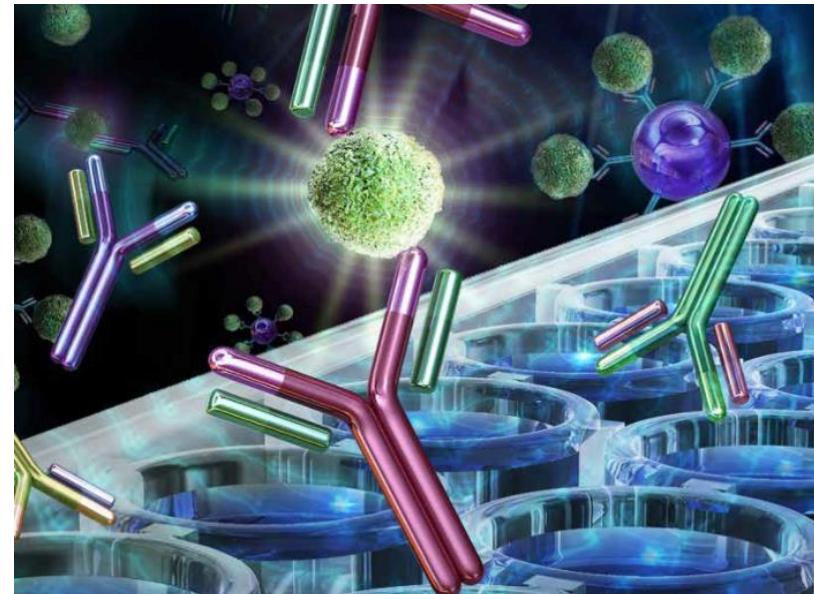


Réunion Technique : Présentation de la technique ELISA multiplex



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

- 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

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

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	Regulatory Status	RUO
Kit Contents	Other Names	IL-4, IL-2, CXCL10 (IP-10), IL-1 β , TNF- α , CCL2 (MCP-1), IL-17A, IL-6, IL-10, IFN- γ , IL-12p70, CXCL8 (IL-8), TGF- β 1
Product Details	Antigen Details	
Documentation	Ave. Rating	Submit a Review
Reviews	Product Citations	1 publications

Souris

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

Pricing & Availability	Regulatory Status	RUO
Kit Contents	Other Names	IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12 p70, IL-23, IL-27, IFN- β , IL-17A, MCP-1, TNF- α , IFN- γ , 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
Product Details	Antigen Details	
Documentation		

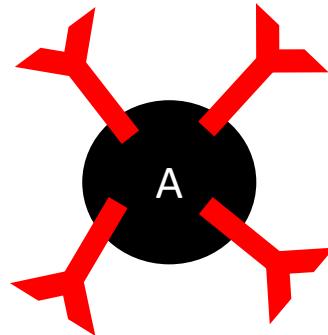
Rat

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

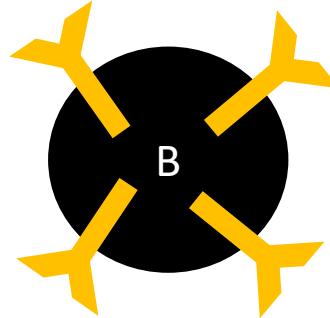
Pricing & Availability	Regulatory Status	RUO
Kit Contents	Other Names	Multiplex, Flow cytometry, Innate immunity, Innate immune cells, IL-1a, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-33, CXCL1 (KC), CCL2 (MCP-1), GM-CSF, IFN- γ , TNF- α
Product Details	Antigen Details	
Documentation		

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)

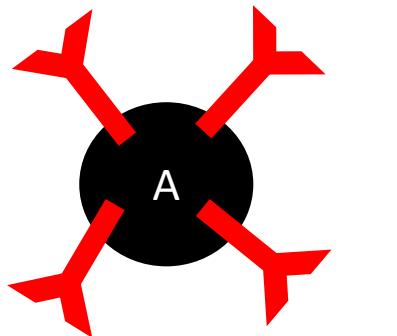


Grande taille (7)
(B1 à B7)

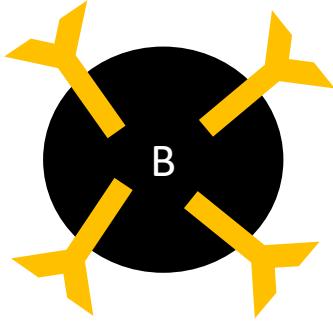
Méthode de détection par
sandwich

Principe ELISA Multiplex LegendPLEX™

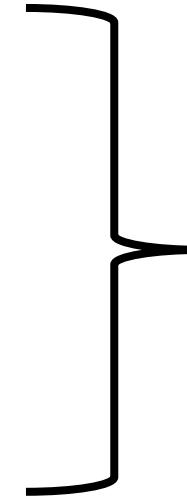
- **2 types de billes greffées avec des anticorps spécifiques d'une cytokine à leurs surfaces**



Petite taille (6)
(A1 à A6)



Grande taille (7)
(B1 à B7)

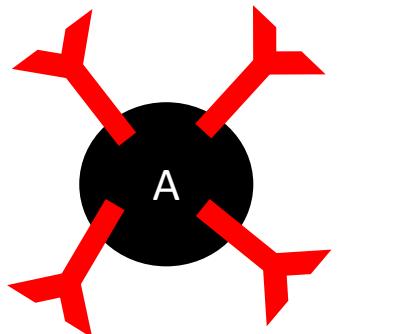


Fluorescence APC interne
différentes entre les 13
billes

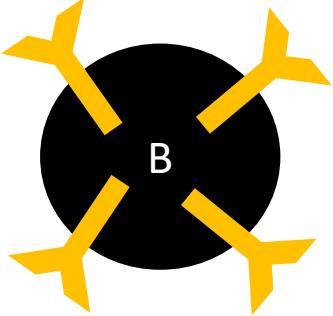
Méthode de détection par
sandwich

Principe ELISA Multiplex LegendPLEX™

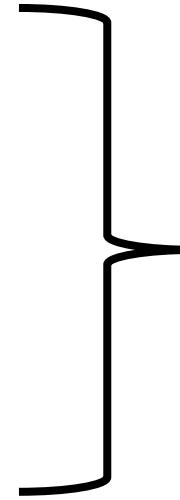
- **2 types de billes greffées avec des anticorps spécifiques d'une cytokine à leurs surfaces**



Petite taille (6)
(A1 à A6)

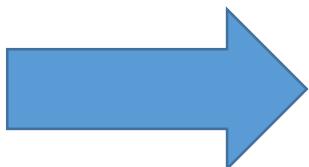


Grande taille (7)
(B1 à B7)



