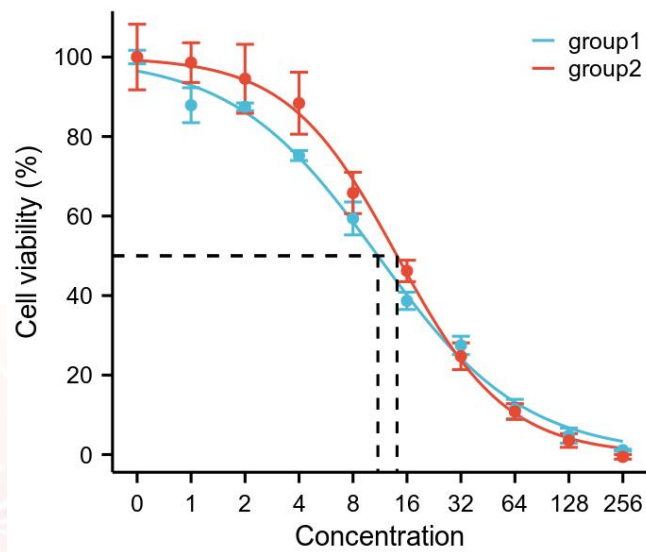


## 实验分析 - 细胞毒 EC50(OD)



网址: <https://www.xiantao.club>



更新时间: 2023.02.09

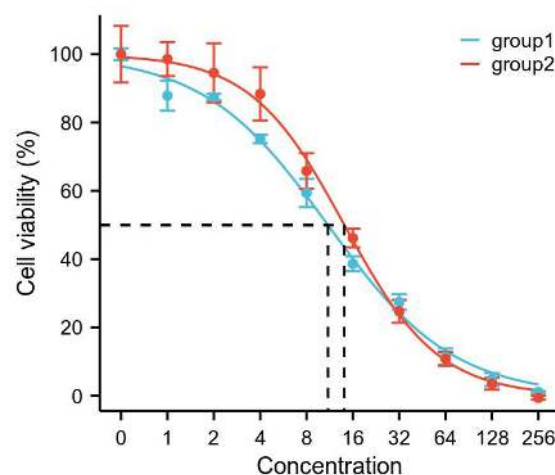
## 目录

基本概念 .....	3
应用场景 .....	4
结果解读 .....	5
数据格式 .....	6
参数说明 .....	7
方法 .....	7
点 .....	9
误差线 .....	10
标题 .....	11
图注 .....	11
风格 .....	12
图片 .....	12
结果说明 .....	13
主要结果 .....	13
补充结果 .....	14
方法学 .....	16
如何引用 .....	17
常见问题 .....	18

## 基本概念

细胞毒 EC50(OD): 根据实验数据拟合成相应的模型, 最终得到 EC50 对应的浓度。

- **EC50**: 当试验不以死亡作为试验生物对毒物的反应指标, 而是观察测定毒物对生物的某一影响, 如鱼类失去平衡、畸形、酶活变化及藻类生长受抑制, 常用有效浓度即 EC (effective concentration) 来表示毒物对试验生物的毒性。半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect,EC50)是指**能引起50%最大效应的浓度**。
- IC50 (half maximal inhibitory concentration)是指被测量的拮抗剂的半抑制浓度。它能指示某一药物或者物质(抑制剂)在抑制某些生物程序(或者是包含在此程序中的某些物质, 比如酶, 细胞受体或是微生物)的半量。
- EC50 和 IC50 的区别: IC50 的 I, 重在 Inhibition, 只考察对靶点的效应。EC50 的 E, 重在 Effect, 看的是总体生物学表型。举例: 抗癌药 EGFR 激酶抑制剂的 IC50, 是指 EGFR 的磷酸化被抑制一半的剂量, 而 EC50 是指癌细胞的活力被抑制一半的剂量。
- 图形构成



## 应用场景

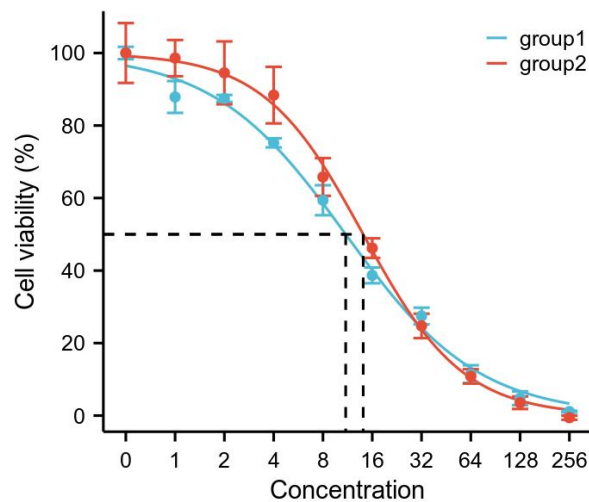
主要用于从细胞毒实验（CCK8、MTT 法）获得的 OD 值后可以直接对实验数据进行分析 and 可视化。

