

伊文思蓝染色液(0.5%)

Evans blue stain (0.5%)

货号： S0186

规格： 100ml

保存条件：

4℃避光保存，有效期 12 个月。

产品简介：

伊文思蓝(Evans Blue)又称偶氮蓝，分子式：C₃₄H₂₄N₆Na₄O₁₄S₄，分子量：960.80，CAS：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。本产品为伊文思蓝染色液 (Evans Blue Stain, 0.5%)。

本产品仅用于科研领域，不用于临床诊断。

自备材料：

1. 注射器、组织匀浆器
2. PBS
3. 三氯乙酸或丙酮

使用方法：

(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 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:

$$\text{细胞存活率} = (\text{细胞总数} - \text{蓝色细胞数}) / \text{细胞总数} \times 100\%$$

(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 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 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。