

Analiza danych czasoprzestrzennych szlaków ERK i AKT

Jakub Gieźgała

24 kwietnia 2025

Streszczenie

Dysponowaliśmy eksperymentalnymi danymi z mikroskopii żywych komórek pochodzącymi z eksperymentu, w którym monitorowano aktywność dwóch ważnych szlaków sygnałowych: **ERK** oraz **AKT**. Do analizy wykorzystano linie komórkowe, transfekowane odpowiednimi fluoroscencyjnymi biosensorami (szczegóły w pliku `Spatiotemporal_description.pdf`).

Przeprowadzono analizę dynamiki aktywności szlaków ERK i AKT w komórkach z różnymi mutacjami, uwzględniając:

- uśrednione przebiegi sygnału w czasie,
- testy istotności statystycznej między WT a mutacjami,
- definicję stanów aktywności z użyciem Z-score,
- liczbę aktywnych sąsiadów i jej zależność od mutacji,
- przestrzenno-czasową propagację sygnału oraz ruch komórek w stosunku do komórek w stanie *peak*.

Uzyskane wyniki wskazują na istotne różnice dynamiki w zależności od mutacji oraz potwierdzają lokalny charakter propagacji sygnału ERK w populacji analizowanych komórek.

1 Wprowadzenie

Szlaki ERK i AKT odgrywają kluczową rolę w regulacji proliferacji, przeżycia i migracji komórek. Moją hipotezą badawczą jest to, że aktywacja ERK w pojedynczej komórce powoduje lokalną falę aktywacji w otoczeniu, a jej intensywność i czas trwania zależą od typu mutacji. Główne analizy przeprowadzono w odniesieniu do siły sygnału ERK (kolumna `ERKKTR_ratio`), ale powtórzono je także w kontekście szlaku AKT (kolumna `FoxO3A_ratio`), uzyskując jednak mniej charakterystyczne wyniki.

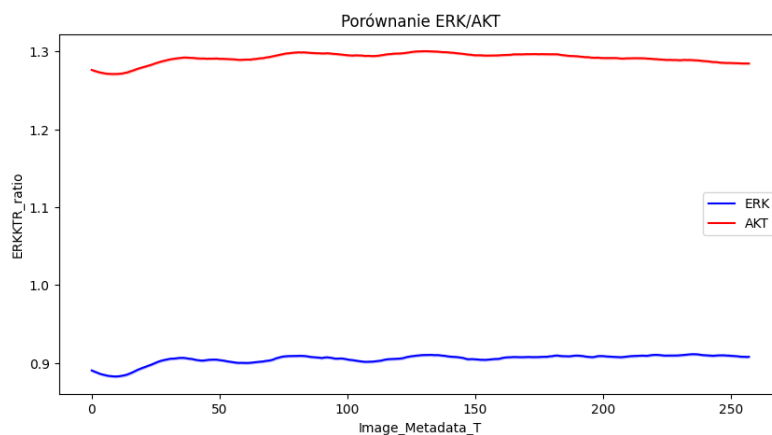
2 Wstępna eksploracja danych

Analizowane dane to wypadkowa wielu różnych eksperymentów, w których analizowano komórki poddane różnym mutacjom:

- Mutacja 1 (**WT**) (ang. Wild Type) - typ dziki, brak ingerencji,
- Mutacja 2 (**AKT1_E17K**) - mutacja punktowa w genie AKT1, prowadząca do substytucji glutaminianu (E) na lizynę (K) w pozycji 17; skutkuje konstytutywną aktywacją białka AKT1 niezależnie od sygnałów zewnętrznych,
- Mutacja 3 (**PIK3CA_E545K**) - mutacja w domenie helicalnej podjednostki katalitycznej PI3K (gen PIK3CA); zamiana kwasu glutaminowego (E) na lizynę (K) w pozycji 545 zwiększa aktywność enzymatyczną PI3K i pobudza szlak AKT,
- Mutacja 4 (**PIK3CA_H1047R**) - mutacja w domenie kinazowej PI3K, gdzie histydyna (H) zostaje zastąpiona przez argininę (R) w pozycji 1047; również prowadzi do nadaktywacji szlaku PI3K–AKT.
- Mutacja 5 (**PTEN_del**) - delecja genu PTEN, który pełni funkcję supresora nowotworowego i negatywnego regulatora szlaku PI3K–AKT; jego utrata skutkuje podwyższoną aktywnością AKT oraz zaburzoną homeostazą komórkową.

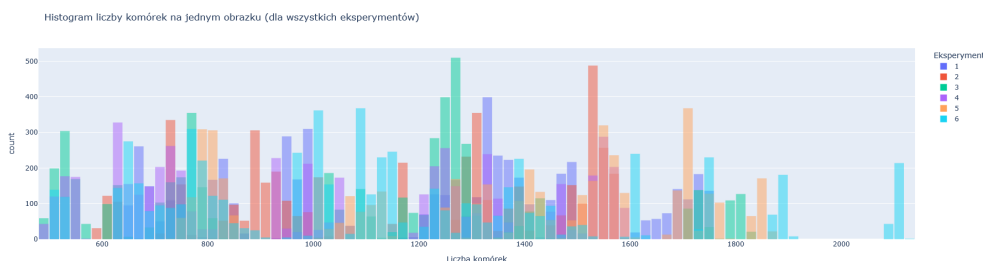
W całej pracy zdecydowano się na brak jakiejkolwiek selekcji danych, to znaczy wszystkie analizy były wykonywane globalnie, na całym zbiorze, oprócz Zadania 3. Na początku zmierzony średni poziom ERK i AKT w czasie dla całości danych. Widać na nim, że średni poziom sygnału nieszczególnie się zmienia na przestrzeni czasu, za wyjątkiem, że na początku analizy sygnał ERK i AKT jest trochę słabszy, co może być powiązane z faktem, że komórki były na 48 godzin przed rozpoczęciem akwizycji pozbawione czynników wzrostu.

