

(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00631

(22) Data de depozit: 08/10/2019

(41) Data publicării cererii:  
29/04/2021 BOPI nr. 4/2021

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
FIZICĂ TEHNICĂ - IFT IAȘI,  
BD.PROF. DR. DOC. DIMITRIE  
MANGERON NR.47, OP IS 3, CP 833, IAȘI,  
IS, RO

(72) Inventatori:  
• HEREA DUMITRU-DANIEL, STR.REDIU  
NR.6 A, BL.482 E, SC.B, ET.4, AP.17, IAȘI,  
IS, RO;  
• LĂBUȘCĂ LUMINIȚA, STR.HAN TĂȚAR  
NR.2, BL.360, SC.C, ET.8, AP.23, IAȘI, IS,  
RO

## (54) RECIPIENT TERMOIZOLAT PENTRU INCUBAREA CULTURILOR CELULARE

### (57) Rezumat:

Invenția se referă la un recipient termoizolat pentru incubarea culturilor celulare destinat menținerii în condiții optime a parametrilor de creștere și înmulțire atât a celulelor aderente la suprafață cât și a celulelor non - aderente cultivate în suspensie, recipientul fiind utilizat în special în timpul analizelor de microscopie optică. Recipientul conform invenției este constituit din două camere realizate parțial sau total din materiale plastice care nu comunică una cu cealaltă: o cameră (A) interioară prevăzută cu o deschidere pentru introducerea culturilor celulare și a mediului de cultură înconjurată de o cameră (B) exterioară, între cele două camere existând o izolație termică de lichid, gaz sau gaz și aer, astfel încât, după scoaterea din incubator a recipientului termoizolat, mediul de cultură celulară să prezinte doar scăderi minimale de temperatură, pentru reîmprospătarea continuă sau intermitentă a atmosferei gazoase, prin intermediul conectorilor de gaz ai camerelor (A și B), recipientul poate fi conectat la o pompă de aer plasată în incinta incubatorului, iar pentru reîmprospătarea atmosferei gazoase din interiorul camerei (A) recipientul se poate conecta la un modul cu un canal sau cu mai multe canale de alimentare cu gaz umidificat și încălzit care permite furnizarea continuă sau intermitentă de gaze către incinta (A) interioară a

recipientului prin intermediul conectorilor pentru gaz ai camerelor (A și B) sau prin niște conectori practicați direct în capac, dispozitivul de incubare permițând înregistrări intermitente sau continue ale culturilor celulare cu ajutorul unui microscop optic inversat, pentru perioade de timp mai mici de o oră.

Revendicări: 5  
Figuri: 8

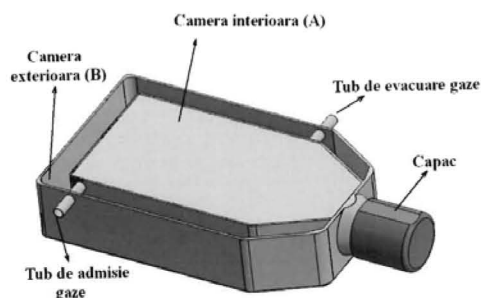
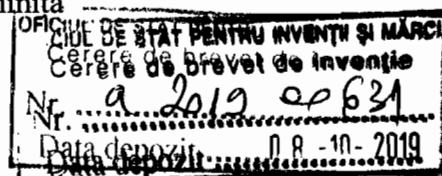


Fig. 5



## Recipient termoizolat pentru incubarea culturilor celulare

**Autori:** Herea Dumitru-Daniel, Labuscă Luminita



### Descrierea invenției

[01]. Prezenta invenție se referă la un recipient din plastic prevăzut cu termoizolație statică și eventual ventilat destinat menținerii în condiții optime a parametrilor de creștere și înmulțire atât a celulelor aderente la suprafață cât și a celor non-aderente (cultivate în suspensie), în special în timpul analizelor de microscopie optică atunci când recipientele cu celulele sunt scoase din incubator și așezate pe masuța metalică a microscopului. Recipientul este format dintr-un corp principal termoizolat cu o manta bazată pe (i) lichid (de ex., apă), (ii) lichid și aer sau (iii) numai aer, în straturi unice sau succesive. Recipientul este alcătuit din pereți din plastic (cel puțin dubli) și poate fi realizat în formele deja consacrate pentru recipientele de culturi celulare curente. Corpul principal este prevăzut cu un gât închis de un capac. Recipientul poate fi prevăzut cu tuburi de admisie și evacuare pentru gaz pentru o oxigenare mai eficientă a culturilor celulare prin interfața gaz/mediu de cultură.