## 分析流程



注：细胞的活性计算公式： $(OD[\text{drug}] - OD[\text{blank}]) / (OD[\text{control}] - OD[\text{blank}]) * 100\%$ ；细胞抑制的计算公式： $1 - \text{细胞活性}\%$

## 结果解读



- 纵坐标为细胞活性的百分比。
- 图中横坐标是药物浓度。一般 EC50 曲线的浓度是需要经过  $\log_{10}$  转换才会出现特征的 S 型或者倒 S 型曲线（Sigmoid 型，取决于是杀细胞还是保护细胞效应），所以刻度的间隔不是均匀的，而是成倍数增加的。此图的刻度是经过  $\log_{10}$  转换再反转之后的刻度。
- EC50 曲线的浓度经过  $\log$  转换后，曲线都会呈现倒 S 型（或者 S 型），EC50 对应的浓度会根据数据会拟合成相应的模型，最终得到 EC50 对应的浓度。
- 图中虚线表示曲线对应的相对 EC50（半最大效应浓度）的位置。
- 拟合模型采用的是 log-logistic（效应最小值和最大值不固定）方法,不同的模型拟合出来的 EC50 会有一定的区别，但是相差不大。

## 数据格式

group	Blank	0	1	2	4	8	16	32	64	128	256
group1	0.071	1.209	1.118	1.05	0.911	0.747	0.532	0.347	0.181	0.124	0.074
group1	0.059	1.221	1.018	1.072	0.916	0.785	0.483	0.386	0.175	0.136	0.075
group1	0.06	1.183	1.062	1.062	0.938	0.691	0.499	0.397	0.226	0.094	0.079
group2	0.077	1.194	1.136	1.138	1.091	0.821	0.529	0.304	0.168	0.135	0.077
group2	0.078	1.025	1.132	0.962	0.943	0.714	0.585	0.328	0.209	0.102	0.072
group2	0.077	1.137	1.044	1.085	0.959	0.753	0.561	0.373	0.193	0.106	0.065

表格类型：原始数据（OD 值）

- 数据表格带表头和列名。
- 如果有分组信息（不同的处理因素），则第一列为分组信息，第一列不能有缺失，分组数量不能大于 6，第一列提供分组时，每组需要至少 2 个重复，至少需要 4 列数据，最多 20 列，至少需要 2 行，不能超过 500 行
- 第二列为空白对照组的检测 OD 值结果，如果不提供，则默认将 blank 当做为 0
- （必须）第三列为阴性对照组的检测 OD 值的结果，列名需要命令为 0
- 之后的列为成倍数增加的浓度下的 OD 值结果

## 参数说明

(说明：标注了颜色的为常用参数。)

## 方法



- 方法：在进行模型拟合时候，是否要固定最大和最小效应值，默认是固定（效应最小值 0，效应最大值 1），也可以选择不固定

## 线



- 颜色：拟合曲线的颜色
- 线条类型：两个选项，实线或者虚线，默认是实线
- 线条粗细：线条的粗细
- 不透明度：曲线的不透明度，0 为完全透明，1 为完全不透明。



## 点

点

显示

均值

填充色

描边色

样式

圆形

大小

0.8

不透明度

1

- 显示：可以选择展示均值 或者 所有值 或者 无
- 填充色：点的描边色颜色选项，有多少个分组会取前多少的颜色。
- 描边颜色：点的填充色颜色选项，有多少个分组会取前多少的颜色。
- 样式：点的样式类型，可选择 圆形、正方形、菱形、三角形、倒三角。
- 大小：点的大小。
- 透明度：点的透明度。0 为完全透明，1 为完全不透明

## 误差线

误差线

是否展示

类型

均值±标准差

颜色

粗细

0.75pt

宽度

0.2

- 是否显示：是否显示误差线
- 类型：可以选择可选均值±标准差、均值±标准误，建议选择均值±标准差！
- 颜色：误差线的颜色
- 粗细：误差线的粗细
- 宽度：误差线的宽度

## 标题

标题

大标题 大标题内容

x轴标题 x轴标题内容

y轴标题 y轴标题内容

换行可以在需要换行的位置插入\n; 如果需要上标, 可以用两个大括号括住想要上标的内容, 形如'{{2}}'; 如果需要下标, 可以用两个效果括住想要上标的内容, 形如'[[2]]'

