# 产品简介：

**伊文思蓝染色液(0.5%)**

伊文思蓝(Evans Blue)又称偶氮蓝，分子式 C34H24N6Na4O14S4，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，因其分子量大小不血浆白蛋

白相近，而且在血液中不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，不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

细胞不活细胞，但无法区分死亡不坏死。

# 产品组成：

Evans Blue Stain(0.5%) 100ml 4℃ 避 光

# 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 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×100%

**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。

**有效期：** 6 月有效。