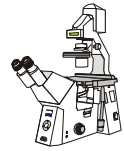




Axiovert

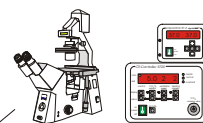
Manual



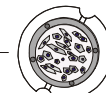
Cell Culture + Microscopy



Heating Insert P



Stabilization of the "in vitro environment"
for cell and tissue culture



Die Kenntnis dieses Manuals ist notwendig zum Betrieb des Gerätes. Machen sie sich daher bitte mit dem Inhalt dieses Manuals vertraut und achten sie besonders auf Hinweise, die der sicheren Bedienung des Gerätes dienen.

Änderungen, die dem technischen Fortschritt dienen, bleiben vorbehalten. Das Manual unterliegt keinem "Update-Service".

Solange keine ausdrückliche Genehmigung vorliegt, ist die Weitergabe und Vervielfältigung dieses Dokuments und die Benutzung und Verbreitung seiner Inhalte nicht gestattet. Verstöße verpflichten zur Zahlung von Entschädigung.

Alle Rechte vorbehalten, die im Falle der Gewährung von Patenten und Gebrauchsmustern entstehen.

Alle in diesem Handbuch erwähnten Produktnamen können Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Eigentümer sein und sind nicht überall ausdrücklich durch "TM" und "®" gekennzeichnet.

© 2001

Knowledge of this manual is required for the operation of the device. Would you therefore please make yourself familiar with the contents of this manual and pay special attention to hints concerning the safe operation of the device.

Design and specifications are subject to change without notice. The manual is not covered by an update service.

Unless expressly authorized, forwarding and duplication of this document, and the utilization and communication of its contents are not permitted. Violations will entail an obligation to pay compensation.

All rights reserved in the event of granting of patents or registration of a utility model.

All product names mentioned herein may be the trademarks or registered trademarks of their respective companies and "TM" and "®" are not mentioned in each case in this manual.

© 2001

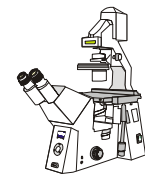


Heizeinsatz P

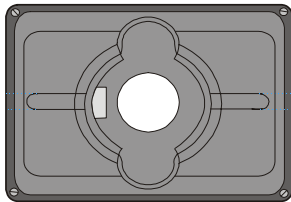
411861-9901-000

für Scanningtisch
Mechanischer Kreuztisch

451740-0000-000
451339-0000-000



Cell Culture + Microscopy



Aufsicht



Seitenansicht

Kurzbeschreibung

- Heizbarer Einsatz (Aluminium) für Scanning- und Kreuztisch mit hoher Temperaturkonstanz und Wärmeleitfähigkeit. Die Heizung erfolgt durch Transistorverlustleistung ohne störende Schaltimpulse.
- Stabile Konstruktion, daher insbesondere auch für Laserscanningmikroskopie (LSM) geeignet.
- Die ovale Beobachtungsöffnung hat einen Durchmesser von 32 x 30 mm und kann durch ein Deckglas verschlossen werden. Eine Acrylglasabdeckung mit einem zentralen Glaseinsatz (DIC) wird mitgeliefert.
- Zwei Öffnungen an der linken und rechten Seite ermöglichen Perfusion etc. Die Niveaueingleich im Scanningtisch kann durch vier Schrauben erfolgen.
- Für die Zellkultivierung können das POC-R Zellkultivierungssystem, Petrischalen ("60"er und "35"er), Chamber-Slides (Falcon) und die LabTec-Chamber (Nunc) verwendet werden. Ein Adapter mit Inbus-schrauben ermöglicht die Anpassung an verschiedene "35"er Petrischalen.
- Basiseinsatz für Inkubationssystem (°C + CO₂) an inversen Mikroskopen in Kombination mit Inkubator S und CTI-Controller.