Na pewno warto odnotować, że poziom AKT jest średnio wyższy o 0.4 od poziomowi ERK.



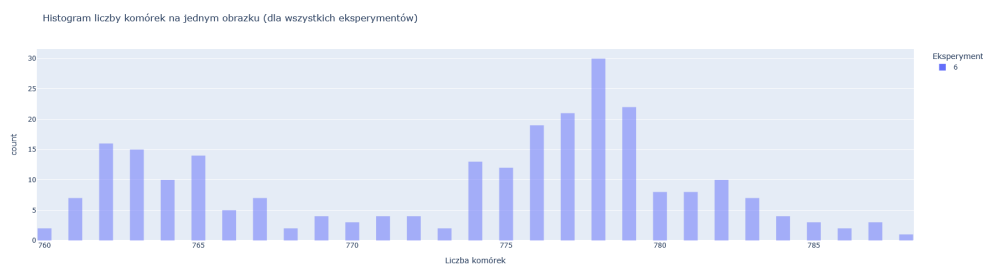
Rysunek 1: Średni poziom ERK/AKT i FoxO3A/AKT w czasie

Kolejną cenną obserwacją jest różna liczba komórek na analizowanych zdjęciach, nie tylko ze względu na numer przeprowadzonego eksperymentu, ale także na badaną mutację (`Image_Metadata_Site`).



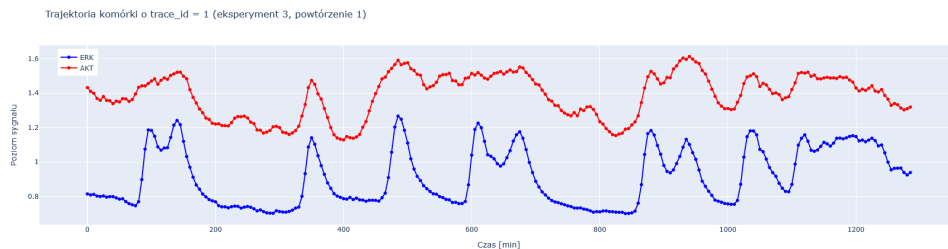
Rysunek 2: Średnia liczba komórek na zdjęciach w zależności od Exp_ID

Istnieją także powtórzenia `Image_Metadata_Site`, które nie zostały wykonane w każdym z sześciu eksperymentów. Pokazuje to, że bezzasadne jest bezwzględne porównanie między powtórzeniami eksperymentu ze względu na niewystępowanie każdej mutacji w każdym z nich.

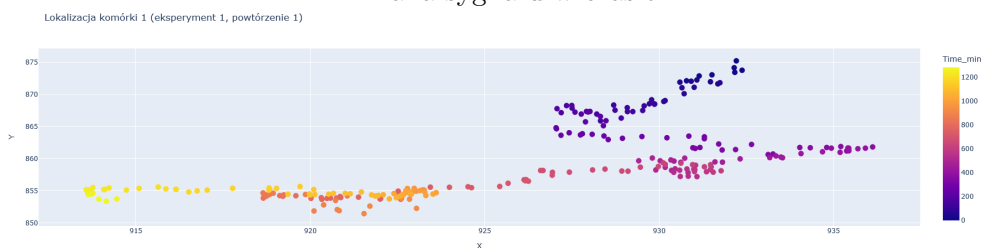


Rysunek 3: Liczba widocznych komórek `Image_Metadata_Site` o numerze 21, czyli Mutacja 5 została wykonana tylko w Eksperymentcie 6.

Kolejną obserwacją jest, że analizowana przez nas seria eksperymentów nie trwała, jak zostało to opisane w zadaniu przez 24 godziny, tylko maksymalnie przez 21 godzin 25 minut. Nie wpływa to oczywiście w żaden sposób na przeprowadzaną analizę.



Zmiana sygnału w czasie



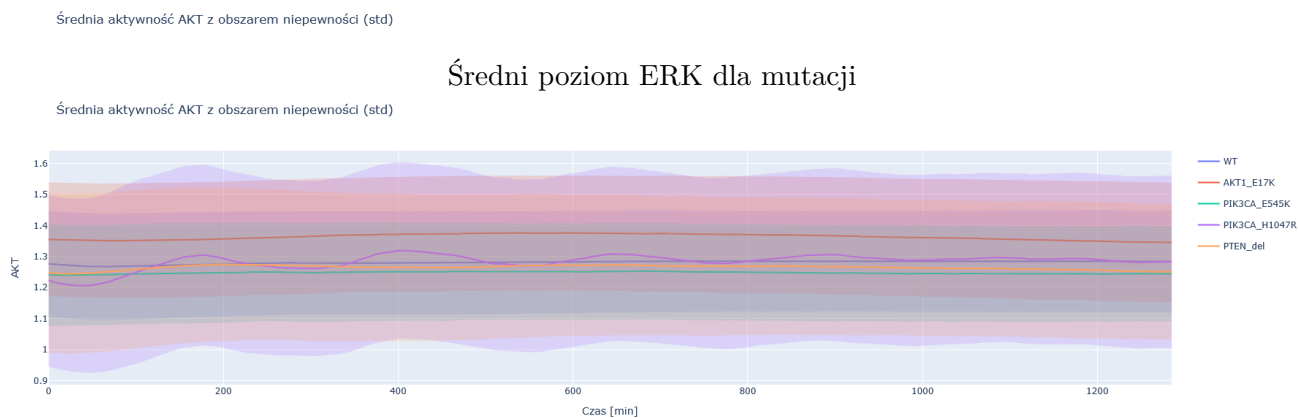
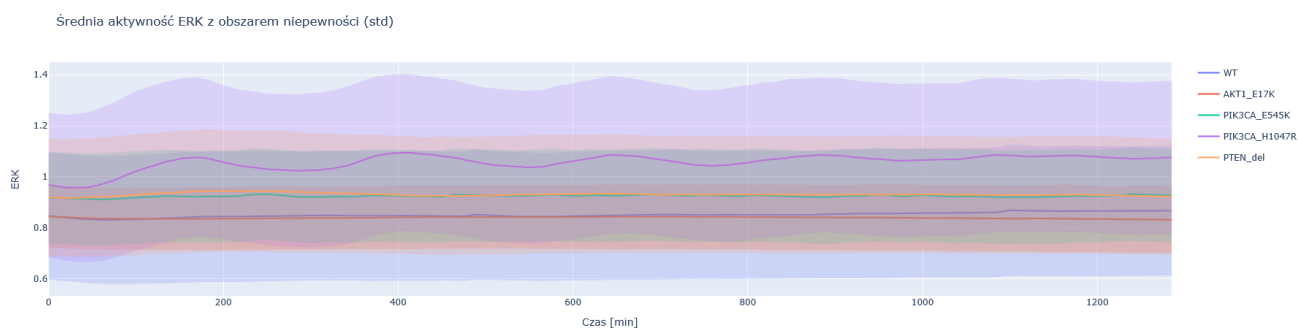
Zmiana położenia w czasie

