

2^{em} Année de Master



SBCP, Parcours Biophysique

Rapport de stage de: Yawovi D. MOTCHON

Titre du stage: **Forces et forme des tissus au cours de la morphogenèse**

Laboratoire: **IBDM**



Responsable du stage: Pierre - François LENNE

18 Juin 2015

Résumé :

De la fécondation à la constitution d'un organisme vivant, il y a beaucoup de processus biologiques qui induisent des réorganisations de structure ou de forme. La morphogenèse est un élément clé dans ces transformations. Si les voies de signalisation conduisant aux formes sont bien connues, le rôle des forces mécaniques est encore mal compris. Pour mesurer les forces au sein d'un système cellulaire vivant, on dispose de techniques fondées sur des expériences et aussi des méthodes indirectes basées plutôt sur l'imagerie. Ce projet porte sur la validation des principes d'une des méthodes indirectes (inférence de force) par des mesures avec des pinces optiques. Nous avons par ailleurs construit un modèle d'inférence de forces en s'inspirant de travaux déjà effectués dans ce domaine [9] [8] [4].

Abstract :

During life several processes evolve cell reorganization and tissue shaping. Morphogenesis is key element of these transformations. While the genetic basis and signalling pathways orchestrating morphogenesis are quite well known, the mechanical forces shaping tissues are poorly understood. Many techniques allow to measure forces within living system and are mostly based on experiments or on imaging. The project focuses on the validation of the main principle of one of the indirect methods of force measurement (force inference) by using optical tweezers. In parallel we built a model of force inference based on previous works [9] [8] [4].

Table des matières

1	GENERALITES	3
2	MÉTHODOLOGIE	4
3	RESULTATS	11
4	CONCLUSIONS	13
5	Annexes	14
	References	16

1 GENERALITES

1.1 Introduction

Dans les organismes pluricellulaires, les cellules au cours de leurs évolutions s'assemblent pour former des tissus [11]. Pour donner naissance à un organe les cellules ont besoin de se réorganiser au sein du tissu. Cette réorganisation passe par des divisions, des migrations ou des différenciations cellulaires. Tous ces processus orchestrés par la dynamique du cytosquelette (à l'échelle cellulaire) sont transmises au reste du tissu à travers les contacts cellulaires (mécanismes d'adhésion) ceci à pour conséquence, la régulation des formes des tissus [11]. Les voies de signalisations conduisant aux patrons de tissus sont assez bien comprises d'un point de vue biologique : génétique, biologie cellulaire. Mais d'un point de vue mécanique, il y a beaucoup de mécanismes qui demeurent inexpliqués. Par exemple il est pertinent de savoir comment des changements de forme des cellules ainsi que la régulation des contacts cellulaires contrôlent-ils des déformations à l'échelle des tissus (invagination ou élongation) [11], [20].

Pour comprendre, interpréter et prédire les différentes formes des tissus il est donc important de comprendre la mécanique au niveau de la cellule : connaître les propriétés mécaniques du cytosquelette d'actine [1], comprendre les implications de l'actomyosine (dynamique, contractilité) et aussi comprendre comment les contraintes et les déformations sont transmises au sein du tissu.

1.2 Mesure de force à l'échelle cellulaire

Il existe beaucoup de techniques permettant de mesurer les forces à l'échelle d'une cellule et aussi dans un tissu. Parmi celles-ci, on a : l'élastographie [19] (basé sur l'image des tissus sous contrainte), la photoélasticité [13] (basé sur la biréfringence du tissu), la nanoindentation ou encore l'ablation laser [17].

L'ablation laser ou encore la nanoindentation ont l'avantage d'être des techniques de mesures directes. L'inconvénient c'est qu'elles peuvent introduire des perturbations dans le système étudié. L'ablation laser consiste en une ablation d'une jonction⁵ (interface entre deux cellules au sein d'un tissu). L'analyse de la vitesse (vitesse initiale) de rétraction des deux nœuds (ou vertex) qui lui sont liés permet de déduire la tension de cette jonction figure 1.

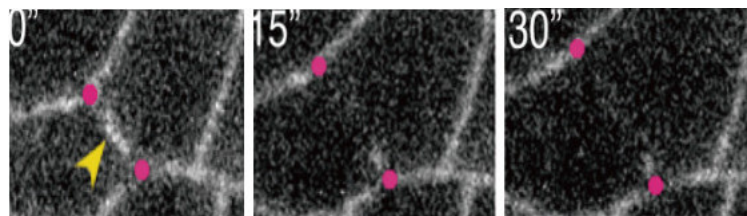


FIGURE 1: Ablation laser : les deux points rouges représentent les nœuds auxquels sont reliés l'interface coupée.