### Nivelul curent al domeniului

[02]. Culturile celulare reprezintă o parte foarte importantă a cercetării biomedicale, recipientele pentru culturi celulare fiind întotdeauna componente cheie pentru creșterea cu succes a liniilor celulare. Recipientele de cultură variază în funcție de condițiile de creștere ale liniilor celulare de interes. Cele mai obișnuite recipiente sunt cele cu suprafață plană, cele cu filet și recipientele Erlenmeyer. Acestea sunt disponibile atât cu suprafețe netratate, cât și tratate biologic sau sintetic. Inovațiile în proiectarea recipientelor au permis o manipulare mai eficientă atât pentru a reduce la minimum potențiala contaminare bacteriană sau virală cât și pentru a crește productivitatea. Unele inovații au vizat atât recipiente cu mai multe straturi, etajate, care permit extinderea culturilor celulare mai rapid și mai ușor, cât și recipiente cu forme îmbunătățite pentru a permite accesul în toate colțurile cu o pipetă sau racletă, precum și recipiente concepute special pentru cultura automată a țesuturilor.

[03]. Dispozitivele care nu necesită echipamente auxiliare care să amestece sau să perfuzeze mediul de cultură celulară sunt adesea denumite dispozitive statice (Brevet No.: US 2005/0106717 A1). Acestea pot fi împărțite în două mari categorii: 1) dispozitive care nu sunt permeabile la gaz, celulele fiind oxigenate prin interfața gaz/lichid și 2) dispozitive care sunt

permeabile la gaz, celulele fiind oxigenate prin transferul gazului chiar prin recipientul de cultura al celulelor (Brevet No.: US 2005/0106717 A1). Vasele Petri, plăcile de cultură ale ţesuturilor cu godeuri multiple, recipientele de culturi de ţesuturi simple şi cele de culturi de ţesuturi multiple aparţin primei categorii (Brevet nr. US 2005/0106717A1 şi brevet nr. US9783769B2). Pungile de cultură pentru celule şi recipientele compartimentate aparţin celei de-a doua categorii. Toate aceste dispozitive statice sunt ineficiente dintr-o varietate de motive prezentate în Brevetul nr.: US 2005/0106717 A1.

[04]. Pentru incubarea culturilor de celule de mamifere sau bacterii, în acest moment există disponibile comercial recipiente din plastic, în diferite forme şi mărimi, alcătuite doar din pereţi simpli, singolari, neizolaţi termic. Cele mai utilizate recipiente pentru culturi celulare, toate alcătuite din pereţi simpli şi fără posibilităţi de ventilare, sunt comercializate de câteva companii importante în domeniu cum ar fi Thermofisher (<https://www.thermofisher.com>), Corning (<https://www.corning.com>), Eppendorf (<https://www.eppendorf.com>) şi Greiner (<https://www.gbo.com>).

#### **Problema pe care o rezolvă invenţia**

[05]. Recipientele actuale pentru culturi celulare suferă de o răcire rapidă a mediului de cultura şi indirect a celulelor atunci când sunt scoase din incubator, de ex. pentru observaţii periodice la microscopul optic, pentru schimbarea mediului de cultură în hota cu flux laminar sau pentru adăugarea unor substanţe bioactive, afectând într-o măsură mai mică sau mai mare cultura celulară pe care o găzduiesc. În cazul celulelor modificate genetic, care de regulă sunt mai sensibile la modificările fizico-chimice ale mediului, acest lucru poate deveni critic pentru cultura respectivă. Păstrarea constantă a parametrilor de cultivare, în special temperatura şi compoziţia atmosferei gazoase, este esenţială atât pentru creşterea în condiţii optime a celulelor cât şi pentru controlul cât mai precis al unor interacţiuni bio-fizico-chimice care se pot desfăşura între celule şi diferite medicamente, gene/ADN, nanoparticule magnetice sau nemagnetice, câmpuri magnetice sau electrice, senzori, platforme („scaffolds”) de creştere etc. Pentru a preveni răcirea marcantă a recipientelor de culturi celulare, o serie de laboratoare apelează la suprafeţe încălzite electric dispuse în hotă de lucru. Asemenea dispozitive sunt consumatoare de energie şi de spaţiu şi nu reuşesc să elimine decât parţial schimburile de caldură dintre recipient şi mediul înconjurător, fără a influenţa şi alţi parametri cum ar fi schimburile de gaze. Suprafeţele încălzite nu pot fi folosite pe durata observării la microscop sau a altor manipulări ale vaselor de cultură în afara hotei de lucru.

