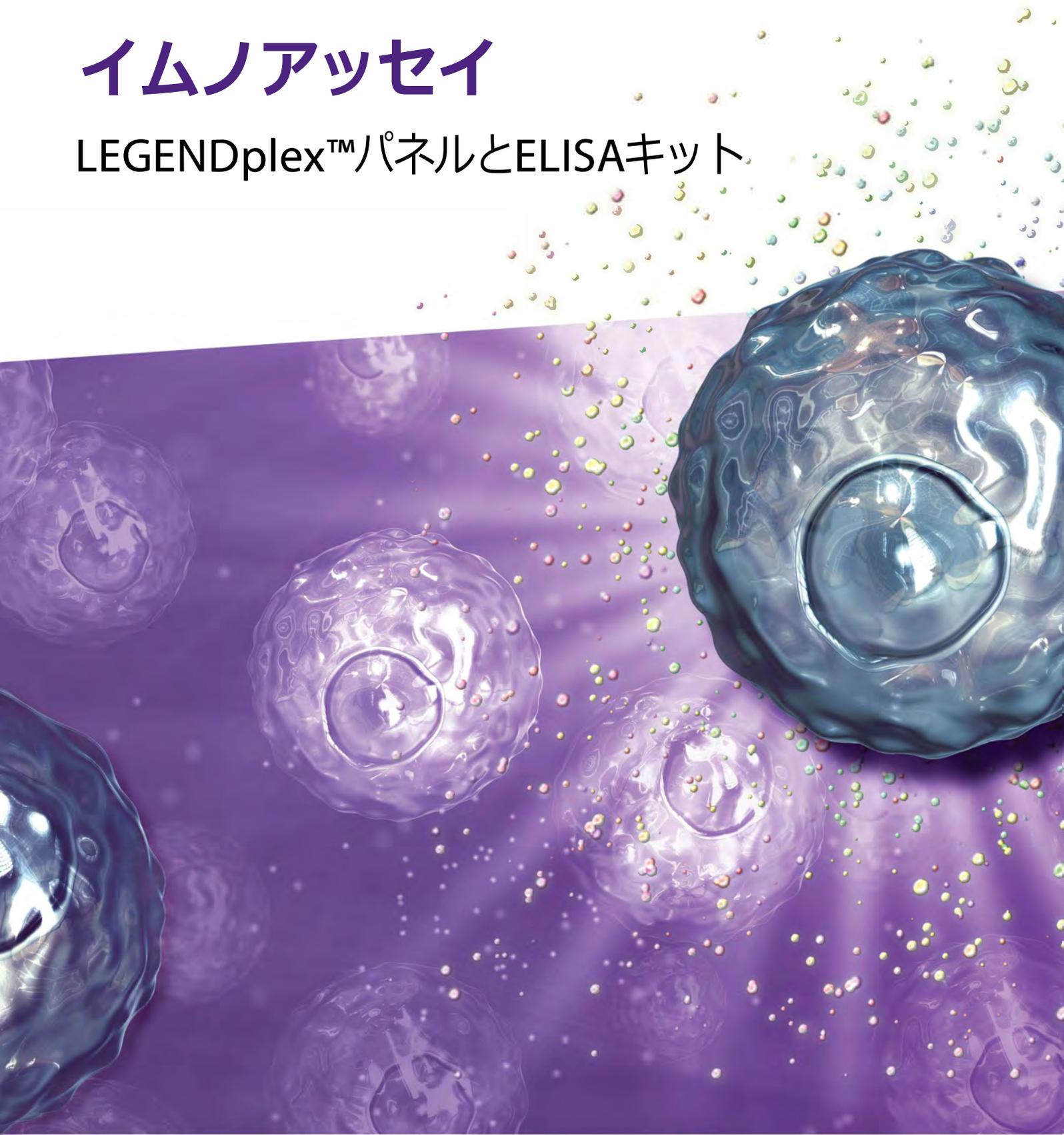


イムノアッセイ

LEGENDplex™パネルとELISAキット



サイトカインやバイオマーカーの検出により免疫応答を明らかにすることは、ワクチンの開発や感染症研究、自己免疫疾患研究などの進展において、重要な役割を担っています。BioLegendのイムノアッセイ製品は、生体試料中の可溶性タンパク質を特異的かつ高感度に定量することが可能です。20年間にわたり、これらの製品を多くの研究者の皆様にご利用いただきました。今後もBioLegendがご提供するソリューションが、皆様の研究の進展に貢献できることを願っております。

BioLegendのイムノアッセイについてはこちら：biolegend.com/ja-jp/bmia

目次

LEGENDplex™ - フローサイトメーターで測定するマルチプレックスアッセイキット	3
ワークフロー	3
特長と仕様	4
製品	4
注目のキット製品	5
検証試験と品質管理	5
関連試薬	6
ELISAキット製品	7
ELISAの種類	7
ELISAキット製品	8
検証試験と品質管理	9
注目の製品：SARS-CoV-2研究用製品	10
その他のELISA関連製品	11
Mini-ELISA Plate Reader™	11

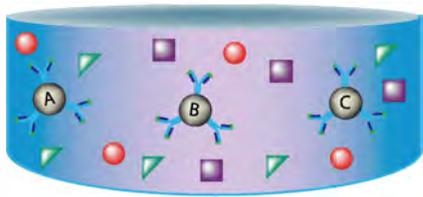
LEGENDplex™ - フローサイトメーターで測定するマルチプレックスアッセイキット

LEGENDplex™はビーズベースの免疫アッセイで、サンドイッチELISAと同様の原理でターゲットを検出します。1検体で最大14種類のターゲットを同時に定量することが可能です。さらに、測定にはフローサイトメーターを使用するため、測定専用の装置を準備する必要はありません。データ解析には無料の解析用ソフトウェアをお使いいただけます。数十種類のLEGENDplex™既存パネルからお選びいただくか、目的に合わせたカスタムパネルのご相談も承ります。

