



## SPR 데이터 분석 지표: $\chi^2$ (Chi-square)의 정의와 판정 기준 ( $R_{max}$ 의 10% 기준의 의미)

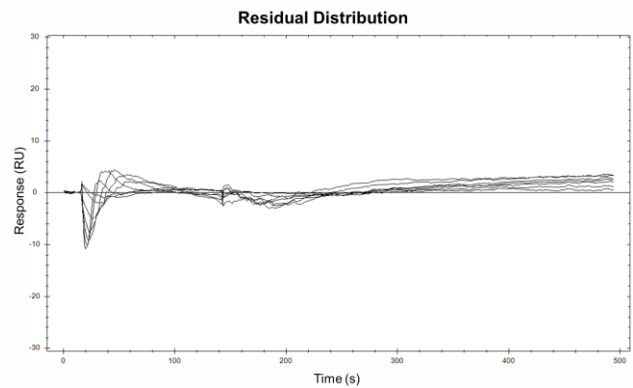
### 1. 개요

Surface Plasmon Resonance (SPR) 분석에서 Kinetic Fitting의 품질을 평가할 때 가장 먼저 접하게 되는 수치는  $\chi^2$  (Chi-square)입니다. 많은 연구자들이  $\chi^2$  값이 작아야 한다는 점은 알고 있지만, 정확히 어느 수준이어야 합격인지, 혹은 신호 크기에 따라 이 값이 어떻게 변하는지에 대해서는 혼란을 겪곤 합니다.

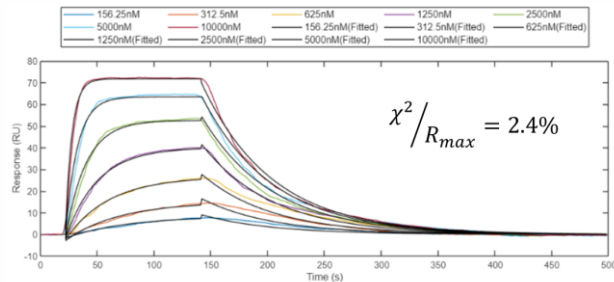
본 문서는 SPR 소프트웨어에서 계산되는  $\chi^2$ 의 수학적 의미를 짚어보고, 학계와 산업계에서 통용되는 "Rmax 대비 10% (또는 5%) 가이드라인"의 근거와 올바른 해석 방법을 설명합니다.

$$\chi^2 = \frac{\sum(r_f - r_x)^2}{N - p}$$

(여기서  $r_f$ 는 이론값,  $r_x$ 는 측정값,  $N$ 은 데이터 포인트 수,  $p$ 는 피팅 파라미터 수를 의미)



[ Figure 2. 잔차 분포 (Residual distribution) ]



Result

#	Name	Concentration	KD (M)	kon (1/(M*s))	koff (1/s)	Rmax (RU)	KA (1/M)	BI (RU)	Chi2 (RU^2)
1	Furosemide	156.25nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-1.75	1.85
2	Furosemide	312.5nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-2.92	1.85
3	Furosemide	625nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-2.35	1.85
4	Furosemide	1250nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-1.99	1.85
5	Furosemide	2500nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-1.70	1.85
6	Furosemide	5000nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	-0.13	1.85
7	Furosemide	10000nM	1.03e-06	1.58e+04	1.62e-02	76.59	9.72e+05	2.22	1.85

[ Figure 1. Kinetic 분석 결과 ]

### 2. $\chi^2$ (Chi-square)의 정의와 의미

SPR 분석 소프트웨어(iMSPR, Biacore Evaluation, ProteOn Manager 등)에서 사용하는  $\chi^2$ 는 통계학적 검정 통계량보다는 "이론값과 측정값 사이의 오차 크기"를 나타내는 물리적 지표에 가깝습니다.

#### 2.1 수학적 정의

$\chi^2$ 는 실험으로 얻은 측정값(Measured)과 수식으로 계산된 이론값(Fitted) 사이의 차이, 즉 잔차(Residual)를 제공하여 평균 낸 값입니다.

### 2.2 단위의 중요성 [RU<sup>2</sup>]

가장 중요한 점은  $\chi^2$ 의 단위가 [RU<sup>2</sup>], 즉 반응 단위의 제곱이라는 것입니다.

이론적으로 가장 이상적인  $\chi^2$ 값은 장비의 시스템 노이즈(System Noise)의 제곱 수준입니다. 예를 들어, 장비의 베이스라인 노이즈가 0.3 RU라면, 이상적인 피팅 시  $\chi^2$ 는 약 0.09 RU<sup>2</sup> 근처가 되어야 합니다.

### 3. 신호 크기 ( $R_{max}$ )와 $\chi^2$ 의 상관관계

많은 사용자가 "신호가 커지면 피팅이 잘 된 것 같아도  $\chi^2$ 값이 기하급수적으로 커지는 현상"을 경험합니다. 이는 데이터의 품질 문제가 아니라  $\chi^2$ 의 수학적 특성에 기인한 자연스러운 현상입니다.

