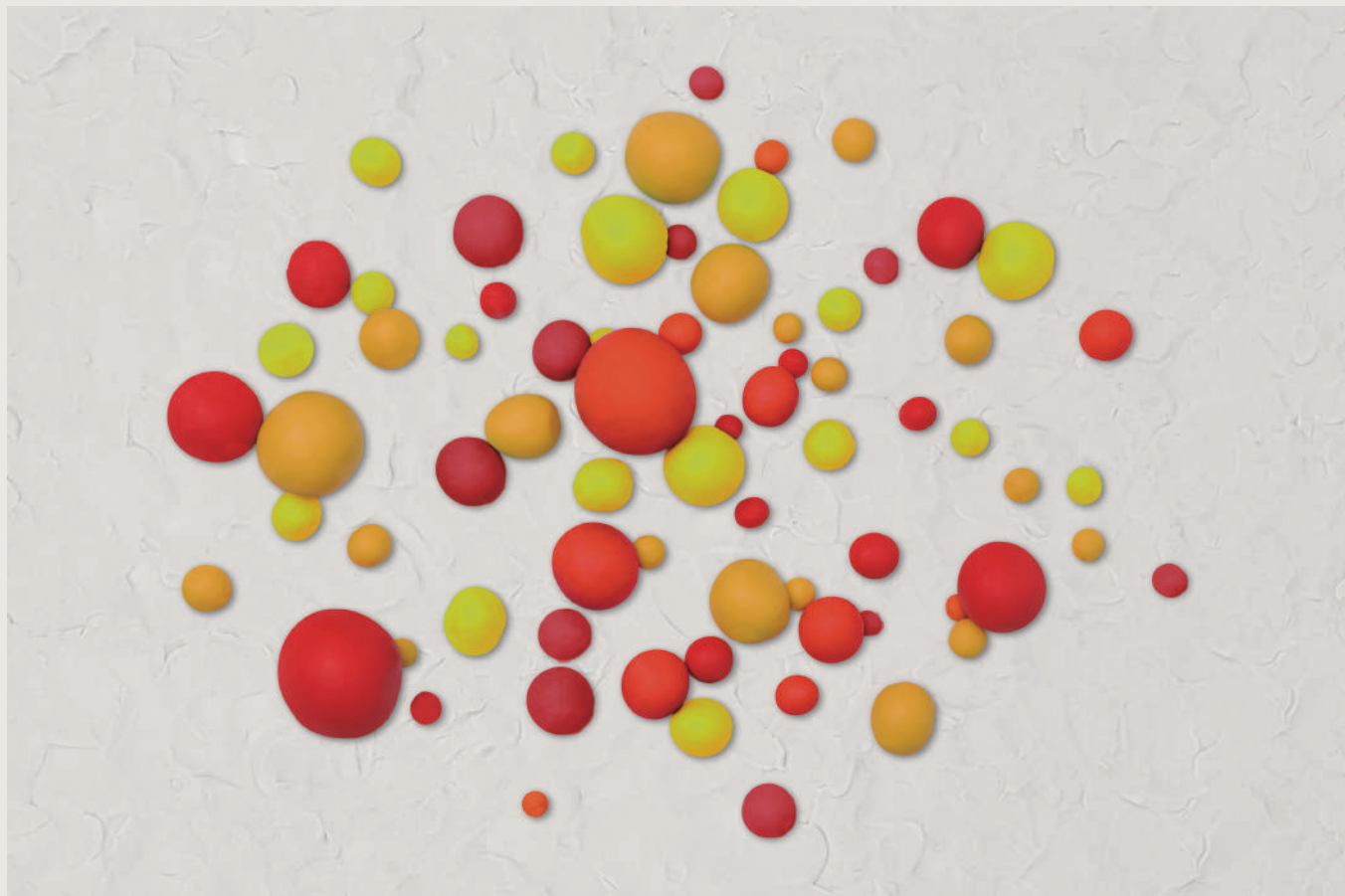


Less is More

LEGENDplex™ Multiplex Assay Kit 多因子免疫分析套組



購買 LegendPlex 送免費到府教學

一個 sample 最高可以一次性定量分析 14 個目標因子！



樣本量小



時間短



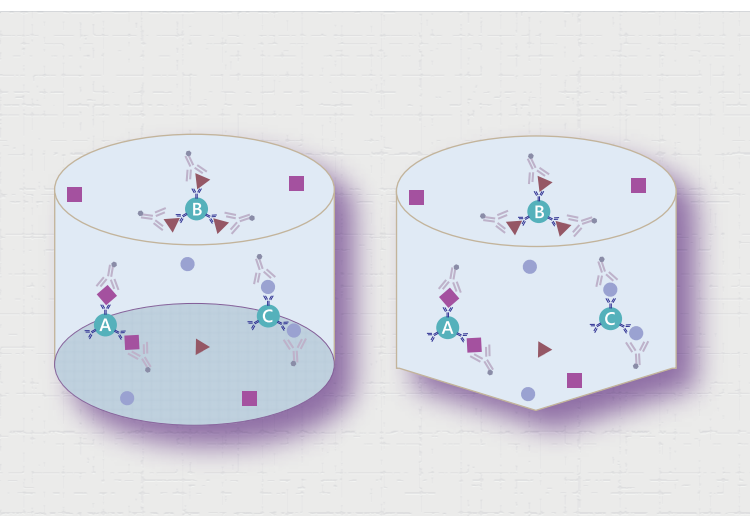
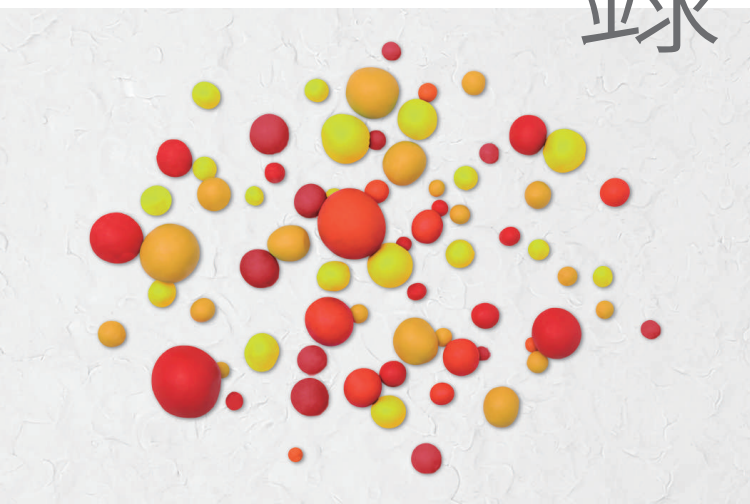
靈活搭配的 panel



免費分析軟體



目錄



0 1

LEGENDplex™ 產品簡介

適用的樣本種類	1
適用於什麼物種呢？	1
實驗流程	2
與三明治 ELISA 的比較	2
LEGENDplex™ 產品優勢	3
LEGENDplex™ 產品分類	3

0 2

LEGENDplex™ 數據分析

常見流式細胞分析儀之設定	4
數據分析軟體介紹	4
數據分析軟體簡易操作步驟	4

0 3

LEGENDplex™ 產品

Human panel	5-8
Mouse panel	9-10
Rat panel	10

0 4

常見問題

COA下載網址	11
故障排除指南	11-12

0 5

操作流程圖

Filter plate	13
V-bottom plate	13

LEGENDplex™ Multi-Analyte Flow Assay Kits

什麼是 LEGENDplex™ ？

結合偶聯抗體的螢光微珠 (capture beads) 與流式細胞分析的技術, 使用極少量的樣品, 一個樣本一次上機分析完成最多 14 種目標因子的定量分析!

