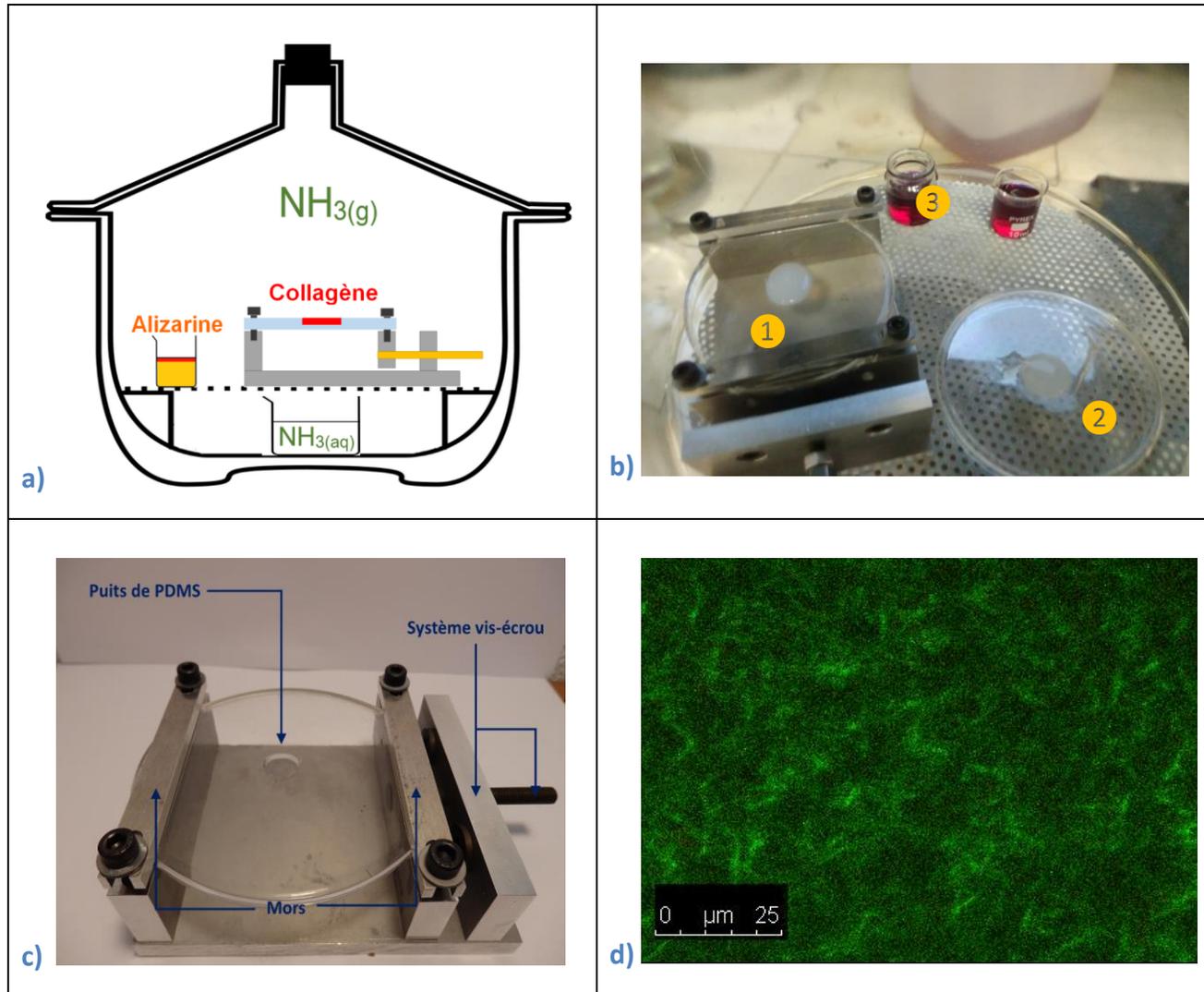


Figure 1 : Montage expérimental utilisé pour la fibrillation du collagène



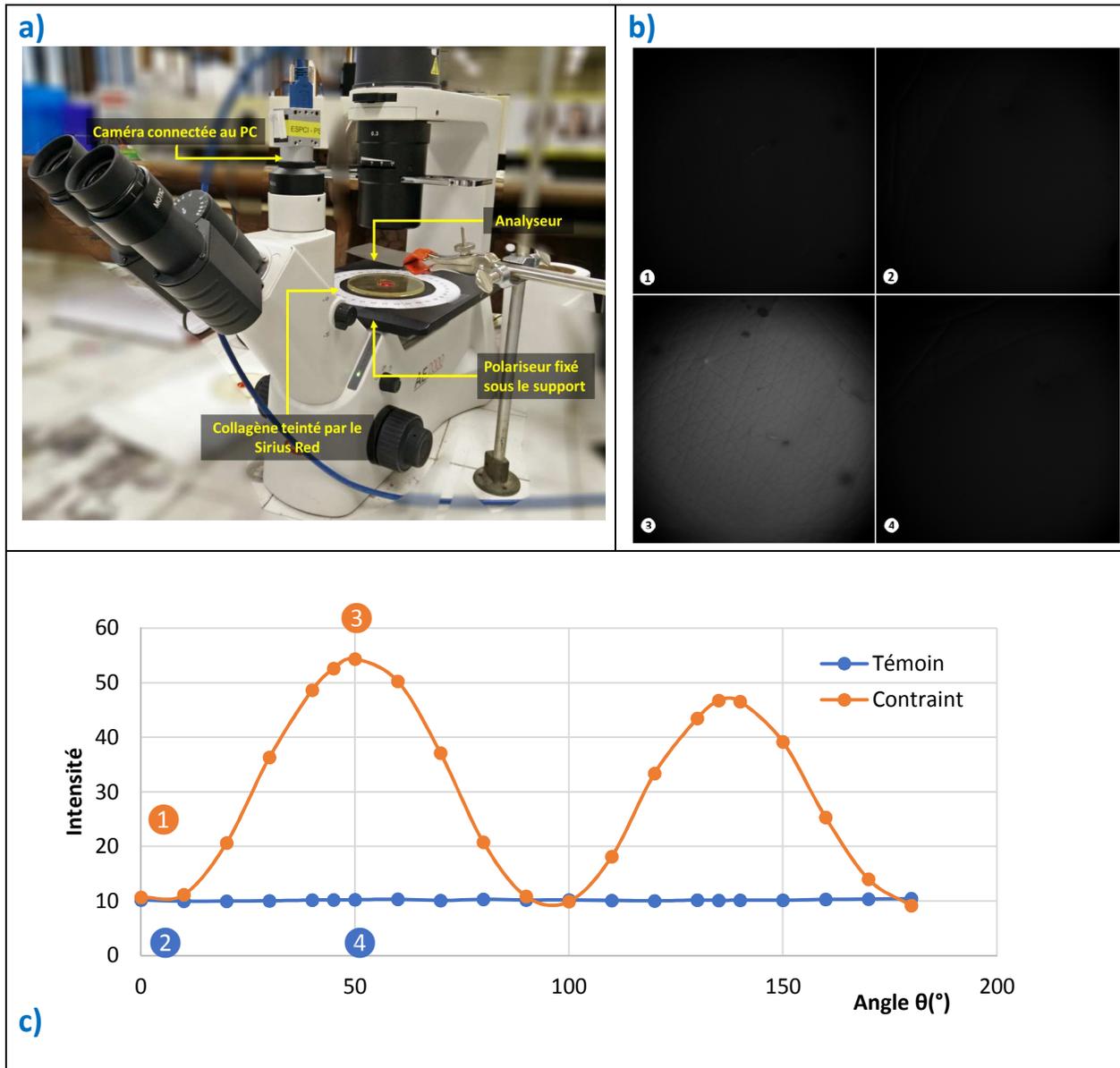
a) *Schéma du montage de fibrillation.* Le collagène (type I, 7 mg/mL, solubilisé dans de l'acide acétique 0.2N) est placé dans un puits (de 10 mm de diamètre et de profondeur 2 mm) de PDMS, mis sous tension grâce à une machine de traction. On augmente le pH dans le collagène afin d'induire sa polymérisation. Le système est donc mis sous atmosphère d'ammoniac dans une enceinte étanche (dessiccateur). On contrôle cette augmentation de pH grâce à une solution d'alizarine qui vire du jaune au rouge à pH=10-12. Afin d'obtenir une fibrillation complète, on laisse le système à pH basique pendant 2h.

