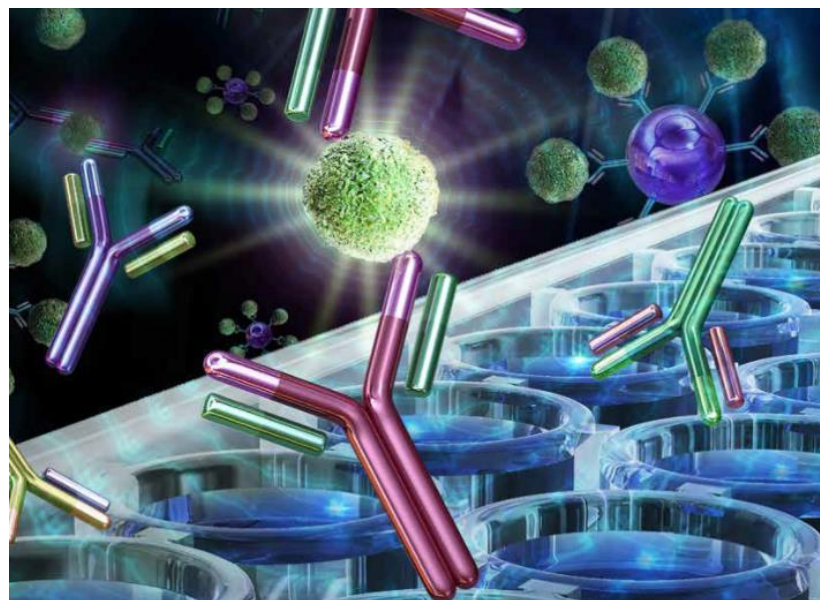


Réunion Technique : Présentation de la technique ELISA multiplex



Thomas Gautier

Avantages



- Permet de quantifier jusqu'à 13 cytokines en simultanées sur un échantillon (kit prêt à l'emploi, kit à façon, kit à reconstituer)

- Plus sensible que la technique d'ELISA classique

Analytes	LEGENDplex™ Sensitivity (pg/mL)*	ELISA Sensitivity (pg/mL)**
IFN- γ	1.1	4
TNF- α	0.7	3.5
IL-2	1.4	4

- Utilisable sur le sérum, plasma et surnageant de culture cellulaire

- Résultats en 10 heures (environ)

- Analyse par cytométrie en flux (FACS)

- Moins cher au rendement qu'un test ELISA classique

- ☐ ELISA : 500 euros le kit pour 1 cytokine

- ☐ ELISA Multiplex : 1000 euros le kit pour 13 cytokines

Différents kit

LEGENDplex™ Mouse Anti-Virus Response Panel (13-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740621	100 tests
LEGENDplex™ Mouse Anti-Virus Response Panel (13-plex) with V-bottom Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740622	100 tests
LEGENDplex™ Mouse Cytokine Panel 2 (13-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740134	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Erythroid Panel (7-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740680	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Erythroid Panel (7-plex) with V-bottom Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740681	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Lymphoid Panel (7-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740678	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Lymphoid Panel (7-plex) with V-bottom Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740679	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Myeloid Panel (7-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740682	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Myeloid Panel (7-plex) with V-bottom Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740683	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Panel (13-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740676	100 tests
LEGENDplex™ Mouse HSC Panel (13-plex) with V-bottom Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740677	100 tests
LEGENDplex™ Mouse Inflammation Panel (13-plex) with Filter Plate	Y	Multiplex - Panel	RUO	740150	100 tests

Humain

LEGENDplex™ HU Essential Immune Response Panel (13-plex) w/FP

Pricing & Availability

[Kit Contents](#)

[Product Details](#)

[Antigen Details](#)

[Documentation](#)

[Reviews](#)

Regulatory Status RUO

Other Names IL-4, IL-2, CXCL10 (IP-10), IL-1β, TNF-α, CCL2 (MCP-1), IL-17A, IL-6, IL-10, IFN-γ, IL-12p70, CXCL8 (IL-8), TGF-β1

Ave. Rating [Submit a Review](#)

Product Citations [1 publications](#)

Souris

LEGENDplex™ Mouse Inflammation Panel (13-plex) with Filter Plate

Pricing & Availability

[Kit Contents](#)

[Product Details](#)

[Antigen Details](#)

Regulatory Status RUO

Other Names IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12 p70, IL-23, IL-27, IFN-b, IL-17A, MCP-1, TNF-a, IFN-g, GM-CSF, IL-1 alpha, IL-1 beta, IFN beta, TNF alpha, IFN gamma, il1 alpha, il-1 alpha, il1alpha, il1 a, il-1 a, il1a

Rat

LEGENDplex™ Rat Inflammation Panel (13-plex) with Filter Plate

Pricing & Availability

[Kit Contents](#)

[Product Details](#)

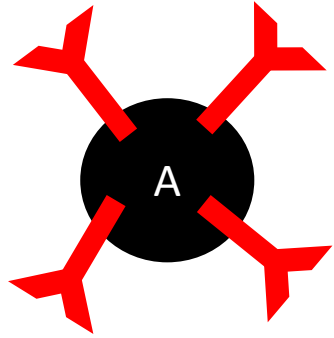
[Antigen Details](#)

Regulatory Status RUO

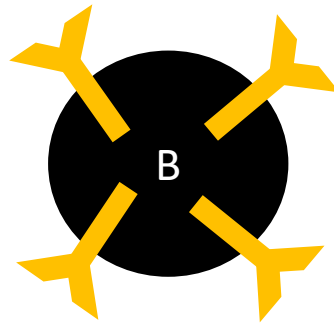
Other Names Multiplex, Flow cytometry, Innate immunity, Innate immune cells, IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-33, CXCL1 (KC), CCL2 (MCP-1), GM-CSF, IFN-γ, TNF-α

Principe ELISA Multiplex LegendPLEX™

- 2 types de billes greffées avec des anticorps spécifiques d'une cytokine à leurs surfaces



Petite taille (6)
(A1 à A6)

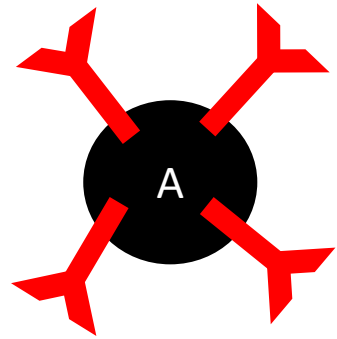


Grande taille (7)
(B1 à B7)

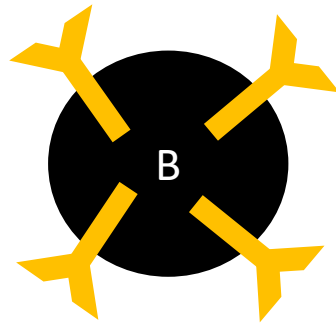
Méthode de détection par
sandwich

Principe ELISA Multiplex LegendPLEX™

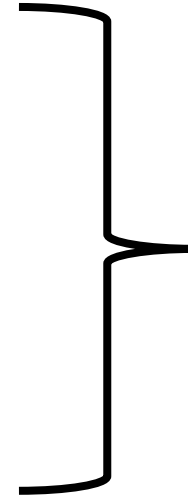
- 2 types de billes greffées avec des anticorps spécifiques d'une cytokine à leurs surfaces



Petite taille (6)
(A1 à A6)



Grande taille (7)
(B1 à B7)

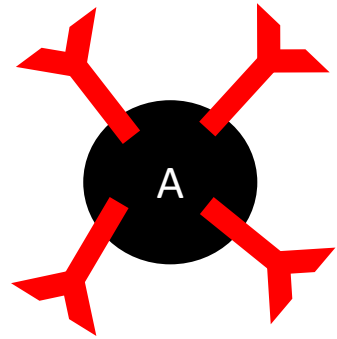


Fluorescence APC interne
différente entre les 13
billes

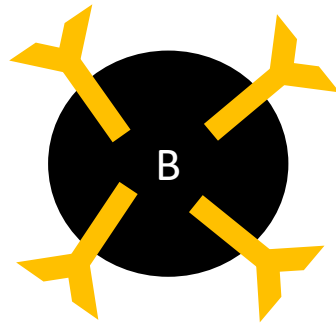
Méthode de détection par
sandwich

Principe ELISA Multiplex LegendPLEX™

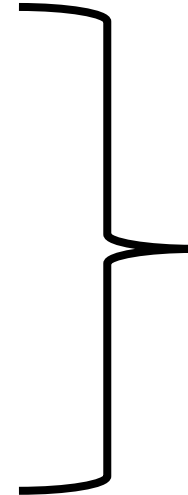
- 2 types de billes greffées avec des anticorps spécifiques d'une cytokine à leurs surfaces



Petite taille (6)
(A1 à A6)

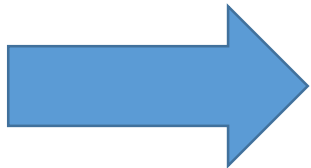


Grande taille (7)
(B1 à B7)



Fluorescence APC interne
différentes entre les 13
billes

Méthode de détection par
sandwich

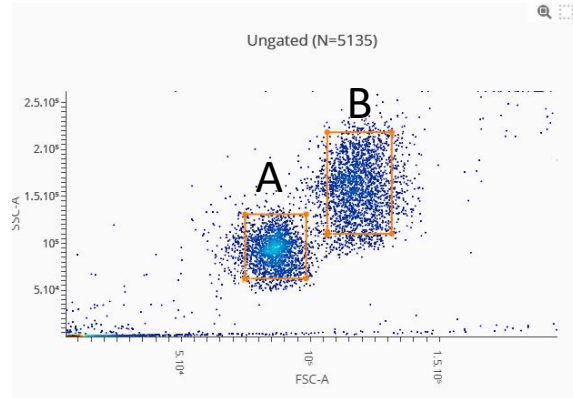


Analyse et discrimination des billes par cytométrie de flux

Principe ELISA LegendPLEX™

2 population de billes

- ☐ Billes de type A : petites billes
- ☐ Billes de type B: grandes billes



Discrimination par la taille, SSC (dispersion)
et FSC (dispersion latérale)



Biosit PF cyto

Analyseur Fortessa LSRII avec module HTS (passeur de plaque 96 puits)