LEGENDplex™ 的實驗原理與三明治酵素結合免疫吸附分析法相同, 使用2支抗體將目標因子捕獲在抗體之間, 再與螢光偶聯的 streptavidin-PE 螢光二抗, 最後使用流式細胞儀上機分析, 使用檢量線回歸定量出每個抗體中目標因子的濃度。

螢光微珠可分為 A 跟 B 兩種大小 (Fig. 1), 依螢光強度 (APC) 的不同, 可以將 A 微珠進一步分成 7 種, B 微珠分成 7 種 (Fig. 2 和 3), 每種螢光微珠可分別帶有不同的捕獲抗體 (Capture antibody), 所以最多可以檢測 **14** 種目標因子。

Figure 1. Beads Differentiated by Size

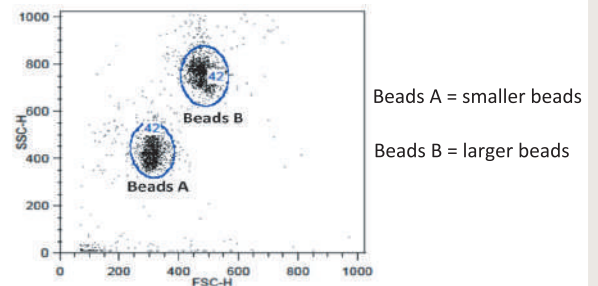


Figure 2. Beads A Classification by FL4

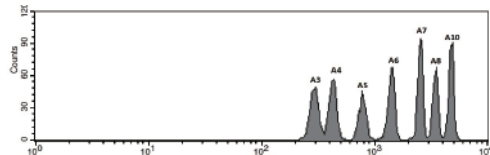
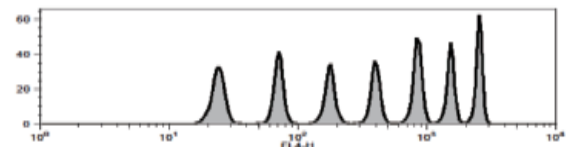