Dans la pratique, il est très difficile d'effectuer des mesures sur un système cellulaire sans y introduire des perturbations et dans le cas particulier des tissus en morphogenèse il s'agit de systèmes qui ne sont pas statiques (point de vu mécanique). Pour palier ces difficultés il a été proposé des méthodes moins invasives et quantitatives [9], [4], [8]. Ces méthodes sont basées seulement sur l'analyse d'images (moins de risque de perturber le système). La géométrie et la connectivité des cellules permet d'estimer la distribution de tensions (aux interfaces cellules - cellules) et de pressions (à l'intérieur de chaque cellule) au sein du tissu. Parmi ces méthodes il y a l'inférence de force (détails sur la méthode dans la section 2.1).

1.3 Objectifs du stage

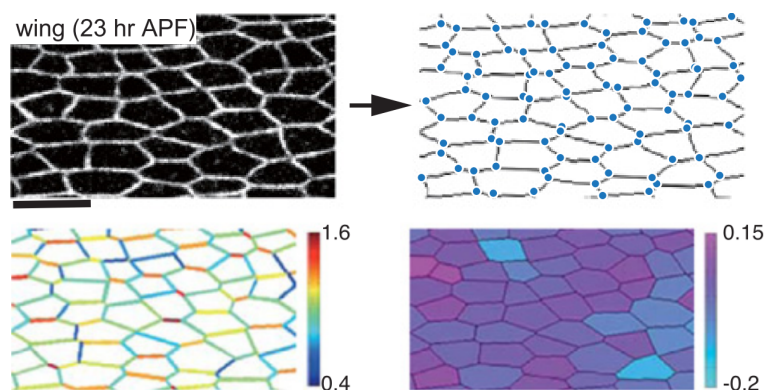
Dans ce projet, il s'agit de valider la principale hypothèse (section 2.1) de cette méthode par des mesures directes à l'aides de pinces optiques. En parallèle nous avons aussi construit un modèle pour l'inférence de forces dans la condition de tensions uniformes.

2 MÉTHODOLOGIE

2.1 Modèle d'inférence de force

Principe de l'inférence de force

Il s'agit d'estimer les tensions et les pressions dans un tissu à partir d'une image de ce dernier. On se sert de la géométrie des cellules au sein du tissu et de leur connectivité pour déduire la distribution des forces (tensions et pressions). L'avantage d'une telle méthode réside dans le fait qu'on peut connaître la mesure des forces sur une grande quantité de cellules : elle est quantitative et non invasive.



En entrée : à partir d'une image, on obtient le réseau de nœuds et d'arêtes par segmentation

En sortie : on a un réseau avec la distribution des tensions aux interfaces (gauche) et des variations de pressions à l'intérieur des cellules (droite)

Kaoru S. et al 2012 [8].

Hypothèses

- o Equilibre mécanique

L'équilibre mécanique implique que la résultante des forces agissant en un vertex donné est nulle [4].

- o Le modèle 2D

La mécanique des tissus est en majorité dominée par le cortex d'acto-myosine et les molécules d'adhésion (Adherens Junctions) [4].

Sachant que les cellules sont capables de réguler leur état mécanique à travers la régulation de l'activité de la myosine ou de l'adhésion cellulaire par exemple, les tensions au niveau des interfaces cellulaires peuvent donc changer d'une cellule à une autre [4]. Le modèle d'inférence tient compte du fait de ces variations en se basant sur le système étudié car par rapport au système étudié, les tensions (respectivement les pressions) peuvent être considérées comme uniformes.

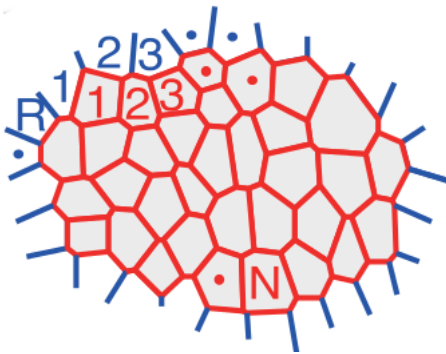


FIGURE 2: Réseau de N cellules entourées par R cellules (qui ne sont pas entières : donc ne rentreront pas dans l'estimation de pressions)

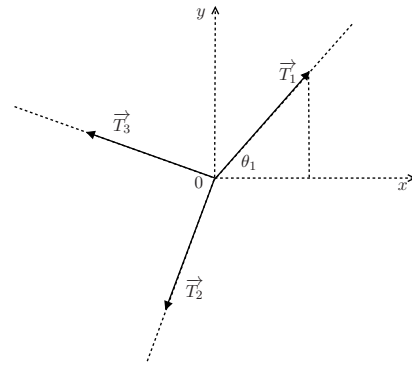


FIGURE 3: La projection des forces T_1 , T_2 et T_3 permet de réécrire l'hypothèse de l'équilibre mécanique.

