

# Analiza Danych Czasoprzestrzennych

Maria Prus-Głowacka  
Ćwiczenie 2 z Biologii systemów

Kwiecień 2025

## 1 Wstęp

Celem ćwiczenia była analiza szlaków sygnałowych AKT i ERK. Szlaki te zostają uaktywnione w komórkach sąsiednich do komórek, które uległy apoptozie. Szlak AKT odpowiada za przeżycie komórki oraz ochronę przed stresem. Szlak ERK odpowiada za proliferację, różnicowanie oraz odpowiedź adaptacyjną.

Dane pochodzą z eksperymentu polegającego na śledzeniu zmian wskaźników fluorescencyjnych ErkKTR-mTurq.2 do pomiaru aktywności szlaku ERK oraz FoxO-mNeonGreen do pomiaru aktywności szlaku AKT.

Dodatkowo, w eksperymencie wykorzystano linie komórkowe o zróżnicowanym profilu mutacyjnym. Oprócz komórek dzikiego typu (WT) analizowano 4 linie z mutacjami istotnymi dla szlaków sygnałowych ERK i AKT.

W eksperymencie wykorzystano dane z pomiarów czasu rzeczywistego, w których zmiany wskaźników fluorescencyjnych ERKKTR oraz FoxO3A były rejestrowane co 5 minut przez 24 godziny.

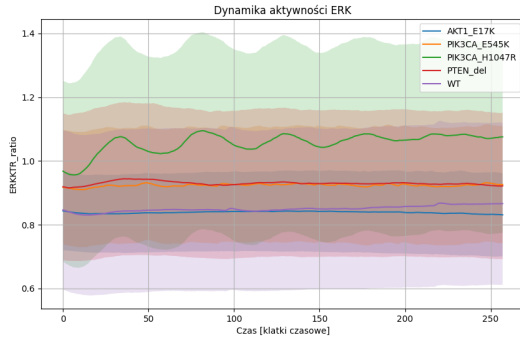
## 2 Porównanie aktywności szlaków sygnałowych między mutacjami.

Pierwszym etapem analizy było porównanie dynamiki aktywności szlaków ERK i AKT między liniami komórkowymi o różnych mutacjach.

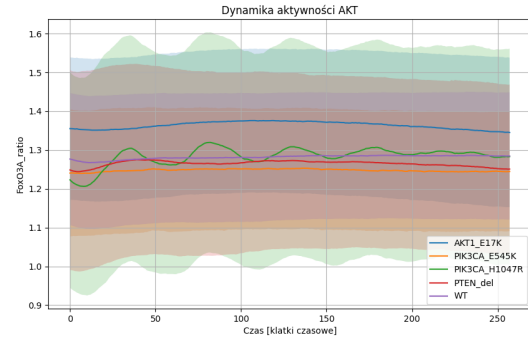
Średnie przebiegi aktywności AKT i ERK z przedziałami niepewności w postaci odchylenia standardowego możemy zobaczyć na Rysunku 1 i 2. Widzimy, że dla większości mutacji nie ma dużych oscylacji. Jedynie mutacja PIK3CA\_H1047R sprawia, że dynamika aktywności ERK i AKT oscyluje, szczególnie na początku eksperymentu.

Dla ERK najniższe wartości wykazują WT oraz mutacja AKT1\_E17K, a mutacje PTEN\_del oraz PIK3CA\_E545K lokują się mniej więcej w połowie pomiędzy pozostałymi liniami komórkowymi.

Dla AKT największą aktywność wykazuje mutacja AKT1\_E17K. Reszta mutacji oscyluje wokół podobnych wartości, a najniższą aktywność wykazuje mutacja PIK3CA\_E54K.



(a) Dynamika aktywności ERK



(b) Dynamika aktywności AKT

Rysunek 1: Średni przebieg aktywności ERK i AKT w zależności od czasu

Kolejnym etapem było przeprowadzenie testu istotności statystycznej Manna-Whitneya, porównującego poziomy aktywności ERK i AKT pomiędzy WT a poszczególnymi mutacjami. Wyniki testu możemy zobaczyć w Tabeli 1. Widzimy, że wszystkie mutacje, oprócz AKT1\_E17K mają istotny wpływ na aktywność ERK. W przypadku AKT test nie wykrył istotności tylko dla mutacji PIK3CA\_H1047R.

