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:

编号 / 名称	GCDK0001	GCDK0001	Storage
Evans Blue Stain(0.5%)	100ml	500ml	4℃ 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%) ，小鼠眼睛、皮肤出现蓝色，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。

3、取上清，加入等量三氯乙酸， 4℃ 孵育；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。

4、 1000g 离心或 2000g 离心。

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 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(染色时间可适当延长)。

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:

细胞存活率 =(细胞总数 - 蓝色细胞数)/ 细胞总数 ×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。

2、蒸馏水中浸泡，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 个月有效。常温运输， 4℃ 保存。