Technische Daten

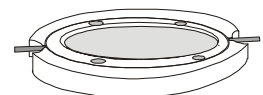
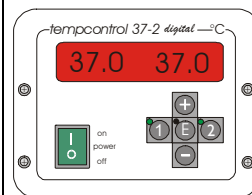
Material	Aluminium, schwarz eloxiert
Betriebsspannung	24 V Schutzkleinspannung
Leistungsaufnahme	ca. 8 VA bei 37°C
Regelbereich	3°C über RT bis 60°C
Beobachtungsöffnung	32 x 30 mm
Abmessungen (BxHxT)	160 x 110 x 18 (+4) (in mm)
Gewicht (kg)	0.8

Zubehör (inklusive)

Acrylglasdeckel mit Glaseinsatz	# 0426.102
Roter Einsatz	# 0426.103
Ring-Adapter für Petrischalen "35"er	# 0426.104
Inbus-Schlüssel	# 0311.001
Deckglas (Ø 35 mm), 25 Stck.	# 0426.105
Schaumstoffhülsen, 4 Stck.	# 0420.012-4

Tempcontrol 37-2
digital
000000-1052-320

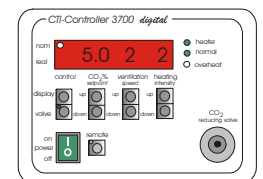
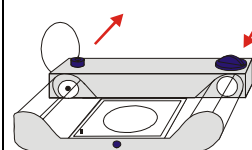
POC-R
000000-1116-079



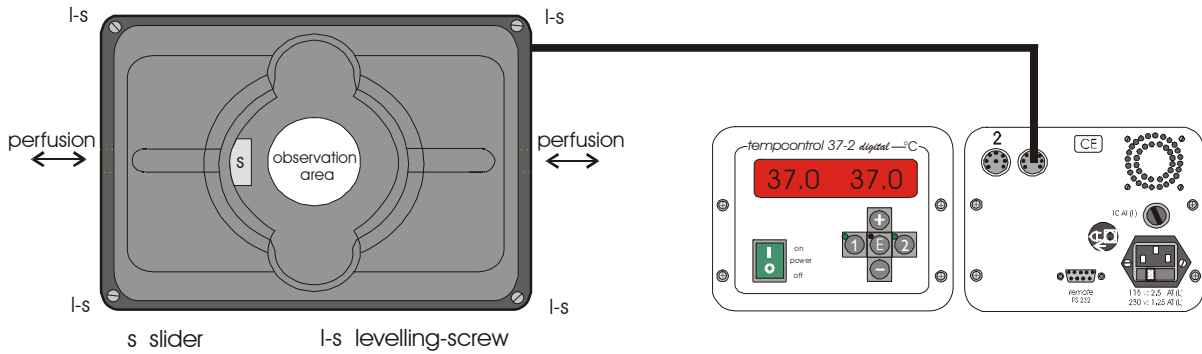
oder
Tempcontrol 37-2
analog
0502.000

Inkubator S
411860-9902-000

CTI-Controller
411856-0000-000



Montage:



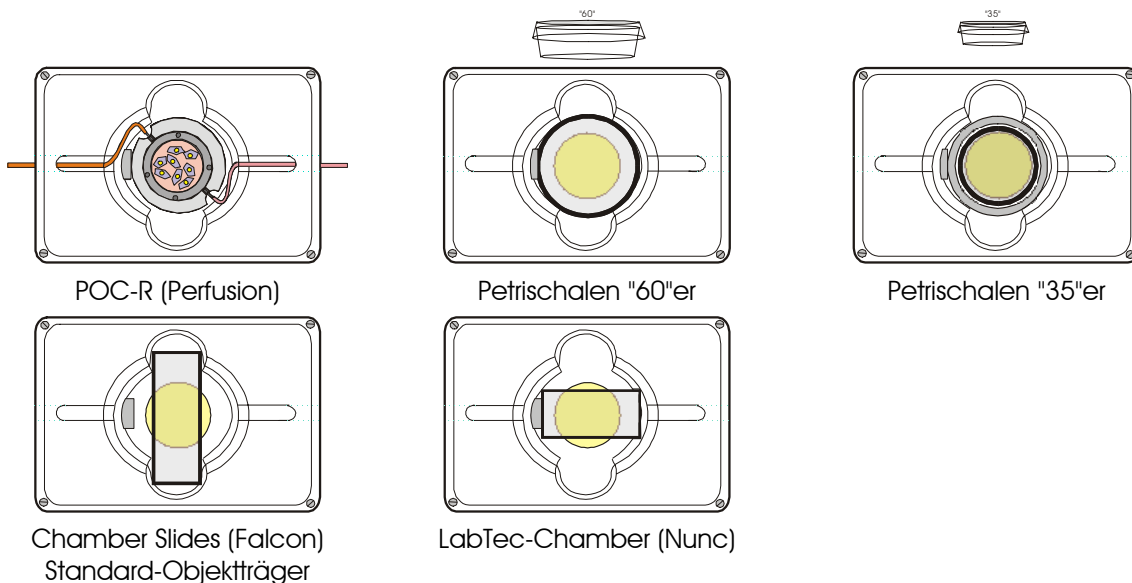
- Heizeinsatz P in den Scanningtisch bzw. mechanischen Kreuztisch einsetzen. Die Ausrichtung zur Objektivachse kann durch die vier Schrauben "l-s" erfolgen.
- 8-poligen Stecker in einen freien Kanal des Tempcontrol 37-2 *digital* (# 000000-1052-320) bzw. Tempcontrol 37-2 analog (# 502.000) stecken und durch Rechtsdrehung sichern.

