

伊文思蓝染色液(0.5%)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

伊文思蓝(Evans Blue)又称偶氮蓝，分子式 $C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$ ，分子量为 960.80，CAS 号为 314-13-6。伊文思蓝属于一种常用的偶氮染料制剂，因其分子量大小与血浆白蛋白相近，而且在血液中与血浆白蛋白有很高的亲和力，因此在神经科学研究中常被用于示踪观察血脑屏障(BBB)的完整性，也用于细胞染色区分活细胞、死细胞，亦可测定血容量。伊文思蓝作临床药物用于测定血浆和血容量，也可作动脉插管的定位。正常情况下血浆白蛋白无法透过血脑屏障，所以染色后如果神经系统血脑屏障完整，与血浆白蛋白结合的依文思蓝无法使其着色，相反如果神经系统血脑屏障被破坏，依文思蓝就可以进入神经系统并使其着色，在荧光波长 470nm、540nm 处有强峰，680 nm 处有弱峰，可以使用化学透析法和比色法进行检测。

伊文思蓝与台盼蓝都是细胞活性染料，常用于检测细胞膜的完整性和细胞是否存活。活细胞不会被染成蓝色，而死细胞会被染成淡蓝色，伊文思蓝染色后通过显微镜下直接计数或显微镜下拍照后计数，就可以对细胞存活率进行比较精确的定量，其中 0.5%为最常用的浓度；活细胞因有外排功能而无法被伊文思蓝染色，因此可以通过此方法在显微镜下区分死细胞与活细胞，但无法区分死亡与坏死。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	规格	保存温度	说明书	有效期
伊文思蓝染色液(0.5%)	100ml/500ml	4℃避光	1 份	6 个月
Evans Blue Stain(0.5%)	100ml	4℃避光	1 份	6 个月

自备材料：

- 1、注射器、组织匀浆器
- 2、 PBS
- 3、三氯乙酸或丙酮

操作步骤(仅供参考)：

(一)血脑屏障通透性

- 1、取处理后的实验动物(以小鼠为例)，静脉注射 Evans Blue Stain(0.5%)数秒至 1 分钟内，小鼠眼睛、皮肤出现蓝色，0.5~1h 后处死小鼠，取目的脑组织。
- 2、脑组织置于 1.5ml 离心管中，加入 1ml PBS，迅速用组织匀浆器将脑组织制成匀浆，1000g 离心 15min。
- 3、取上清，加入等量三氯乙酸，4℃孵育 18~24h；该步骤亦可采用如下操作：取上清，按上清:丙酮=3:7 比例加入丙酮，室温孵育 24h。

4、1000g 离心 20~30 min 或 2000g 离心 15min。

5、取上述溶液 1~2ml，用分光光度计测 620 nm 处吸光值(OD 值)，同时测定已知不同梯度的标准依文思蓝的 OD 值，绘制标准曲线，根据标准曲线计算出待测样品的依文思蓝含量。

(二)活细胞染色

1、取 100 μ l 重悬细胞到常规 1.5ml 或 0.5ml 离心管内，入 100 μ l Evans Blue Stain(0.5%)轻轻混匀，染色 3min(染色时间可适当延长，但不宜超过 10min)。

2、吸取少量经过染色后的细胞，用血细胞计数板计数。通常如果要比较精确地进行定量，每个细胞样品至少数 500 个细胞，数出蓝色细胞和细胞总数。细胞存活率计算公式如下：
细胞存活率=(细胞总数-蓝色细胞数)/细胞总数 $\times$ 100% (三)种子染色

1、用刀片做横切和沿种胚中央准确纵切，入染色液染色 3~5min。

2、蒸馏水中浸泡 20~60min，视脱色程度而定。

注意事项：

1、Evans Blue Stain(0.5%)对人体有轻微毒性，请小心防护。

2、细胞染色时，注意凋亡小体偶尔也有拒染现象。

3、血脑屏障通透性实验中，Evans Blue Stain(0.5%)注射量应根据不同动物以及动物的重量调整。

4、最好采用低温冷冻离心机进行离心。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
DAPI 染色液(5 μ g/ml)
多聚甲醛溶液(4% PFA)
戊二醛固定液(电镜专用,2.5%)
DEPC 处理水(0.1%)
丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)