Supposons N cellules entourées par R cellules comme l'indique la figure 2. Pour appliquer l'inférence de forces sur ce système qu'on assimile à un tissu de cellules, il suffit de trouver les angles que font les différentes arêtes entre elles et par application du premier principe déduire les tensions aux interfaces et les pressions internes. Dans la figure 3 on considère un vertex, le bilan des forces qui s'exercent est donné par la relation :

$$\vec{F}_0 = \vec{T}_1 + \vec{T}_2 + \vec{T}_3$$

Et la projection de cette relation conduit à :

$$\begin{cases} F_0^x &= T_1 \cdot \cos \theta_1 + T_2 \cdot \cos \theta_2 + T_3 \cdot \cos \theta_3 \\ F_0^y &= T_1 \cdot \sin \theta_1 + T_2 \cdot \sin \theta_2 + T_3 \cdot \sin \theta_3 \end{cases}$$

Pour ce genre de système (on reconsidère le système de la figure 2) on a :

- $N + R$ cellules
- $e + 2R$ arêtes

La projection sur tous les N_v vertex du système donne :

$$\begin{cases} F_0^x = \sum_i^n \frac{x_i}{|\mathbf{r}_i|} T_i - \sum_i^n \frac{y_i}{2} (P_i - P_{i+1}) \\ F_0^y = \sum_i^n \frac{y_i}{|\mathbf{r}_i|} T_i - \sum_i^n \frac{x_i}{2} (P_i - P_{i+1}) \\ \vdots \\ F_{N_v}^x = \sum_i^n \frac{x_i}{|\mathbf{r}_i|} T_i - \sum_i^n \frac{y_i}{2} (P_i - P_{i+1}) \\ F_{N_v}^y = \sum_i^n \frac{y_i}{|\mathbf{r}_i|} T_i - \sum_i^n \frac{x_i}{2} (P_i - P_{i+1}) \end{cases}$$

Tel que posé, ce système d'équations peut se réécrire sous la forme matricielle :

$$F = A_T \cdot T + A_P \cdot P$$

Où T et P sont des matrices colonnes contenant les valeurs de tensions et de pressions. A_T et A_P sont des matrices contenant les coefficients liés à la géométrie du réseau.

Ceci équivaut à résoudre un système d'algèbre linéaire du type $AX = b$. Dans notre cas, en considérant le principe de l'équilibre mécanique, on a $F = 0$ et de plus, le système est sous-déterminé : on a plus d'inconnues que d'équations. En effet on a un surplus de $R + 1$ équations. Donc il faut réduire le nombre d'inconnu ou bien faire une estimation statistique.

a Réduction d'inconnues

- Tensions uniformes

On suppose que les tensions sont tous uniformes au sein du tissu et on a le système

$A_T \cdot T_0 + A_P \cdot P = 0$ à résoudre. T_0 est connue.

- Pressions uniformes

Ici on suppose plutôt qu'on est dans une situation de tensions uniformes et on a $A_T \cdot T = 0$.

b Approche statistique

- Inférence Bayésienne

Ici il est question de déduire la probabilité d'un événement à partir de celles d'autres événements déjà évaluées. Elle s'appuie principalement sur le théorème de Bayes.

Contexte

Dans le cadre de ce stage, nous nous sommes inspirés de modèles d'inférence déjà existants ([9], [4], [8]) pour construire un modèle basé sur la réduction d'inconnues (ici on a abordé le cas où les pressions sont supposées uniformes [9]). Pour tester ce modèle nous avons généré des réseaux de cellules dans lesquels les tensions sont supposées connues. Par comparaison des valeurs inférées en appliquant le modèle d'inférence sur ce système, obtient la corrélation entre les valeurs inférées et les vraies valeurs des tensions d'interfaces cellulaires.

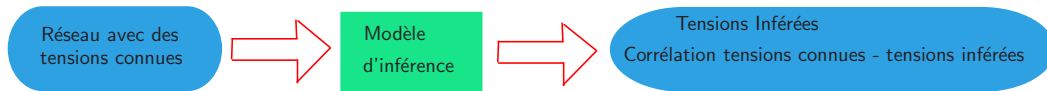


FIGURE 4: A partir d'un réseau de cellules pour lequel on connaît ou non la distribution des tensions, le modèle d'inférence permet d'obtenir les valeurs dites inférées qui pourront être validées par d'autres méthodes ou soit être corrélé avec des valeurs connues dans le cas où il s'agit de test.

Description

Pour le modèle, on part d'un tissu idéal (réseau de polygones dans lequel toutes les tensions sont connues : Figure 13). Les données d'entrée sont :

- les coordonnées des vertex du tissu
- les connectivités entre les différents vertex
- l'arrangement des cellules du tissu

Le modèle d'inférence a essentiellement été construit sur la base du principe d'équilibre mécanique. La résolution du système d'équation (sous la condition de tensions uniformes) permet d'avoir une estimation des valeurs de tension.

Il s'agit dans un premier temps de générer un nombre donné d'hexagones identique (avec Matlab) et ensuite d'attribuer à chaque arête une valeur aléatoire de tension (ces valeurs sont distribuées suivant une loi normale autour d'une certaine valeur T_0). Pour se mettre dans les conditions d'équilibre mécanique, ce tissu idéal ainsi formé est ensuite traité à l'aide d'un logiciel de modélisation de surfaces : Surface Evolver⁵. Il s'en suit donc un tissu légèrement déformé avec les mêmes types de données (version équilibrée).