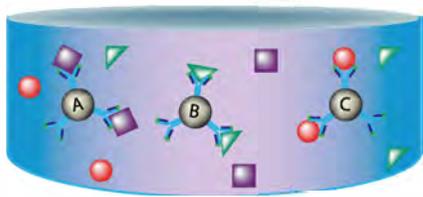
LEGENDplex™パネルのラインナップはこちらをご覧ください：biolegend.com/ja-jp/legendplex

ワークフロー

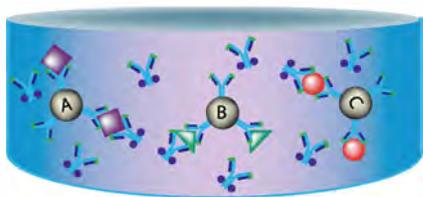
フィルタープレートおよびV底プレートの詳細なプロトコルはキットのマニュアルをご覧ください。



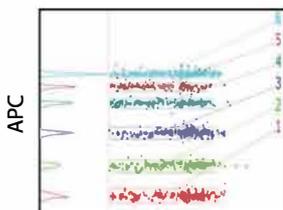
血清や血漿、細胞培養上清などの生体試料と捕捉用ビーズをインキュベーションします。捕捉用ビーズには目的のターゲット特異的な抗体が標識してあり、ビーズの大きさと、ビーズ内部のAPCに類似した蛍光の強度で区別することができます。



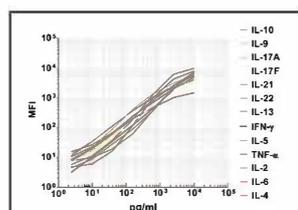
ビオチン標識検出抗体カクテルを加え、捕捉用ビーズ - ターゲット - 検出抗体の複合体を形成させます。



PE標識ストレプトアビジンを加え、ビオチン標識検出抗体と結合させます。



PE



フローサイトメーターを用いてデータを取得します。PE標識ストレプトアビジンの蛍光強度は、結合したターゲットの量に比例しています。

ターゲットの濃度は、LEGENDplex™データ解析用ソフトウェアを用いて定量できます。

特長と仕様

LEGENDplex™はPEとAPCを検出できるフローサイトメーター、あるいはレッドレーザーが搭載されていない装置の場合にはPEとPerCPを検出できるフローサイトメーターでお使いいただけます。その他に専用の装置は必要ありません。

さらに、無料の解析用ソフトウェアをご用意しています。このソフトウェアは、フローサイトメーターで取得したLEGENDplex™のデータを分析できるように設計しました。オンラインで使用するクラウドベースのアプリケーション、PCまたはMacにダウンロードして使用するデスクトップ版アプリケーションの2種類からお選びください。

Features

No. analytes/assay	1 to 14
Min. volume	12.5 µL serum/plasma; 25 µL tissue culture supernatant
Cytometer requirements	PE & APC detection (PerCP/FL3 without red laser)
Analysis software	Free downloadable and cloud-based versions for both Mac and PCs
Tests/assay	100 tests

LEGENDplex™ ソフトウェアの特長

- ・ シンプルで直感的なユーザーインターフェースとワークフロー
- ・ LEGENDplex™ アッセイで使用するBead IDを登録済み
- ・ 洗練された自動ゲーティングアルゴリズム
- ・ クラウド版とデスクトップ版の間でExperiment workspaceを簡単にインポート可能

LEGENDplex™ 解析用ソフトウェアはこちら: biolegend.com/ja-jp/legendplex#software

クラウド版特有の機能

- ・ ウェブに接続されたコンピュータであればアクセス可能
- ・ 1ユーザーアカウントにつき2 GBのストレージスペースを利用可能
- ・ 過去にアップロードしたデータにワンクリックでアクセス可能
- ・ 他のユーザーと結果を簡単に共有可能

製品



LEGENDplex™キットにはヒト用、ヒト以外の霊長類用、マウス用、ラット用の製品がございます。また、Pre-defined panel、Mix and Match panelあるいはCustom panelから目的に応じてお選びいただけます。

Pre-defined Panels: 決められた組み合わせのターゲットタンパク質を検出するパネルです。アッセイを実施するために必要なすべての試薬（セットアップ用ビーズ、捕捉用ビーズ、マトリックス、検出用抗体、スタンダードカクテル、バッファー類、アッセイ用プレート、プレートシールなど）が製品に含まれています。

Mix and Match Assays: Pre-defined panel内の、一部のターゲットタンパク質のみを測定したい方に最適です。Mix and Matchを利用する場合、必要な捕捉用ビーズ、適切なバッファーセット、スタンダードカクテル、検出用抗体、アッセイ用プレート（フィルターまたはV底プレート）をご注文ください。Pre-defined panelとMix and Match panelの特徴についてはTable 1をご覧ください。

Custom Panels: 既存のパネルにはないターゲットを測定したい場合や、複数パネルのターゲットを組み合わせたい場合には、測定したいターゲットの組み合わせをお知らせください。Custom panelとして設計できるかどうか、ご相談を承ります。

詳細はこちら
biolegend.com/legendplex#custompanels

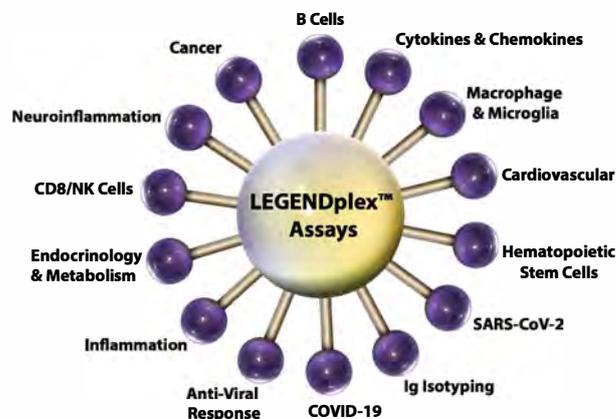
Table 1: Example of Pre-defined and Mix and Match Panels