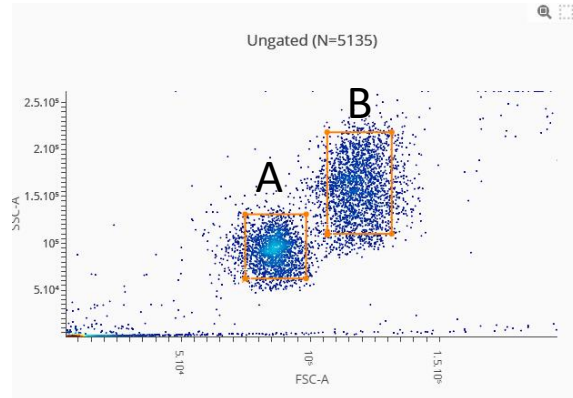
5 lasers (18 paramètres fluo)

Prix adhérents BIOSIT / prix non adhérent

Principe ELISA LegendPLEX™

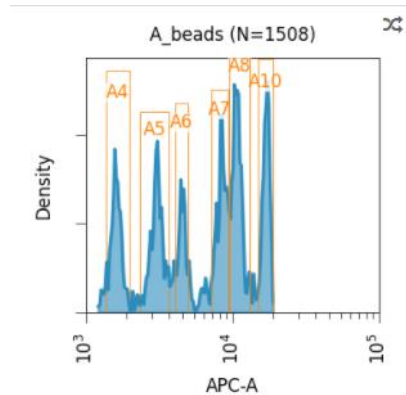
2 population de billes

- ❑ Billes de type A : petites billes
- ❑ Billes de type B : grandes billes

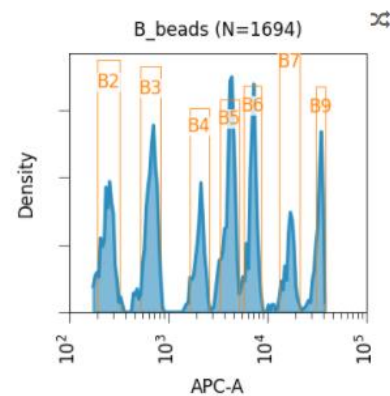


Discrimination par la taille, SSC (dispersion)
et FSC (dispersion latérale)

Fluorescence APC différentes pour chacune des billes



6 petites billes (A)



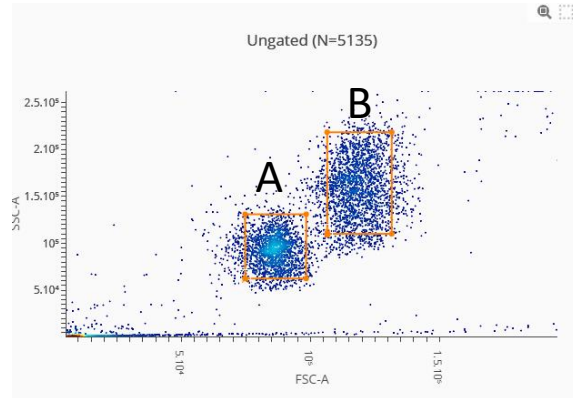
7 grandes billes (B)

Discrimination par la
fluorescence interne APC
(émission 660 nm)

Principe ELISA LegendPLEX™

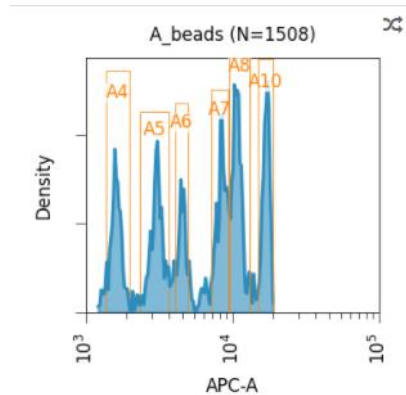
2 population de billes

- ❑ Billes de type A : petites billes
- ❑ Billes de type B: grandes billes

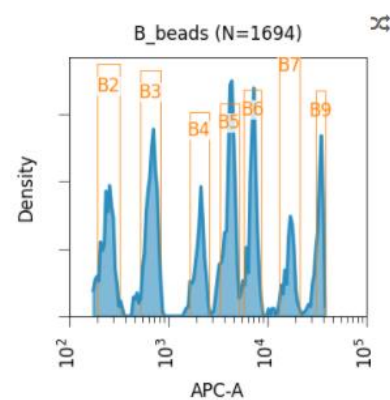


Discrimination par la taille, SSC (dispersion) et FSC (dispersion latérale)

Fluorescence APC différentes pour chacune des billes

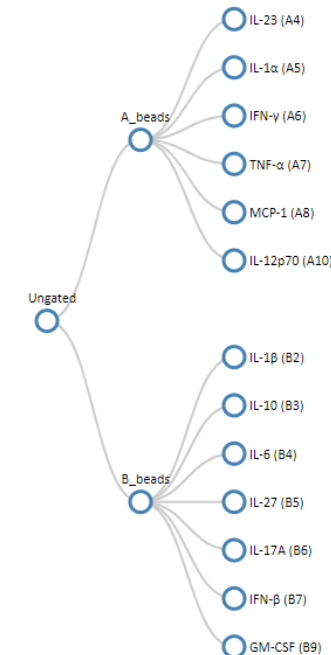


6 petites billes (A)



7 grandes billes (B)

Discrimination par la fluorescence interne APC (émission 660 nm)



Technique

- 40 échantillons, pour deux réplicats
 - 80 échantillons pour un réplicat
- } Une plaque
- Kit valable 1 mois pour 4 plaques



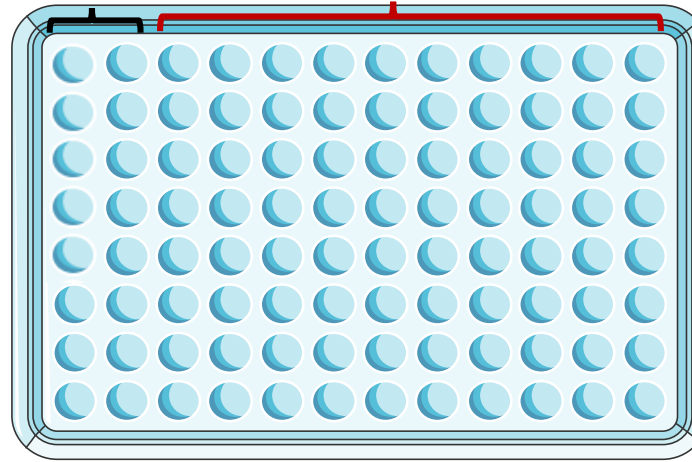
- Assay Buffer
- Wash Buffer
- Standard
- Matrix C
- Billes
- Anticorps de détection
- SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)

Technique

- 40 échantillons, pour deux répliquats
- 80 échantillons pour un répliquat
- Kit valable 1 mois pour 4 plaques

Une
plaque gamme

échantillons



Plaque à filtre

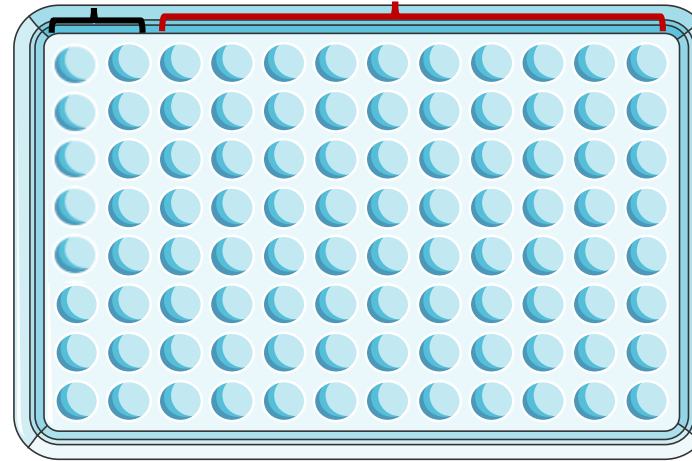
Technique

- 40 échantillons, pour deux réplicats
- 80 échantillons pour un réplicat
- Kit valable 1 mois pour 4 plaques

Une
plaque

gamme

échantillons



Plaque à filtre

Préparation de la gamme

Tube/ Standard ID	Serial Dilution	Assay Buffer to add (μL)	Standard to add	Final Conc. (pg/mL) *
C7	--	--	--	10,000
C6	1:4	75	25 μL of C7	2,500
C5	1:16	75	25 μL of C6	625
C4	1:64	75	25 μL of C5	156.3
C3	1:256	75	25 μL of C4	39.1
C2	1:1024	75	25 μL of C3	9.8
C1	1:4096	75	25 μL of C2	2.4
C0	--	75	--	0

Dilution dans du tampon Assay Buffer

Technique

- Centrifuger les échantillons après décongélation puis diluer dans l'Assay Buffer pour un volume final de 30 μ L
- Commencer par laver la plaque avec le Wash Buffer, le liquide est éliminer par pression à 300 mbar pendant 10 secondes

Technique

- Centrifuger les échantillons après décongélation puis diluer dans l'Assay Buffer pour un volume final de 30 µL
- Commencer par laver la plaque avec le Wash Buffer, le liquide est éliminer par pression à 300 mbar pendant 10 secondes

-12,5 µL Matrix C
-12,5 µL points de gamme (C7,C6...C0)

gamme

- 12,5 µL Assay Buffer
- 12,5 µL échantillons (Plasma, sérum, culture cellulaire)

échantillons

Technique

- Centrifuger les échantillons après décongélation puis diluer dans l'Assay Buffer pour un volume final de 30 μL
- Commencer par laver la plaque avec le Wash Buffer, le liquide est éliminer par pression à 300mBar pendant 10 secondes

-12,5 μL Matrix C

-12,5 μL points de gamme (C7,C6...C0)