Figure 3. Beads B Classification by FL4



LEGENDplex™ 適用的樣本種類



serum | plasma



culture supernatant



tissue homogenate



biological fluids

LEGENDplex™ 適用於什麼物種呢？



HUMAN



MOUSE

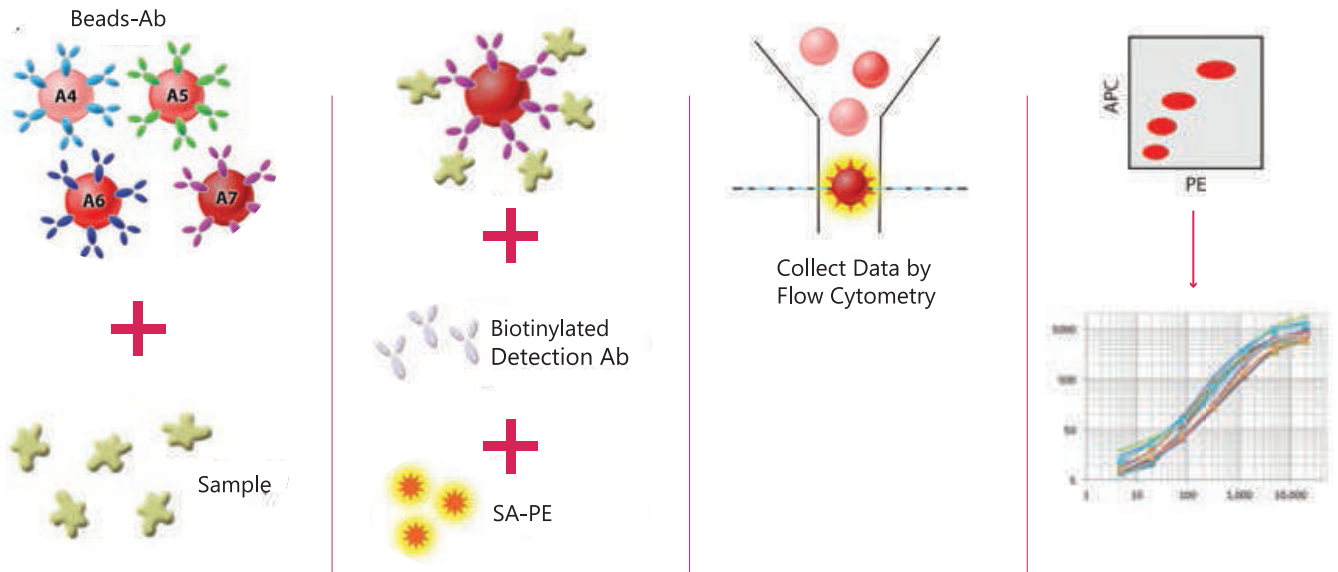


RAT



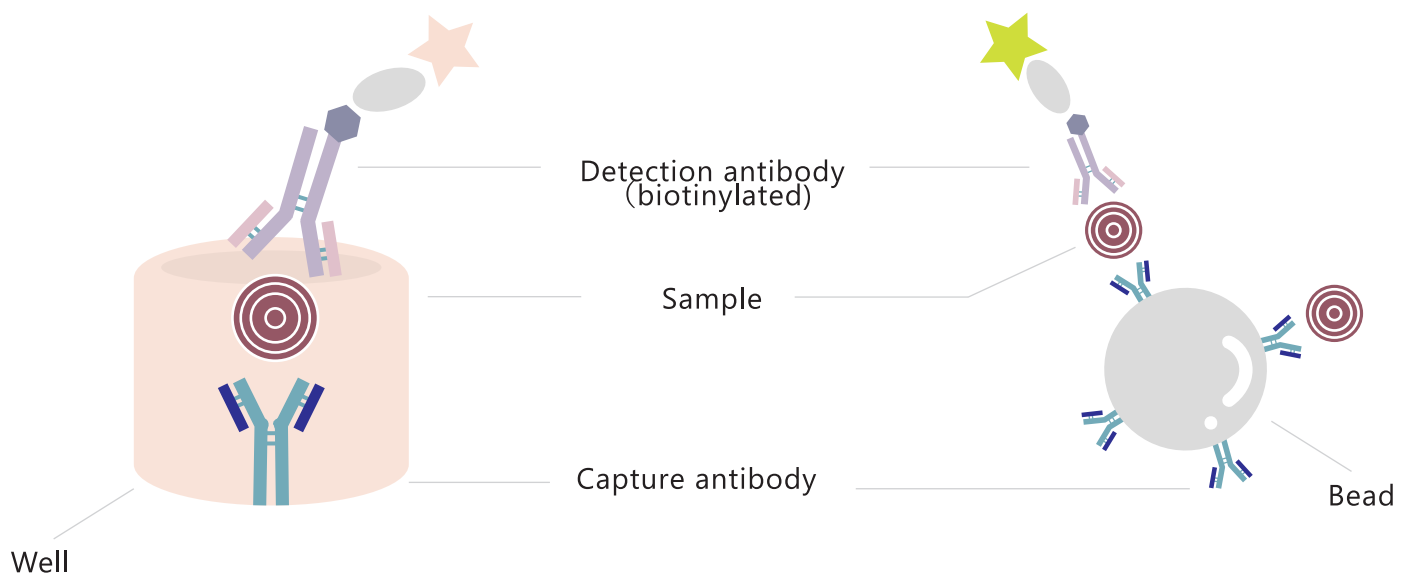
NON-HUMAN
PRIMATE

LEGENDplex™ 實驗流程



- ① 將微珠與樣本混合
室溫反應 2 小時
- ② 加入抗體反應 1 小時
SA-PE 反應 30 分鐘
- ③ 使用流式細胞儀
上機分析
- ④ 官方線上軟體分析
數據

LEGENDplex™ 與 傳統三明治 ELISA 比較



相同的實驗原理、相同的實驗步驟、更省樣本、更多數據結果

LEGENDplex™ 產品優勢

- 極少樣品使用量 (12.5~25 µl)
- 省時快速, 簡單好上手
- 每個試劑盒至少提供 100 個 tests 充足的試劑量
- 可靈活搭配適合的 Panel
- 提供免費的分析軟體
- 可檢測 PE 及 APC 螢光的流式細胞儀皆可使用

LEGENDplex™ 產品分類

Pre-defined Panel	Mix & Match	Custom
原廠構建好的組合 Panel , 一組可檢測 3~14 種目標因子, 研究領域涵蓋免疫、心血管、代謝和新冠病毒研究等, 目前品項約 50 種, 還在陸續增加中。	從現有的組合中選擇自己想要檢測的目標因子, 自行配成套組, 例如: 可從 B 細胞 Panel 內的 13 種目標因子中, 選擇其中 5 種目標因子購買。	若想要檢測的目標因子不在同一組建構好的組合 Panel 中, 可以選擇 BioLegend 的客製化服務, 由專業技術人員評估後量身打造您的專屬套組。
		

LEGENDplex™ 常見流式細胞分析儀之設定

Flow Cytometer	Reporter Channel	Channel Emission	Classification Channel	Channel Emission	Compensation needed?
BD FACSCalibur™ (single laser)	FL2	575 nm	FL3	670 nm	Yes
BD FACSCalibur™ (dual laser)	FL2	575 nm	FL4	660 nm	No*
BD FACSCanto™ , BD FACSCanto™ II	PE	575 nm	APC	660 nm	No*
BD™ LSR, LSR II, BD LSR Fortessa™	PE	575-585 nm	APC	660 nm	No*
BD FACSAria™	PE	575 nm	APC	660 nm	No*
Cytek® Aurora with YG laser	YG1	575 nm	R4	720 nm	No&
Cytek® Northern Lights and Cytek® Aurora without YG laser	B4	580 nm	R4	720 nm	No&

*Compensation is not required for the specified flow cytometers when set up properly, but is recommended for consistent results.

& Unmixing for Cytek instruments is not required.



未列出機型與
機器設定步驟

LEGENDplex™ 數據分析軟體

- 軟體內建 Beads ID，無需手動輸入
- 自動判讀微珠並圈選群落
- 線上 4 GB 儲存空間，一鍵快速瀏覽先前數據
- 可共享線上分析軟體的工作區



分析軟體資訊

Checklist

PS: 開始分析前先檢查一下資料是否足夠

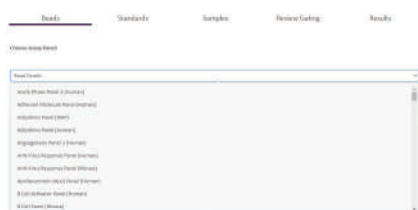
- 開通分析軟體帳號
- 檢查試劑套組 Panel 名稱
- 下載 COA
- 檢查 Flow 機器的 PE 和 APC channel
- 匯出 FCS 檔案，分類 Standard 以及 Sample

5個 ✓ ready GO!

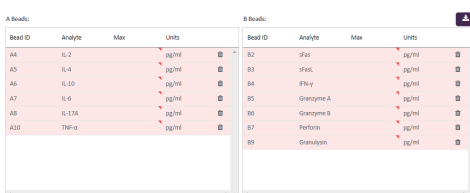
分析數據前請於昶安科技產專聯絡，我們會協助申請線上分析軟體的專用帳號~

LEGENDplex™ 分析軟體操作簡易教學

1. 選擇 Panel



2. 輸入標準品最高濃度



3. 輸入標準品資訊，匯入標準品的 FCS 檔案



4. 下拉選單選擇 PE 以及 APC channel



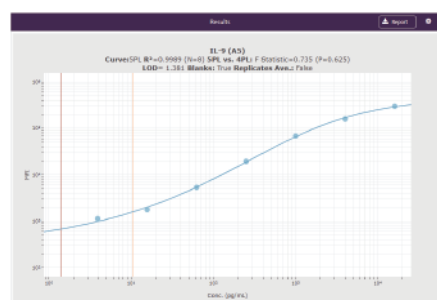
5. 輸入樣本資訊，匯入樣本的 FCS 檔案 點選 run gating (軟體自動圈選)



6. 檢視全選結果



7. 下拉選單選擇 PE 以及 APC channel



Color By: ☒ Concentration ☐ Count ☐ MFI ☐ CV (MFI)