Pre-defined Panels include ALL required components and ALL check-marked targets				
Filter Plate		Cat. No. 740349	Cat. No. 740350	Mix and Match Capture Beads Cat. No.
V-bottom Plate		Cat. No. 740390	Cat. No. 740396	
Target	Bead ID	Anti-Virus Response Panel	Type 1/2/3 Interferon Panel	
CXCL10 (IP-10)	A7	✓		740363
GM-CSF	B5	✓		740362
IFN-α2	B3	✓	✓	740351
IFN-β	B6	✓	✓	740353
IFN-γ	B9	✓	✓	740352
IFN-λ1	A8	✓	✓	740354
IFN-λ2/3	B4	✓	✓	740355
IL-1β	A4	✓		740119
IL-6	A5	✓		740356
IL-8	A10	✓		740357
IL-10	B7	✓		740358
IL-12 (p70)	B2	✓		740361
TNF-α	A6	✓		740359
Required Mix and Match Components (already included in Pre-defined Panel)				
Standard			Cat. No. 740365	
Detection Antibodies			Cat. No. 740364	
Buffer Set A			Cat. No. 740368	
Plate Options			Filter Plate: Cat. No. 740377	
			V-bottom Plate: Cat. No. 740379	

注目のキット製品

様々な研究分野でお使いいただけるようにLEGENDplex™パネル製品を開発しました。それぞれのLEGENDplex™パネル製品は、特定の細胞タイプや生物学的プロセスに関するターゲットタンパク質、病態に関連するターゲットタンパク質などを定量できるように設計しています。今後もパネルのラインナップを拡充し続けてまいります。

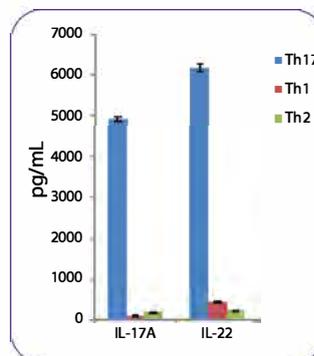
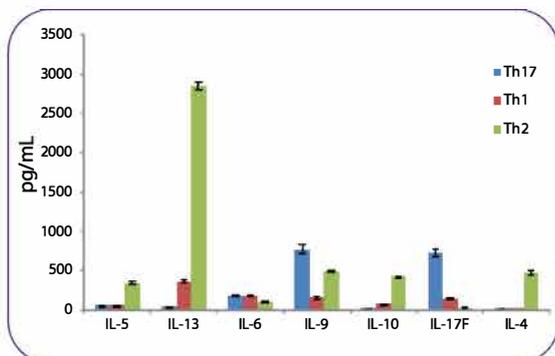
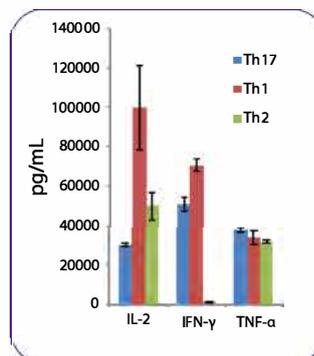
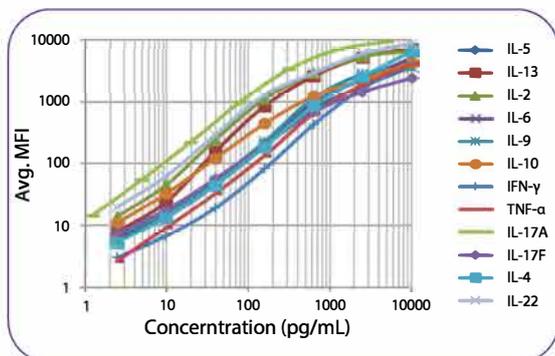
- COVID-19 Cytokine Storm panelは、COVID-19の臨床的進行度に関連するサイトカインの調節異常を調べる際に有用です。
- B細胞やヘルパーT細胞の機能、CD8/NK細胞の活性、その他の細胞の免疫応答を調べるための一連のパネル製品もご用意しています。
- 心血管系の健康状態や、代謝異常に関連する因子を調べるパネル製品もございます。



検証試験と品質管理

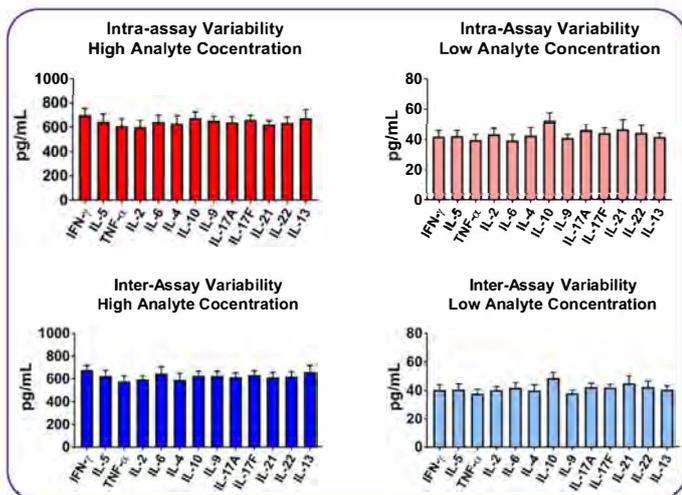
ダイナミックレンジと感度

この例では、LEGENDplex™ Human T Helper Cytokine Panelを用いて実験を実施しました。データを無料のLEGENDplex™解析用ソフトウェアで解析し、パネルに含まれているすべてのターゲットタンパク質について標準曲線を作成しました。本製品のダイナミックレンジと感度をご覧ください。



PBMC由来のナイーブCD4+T細胞を、Th1、Th2またはTh17へ分化させる条件下で7日間培養しました。その後、細胞をCell Activation Cocktail (without Brefeldin A)で16時間再刺激しました。細胞培養上清を回収し、LEGENDplex™ Human T Helper Cytokine Panelで測定しました。