[06]. În plus, recipientele actuale pentru culturi celulare oferă doar o atmosferă statică deasupra mediului de cultură în care sunt crescute celulele, permițând doar o reîmprospătare pasivă a atmosferei gazoase din interiorul lor. Astfel, schimbul de gaze (de regulă, aer cu 5 % CO<sub>2</sub>), dintre interiorul recipientului și incinta incubatorului în care se află recipientul, se face prin difuzie pasivă, în funcție de gradient, prin membrana poroasă a capacului recipientului sau prin regiunea filetată a capacului închis parțial. Dat fiind că celulele produc permanent CO<sub>2</sub>, în interiorul recipientului concentrația CO<sub>2</sub> este mai crescută decât cea din incubator, influențând creșterea celulară, chiar dacă există un anumit schimb de gaze între incubator și recipient.

[07]. Prezenta invenție oferă soluții noi pentru a rezolva deficiențele menționate mai sus prin realizarea unui recipient termoizolat din plastic dedicat atât incubării, cât și observării în condiții optime de temperatură a celulelor supuse analizei la microscopul optic.

[08]. De asemenea, conform invenției, recipientele de cultură celulară izolate termic pot fi echipate și cu tuburi de admisie și evacuare a gazului, de exemplu, aer cu umiditate de peste 90% îmbogățit cu 5% CO<sub>2</sub>. Gazul respectiv este furnizat de incubator și poate fi circulat controlat prin recipient, permițând astfel o reîmprospătare continuă a atmosferei gazoase a acestuia.

[09]. Dacă incubatorul permite, pe canale separate pot fi circulate către recipientele cu celule gaze diferite cu concentrații ajustabile. Astfel, compoziția și fluxul de gaz pot fi ușor controlate și particularizate pentru fiecare recipient de cultură în timpul creșterii celulare. În acest caz, consumul de gaz este mult redus. De asemenea, compoziția gazului din recipient nu este perturbată de deschiderea ușii incubatorului, operațiune care întotdeauna conduce la scăderea concentrației de CO<sub>2</sub> prin amestecul cu aerul din laborator.

### **Descrierea detaliată a invenției**

[10]. Recipientul de incubare termoizolat din prezenta invenție este prezentat în Figurile 1-6. Conform invenției, dispozitivul de incubare este realizat parțial sau total din materiale plastice și cuprinde o cameră interioară (A) și o cameră exterioară (B) care nu comunică între ele. Camera (A), în care se cultivă celulele, este înconjurată de cea de-a doua (B) care este umplută cu gaz (de ex., aer) sau diferite lichide (de ex., apă) încălzite de incubatorul convențional setat de regulă la o temperatură de 37°C. Lichidul sau gazul termoizolant este introdus în camera exterioară (B) printr-un orificiu practicat în peretele camerei exterioare, fiind închis printr-un dop.

[11]. Pentru reîmprospătarea gazului din recipientul termostatat, camera interioară (A) a acestuia poate fi conectată prin intermediul unui tub de plastic sau metal fie la o pompă de aer, care circulă gazul direct din incinta incubatorului prin cameră (A), fie de la un modul special de gaze care poate furniza pe diferite canale gaze cu diferite compoziții și debite particularizate pentru fiecare recipient. În acest mod, atmosfera culturii celulare este permanent reînnoită. Gazul părăsește incinta prin tubul de evacuare. Tuburile de admisie și evacuare ale gazului trec prin camera (B) și ajung în camera (A). Circulația gazului poate fi efectuată și prin capacul recipientului.

[12]. Pentru a bloca accesul bacteriilor în interiorul camerei interioare (A), tuburile de admisie și evacuare ale gazului pot fi prevăzute în interior cu filtre de aer având dimensiuni diferite ale porilor (de exemplu, pori de 220 nm) pentru a preveni contaminarea. Dacă circulația gazului este făcută prin capacul dispozitivului, capacul însuși poate fi prevăzut cu filtre de aer. În acest caz, filtrele din interiorul tuburilor de admisie/evacuare nu mai sunt necesare.