Rysunek 4: Poziom sygnału dla wybranej komórki oraz jej trajektoria w danym eksperymencie oraz powtórzeniu.

3 Porównanie aktywności szlaków sygnałowych między mutacjami

3.1 Średnie przebiegi aktywności

Mając dostępne metadane o przeprowadzonym eksperymencie, udało się oznaczyć, jakie powtórzenia odpowiadają której mutacji (kolumna `Mutation`). Dla każdej mutacji obliczono średnią i odchylenie standardowe sygnału ERK i AKT w zależności od czasu. Wyniki przedstawiono na wykresach z obszarami błędów.



Średni poziom AKT dla mutacji

Rysunek 5: Poziom sygnału dla wybranej komórki oraz jej trajektoria w danym eksperymencie oraz powtórzeniu.

Największym poziomem ERK jest charakterystyczna dla **PIK3CA_H1047R**, która jako jedyna cechuje się także okresowymi zmianami (co około 4 godziny występuje wzrost, który z czasem zanika). Szczep dziki charakteryzuje się stosunkowo niskim poziomem sygnału ERK w porównaniu do komórek poddanych mutacji **AKT1_E17K**, dla których jednak mediana będzie miała większą wartość. Średnia początkowo jest na identycznym poziomie, a nawet na odrobinę wyższym, ale w czasie średni poziom **ERKTR_ratio** powoli, ale sukcesywnie spada. Natomiast mutacja **PIK3CA_E545K** charakteryzuje się stosunkowo większym poziomem sygnału na stałym poziomie. W przeciwieństwie do mutacji **PTEN_del**, której średni poziom jest na podobnym poziomie, ale charakteryzuje się delikatnymi oscylacjami oraz zdecydowanie większą wariancją. Największy poziom sygnału osiągany jest podczas 220 minuty eksperymentu.

Inna sytuacja jest natomiast w przypadku aktywności szlaku AKT. Wbrew założeniom eksperymentalnym, komórki szczepu dzikiego nie charakteryzują się najmniejszym poziomem **FoxO3A_ratio**. Wartość, podobnie jak i odchylenie standardowe, jest zbliżona do mutacji **PIK3CA_E545K**, której średni sygnał jest jednak mniejszy. Mniejszą wartość przez cały czas posiada także mutacja **PTEN_del** która, podobnie jak w przypadku sygnału ERK, ma wzrost siły sygnału w okolicy 200 minuty. Jednak w żadnym punkcie czasowym średnia aktywność szlaku AKT nie jest większa niż dla **WT**. Mutacja jednak charakteryzuje się większym odchyleniem standardowym, dobrze obserwowalnym na wykresach. Największym poziomem charakteryzują się komórki z mutacją **AKT1_E17K**, dla których zwiększenia wartości występują między 5, a 15 godziną eksperymentu. Mutacja **PIK3CA_H1047R** charakteryzuje się największymi zmianami sygnału, tak jak to miało miejsce poprzednio. Wzrosty nie wydają się przypadkowe i są ściśle skorelowane ze wzrostami poziomu ERK.

3.2 Testy statystyczne

Porównano WT z każdą mutacją w przedziale 60–180 min za pomocą testu Manna–Whitneya, z korektą Bonferroniego. Dla porównania wielu grup wykonano test Kruskala–Wallisa (bez korekty, ponieważ był to jeden test). Analizie poddano zarówno poziom sygnału uśredniony dla całej mutacji (widoczne na wykresach powyżej), jak i komórek poddanych danej mutacji (pogrupowane po `track_id`).

Mutacja	Test	Adjusted P-value
AKT1_E17K	U Mann–Whitney	1.00
PIK3CA_E545K	U Mann–Whitney	5.66e-09
PIK3CA_H1047R	U Mann–Whitney	5.66e-09
PTEN_del	U Mann–Whitney	5.66e-09
All	Kruskal–Wallis	3.25e-23

Tabela 1: Średni poziom sygnału ERK dla mutacji

Mutacja	Test	Adjusted P-value
AKT1_E17K	U Mann–Whitney	1.09e-07
PIK3CA_E545K	U Mann–Whitney	0.00
PIK3CA_H1047R	U Mann–Whitney	0.00
PTEN_del	U Mann–Whitney	1.05e-307
All	Kruskal–Wallis	0.00

Tabela 2: Średni poziom sygnału ERK komórek dla poszczególnych mutacji

Mutacja	Test	Adjusted P-value
AKT1_E17K	U Mann–Whitney	5.66e-09
PIK3CA_E545K	U Mann–Whitney	5.66e-09
PIK3CA_H1047R	U Mann–Whitney	1.00
PTEN_del	U Mann–Whitney	1.23e-03
All	Kruskal–Wallis	1.10e-17

Tabela 3: Średni poziom sygnału AKT dla mutacji

Mutacja	Test	Adjusted P-value
AKT1_E17K	U Mann–Whitney	0.00
PIK3CA_E545K	U Mann–Whitney	1.11e-83
PIK3CA_H1047R	U Mann–Whitney	5.74e-08
PTEN_del	U Mann–Whitney	5.50e-02
All	Kruskal–Wallis	0.00

Tabela 4: Średni poziom sygnału AKT komórek dla poszczególnych mutacji

Test Kruskala-Willisa to nieparametryczny test, którego p-value informuje nas o tym, czy istnieje statystycznie istotna różnica między co najmniej dwiema z tych grup. W każdym przypadku otrzymujemy małe *p-value* (na pewno < 0.05), czyli odrzucamy hipotezę zerową, co oznacza, że przynajmniej jedna grupa różni się od pozostałych.