Dans la pratique pour trouver les tensions inférées on inverse la matrice du système $A_T \cdot T = 0$. Étant donnée que le système est homogène et que les valeurs des tensions sont positives, on est donc en face d'un problème d'optimisation avec contraintes. Pour la résolution, nous avons utilisé un solveur de la toolbox de Matlab (Matlab Optimization Toolbox) qu'est la fonction *lsqlin* (à noter qu'on peut aussi utiliser le pseudo-inverse).

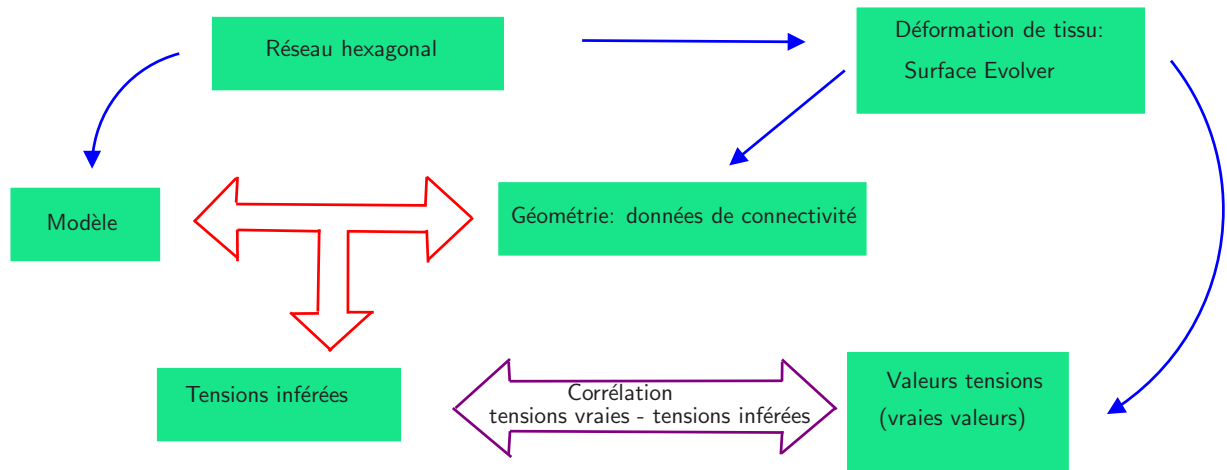


FIGURE 5: Diagramme expliquant le fonctionnement du modèle d'inférence.

2.2 Système d'étude : épithélium des embryons de Drosophile

Le système modèle pour cette étude est le tissu de l'épithélium d'embryon de Drosophile à un stage de cellularisation (stage où les cellules sont bien visibles et forment un tissu mécaniquement stable). Par ailleurs les courbures des interfaces cellulaires sont faibles à ce stage. Il est atteint environ 3 h après la ponte des œufs (cette durée dépend évidemment des conditions extérieurs comme la température).

Les Drosophiles sont mis dans une enceinte (pondoirs) cylindrique et aérée avec une boîte de pétri comme support et sont alimentés à la levure. Ce support est changé régulièrement (2 fois dans la journée) pour éviter le développement de larves.

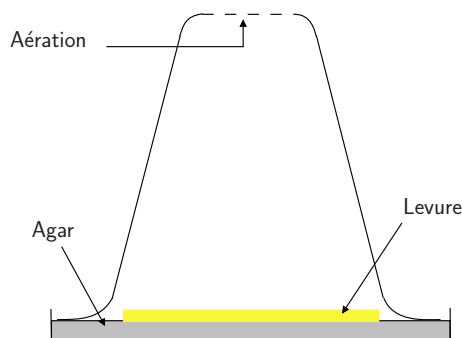


FIGURE 6: Matériel servant à la ponte d'œufs. Pour la préparation d'un embryon, le support est mis pour environ 45 min à 1 h de temps. Après cela, le support est laissé à 25° C (avec les embryons dessus) pour leur développement.

2.3 Les pinces optiques

Généralités

Les pinces optiques sont une technique dont le principe réside en un piégeage d'objet aussi bien à l'échelle atomique que des objets à l'échelle cellulaire. Elles sont énormément utilisées en mécanique cellulaire. Elles permettent d'appliquer des forces bien calibrées d'une manière globale dans une matière donnée. Dans le cadre de ce stage les pinces optiques ont été utilisées pour mesurer les tensions d'interfaces cellulaires dans un tissu d'embryon de *Drosophila* : ceci est basé sur le principe de réfraction du laser. Elles permettent par ailleurs de mesurer des tensions membranaires de l'ordre de 1 à 50 pN [7] ou de trouver les propriétés mécaniques des cellules ou en général de la matière étudiée.

Principe

L'idée est de constituer un piège à partir d'un faisceau laser très focalisé. A l'aide de lentilles on parvient à focaliser un faisceau laser qui crée une force d'attraction ou de répulsion sur les objets qui se situent dans son voisinage. Il est utilisé par exemple pour piéger une bille ($\sim \mu$ de diamètre), une molécule, des particules, des organites dans une cellule Figure 7 et 8.