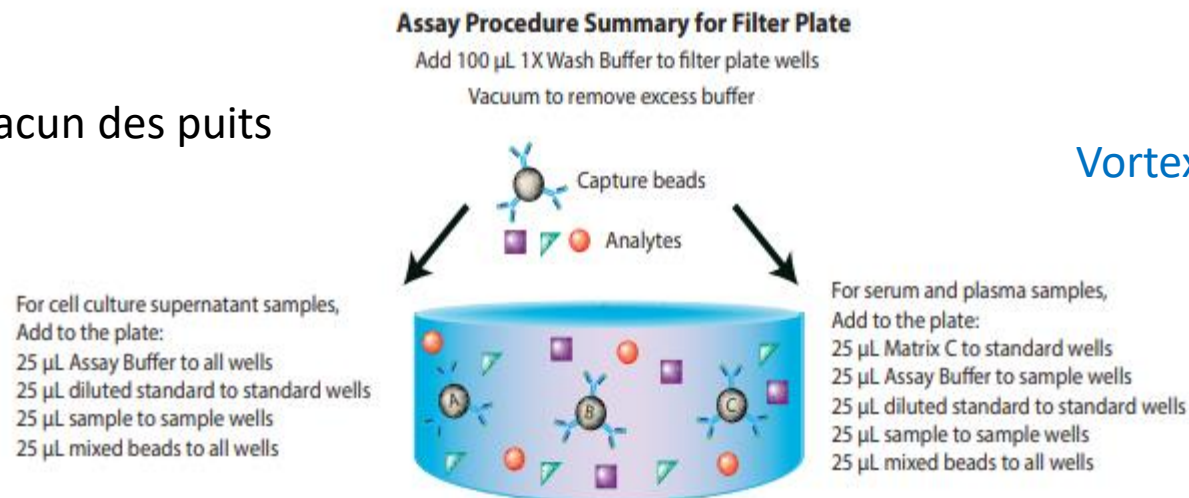
gamme

- 12,5 μL Assay Buffer

- 12,5 μL échantillons (Plasma, sérum, culture cellulaire)

échantillons

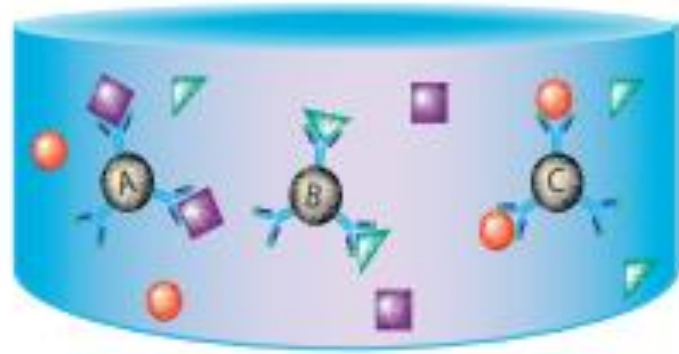
- Ajout des billes dans chacun des puits



Vortexer les billes à chaque début de colonne

Technique

- 2 heures d'incubation à 500 RPM sous aluminium



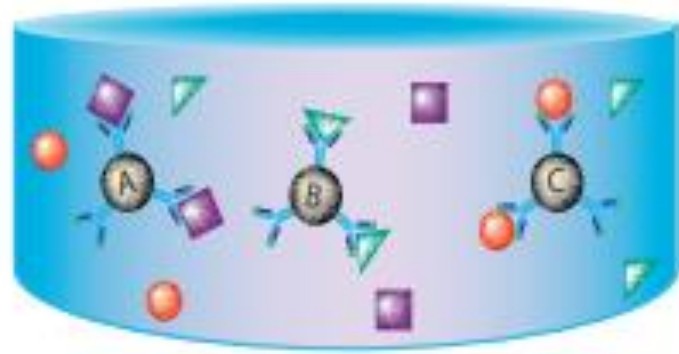
Capture des cytokines sur les anticorps spécifiques fixés sur les billes



Wash 2 times using vacuum filtration unit
Add 25 μ L Detection Antibodies
Incubate 1 hr, RT, shaking

Technique

- 2 heures d'incubation à 500 RPM sous aluminium

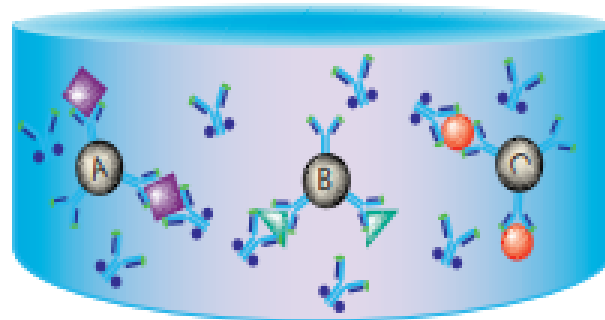


Capture des cytokines sur les anticorps spécifiques fixés sur les billes



Wash 2 times using vacuum filtration unit
Add 25 μ L Detection Antibodies
Incubate 1 hr, RT, shaking

- Eliminer le liquide par pression 300 mBar (pas de retournement) suivi de 2 lavages
- Ajouter les anticorps de détection
- Une heure d'incubation sous agitation

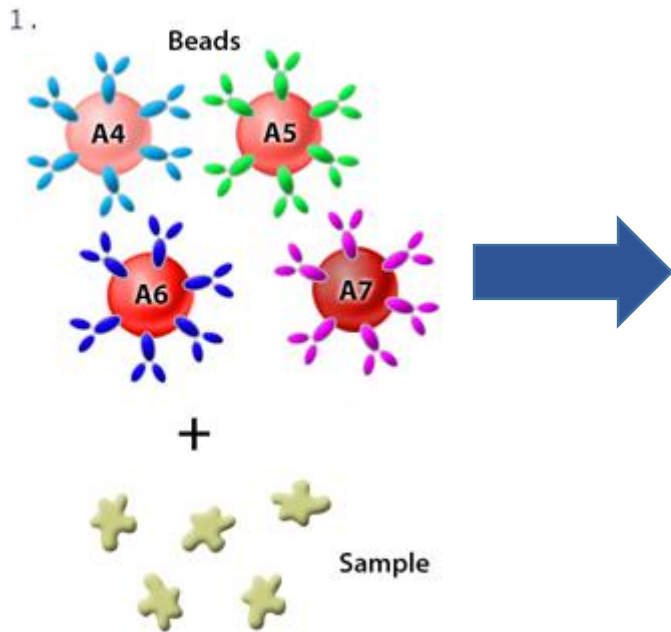


Biotinylated Detection Antibody

Capture des cytokines par les anticorps secondaires couplés à la biotine

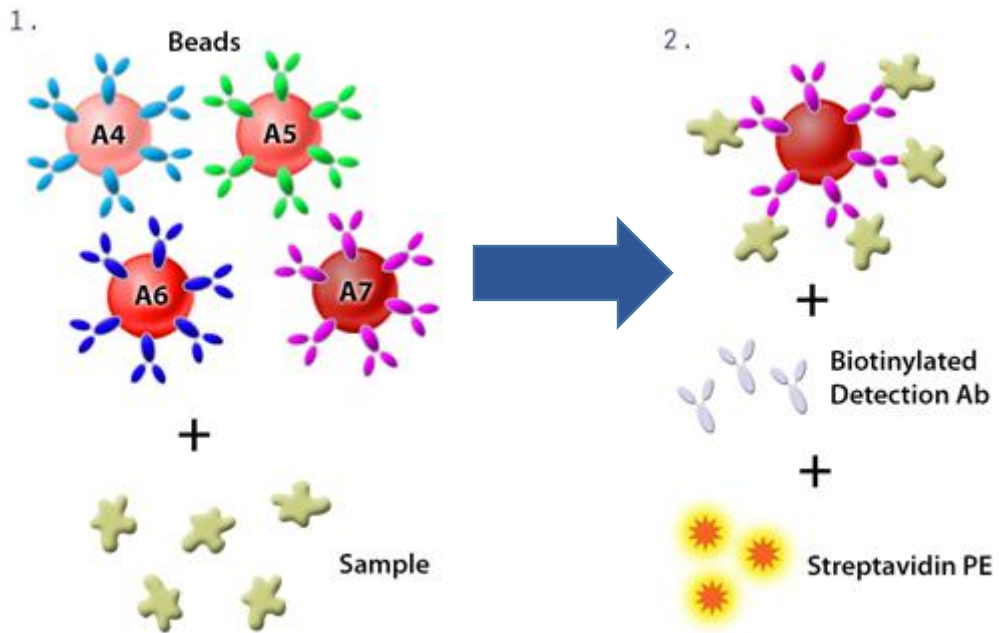
Technique

- Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)
- Incuber 30 minutes sous agitation



Technique

- Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)
- Incuber 30 minutes sous agitation

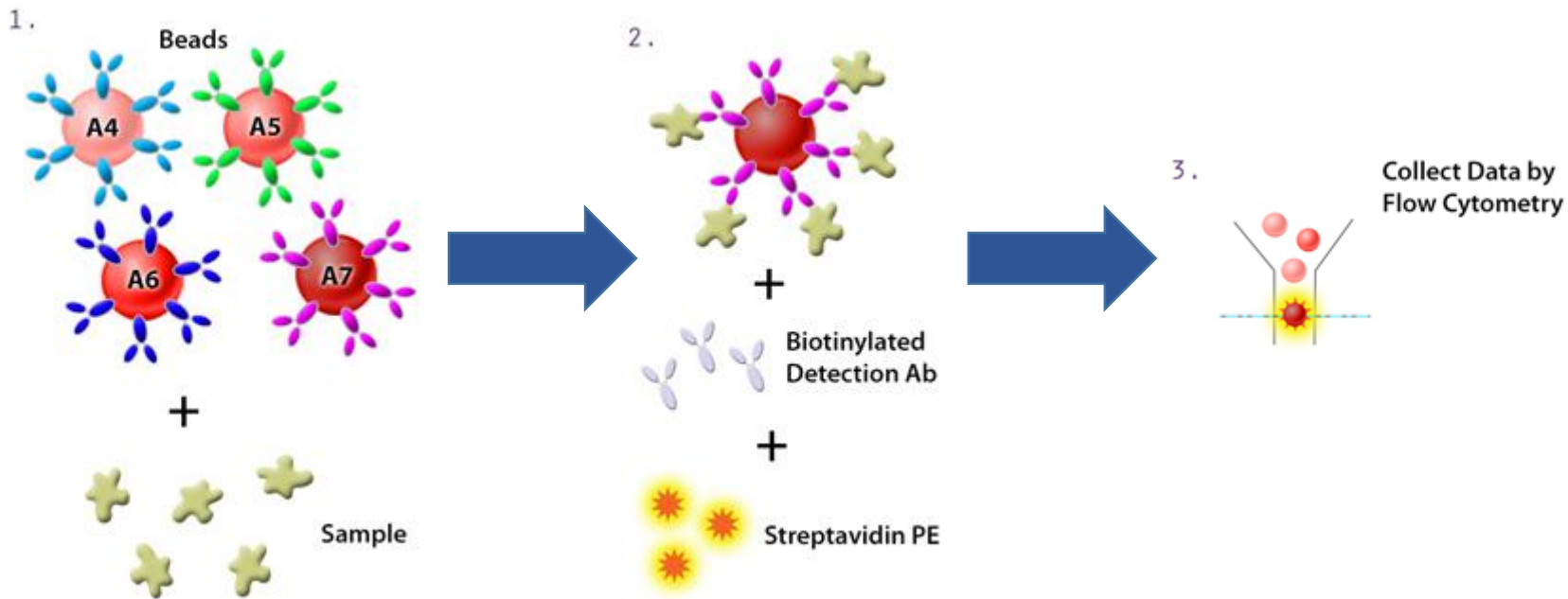


SA-PE se fixe à la biotine

Technique

➤ Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)