精度と再現性



LEGENDplex™アッセイでは、再現性と精度の高いデータが得られます。上の棒グラフ（赤）は、併行精度（Intra-assay precision）を示しています。各ターゲットタンパク質の濃度が異なる2種類のサンプルを準備し、それぞれのサンプルを単一アッセイ内で16回繰り返し測定しました。下の棒グラフ（青）は測定間精度（Inter-assay precision）を示しています。各ターゲットタンパク質の濃度が異なる2種類のサンプルを3回の独立したアッセイ（3 replicates/sample）で測定しました。

関連試薬

Carboxyl Beads (Unconjugated)

目的のターゲットを検出できるLEGENDplex™ beadがカタログ製品にない場合には、未標識のCarboxyl Beadsの使用をご検討ください。お持ちの抗体をこのビーズに標識し、お使いいただけます。Bead ID情報もご提供していますので、LEGENDplex™パネルに適切に組み合わせることができます。これらのビーズのパネルへの追加に関してアドバイスが必要な場合には、cst@biolegend.comまでお問い合わせください。

Beads	Cat. No.
A4	740167
A5	740168
A6	740169
A7	740170
A8	740171
A10	740172
B2	740173
B3	740174
B4	740175
B5	740176
B6	740177
B7	740178
B9	740179

PE標識ストレプトアビジン

ストレプトアビジンは、ビオチンに高い親和性で結合します。PE標識ストレプトアビジン（SA-PE）はビオチン標識抗体の検出に有用です。SA-PEはLEGENDplex™アッセイでレポーター試薬として使用されます。PEは、一般的なフローサイトメーターで蛍光強度の強いシグナルとして検出されます。

Description	Cat. No.
SA-PE	740452

ELISAキット製品

1種類のターゲットを測定するならELISAキット製品を使いましょう。BioLegendでは4種類のELISAキット製品をご用意しています。アッセイ時間を90分未満へ短縮できるRAPID MAX™ kitや、固相化済みのプレート入りで使いやすいLEGEND MAX™ kit、お客様ご自身でELISAアッセイ系を組み立てる際に必要な構成が含まれている経済的なセットなどからお選びいただけます。

ELISA製品と関連試薬についてはこちら: [biolegend.com/ja-jp/elisa](https://www.biolegend.com/ja-jp/elisa)

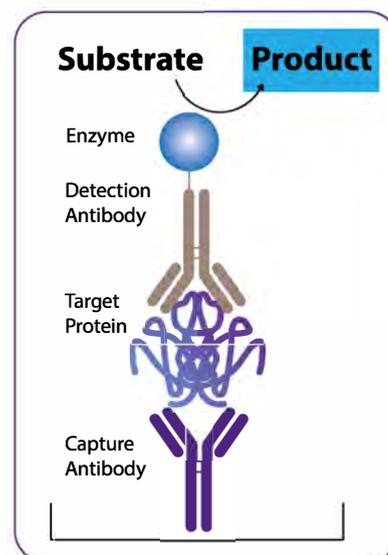
ELISAの種類

サンドイッチELISA

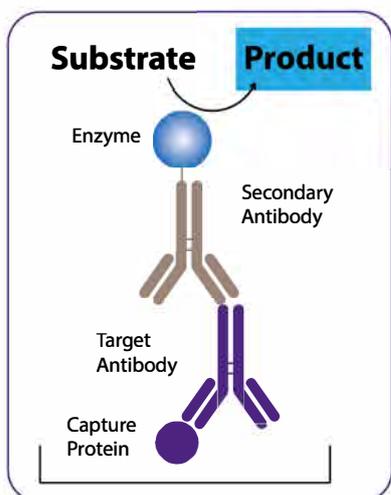
サンドイッチELISAは、生体試料のような複雑なサンプル中のサイトカインや成長因子といった可溶性タンパク質の解析に理想的な手法です。

通常、サンドイッチELISAでは、捕捉抗体を固相化したプレートを用いて可溶性タンパク質を結合させます。次に、結合したタンパク質は検出抗体により認識されます。検出抗体は酵素を標識している場合が多いです。最後に、発色基質を加えます。これにより、捕捉した抗原の量に比例して色の変化が生じます。このシグナルをプレートリーダーを用いて測定し、既知の濃度の抗原を用いて作成した標準曲線に対してプロットすることで、正確に定量することができます。

一般的なサンドイッチELISAは、プレートを抗体で固相化する過程で一晩、さらに多数の洗浄ステップを必要とするため、所要時間は少なくとも22時間とされています。このワークフローを効率化するために、当社では様々な種類のELISAキット製品をご用意しています。これらをお使いいただくことで、プロトコルのステップ数を減少させ、時間を節約することが可能となります。



間接ELISA



間接ELISAは、生体試料中の抗体濃度を測定したい場合に有用な方法です。通常、間接ELISAでは抗原（または捕捉用タンパク質）を固相化したプレートを用いて、目的の抗体を結合させます。次に、酵素標識した二次抗体を加えます。最後に、発色基質を加えます。サンドイッチELISAの場合と同様に、プレートリーダーでシグナルを検出し、既知の濃度の標準品を用いて作成した標準曲線にプロットすることで定量できます。

当社のELISAキット製品の中には、抗SARS-CoV-2抗体を検出する製品のように、間接ELISAのワークフローを用いている製品もございます。

ELISAキット製品

初心者の方から上級者の方まで幅広くお使いいただけるよう、4種類のELISAキットをご用意していますので、より柔軟かつ簡便に、目的に合わせてお選びいただけます。それぞれのELISAキットは、細胞培養上清や血清、血漿などの生体試料中のタンパク質または抗体を定量できるよう設計されています。高い精度と直線性を有しており、生物学的に関連のあるサンプルで測定することが可能です。