Betrieb:

- Gewünschte Temperatur am Tempcontrol einstellen und Heizung einschalten (siehe Anleitung Tempcontrol).
- Die Beobachtungsöffnung kann bei Objektiven mit großem Arbeitsabstand zur Verringerung von Wärmeverlusten mit einem Deckglas verschlossen werden.
- In Kombination mit dem Inkubator S sollte zur Aufrechterhaltung der Luftzusammensetzung die Beobachtungsöffnung bei nicht-eingesetzter Zellkultivierungseinheit durch den roten Einsatz verschlossen werden.

Einsatz verschiedener Zellkultivierungssysteme im Heizeinsatz P (siehe auch Seite 5):

- Das POC-R Zellkultivierungssystem kann direkt mit Hilfe der Federklemmung "S" befestigt werden. Bei einer Kultivierung mit Perfusion lassen sich die Perfusionsschläuche durch zwei seitliche Öffnungen führen. Diese Öffnungen sind normalerweise durch Inbusschrauben verschlossen.
- Petrischalen "60"er (Ø 52 - 58 mm) können direkt mit Hilfe der Federklemmung befestigt werden. "35"er Petrischalen (Ø 35 - 38 mm) werden im Adapter (Metall, Ø 58 mm) durch vier Inbusschrauben fixiert und können dann eingesetzt werden.
- Chamber Slides (Falcon) und normale Objektträger (75 x 25 mm) können auf die Bodenplatte des Heizeinsatzes P gelegt werden. Eine Fixierung ist nicht möglich.
- Die LabTec-Chamber (57 x 25 mm) kann mit Hilfe der Federklemmung befestigt werden.



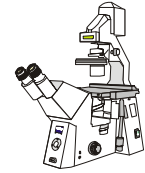


Heating Insert P

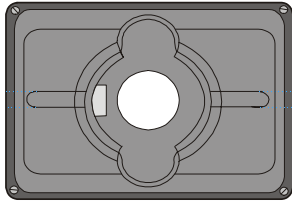
for Scanning Stage
Mechanical Stage

411861-9901-000

451740-0000-000
451339-0000-000



Cell Culture + Microscopy



top view



side view

Description

- Heatable Insert (aluminum) for Scanning Stage and Mechanical Stage with a high constancy of temperature and thermal conductivity. The heating is achieved by transistor stray power without disturbing switching impulses.
- Solid construction, therefore especially suited for laser scanning microscopy (LSM).
- The oval observation area has a diameter of 32 x 30 mm and can be closed with a coverslip. An acrylic glass cover with a central glass insert (DIC) is supplied.
- Two openings on the left and right side allow perfusion etc. The level in the scanning stage can be adjusted by four leveling screws.
- The POC-R cell cultivation system, Petri dishes ("35" and "60") Chamber-Slides (Falcon) and the LabTec-Chamber (Nunc) can be used for cell cultivation. An adapter ring with Allen screws accommodates different "35" Petri dishes.
- Basic insert for incubation system (°C + CO₂) on inverted microscopes in combination with Incubator S and CTI-Controller.