Następnie skorzystaliśmy z testu Manna–Whitneya (U-test), który porównuje dwie niezależne grupy, odpowiednie mutacje z szczepem dzikim, porównując średni poziom sygnału. Hipotezą zerową jest, że rozkłady obu grup są takie same (brak różnicy w aktywności sygnału), natomiast badaną hipotezą alternatywną: jedna z grup ma systematycznie wyższe lub niższe wartości niż druga. Przyjmujemy uniwersalny próg istotności statystycznej, czyli wartość 0.05.

Na podstawie wskaźnika **ERKKTR_ratio** uzyskujemy tylko wartości poniżej przyjętego przez nas progu, z jednym przypadkiem, czyli dla uśrednionych wartości w przypadku mutacji **AKT1_E17K**. Był to jedyny przypadek, kiedy jakaś średnia wartość była początkowo większa, a potem sukcesywnie spadała, co jest logicznym wynikiem. Jednak rozpatrując średni poziom poszczególnych komórek, możemy już odrzucić naszą hipotezę zerową. Nie powinny nas także smucić powtarzające się P-wartości, jest to test rangowy, a w przypadku uśrednienia siły sygnału mamy w pierwszym przypadku tylko 20 wartości do porównania. Ze względu na istotne różnice w wariancji dla tych dwóch próbek (test statystyczny zakłada podobną) oraz wynik drugiej tabeli, jestem w stanie zaakceptować, że średni sygnał ERK każdej mutacji jest różny względem **WT**.

Inaczej natomiast jest w przypadku szlaku sygnałowego AKT. Tutaj według testu nie powinniśmy odrzucić hipotezy zerowej w przypadku mutacji **PIK3CA_H1047R** patrząc globalnie oraz analizując poszczególne komórki, w przypadku mutacji **PTEN_del**. W pierwszym przypadku mamy jednak do czynienia z oscylacjami i większym odchyleniem standardowym, także występującym w drugim przypadku.

Na podstawie tej analizy moim zdaniem średni poziom `ERKKTR_ratio` lepiej różnicuje linie komórkowe o zróżnicowanym profilu mutacyjnym. Z tego powodu dalsze analizy będziemy wykonywać w oparciu o poziom aktywności szlaku ERK.

4 Analiza koordynacji przestrzennej i dynamiki sygnału

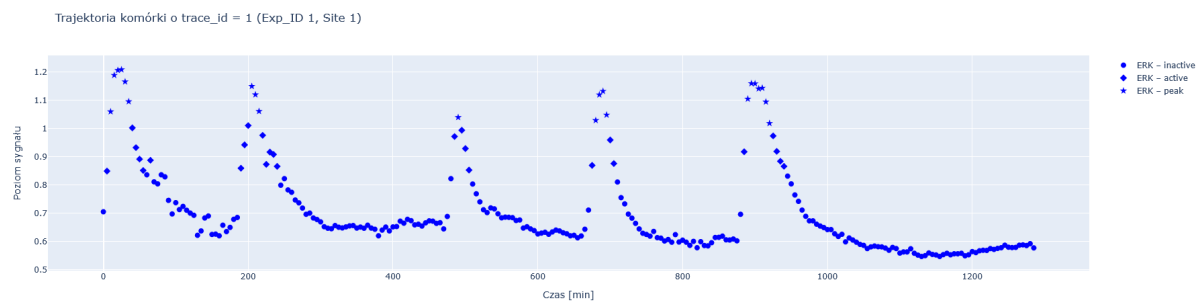
4.1 Definicja stanów aktywności

Sygnały `ERKKTR_ratio` i `FoxO3A_ratio` znormalizowano per komórka w zależności od eksperymentu i powtórzenia metodą Z-score. Jest to metoda optymalna czasowo, uwzględniająca też lokalny poziom sygnału per komórka. Na tej podstawie zdefiniowano trzy stany:

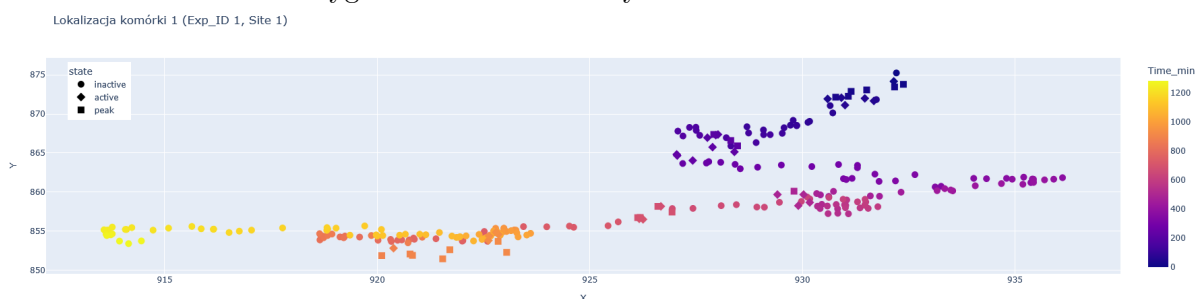
- **inactive:** $Z\text{-score} < \theta_{active}$,
- **active:** $\theta_{active} \leq Z < \theta_{peak}$,
- **peak:** $Z\text{-score} \geq \theta_{peak}$,

gdzie $\theta_{active} = 0.8$, $\theta_{peak} = 2.0$. Stan *active* oraz *peak* oznacza, że komórka jest aktywna, a stan *inactive*, że nie jest, co będzie wykorzystywane w dalszej analizie.

