incubé 20 min puis retirez-le.*
24. *Ajoutez lentement 3 mL de KM.*
25. *Observez les cellules et les motifs des microenvironnements au microscope.*

C – Fabrication de microenvironnements par photolithographie

Passivation du PLL-g-PEG avec un masque de photolithographie

1. *Nettoyez une lamelle de $\varnothing 32$ mm en la plaçant dans de l'éthanol (70°) dans un bain ultrasonique pendant 15 minutes.*
2. *Séchez la lamelle avec un pistolet à air comprimé à l'azote et placez-la dans le système plasma.*
3. *Sortez le masque de photolithographie de sa boîte et placez-le dans le système plasma, en même temps que la lamelle, face chromée vers le haut.*
4. *Ouvrez la bouteille d'O₂ et assurez-vous qu'elle soit correctement reliée au système plasma (valve). Allumez le système plasma (mais pas le générateur pour le moment), activez la pompe et attendez que la pression soit d'environ 0,2 mbar.*
5. *Ouvrez largement l'entrée d'O₂ et laissez la pression dépasser 5 mbar. Attendez au moins 3 minutes. Ensuite, réglez l'entrée d'O₂ pour que la pression soit autour de 0,4 mbar.*
6. *Allumez le générateur de plasma à sa puissance maximale pendant 10 min. (Profitez de ce temps pour réaliser l'étape suivante.)*
7. *Placez une goutte de 66,6 μ L de solution de PLL-g-PEG (0,1g/ml) sur un parafilm.*
8. *Éteignez le générateur de plasma, fermez l'entrée d'O₂, arrêtez la pompe et activez la ventilation.*
9. *Posez la lamelle sur la goutte de solution, côté activé par le plasma face à la solution et laissez incubé pendant 30 min. (Soyez rapide. L'état d'oxydation de la lamelle de verre, propice à la liaison du polymère, est incertain au-delà de la première minute.)*
10. *Reprenez le masque et placez-le dans sa boîte, face chromée vers le haut. Pour les étapes suivantes, laissez la boîte refermée au maximum, afin d'éviter le dépôt de poussières.*
11. *Allumez la lampe UV pendant 5 à 10 minutes pour la réchauffer. Et suivez les étapes 12 à 16 pendant ce temps.*
12. *Placez une goutte de 20 μ L d'eau déionisée sur la zone du masque qui comporte les motifs qui vous intéressent.*

13. *Ajoutez une grande quantité d'eau déionisée sur la lamelle qui incube pour en faciliter le retrait et retirez-la. Mémorisez le côté de la lamelle avec le polymère. Vous pouvez vérifier l'état du revêtement à son hydrophobicité car l'eau devrait glisser dessus et la lamelle rester sèche.*
14. *Rincez abondamment la lamelle avec de l'eau déionisée. Séchez les bords de la lamelle et le bout de vos doigts avec une serviette en papier. Un peu d'eau peut rester sur le verso de la lamelle.*
15. *Placez la lamelle sur le masque, sur la gouttelette d'eau déionisée de 20 μ L que vous avez préparée, côté polymère contre la face chromée du masque.*
16. *Sortez le masque de sa boîte et déposez-le sur une serviette en papier pour ne pas l'abîmer, face chromée vers le haut. Recouvrez-le d'une seconde serviette en papier et appuyez fortement sur la lamelle pour expulser les bulles d'air et retirer l'excès d'eau. La serviette en papier absorbera cet excès d'eau. Il est préférable de faire rouler son doigt du centre vers le bord de la lamelle pour chasser efficacement les bulles d'air.*
17. *Placez le masque avec la lamelle dans la lampe UV, face chromée opposée à la source de lumière puis allumez la lampe pendant 5 minutes.*
18. *Retirez le masque de la lampe UV et déposez-le sur une serviette en papier. Ajoutez ensuite beaucoup d'eau déionisée sur tout le masque pour aider au détachement de la lamelle et enfin récupérez-la. Il est plus facile de détacher la lamelle après quelques minutes d'attente.*
19. *Vous pouvez immédiatement réaliser le revêtement de protéines en suivant le protocole associé ou vous pouvez stocker la lamelle dans une boîte de Pétri (à température ambiante, à l'abri de la lumière, nous n'avons pas vérifié la qualité de la lamelle au-delà d'une semaine).*
20. *Nettoyez le masque avec de l'eau chaude du robinet et du savon. Rincez-le à l'eau déionisée. Séchez-le avec un pistolet à air comprimé à l'azote. Allongez-le sur une serviette en papier. Aspergez-le d'isopropanol. Frottez fortement la surface à l'aide d'une serviette en papier. Rincez-le avec de l'isopropanol. Séchez-le avec un pistolet à air comprimé à l'azote. Et enfin, rangez-le dans sa boîte.*