Fluorescence APC interne
différentes entre les 13
billes

Méthode de détection par
sandwich

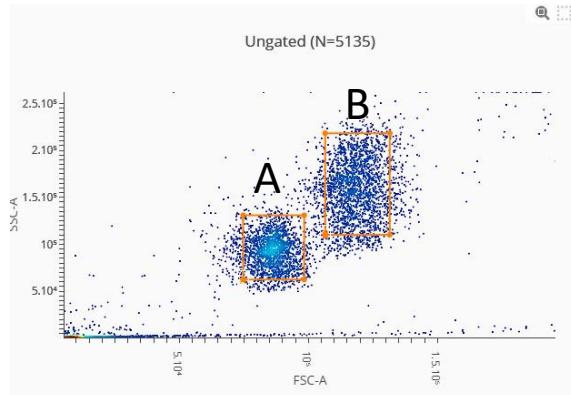


Analyse et discrimination des billes par cytométrie de flux

Principe ELISA LegendPLEX™

2 population de billes

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

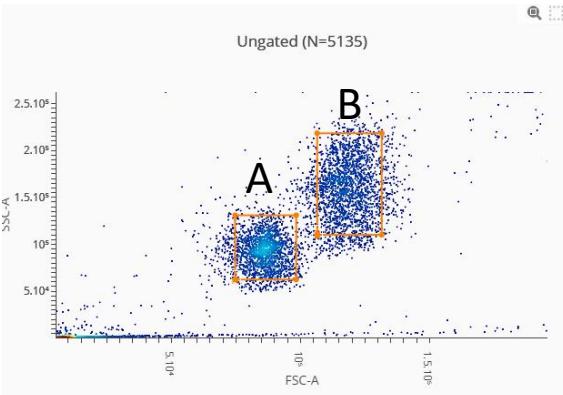


Discrimination par la taille, SSC (dispersion) et FSC (dispersion latérale)

Principe ELISA LegendPLEX™

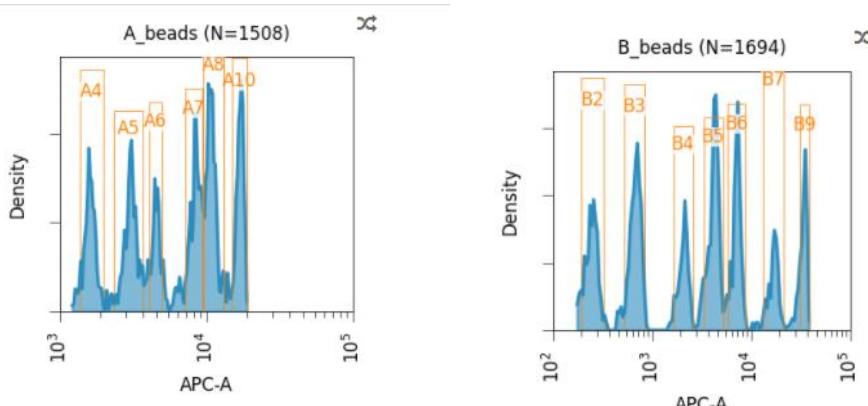
2 population de billes

- 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)

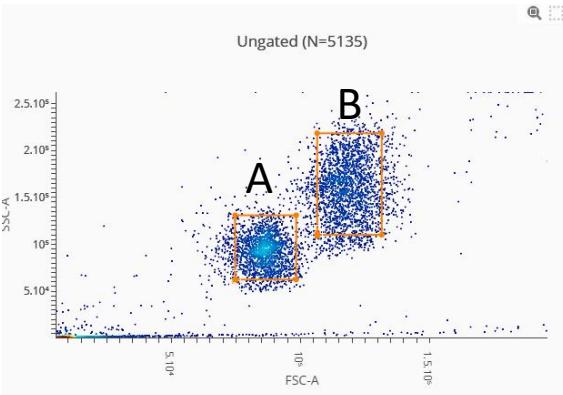
Discrimination par la fluorescence interne APC (émission 660 nm)

7 grandes billes (B)

Principe ELISA LegendPLEX™

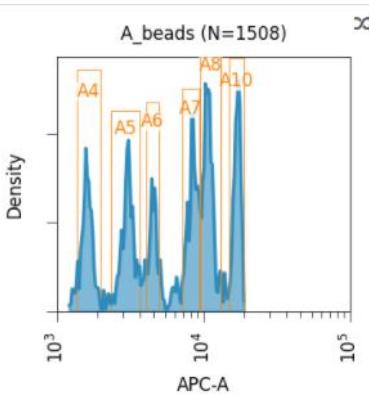
2 population de billes

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

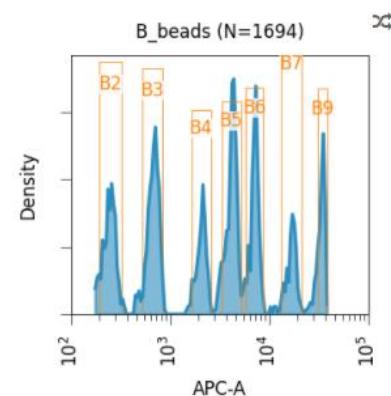


Discrimination par la taille, SSC (dispersion) et FSC (dispersion latérale)

Fluorescence APC différentes pour chacune des billes

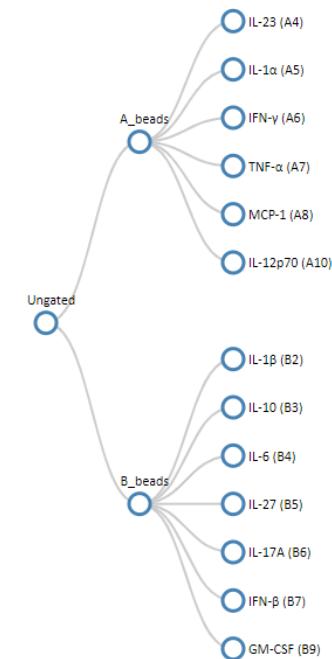


6 petites billes (A)



7 grandes billes (B)

Discrimination par la fluorescence interne APC (émission 660 nm)



Technique

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

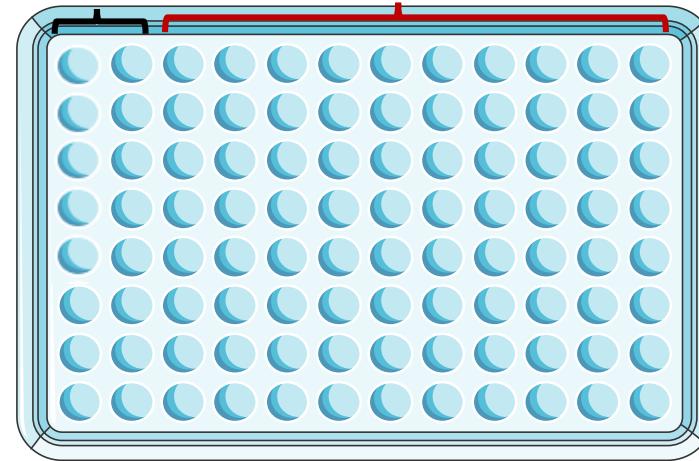


- Assay Buffer
- Wash Buffer
- Standard
- Matrix C
- Billes
- Anticorps de détection
- SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)