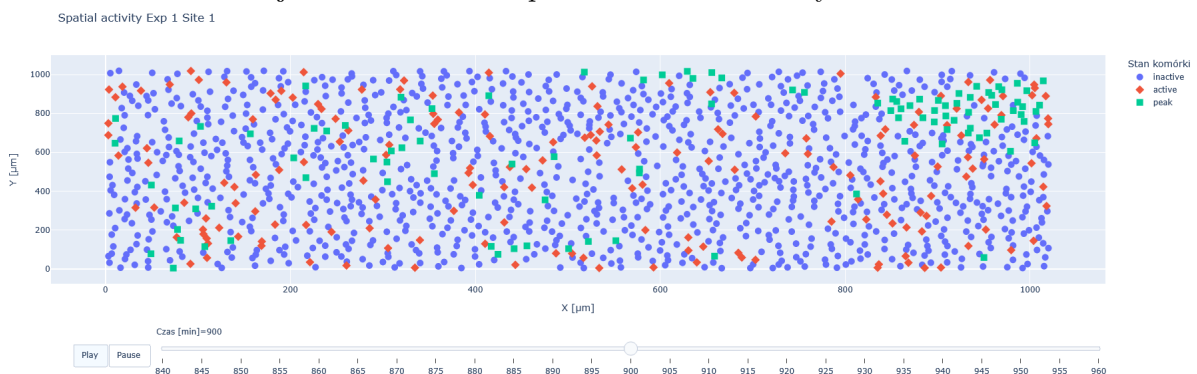
4.2 Analiza przebiegów sygnału



Sygnał ERK z naniesionymi stanami komórki



Trajektoria komórki w przestrzeni z naniesionymi stanami

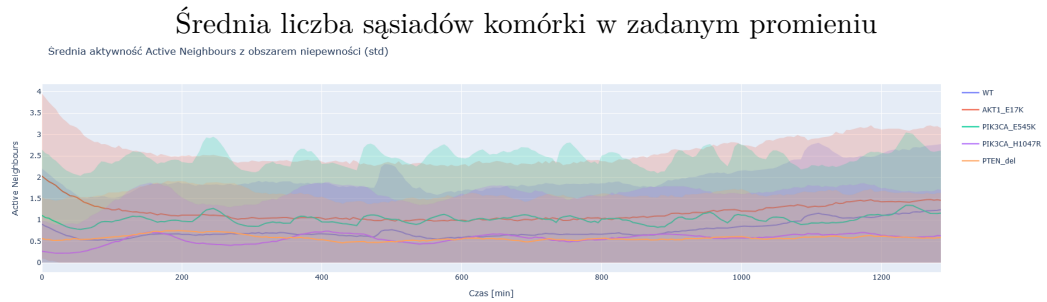
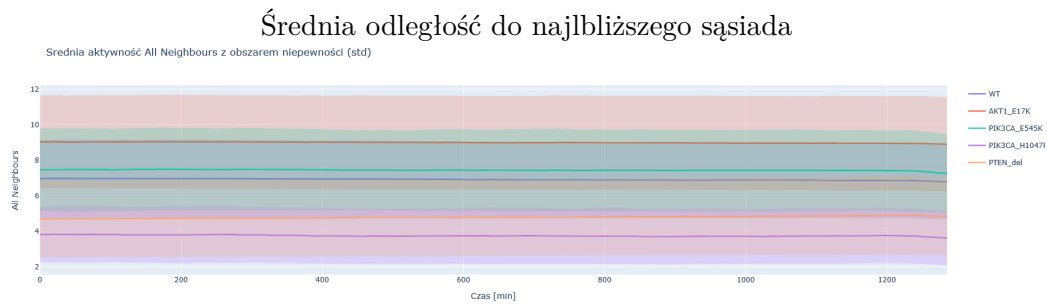
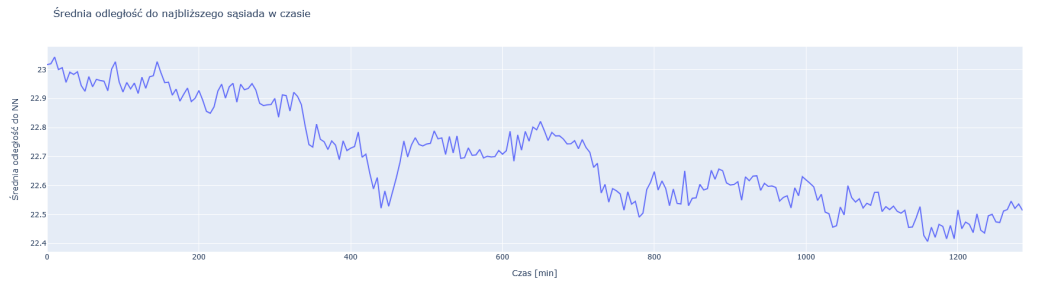


Wizualizacja aktywności na płaszczyźnie XY w kolejnych przedziałach czasowych

Rysunek 6: Na podanym przykładzie można zobaczyć, jak komórce nadawane są stany w zależności od ERK_{KTR_ratio} . Można także przeanalizować jak zmienia się stan komórki w zależności od ruchu, zarówno lokalnie, jak i globalnie. W prawym górnym rogu, możemy zobaczyć zgrupowanie aktywnych komórek. Na podstawie przykładowego wykresu wydaje się, że komórki spędzać więcej czasu w miejscach, w których nastąpiła zmiana jej stanu.