Revêtement de protéines de la matrice extracellulaire

1. *Préparez une solution de protéines. Pour 100 μ L : 93 μ L de Bicarbonate de Sodium + 5 μ L de Fibrinogène (1 mg/mL) + 2 μ L de Fibronectine (1 mg/mL).*
2. *Déposez une goutte de 66,6 μ L de cette solution sur un parafilm.*
3. *Récupérez la lamelle de PLL-g-PEG avec les motifs et rincez-la avec de l'eau déionisée. La face avec la couche de polymère devrait être hydrophobe sauf aux endroits des motifs où des microgouttelettes peuvent se former. Assurez-vous que la surface soit parfaitement sèche. Vous pouvez absorber ces microgouttelettes par capillarité avec la pointe d'une serviette en papier.*
4. *Déposez la lamelle sur la goutte de protéine. Le premier contact de la lamelle avec la goutte doit être le plus éloigné possible du centre de la lamelle. Laissez incuber pendant 30 minutes.*
5. *Ajoutez beaucoup d'eau déionisée sur la lamelle pour la détacher soigneusement du parafilm. Rincez-la à l'eau déionisée. Placez la lamelle immédiatement dans un porte-échantillon ou conservez-la dans une boîte de Pétri remplie d'eau déionisée. Elle ne doit pas sécher. Il vaut mieux utiliser la lamelle dans les 24h.*

D – Préparation du milieu kératocyte filtré

1. *Toutes les étapes sont effectuées dans des conditions stériles.*
2. *Préparez le milieu "L15+" en ajoutant 50 mL d'albumine de sérum bovin et 5 mL de pénicilline-streptomycine dans 500 mL de L15. Après une longue utilisation (plusieurs mois) ou lorsque la bouteille est peu remplie, la couleur du milieu change (plus orange), ce qui signifie qu'il y a une dérive du pH (plus acide), la filtration devient plus difficile. Surveillez ces évolutions, elles peuvent être responsables de problèmes avec les cellules.*
3. *Préparez le milieu kératocyte (KM) en mélangeant 10 mL de L15+, 3 mL d'eau déionisée et 300 µL de HEPES (1M, pH 7,4).*
4. *Filtrez le milieu avec un filtre de 0,22 µm.*

E – Nettoyage préalable de lamelles de ø22 mm

1. *Nettoyez plusieurs lamelles de ø22mm, dans de l'éthanol (70°) dans un bain à ultrasons pendant 15min.*
2. *Séchez les lamelles avec un pistolet à air comprimé à l'azote et placez-les dans le système plasma.*
3. *Ouvrez la bouteille d'O₂ et assurez-vous qu'elle est connectée au système plasma (valve). Allumez ce dernier (mais pas le générateur), pompez et attendez que la pression soit d'environ 0,2 mbar.*
4. *Ouvrez largement l'entrée d'O₂ et laissez la pression dépasser 5 mbar. Attendez au moins 3 minutes. Ensuite, réglez l'ouverture de l'entrée et réglez la pression autour de 0,4 mbar.*
5. *Allumez le générateur de plasma à la puissance maximale pendant 5 min.*
6. *Eteignez le générateur de plasma, fermez l'entrée d'O₂, arrêtez la pompe et mettez en marche la ventilation.*
7. *Rangez les lamelles dans une boîte de Pétri propre pour plus tard.*

F – Script Python pour l'acquisition d'image

```

import numpy as np
import cv2 as cv
import time
import pickle
import os, sys

#-----Parameters

path='D:/YourFolder'                                # Put the path in which the images will be
                                                    # saved here. No \, only /.
nb_frame_bmax=500                                    # Number of frames to take. You can
                                                    # terminate the record by pressing 'q' as
                                                    # well anytime.
                                                    # With some modification, you might be
                                                    # able to do a time define recording
                                                    # instead.

#-----Script

# create a folder for each repetition of the script and each camera
increment=time.asctime(time.localtime())
increment=increment.replace(' ', '_')
increment=increment.replace(':', '_')

os.mkdir(path+'/' +increment)
os.mkdir(path+'/' +increment+'/Cam1')
os.mkdir(path+'/' +increment+'/Cam2')

os.chdir(path+'/' +increment)

# Set the image size for each camera
cap = cv.VideoCapture(cv.CAP_DSHOW)
cap.set(3, 848)
cap.set(4, 480)
#
cap2 = cv.VideoCapture(cv.CAP_DSHOW+1)
cap2.set(3, 848)
cap2.set(4, 480)

# Initializing the variables
tVector=np.zeros([nb_frame_bmax])
b=np.empty([1])

# Main loop
for i in range(nb_frame_bmax):
    ret, frame = cap.read()                        # capture the image.
    ret2, frame2 = cap2.read()
    if not ret:
        print("Can't receive frame (stream end?). Exiting ...")
        break
    statut=cv.imwrite(path+'/' +increment+'/Cam1/frame1_'+str(i)+' .png', frame)

```

```

cv.imwrite(path+'/' +increment+' /Cam2/frame2_'+str(i)+'.png', frame2)
cv.imshow('frame', frame)
cv.imshow('frame2', frame2)
tVector[i]=time.time()
# while time.time()-a[i-1]<1/25:
# time.sleep(0.005)
# i+=1
if cv.waitKey(1) == ord('q'):
    break
# Release everything if job is finished
cap.release()
cap2.release()
#close the windows...
cv.destroyAllWindows()
b=tVector[1:i]-tVector[0:i-1]
# calculate the time step between each
image
# write the time steps
f = open('timeStep.txt', 'a')
for j in range(i-1):
    f.write('\n'+str(b[j]))
f.close()
# save the images.
# Display the real time movie. Doesn't
slow down, so you might as well keep it.
# Record the acquisition time of the
image.
# Delay to be add to image acquisition. In
practice, it is never used since
acquisition is too slow...
# You can stop the acquisition by clicking
on the window and typing q.

```