Technique

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

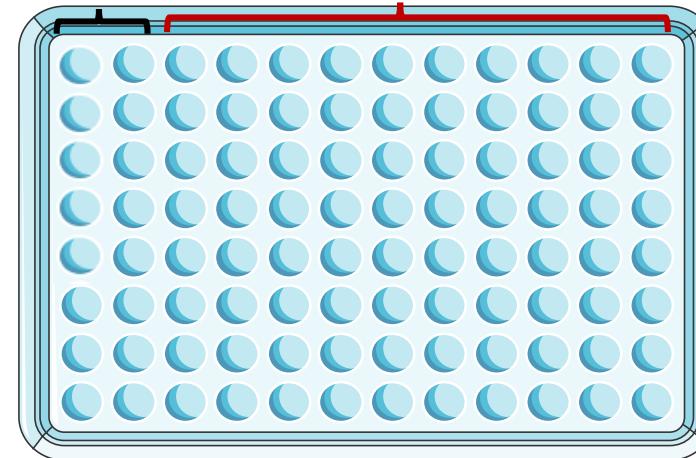
} Une
plaque gamme
échantillons



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

gamme

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 éliminé par pression à 300mBar pendant 10 secondes
 - 12,5 µL Matrix C
 - 12,5 µL points de gamme (C7,C6...C0)
 - 12,5 µL Assay Buffer
 - 12,5 µL échantillons (Plasma, sérum, culture cellulaire)

gamme

échantillons

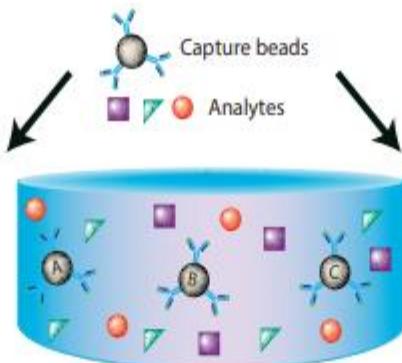
- Ajout des billes dans chacun des puits

For cell culture supernatant samples,
Add to the plate:
25 µL Assay Buffer to all wells
25 µL diluted standard to standard wells
25 µL sample to sample wells
25 µL mixed beads to all wells

Assay Procedure Summary for Filter Plate

Add 100 µL 1X Wash Buffer to filter plate wells

Vacuum to remove excess buffer

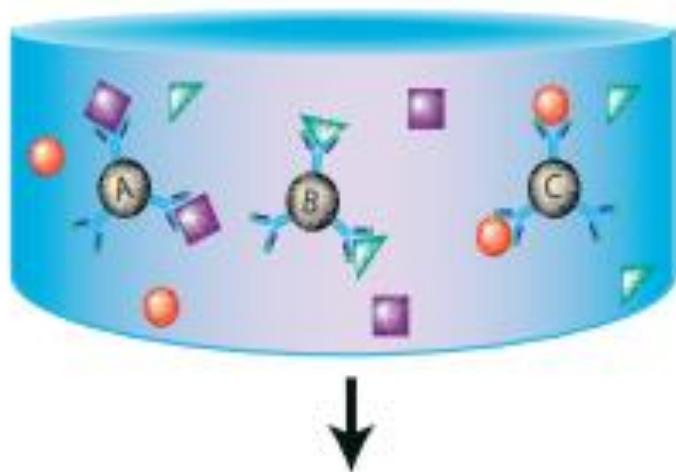


For serum and plasma samples,
Add to the plate:
25 µL Matrix C to standard wells
25 µL Assay Buffer to sample wells
25 µL diluted standard to standard wells
25 µL sample to sample wells
25 µL mixed beads to all wells

Vortexer les billes à chaque début de colonne

Technique

- 2 heures d'incubation à 500 RPM sous aluminium

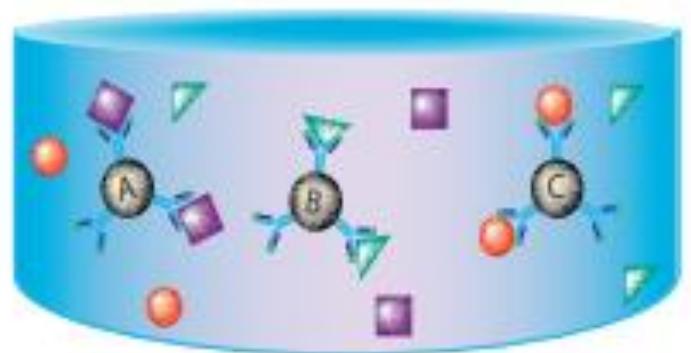


Capture des cytokines sur les anticorps spécifiques fixés sur les billes

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

Technique

- 2 heures d'incubation à 500 RPM sous aluminium

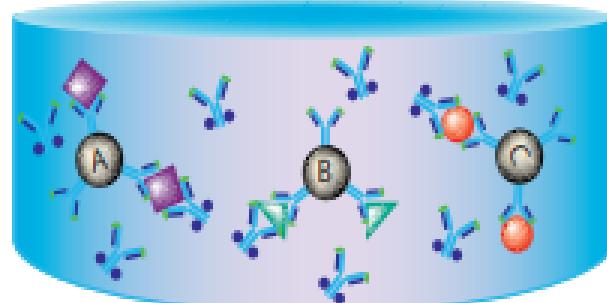


Capture des cytokines sur les anticorps spécifiques fixés sur les billes



Wash 2 times using vacuum filtration unit
Add 25 µL 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