4.3 Liczba aktywnych sąsiadów

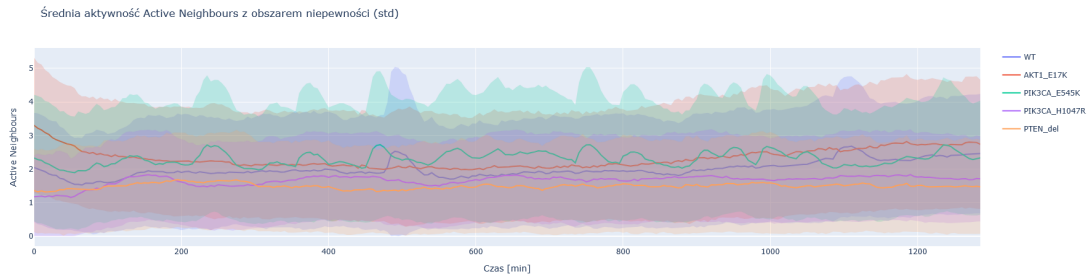
Dla każdej komórki w każdym czasie zliczono liczbę wszystkich i aktywnych sąsiadów w promieniu $45\text{ }\mu\text{m}$ używając algorytmu KDTree. Obliczono także średnią liczbę sąsiadów w czasie dla mutacji w zależności od stanu komórek. Ustalony promień sąsiedztwa także nie wziął się z nikąd, jest to dwukrotność średniej odległości komórki do najbliższego sąsiada.



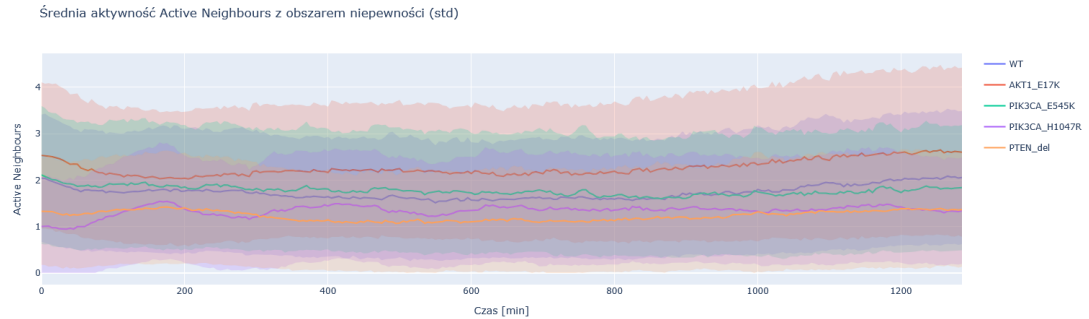
Rysunek 7: Z podanych wykresów można stwierdzić, że średni poziom ERK nie koreluje z średnią liczbą sąsiadów. Komórki **AKT1_E17K** mają najwięcej sąsiadów, pomimo najniższego poziomu **ERKTR_ratio**. Liczba wszystkich sąsiadów nie przekłada się jednak prosto na liczbę aktywnych sąsiadów. Dla ostatniego wykresu widzimy wyraźne fluktuacje w czasie w przeciwieństwie do wykresu powyżej.

4.4 Liczba aktywnych sąsiadów w otoczeniu aktywnych komórek

Średnia liczba aktywnych sąsiadów oscyluje wokół jedynki, ale zmienia się dość dynamicznie w czasie. Dla linii komórkowych o mutacji **PIK3CA_E545K** występują nieregularne skoki, a jej liczba aktywnych sąsiadów przez większość czasu odpowiada mutacji **AKT1_E17K**, która na początku ma ich znacznie więcej, ten poziom stabilizuje się jednak po około 100 minutach. Z kolei dla mutacji **PIK3CA_H1047R** wzrost liczby sąsiadów pokrywa się z zwiększonym sygnałem ERK. Warto zaznaczyć, że mutacja **AKT1_E17K** miała zdecydowanie największy poziom **FoxO3A_ratio** ze wszystkich linii komórkowych.



Średnia ilość aktywnych sąsiadów w otoczeniu aktywnych komórek (ERK)



Średnia ilość aktywnych sąsiadów w otoczeniu aktywnych komórek (AKT)

Rysunek 8: Liczba aktywnych sąsiadów, wśród aktywnych komórek w kontekście sygnału **ERKKTR_ratio** jest prawie dwukrotnie wyższa. Szczególnie wyraźnie widać oscylacje komórek poddanych mutacji **PIK3CA_H1047R**, oraz skokowy wzrost dla mutacji **PIK3CA_E545K**, która charakteryzowała się wysokim poziomem ERK, ale niskim AKT. Jeśli chodzi o ilość sąsiadów, to zdecydowanie najgorzej wypada linia komórkowa bez genu **PTEN**. Szczep dziki pod względem liczby sąsiadów zachowuje się stabilnie, ale widac wyraźny wzrost w 520 minucie, oraz pod sam koniec eksperymentu, bez wyraźnego pokrycia w szlakach sygnałowych.

5 Oddziaływanie aktywnych komórek na swoje sąsiedztwo

5.1 Pytanie badawcze

Wcześniejsze analizy wydają się potwierdzać tezę, że aktywacja komórek zależy od poziomu sygnału ich sąsiadów. W tym celu policzyliśmy dla poszczególnych eksperymentów korelacje Spearmana, między liczbą aktywnych sąsiadów a stanem komórki. Do dalszej analizy wybrano dane pochodzące z eksperymentu o najniższej oraz najwyższej korelacji (3 oraz 5) w celu optymalizacji obliczeń. Wprowadzono także kolumnę `is_active` dla każdej komórki, w zależności od poziomu `ERKTR_ratio`.

