伊文思蓝染色液(2%)

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	GCDK0051		Storage
Evans Blue Stain(2%)	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):

使用前，将 EvansBlueStain(2%)用 PBS 稀释成 EvansBlueStain(0.5%)。

(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(2%)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。

有效期：12 个月有效。常温运输，4℃保存。