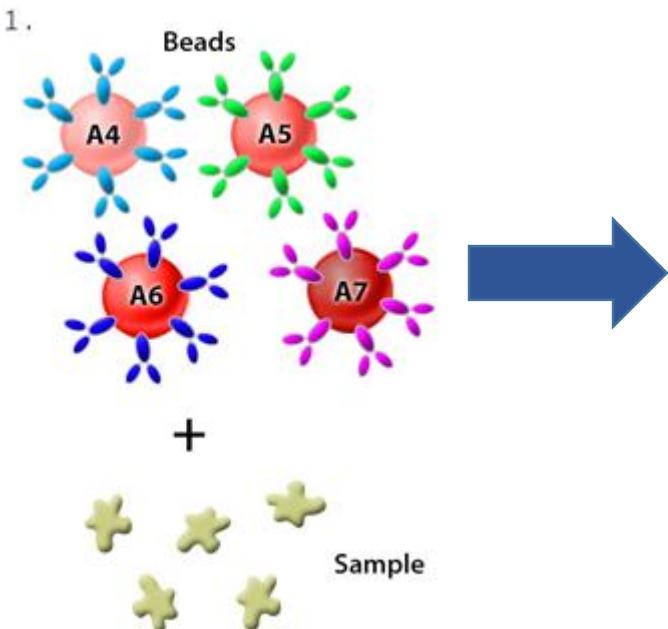


Biotinylated Detection Antibody

Capture des cytokines par les anticorps secondaires couplés à la biotine

Technique

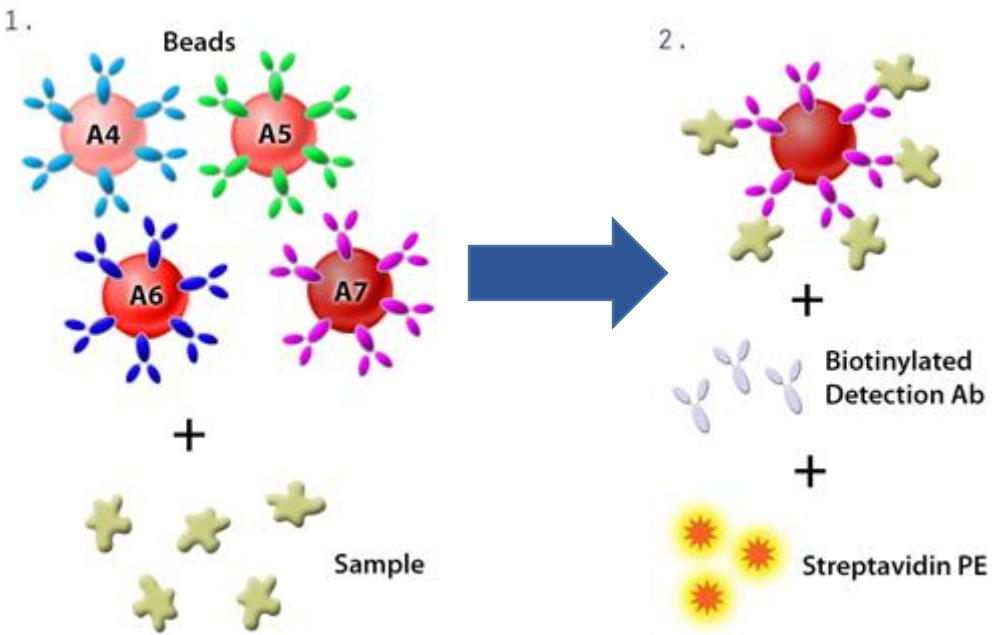
- Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)
- Incuber 30 minutes sous agitation