➤ Incuber 30 minutes sous agitation

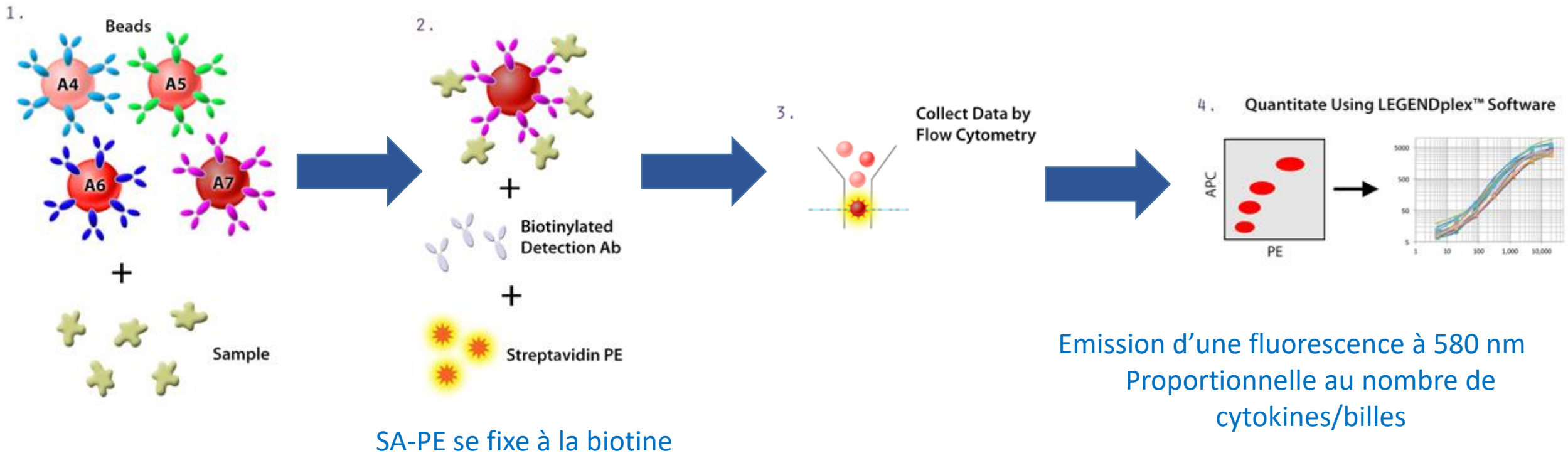


SA-PE se fixe à la biotine

Technique

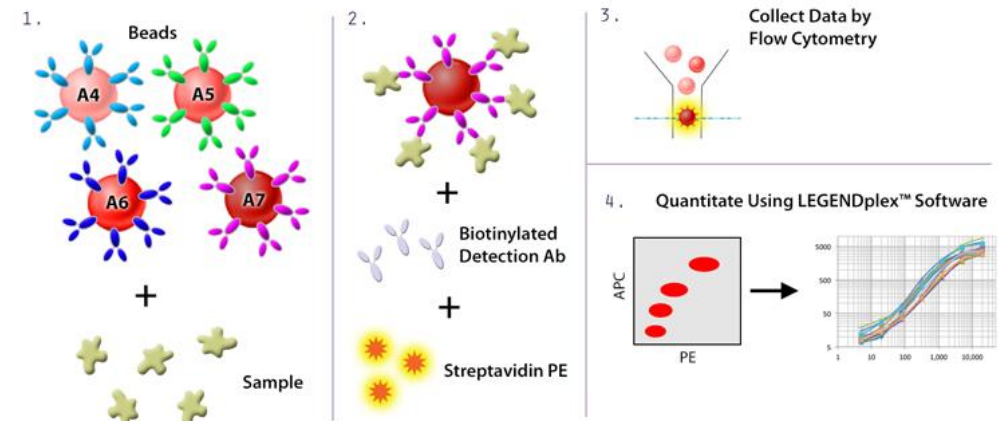
➤ Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)

➤ Incuber 30 minutes sous agitation



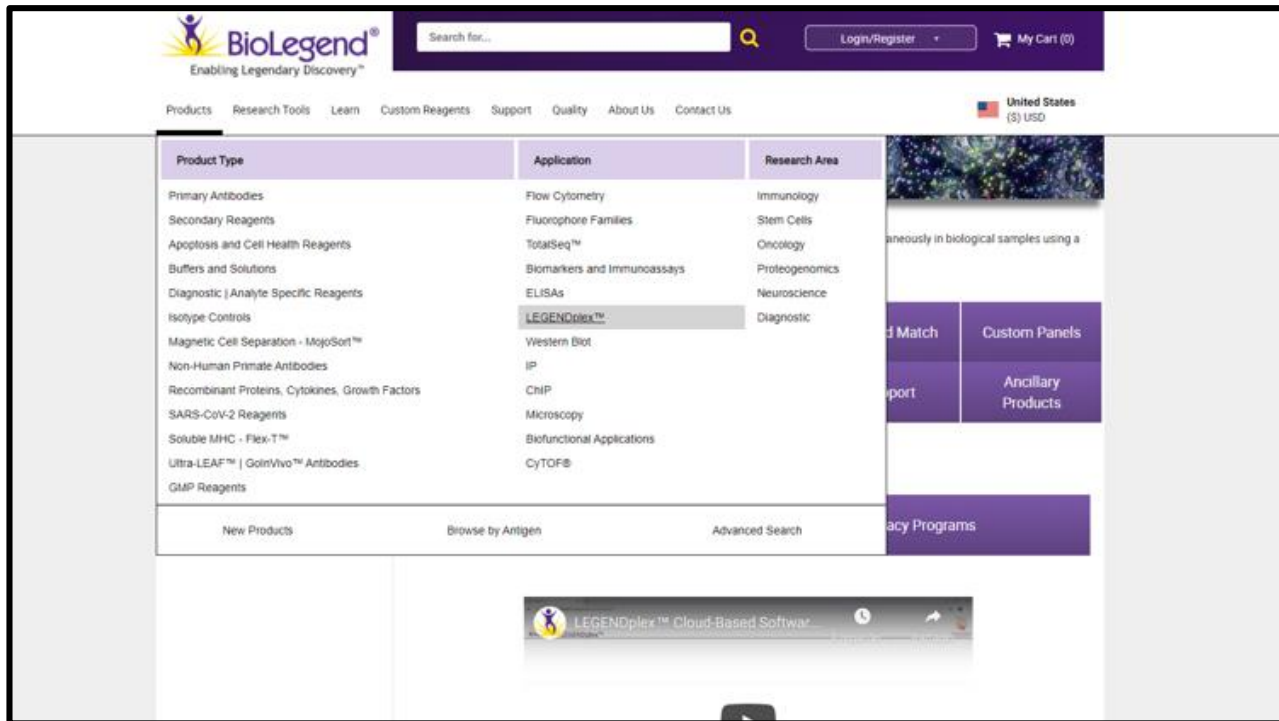
Technique

- Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)
- Incuber 30 minutes sous agitation
- Eliminer le liquide à une pression de 300 mbar puis laver deux fois
- Reprendre les billes dans 200 μ L de PBS et transférer dans une plaque appropriée pour la cytométrie de flux
- Analyser en cytométrie de flux (FACS)



Analyse des résultats

Logiciel LEGENDplex™



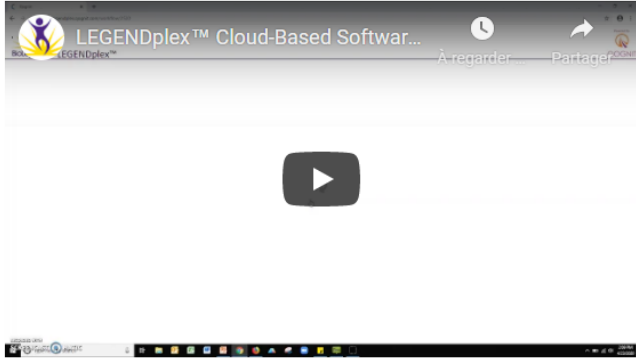
Logiciel disponible sur Biolegend
-> Legendplex™

Analyse des résultats

Overview	Panel Wizard	Pre-defined Panels	Mix and Match	Custom Panels
Software	Instrument Setup	Hands-on Training	Support	Ancillary Products

Click on the buttons below to learn more about our LEGENDplex software solutions.

[Data Analysis Software Suite](#)[Legacy Programs](#)



The LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite is designed to analyze LEGENDplex™ flow cytometry data files.

The software suite consists of both an online cloud-based program as well as downloadable desktop applications for both PC and Mac computers.

Please click the User Manual button below for full details on software suite usage and installation.

