伊文思蓝染色液（5%）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8445	Evans Blue Stain Solution (5%)	100ml/500ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

室温保存，有效期 1 年

【概述】

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，因其分子量大小和血浆白蛋白相近，而且在血液中和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。

伊文思蓝和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和活细胞，但无法区分死亡和坏死。

【使用建议】

(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 0.5%伊文思蓝染色液(可用 PBS 对产品进行 10 倍稀释)数秒至 1 分钟，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，离心。
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，加入 100μl 0.5%伊文思蓝染液(可用 PBS 对产品进行 10 倍稀释)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. 伊文思蓝对人体有轻微毒性，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，伊文思蓝染色液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。