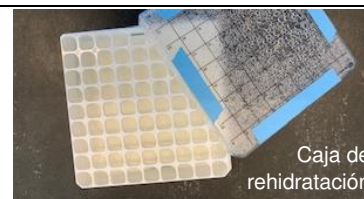


Preparación de la Muestra

- 1 Preparación del Buffer
- Sacar la botella de buffer fuera del refrigerador. Controle la calidad del buffer. Debe estar libre de partículas y completamente transparente.
 - Preparar una alícuota de 50 ml buffer
 - Poner la botella del buffer de regreso en el refrigerador.
 - Dejar que la alícuota se equilibre a temperatura ambiente
- SUGERENCIA:** La lista de recomendación de los buffers se halla en www.amphasys.com/download y contiene los buffers recomendados por especie
- SUGERENCIA:** Para polen hidrofóbico, agregue a su alícuota buffer Tween20 (concentración final 0.05 %) para facilitar la suspensión

- 2 Recolección del Polen
- | POLEN PURO | ANTERAS | FLORES COMPLETAS |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none">• Añadir la cantidad de polen de una medición en un tubo Eppendorf de 1,5 ml.• Cantidad recomendada: | <ul style="list-style-type: none">• Añadir las anteras en un tubo Eppendorf de 1.5 ml• Número de anteras:
Trigo 3, Pimiento 3, Papa 1, Brassicas 6, Pepino 3, Melón 3, Sandía 3 | <ul style="list-style-type: none">• Añadir las flores en un tubo Eppendorf de 1.5 ml• Cantidad recomendada:
Hinojo: 1 sombrilla
Zanahoria: 1 sombrilla |
- 
- NOTA:** Una alta concentración de polen conlleva a un alto riesgo de bloqueo del chip y una inexactitud de los datos.

- 3 Rehidratación (de ser necesario)
- Si el material de la muestra se encuentra deshidratado, rehidratar por 30 min. Colocar el tubo Eppendorf abierto con la muestra dentro, en una caja de rehidratación y cierre la caja.
- SUGERENCIA:** La [Guía Rápida Optimización de la Rehidratación del Polen](#) muestra cómo determinar el tiempo óptimo de rehidratación



- 4 Buffer
- SUGERENCIA:** Para las anteras: Si el polen no puede ser liberado de las anteras por agitación, córtelos con un bisturí antes de añadir el buffer o sino apriételos de modo delicado con pinzas dentro del buffer (paso 5)
- Añadir 1 ml de buffer a la muestra

- 5 Extracción y Suspensión del polen
- Suspender el polen, con pequeños golpecitos con los dedos o arrastrar el Eppendorf sobre una gradilla de manera horizontal (ver imagen)
- SUGERENCIA:** Para las anteras: Si el polen no pueda ser liberado agitando, utilice las pinzas para apretar delicadamente las anteras.



- 6 Filtración
- Utilice el tipo de filtro recomendado (ver la lista de **Instrucciones del Análisis de Polen de Amphasys** en www.amphasys.com/downloads). Los filtros deben estar limpios (enjuagarlos con agua) y dejarlos secar a temperatura ambiente.

- 7 Dilución
- Chip F: Añadir 1 ml más de buffer a la muestra
 - Chip D: Añadir 1 ml más de buffer a la muestra
 - Chip E: Añadir 2 ml más de buffer a la muestra

- 8 Estabilización
- Dejar que el polen se equilibre por 2-3 minutos en el buffer

GUÍA RÁPIDA: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS DE POLEN



Excepciones: polen sensible, tipo trigo, brassicas, alcachofa. Estas muestras deben ser medidas inmediatamente.

SUGERENCIA: *La estabilidad de las células en el buffer pueden ser verificado utilizando los experimentos sugeridos en la [Guía Rápida Estabilidad de las Células de Polen](#), página 2.*

9 Mezclado

- Lentamente, invierta el tubo FACS que contiene la muestra para distribuir el polen sedimentado e inmediatamente empiece a medir.

SUGERENCIA: *Selle el tubo FACS con Parafilm antes de invertir*