Shared Core Software Features:

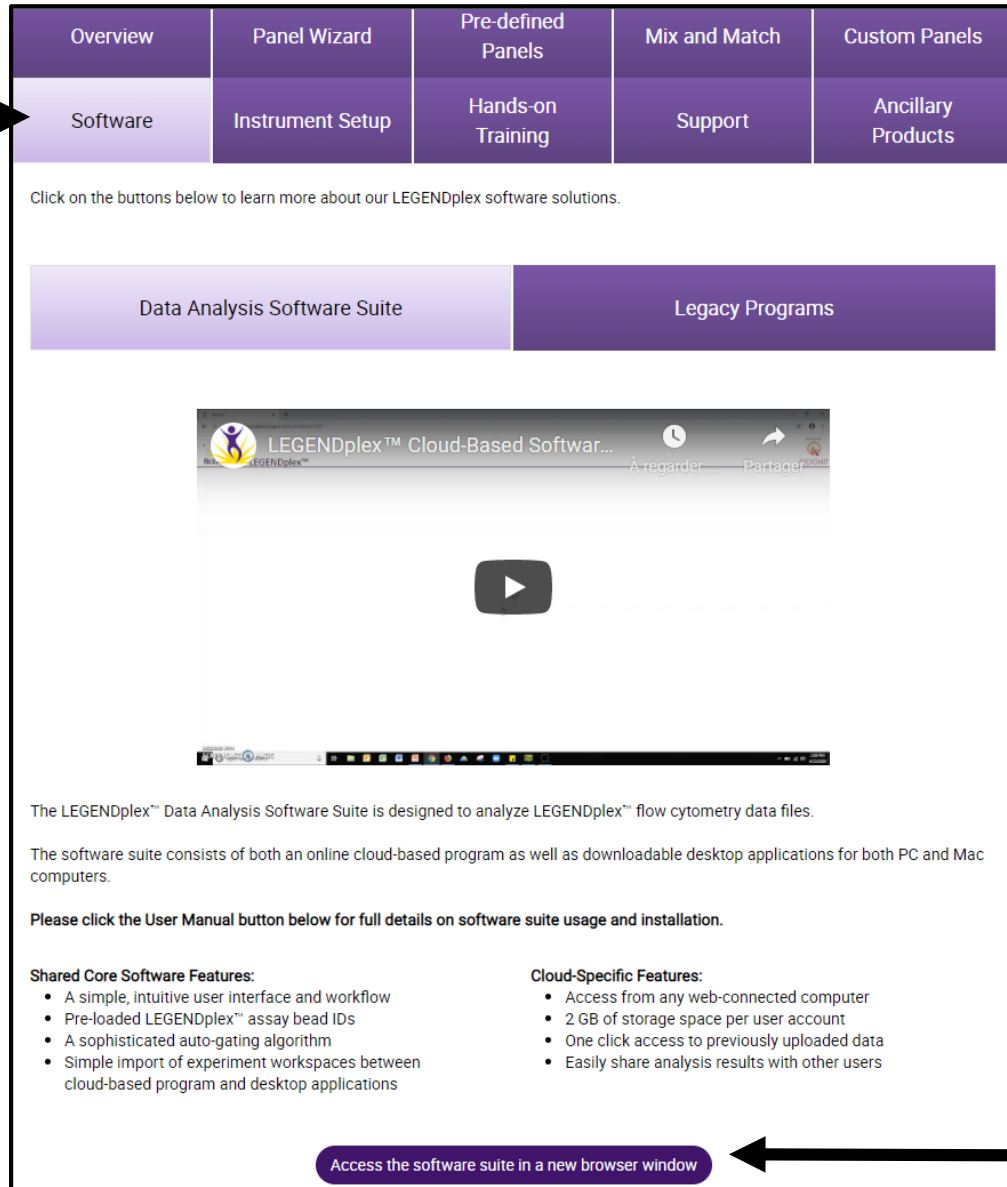
- A simple, intuitive user interface and workflow
- Pre-loaded LEGENDplex™ assay bead IDs
- A sophisticated auto-gating algorithm
- Simple import of experiment workspaces between cloud-based program and desktop applications

Cloud-Specific Features:

- Access from any web-connected computer
- 2 GB of storage space per user account
- One click access to previously uploaded data
- Easily share analysis results with other users

[Access the software suite in a new browser window](#)

Analyse des résultats



The screenshot shows the LEGENDplex website. A black arrow points to the 'Software' tab in the top navigation bar. Below the navigation bar, there is a section titled 'Click on the buttons below to learn more about our LEGENDplex software solutions.' This section contains two buttons: 'Data Analysis Software Suite' and 'Legacy Programs'. Below these buttons is a video player showing a screenshot of the LEGENDplex Cloud-Based Software Suite interface. Below the video player is a large play button icon. Below the play button is a screenshot of the LEGENDplex software suite running on a desktop. Below the screenshot is a paragraph of text: 'The LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite is designed to analyze LEGENDplex™ flow cytometry data files. The software suite consists of both an online cloud-based program as well as downloadable desktop applications for both PC and Mac computers. Please click the User Manual button below for full details on software suite usage and installation.' Below this text are two columns of features: 'Shared Core Software Features' and 'Cloud-Specific Features'. At the bottom of the page is a button that says 'Access the software suite in a new browser window', with a black arrow pointing to it from the right.

Overview	Panel Wizard	Pre-defined Panels	Mix and Match	Custom Panels
Software	Instrument Setup	Hands-on Training	Support	Ancillary Products

Click on the buttons below to learn more about our LEGENDplex software solutions.

Data Analysis Software Suite Legacy Programs

LEGENDplex™ Cloud-Based Software...

The LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite is designed to analyze LEGENDplex™ flow cytometry data files.

The software suite consists of both an online cloud-based program as well as downloadable desktop applications for both PC and Mac computers.

Please click the User Manual button below for full details on software suite usage and installation.

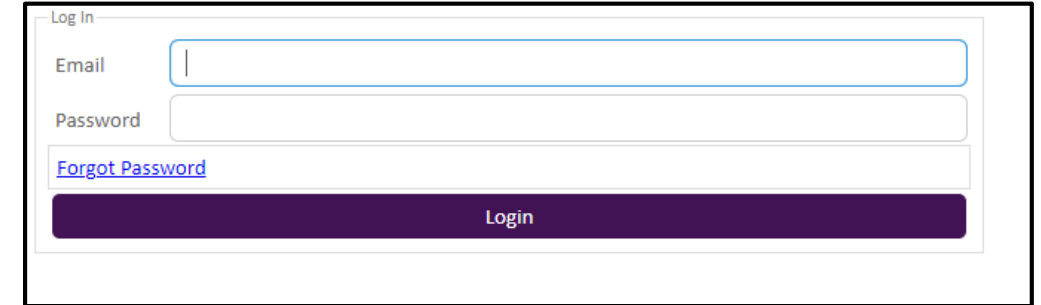
Shared Core Software Features:

- A simple, intuitive user interface and workflow
- Pre-loaded LEGENDplex™ assay bead IDs
- A sophisticated auto-gating algorithm
- Simple import of experiment workspaces between cloud-based program and desktop applications

Cloud-Specific Features:

- Access from any web-connected computer
- 2 GB of storage space per user account
- One click access to previously uploaded data
- Easily share analysis results with other users

Access the software suite in a new browser window



The screenshot shows the login form on the LEGENDplex website. It has a 'Log In' header. Below the header are two input fields: 'Email' and 'Password'. Below the 'Password' field is a link that says 'Forgot Password'. At the bottom of the form is a large purple button that says 'Login'.

Log In

Email

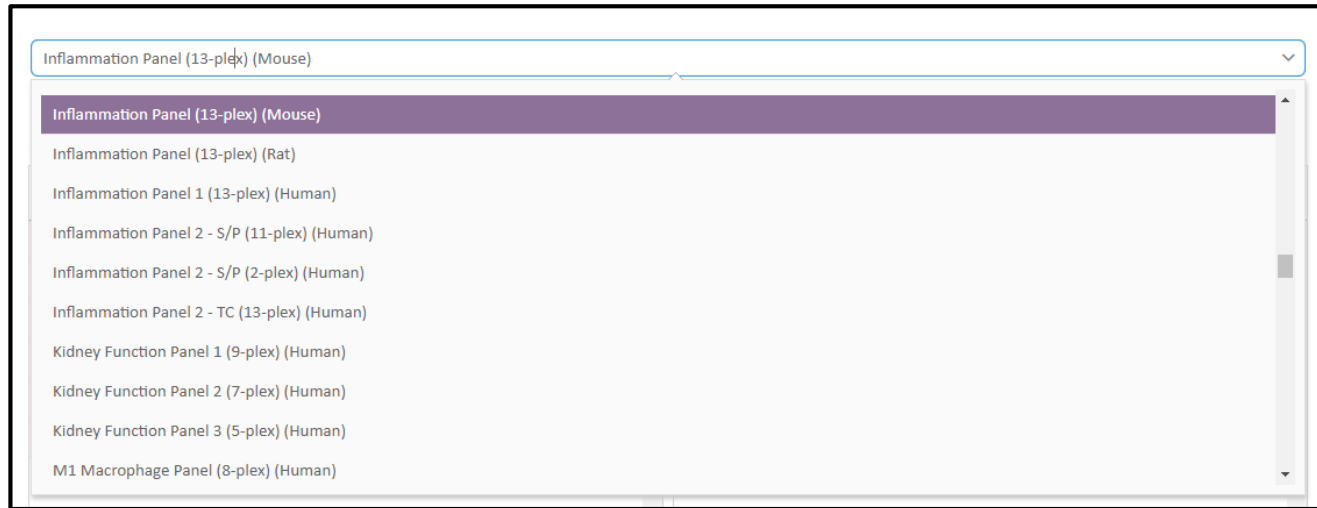
Password

[Forgot Password](#)

Login

Création d'un compte sur le site
<https://www.biolegend.com/>

Analyse des résultats



Sélection du kit utilisé

Analyse des résultats

Inflammation Panel (13-plex) (Mouse)

Inflammation Panel (13-plex) (Mouse)

Inflammation Panel (13-plex) (Rat)

Inflammation Panel 1 (13-plex) (Human)

Inflammation Panel 2 - S/P (11-plex) (Human)

Inflammation Panel 2 - S/P (2-plex) (Human)

Inflammation Panel 2 - TC (13-plex) (Human)

Kidney Function Panel 1 (9-plex) (Human)

Kidney Function Panel 2 (7-plex) (Human)

Kidney Function Panel 3 (5-plex) (Human)

M1 Macrophage Panel (8-plex) (Human)

Sélection du kit utilisé

TOP STANDARD CONCENTRATIONS AFTER RECONSTITUTION:

Analyte	Bead ID	Concentrations (ng/mL)	Analyte	Bead ID	Concentrations (ng/mL)
IL-23	A4	96	IL-1 β	B2	12
IL-1 α	A5	15	IL-10	B3	15
IFN- γ	A6	28	IL-6	B4	16
TNF- α	A7	15	IL-27	B5	72
MCP-1	A8	14	IL-17A	B6	16
IL-12p70	A10	16	IFN- β	B7	300
			GM-CSF	B9	15

This lot of product has met all specifications for release.