RAPID MAX™ ELISA Kits

RAPID MAX™ Kitなら、アッセイ時間を90分未満へ短縮させることができます。各キット製品は検証済みで、ビオチン化捕捉抗体やタンパク質を固定化するためにコーティングした96ウェルストリッププレートが含まれています。標識済み検出抗体の使用と洗浄のステップを少なくすることで、このELISAキットでは、より短時間で正確な結果が得られるようにしています。



LEGEND MAX™ ELISA Kits

このキット製品には、捕捉抗体を固相化済みの96ウェルストリッププレートなどの必要な試薬がすべて含まれているので、すぐに使用できます。また、正常血清や正常血漿、生物学的に関連のあるサンプルで検証しています。回収率や直線性に関する情報は製品マニュアルでご確認いただけます。



ELISA MAX™ Deluxe Sets

ELISA MAX™ Deluxe setは、上記のELISAキット製品よりも費用対効果の高い選択肢です。この製品には最適化した試薬といくつかのバッファー類が含まれています。プレートは別売りで、お客様ご自身で捕捉抗体の固相化を行う必要がございます。



ELISA MAX™ Standard Sets

ELISA MAX™ Standard setには、スタンダード用のリコンビナントタンパク質、Avidin-HRP、捕捉抗体および検出抗体といった、ELISAのアッセイ系を組み立てるための基本的な構成成分のみが含まれています。この製品は、バッファーや固相化プレートをご自身で準備することで費用を抑えたい方に最適です。

Components	RAPID MAX™ Kit	LEGEND MAX™ Kit	ELISA MAX™ Deluxe Set	ELISA MAX™ Standard Set
Assay Time	90 mins	4 hours	Overnight + 6 hours	Overnight + 6 hours
Experience Level	Beginner-Advanced	Beginner-Advanced	Intermediate-Advanced	Intermediate-Advanced
Strip-Well Plate	✓	✓		
Capture Antibody or Protein	✓	Pre-coated on plate	✓	✓
Detection Antibody	✓	✓	✓	✓
Protein or Antibody Standard	✓	✓	✓	✓
Avidin-HRP	Not required	✓	✓	✓
Coating Buffer	Not required	Not required	✓	
Wash Buffer	✓	✓		
Assay Buffer/Assay Diluent/Matrix	✓	✓	✓	
Substrate/TMB Solution	✓	✓	✓	
Stop Solution	✓	✓		
Plate Sealers	✓	✓		

検証試験と品質管理

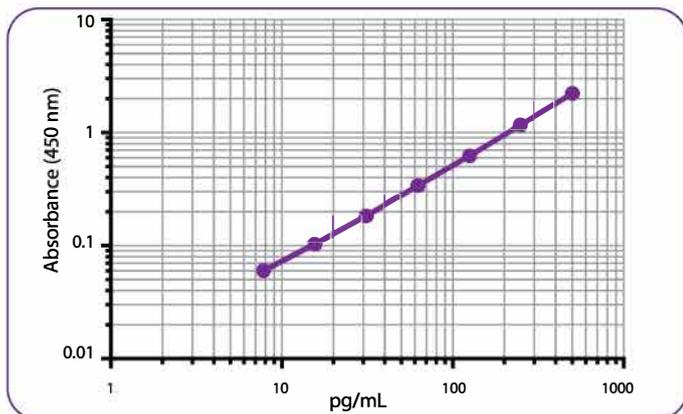
当社のELISAキット製品は検証試験と品質管理試験を行い、特異性、感度、優れたダイナミックレンジが得られることを確認しています。LEGEND MAX™ kitとRAPID MAX™ kitについては、検出下限などの検証データをご提供します。

ELISAが目的のタンパク質のみを検出することを保証するために、抗体試薬は他のタンパク質やアイソフォーム、多量体（該当する場合）に対する交差性をテストしています。また、オルソログタンパク質（異なる生物種間で保存されているタンパク質）に対する抗体の交差性も調べています。

精度と再現性

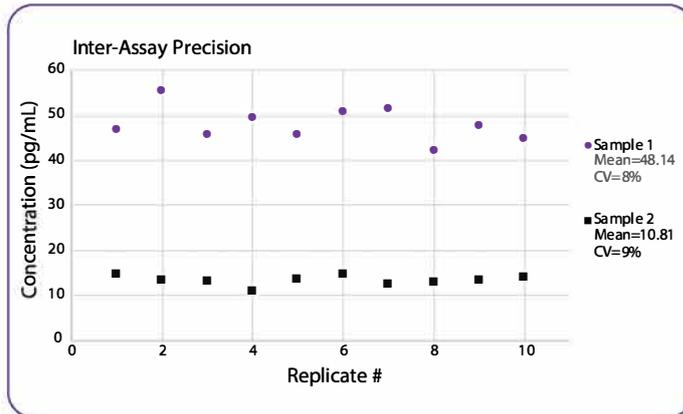
LEGEND MAX™ とRAPID MAX™ kitに関しては、再現性を確保するために、同一プレート内の繰り返し測定結果の精度である併行精度（intra-assay precision）と、独立したアッセイ間の精度である測定間精度（inter-assay precision）のデータもご提供しています。