Specifications

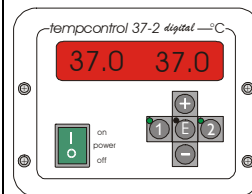
Material	Aluminum, black anodized
DC operating voltage	24 V protective low voltage
Rated power	approx. 8 VA at 37°C
Control range	3°C above ambient; up to 60°C
Observation area	Ø 32 x 30 mm
Dimensions (WxHxD)	160 x 110 x 18 (+4) (in mm)
Weight (kg)	0.8

Accessories (included)

Cover with glass insert	# 0426.102
Red insert	# 0426.103
Ring adapter for "35" Petri dishes	# 0426.104
Allen key	# 0311.001
Cover glass (Ø 35 mm), 25 pcs	# 0426.105
Plastic foam cylinder, 4 pcs	# 0420.012-4

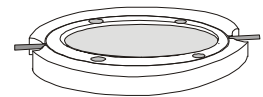
Tempcontrol 37-2 digital

000000-1052-320



POC-R

000000-1116-079

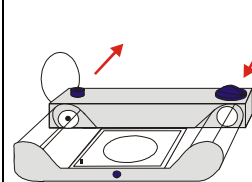


or Tempcontrol 37-2 analog

0502.000

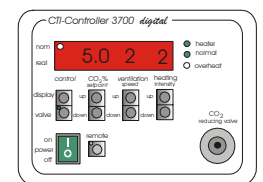
Inkubator S

411860-9902-000

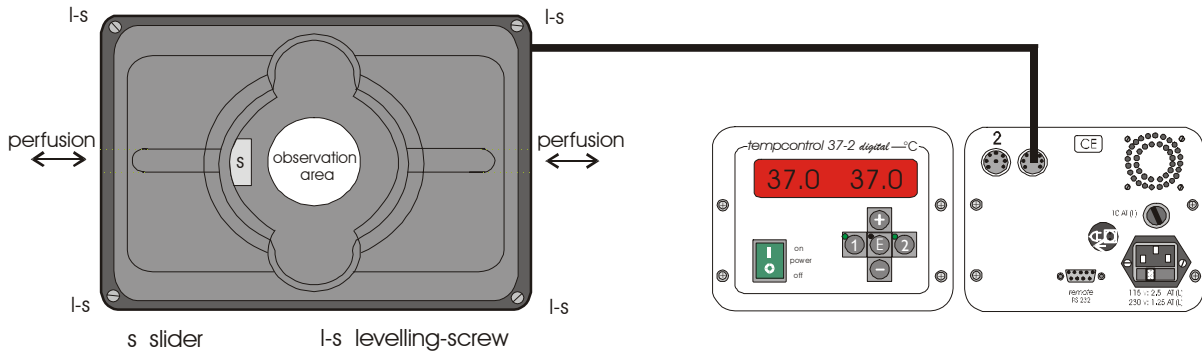


CTI-Controller

411856-0000-000



Assembly:



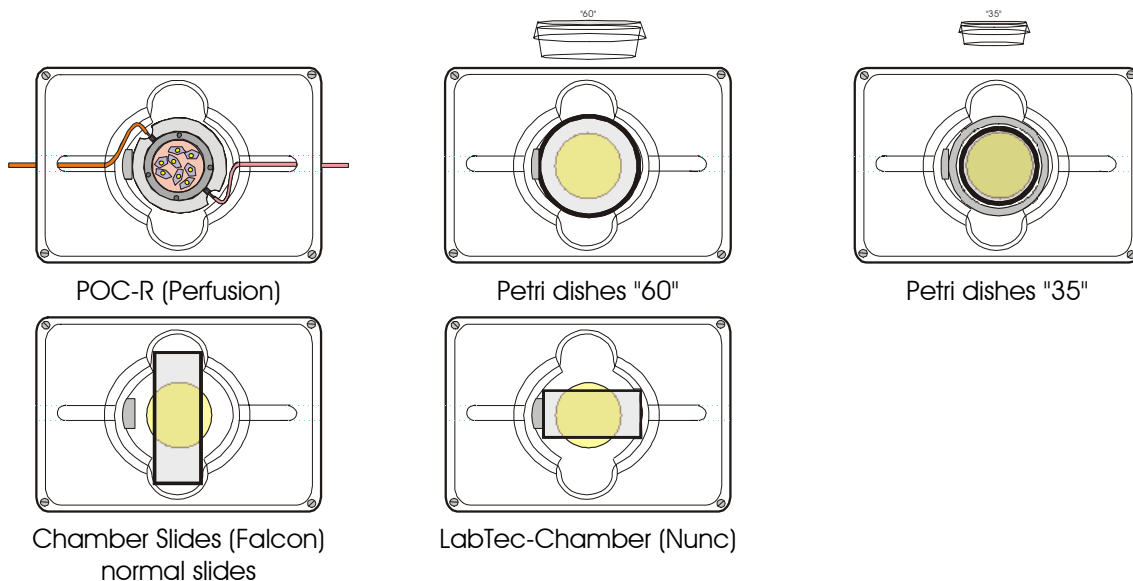
- Put the Heating Insert P into Scanning Stage or Mechanical Stage. The levelling can be adjusted to the optical axis with the four screws "l-s".
- Plug the 8-pin connector into the socket of a free channel of the Tempcontrol 37-2 digital (# 000000-1052-320) or Tempcontrol 37-2 analog (# 502.000) and secure it by clockwise rotation.