☐ Show Concentrations outside LOD

Sample	Dilution	Replicate	Well	IL-1 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-10	IL-17A	IL-17F	IL-17E	IL-22
C1	1	2023042	2.683	5.72	1.712	7.16	5.43	4.41	5.70	6.77	2.146	3.72	2.971	3.43
C2	1	2023042	8.171	16.66	4.044	16.50	12.87	11.89	11.98	12.71	4.443	8.55	8.172	7.73
C3	1	2023042	32.716	66.35	18.205	73.09	61.53	47.61	58.89	72.48	18.739	42.41	33.739	37.13
C4	1	2023042	146.263	306.89	83.425	362.37	257.89	264.12	244.02	306.38	97.573	181.24	145.177	174.33
C5	1	2023042	622.192	1041.49	325.840	1178.11	1046.21	810.91	904.13	1010.01	466.162	693.81	557.979	623.61
C6	1	2023042	1849.884	4334.60	1045.276	4326.94	3530.28	3204.25	3822.41	4858.43	1749.358	2339.57	2234.022	2254.06
C7	1	2023042	>9000.0	>18000	>5000.0	>20000	>16000	>14000	14927.4	17497.3	4844.42	>11000	>9000.0	>10000

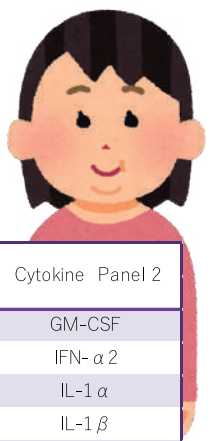


Immunology/Immune response

Panel	CD8/NK Panel	Essential Immune Response	Cytokine	Free Active/ Total TGF- β 1	Proinflammatory Chemokine		
					13-plex	12-plex	1-plex
Target	IL-2	IL-4	GM-CSF	TGF- β 1	CXCL8 (IL-8)	CXCL8 (IL-8)	
	IL-4	IL-2	IFN- α 2		CXCL10 (IP-10)	CXCL10 (IP-10)	
	IL-10	CXCL10 (IP-10)	IL-1 α		CCL11 (Eotaxin)	CCL11 (Eotaxin)	
	IL-6	IL-1 β	IL-1 β		CCL17 (TARC)	CCL17 (TARC)	
	IL-17A	TNF- α	IL-11		MCP-1	MCP-1	
	TNF- α	CCL2 (MCP-1)	IL-12 (p40)		CCL5 (RANTES)		CCL5 (RANTES)
	sFas	IL-17A	IL-12 (p70)		CCL3 (MIP-1 α)	CCL3 (MIP-1 α)	
	sFasL	IL-6	IL-15		CXCL9 (MIG)	CXCL9 (MIG)	
	IFN- γ	IL-10	IL-18		CXCL5 (ENA-78)	CXCL5 (ENA-78)	
	Granzyme A	IFN- γ	IL-23		CCL20 (MIP-3 α)	CCL20 (MIP-3 α)	
	Granzyme B	IL-12p70	IL-27		CXCL1 (GRO α)	CXCL1 (GRO α)	
	Perforin	TGF- β 1 (Free)	IL-33		CXCL11 (I-TAC)	CXCL11 (I-TAC)	
	Granulysin	CXCL8 (IL-8)	TSLP		CCL4 (MIP-1 β)	CCL4 (MIP-1 β)	
Filter Plate	741186	740929	741377	740449	740984	741080	741082
V-bottom	741187	740930	741378	740450	740985	741081	741083

Panel	T Helper Cytokine Panels						
	Th	Th1	Th2	Th1/Th2	Th17	Th9	Th22
Target	IL-5		IL-5	IL-5			
	IL-13		IL-13	IL-13			
	IL-2	IL-2		IL-2			
	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6		IL-6
	IL-9					IL-9	
	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10
	IFN- γ	IFN- γ		IFN- γ	IFN- γ		
	TNF- α	TNF- α	TNF- α	TNF- α	TNF- α	TNF- α	TNF- α
	IL-17A				IL-17A		
	IL-17F				IL-17F		
	IL-4		IL-4	IL-4			
	IL-22				IL-22		IL-22
Filter Plate	741027	741035	741033	741029	741031	741039	741037
V-bottom	741028	741036	741034	741030	741032	741040	741038

Panel	Macrophage/Microglia Panels				Immune Checkpoint Panels		
	Macrophage/ Microglia	M1	M2	M1/M2	TC (12-plex)	S/P (10-plex)	S/P (2-plex)
Target	IL-12p70	IL-12p70		IL-12p70	sCD25 (IL-2Ra)	sCD25 (IL-2Ra)	
	TNF- α	TNF- α		TNF- α	4-1BB	4-1BB	
	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	sCD27		sCD27
	IL-4		IL-4		B7.2 (CD86)	B7.2 (CD86)	
	IL-10		IL-10	IL-10	TGF- β 1 (Free)	TGF- β 1 (Free)	
	IL-1 β	IL-1 β		IL-1 β	CTLA-4	CTLA-4	
	Arginase		Arginase		PD-L1	PD-L1	
	CCL17 (TARC)		CCL17 (TARC)	CCL17 (TARC)	PD-L2		PD-L2
	IL-1RA		IL-1RA	IL-1RA	PD-1	PD-1	
	IL-12p40	IL-12p40		IL-12p40	Tim-3	Tim-3	
	IL-23	IL-23		IL-23	LAG-3	LAG-3	
	IFN- γ	IFN- γ			Galectin-9	Galectin-9	
	CXCL10 (IP-10)	CXCL10 (IP-10)		CXCL10 (IP-10)			
Filter Plate	740502	740504	740506	740508	740775	740883	740885
V-bottom	740503	740505	740507	740509	740776	740884	740886



Immunology/Immune response

Panel	B Cell Panels					Inflammation Panel-1	Cytokine Panel 2
	B Cell	B Effector 1	B Effector 2	B Effector 1/2	B Cell Activator		
Target	TNF- α	TNF- α	TNF- α	TNF- α		CCL2 (MCP-1)	GM-CSF
	IL-13		IL-13	IL-13		IFN- α 2	IFN- α 2
	IL-4		IL-4	IL-4		IFN- γ	IL-1 α
	IL-10					IL-1 β	IL-1 β
	IL-6		IL-6	IL-6		IL-6	IL-11
	IL-2		IL-2	IL-2		IL-8	IL-12 (p40)
	TNF- β	TNF- β		TNF- β		IL-10	IL-12 (p70)
	IFN- γ	IFN- γ		IFN- γ		IL-12 (p70)	IL-15
	IL-17A			IL-17A		IL-17A	IL-18
	IL-12p70	IL-12p70		IL-12p70		IL-18	IL-23
	APRIL				APRIL	IL-23	IL-27
	BAFF				BAFF	IL-33	IL-33
	CD40L				CD40L	TNF- α	TSLP
Filter Plate	740526	740528	740530	740532	740534	740808	741377
V-bottom	740527	740529	740531	740533	740535	740809	741378