Concentration maximale de cytokine déterminée en fonction du lot de kit : voir sur le site Biolegend

Inflammation Panel (13-plex) (Mouse)

A Beads:

Bead ID	Analyte	Max	Units
A4	IL-23	96000	pg/ml
A5	IL-1 α	15000	pg/ml
A6	IFN- γ	28000	pg/ml
A7	TNF- α	15000	pg/ml
A8	MCP-1	14000	pg/ml
A10	IL-12p70	16000	pg/ml

B Beads:

Bead ID	Analyte	Max	Units
B2	IL-1 β	12000	pg/ml
B3	IL-10	15000	pg/ml
B4	IL-6	16000	pg/ml
B5	IL-27	72000	pg/ml
B6	IL-17A	16000	pg/ml
B7	IFN- β	300000	pg/ml
B9	GM-CSF	15000	pg/ml

Save

Analyse des résultats

Ajout de la gamme

Nombre de points de
gamme

Nombre de réplicats

Importer les fichiers
correspondants à la
gamme .fcs

Standard Curve

Number of Curve Points: 8

Replicates: 2

Dilution factor 1:

Blank/s included: ☒

Select Standards FCS file(s)

C0-1.fcs	✓	⊗	C0
C0-2.fcs	✓	⊗	C0
C1-1.fcs	✓	⊗	C1
C1-2.fcs	✓	⊗	C1
C2-1.fcs	✓	⊗	C2
C2-2.fcs	✓	⊗	C2
C3-1.fcs	✓	⊗	C3
C3-2.fcs	✓	⊗	C3
C4-1.fcs	✓	⊗	C4
C4-2.fcs	✓	⊗	C4
C5-1.fcs	✓	⊗	C5
C5-2.fcs	✓	⊗	C5
C6-1.fcs	✓	⊗	C6
C6-2.fcs	✓	⊗	C6
C7-1.fcs	✓	⊗	C7

PE (Reporter Channel)

APC (Bead Channel)

Advanced Options

Save

2021.07.01

Analyse des résultats

Ajout de la gamme

Nombre de points de
gamme

Nombre de réplicats

Importer les fichiers
correspondants à la
gamme .fcs

Standard Curve

Number of Curve Points: 8

Replicates: 2

Dilution factor 1:

Blank/s included: ☒

C0-1.fcs	✓	⊗	C0
C0-2.fcs	✓	⊗	C0
C1-1.fcs	✓	⊗	C1
C1-2.fcs	✓	⊗	C1
C2-1.fcs	✓	⊗	C2
C2-2.fcs	✓	⊗	C2
C3-1.fcs	✓	⊗	C3
C3-2.fcs	✓	⊗	C3
C4-1.fcs	✓	⊗	C4
C4-2.fcs	✓	⊗	C4
C5-1.fcs	✓	⊗	C5
C5-2.fcs	✓	⊗	C5
C6-1.fcs	✓	⊗	C6
C6-2.fcs	✓	⊗	C6
C7-1.fcs	✓	⊗	C7

PE (Reporter Channel) APC (Bead Channel)

2021.07.01

- Channel PE-A (anticorps secondaire)
- APC-A : fluorescence interne des billes

Analyse des résultats

Ajout des échantillons

The screenshot shows the 'Samples' tab of a software interface. At the top, there are tabs for 'Beads', 'Standards', 'Samples' (selected), 'Review Gating', and 'Results'. Below the 'Samples' tab, there is a 'Replicate Controls' panel. Inside this panel, the 'Replicates' field is set to 2, and the 'Replicate Pattern' is set to 'AABBC'. An 'Apply' button is located below these fields. Below the 'Replicate Controls' panel, there is a button labeled 'Select Samples FCS file(s)' with a folder icon. An arrow points from the 'Ajout des échantillons' header to this button. Below the 'Select Samples FCS file(s)' button, there is an 'FCS File List' section. It includes a table with the following columns: 'Files', 'Sample Name', 'Dilution', and 'SBTIM (Acquisition Time)'. The table is currently empty. Below the table, there is an 'Upload' button.

Files	Sample Name	Dilution	SBTIM (Acquisition Time)
-------	-------------	----------	--------------------------

Préciser le nombre de réplicas et la dilution attribuée à chaque échantillon (1/2)

Analyse des résultats

Ajout des échantillons

Replicate Controls:

Replicates: 2

Replicate Pattern:

FCS File List:

Files	Sample Name	Dilution	SBTIM (Acquisition Time)

Préciser le nombre de répliques et la dilution attribuée à chaque échantillon (1/2)

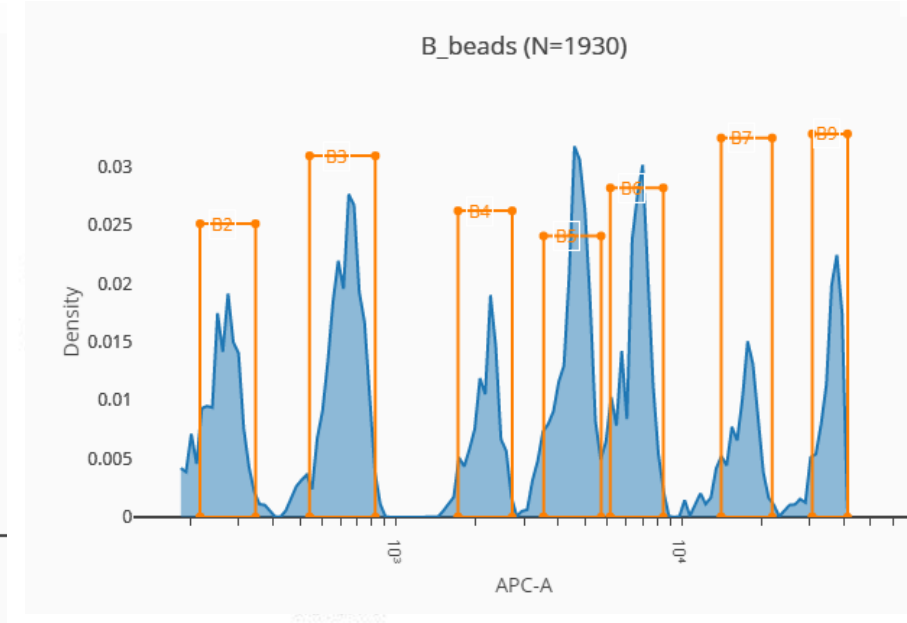
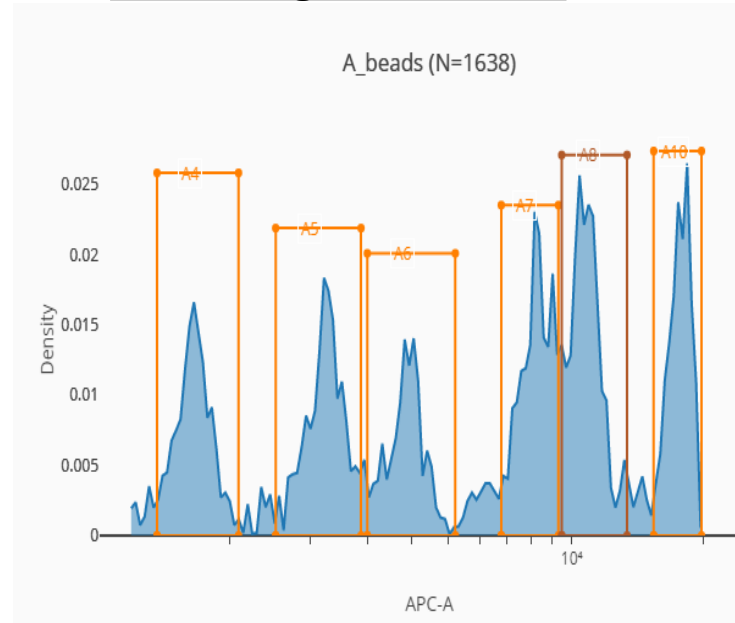
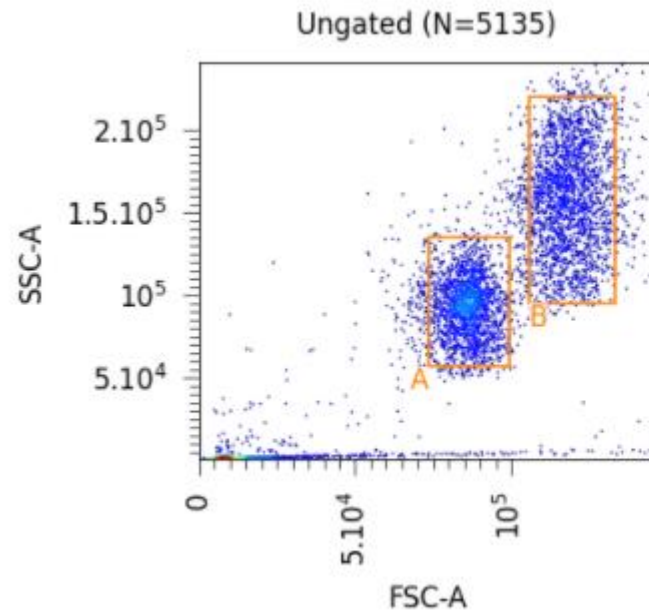
Échantillons ajoutés

Uploaded Sample and Standard Files:

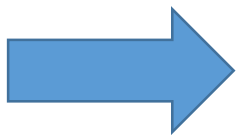
Files	Sample Name	Replicate	Dilution	
S101-2.fcs	S101-2	1	2	✓
S102-1.fcs	S102-1	1	2	✓
S102-2.fcs	S102-2	1	2	✓
S103-1.fcs	S103-1	1	2	✓
S103-2.fcs	S103-2	1	2	✓
S104-1.fcs	S104-1	1	2	✓
S104-2.fcs	S104-2	1	2	✓
S105-1.fcs	S105-1	1	2	✓
S105-2.fcs	S105-2	1	2	✓
S106-1.fcs	S106-1	1	2	✓
S106-2.fcs	S106-2	1	2	✓
S107-1.fcs	S107-1	1	2	✓
S107-2.fcs	S107-2	1	2	✓

Analyse des résultats

Reviewing échantillons



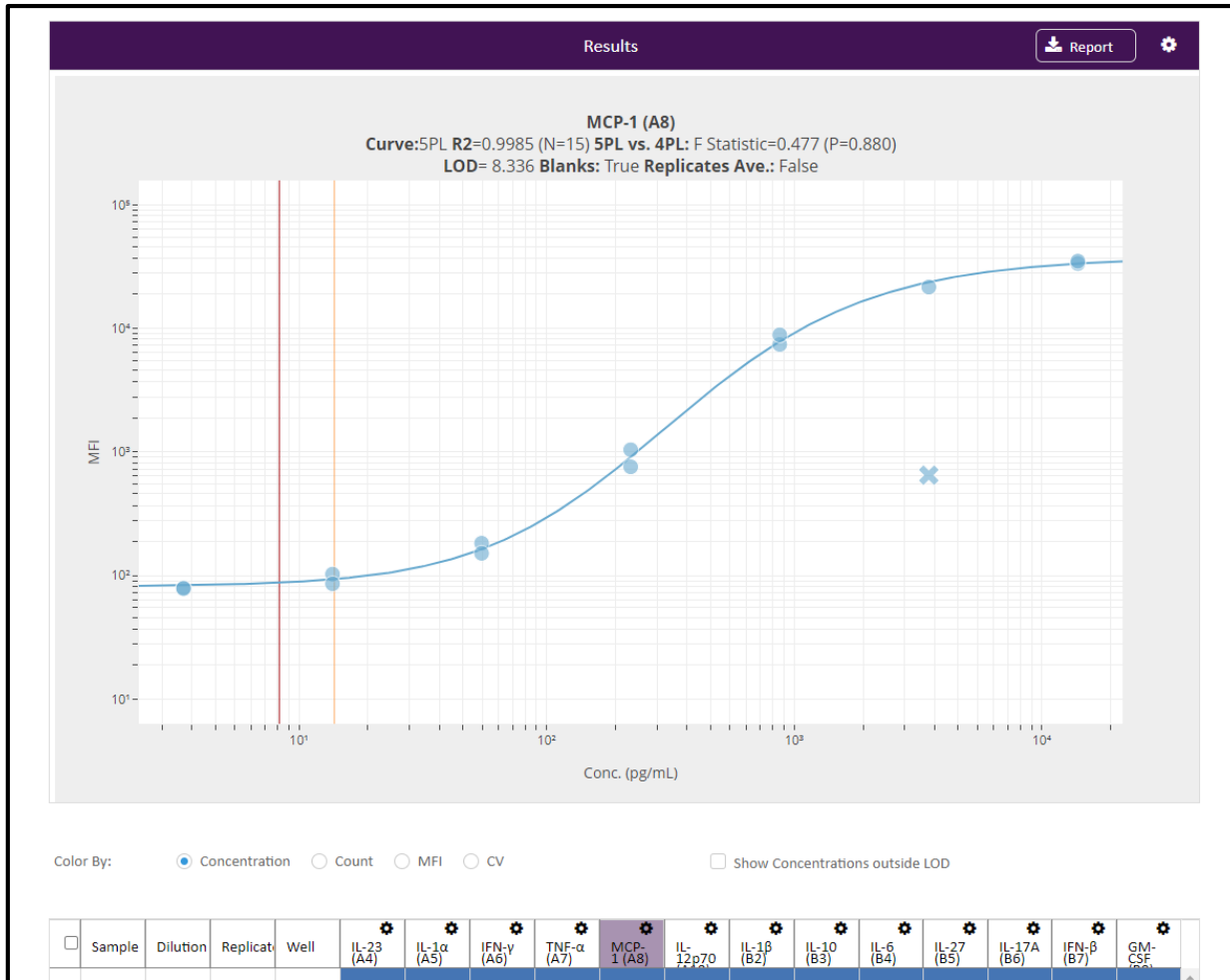
Ajustement du nombre de billes A et billes B (événements souhaités) ainsi que de la densité de billes spécifiques à chaque cytokines



Adaptation pour chaque échantillon

Analyse des résultats

Analyse échantillons



La gamme est générée automatiquement pour chaque cytokine

Si un point de gamme est divergent, on peut l'exclure directement, la courbe se ré-ajuste

Analyse des résultats

Analyse échantillons

Gamme

<input type="checkbox"/>	Sample	Dilution	Replicate	Well	IL-23 (A4)	IL-1α (A5)	IFN-γ (A6)	TNF-α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70 (A9)	IL-1β (B2)	IL-10 (B3)	IL-6 (B4)	IL-27 (B5)	IL-17A (B6)	IFN-β (B7)	GM-CSF (B8)
	C0		1	C0-1.fcs	<97.80	<1.31	<7.87	<5.63	<8.34	<5.29	<9.39	<13.04	<3.84	<178.99	<3.06	<51.3	<10.05
	C0		2	C0-2.fcs	<97.80	<1.31	<7.87	<5.63	<8.34	<5.29	<9.39	<13.04	<3.84	<178.99	<3.06	<51.3	<10.05
	C1		1	C1-1.fcs	<97.80	6.59	12.75	9.88	<8.34	6.29	<9.39	<13.04	5.15	<178.99	4.82	110.4	<10.05
	C1		2	C1-2.fcs	<97.80	4.89	<7.87	<5.63	<8.34	<5.29	<9.39	<13.04	3.95	<178.99	4.14	82.6	<10.05
	C2		1	C2-1.fcs	173.58	26.14	35.82	15.87	21.11	29.10	16.70	68.52	19.26	207.88	20.78	451.4	20.38
	C2		2	C2-2.fcs	<97.80	<1.31	<7.87	<5.63	<8.34	<5.29	<9.39	<13.04	<3.84	<178.99	<3.06	<51.3	<10.05
	C3		1	C3-1.fcs	458.09	72.65	121.59	74.72	62.87	71.23	50.81	97.60	79.46	349.95	84.66	1343.6	65.48
	C3		2	C3-2.fcs	365.20	63.59	107.70	56.51	49.03	69.39	49.01	81.17	69.67	341.54	70.11	1249.6	59.65
	C4		1	C4-1.fcs	1491.02	237.54	406.80	245.13	237.62	245.26	192.70	216.63	250.78	1077.94	212.20	4323.0	236.77
	C4		2	C4-2.fcs	1235.18	201.44	411.88	208.11	195.65	234.98	171.16	194.49	220.30	892.19	229.30	4442.1	217.05
	C5		1	C5-1.fcs	5698.30	920.13	1724.79	890.01	836.68	989.24	770.81	860.76	1088.31	4794.53	1018.63	18710.9	941.51
	C5		2	C5-2.fcs	8321.03	1009.37	2159.10	1090.85	970.40	1055.12	799.57	1137.43	991.85	5332.73	1150.82	21783.7	1031.31
	C6		1	C6-1.fcs	1373.84	71.89	138.87	94.81	177.33	83.98	63.66	109.29	210.17	525.72	119.71	1593.4	116.95
	C6		2	C6-2.fcs	16965.6	3054.72	5397.29	2598.35	2882.60	3455.60	2445.21	3390.81	3192.32	13722.5	3669.58	63064.0	3118.63
	C7		1	C7-1.fcs	83094.7	17806.6	32437.8	9472.35	14342.2	17761.0	9408.92	14814.8	16622.3	72548.8	14924.1	335318.	11720.4
	C7		2	C7-2.fcs	159855.	17387.2	28872.8	>15000.	23244.2	16168.2	27198.7	16596.1	20574.4	86826.8	17619.7	307943.	29839.8

échantillons

<input type="checkbox"/>	Sample	Dilution	Replicate	Well	IL-23 (A4)	IL-1α (A5)	IFN-γ (A6)	TNF-α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70 (A9)	IL-1β (B2)	IL-10 (B3)	IL-6 (B4)	IL-27 (B5)	IL-17A (B6)	IFN-β (B7)	GM-CSF (B8)
<input type="checkbox"/>	S105-1	2	1	S105-1.f	923.58	25.82	171.18	24.65	105.41	53.12	65.86	337.29	14.97	461.29	35.60	213.9	21.84
<input type="checkbox"/>	S105-2	2	1	S105-2.f	1094.16	27.24	173.66	34.06	122.98	58.71	61.62	316.17	19.22	489.93	34.71	186.4	25.94
<input type="checkbox"/>	S106-1	2	1	S106-1.f	577.92	16.89	573.93	34.06	87.50	15.39	10.06	118.86	41.00	806.41	12.83	<51.3	<10.05
<input type="checkbox"/>	S106-2	2	1	S106-2.f	664.27	19.03	563.19	40.84	91.47	18.16	14.59	176.23	43.15	942.95	17.15	158.0	10.47
<input type="checkbox"/>	S107-1	2	1	S107-1.f	270.09	10.33	152.47	19.77	38.87	9.73	48.90	138.14	7.91	187.65	3.98	<51.3	<10.05
<input type="checkbox"/>	S107-2	2	1	S107-2.f	210.23	8.40	139.89	12.18	31.77	9.15	49.85	114.11	8.26	<178.99	3.98	<51.3	<10.05
<input type="checkbox"/>	S109-1	2	1	S109-1.f	157.78	12.94	503.55	29.41	62.44	6.22	<9.39	300.89	36.35	556.97	5.34	<51.3	16.39
<input type="checkbox"/>	S109-2	2	1	S109-2.f	113.93	7.55	354.65	22.23	43.04	<5.29	<9.39	88.70	23.41	289.85	4.43	<51.3	10.47
<input type="checkbox"/>	S110-1	2	1	S110-1.f	738.49	8.96	195.86	22.23	45.46	21.47	<9.39	84.59	8.26	<178.99	4.89	<51.3	<10.05
<input type="checkbox"/>	S110-2	2	1	S110-2.f	863.71	7.26	200.76	19.77	43.85	17.61	<9.39	<13.04	9.62	399.75	3.31	81.9	<10.05
<input type="checkbox"/>	S111-1	2	1	S111-1.f	325.78	14.57	181.08	22.23	40.56	12.58	13.13	<13.04	12.32	366.14	50.72	<51.3	16.96
<input type="checkbox"/>	S111-2	2	1	S111-2.f	368.12	21.23	216.61	29.41	65.84	19.27	17.41	115.31	18.24	582.31	68.35	65.1	27.92
<input type="checkbox"/>	S112-1	2	1	S112-1.f	621.65	70.76	1314.82	120.37	68.49	23.65	29.98	137.04	80.74	1038.23	13.97	267.4	18.62
<input type="checkbox"/>	S112-2	2	1	S112-2.f	647.35	70.59	1355.46	106.33	65.84	22.56	33.40	216.82	84.05	1060.18	20.56	<51.3	21.31