- 大标题: 大标题文本
- X 轴标题: X 轴标题
- Y 轴标题: Y 轴标题

## 图注

图注

是否展示 ☒

图注标题 图注标题内容

换行可以在需要换行的位置插入\n

- 展示: 是否展示图注 (只有在多个组时才会有)
- 图注标题: 图注的标题
- 图注位置: 可选右、上, 默认为右

## 风格



- 边框：是否显示主图边框
- 网格：是否添加网格
- 文字大小：图中的文字部分的大小（包括标签文字和刻度数），默认是 6pt

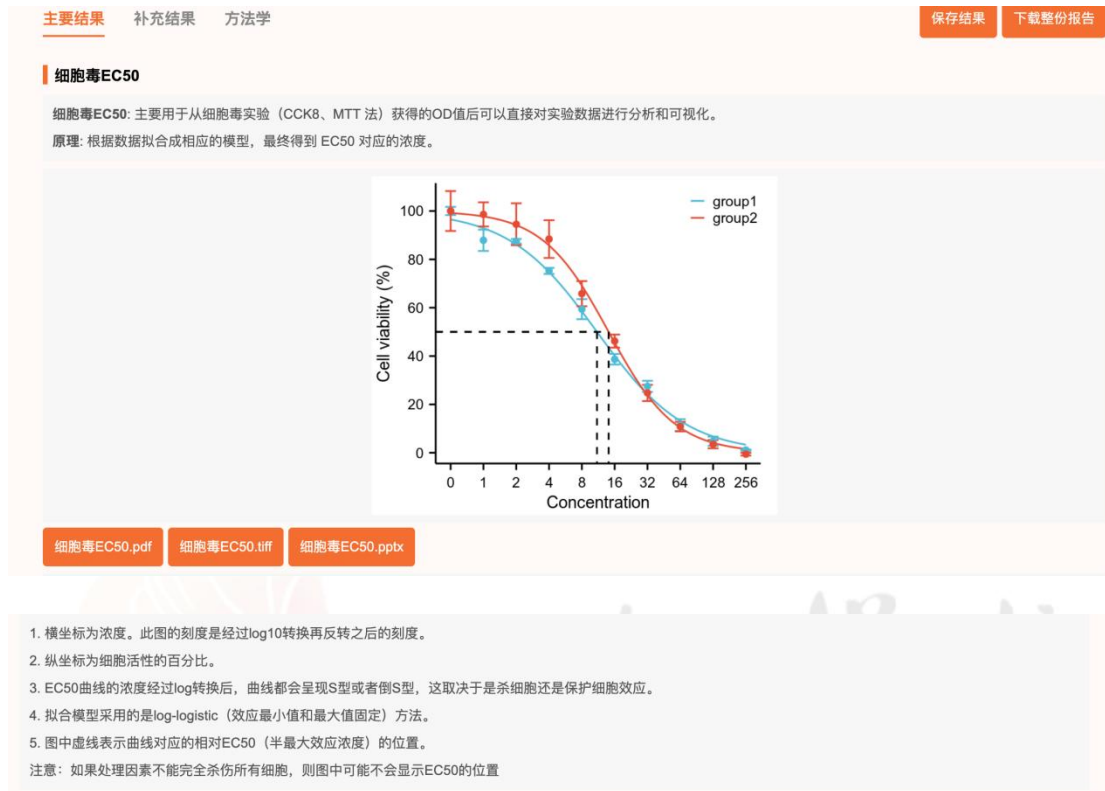
## 图片



- 宽度：图片横向长度，单位为 cm
- 高度：图片纵向长度，单位为 cm

## 结果说明

## 主要结果



主要结果格式为图片格式, 提供 PDF、TIFF 和 PPT 格式下载。

## 补充结果

OD 值表格提供计算得到的空白组和对照组的 OD 均值

主要结果	补充结果	方法学	保存结果	下载整份报告
------	------	-----	------	--------

空白和阴性对照OD		
分组	空白对照(blank)	阴性对照(control 0)
group1	0.06333333	1.204333
group2	0.07733333	1.118667

表中显示了各组的空白对照组(blank)和阴性对照组(control|0)的OD均值情况  
如果blank值均为0, 则说明数据中缺少空白对照组, 此时默认会设置为0

Cell viability 表格为数据经过计算和转换后得到的每个浓度下细胞活性的情况  
(数据可直接用于 Graphpad Prism 作图)

Cell Inhibition 表格为数据经过计算和转换后得到的细胞抑制情况

细胞活性 抑制性情况					
细胞活性情况表					
分组	浓度	log10浓度	细胞活性均值(%)	细胞活性标准差(%)	数量
group1	0	-Inf	100	1.7025	3
group1	1	0	87.876	4.3926	3
group1	2	0.30103	87.467	0.96539	3
group1	4	0.60206	75.226	1.2589	3
group1	8	0.90309	59.392	4.1443	3
group1	16	1.2041	38.68	2.1899	3
group1	32	1.5051	27.461	2.3027	3
group1	64	1.8062	11.452	2.443	3
group1	128	2.1072	4.7911	1.896	3
group1	256	2.4082	1.1101	0.23188	3
group2	0	-Inf	100	8.2566	3
group2	1	0	98.592	4.9936	3