Panel	Inflammation Panels	Proinflammatory Chemokine					Acute Phase
	Tissue culture	Serum/Plasma (11-plex)	Serum/Plasma (2-plex)	Tissue culture (13-plex)	Serum/Plasma (12-plex)	Serum/Plasma (1-plex)	
Target	TGF- β 1 (Free)	TGF- β 1 (Free)		CCL2	CCL2		α 2-macroglobulin
	PAI-1		PAI-1	CCL5			α 1-AGP
	sTREM-1	sTREM-1		CXCL10	CXCL10		Haptoglobin
	PTX3	PTX3		CCL11	CCL11		α 1-antitrypsin
	sCD40L	sCD40L		CCL17	CCL17		Ceruloplasmin
	sCD25 (IL-2Ra)	sCD25 (IL-2Ra)		CCL3	CCL3		Fibrinogen
	CXCL12 (SDF1)	CXCL12 (SDF1)		CCL4	CCL4		Prothrombin
	sST2	sST2		CXCL9	CXCL9		SAP
	sTNF-RI	sTNF-RI		CCL20	CCL20		
	sTNF-RII	sTNF-RII		CXCL5	CXCL5	CCL5	
	sRAGE	sRAGE		CXCL1	CXCL1		
	CX3CL1 (Fractalkine)	CX3CL1 (Fractalkine)		CXCL11	CXCL11		
	sCD130 (gp130)		sCD130 (gp130)	CXCL8	CXCL8		
Filter Plate	740775	740883	740885	740984	741080	741082	740999
V-bottom	740776	740884	740886	740985	741081	741083	741000

Panel	Immunoglobulin Isotyping Panels					Neuro-Inflammation	Adhesion Molecule
	IgG (8-plex)	IgG (6-plex)	IgG (4-plex)	IgE	IgD		
Targets	IgG1	IgG1	IgG1			VILIP-1	CD44
	IgG2	IgG2	IgG2			CCL2 (MCP-1)	ICAM-1
	IgG3	IgG3	IgG3			sTREM-2	ICAM-2
	IgE			IgE		BDNF	PSGL-1
	IgG4	IgG4	IgG4			TGF- β 1 (Free)	NCAM
	IgA	IgA				VEGF	ALCAM
	IgM	IgM				IL-6	VCAM-1
	IgD				IgD	sTREM-1	E-selectin
						β -NGF	PECAM-1
						IL-18	P-selectin
						TNF- α	EpCAM
						sRAGE	ICAM-3
						CX3CL1 (Fractalkine)	L-selectin
Filter Plate	740637	740639	740714	740641	740643	740795	740945
V-bottom	740638	740640	740715	740642	740644	740796	740946



Cardiovascular disease

Panel	Vascular Inflammation panel					Apolipoprotein	Fibrinolysis
	TC	S/P	CRP	U (10-plex)	U (3-plex)		
Target	Myoglobin	Myoglobin		Myoglobin		Apo AI	Fibrinogen
	MRP8/14	MRP8/14			MRP8/14	Apo AII	Anti-thrombin
	NGAL	NGAL		NGAL		Apo B100	Plasminogen
	CRP		CRP	CRP		Apo CII	Prothrombin
	MMP-2	MMP-2		MMP-2		Apo CIII	Factor XIII
	OPN	OPN			OPN	Apo D	
	MPO	MPO		MPO		Apo E	
	SAA	SAA		SAA		Apo E4	
	IGFBP-4	IGFBP-4		IGFBP-4		Apo H	
	ICAM-1	ICAM-1		ICAM-1		Apo J	
	VCAM-1	VCAM-1		VCAM-1		Apo M	
	MMP-9	MMP-9		MMP-9			
	Cystatin C	Cystatin C			Cystatin C		
Filter Plate	740551	740589	740591	740593	740595	740453	740760
V-bottom	740552	740590	740592	740594	740596	740454	740761

Panel	Vascular Inflammation Panels-2			Human Thrombosis Panels			Angiogenesis
	13-plex	11-plex	2-plex	10-plex	7-plex	3-plex	
Targets	sST2	sST2		IL-6		IL-6	IL-6
	sRAGE	sRAGE		P-selectin	P-selectin		Angiopoietin-1
	TIE-2		TIE-2	D-Dimer	D-Dimer		Angiopoietin-2
	sCD40L	sCD40L		PSGL-1	PSGL-1		EGF
	TIE-1		TIE-1	tPA	tPA		FGF-basic
	Flt-1	Flt-1		sCD40L	sCD40L		CXCL8 (IL-8)
	LIGHT	LIGHT		PAI-1	PAI-1		PECAM-1
	TNF- α	TNF- α		Tissue Factor		Tissue Factor	PIGF
	PIGF	PIGF		Factor IX	Factor IX		VEGF
	IL-6	IL-6		CXCL8 (IL-8)		CXCL8 (IL-8)	TNF- α
	IL-18	IL-18					
	IL-10	IL-10					
	CCL2 (MCP-1)	CCL2 (MCP-1)					
Filter Plate	740965	740977	740979	740891	740905	740907	741214
V-bottom	740966	740978	740980	740892	740906	740908	741215

Metabolism

Panel	Metabolism	Adipokine	Growth Factor	Human Diabetesity Panels		
				Tissue culture (11-plex)	Serum/ Plasma (7-plex)	Serum/ Plasma (4-plex)
Target	Adiponectin	Adiponectin	Angiopoietin-2	PAI-1		PAI-1
	Adipsin	Adipsin	EGF	GLP-1 (Total)	GLP-1 (Total)	
	Leptin	IFN- γ	EPO	Insulin		Insulin
	Resistin	IL-1 β	FGF-basic	C-Peptide	C-Peptide	
		IL-6	G-CSF	TNF- α	TNF- α	
		IL-8	GM-CSF	Glucagon	Glucagon	
		IL-10	HGF	Leptin		Leptin
		IP-10	M-CSF	Cortisol		Cortisol
		Leptin	PDGF-AA	IL-1 β	IL-1 β	
		MCP-1	PDGF-BB	IL-6	IL-6	
		RBP4	SCF	GLP-1 (Active)	GLP-1 (Active)	
		Resistin	TGF- α			
		TNF- α	VEGF			
Filter Plate	740212	740196	740180	740909	740911	740913
V-bottom	741063	-	741061	740910	740912	740914