[13]. Pentru observații de microscopie optică ale culturii celulare, dispozitivul este scos din incubator și plasat pe măsura unui microscop optic, putând însă rămâne conectat permanent la sursa de gaz a incubatorului prin intermediul conectorilor de gaze flexibili.

[14]. Dacă fluxul de gaze care circulă prin interiorul recipientului este furnizat de un modul special pentru gaze, atunci acesta trebuie conectat la un modul de umidificare a gazului bazat, de exemplu, pe barbotarea apei încălzite chiar în incinta incubatorului.

[15]. În cazul în care procesul de creștere a culturilor celulare necesită doar o atmosferă normală, de exemplu pentru experimente care utilizează soluții tampon de tip HEPES, nu mai este necesară îmbogățirea cu CO<sub>2</sub> a atmosferei gazoase, putând fi utilizat aer filtrat dintr-un tub cu aer comprimat conectat la modulul de gaze pentru înprospătarea continuă a atmosferei din interiorul recipientului (camera A).

[16]. În cazul în care recipientul cu celule este ținut în afara incubatorului o perioadă de timp mai extinsă, având ca rezultat o scădere a temperaturii lichidului termoizolant sub 34-35°C, atunci, înainte de reintroducerea recipientului în incubator, lichidul termoizolant poate fi schimbat în hota cu flux laminar cu unul nou, încălzit în prealabil la 37-38 °C. Aceasta pentru a permite o readucere cât mai rapidă a temperaturii mediului de cultură celular în parametri optimi.

#### **Exemple de realizare a invenției**

**Exemplul 1.** Evaluarea modificării temperaturii în recipiente termostatate plasate pe masa unui microscop în afara incubatorului de celule

[17]. Pentru experimente, în camera interioară A a recipientelor de cultură s-au introdus câte 7 ml de mediu de cultură Dulbeco complet. Acest tip de mediu este utilizat în mod uzual pentru creșterea culturilor celulare. Doua dintre recipientele prevăzute cu pereți dubli au fost termostatate fie cu manta de apă, fie cu aer și au fost închise cu un capac prevăzut cu un filtru de aer (220 nm). Recipientele termostatate au fost prevăzute și cu orificii de admisie și respectiv de evacuare a gazului ( $\text{CO}_2$ ) care însă nu au fost active pentru acest tip de experimente. Pentru evaluări comparative, ca element de control/martor a fost utilizat un recipient comercial netermostatat.

[18]. Temperatura din mediul de cultura a fost măsurată cu ajutorul unui termometru optic multicanal (Optocon, Germany), fiind înregistrată automat, continuu, cu ajutorul unui program de calculator asociat termometrului. Sondele flexibile ale termometrului au fost imersate în mediul de cultura printr-un orificiu îngust practicat separat în căpăcele celor trei recipiente.

[19]. Recipientele au fost pastrate în incubator până când temperatura mediului de cultură a atins  $37^\circ\text{C}$ , apoi au fost transferate pe măsura metalică a unui microscop optic inversat (EVOS FL), măsurând continuu modificările de temperatură ale mediului de cultură celular aflat în cele trei recipiente.

[20]. După cum se observă în fig. 8, după 5 minute de la scoaterea recipientelor din incubator, temperatura începe să scadă diferit. Astfel, în recipientul termostatat cu apă, după 5 minute temperatura a scăzut doar cu  $0,7^\circ\text{C}$ , o scădere practic nesemnificativă pentru a afecta creșterea celulară, în cel termostatat cu aer a scăzut cu  $1,3^\circ\text{C}$ , iar în cel netermostatat, comercial, temperatura a scăzut cu  $5,3^\circ\text{C}$ , o variație care poate afecta negativ creșterea celulară. Față de temperatura din laborator de  $26,6^\circ\text{C}$ , scăderile procentuale au fost de 6,7% (în recipientul termostatat cu apă), 12,5% (în recipientul termostatat cu aer) și 51% (în recipientul netermostatat, comercial).

[21]. După 7 minute, temperatura în recipientul termostatat cu apă a scăzut, în valori nominale, doar cu  $1^\circ\text{C}$ , celulele rămânând practic neafectate din punct de vedere al regimului termic. Comparativ, temperatura în recipientul comercial s-a modificat major, scăzând în 7 min cu  $6,5^\circ\text{C}$ , ajungând până la  $30,5^\circ\text{C}$ , o scădere care poate afecta celulele.

