

伊文思蓝染色液 使用说明书

储存条件：常温避光保存。

产品货号及规格：

产品名称	货号	规格
0.1% 伊文斯蓝染色液	SL7202	100mL
0.5% 伊文斯蓝染色液	SL7200	100mL
1% 伊文斯蓝染色液	SL7205	100mL
2% 伊文斯蓝染色液	SL7203	100mL
5% 伊文斯蓝染色液	SL7201	100mL

产品介绍：

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。

石蜡切片染色时为增强染色的同时还要突出与背景的反差，以利于结果的判定。用伊文思蓝进行衬染，可将背景细胞和组织染成砖红色，与特异性黄绿色荧光形成鲜明对比，减少非特异荧光。

一、使用说明（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)，静脉注射伊文思蓝染色液 (0.5%)，小鼠眼睛、皮肤出现蓝色。0.5~1 h 后处死小鼠，取目的脑组织。
2. 脑组织置于 1.5 mL 离心管中，加入 1 mL 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 °C 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 24 h。
4. 离心 15 min。
5. 取上述溶液，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 100 μ L 重悬细胞到常规离心管内，入 100 μ L 伊文思蓝染液（0.025%）轻轻混匀染色(染色时间可适当延长，但不宜超过 10 min)。

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 \times 100%

(三)石蜡切片 IFA 衬染

1. 常规烤片、脱蜡。
2. 第二抗体含一定浓度的伊文思蓝（0.01%）作为衬染 30 min。
3. 缓冲甘油封片观察。

(四)植物整体叶片活细胞检测

- 1、取胁迫处理后的叶片用纯水洗净，干燥，浸泡在 0.25%（W/V）的伊文思蓝中 24h。
- 2、清水清洗表面蓝色染液，吸去表面水分放入煮沸的无水乙醇：甘油（9:1）中 30min，除去叶绿素至叶片泛白，拍照记录蓝色叶斑的叶片。
- 3、将叶片剪碎，放入 4mL 1% SDS 的水溶液中萃取 3d，以沸水煮 15-20min 后被伊文思蓝全部染上蓝色的叶片作为对照，提取液在 600nm 下测定吸光值。

注意事项：

1. 伊文思蓝衬染时间可根据实际情况调整。
2. 细胞染色时，注意凋亡小体偶尔也有拒染现象。
3. 该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其它用途
4. 开封后根据存放条件的不同保质时间存在一定的差异。