Operation:

- Set the desired temperature value on the Tempcontrol unit and switch-on the heating (see manual Tempcontrol).
- When using long distance objectives the observation window can be closed with a cover glass to reduce loss of heat.
- When combined with the Incubator S the observation window should be closed with the red insert (# 0426.103) if no cell cultivation chamber is used.

Use of different cell cultivation systems in the Heating Insert P (see also page 5):

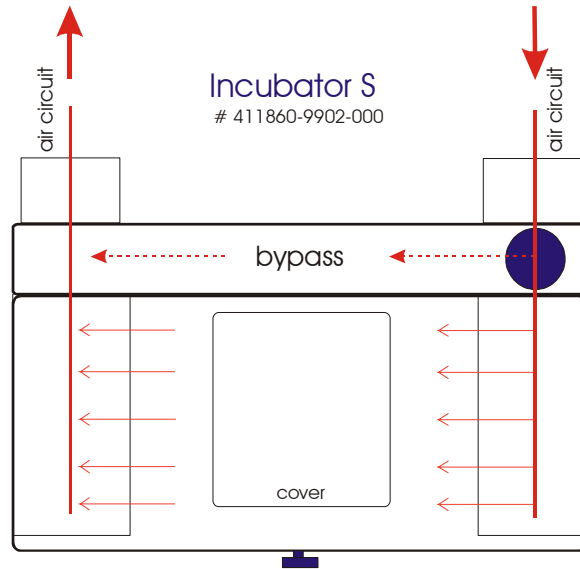
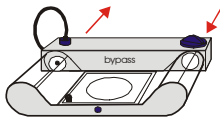
- The POC-R cell cultivation system can be inserted directly by pressing against the spring clip "S". Using perfusion the tubes can be routed through the two lateral openings. Normally these openings are closed with Allen screws.
- Petri dishes "60" (Ø 52 - 58 mm) can directly be fixed with the spring clip. "35" Petri dishes (Ø 35 - 38 mm) are mounted into the Ring adapter for "35" Petri dishes (metal, Ø 58 mm, # 0426.104) and secured with the four Allen screws before inserting it into the Heating Insert P.
- Chamber Slides (Falcon) and normal slides (75 x 25 mm) can be placed directly onto the base plate of the Heating Insert P. A fixation is not possible.
- The LabTec-Chamber (57 x 25 mm) is inserted by pressing against the spring clip.



Perfusion of Cell Culture in the POC-R

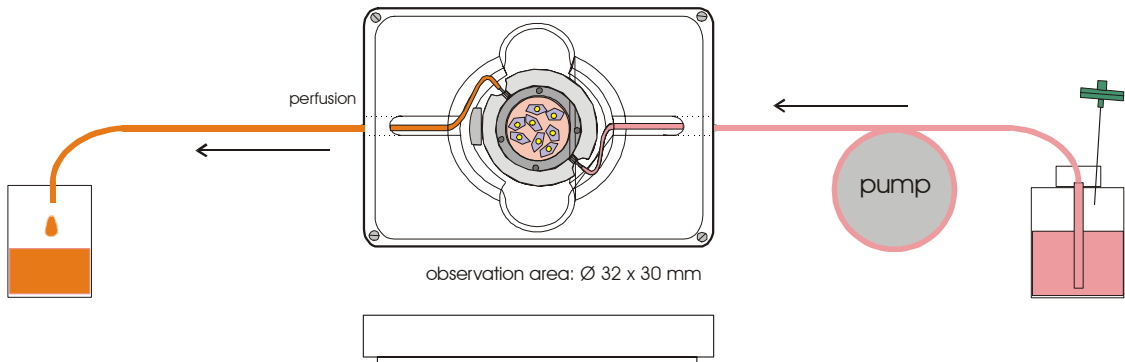
Regulation of °C and pH-value using the incubation system on the inverted microscope (Axiovert 100, 135, 200) with scanning stage or mechanical stage