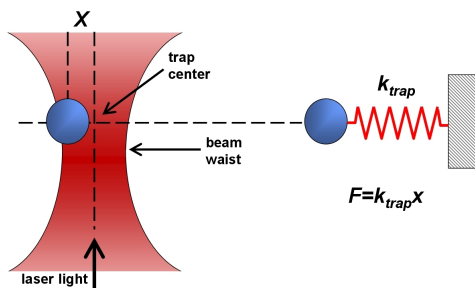


FIGURE 7: Principe de fonctionnement

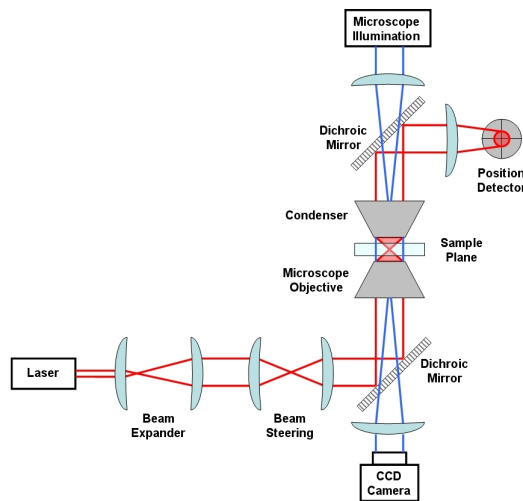


FIGURE 8: Setup

Pendant le stage tous les travaux ont été faits à l'aide de la microscopie de fluorescence. L'observation est faite grâce une feuille de lumière. La microscopie à feuille de lumière consiste à réaliser des coupes optiques d'un échantillon en l'illuminant par le côté avec une feuille de lumière. Le microscope conçu pour cette technique est le SPIM (Selective Plane Illumination Microscope) [5] : Figure 9 et 10.

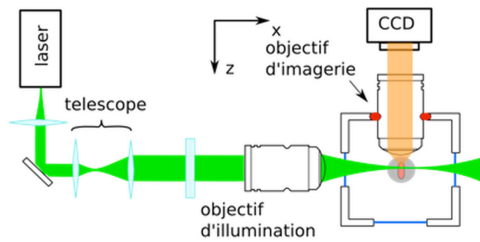


FIGURE 9: Principe de fonctionnement : différentes composantes.

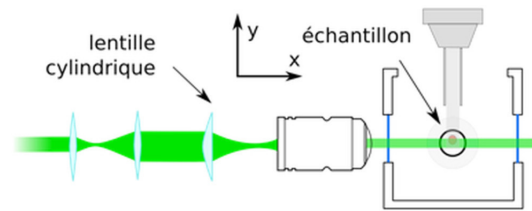


FIGURE 10: Génération feuille de lumière

La feuille de lumière est obtenue par la mise en forme d'un faisceau laser avec un système de lentilles dont une cylindrique. La feuille de lumière est positionnée dans le plan focal de la lentille d'un objectif de détection placé perpendiculairement au trajet d'excitation. Pour être imagé en profondeur, l'échantillon est déplacé dans la feuille de lumière, la section optique du système étant définie par l'épaisseur de la feuille.

Dans ces conditions, les échantillons n'échappent pas au photo-blanchiment. La microscopie à feuille de lumière qui permet d'éclairer un plan fin de l'échantillon permettant ainsi de n'observer que le plan d'intérêt et ainsi de préserver le reste de l'échantillon du photo-blanchiment. Ceci permet d'observer que le plan éclairé (le plan focal).

Ci-dessous, une image du setup utilisé pour les manip.

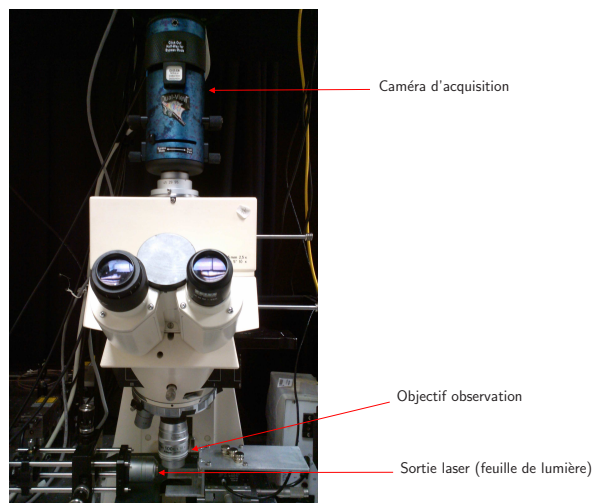


FIGURE 11: Setup d'observation et d'acquisition d'images : microscope + camera + échantillon.