Analyse des résultats

Analyse échantillons

Color By: ☐ Concentration ☒ Count ☐ MFI ☐ CV

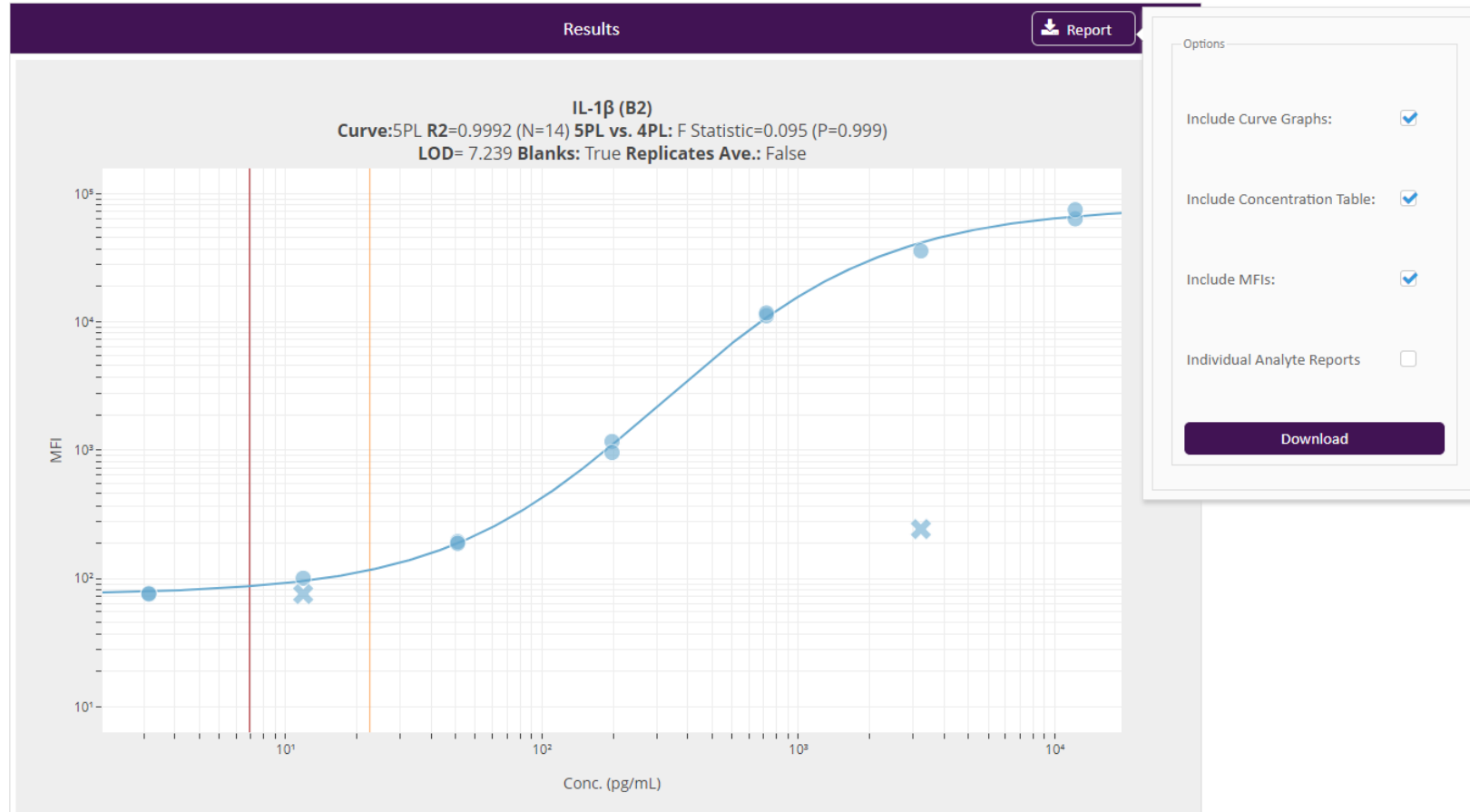
Cell Count Cut-off

<input type="checkbox"/>	Sample	Dilution	Replicate	Well	IL-23 (A4)	IL-1 α (A5)	IFN- γ (A6)	TNF- α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70 (A9)	IL-18 (B2)	IL-10 (B3)	IL-6 (B4)	IL-27 (B5)	IL-17A (B6)	IFN- β (B7)	GM-CSF
<input type="checkbox"/>	S101-2	2	1	S101-2.f	252	250	214	286	292	303	276	366	181	347	274	141	198
<input type="checkbox"/>	S102-1	2	1	S102-1.f	220	225	207	231	323	248	294	357	201	445	318	192	261
<input type="checkbox"/>	S102-2	2	1	S102-2.f	255	222	243	260	272	301	287	326	207	355	332	177	227
<input type="checkbox"/>	S103-1	2	1	S103-1.f	220	223	218	275	318	291	296	375	194	398	291	181	183
<input type="checkbox"/>	S103-2	2	1	S103-2.f	253	247	241	288	296	273	287	403	158	344	271	212	178
<input type="checkbox"/>	S104-1	2	1	S104-1.f	202	264	212	352	300	276	256	348	152	314	275	170	166
<input type="checkbox"/>	S104-2	2	1	S104-2.f	261	231	211	274	278	298	280	362	182	375	264	181	181
<input type="checkbox"/>	S105-1	2	1	S105-1.f	211	253	232	229	270	295	301	291	241	340	308	236	233
<input type="checkbox"/>	S105-2	2	1	S105-2.f	272	220	187	227	257	283	300	311	245	345	323	238	255
<input type="checkbox"/>	S106-1	2	1	S106-1.f	229	264	214	284	348	305	309	347	243	337	330	64	241
<input type="checkbox"/>	S106-2	2	1	S106-2.f	246	251	245	230	286	274	279	329	229	336	312	135	269
<input type="checkbox"/>	S107-1	2	1	S107-1.f	245	246	202	238	281	267	266	326	220	306	309	201	298
<input type="checkbox"/>	S107-2	2	1	S107-2.f	246	224	196	255	283	287	261	336	235	328	329	209	246
<input type="checkbox"/>	S109-1	2	1	S109-1.f	244	283	244	300	262	260	278	346	206	345	259	204	235
<input type="checkbox"/>	S109-2	2	1	S109-2.f	206	219	199	270	340	220	319	355	235	367	266	183	235
<input type="checkbox"/>	S110-1	2	1	S110-1.f	271	257	235	261	318	280	292	364	175	314	295	207	162
<input type="checkbox"/>	S110-2	2	1	S110-2.f	45	43	34	47	61	47	52	77	41	63	60	39	34
<input type="checkbox"/>	S111-1	2	1	S111-1.f	213	266	226	260	265	272	273	339	215	325	320	153	297
<input type="checkbox"/>	S111-2	2	1	S111-2.f	221	270	240	265	299	277	264	330	200	347	296	168	293
<input type="checkbox"/>	S112-1	2	1	S112-1.f	252	251	228	262	340	302	312	363	176	340	253	173	196

- Vérifier le nombre d'évènements (ou nombre de billes par échantillons), pouvant expliquer des différences entre deux réplicas.
- Gérer son cut-off (minimum 100 billes pour une analyse viable)

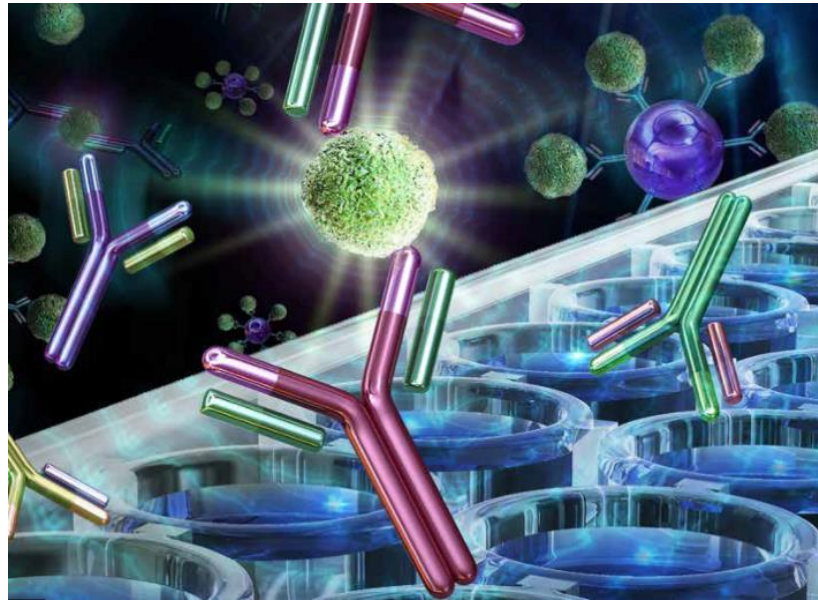
Analyse des résultats

Analyse échantillons



Transfert sur Excel pour
finaliser l'analyse des
résultats

Merci pour votre attention



"Jean-Baptiste Guillerme" <jbguillerme@biolegend.com>

"Sarah Dion" <sarah.dion@univ-rennes1.fr>