

テクニカルスタッフの ちょっと一言

～アッセイ評価指標のあれこれ～ アッセイ系のロバストネス / 頑強性

プロメガで取り扱っているセルベースアッセイあるいは酵素アッセイなどが評価系として良いものかどうかを示す指標として、 Z' という値がごく普通に使われるようになりました。この Z' という値、以下の計算式で算出されます。ところでこの式の意味するところを考えたことがありますか。

$$Z' = \frac{(S - 3SD_S) - (B + 3SD_B)}{S - B}$$

S: Positive control の平均値
B: Negative control の平均値
SD_S: Positive control の標準偏差
SD_B: Negative control の標準偏差

この Z' は、各アッセイ系特有のばらつきすべてを考慮している点が重要なポイントとなります。このばらつきを引き起こす原因は様々で、反応系そのものの問題、手技、測定装置、測定法などであり、セルベースアッセイはそれだけでセルフリー系よりもばらつきが大きくなるのが一般的です。

この評価方法が提案されるまでは、S/B が使われていました（ここで S はアッセイ系での Control の平均値、B は Negative control の平均値で 100% および 0% control の基準値）。なぜこの S/B では系の評価には不十分なのでしょう。たとえば S/B が 10 の系と 2 の系があってこれを比較した場合、S/B が 2 の系の多くの場合は評価系として成り立ちにくいアッセイ系と考えられます。ただしそれが必ずしもそうとは限らない。

図 1 は、どちらも CV=10% でばらついている場合を想定して、Control と Negative Control を多数とった時のばらつきの分布を正規分布として示しています。図 2 は極端な場合を示しています（S/B=10 は CV=20%、S/B=2 では CV=1%）。図 1 の場合は、明らかに S/B=10 の方がロバストですが、図 2 の場合は、S/B=10 の方がロバストと言えるでしょうか。図 2 の S/B=2 なんて実際にはありえないと思われるかもしれませんが、しかしこれは極端な例ではありますが、これを客観的に見ようというのが Z' です。

先の計算式で平均値に標準偏差の 3 倍を加算あるいは減算するということは、Control として、あるいは Negative control として統計的にかなりありえない（確率 0.14% 以下）ところを意味します。したがって図 3 で示しました Negative control よりも大きく、Control よりも小さい Assay window が全体の何パーセントを占めるか、を意味しているのが Z' であるということになります。ここで Z' を図 1, 2 の場合に当てはめてみると、表 1 のようになります。

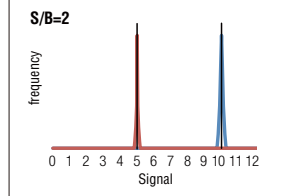
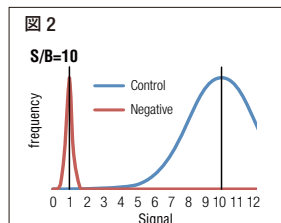
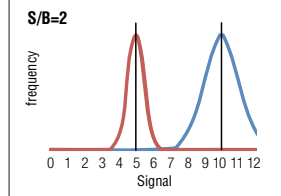
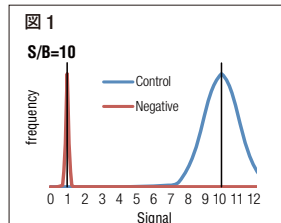


図 1 の S/B が 10 の場合は Assay window が 63% あり、図 2 の S/B が 2 の場合は Assay window が 91% ある、ということになります。

一般的なアッセイ法で一般的な値、吸光度やカウントなどの場合は特に必要はないかもしれませんが、ratio metric なアッセイなどアウトプットに慣れていない数字であった場合などに役立ちます。またアッセイで background（たとえば吸光度でバッファだけの値）を引くということをしなくとも、系の評価をすることができます。

簡単に言えば、S/B にばらつきを加味した指標、ということになります。この評価方法、実は 15 年も前に発表されたもの*であり、そこでは Z' が 0.5 以上、すなわち Assay window が 50% 以上あればロバストな系であるといっています。日常使われるアッセイ系でも Z' を計算し、体感している系のロバストの感覚と Z' と照らし合わせて把握しておくこと、経験のないアッセイ方法の場合であっても、自分の感覚として把握することができます。もちろん ratio metric assay などの場合は、単に ratio のみならず、生データも日頃から見るということも重要です。

* J Biomol Screen 1999 4 (2) 67-73

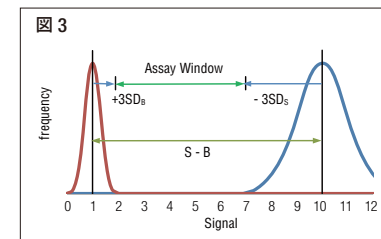


表 1

	S/B	CV%	Z'
図 1	2	10	0.10
	10	10	0.63
図 2	2	1	0.91
	10	20	0.27



プロメガクラブ：研究のボトルネック解消をお手伝い
6つの会員特典あり、会員の声を反映しさらに進化を続けています。

会員 特価 新製品トライアル 入会方法はとっても簡単！入会費・年会費はもちろん不要

限定品 イベント優先招待

RentaMax ポイントプログラム

まずは検索
プロメガクラブ 検索

発光アッセイセミナー開催決定！

Advanced Cellular Analysis ～ NanoLuc® が未来を拓く～ (仮)

詳細は Web から www.promega.co.jp/2015biolumseminar/

9/8 秋葉原 (東京) 富士ソフト アキバプラザ

9/9 つくば (茨城) つくば研究支援センター

9/11 千里 (大阪) 千里ライフサイエンスセンター

レポーターアッセイガイド新発行のお知らせ

- 発光レポーターガイド
- レポーターアッセイが初めての方に
- 最新のレポーターアッセイを知りたい方に

レポーターアッセイの進化の歴史や実験の流れ
～最新アプリケーションまで 盛りだくさんの 1冊!!

www.promega.co.jp/pdf/reporter_guide_2015.pdf

弊社ホームページよりご覧いただけます。冊子版もご用意しております。
ご利用の販売店または弊社ホームページよりご請求ください。