[22]. De regulă, observarea culturilor celulare la microscopul optic, în afara incubatorului, pentru verificare simplă sau preluare de imagini nu durează mai mult de 5-10 minute, perioada

de timp în care, atunci când se utilizează un astfel de recipient **termostatat**, temperatura nu scade mai jos de 35.5°C - o scădere aproape nesemnificativă.

[23]. După 30 de minute, temperatura din mediul de cultură al celor trei recipiente plasate pe masa microscopului optic inversat a scăzut la 34°C (recipient termostatat cu apă), 30.5°C (recipient termostatat cu aer) și 27°C (recipient netermostatat, comercial), reprezentând în valori procentuale scăderi de 19,2%, 62.5% și respectiv 96,2 %.

[24]. În concluzie, prin utilizarea unui recipient termostatat cu manta de apă, se pot face observații de microscopie optică ale celulelor pe perioade de timp mult mai lungi, care se pot întinde chiar și la o jumătate de oră. În plus, dacă recipientul termostatat, scos pe masa microscopului optic, este conectat la sursa de gaz din incubator prin intermediul conectorilor de gaz flexibili, atunci recipientul poate fi utilizat temporar inclusiv ca un mini-incubator care menține condițiile de creștere ale liniilor celulare în limite optime, inclusiv pentru o perioadă de observație mai lungă (de regulă, mai mică de o oră).

**Exemplul 2.** Evaluarea creșterii culturilor celulare în recipientele termostatate în atmosferă dinamică

[25]. Pentru experimente, un număr de  $2.7 \times 10^6$  fibroblaști (linie celulară de fibroblaști dermici umani, PromoCell Heidelberg, Germania) au fost însămânțați în cameră interioară a recipientului de cultură în 7 ml mediu de cultură Dulbeco complet. Recipientul, prevăzut cu pereți dubli și cu orificii de admisie și respectiv de evacuare a aerului îmbogățit cu 5 % CO<sub>2</sub>, a fost termostatat cu o manta de apă sau cu aer și a fost închis cu un capac. Gazul, circulat cu ajutorul unei pompe de aer plasată în incubator, a trecut lent prin filtrele de aer (cu pori de 220 nm) cu care au fost prevăzute tuburile de transport și a pătruns în camera interioară, îmbogățind treptat și continuu atmosfera. Pentru comparație, ca martor a fost utilizat un recipient comercial netermostatat și ventilat prin difuzie pasivă la nivelul capacului prevăzut cu filtru de aer de 220 nm.

[26]. După 24 de ore, creșterea celulară a fost evaluată calitativ sub microscop, în timp ce numărul celulelor și viabilitatea lor (via Albastru Trypan) au fost evaluate folosind un numărător automat de celule (TC20™ BioRad). Viabilitatea celulară a fost evaluată și prin testul MTT. Rezultatele au arătat că viabilitatea a fost aproape identică atât pentru celulele cultivate în recipientele termostatate ventilate dinamic cât și în recipientul de control, comercial. În schimb, numărul celulelor a fost în medie mai mare cu aproximativ 10 % în recipientele

ventilate dinamic comparativ cu numărul celulelor din recipientul comercial. Experimentele au fost repetate de trei ori.

### **Alte avantaje ale invenției față de nivelul actual al domeniului**

[27]. Deoarece camera interioară a recipientului poate fi inclusă într-un circuit închis sau cel puțin poate fi parcursă continuu de un flux de gaze unidirecțional filtrat, dispozitivul permite condiții de sterilitate superioare chiar și unui incubator convențional a cărui sterilitate are de suferit ori de câte ori ușa acestuia este deschisă pentru introducerea sau scoaterea recipientelor cu celule.

[28]. În cazul în care alimentarea cu curent a incubatorului este oprită accidental, datorită pereților dubli și a mantalei de gaz sau de apă, temperatura din interiorul recipientelor termostatare va scădea mult mai lent decât în cazul recipientilor cu pereti simpli, neterminatați, așa cum sunt cei comerciali actuali, riscul afectării majore a viabilității culturii celulare fiind astfel mult diminuat, cel puțin pe perioade de timp mai mici de o oră.

[29]. Dat fiind faptul că lumina poate afecta culturile celulare, de regulă, atunci când acestea sunt scoase din incubator, lichidul temoizolant poate fi colorat cu diferite cerneluri/vopseluri pentru a reduce expunerea celulelor la lumină sau, dimpotrivă, pentru a cultiva celulele sub influența diferitelor culori ale spectrului vizibil în interiorul incubatorului.