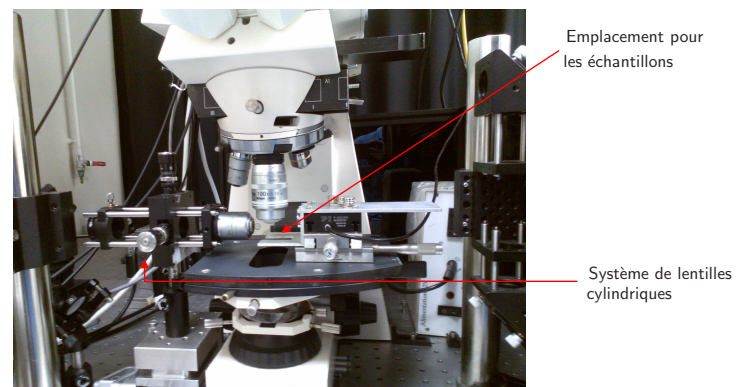


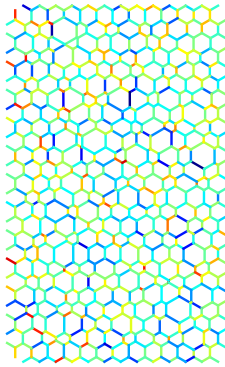
FIGURE 12: Dispositif de génération de la feuille de lumière.

3 RESULTATS

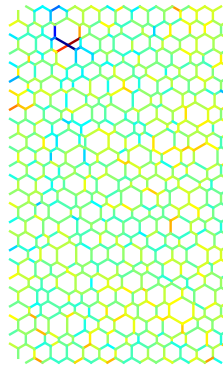
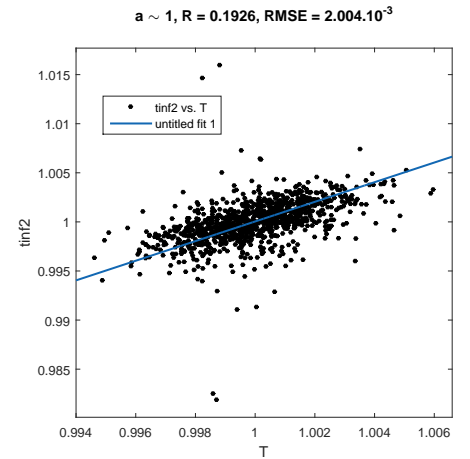
3.1 Test du modèle d'inférence

Dans l'exemple qui suit, on considère un réseau d'environ 325 cellules dans lequel on connaît la valeur de toutes les tensions. En appliquant la méthode d'inférence de notre modèle, on obtient une distribution (figure 14). Les valeurs de tensions sont distribuées autour de 1 avec une marge de $\pm 10^{-3}$. Après l'inférence on obtient une corrélation avec une valeur de $r = 0.1926$ pour le coefficient de corrélation. Le fit linéaire (de la forme ax) donne une valeur $a \sim 1$.

Vraies valeurs

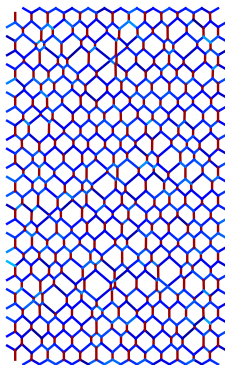
FIGURE 13: *Vraies valeurs*

Avec le solveur lsqlin

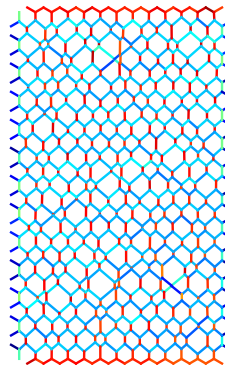
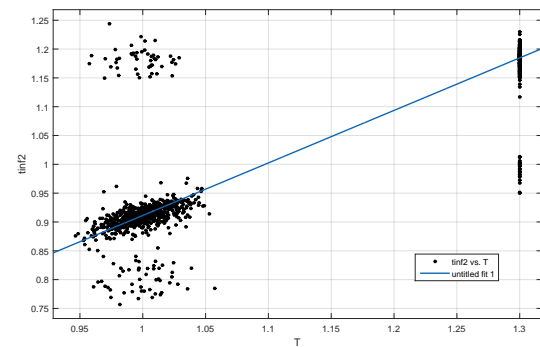
FIGURE 14: *Valeurs inférées*FIGURE 15: *Corrélation*

En considérant un tissu anisotrope dans lequel les interfaces verticaux sont plus tendues que les autres jonctions, cette anisotropie est conservée avec le modèle. Cette situation mime bien celle d'un tissu réel en morphogenèse dans lequel les jonctions dans l'axe antéro-postérieur sont plus tendues.

Vraies valeurs

FIGURE 16: *Vraies valeurs*

Avec le solveur lsqlin

FIGURE 17: *Valeurs inférées*FIGURE 18: *Corrélation*

Les décalages dans la corrélation ici sont dus au fait que les jonctions aux bords du tissu ont été fixées.

3.2 Mesures avec les pinces optiques

La mesure avec les pinces consiste à tirer sur trois jonctions qui sont liées à un même vertex. L'idée est de déduire la valeur des tensions et de vérifier le principe d'inférence introduit plus haut (Figure 19). Sur l'image suivante, il s'agit de faire bouger le piège perpendiculairement aux trois jonctions en rouge.

