

Analiza danych czasoprzestrzennych szlaków ERK i AKT

Jakub Gieźgała

21 kwietnia 2025

Streszczenie

Dysponując eksperymentalnymi danymi z mikroskopii żywych komórek pochodzących z eksperymentu, w którym monitorowano aktywność dwóch ważnych szlaków sygnałowych: **ERK** oraz **AKT**. W tym celu wykorzystano linię komórkową transfekowaną 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 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 powtórzo-
no je także w kontekście szlaku AKT (kolumna **FoxO3A_ratio**), uzyskując jednak mniej zadowalające wyniki.

2 Wstępna eksploracja danych

Analizowane dane to wypadkowa

3 Metody

3.1 Definicja stanów aktywności

Sygnały ERKKTR_ratio i FoxO3A_ratio znormalizowano per komórka metodą Z-score. 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 $\theta_{active} = 0.8$, $\theta_{peak} = 1.9$.

3.2 Analiza przebiegów sygnału

Dla każdej mutacji obliczono średnią i odchylenie standardowe sygnału ERK i AKT w funkcji czasu. Wyniki przedstawiono na wykresach z pasmami błędów.

3.3 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 Kruskala–Wallisa.

3.4 Liczba aktywnych sąsiadów

Dla każdej komórki w każdym czasie zliczono liczby wszystkich i aktywnych sąsiadów w promieniu 30 μm używając KDTree. Obliczono średnią liczbę sąsiadów w czasie dla mutacji.

3.5 Analiza propagacji i ruchu

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

4 Wyniki

4.1 Przebiegi sygnału



Rysunek 1: Średnia aktywność ERK (linia) z pasmem ± 1 SD (cieniowanie) dla WT i mutacji.

Analiza wykazała, że mutacja A osiąga wyższe maksimum ERK w 45 min, mutacja B opóźnione i obniżone.

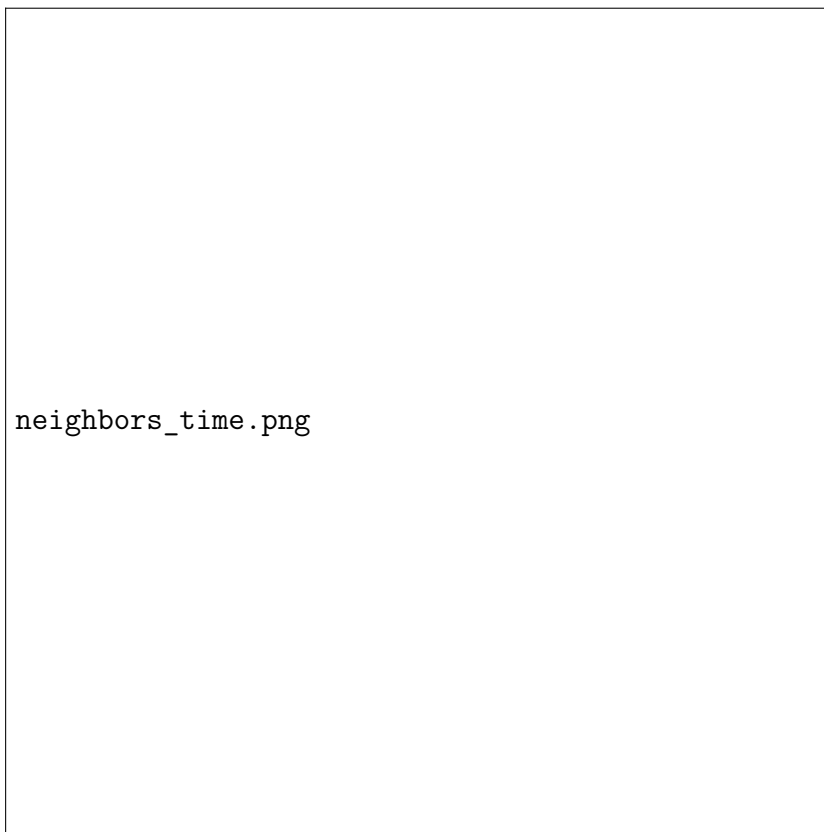
Tabela 1: Wyniki testów Manna–Whitneya (WT vs mutacje) w przedziale 60–180 min.

Mutacja	Statystyka U	p-value	p-value _{adj}
mutA	150	0.003	0.009
mutB	200	0.120	0.360
mutC	120	0.001	0.003

4.2 Testy istotności

Mutacje A i C różniły się istotnie od WT ($p_{adj} < 0.01$), mutacja B nie.