Components:
Incubator S, Heating Insert P,
CTI-Controller 3700,
Tempcontrol 37-2 *digital*



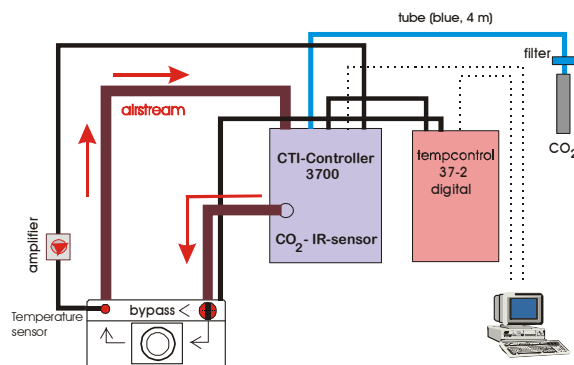
Special feature:
* Bypass System, in which the conditioned air stream may be diverted through a channel before the cover is removed.
* The LD-condenser 0.55 may be used.

POC-R, perfusion, observation area: 17 mm Ø



Heating Insert P

#411861-9901-000

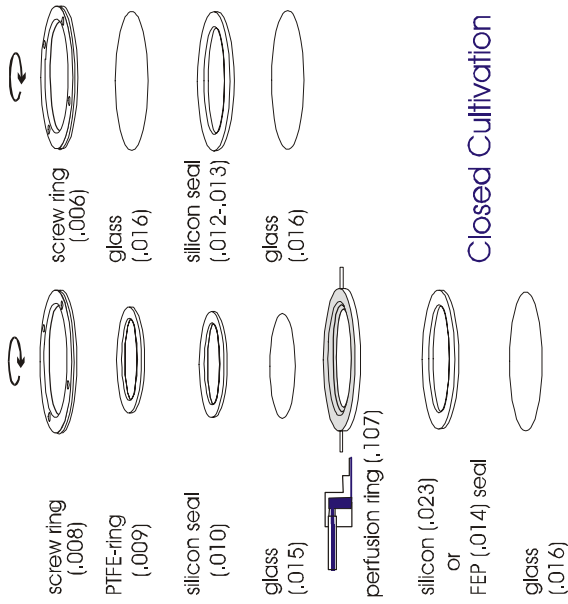


Incubator S + Heating Insert P
Scanning Stage or Mechanical Stage

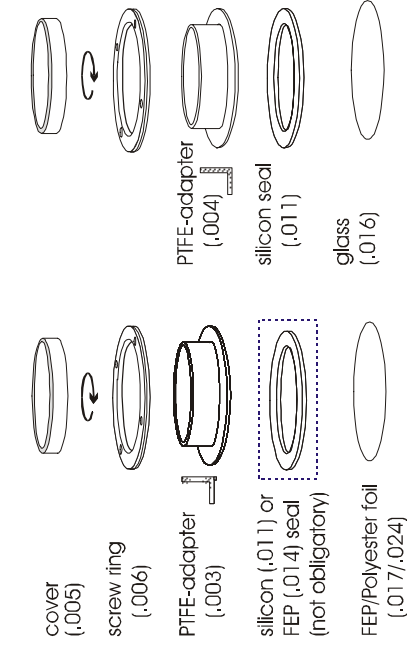
POC-R Cultivation System

(Cat. No. 000000-1116-079)