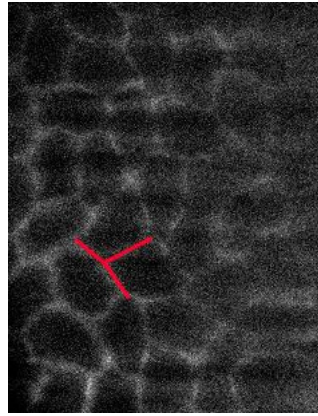
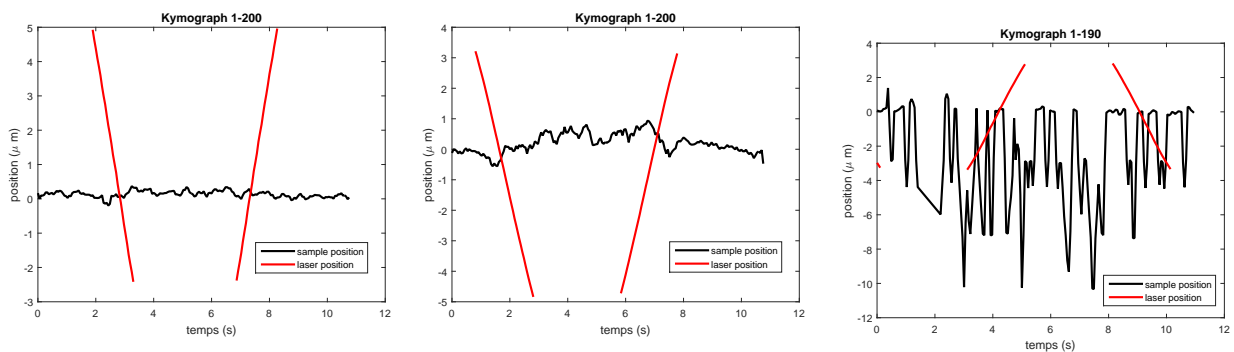


FIGURE 19: Les trois jonctions en rouges sont les celles sur lesquelles les mesures doivent être effectuées.

Voici les résultats obtenues après analyse des données des pinces optiques (Figure 20a, 20b et 20c). Les différents graphes montrent les positions du piège en rouge et en noir, les positions de la jonction.



(a) La membrane bouge très peu par rapport au piège et que les deux mouvements ne sont pas corrélés. (b) La membrane bouge très peu et a un mouvement différent de celui du piège. (c) Ici le mouvement de la membrane est très bruité.

FIGURE 20: Positions des membranes (noir) et du piège (rouge) en fonction du temps

Ces perturbations observées sur les différents graphes sont dues au fait que le piège n'est pas bien positionné par rapport à la jonction (il faut que son mouvement soit perpendiculaire à la jonction) : ceci peut se voir sur les films réalisés lors des expériences. A cela s'ajoute la non stabilité des jonctions considérées.

4 CONCLUSIONS

Ce projet m'a permis d'aborder la mécanique dans les systèmes vivants. Un des aspects clés de cette étude réside dans la mesure de forces aussi bien par des méthodes directes (les pinces optiques pour ce stage) que par des méthodes indirectes (méthodes d'inférence de forces). Le stage m'a apporté beaucoup de connaissances sur les pinces optiques, les embryons de *Drosophila* (et évolutions au cours de la morphogenèse) et la méthode d'inférence de force. Durant le stage j'ai consacré beaucoup de temps à la construction du modèle d'inférence ainsi que dans la compréhension du formalisme.

Le modèle permet de voir la corrélation entre des valeurs connues de tensions et celles inférées. Le test du modèle a permis d'avoir une valeur du coefficient de corrélation de l'ordre de 0.1926, ce qui est en accord avec les résultats de travaux récents ([9]).

En parallèle nous avons aussi appliqué le modèle sur des tissus réels. Le principe est le suivant : à partir d'une image de tissu on fait une segmentation (grâce à Ilastik qui est un logiciel de classification, segmentation et d'analyse d'image) qui donne un réseau de polygones (les cellules du tissu) avec les données de géométrie et de connectivité. Ces résultats doivent être confrontés à des données expérimentales pour validation.

5 Annexes

Quelques définitions

Réfraction

En physique des ondes, la réfraction désigne le réfléchissement d'une onde (notamment optique, acoustique ou sismologique) à l'interface entre deux milieux de vitesse de phase, différents sur le plan chimique ou physique (densité, impédance, température ...).

Morphogenèse

La morphogenèse est l'ensemble des processus biologique qui décrivent la forme des différentes composantes d'un organisme (les organes, les tissus, etc) au cours de son évolution.

Pression de radiation

Lorsqu'une onde électromagnétique se réfléchit sur un objet, ce dernier subit de la part de l'onde une force proportionnelle à la surface éclairée et à l'intensité de l'onde incidente ([olivier Granier](#)) : il s'agit de la pression de radiation. Réflexion des ondes électromagnétiques sur un métal d'Olivier Granier.