Technique

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

➤ Incuber 30 minutes sous agitation

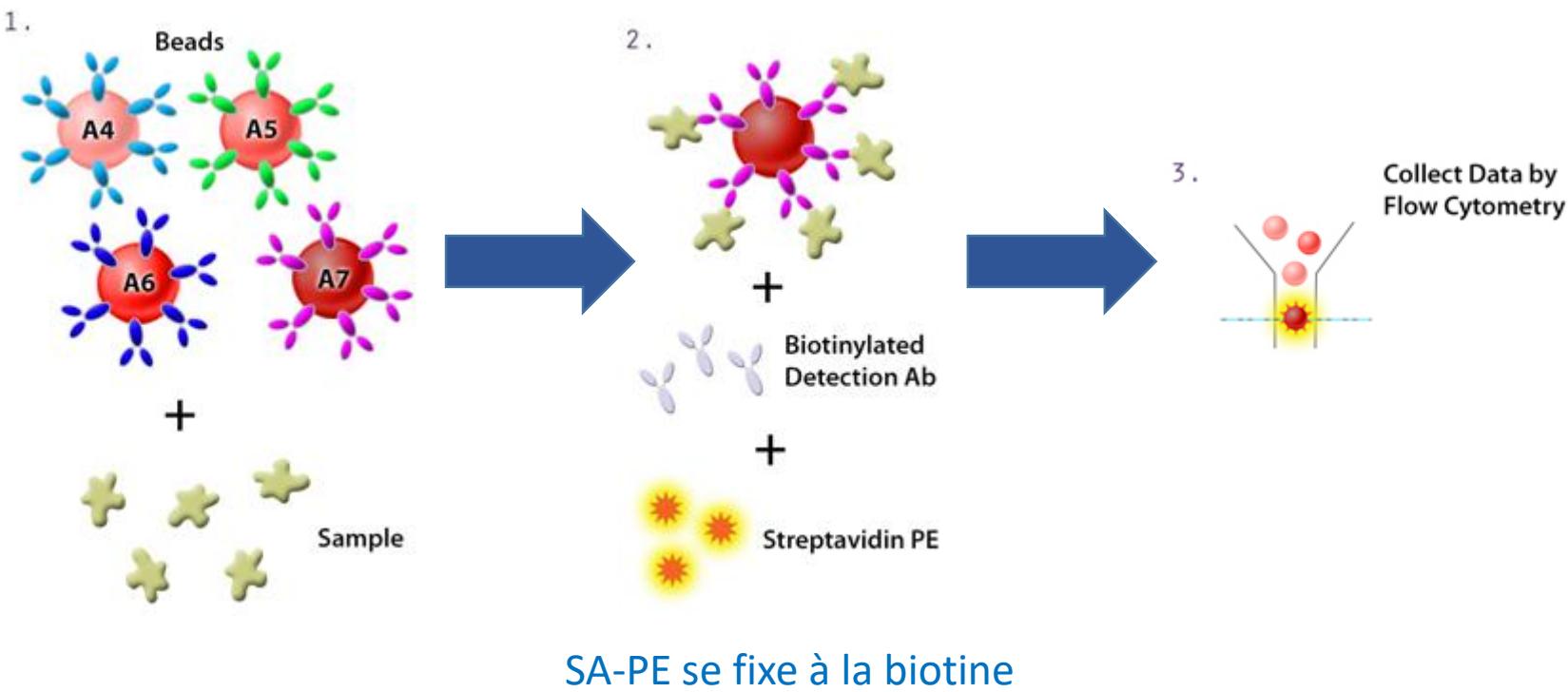


SA-PE se fixe à la biotine

Technique

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

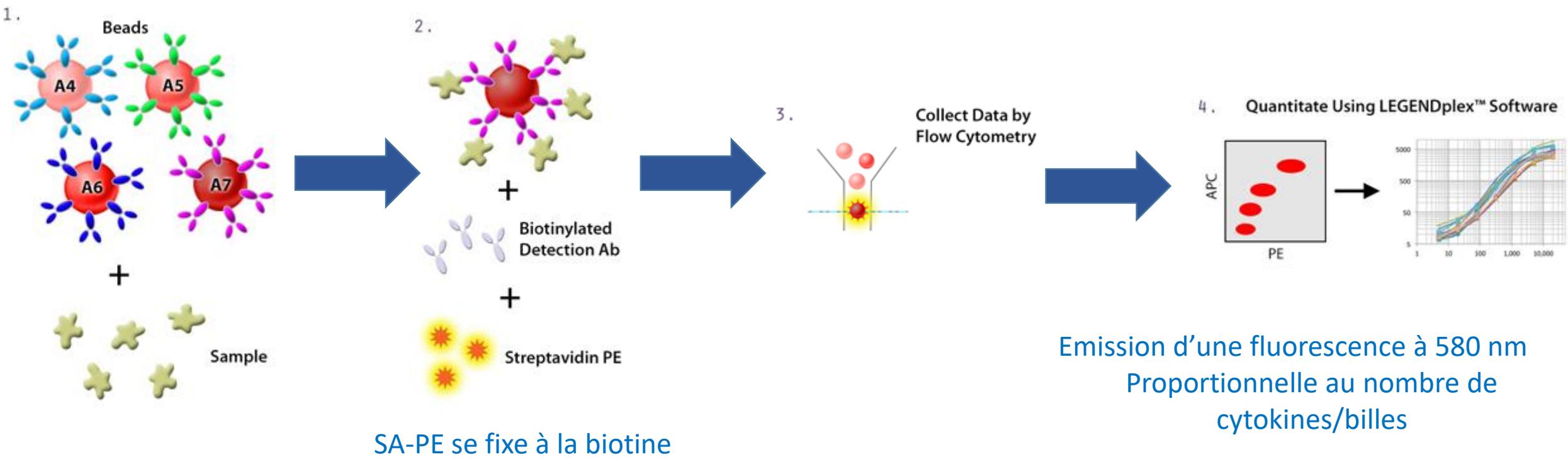
➤ Incuber 30 minutes sous agitation



Technique

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

➤ Incuber 30 minutes sous agitation



Technique

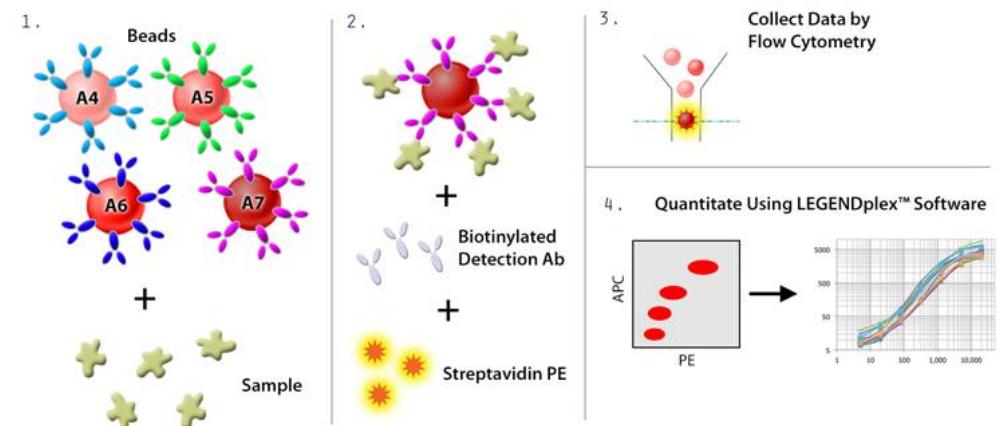
➤ Pas de lavage, ajouter SA-PE (Streptavidin-phycoerythrin)

➤ Incuber 30 minutes sous agitation

➤ Eliminer le liquide à une pression de 300 mbar puis laver deux fois

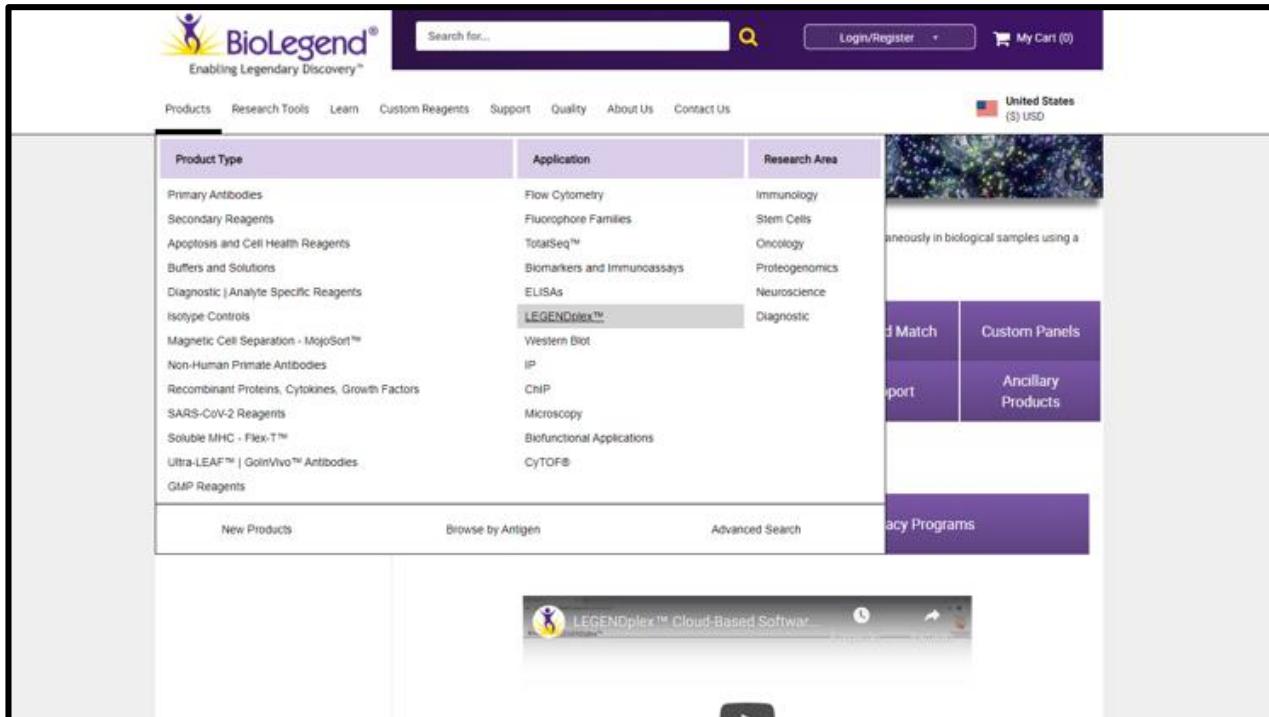
➤ Reprendre les billes dans 200 µL de PBS et transférer dans une plaque appropriée pour la cytométrie de flux

➤ Analyser en cytométrie de flux (FACS)



Analyse des résultats

Logiciel LEGENDplex™



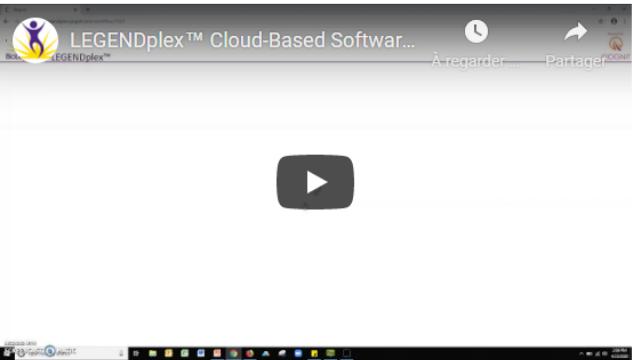
The screenshot shows the BioLegend website homepage. The navigation bar includes links for Products, Research Tools, Learn, Custom Reagents, Support, Quality, About Us, Contact Us, and a language selection for the United States (USD). The main content area features a grid of product categories: Product Type (Primary Antibodies, Secondary Reagents, Apoptosis and Cell Health Reagents, Buffers and Solutions, Diagnostic | Analyte Specific Reagents, Isotype Controls, Magnetic Cell Separation - MojoSort™, Non-Human Primate Antibodies, Recombinant Proteins, Cytokines, Growth Factors, SARS-CoV-2 Reagents, Soluble MHC - Flex-T™, Ultra-LEAF™ | GoinVivo™ Antibodies, GMP Reagents), Application (Flow Cytometry, Fluorophore Families, TotalSeq™, Biomarkers and Immunoassays, ELISAs, LEGENDplex™, Western Blot, IP, ChIP, Microscopy, Biofunctional Applications, CyTOF®), and Research Area (Immunology, Stem Cells, Oncology, Proteogenomics, Neuroscience, Diagnostic). A large image of a flow cytometry panel is displayed on the right. Below the grid, there are links for New Products, Browse by Antigen, Advanced Search, and Software. A banner at the bottom promotes the LEGENDplex™ Cloud-Based Software.