[30]. Dispozitivul elimină necesitatea folosirii suprafețelor încălzite pentru hota de lucru contribuind la economisirea de resurse energetice, spațiu și reducerea costurilor.

### **Aplicabilitate industrială**

[31]. Atât recipientul termostatat simplu, cât și cel termostatat prevăzut cu ventilație dinamică, conform prezentei invenții prezintă următoarele avantaje industriale.

[32]. Datorită producției cu costuri foarte scăzute, a procesului de fabricare nesofisticat și a structurii pe bază de materiale plastice, recipientele sunt foarte susceptibile pentru producția în masă, inclusiv prin utilizarea echipamentului actual pentru fabricarea recipientelor de plastic pentru culturi celulare.

[33]. Prin furnizarea de tuburi de acces suplimentare către camera interioară care conține cultura celulară, mediul de cultură însuși poate fi reîmprospătat, iar medicamentele sau alte substanțe organice și anorganice de interes pot fi introduse simplu peste cultura celulară. În plus, în



camera interioară pot fi introduși diferiți senzori și sonde prin modificări mecanice realizate la nivel industrial.

## FIGURI

**Figura 1.** Vedere în perspectivă a recipientului termostatat de incubare pentru culturi celulare. Recipientul este prevăzut cu un orificiu practicat în peretele superior al camerei exterioare (B) pentru introducerea de materiale termoizolante (de ex., diferite lichide sau gaze).

**Figura 2.** Vedere în perspectivă a recipientului termostatat de incubare pentru culturi celulare. Orificiul practicat în peretele camerei exterioare (B) este prevăzut cu un dop care poate fi detașabil.

**Figura 3.** Secțiune transversală a recipientului termostatat pentru culturi de celule realizată prin camere, orificiul pentru introducerea de materiale termoizolante, dop și capac.

**Figura 4.** Secțiune transversală a recipientului termostatat pentru culturi de celule realizată prin camere și capac.

**Figura 5.** Secțiune longitudinală prin camera B a recipientului prevăzut cu tuburi de admisie și evacuare a gazului care reîmprospătează atmosfera camerei interioare (A).

**Figura 6.** Secțiune longitudinală prin camere și tuburi de admisie și respectiv de evacuare a gazului care reîmprospătează atmosfera camerei interioare (A).

**Figura 7.** Recipiente termostatate plasate în incubatorul pentru culturi celulare. Recipientul de pe raftul inferior este conectat la un modul de gaze pentru reîmprospătarea continuă sau intermitentă a atmosferei gazoase din camera interioară în care se află cultura celulară.

**Figura 8.** Curbele de răcire ale mediilor de cultură în care s-au aflat culturile de celule în funcție de tipul recipientelor și a agenților de termostatare folosiți (apă sau aer).

## REVENDICĂRI

1. Recipient cu pereți multipli (cel puțin dubli) pentru creșterea de culturi celulare cuprinzând o cameră interioară (A), înconjurată de o cameră exterioară (B), ambele realizate parțial sau total din materiale plastice, care nu comunică una cu cealaltă. Camera interioară este prevăzută cu o deschidere pentru introducerea culturilor celulare și a mediului de cultură.
2. Recipient pentru creșterea de culturi celulare, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** permite realizarea unei izolații termice bazată pe o manta de lichid transparent sau colorat (de ex., apă), gaz (de ex., aer) sau gaz și aer astfel încât, după scoaterea din incubator a recipientului termostatat, mediul de cultură celular al acestuia să prezinte doar scăderi minimale de temperatură pentru perioade extinse de timp (de regulă însă, mai mici de o oră).
3. Recipient pentru creșterea de culturi celulare, conform revendicării 1 și 2, **caracterizat prin aceea că** se poate conecta la o pompă de aer plasată în incinta incubatorului prin intermediul conectorilor pentru gaz ai camerelor A și B sau prin conectori practicați direct în capac, permițând reîmprospătarea continuă sau intermitentă a atmosferei gazoase din interiorul recipientului.
4. Recipient pentru creșterea de culturi celulare, conform revendicării 1 și 2, **caracterizat prin aceea că** se poate conecta la un modul uni- sau multi-canal de alimentare cu gaz umidificat și încălzit care permite furnizarea continuă sau intermitentă de gaze în mod particularizat și controlat către incinta interioară a recipientului termostatat prin intermediul conectorilor pentru gaz ai camerelor A și B sau prin conectori practicați direct în capac, în scopul reîmprospătării atmosferei gazoase din interiorul camerei A.
5. Dispozitiv de incubare, conform revendicărilor 1-4, **caracterizat prin aceea că** permite înregistrări intermitente sau continue ale culturilor celulare aflate în câmpul de observație al unui microscop optic inversat pentru perioade de timp de regulă mai mici de o oră.

