



订阅本刊

# 按研究样品

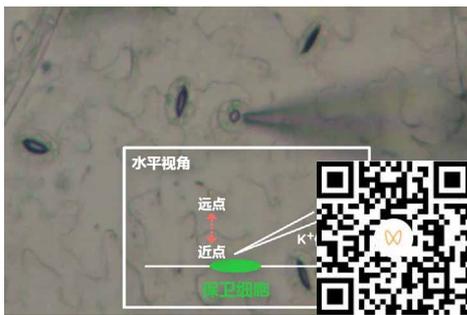
## 保卫细胞

### 一、摘要

- 1、用于定量检测气孔运动过程中，保卫细胞跨膜  $Ca^{2+}$  信号，验证 CNGC、OSCA 等功能
- 2、用于定量检测气孔运动过程中，保卫细胞 pH 变化过程，即  $H^+$  跨膜转运速率，验证 AHA、OSA、PMA 等功能
- 3、用于定量检测气孔运动过程中，参与保卫细胞体积 / 渗透压调节的  $K^+$ 、 $Cl^-$ 、 $NO_3^-$  跨膜转运速率，验证 GORK、SLAC 等功能
- 4、用于定量检测气孔运动过程中，保卫细胞 ROS ( $H_2O_2$ ) 跨膜转运速率，验证 PIP 等功能

### 样品检测视频

保卫细胞



### 应用报告视频

**活体跨膜转运技术在植物免疫上的应用**

云南农业大学站 第2期

**专家介绍**

主讲人：刘福琦

中关村NMT产业联盟秘书长，联盟标准化技术委员会非损伤检测技术(NMT)高级认证工程师。是“国际成果《非损伤检测技术及其应用》主要完成人(第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100)”。主编了《NMT 101005...》《NMT101006...》

扫码查看保卫细胞文献专辑





测样咨询

## 气孔免疫保卫细胞 $\text{Ca}^{2+}$ 瞬时跨膜流入速率检测

### 实验意义

病原菌、微生物相关分子模式 (MAMP)、损伤相关分子模式 (DAMP) 诱导气孔关闭过程中, 保卫细胞  $\text{Ca}^{2+}$  实时跨膜吸收 (内流) 速率。

### 经典案例

Nature 东英吉利大学 Zipfel: 无损“电生理”钙流为气孔免疫钙通道 OSCA1.3 的鉴定提供关键证据



扫码查看本文详细报道

### 推荐实验设备

非损伤微测系统 (NMT300-SIM 系列)

### 检测指标

$\text{Ca}^{2+}$

### 样品培养及处理

#### • 苗龄

苗龄无强制要求, 根据您的研究需求即可。该实验使用苗期样品较多。

#### • 培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

### 样品选取

#### 1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

#### 2. 叶片选取

1) 根据您的研究需求, 选择植株上特定位置的叶片, 例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此

要求, 同一研究的叶片选取标准需保持一致。

2) 同一组内, 叶龄、叶片颜色、大小尽量一致

3) 优先完整无损伤的叶片

### 检测流程

#### • 前处理

1. 将处理后的叶片连带叶柄完整取下, 如叶片较大, 则在叶片上剪取 1cm\*2cm 的叶片组织, 浸泡在缓冲溶液 (1.0 mM MES, pH6.15) 中, 20000 勒克斯光照 90 分钟。

2. 按照视频教程, 揭去叶片下表皮, 将透明的叶片下表皮内侧朝上, 粘在 35mm 培养皿底部的双面胶上。

3. 加入 4mL 测试液静置 10 分钟, 该过程持续给予 20000 勒克斯光照。

#### • 样品前处理视频



扫码查看视频



订阅本刊

### • 检测过程

1. 在载物台旁边放置光源，且持续给予培养皿中的下表皮组织 20000 勒克斯光照。
2. 选取外观完整且气孔处于较充分打开状态的保卫细胞。先在 4mL 测试液中检测 Flg22 处理前的信号，再在测试液中瞬时加入 1mL 处理母液后，立即检测处理后信号。处理母液中的 Flg22 浓度为处理终浓度的 5 倍，Flg22 的处理终浓度为 0.001 mM。
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：Flg22 处理前 5 分钟，Flg22 处理后 10-20 分钟
5. 重复数：n≥10，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株。

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Pei D, et al. Phosphorylation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase AHA2 by BAK1 is required for ABA-induced stomatal closure in Arabidopsis. PLANT CELL. 2022. 34(7):2708.
3. Yan S, et al. The role of plasma membrane H<sup>(+)</sup>-ATPase in jasmonate-induced ion fluxes and stomatal closure in Arabidopsis thaliana. PLANT J, 2015.83(4): 638.