Logiciel disponible sur Biolegend
-> Legendplex™

Analyse des résultats

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](#)

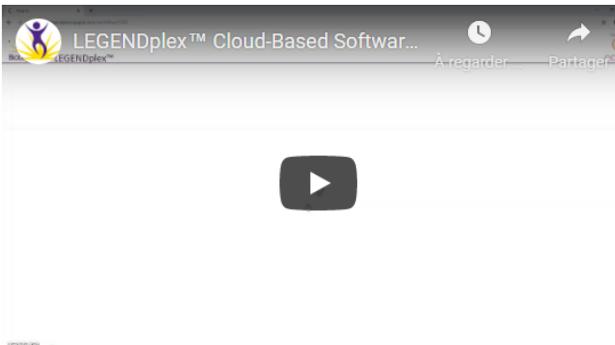
Analyse des résultats

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](#)

Log in

Email

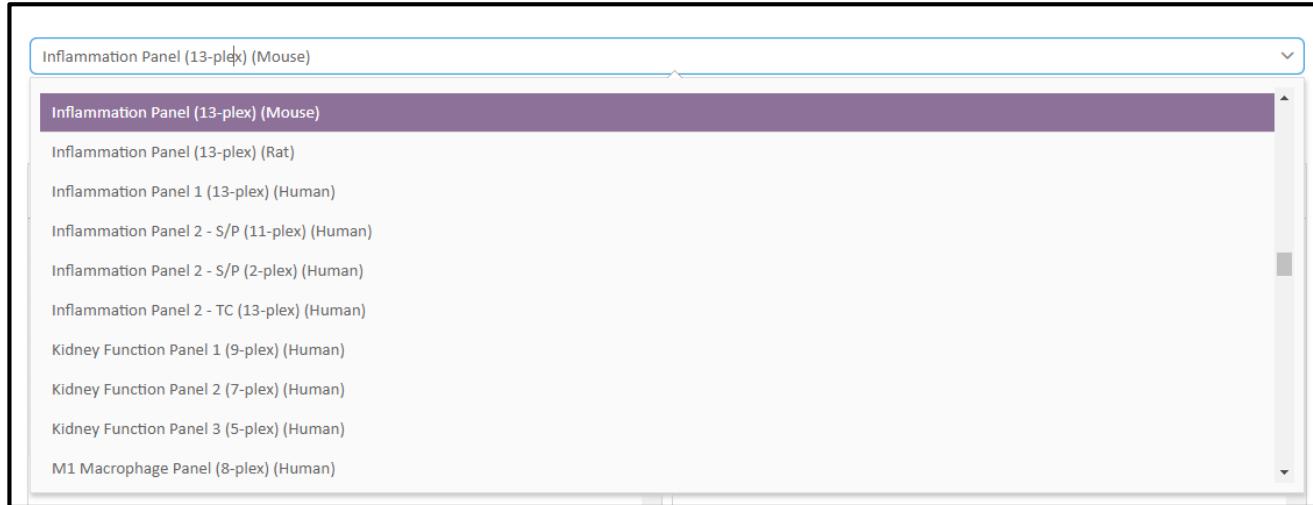
Password

[Forgot Password](#)

Login

Création d'un compte sur le site
<https://www.biologend.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)

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

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

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: 4

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): PE-A

APC (Bead Channel): APC-A

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: 4

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) PE-A APC (Bead Channel) APC-A

Advanced Options

Save

2021.07.01

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

Analyse des résultats

Ajout des échantillons

Beads Standards Samples Review Gating Results

Replicate Controls:

Replicates: 2

Replicate Pattern: AABBCC

Apply

Select Samples FCS file(s)

FCS File List:

Files	Sample Name	Dilution	Order By Keyword: \$BTIM
			\$BTIM (Acquisition Time)

Upload

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

Analyse des résultats

Ajout des échantillons

Beads Standards Samples Review Gating Results

Replicate Controls:

Replicates: 2

Replicate Pattern: AABBCC

Apply

Select Samples FCS file(s)

FCS File List:

Files	Sample Name	Dilution	Order By Keyword: SBTIM
			SBTIM (Acquisition Time)

Upload

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

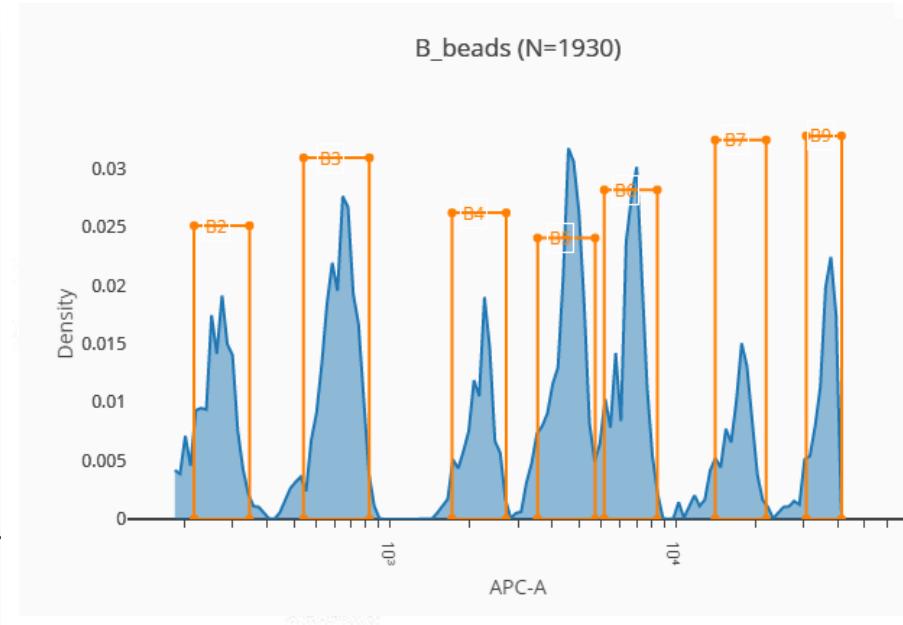
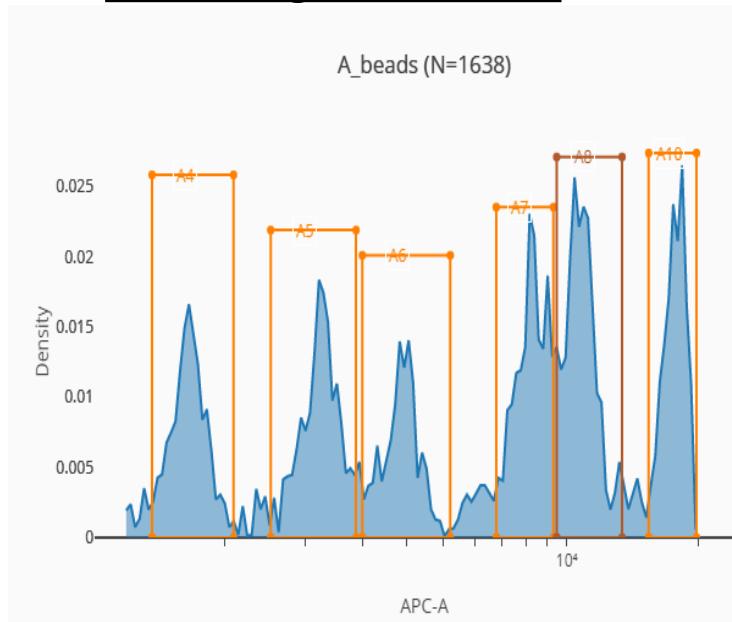
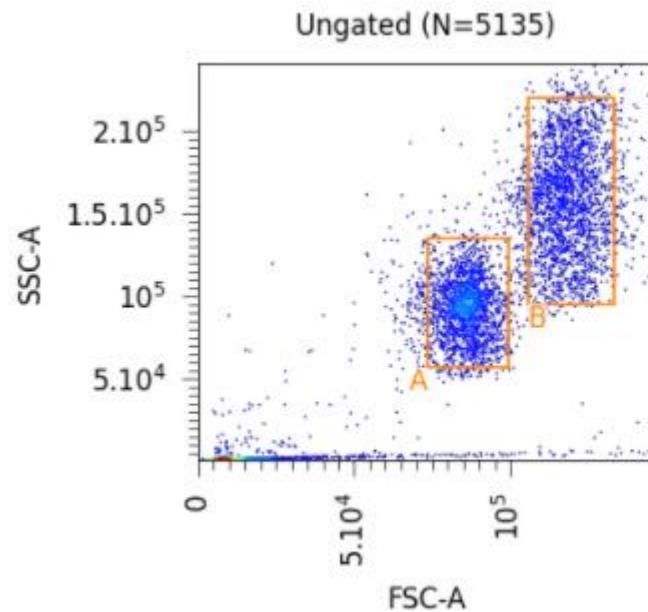
Échantillons ajoutés