Metabolism



Panel	Metabolism	Adipokine	Growth Factor	Human Diabetes Panels		
				Tissue culture (11-plex)	Serum/ Plasma (7-plex)	Serum/ Plasma (4-plex)
Target	Adiponectin	Adiponectin	Angiopoietin-2	PAI-1		PAI-1
	Adipsin	Adipsin	EGF	GLP-1 (Total)	GLP-1 (Total)	
	Leptin	IFN- γ	EPO	Insulin		Insulin
	Resistin	IL-1 β	FGF-basic	C-Peptide	C-Peptide	
		IL-6	G-CSF	TNF- α	TNF- α	
		IL-8	GM-CSF	Glucagon	Glucagon	
		IL-10	HGF	Leptin		Leptin
		IP-10	M-CSF	Cortisol		Cortisol
		Leptin	PDGF-AA	IL-1 β	IL-1 β	
		MCP-1	PDGF-BB	IL-6	IL-6	
		RBP4	SCF	GLP-1 (Active)	GLP-1 (Active)	
		Resistin	TGF- α			
		TNF- α	VEGF			
Filter Plate	740212	740196	740180	740909	740911	740913
V-bottom	741063	-	741061	740910	740912	740914

COVID-19

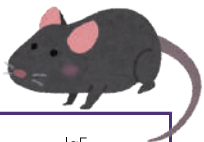
Panel	COVID-19 Cytokine Storm Panel 1			COVID-19 Cytokine Storm Panel 2			SARS-CoV-2 Neutralization Ab
	14-plex	13-plex	1-plex	13-plex	12-plex	1-plex	
Targets	IL-6	IL-6		IL-13	IL-13		ACE2
	CCL2 (MCP-1)	CCL2 (MCP-1)		GM-CSF	GM-CSF		
	G-CSF	G-CSF		IL-1 β	IL-1 β		
	IFN- α 2	IFN- α 2		IL-5	IL-5		
	CCL5 (RANTES)		CCL5 (RANTES)	sCD25 (IL-2Ra)	sCD25 (IL-2Ra)		
	IL-2	IL-2		IL-4	IL-4		
	IFN- γ	IFN- γ		VEGF	VEGF		
	IL-7	IL-7		IL-17A	IL-17A		
	IL-1RA	IL-1RA		IL-18	IL-18		
	CXCL8 (IL-8)	CXCL8 (IL-8)		APRIL		APRIL	
	TNF- α	TNF- α		CCL4 (MIP-1 β)	CCL4 (MIP-1 β)		
	CXCL10 (IP-10)	CXCL10 (IP-10)		IL-15	IL-15		
	CCL3 (MIP-1 α)	CCL3 (MIP-1 α)		IL-12p70	IL-12p70		
Filter Plate	IL-10	IL-10					
V-bottom	741088	741090	741092	741111	741141	741143	741126
V-bottom	741089	741091	741093	741112	741142	741144	741127

Panel	SARS-CoV-2 Serological IgA	SARS-CoV-2 Serological IgG	Anti-Virus Response Panels	
			Anti-Virus	Interferon
Targets	SARS-CoV-2 S1 Spike Protein	SARS-CoV-2 Nucleocapsid	IL-1 β	
			IL-6	
			TNF- α	
	SARS-CoV-2 S Protein RBD	SARS-CoV-2 S Protein RBD	IP-10	
			IFN- λ 1 (IL-29)	IFN- λ 1 (IL-29)
			IL-8	
			IL-12p70	
			IFN- α 2	IFN- α 2
			IFN- λ 2/3 (IL-28A/B)	IFN- λ 2/3 (IL-28A/B)
			GM-CSF	
			IFN- β	IFN- β
			IL-10	
			IFN- γ	IFN- γ
Filter Plate	741138	741131	740349	740350
V-bottom	741139	741132	740390	740396



Human
全系列產品線

Anti-Virus & Immunology/Immune response



Panel	Anti-Virus Response Panel		Cytokine	Cytokine Release Syndrome	Free Active/ Total TGF-β1	Immunoglobulin Isotyping	IgE
	Anti-Virus	Type 1/2 Interferon					
Target	IFN-γ	IFN-γ	GM-CSF	IFN-γ	TGF-β1	IgG1	IgE
	CXCL1 (KC)		IFN-β	IL-10		IgG2a	
	TNF-α		IL-1α	CCL4 (MIP-1β)		IgG3	
	CCL2 (MCP-1)		IL-1β	IFN-α		IgA	
	IL-12p70		IL-3	CXCL9 (MIG)		IgM	
	CCL5 (RANTES)		IL-7	CXCL10 (IP-10)		IgG2b	
	IL-1β		IL-11	TNF-α			
	CXCL10 (IP-10)		IL-12 (p40)	IL-6			
	GM-CSF		IL-12 (p70)	VEGF			
	IL-10		IL-23	IL-4			
	IFN-β	IFN-β	IL-27	CCL3 (MIP-1α)			
	IFN-α	IFN-α	IL-33	CCL2 (MCP-1)			
	IL-6		TSLP	GM-CSF			
Filter Plate	740621	740635	740134	741023	740489	740492	740769
V-bottom	740622	740636	-	741024	740490	740493	740770

Panel	B Cell Panel						
	B cell (13-plex)	S/P (12-plex)	B Effector 1/2	B Effector 2	B Effector 1	Regulatory B cell	S/P (1-plex)
Target	IL-4	IL-4	IL-4	IL-4			
	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6			
	IL-12p70	IL-12p70	IL-12p70		IL-12p70		
	IL-17A	IL-17A	IL-17A				
	IL-2	IL-2	IL-2	IL-2			
	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α		
	TGF-β1 (Free Active)	TGF-β1 (Free Active)				TGF-β1 (Free Active)	
	IL-13	IL-13	IL-13	IL-13			
	IFN-γ	IFN-γ	IFN-γ		IFN-γ		
	BAFF						BAFF
	BCMA	BCMA					
	sCD40L	sCD40L					
	IL-10	IL-10				IL-10	
Filter Plate	740818	740826	740820	740822	740824	740828	740982
V-bottom	740819	740827	740821	740823	740825	740829	740983

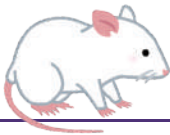
Panel	Macrophage/Microglia Panels				Immune Checkpoint Panels		
	Macrophage/ Microglia	M1	M2	M1/M2	TC (12-plex)	S/P (10-plex)	S/P (2-plex)
Target	IL-12p70	IL-12p70		IL-12p70	sCD25 (IL-2Ra)	sCD25 (IL-2Ra)	
	TNF- α	TNF- α		TNF- α	4-1BB	4-1BB	
	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	sCD27		sCD27
	IL-4		IL-4		B7.2 (CD86)	B7.2 (CD86)	
	IL-10		IL-10	IL-10	TGF- β 1 (Free)	TGF- β 1 (Free)	
	IL-1 β	IL-1 β		IL-1 β	CTLA-4	CTLA-4	
	Arginase		Arginase		PD-L1	PD-L1	
	CCL17 (TARC)		CCL17 (TARC)	CCL17 (TARC)	PD-L2		PD-L2
	IL-1RA		IL-1RA	IL-1RA	PD-1	PD-1	
	IL-12p40	IL-12p40		IL-12p40	Tim-3	Tim-3	
	IL-23	IL-23		IL-23	LAG-3	LAG-3	
	IFN- γ	IFN- γ			Galectin-9	Galectin-9	
	CXCL10 (IP-10)	CXCL10 (IP-10)		CXCL10 (IP-10)			
Filter Plate	740502	740504	740506	740508	740775	740883	740885
V-bottom	740503	740505	740507	740509	740776	740884	740886