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

### 检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离：2μm



测样咨询

## 保卫细胞实时状态 $\text{Ca}^{2+}$ , pH, $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_3^-$ 信号检测

### 实验意义

植物体调控气孔开闭过程中，首先是通过调控  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等信号物质的跨膜转运，进而调节胞浆中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度、pH、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。信号物质的变化，引起直接用来调节保卫细胞渗透压的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  的跨膜转运变化，调节胞浆中的离子浓度，即渗透压，影响保卫细胞水分的流入及流出，进而促使保卫细胞的体积发生变化，控制气孔的开闭程度。

### 经典案例

PC 巩志忠：NMT 发现 ABA 促保卫细胞泌  $\text{H}^+$  (胞质碱化) 依赖于 BAK1 和 AHA2 为 AHA2 参与干旱下 ABA 诱导气孔关闭提供证据



扫码查看本文详细报道

### 推荐实验设备

非损伤微测系统 (NMT300-SIM 系列)

### 检测指标

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$

### 样品培养及处理

#### • 苗龄

苗龄无强制要求，根据您的研究需求即可。该实验使用苗期样品较多。

#### • 培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

### 样品选取

#### 1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

#### 2. 叶片选取

1) 根据您的研究需求，选择植株上特定位置的叶片，例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此要求，同一研究的叶片选取标准需保持一致。

2) 同一组内，叶龄、叶片颜色、大小尽量一致

3) 优先完整无损伤的叶片

### 检测流程

#### • 前处理

1. 将处理后的叶片连带叶柄完整取下，如叶片较大，则在叶片上剪取 1cm\*2cm 的叶片组织，浸泡在缓冲溶液 (1.0 mM MES, pH6.15) 中，20000 勒克斯光照 90 分钟。

2. 按照视频教程，揭去叶片下表皮，将透明的叶片下表皮内侧朝上，粘在 35mm 培养皿底部的双面胶上。

3. 加入 4mL 测试液静置 10 分钟，该过程持续给予 20000 勒克斯光照。

#### • 样品前处理视频



扫码查看视频



订阅本刊

### • 检测过程

1. 在载物台旁边放置光源，且持续给予培养皿中的下表皮组织 20000 勒克斯光照。
2. 选取外观完整且气孔处于较充分打开状态的保卫细胞。
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：5-10 分钟。
5. 重复数：n≥10，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株。

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



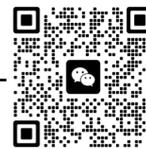
扫码查看实验溶液

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Zhang W, et al. H<sub>2</sub>S-mediated balance regulation of stomatal and non-stomatal factors responding to drought stress in Chinese cabbage. HORTIC RES. 2022. 10(3):uhac284.
3. Yang M, et al. Drought priming mechanisms in wheat elucidated by in-situ determination of dynamic stomatal behavior. FRONT PLANT SCI. 2023. 14:1138494.
4. Li Li, et al. Independent and combined influence of drought stress and nitrogen deficiency on physiological and proteomic changes of barley leaves. ENVIRON EXP BOT. 2023. Volume 210.

### 检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离：2μm



测样咨询

## ABA 促气孔关闭时保卫细胞 $\text{Ca}^{2+}$ , pH, $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_3^-$ 动态信号检测

### 实验意义

ABA 调控气孔关闭过程中, 首先是通过调控  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等信号物质的跨膜转运, 进而调节胞浆中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度上升、pH 上升。信号物质的变化, 引起直接用来调节保卫细胞渗透压的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  的跨膜外排, 胞浆中的离子浓度降低, 渗透压下降, 保卫细胞中的水分流出, 保卫细胞体积缩小, 气孔关闭。

### 经典案例

MP 西农李积胜: NMT 发现  $\text{H}_2\text{S}$  介导 SnRK2.6 结构变化促保卫细胞吸钙诱导气孔关闭 为蛋白质翻译后修饰互作促植物抗旱提供证据



扫码查看本文详细报道

### 推荐实验设备

NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup> (Physiolyzer<sup>®</sup>) (NMT300-PYZ 系列)

