**问题：**那些stress 细胞会不会是因为FACS分选时候造成的影响？有没有试试微流控的方法去分选target cell？

**回答：**我们的确怀疑这些细胞是单细胞收集过程中实验造成的，但也不能排除有可能正常生理状态下，有些细胞就有这个特征，我们还在做这些细胞标志物在脑片上的检测，应该可以很快确认它们的来源。我们目前的项目没有试过其他方法收集单细胞，我同意应该对比一下不同的方法，看看是是否都能看到这群细胞。

2. 磁珠收集琼脂糖微孔里的是通过结合ploy（A）去捕获mRNA的吗？单靠ploy（A）与oligo dT的结合足够将mRNA拉出来吗？

**问题**：应该如何选择处理方法?根据自己需要的细胞类型吗？

**回答：**选择何种样本处理方法，跟组织类型和关注的细胞类型有关。大部分样本的规律是，抽核获得更多的实质细胞，免疫细胞会偏低，而悬液制备获得更多的免疫细胞，实质细胞、上皮细胞比例偏低。对于神经组织来说，抽核获得更多的神经元，悬液获得更多的胶质细胞。

**问题：**核转录组测序与细胞悬液测序相比，哪种需要的组织量更大（细胞数目更多）？

**回答：**通常来说，抽核需要的组质量可能稍微小一点，3mm\*3mm以内，甚至于穿刺的样本也都足够。这个问题没有唯一的答案，跟具体的组织类型有关，像我们做过早期食管癌的样本，组织大约只有1mm\*1mm大小，制备悬液的结果也非常好。

**问题：**想问侯睿博士，如果检测在外界刺激下成年小鼠特定脑区单细胞转录状态的改变，snRNA-seq和scRNA-seq哪种技术可行性较强？snRNA-seq的会有哪些局限性？

**回答：**如果是新鲜的样本，具体使用那种技术我认为需要首先考虑关注的细胞类型，根据文献和我们的经验，抽核获得的神经元最多，其次是星形胶质细胞，小胶质和少突胶质比例较低；如果采用悬液制备，小胶质和少突胶质最多，神经元占比可能只有20%甚至更低。但如果是冰冻组织，那么只能考虑抽核了。