

## 伊文思蓝染色液(0.5%)

### 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, 不用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

| 名称 \ 编号                | ADS001K0 | ADS001K1 | Storage |
|------------------------|----------|----------|---------|
| Evans Blue Stain(0.5%) | 100ml    | 500ml    | 4°C 避光  |
| 使用说明书                  |          | 1 份      |         |

### 自备材料

- 1、注射器、组织匀浆器
- 2、PBS、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), 经尾静脉或股静脉按照 2~3ml/kg 的比例 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 100μl 重悬细胞到常规 1.5ml 或 0.5ml 离心管内，入 100μl 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。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(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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12个月。常温运输，4℃保存。