Jonctions cellulaires

Les cellules dans l'organisme sont protégées par une membrane cellulaire. Dans un tissu, ces cellules sont adjacentes et du fait des contacts elles forment des jonctions.

Surface Evolver

Le fonctionnement est basé sur la minimisation des énergies de surfaces afin de trouver les configurations pour les quelles l'énergie est minimum. Le modèle d'énergie peut être une combinaison de tension de surface - énergie de courbure [3].

Bibliographie

- [1] A. Asnacios and O. Hamant. The mechanics behind cell polarity. *Trends in Cell Biology*, 22(11) :584 – 591, November 2012.
- [2] K. Bambardekar, R. Clément, O. Blanc, C. Chardès, and P.-F. Lenne. Direct laser manipulations reveals the mechanics of cell contact in vivo. *PNAS*, 112(5) :1416 – 1421, 2015.
- [3] K. A. Brakke. *Surface Evolver Manual*. Mathematics Department Susquehanna University, Selinsgrove, PA 17870, 2013.
- [4] K. K. Chiou, L. Hufnagel, and B. I. Shraiman. Mechanical stress inference for two dimensional cell arrays. *Plos Computational Biology*, 8(5) :1 – 9, 2012.
- [5] B. Ducommun. *De l'image à la feuille de lumière pour accéder à la troisième dimension*. Institut des Technologies Avancées en Sciences du Vivant (ITAV), 1 Place Pierre Potier 31106 Toulouse.
- [6] D. A. Fletcher and R. D. Mullins. Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 463(28) :485 – 492, January 2010.
- [7] S. Hénon, G. Lenormand, A. Richert, and F. Gallet. A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers. *Biophysical Journal*, 76 :1145 – 1151, 1999.
- [8] S. Ishihara and K. Sugimura. Bayesian inference of force dynamics during morphogenesis. *Journal of Theoretical Biology*, 313 :201 – 211, 2012.
- [9] S. Ishihara, K. Sugimura, J. Cox, I. Bonnet, Y. Bellaïche, and F. Graner. Comparative study of non - invasive force and stress inference methods in tissue. *European Physical Journal E*, 45(36) :1 – 13, 2013.
- [10] J. B. Jianwen Luo, Kui Ying. Elasticity reconstruction for ultrasound elastography using a radial compression : An inverse approach. *Science Direct*, 2006.
- [11] T. Lecuit, P.-F. Lenne, and E. Munro. Force generation, transmission, and integration during cell and tissue morphogenesis. *Review*, 2011.
- [12] X. Ma, H. E. Lynch, P. C. Scully, and M. S. Hutson. Probing embryonic tissue mechanics with laser hole drilling. *Physical Biology*, 6(036004) :1 – 12, 2009.
- [13] U. Nienhaus, T. Aegerter-Wilmsen, and C. M. Aegerter. Determination of mechanical stress distribution in drosophila wing discs using photoelasticity. *Science Direct*, pages 942 – 949, 2009.
- [14] Ophir, I. H. Ponnekanti, Y. Yazdi, and X. Li. Elastography : A quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *ULTRASONIC IMAGING*, 13 :111–134, 1991.
- [15] T. D. Pollard and J. A. Cooper. Actin, a central player in cell shape and movement. *Science*, 326(5957) :1208 – 1212, June 2013.
- [16] G. Popescu, T. Ikeda, K. Goda, C. A. Best-Popescu, M. Laposata, S. Manley, R. R. Dasari, K. Badizadegan, and M. S. Feld. Optical measurement of cell membrane tension. *Physical Review Letters*, 97(218101) :1 – 4, 2006.

- [17] M. Rauzi, P. Verant, T. Lecuit, and P.-F. Lenne. Nature and anisotropy of cortical forces orienting drosophila tissue morphogenesis. *Nature Cell Biology*, 10(12) :1401 – 1410, December 2008.
- [18] G. Salbreux, G. Charas, and E. Paluch. Actin cortex mechanics and cellular morphogenesis. *Trends in Cell Biology*, 22(10) :536 – 545, October 2012.
- [19] L. Sandrin, M. Tanter, J. L. Gennisson, S. Catheline, and M. Fink. Shear elasticity probe for soft tissues with 1-d transient elastography. *IEEEExplore*, 49(4) :436, April 2002.
- [20] T. Savin, N. A. Kurpiosn, A. E. Shyer, P. Florescu, H. Liang, L. Mahadevan, and C. J. Tabin. On the growth and form of the gut. *Nature*, 476 :57 – 62, Août 2011.
- [21] K. Sugimura, Y. Belaïche, F. Graner, P. Marcq, and S. Ishihara. Robustness of force and stress inference in an epithelial tissue. *IEEE EMBS*, 35 :3 – 7, 2013.
- [22] K. Sugimura and S. Ishihara. The mechanical anisotropy in a tissue promote ordering in hexagonal cell packing. *Development*, 140 :4091– 4101, 2013.