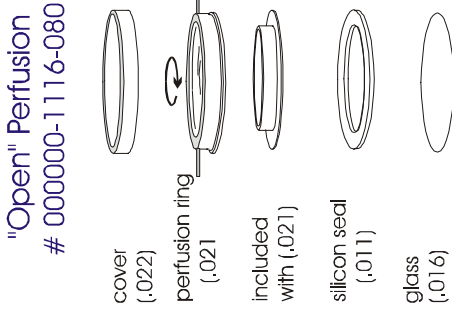
"Closed" Perfusion



Closed Cultivation



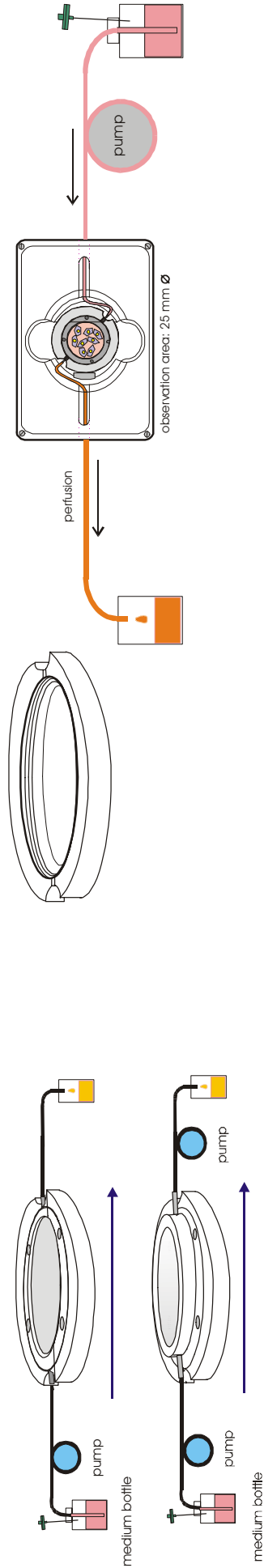
Open Cultivation



"Open" Perfusion

000000-1116-080

POC-R Chamber base plate (0727.101)



Foliendeckel (FoilCover) für POC-R Kammer ("offene Kultivierung") und Petrischalen

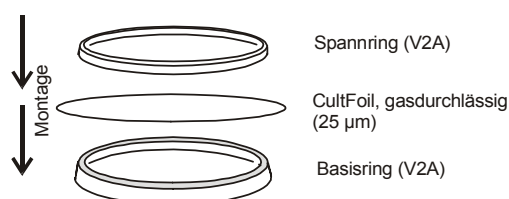
Reduktion der Verdunstungsrate von Wasser aus Nährmedien, Agar und Methylzellulose.

Petrischalen für die Zell- und Gewebekultur oder Mikrobiologie sind fast immer Einmal-Schalen aus Polystyrol mit einem Deckel, der lose und etwas erhaben auf dem Unterteil der Schale liegt. Dadurch ist ein Austausch der Gasphase zwischen Außenluft und Schalenatmosphäre gewährleistet.

Der *Nachteil* dieser Konstruktion ist eine relativ *hohe Verdunstungsrate*, so dass eine erhöhte Ionenkonzentration im Medium zu Zellschädigungen führen kann. Die meisten CO₂-Inkubatoren haben deshalb eine relative Feuchte von über 90% bei 37°C.

Zellen, die in Petrischalen in Inkubatoren mit geringer relativer Feuchte kultiviert werden (z.B. Mikroskop-Inkubator, Zeiss), sollten deshalb besser gegen Verdunstung des Wassers im Medium geschützt werden.

Die Verdunstungsrate in Petrischalen kann durch einen **Spezialdeckel** wesentlich reduziert werden. Der Deckel hat eine glasklare **Folie (CultFoil)**, die für Gase wie CO₂, O₂, N₂ *permeabel* ist; dagegen können Wassermoleküle fast nur bei höherem Druck (z.B. beim Autoklavieren) die Folie passieren. Die Folie liegt direkt auf dem Schalenrand. **Der Foliendeckel ist nicht für DIC geeignet !**



Der Deckel besteht aus 3 Teilen: Basisring, Folie und Spannring und lässt sich sehr leicht montieren. Die **Sterilisation erfolgt nach der Montage** im Autoklav (+121°C) oder durch Trockensterilisation bei ca. +165°C. Wenn die Folie nach Gebrauch keine Risse aufweist, kann sie weiterhin nach erneuter Sterilisation verwendet werden.

Vergleich der Verdunstungsrate: CO₂-Inkubator versus Mikroskop-Inkubator

Evaporation von Wasser aus "60"er Petrischalen (5 ml Hank's Puffer) ohne und mit FoilCover im Inkubationssystem am inversen Mikroskop im Vergleich zu Petrischalen im konventionellen CO₂-Inkubator:

	Normaldeckel	"FoilCover"	Relative Feuchte der Umgebungsluft
Mikroskop-Inkubator	40 µl/h	4 µl/h	20 % bei 37°C
CO ₂ -Inkubator	3 µl/h	—	95 % bei 37°C

Inkubationssystem am inversen Mikroskop: CTI-Controller 3700, Tempcontrol 37-2, Inkubator S, Heizeinsatz P

Die Meßwerte zeigen deutlich die Vorteile des Foliendeckels, wenn Zellkulturen in Petrischalen oder in der POC-R Kammer (offene Kultivierung) für Versuche am Mikroskop eingesetzt werden.