b) *Photo du montage après fibrillation.* **1** Gel de collagène mis sous tension dans un puits de PDMS **2** Gel de collagène témoin dans un puits de PDMS relaxé **3** Bêchers d'alizarine après fibrillation.

c) *Photo de la machine de traction.* La plaque de PDMS est fixée grâce à des mors puis étirée grâce à un système vis-écrou. On étire grâce à ce système le PDMS de 1 cm, d'où une déformation $\epsilon=0.14$ donc une contrainte $\sigma=70kPa$ (on prend $E=500kPa$).

d) *Observation des fibres de collagène* dans un échantillon au microscope SHG. Des fibres de l'ordre de $1\mu m$ de diamètre peuvent être observées, preuves du bon fonctionnement de la fibrillation.

Figure 2 : Observation de l'alignement des fibres



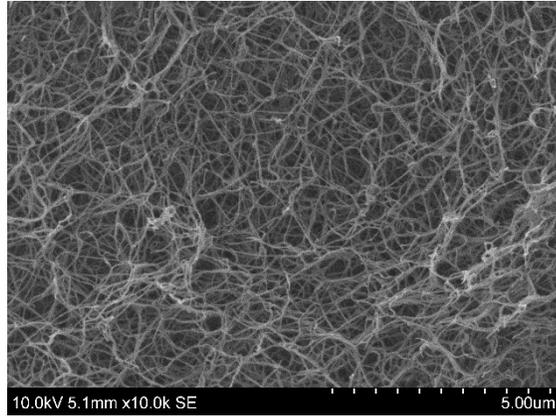
a) Les deux échantillons sont fixés dans une solution de formaldéhyde puis colorés au Sirius Red pour améliorer le contraste des images obtenues par la suite. Ils sont ensuite placés sur un microscope à lumière polarisée. On les fait tourner de 180° par pas de 10° . On observe l'intensité transmise grâce à une caméra numérique connectée au PC et commandée par le logiciel Python Viewer.

b) Comparaison de l'intensité transmise après l'analyseur pour les échantillons contraint et témoin pour des angles de 0° et 45° . Échantillon contraint : ① 0° ③ 45° ; échantillon témoin : ② 0° ④ 45° . Pour l'échantillon contraint, on observe des allumages périodiques tels que sur l'image ③.

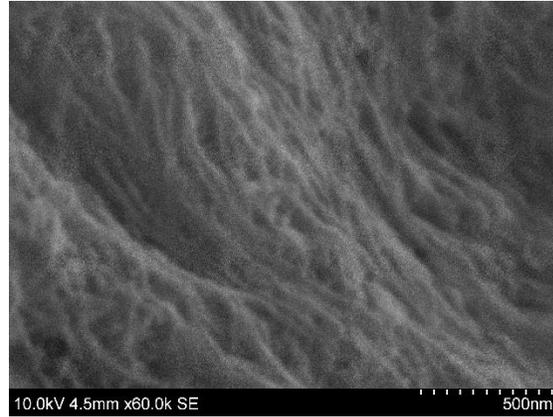
c) Biréfringence comparée des échantillons contraint et témoin. Les échantillons sont placés entre un polariseur et un analyseur croisés. On les fait tourner sur 180° . Des photos sont prises tous les 10° grâce à la caméra numérique et analysées sous ImageJ pour en mesurer l'intensité moyenne. Le zéro est choisi pour une direction de traction parallèle à la direction du polariseur. On remarque que les extinctions sont périodiques pour l'échantillon contraint (courbe orange), de période $\pi/2$. Ceci est caractéristique d'une biréfringence. Dans le cas de l'échantillon non contraint, l'intensité reste constante.