Figura 1

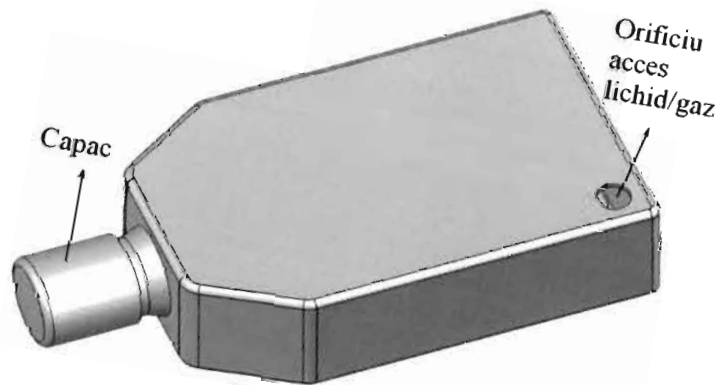


Figura 2

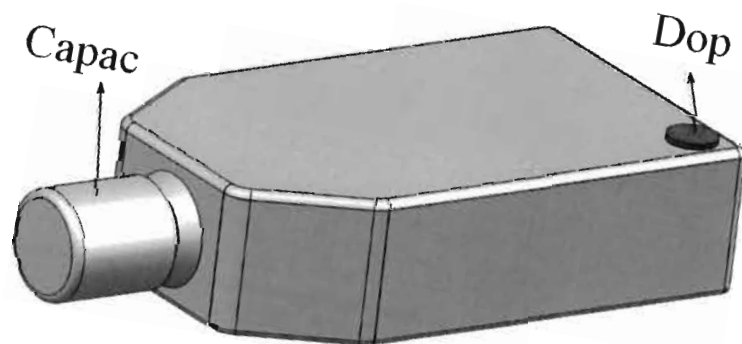


Figura 3

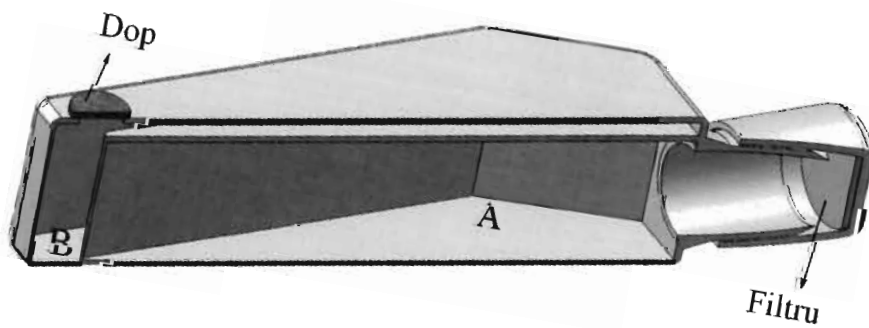


Figura 4