Uploaded Sample and Standard Files:

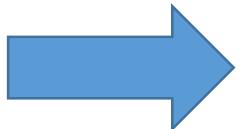
Files	Sample Name	Replicate	Dilution	Run Gating
S101-1.fcs	S101-2	1	2	✓
S102-1.fcs	S102-1	1	2	✓
S102-2.fcs	S102-2	1	2	✓
S103-1.fcs	S103-1	1	2	✓
S103-2.fcs	S103-2	1	2	✓
S104-1.fcs	S104-1	1	2	✓
S104-2.fcs	S104-2	1	2	✓
S105-1.fcs	S105-1	1	2	✓
S105-2.fcs	S105-2	1	2	✓
S106-1.fcs	S106-1	1	2	✓
S106-2.fcs	S106-2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

Analyse des résultats

Reviewing échantillons



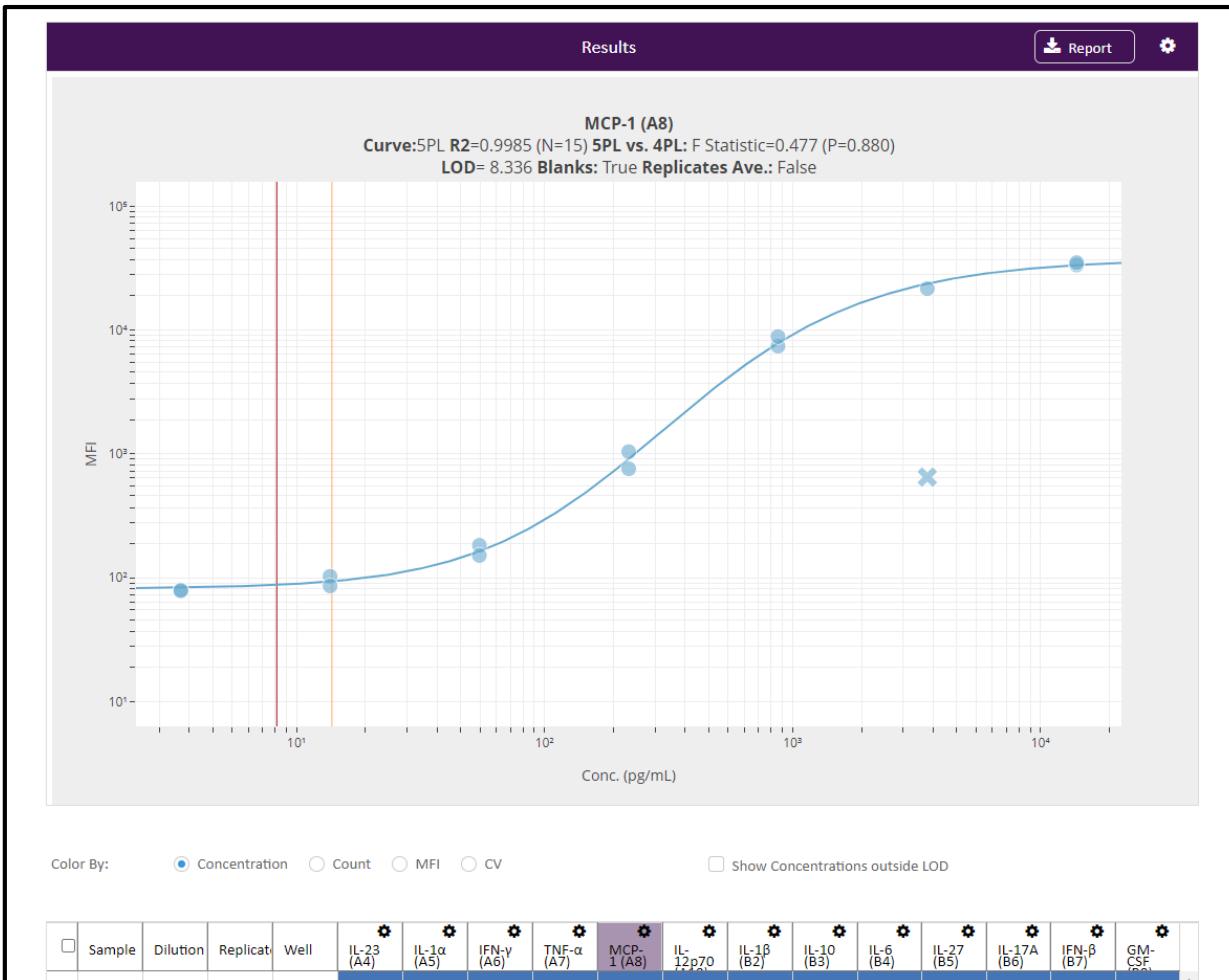
Ajustement du nombre de billes A et billes B (événements souhaités) ainsi que de la densité de billes spécifiques à chaque cytokines



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

	Sample	Dilution	Replicat	Well	IL-23 (A4)	IL-1 α (A5)	IFN- γ (A6)	TNF- α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70 (B2)	IL-1 β (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	71.80	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	33531.8	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

	Sample	Dilution	Replicat	Well	IL-23 (A4)	IL-1 α (A5)	IFN- γ (A6)	TNF- α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70 (B2)	IL-1 β (B2)	IL-10 (B3)	IL-6 (B4)	IL-27 (B5)	IL-17A (B6)	IFN- β (B7)	GM-CSF (B8)
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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
	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