Figure 3 : Observation et analyse de la structure des fibres de collagène

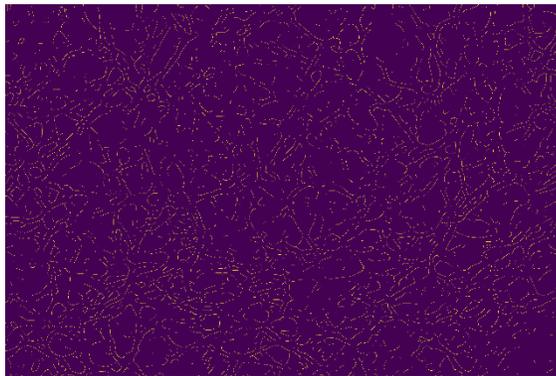
1a)



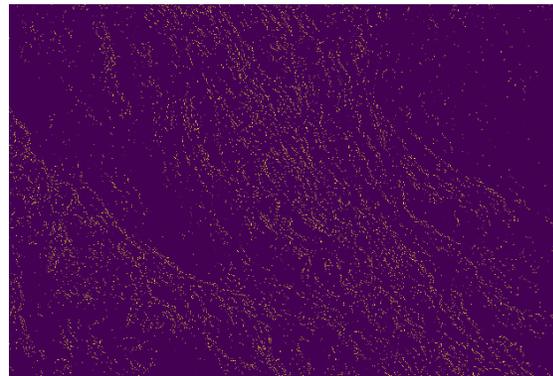
2a)



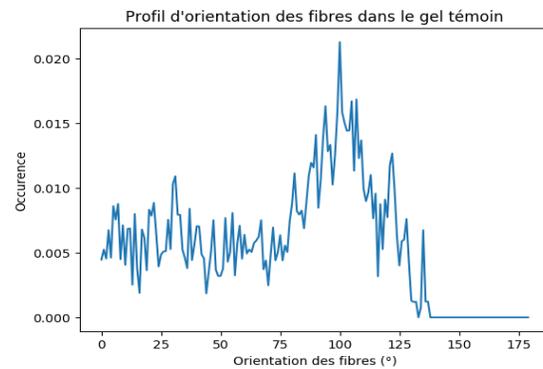
1b)



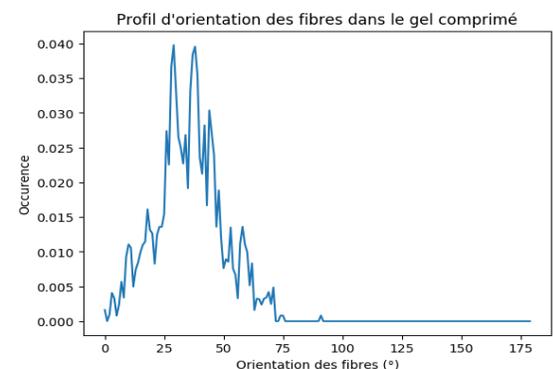
2b)



1c)



2c)



1a) et 2a) Observation des gels témoin (1) et comprimé (2) au MEB (Microscopie Electronique à Balayage). Les gels sont préalablement fixés et lyophilisés pour permettre l'observation au MEB. Ces images proviennent du centre du gel afin de s'affranchir des effets de bords. L'échelle d'observation est de l'ordre du micromètre. La structure fibrillaire est directement visible. Le réseau est densément réticulé. Il semble que les fibres du gel comprimé sont alignés selon une direction privilégiée.

1b) et 2b) Détection du contour sur les images MEB. Un algorithme basé sur la cartographie du gradient de niveau de gris permet d'isoler les contours principaux. Les pixels de gradient maximal constitue le bord des fibres. Le gradient est calculé par la méthode de la différentiation de Sommerfeld. Le bruit est éliminé par seuillage et les non-maxima, par interpolation bilinéaire à 4 pixels. La détection des contours est fidèle aux images d'origine ce qui confirme l'efficacité de la méthode.

1c) et 2c) Calcul des orientations principales des fibres. L'image des contours est analysée suivant l'algorithme de Hough. Il est basé sur la détection de lignes droites dans une image binarisée. Les droites détectées étant paramétrées en coordonnées polaires, leur occurrence est tracée en fonction de l'angle. Cela permet d'obtenir le profil d'orientation des fibres observées sur l'image MEB. Le profil du gel comprimé est plus fin et moins dispersé que celui du gel témoin. On observe une occurrence non nulle pour presque l'ensemble des directions dans le gel témoin, ce qui n'est pas le cas dans le gel comprimé. Il possède une orientation privilégié autour de 45°. L'alignement visible sur l'image MEB est ici mis en évidence par analyse numérique. Ce résultat constitue un argument en faveur du fonctionnement de la méthode.