### 检测指标

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$

### 样品培养及处理

#### • 苗龄

苗龄无强制要求, 根据您的研究需求即可。该实验使用苗期样品较多。

#### • 培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

### 样品选取

#### 1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

#### 2. 叶片选取

1) 根据您的研究需求, 选择植株上特定位置的叶片, 例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此要求, 同一研究的叶片选取标准需保持一致。

2) 同一组内, 叶龄、叶片颜色、大小尽量一致

3) 优先完整无损伤的叶片

### 检测流程

#### • 前处理

1. 将处理后的叶片连带叶柄完整取下, 如叶片较大, 则在叶片上剪取 1cm\*2cm 的叶片组织, 浸泡在缓冲溶液 (1.0 mM MES, pH6.15) 中, 20000 勒克斯光照 90 分钟。

2. 按照视频教程, 揭去叶片下表皮, 将透明的叶片下表皮内侧朝上, 粘在 35mm 培养皿底部的双面胶上。

3. 加入 4mL 测试液静置 10 分钟, 该过程持续给予 20000 勒克斯光照。

#### • 样品前处理视频



扫码查看视频



订阅本刊

### • 检测过程

1. 在载物台旁边放置光源，且持续给予培养皿中的下表皮组织 20000 勒克斯光照。
2. 选取外观完整且气孔处于较充分打开状态的保卫细胞。
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：5-10 分钟。
5. 重复数：n≥10，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株。

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

### 检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离：2μm

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
- 2.Chen S,et al. Persulfidation-induced structural change in SnRK2.6 establishes intramolecular interaction between phosphorylation and persulfidation. MOL PLANT. 2021.14(11):1841.
3. Zhang W, et al. H<sub>2</sub>S-mediated balance regulation of stomatal and non-stomatal factors responding to drought stress in Chinese cabbage. HORTIC RES. 2022.10(3):284.
3. Zhao C, et al.. Evolution of chloroplast retrograde signaling facilitates green plant adaptation to land. P NATL ACAD SCI USA. 2019;116(11):5015.



测样咨询

## 光照促气孔打开时保卫细胞 $\text{Ca}^{2+}$ , pH, $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_3^-$ 动态信号检测

### 实验意义

光照调控气孔打开过程中，首先是通过调控  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等信号物质的跨膜转运，进而调节胞浆中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度、pH、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。信号物质的变化，引起直接用来调节保卫细胞渗透压的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  的跨膜流入，胞浆中的离子浓度上升，渗透压升高，保卫细胞吸水，体积增大，气孔打开。

### 推荐实验设备

NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup> (Physiolyzer<sup>®</sup>) (NMT300-PYZ 系列)

### 检测指标

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$

### 样品培养及处理

#### • 苗龄

苗龄无强制要求，根据您的研究需求即可。该实验使用苗期样品较多。

#### • 培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

### 样品选取

#### 1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

#### 2. 叶片选取

- 1) 根据您的研究需求，选择植株上特定位置的叶片，例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此要求，同一研究的叶片选取标准需保持一致。
- 2) 同一组内，叶龄、叶片颜色、大小尽量一致
- 3) 优先完整无损伤的叶片

### 检测流程

#### • 前处理

1. 将处理后的叶片连带叶柄完整取下，如叶片较大，则在叶片上剪取 1cm\*2cm 的叶片组织，浸泡在缓冲溶液 (1.0 mM MES, pH6.15) 中，20000 勒克斯光照 90 分钟。
2. 按照视频教程，揭去叶片下表皮，将透明的叶片下表皮内侧朝上，粘在 35mm 培养皿底部的双面胶上。
3. 加入 4mL 测试液静置 10 分钟，该过程持续给予 20000 勒克斯光照。

#### • 样品前处理视频



扫码查看视频

#### • 检测过程

1. 在不影响实验操作的情况下，将显微镜灯光及室内灯光，尽量调至最弱
2. 选取外观完整且气孔处于关闭状态的保卫细胞。先检测暗光条件下的信号，再瞬时开启置于样品载物台边的光源，继续检测光照下的信号
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：光照前 5 分钟，光照后 10-20 分钟
5. 处理光强：20000 勒克斯或根据研究需求调整
6. 重复数：n≥10，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株



订阅本刊

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

### 检测参数

1. 物镜倍数: 20 倍
2. 采样规则: Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离: 2 $\mu$ m

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Pei D, et al. Phosphorylation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase AHA2 by BAK1 is required for ABA-induced stomatal closure in Arabidopsis. PLANT CELL. 2022.koac106.
3. Chen S, et al. Persulfidation-induced structural change in SnRK2.6 establishes intramolecular interaction between phosphorylation and persulfidation. MOL PLANT. 2021. S1674-2052(21)00268-9.
4. Chang Y, et al. Light-induced stomatal opening in Arabidopsis is negatively regulated by chloroplast-originated OPDA signaling. CURR BIOL. 2023. S0960-9822(23)00151-3.