#### 3.1 왜 신호가 커지면 $\chi^2$ 가 급증하는가?

실제 실험에서는 신호( $R_{max}$ )가 커짐에 따라 필연적으로 실험적 오차(Experimental artifacts)들도 비례하여 커집니다. (예: 버퍼 효과, 미세한 농도 오차, 물질 전달 효과 등)

- 잔차의 증가:  $R_{max}$ 가 10배 증가하면, 잔차(오차)의 크기도 대략 10배 증가한다고 가정할 수 있습니다.
- $\chi^2$ 의 제곱 효과:  $\chi^2$ 는 잔차의 제곱이므로, 잔차가 10



배 커지면  $\chi^2$ 값은 100배 증가합니다.

따라서 고정화 수준(Immobilization Level)이 높은 실험에서는  $\chi^2$ 의 **절대값(Absolute value)**만으로 데이터의 품질을 판단하는 것이 불가능해집니다.

#### 4. “R<sub>max</sub>의 10%” 기준의 의미

이러한 신호 의존성 때문에, SPR 업계에서는 절대적인 수치 대신 최대 반응 값 R<sub>max</sub> 대비 비율을 기준으로 삼는 경험적 가이드라인을 사용하게 되었습니다.

##### 4.1. 학술적/이론적 기준인가?

아닙니다. 통계학적으로 엄밀하게 증명된 기준이라기보다는, **SPR 연구자들 사이에서 오랜 기간 축적된 데이터를 바탕으로 형성된 "합의된 관행(Empirical Guideline)"**에 가깝습니다. 신호 레벨에 따라  $\chi^2$ 가 변하기 때문에 일반적인 절대 컷오프(Cut-off)를 정하는 것은 어렵습니다 [1-2].

##### 4.2. 실제 통용되는 기준 (5% vs 10%)

R<sub>max</sub> 대비 비율을 연구자 또는 실험 목적에 따라 다른 기준을 적용하기도 합니다.

- 엄격한 기준 (< 5%)
  - Biacore T200 공식 소프트웨어 핸드북에서는 "대략적인 가이드라인 (Rough guideline)으로서, “ $\chi^2$  값은 R<sub>max</sub>의 5% 미만이어야 한다”고 제시합니다 [3].
  - 이는 매우 정밀한 실험 조건을 요구하는 보수적인 기준입니다.
- 실무적 기준 (< 10%)
  - Bio-Rad의 ProteOn 분석 가이드 및 다수의 학술 논문(Talanta, Malaria Journal 등)에서는 “ $\chi^2$  값이 R<sub>max</sub>의 10% 이하일 때 양호한 피팅으로 간주한다”는 기준을 사용합니다 [4-6].
  - 이는 높은 R<sub>max</sub> 실험이나 스크리닝 과정에서 발생하는 현실적인 오차를 허용하는 보다 범용적인 기준입니다.

#### 5. 결론: 올바른 판정 가이드

$\chi^2$ 는 데이터의 신뢰도를 나타내는 중요한 지표이지만, 절대적인 합격/불합격의 척도는 아닙니다. 따라서 다음과 같이 해석하는 것이 타당합니다.

- 상대적 평가:  $\chi^2$  수치 자체보다는 R<sub>max</sub>와의 비

율을 확인해야 합니다.

- 허용 범위:
  - 일반적으로  $\chi^2$  값이 R<sub>max</sub>의 10% 이하일 때 해당 데이터는 분석에 사용 가능한 수준의 양호한 피팅(Acceptable fit)으로 간주합니다.
  - 더 높은 정밀도가 요구되는 경우에는 5% 미만을 목표로 할 수 있습니다.
- 유의사항
  - 본 문서에서 제안하는 **비율 기준(10% 또는 5%)은 강력한 경험적 지표(Empirical Indicator)**입니다. 하지만 단일 지표에 대한 과도한 의존보다는 실험의 맥락을 고려한 유연한 해석이 필요합니다.
  - Kinetic 분석의 신뢰도를 확보하기 위해서는  $\chi^2$  수치뿐만 아니라 **시각적 적합성(Visual Inspection)**을 함께 고려해 보는 것을 권장합니다. 더불어 **피팅의 적합성 (Goodness of fit)**을 다각적으로 분석하기 위해 SE(Standard Error), RMSE(Root Mean Square Error,  $\approx \sqrt{\chi^2}$ ), U-value (Uniqueness value) 등 다양한 통계적 지표들을 고려해 볼 수 있습니다 [2, 5].

#### 6. References

1. **SPR Pages**. Data fitting – theory / validation. (Available at: <http://www.sprpages.nl>)
2. Ónell, A. Et al., “**Kinetic determinations of molecular interactions using Biacore—minimum data requirements for efficient experimental design**”, Journal of molecular recognition, Vol. 18:307-317 (2005).
3. **Biacore T200 Software Handbook** (Edition AA), Cytiva (formerly GE Healthcare), p.159.
4. **Bio-Rad Bulletin 6300**, "Guide to SPR Data Analysis on the ProteOn XPR36 System".
5. Battaglia, F. et al., "**Detection of canine and equine procalcitonin for sepsis diagnosis in veterinary medicine by Surface Plasmon Resonance**", Talanta, Vol. 230, 122297 (2021).
6. Dutta, S. et al., "**Strain-transcending neutralization of malaria parasite by antibodies against Plasmodium falciparum enolase**", Malaria Journal, Vol. 17, Article number: 304 (2018).