Immunology/Immune response & Stem cell



Panel	Macrophage/Microglia Panel			Hematopoietic Stem Cell Panel			
	13-plex	8-plex	6-plex	HSC	HSC Lymphoid	HSC Erythroid	HSC Myeloid
Target	CXCL1 (KC)	CXCL1 (KC)		IL-34			IL-34
	TGF-β1 (Free)		TGF-β1 (Free)	IL-5			IL-5
	IL-18	IL-18		M-CSF			M-CSF
	IL-23	IL-23		TPO		TPO	
	CCL22 (MDC)		CCL22 (MDC)	IL-6	IL-6	IL-6	
	IL-10		IL-10	GM-CSF		GM-CSF	GM-CSF
	IL-12p70	IL-12p70		IL-15	IL-15		
	IL-6	IL-6	IL-6	TGF-β1	TGF-β1	TGF-β1	TGF-β1
	TNF-α	TNF-α		IL-3	IL-3		
	G-CSF		G-CSF	LIF	LIF		
	CCL17 (TARC)		CCL17 (TARC)	SCF	SCF	SCF	SCF
	IL-12p40	IL-12p40		EPO		EPO	
	IL-1β	IL-1β		CXCL12 (SDF-1)	CXCL12 (SDF-1)	CXCL12 (SDF-1)	CXCL12 (SDF-1)
Filter Plate	740845	740847	740849	740676	740678	740680	740682
V-bottom	740846	740848	740850	740677	740679	740681	740683

Immunology/Immune response

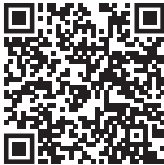


Panel	Rat Inflammation Panel V02	Rat Th Cytokine Panel V02					
		13-Plex	9-Plex	8-Plex	7-Plex	6-Plex	5-Plex
Target	TNF-α	IL-9					
	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10	IL-10
	IFN-γ	IFN-γ	IFN-γ	IFN-γ		IFN-γ	IFN-γ
	CXCL1 (KC)	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α
	CCL2 (MCP-1)	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6
	GM-CSF	IL-17A		IL-17A			
	IL-18	GM-CSF	GM-CSF	GM-CSF	GM-CSF	GM-CSF	
	IL-12 (p70)	IL-5	IL-5		IL-5		
	IL-1β	IL-2	IL-2			IL-2	
	IL-17A	IL-4	IL-4		IL-4		IL-4
	IL-33	IL-17F		IL-17F			
	IL-1α	IL-13	IL-13		IL-13		
	IL-6	IL-22		IL-22			
Filter Plate	741395	741219	741227	741229	741231	741233	741235
V-bottom	741396	741220	741228	741230	741232	741234	741236

Panel	Free Active/ Total TGF-β1
Target	TGF-β1
Filter Plate	740489
V-bottom	740490



Mouse
全系列產品線



Rat
全系列產品線



Non-Human Primates
全系列產品線

LEGENDplex™ 常見問題



掃描下載 COA

1. 流式細胞儀匯出檔案要是什麼格式的呢？

可以匯出 FCS 2.0 或是 FCS 3.0 的檔案哦~

2. COA 要怎麼下載呢？

可以到以下網址, 輸入在試劑盒側面標籤紙上寫的批號 (B開頭的數字, 輸入時需包含 B) 哦~
<https://www.biolegend.com/en-us/certificate-of-analysis>

3. 分析軟體帳號要怎麼申請呢？

可以把申請人的 email 傳給昶安業務員, 我們會助申請哦~

4. 每一次的分析要acquire多少顆微珠呢？

一個 analyte 建議要收集 300顆微珠, 例如: 8個 target 要收集 $8 \times 300 = 2400$ 顆微珠。

5. 結果圖要用什麼單位呈現呢？

軟體分析出來的結果有5個指標, 包含了濃度 (concentration)、微珠數量 (count)、平均螢光強度 (MFI) 以及變異係數 (CV)。選擇濃度 (concentration) 即為細胞因子表現的濃度其單位為 pg/ml。

LEGENDplex™ 故障排除指南

問題	可能原因	解決方法
高背景值	交叉污染	*加入試劑到不同孔時要更換微量吸管尖
	清洗不完全	*背景值可能來自於 SA-PE 的非特异性結合, 可增加清洗次數來改善
樣本訊號落在標準曲線外	樣本內分析物濃度低於偵測範圍	*確保實驗流程按照說明書操作, 使用適當的陽性對照組
	樣本內分析物濃度高於最高濃度的標準品	*樣本稀釋後重新分析
微珠群沒有出現或微珠數量不一致	樣本過於黏稠導致微珠凝聚	*離心樣本並取上清液做實驗。若離心後含有太多脂質, 則需移除脂質層。
	微珠未充分混勻	*微珠充分混合, 加入相同量的微珠到樣本中
訊號過高, 標準曲線訊號飽和	PE/FL2 的 PMT 設置過高	*確認 PE 訊號的 PMT 設置適當
	反應時間過久	*縮短反應時間
標準曲線訊號過低或是標準曲線不佳	標準品配製出錯	*參照說明書回溶、稀釋和保存標準品
	反應時間過短	*確保反應時間適當

