



Introducción

El contenido de humedad del polen influye en sus propiedades eléctricas. Para el almacenamiento de polen a largo plazo, las células suelen estar deshidratadas. Las células de polen deshidratadas pueden mostrar características de impedancia similares a las células no viables. Por lo tanto, es importante rehidratar las células previamente deshidratadas para obtener una determinación precisa de la viabilidad celular utilizando el Citómetro de Flujo de Impedancia Ampha Z32.

El siguiente experimento puede utilizarse para determinar el tiempo óptimo de rehidratación de la muestra. Se rehidratarán tres muestras de polen deshidratado durante cinco duraciones diferentes y se medirá la viabilidad de cada una de ellas. Se recomienda la duración de la rehidratación que resulte en la máxima viabilidad medida.

Materiales

- Caja de rehidratación (Amphasys Starter Kit)
- 3 muestras de polen lo suficientemente grandes para 5 mediciones cada una
- Tampón de medición (buffer), chips y filtros
- Materiales para la preparación de la muestra
- Plantilla (Template) de medición

Esquema de alícuotas

| Muestra | Tiempo de Rehidratación (min) | | | | |
|---------|-------------------------------|----|----|----|----|
| A | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |
| B | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |
| C | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |

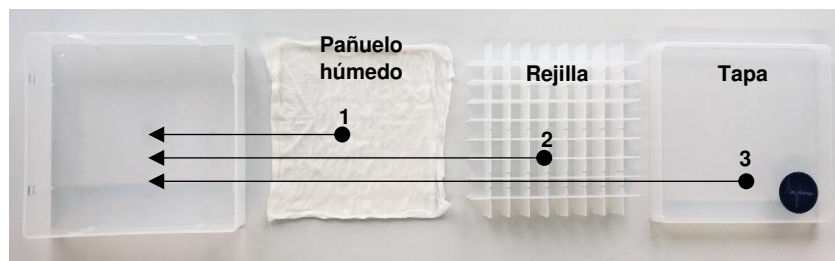
Protocolo para la optimización del tiempo de rehidratación

Nota: Éste protocolo sólo se aplica a muestras de polen deshidratado.

- Abra la caja de rehidratación y retire la rejilla de plástico.
- Coloque un pañuelo de papel húmedo en la parte inferior de la caja de rehidratación (paso 1).
- Vuelva a insertar la rejilla de plástico (paso 2) y cubra la caja de rehidratación (paso 3).

Montaje de la caja de rehidratación

- 1 Prepare la Caja de Rehidratación



- 2 Prepare el Instrumento

- Prepare su instrumento Ampha Z32 de acuerdo a las instrucciones descritas en la [Guía Rápida de Inicialización](#).

- 3 Homogeneizar el Polen

- Retire 3 muestras de polen deshidratado del almacenamiento.
- Agitar muy bien los tubos para dispersar homogéneamente las células.

- 4 Alícuotas

- Después de la homogeneización, preparar 5 alícuotas pequeñas de cada uno de los 3 tubos de muestra en tubos Eppendorf frescos de 1,5 ml. La cantidad de polen en cada tubo debe ser suficiente para una medición.
TIP: Las cantidades de polen recomendadas se encuentran en la [Guía Rápida de Preparación de la Muestra](#)
- Nombre los tubos con los números del 1 al 5 y el nombre de la muestra.
- Inmediatamente ponga los tubos con los números del 2 al 5 en la caja de rehidratación. Asegúrese de que los tubos estén abiertos.
- Cubre la caja de rehidratación.
- Registre la hora de inicio de la rehidratación (por ejemplo, 15:00 horas).

Caja de Rehidratación con alícuotas





-
- 5 Medición de Muestras Deshidratadas
- Preparar inmediatamente la muestra 3 con el número '1' (no rehidratada) de acuerdo con el protocolo de preparación de la muestra y medirla directamente.
- Sugerencia:** *En caso que usted todavía no cuente con un protocolo, de un vistazo a la [Guía Rápida Preparación de la Muestra](#) o contacte el Soporte de Amphasys..*
- Sugerencia:** *Asegúrese que usted sigue el mismo protocolo de preparación de la muestra para todas las muestras, p.e. utilice el mismo tiempo de duración de equilibrio que se muestra en la [Guía Rápida Preparación de la Muestra](#).*
-
- 6 Medición de Muestras Rehidratadas
- Después de 15 minutos de rehidratación, retirar las alícuotas con el número "2", preparar las muestras y medirlas.
 - Después de 30 minutos de rehidratación, retirar las alícuotas con el número '3', preparar las muestras y medirlas.
 - Después de 45 minutos de rehidratación, retirar las alícuotas con el número '4', preparar las muestras y medirlas.
 - Después de 60 minutos de rehidratación, retirar las alícuotas con el número '5', preparar las muestras y medirlas.
- Sugerencia:** *Asegúrese de cubrir la caja de rehidratación inmediatamente después de retirar las muestras*
-
- 7 Análisis de Datos
- Determinar la viabilidad celular mediante el gating.
 - Crear un reporte.csv.
- Sugerencia:** *Los consejos y trucos para el análisis de datos se muestran en la [Guía Rápida Análisis de Datos](#)*
- Trazar la viabilidad celular medida en función del tiempo de rehidratación, por ejemplo, utilizando Microsoft Excel o R.
 - El tiempo durante el cual se obtiene la máxima viabilidad medida es el tiempo de rehidratación recomendado.
- Sugerencia:** *En caso de que la viabilidad medida no aumente significativamente para tiempos de rehidratación más largos (por ejemplo, 80 % durante 15 minutos y 81 % durante 30 minutos), se puede seleccionar el tiempo de rehidratación más corto como el óptimo.*
-