LEGEND MAX™ Mouse IFN-β ELISA Kit



LEGEND MAX™ Mouse IFN-β ELISA Kit (Cat. No. 439407)の標準曲線の例を示しています。

LEGEND MAX™ Human PD-L2 ELISA Kit

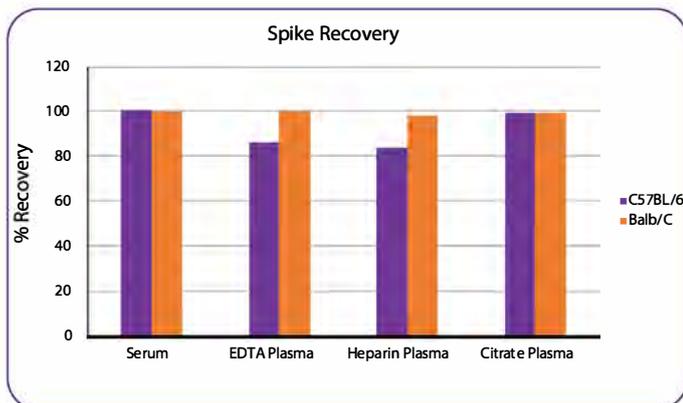


PD-L2濃度の異なる2種類のサンプルを用いて、LEGEND MAX™ Human PD-L2 ELISA Kitの測定間精度試験を実施しました。

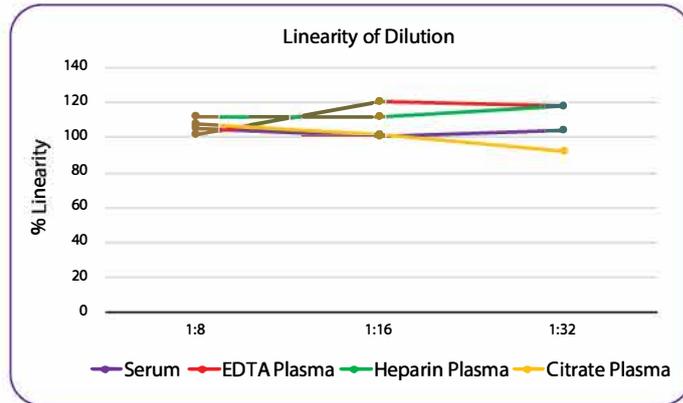
添加回収試験と希釈直線性試験

添加回収試験では、濃度既知のターゲットタンパク質を添加したサンプル溶液を測定し、その測定値と本来の濃度を比較することで、サンプル溶液の成分によるアッセイへの影響を評価できます。すべてのLEGEND MAX™ kitおよびRAPID MAX™ kitで添加回収試験を実施しています。通常、血清や血漿、細胞培養上清を用いて試験しています。これらのキット製品では希釈直線性試験も実施しています。濃度既知のサンプルを複数の希釈倍率で希釈後に測定し、直線性があること、標準曲線の範囲内であることを確認しています。

LEGEND MAX™ Mouse CXCL1 ELISA Kit



C57BL/6およびBalb/Cマウスの血清と血漿を4倍希釈し、recombinant mouse CXCL1を添加しました。LEGEND MAX™ Mouse CXCL1 ELISA Kitを用いて、CXCL1タンパク質を定量しました。

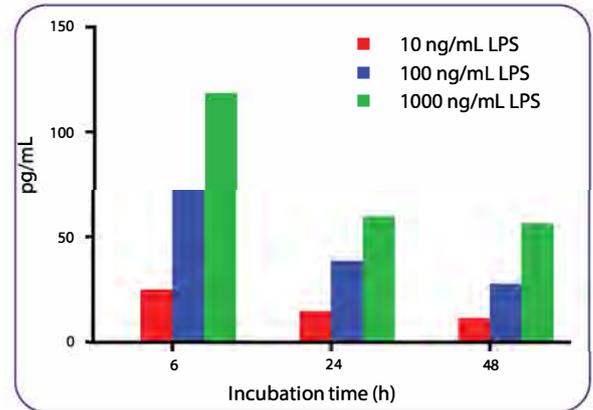


サンプルを推奨希釈倍率（1:4）で希釈し、recombinant CXCL1を添加しました。その後、さらに2段階希釈しました。%Linearityの値は、各サンプルの平均値を示しています。

生体試料における検出

すべてのELISAキット製品は、細胞培養上清や血清、血漿などの生体試料中のターゲットタンパク質を定量できるように設計しています。LEGEND MAX™やRAPID MAX™ kit製品のマニュアルには、生物学的に関連するサンプルや、サイトカインやケモカインの産生が予想される条件を用いた馴化培地で試験した結果を記載しています。また、正常血清や正常血漿における値も記載しています。

IFN-β Production by RAW 264.7 Cells



RAW 264.7細胞を 3×10^6 cells/wellとなるように12-well plateに加え、80%コンフルエントの状態になるまで培養しました。その後、様々な濃度のLPSで刺激しました。いくつかの異なる時点で上清を回収し、LEGEND MAX™ Mouse IFN-β ELISA Kit (Cat. No. 439407)を用いて定量しました。

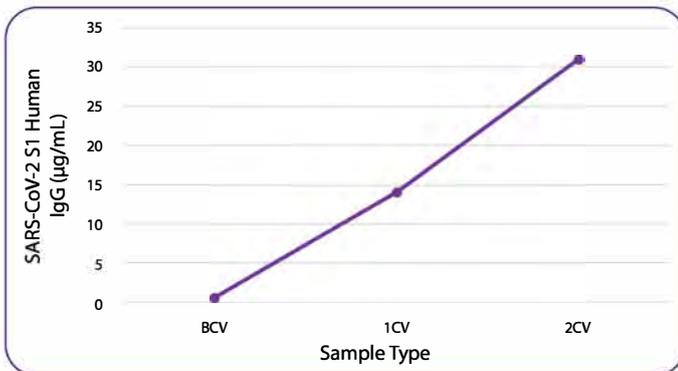
注目の製品：SARS-CoV-2研究用製品

ヒトやマウス、ラットのサンプルにおいてターゲットタンパク質を検出するためのELISAキット製品をご用意しており、免疫学研究やがん研究、幹細胞研究や神経科学研究など、様々な分野でお使いいただけます。また、ワクチン開発や感染症、自己免疫疾患などの研究において、免疫環境や炎症状態を調べるためにもご利用いただけます。