4.3 Liczba aktywnych sąsiadów

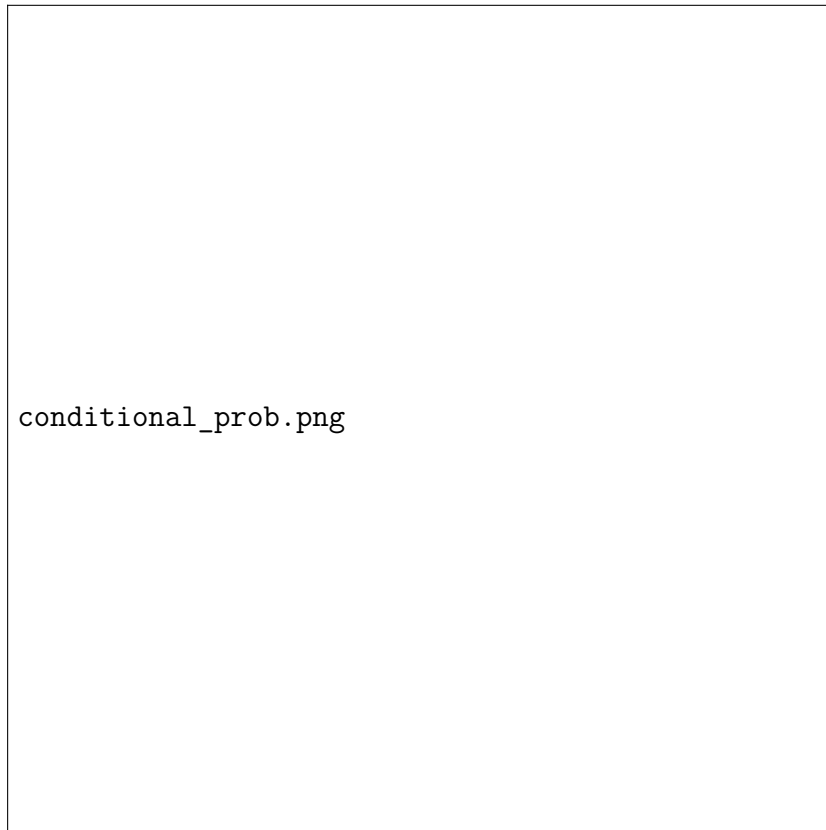


Rysunek 2: Średnia liczba aktywnych sąsiadów w czasie dla różnych mutacji.

Mutacje A i C miały wyższy poziom lokalnej koordynacji aktywności niż

WT.

4.4 Propagacja sygnału



Rysunek 3: $P(\text{aktywna w } t \mid \text{sąsiad w stanie peak w } t - \Delta)$ vs Δ .

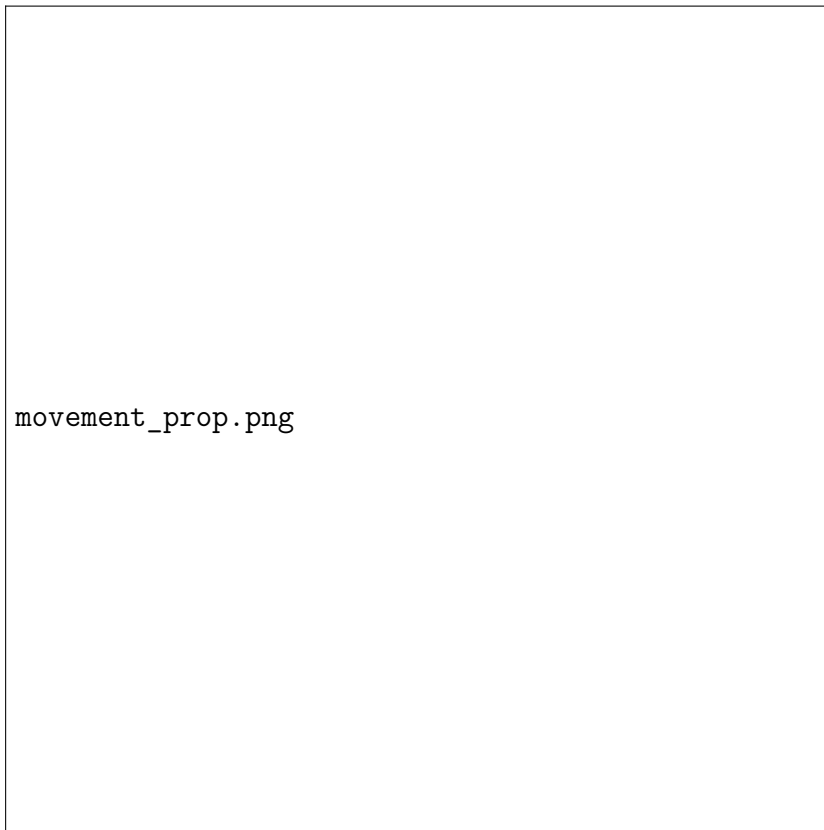
Obecność *peak* w sąsiedztwie podnosiła $P(\text{aktywny})$ o ok. 0.2–0.3 w $\Delta = 5$ min, efekt spada do zera w $\Delta = 30$ min.

4.5 Ruch komórek

Komórki w mutacji A wykazywały średni spadek dystansu (przyciąganie) w pierwszych 10 min, WT i mutB nie.

5 Dyskusja i wnioski

Analiza potwierdziła lokalny charakter propagacji ERK: komórki w stanie *peak* zwiększają aktywność sąsiadów wkrótce po zdarzeniu. Efekt ten jest



Rysunek 4: Zmiana średniej odległości do najbliższego peak vs Δ .

najsilniejszy w mutacji A i C, najslabszy w mutB. Ruch komórek wskazuje na przyciąganie do ognisk w mutA. Mutacje B prawdopodobnie osłabiają sprzężenie przestrzenne. Wyniki mają znaczenie dla zrozumienia mechanizmów koordynacji sygnałowej w populacjach komórkowych.