订阅本刊

### • 检测过程

1. 在载物台旁边放置光源，且持续给予培养皿中的下表皮组织 20000 勒克斯光照。
2. 选取外观完整且气孔处于较充分打开状态的保卫细胞。
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：5-10 分钟。
5. 重复数：n≥10，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株。

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

### 检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离：2μm

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
- 2.Chen S,et al. Persulfidation-induced structural change in SnRK2.6 establishes intramolecular interaction between phosphorylation and persulfidation. MOL PLANT. 2021.14(11):1841.
3. Zhang W, et al. H<sub>2</sub>S-mediated balance regulation of stomatal and non-stomatal factors responding to drought stress in Chinese cabbage. HORTIC RES. 2022.10(3):284.
3. Zhao C, et al.. Evolution of chloroplast retrograde signaling facilitates green plant adaptation to land. P NATL ACAD SCI USA. 2019;116(11):5015.



测样咨询

## 光照促气孔打开时保卫细胞 $\text{Ca}^{2+}$ , pH, $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_3^-$ 动态信号检测

### 实验意义

光照调控气孔打开过程中，首先是通过调控  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等信号物质的跨膜转运，进而调节胞浆中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度、pH、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。信号物质的变化，引起直接用来调节保卫细胞渗透压的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  的跨膜流入，胞浆中的离子浓度上升，渗透压升高，保卫细胞吸水，体积增大，气孔打开。

### 推荐实验设备

NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup> (Physiolyzer<sup>®</sup>) (NMT300-PYZ 系列)

### 检测指标

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$

### 样品培养及处理

#### • 苗龄

苗龄无强制要求，根据您的研究需求即可。该实验使用苗期样品较多。

#### • 培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

### 样品选取

#### 1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

#### 2. 叶片选取

- 1) 根据您的研究需求，选择植株上特定位置的叶片，例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此要求，同一研究的叶片选取标准需保持一致。
- 2) 同一组内，叶龄、叶片颜色、大小尽量一致
- 3) 优先完整无损伤的叶片

### 检测流程

#### • 前处理

1. 将处理后的叶片连带叶柄完整取下，如叶片较大，则在叶片上剪取 1cm\*2cm 的叶片组织，浸泡在缓冲溶液（1.0 mM MES, pH6.15）中，20000 勒克斯光照 90 分钟。
2. 按照视频教程，揭去叶片下表皮，将透明的叶片下表皮内侧朝上，粘在 35mm 培养皿底部的双面胶上。
3. 加入 4mL 测试液静置 10 分钟，该过程持续给予 20000 勒克斯光照。

#### • 样品前处理视频



扫码查看视频

#### • 检测过程

1. 在不影响实验操作的情况下，将显微镜灯光及室内灯光，尽量调至最弱
2. 选取外观完整且气孔处于关闭状态的保卫细胞。先检测暗光条件下的信号，再瞬时开启置于样品载物台边的光源，继续检测光照下的信号
3. 检测位点：保卫细胞表面
4. 检测时长：光照前 5 分钟，光照后 10-20 分钟
5. 处理光强：20000 勒克斯或根据研究需求调整
6. 重复数： $n \geq 10$ ，即每组检测不少于 10 个保卫细胞。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块下表皮组织，还可在同一块下表皮组织上测不止 1 个保卫细胞。一组实验使用的植株数不可少于 3 株



订阅本刊

### 耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

### 检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：Z-10
3. 传感器 -- 样品表面距离：2 $\mu$ m

### 参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Pei D, et al. Phosphorylation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase AHA2 by BAK1 is required for ABA-induced stomatal closure in Arabidopsis. PLANT CELL. 2022.koac106.
3. Chen S, et al. Persulfidation-induced structural change in SnRK2.6 establishes intramolecular interaction between phosphorylation and persulfidation. MOL PLANT. 2021. S1674-2052(21)00268-9.
4. Chang Y, et al. Light-induced stomatal opening in Arabidopsis is negatively regulated by chloroplast-originated OPDA signaling. CURR BIOL. 2023. S0960-9822(23)00151-3.