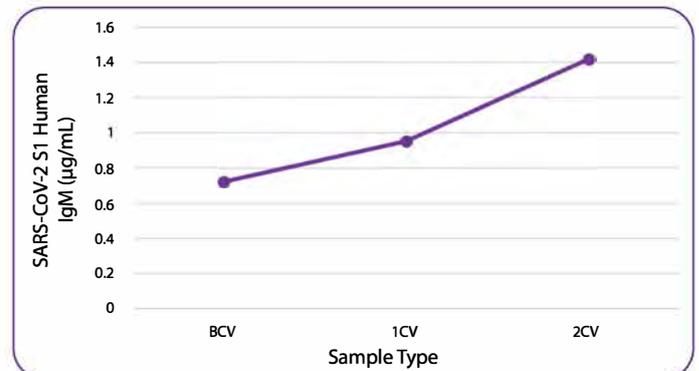
BioLegendの試薬でウイルスの主要な構成要素を調べて、COVID-19研究を加速させましょう。サイトカイン反応を調べたり、関連する抗SARS-CoV-2抗体やタンパク質（抗スパイクタンパク質抗体やヌクレオカプシドタンパク質）を定量するELISAキットもご用意しています。

COVID-19研究用ELISAキット製品の性能を検証するため、ワクチン接種前（BCV）、ファイザー社またはモデルナ社のSARS-CoV-2ワクチン1回目の接種から2週間後（1CV）、2回目の接種から2週間後（2CV）にそれぞれ採取した血清（n=26）を用いて抗SARS-CoV-2抗体を定量しました。

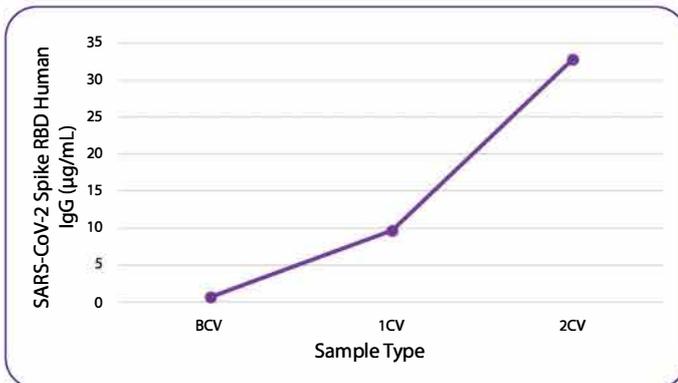
LEGEND MAX™ SARS-CoV-2 Spike Protein S1 IgG



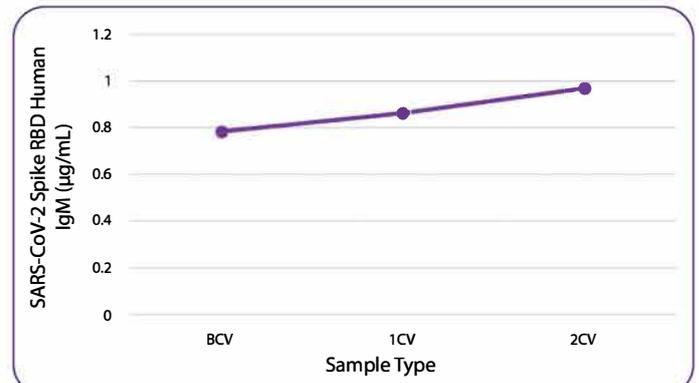
LEGEND MAX™ SARS-CoV-2 Spike Protein S1 IgM



LEGEND MAX™ SARS-CoV-2 Spike Protein RBD IgG



LEGEND MAX™ SARS-CoV-2 Spike Protein RBD IgM



その他のELISA関連製品

目的に合わせて柔軟に選択できるように、サンドイッチELISAで検証した抗体ペアとスタンダード用リコンビナントタンパク質をそれぞれ単独の製品としてご用意しています。

各抗体ペアは、捕捉用の精製抗体と検出用のビオチン標識抗体で構成されています。

ELISA用抗体ペアはこちら：biolegend.com/ja-jp/elisa-antibody-pairs

Buffers and Plates

Assay Buffers	Cat. No.
ELISA Coating Buffer (5X)	421701
ELISA Wash Buffer (20X)	421601
Assay Diluents	
ELISA Assay Diluent (5X)*	421203
ELISA Assay Diluent B (5X)*	421205
Enzyme Conjugates	
HRP Avidin	405103
HRP Streptavidin	405210

Substrate Solutions	
TMB High Sensitivity Substrate Solution**	421501
TMB Substrate Set**	421101
Stop Solution for TMB Substrate	423001
Assay Plates	
Nunc™ MaxiSorp™ ELISA Plates, Uncoated	423501
Plate Sealers	423601

*ELISA Assay Diluent (5X)は仔ウシ血清 (bovine calf serum) を、ELISA Assay Diluent B (5X)はウシ血清アルブミン (bovine serum albumin) を含有しています。

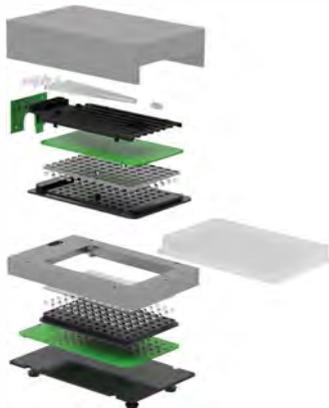
**TMB High Sensitivity Substrate SolutionはHRP標識物を検出するための基質で、使用前に調製する必要が無く、強いシグナルと高い感度が得られます。TMB Substrate SetはSubstrate A溶液とSubstrate B溶液から成るセットで、使用前にこれらの基質溶液を混合する必要があります。

Mini-ELISA Plate Reader™

ELISAの読み取りも、ELISAの他の過程と同様に効率化しましょう。BioLegendのMini ELISA Plate Reader™なら、読み取りが高速でコンパクトな装置なので、研究室での時間とスペースを節約することができます。USBケーブル1本でプラグ&プレイが可能で、96個の検出ユニットで96ウェルを同時にスキャンできます。直感的な操作で容易にプレートを読み取り、迅速にデータを取得することが可能です。