细胞抑制性情况表					
分组	浓度	log10浓度	细胞抑制性均值(%)	细胞抑制性标准差(%)	数量
group1	0	-Inf	7.4015e-15	1.7025	3
group1	1	0	12.124	4.3926	3
group1	2	0.30103	12.533	0.96539	3
group1	4	0.60206	24.774	1.2589	3
group1	8	0.90309	40.608	4.1443	3
group1	16	1.2041	61.32	2.1899	3
group1	32	1.5051	72.539	2.3027	3
group1	64	1.8062	88.548	2.443	3
group1	128	2.1072	95.209	1.896	3
group1	256	2.4082	98.89	0.23188	3
group2	0	-Inf	3.7009e-15	8.2566	3
group2	1	0	1.4085	4.9936	3

[细胞活性.xlsx](#)
[细胞抑制性.xlsx](#)

1. 细胞的活性(Cell viability)计算公式:  $(OD[drug] - OD[blank]) / (OD[control] - OD[blank]) * 100\%$ , 计算细胞活性后再计算每个浓度对应的均值和标准差  
2. 细胞抑制的计算公式:  $1 - \text{细胞活性}\%$

Dose-Response 表格为估计的药物-剂量反应相关的效应值，包括 EC50 等  
 分组模型检验和 ED 值比较表格：如果有不同的分组信息（不同的处理因素），  
 则会比较不同处理因素的模型的效应情况，及 ED50 值的比较情况

Dose-Response情况				
拟合模型: Log-logistic				
组别	最小效应量	最大效应量	EC50	Hill slop
group1	固定值:0	固定值:1	11.01 (10.5 - 11.53)	-1.071 (-1.022 - -1.12)
group2	固定值:0	固定值:1	14.09 (13.52 - 14.66)	-1.425 (-1.355 - -1.495)

表中展示了估计的药物-剂量反应相关的效应值, 包含组别, 效应最小值, 效应最大值, EC50值(置信区间), 斜率

分组模型检验情况	
statistic	pvalue
16.995	1.71e-06

不同分组曲线模型整体检验结果显示 $P < 0.05$ , 分组的曲线之间存在差别

分组模型整体检验（anova 检验）的 p 值不为 NA，并且两组不同的情况下才进行  
 ED 比较

分组比较情况		
比较	统计值	P值
group1 vs group2	-4.55	2.93e-05

对相对EC50值进行检验。若 $P < 0.05$ , 则表明分组的曲线具有不同的相对EC50值, 若 $P > 0.05$ , 则表明分组的曲线具有相似的相对EC50值, 若是出现了NA则可以选择将最小最大效应值固定

## 方法学

统计分析和可视化均在 R 4.2.1 版本中进行

涉及的 R 包：drc 包[3.0-1]用于分析，ggplot2 进行可视化。

参考文献： [1] Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C., & Gerhard, D. (2015). Dose-response analysis using R. PloS one, 10(12), e0146021.





## 如何引用

生信工具分析和可视化用的是 R 语言，可以直接写自己用 R 来进行分析和可视化即可，可以无需引用仙桃，如果想要引用仙桃，可以在致谢部分 (Acknowledge) 致谢仙桃学术 ([www.xiantao love](http://www.xiantao love))。

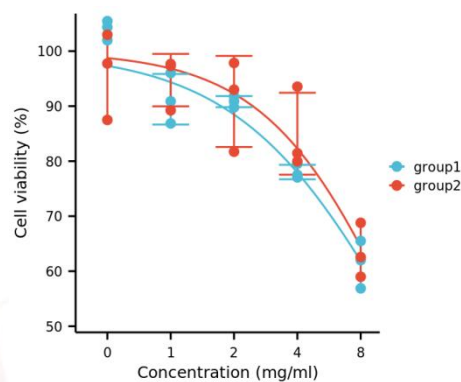
方法学部分可以参考对应说明文本中的内容以及一些文献中的描述。



## 常见问题

### 1. 数据的可视化结果看起来有点奇怪?

答: 如果处理因素就不可能完全杀伤完所有的细胞, 或者只是做了比较低的浓度而没有高浓度(还没有观测到细胞杀伤接近于 0 的情况), 可能拟合出来的 S 型曲线就会和实际的差别很大。另外此时效应值建议选为固定。(下图是一个只有低浓度的数据的例子)



结果