Den Foliendeckel gibt es in verschiedenen Ausführungen

Beschreibung	Bestell-Nr.
1 Deckel für POC-R Kammer (offene Kultivierung) bestehend aus Spannring und Basisring	000000-1116-081
1 Pack à 25 Stück CultFoil, 25 µm	000000-1116-082
1 Deckel für "35"er Petrischalen bestehend aus Spannring und Basisring	000000-1116-083
1 Pack à 25 Stück CultFoil, 25 µm	000000-1116-084
1 Deckel für "60"er Petrischalen bestehend aus Spannring und Basisring	000000-1116-085
1 Pack à 25 Stück CultFoil, 25 µm	000000-1116-086

FoilCover for POC-R Chamber ("open cultivation") and Petri dishes

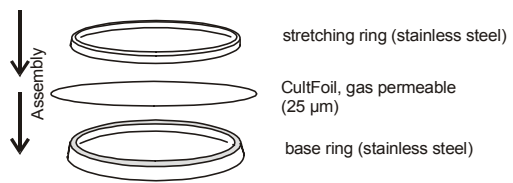
Reduction of evaporation of water out of nutrition media, agar and methylcellulose.

Petri dishes used for cell and tissue culture are generally disposable dishes (polystyrene) with a cover which rests loosely and slightly prone on the top of the dish. This guarantees the exchange of the gas phase between ambient air and dish atmosphere.

The *disadvantage* of this construction is a relatively *high rate of evaporation* leading to a higher concentration of ions in the medium and thus damage to cultivated cells. Therefore, most of the laboratory incubators have a relative humidity of more than 90% at 37°C.

Cells, which are cultivated in Petri dishes in incubators with a low relative humidity (e.g. microscope incubators, Zeiss), should be better protected against evaporation of water.

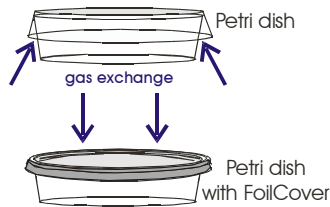
The rate of evaporation in Petri dishes can be reduced by a **special cover**. The cover has an optically clear foil (**CultFoil**), which is *permeable* for gasses like CO₂, O₂, N₂; in contrast, water molecules can pass this foil only at higher temperature and pressure (i.e. during autoclaving). The foil rests directly on the rim of the dish. **The FoilCover can not be used with DIC !**



The cover consists of: **base ring, foil and stretching ring** and can be assembled very easily. The **sterilization is carried out after assembly** in an autoclave (+121°C) or by dry heat at approx. +165°C. If after use the foil in the cover is not cracked, it can be used again after sterilization.

Comparison of the rate of evaporation: CO₂-incubator versus microscope incubator.

Evaporation of water from "60" Petri dishes (5 ml Hank's buffer) in the incubation system of an inverted microscope compared to Petri dishes in a conventional CO₂-incubator:



	normal cover	FoilCover	relative humidity of ambient air
microscope incubator	40 µl/h	4 µl/h	20% at 37°C
CO ₂ -incubator	3 µl/h		95% at 37°C

Incubation system on the inverse microscope: CTI-Controller 3700, Tempcontrol 37-2, Incubator S, Heating Insert P

The measured values demonstrate the distinct advantage of the FoilCover, especially if cultivated cells are investigated in Petri dishes or the POC-R Chamber ("open cultivation") under the microscope.

There are different types of FoilCover

Description	Order No.
1 Cover for POC-R Chamber ("open cultivation") consisting of stretching ring and base ring	000000-1116-081
1 package à 25 pcs CultFoil, 25 µm	000000-1116-082
1 Cover for 35 mm Petri dishes consisting of stretching ring and base ring	000000-1116-083
1 package à 25 pcs CultFoil, 25 µm	000000-1116-084
1 Cover for 60 mm Petri dishes consisting of stretching ring and base ring	000000-1116-085
1 package à 25 pcs CultFoil, 25 µm	000000-1116-086