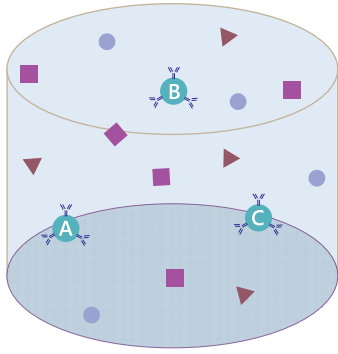
LEGENDplex™ 故障排除指南

問題	可能原因	解決方法
上機時，微珠群向上或向下飄移	PE 訊號過強，螢光溢出到其他通道(例如: FL3 / FL4 / APC)，並干擾微珠分離。	使用“Set up beads”重新優化儀器設置，並在通道之間進行適當的補償。
過濾膜盤無法抽真空或部分過濾膜堵塞	真空壓力不足或是抽氣設備沒有完全密封	- 增加真空壓力，達到 3-5 秒內能抽 0.2 ml 液體的強度 - 清理抽真空裝置，確保沒有異物堵塞 - 輕壓過濾盤，確保盤子與抽真空裝置密合
	樣本內含有不可溶物質或是樣本過於黏稠	- 離心樣本並取上清液做實驗。若離心後含有太多脂質，則需移除脂質層。 - 適當稀釋樣本 - 若濾膜還是有堵塞可嘗試以下方法: - 加入緩衝液到堵塞的孔中，上下混合，重新抽真空 - 準備乾淨的拭鏡紙，輕擦過濾膜孔底部，重新抽真空 - 準備細的針頭（例如: 胰島素專用針頭），輕戳堵塞孔內的小孔，重新抽真空。切記不可戳破過濾膜。
	過濾膜沒有先浸潤	加入樣本前預先使用清洗緩衝液浸潤過濾膜
上機速度慢或微珠數量不足	微珠處理過程不確實	- 預先使用超聲波震盪器和試管震盪器處理微珠 - 微珠加入孔盤前務必充分混合
	樣本過於黏稠導致微珠凝聚	- 離心樣本並取上清液做實驗。若離心後含有太多脂質，則需移除脂質層。 - 適當稀釋樣本
	清洗過程導致微珠流失	離心後確認微珠沉澱在試管底部(微珠為藍色)，小心移除上清液
	儀器探針堵塞	清洗儀器探針，若有需要，將探針卸下進行超聲波清洗
過濾膜盤滲漏	真空壓力設置過高	調整真空壓力，建議調整至 3-5 秒內能抽 0.2 ml 液體的強度，壓力不可超過 10" Hg
	過濾膜直接接觸物體表面	將過濾膜盤放置於倒蓋的蓋子上，避免過濾膜直接接觸物體表面
	微量吸管尖戳破過濾膜	沿著孔壁加入試劑
上機時 SSC/FSC 出現碎片	碎片或血小板可能存在於檢體中	離心樣本並儘可能移除血小板
二重複樣本間變異性大	微珠凝聚	預先使用超聲波震盪器和試管震盪器處理微珠
	多爪微量分注器沒有校正或是移液過程	校正微量分注器，確保良好的移液操作
	清洗步驟操作不一致	清洗過程須確保每個孔中的液體移除確實

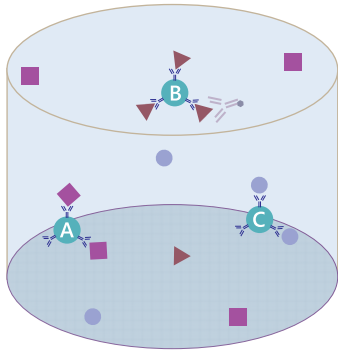
LEGENDplex™ 簡易操作流程圖

Filter plate

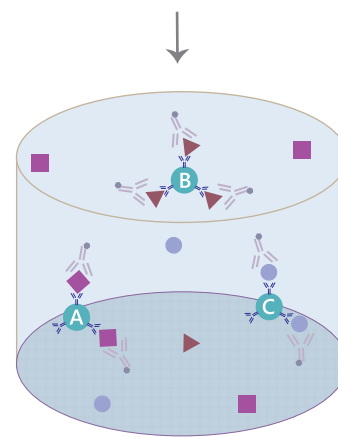
加入 100 μ L 的 1X wash buffer 浸潤 filter plate
使用真空抽氣裝置去除 wash buffer



以 500 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 2小時



使用 1X wash buffer 清洗 2次, 使用真空抽氣裝置去除 wash buffer
加入 25 μ L detection antibody
以 500 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 1小時



(勿清洗) 直接加入 25 μ L SA-PE
以 500 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 30分鐘

使用 1X wash buffer 清洗 2次, 使用真空抽氣裝置去除 wash buffer
加入 150 μ L 1X washing buffer 重懸孔洞中的微珠
即可進行流式細胞分析儀上機

V-bottom plate

(1) 加入 25 μ L assay buffer
至所有孔中。

【 如果樣本是 serum/plasma
則標準品孔加入 25 μ L matrix 】

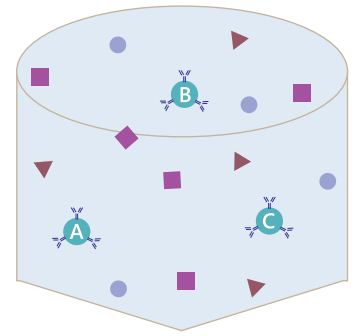
(2) 加入 25 μ L 序列稀釋的標
準品至對應的標準品孔中。

(3) 加入 25 μ L 樣品至樣品孔
中。

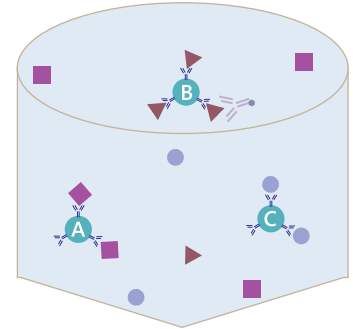
(4) 添加 25 μ L 預混合 capture
beads 至所有的孔中。

備註:

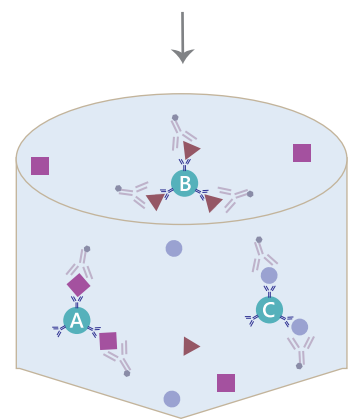
不同型號可能會有些許落差,
詳細操作流程請見原廠操作手冊



以 800 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 2小時



將 beads 離心至底部, 輕輕倒扣去除上清液
加入 1X wash buffer 後, 重複離心步驟去除上清液
加入 25 μ L detection antibody
以 800 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 1小時



(勿清洗) 直接加入 25 μ L SA-PE
以 800 rpm 轉速在室溫下搖晃反應 30分鐘

將 beads 離心至底部, 輕輕倒扣去除上清液
加入 1X wash buffer 後, 離心步驟去除上清液
加入 150 μ L 1X washing buffer 重懸孔洞中的微珠
即可進行流式細胞分析儀上機



Filter
plate



V-bottom
plate



Capture
Beads



Sample
Analytes



Biotinylated
Detection Antibody

MEMO

備
忘
錄

Less is More

LEGENDplex™ Multiplex Assay Kit 多因子免疫分析套組

一個 sample 最高可以一次性定量分析 14 個目標因子！

 **EXCEL** 昶安生技
BIOMEDICAL
www.exbio.com.tw