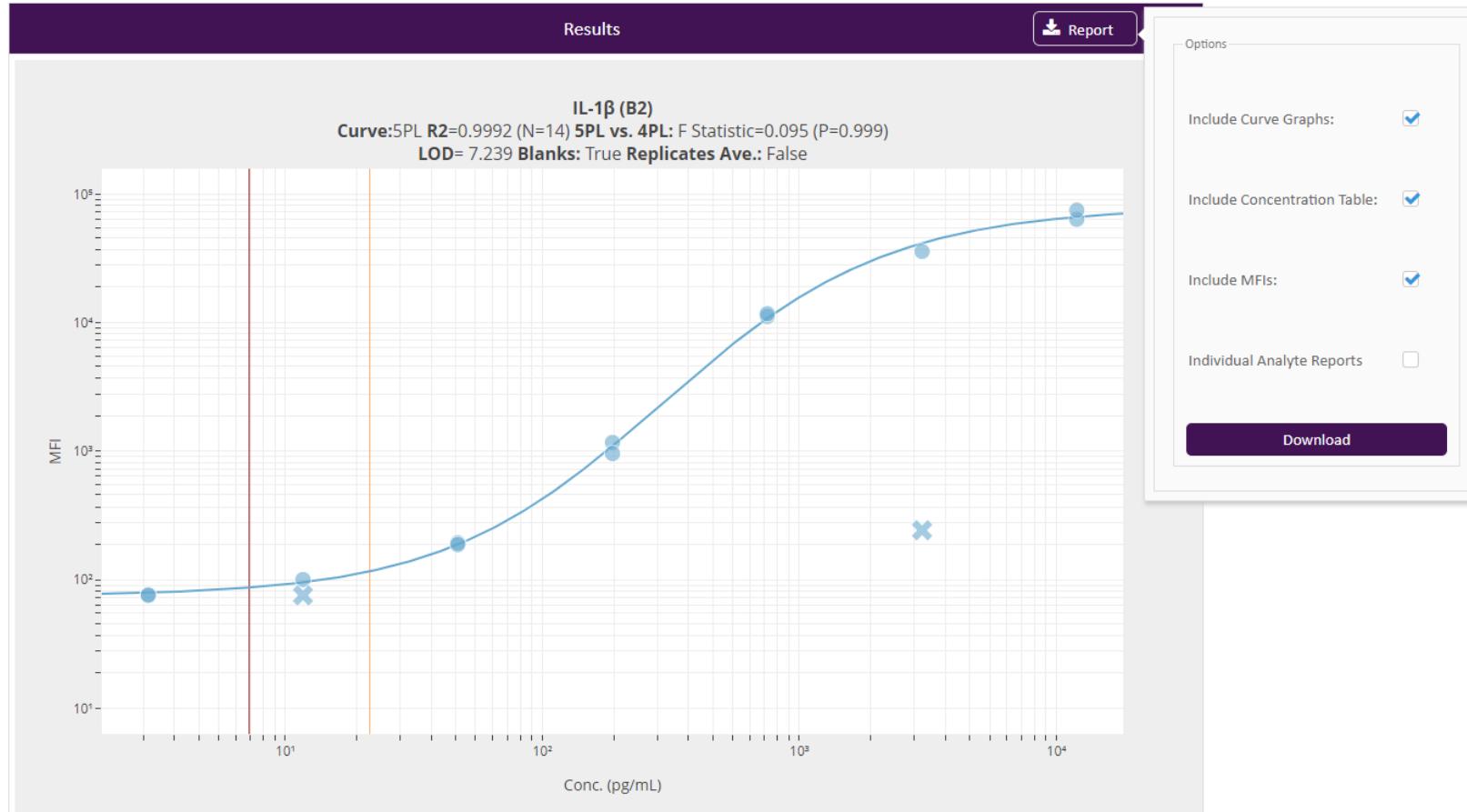
Cell Count Cut-off

	Sample	Dilution	Replicat	Well	IL-23 (A4)	IL-1 α (A5)	IFN- γ (A6)	TNF- α (A7)	MCP-1 (A8)	IL-12p70	IL-1 β (B2)	IL-10 (B3)	IL-6 (B4)	IL-27 (B5)	IL-17A (B6)	IFN- β (B7)	GM-CSF (A1)
□	S101-2	2	1	S101-2.f	252	250	214	286	292	303	276	366	181	347	274	141	198
□	S102-1	2	1	S102-1.f	220	225	207	231	323	248	294	357	201	445	318	192	261
□	S102-2	2	1	S102-2.f	255	222	243	260	272	301	287	326	207	355	332	177	227
□	S103-1	2	1	S103-1.f	220	223	218	275	318	291	296	375	194	398	291	181	183
□	S103-2	2	1	S103-2.f	253	247	241	288	296	273	287	403	158	344	271	212	178
□	S104-1	2	1	S104-1.f	202	264	212	352	300	276	256	348	152	314	275	170	166
□	S104-2	2	1	S104-2.f	261	231	211	274	278	298	280	362	182	375	264	181	181
□	S105-1	2	1	S105-1.f	211	253	232	229	270	295	301	291	241	340	308	236	233
□	S105-2	2	1	S105-2.f	272	220	187	227	257	283	300	311	245	345	323	238	255
□	S106-1	2	1	S106-1.f	229	264	214	284	348	305	309	347	243	337	330	64	241
□	S106-2	2	1	S106-2.f	246	251	245	230	286	274	279	329	229	336	312	135	269
□	S107-1	2	1	S107-1.f	245	246	202	238	281	267	266	326	220	306	309	201	298
□	S107-2	2	1	S107-2.f	246	224	196	255	283	287	261	336	235	328	329	209	246
□	S109-1	2	1	S109-1.f	244	283	244	300	262	260	278	346	206	345	259	204	235
□	S109-2	2	1	S109-2.f	206	219	199	270	340	220	319	355	235	367	266	183	235
□	S110-1	2	1	S110-1.f	271	257	235	261	318	280	292	364	175	314	295	207	162
□	S110-2	2	1	S110-2.f	45	43	34	47	61	47	52	77	41	63	60	39	34
□	S111-1	2	1	S111-1.f	213	266	226	260	265	272	273	339	215	325	320	153	297
□	S111-2	2	1	S111-2.f	221	270	240	265	299	277	264	330	200	347	296	168	293
□	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 répliques.
- Gérer son cut-off (minimum 100 billes pour une analyse viable)

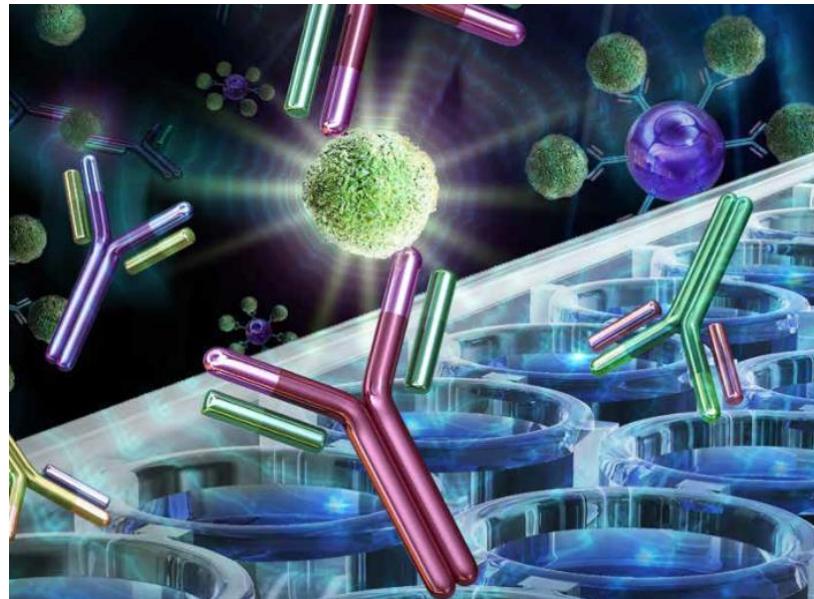
Analyse des résultats

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>