Tabela 5: Współczynnik korelacji rang Spearmana między liczbą aktywnych sąsiadów, a aktywnością komórki

Exp_ID	Correlation	p-value
1	0.445	0.00
2	0.447	0.00
3	0.464	0.00
4	0.453	0.00
5	0.438	0.00
6	0.444	0.00

Następnie wyliczone korelacje między innymi kolumnami, w celu wykrycia nieznanych powiązań w analizowanym zbiorze danych. Wykryto tylko jedną korelację o większej, co do modułu, wartości (rozmiar jądra komórkowego, a liczba wszystkich sąsiadów). Następnie dla każdego eksperymentu i powtórzenia spróbowano dokonać regresji logistycznej. Na podstawie liczby aktywnych i wszystkich sąsiadów, próbowano przewidzieć stan danej komórki. Była to próba sprawdzenia, czy za pomocą prostej, nieliniowej zależności możemy przewidywać stan, w którym znajduje się komórka.

AUC to prawdopodobieństwo, że model przypisze wyższe prawdopodobieństwo pozytywnej klasy (aktywnej komórki) losowo wybranej komórce aktywnej niż losowo wybranej komórce nieaktywnej. Dla mutacji **PIK3CA_H1047R** mamy prawie 90% skuteczność. Może to oznaczać, że aktywność komórki zależy od lokalnej gęstości otaczających ją innych komórek. AUC regresji logistycznej nie poprawia się w żaden sposób, po uwzględnieniu kolumny `Nuclear_size`.

Tabela 6: Średnie wartości AUC regresji logistycznej w zależności od mutacji z dostosowanymi wagami do niezbalansowanego zbioru (aktywnych komórek było około 20%)

Mutation	AUC
1	0.82
2	0.79
3	0.80
4	0.88
5	0.80

5.2 Stosunek aktywnych komórek w sąsiedztwie *peak*

Jeśli aktywność komórki zależy od `ERKKTR_ratio` jej sąsiadów, obliczono, jaki odsetek stanowią średnio komórki aktywne w otoczeniu komórki w stanie *peak*. Takie komórki musiały wcześniej osiągnąć stan aktywny (metoda Z-score była dostosowana lokalnie dla każdej komórki) i mogły wpłynąć na swoich sąsiadów w niewielkiej odległości. W analizowanym promieniu (w normie euklidesowej) średnio około 40% komórek jest aktywnych wokół komórek o dużej sile sygnału. Natomiast w przypadku mutacji **PIK3CA_H1047R** wartość ta wynosi aż 60%.

Analizując zmiany tego odsetka w funkcji przesunięcia czasowego, można stwierdzić, że aktywacja zachodzi grupowo — każde przesunięcie w czasie powoduje niewielki spadek liczby aktywnych sąsiadów. Jednak w krótkim przedziale czasowym różnice są minimalne, nieznacznie na korzyść przesunięcia do przodu. Oznacza to, że efekt obecności aktywnych sąsiadów komórki w stanie *peak* rozkłada się średnio na około 20 minut.

5.3 Analiza propagacji sygnału i ruchu

Badano, czy obecność sąsiada w stanie *peak* w czasie $t + \Delta$ zwiększa prawdopodobieństwo aktywacji w czasie t . Następnie określono zmianę dystansu komórek do najbliższego *peak* w kolejnych klatkach.

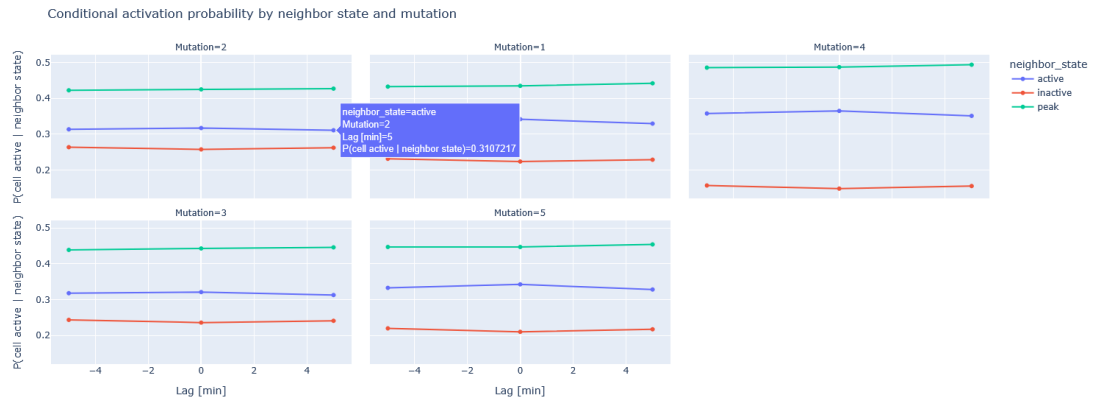
Z przeprowadzonej analizy wynika, że prawdopodobieństwo warunkowe aktywności komórki, jeśli w jej otoczeniu nie ma innej aktywnej komórki, jest niewielkie i dla większości mutacji wynosi około 25%. Największe szanse na aktywność mają komórki, których sąsiadem jest komórka w stanie *peak*. Po upływie 5 minut prawdopodobieństwo to nieznacznie wzrasta, kosztem sąsiedztwa komórek w stanie *active*.

Pokazuje to, że propagacja sygnału ERK ma zarówno charakter falowy, jak i grupowy. Pojedyncza komórka w stanie *peak* nie jest w stanie przekazać sygnału wszystkim sąsiadom (ze względu na zróżnicowaną reakcję komórek), natomiast duże skupiska aktywnych komórek w momencie szczytu mogą skutecznie propagować sygnał na ograniczonym obszarze. Zapobiega to