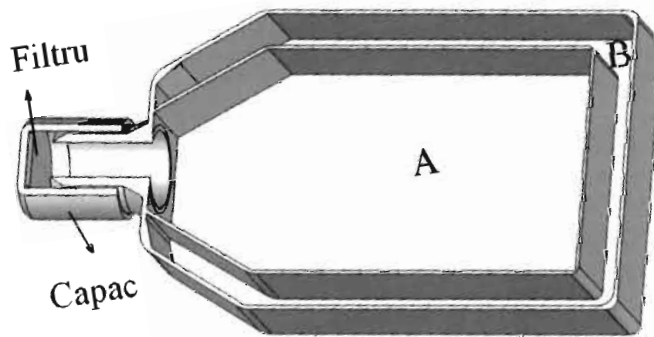


Figura 5

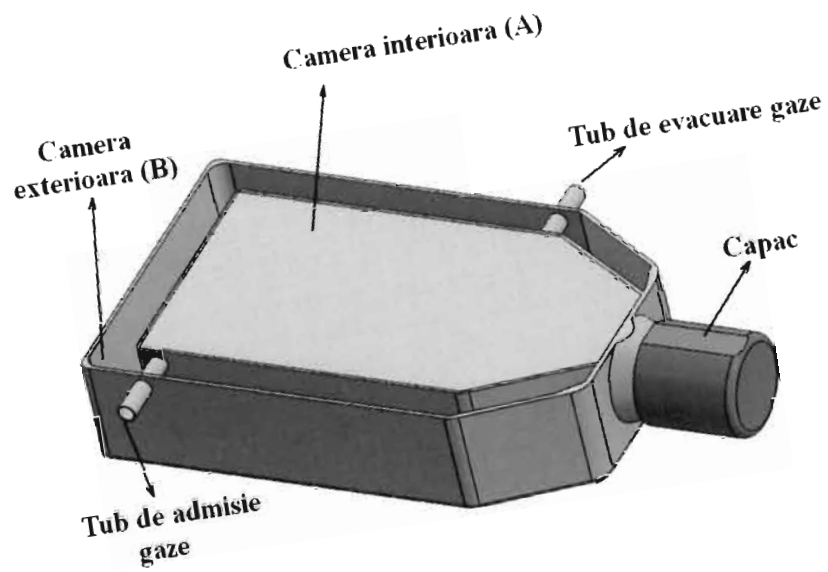


Figura 6

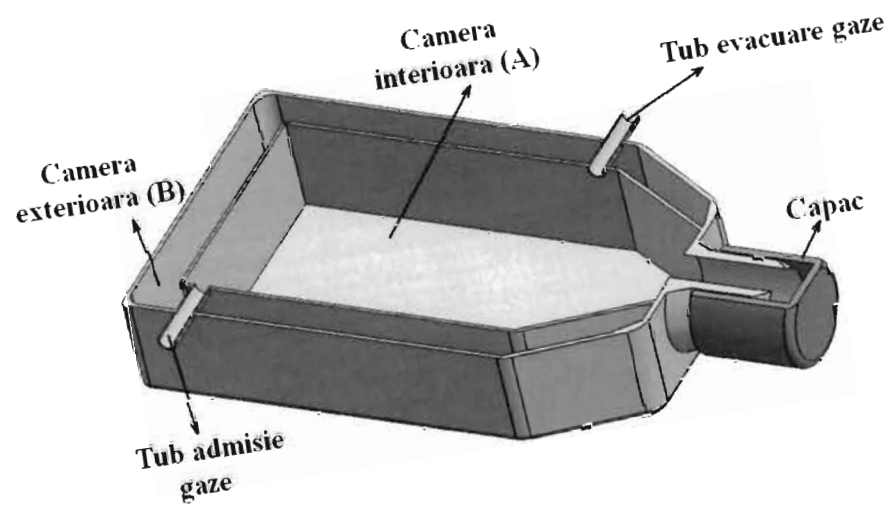


Figura 7

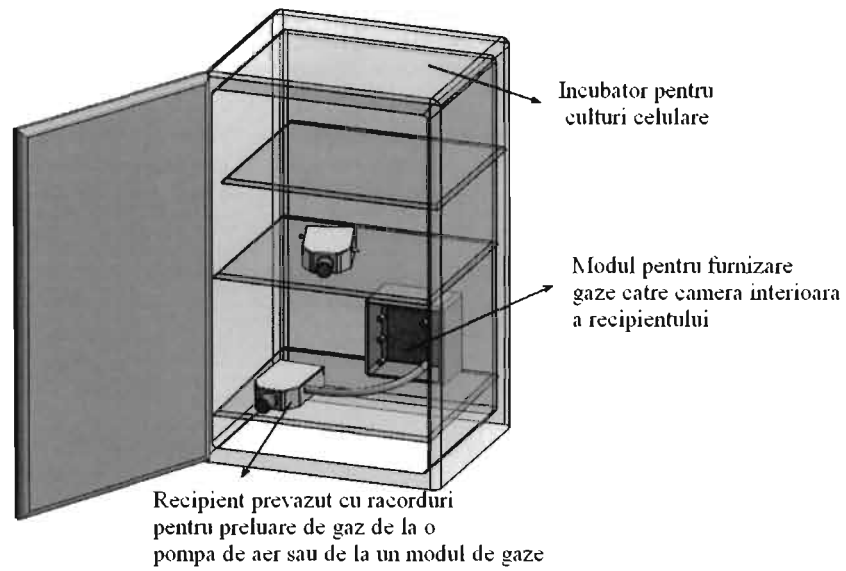


Figura 8