詳細はこちら：biolegend.com/ja-jp/elisa-plate-reader



特長

- 5秒以内でプレートの読み取りが可能
- 取り扱いや持ち運びに便利なコンパクトな設計
- 可動部が無いので、メンテナンス不要
- 4種類のフィルター (405 nm, 450 nm, 492 nm, 620 nm) を搭載しており、様々な基質の測定とエンドポイントアッセイ、カインティックアッセイに対応可能

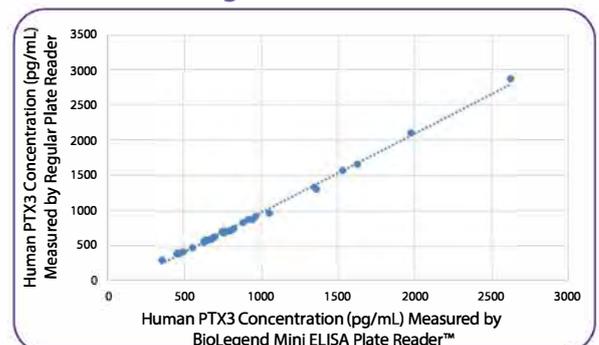
性能を犠牲にすることなく省スペースを実現できます

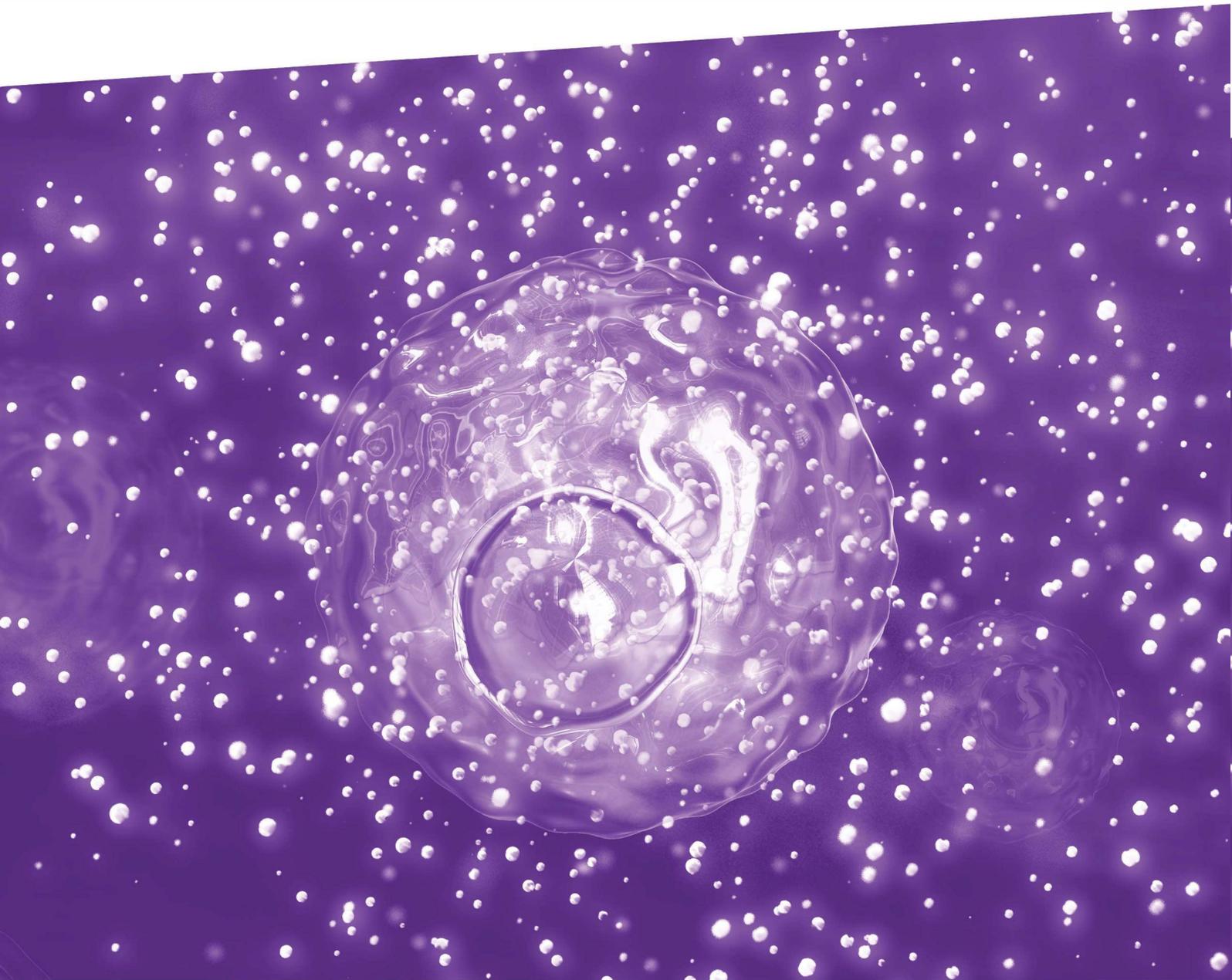
LEGEND MAX™ Human PTX3 ELISA kit (Cat. No. 446807)を用いて、ヒトの血清および血漿、細胞培養上清を解析しました。

吸光度 (O.D.) の測定は、一般的なプレートリーダーでは450 nmで読み取り、570 nmで補正しました。

BioLegend Mini ELISA Plate Reader™の場合は、450 nmで読み取り、620 nmで補正しました。サンプル濃度 (pg/mL) を算出し、サンプル濃度の相関図として示しました。

BioLegend Mini ELISA Plate Reader™ vs. Regular Plate Reader





02-0017-03

BioLegend products are manufactured in an ISO 13485:2016-certified facility to ensure the highest quality standards.

858.768.5800 | biolegend.com

輸入販売元



Digital Biology®

トミーデジタルバイオロジー株式会社

〒112-0002 東京都文京区小石川1-1-17日本生命春日駅前ビル 3階

email: info_ap@digital-biology.co.jp phone: 03-6240-0843