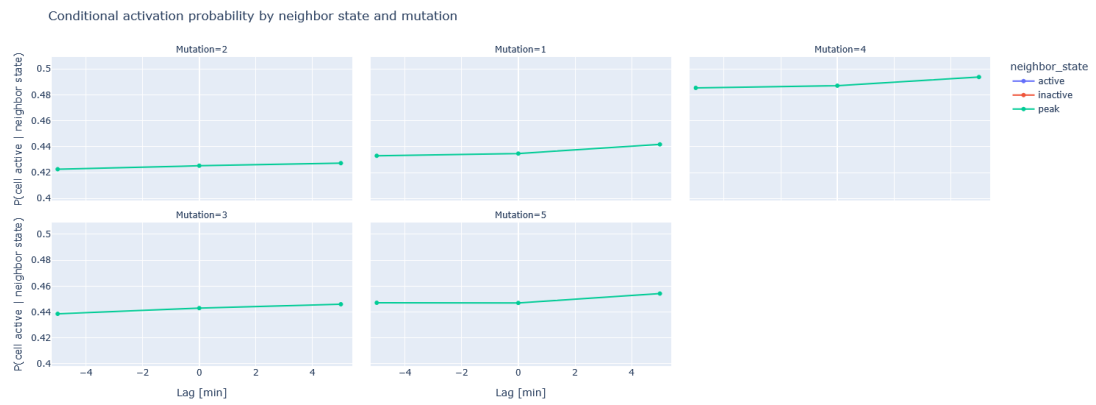
rozprzestrzenianiu się sygnału na dużą skalę, chyba że trafi on do komórek o wysokim poziomie aktywności. Po zakończeniu fazy *peak* komórki pozostają aktywne, a w końcu przechodzą w stan nieaktywny.

Na szczególną uwagę zasługują komórki z mutacji **PIK3CA_H1047R**, które najskuteczniej reagują na obecność aktywnego sąsiada. Prawdopodobieństwo impulsowego zwiększenia aktywności wynosi około 10%. Zmiana odległości w przypadku tej mutacji jest bardziej dynamiczna niż w innych — komórki w stanie *peak* w ciągu 20 minut doświadczają zauważalnego skrócenia dystansu. Duża wariancja w oknie czasowym od 15 minuty może wynikać z aktywnego przemieszczania się komórek w stronę najsilniejszych sygnałów, niekoniecznie analizowanej komórki.

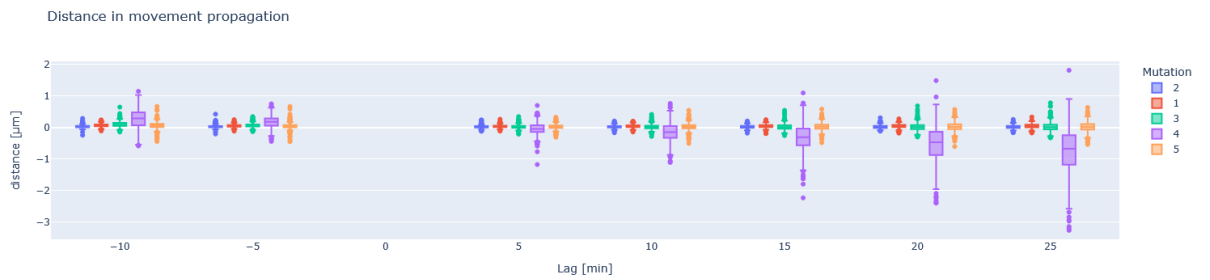
W przypadku mutacji 5 również zauważalne jest zwiększenie wariancji w odległości od komórek w stanie *peak*, co pokazuje, że komórki aktywnie przemieszczają się w kierunku źródeł sygnału. Natomiast dla mutacji 3 od 20 minuty obserwuje się stopniowe oddalanie od komórek w stanie *peak*, co może oznaczać, że silny sygnał oddziałuje na otoczenie w takim właśnie czasie.



Warunkowe prawdopodobieństwo, że komórka jest aktywna w zależności od sąsiadów



Zoom na zwiększony % komórek *peak*



Zmiana odległości od najbliższej komórki *peak*

Rysunek 9: Sprężenie zwrotne sygnału ERK w przestrzeni jest charakterystyczne dla mutacji **PIK3CA_H1047R**.

6 Dyskusja i wnioski

Analiza potwierdziła lokalny charakter propagacji ERK: komórki w stanie *peak* zwiększają aktywność sąsiadów wkrótce po zdarzeniu. Przed stanem *peak* są w stanie *active*, więc w momencie zwiększenia natężenia sygnału, zwiększa się wpływ na sąsiadów. Efekt ten jest najsilniejszy w mutacji **PIK3CA_H1047R**, znacznie słabszy w przypadku **WT** oraz **AKT1_E17K**, czyli mutacji charakteryzujących się niskim średnim poziomem **ERKKTR_ratio**. Ruch komórek wskazuje na przyciąganie do ognisk w mutacji 4. Mutacja **PIK3CA_E545K** prawdopodobnie osłabia sprzężenie przestrzenne. Z analizy można także wnioskować, że efekt zwiększenia sygnału zauważalny jest w czasie 20 minut, ale prawdopodobnie zależy to także od otoczenia komórki. Wyniki mają znaczenie dla zrozumienia mechanizmów koordynacji sygnałowej w populacjach komórkowych. Analiza przeprowadzana była na globalnych danych, teraz można zastanawiać się nad mierzeniem lokalnych prędkości przekazywanego sygnału, rozpoznawaniem typów propagacji, zależności **ERKKTR_ratio** od **FoxO3A_ratio**, ale to pomysły na inny projekt...

7 Uwagi i komentarze

- Do wykresów wykorzystano bibliotekę `plotly`, więc po otwarciu notebooków, można swobodnie je przeanalizować,
- Podobne analizy dokonano na podstawie **FoxO3A_ratio**, uzyskując podobne, ale mniej wyróżniające się rezultaty,
- Plik `Signalomics_1.ipynb` zawiera kod do zadań 1 i 2 wraz z tokiem rozumowania,
- Plik `Signalomics_2.ipynb` zawiera kod do zadania 3, za wyjątkiem danych poddanych analizie,
- Projekt został wykonany przy pomocy Google Colaba, który miewał problem z pamięcią RAM. Wykonanie notebooka w całości jest możliwe, ale trzeba uzbroić się w cierpliwość :)