Mutacja	Statystyka testu	p-wartość	p-wartość (skorygowana)	Istotne
<b>Testy istotności - ERK</b>				
AKT1_E17K	319.0	9.073220e-01	1.000000e+00	<b>False</b>
PIK3CA_E545K	0.0	1.415656e-09	5.662625e-09	<b>True</b>
PIK3CA_H1047R	0.0	1.415656e-09	5.662625e-09	<b>True</b>
PTEN_del	0.0	1.415656e-09	5.662625e-09	<b>True</b>
<b>Testy istotności - AKT</b>				
AKT1_E17K	0.0	1.415656e-09	5.662625e-09	<b>True</b>
PIK3CA_E545K	625.0	1.415656e-09	5.662625e-09	<b>True</b>
PIK3CA_H1047R	327.0	7.858989e-01	1.000000e+00	<b>False</b>
PTEN_del	499.0	3.074624e-04	1.229850e-03	<b>True</b>

Tabela 1: Wyniki testów istotności dla aktywności ERK i AKT.

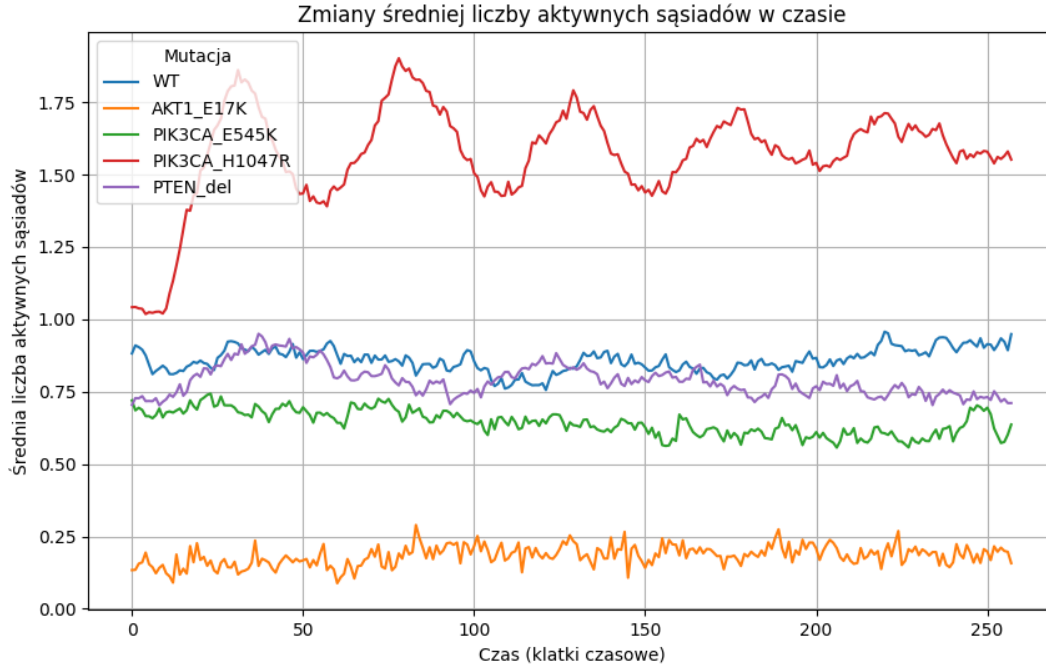
### 3 Analiza koordynacji przestrzennej i dynamiki sygnału.

Kolejnym etapem było zdefiniowanie stanu aktywnego komórki. Do tego celu dla każdej komórki obliczono Z-score, korzystając ze wzoru:

$$Z_i(t) = \frac{x(i) - \mu_i}{\sigma_i}$$

Następnie za próg aktywności uznaliśmy 95. percentyl wartości Z-score, który wynosił około 1.34. Używając powyższego wzoru i wartości granicznej, zidentyfikowano aktywne komórki

dla każdego kroku czasowego i obliczono średnią liczbę aktywnych sąsiadów, gdzie sąsiedztwo zdefiniowano jako każdą komórkę w promieniu 10 od badanej. Na Rysunku 2 widzimy średnią liczbę sąsiadów dla każdej mutacji w zależności od czasu. Tak, jak w przypadku analizy dynamiki sygnału, największe oscylacje wykazuje mutacja PIK3CA\_H1047R. Najmniejszą średnią liczbę aktywnych sąsiadów wykazuje mutacja AKT1\_E17K. Reszta mutacji oscyluje wokół mniej więcej tych samych wartości.



Rysunek 2: średnia liczba sąsiadów dla każdej mutacji w zależności od czasu.

W celu sprawdzenia, czy aktywność sygnałowa ma charakter przestrzenny i czy może rozprzestrzeniać się w sposób skoordynowany w czasie i przestrzeni obliczyliśmy współczynnik  $I$  autokorelacji przestrzennej Morana.

$$I = \frac{N}{W} \cdot \frac{\sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Wyniki analizy możemy zobaczyć w Tabeli 2. Wartości dodatnie, choć bardzo bliskie zera, sugerują, że aktywne komórki są nieco bardziej skupione w przestrzeni, niż przy rozmieszczeniu losowym. Jednak bardzo niski współczynnik  $I$  sugeruje, że nie tworzą one dużych ognisk aktywności. Mutacje jednak mają znacznie niższą średnią wartość współczynnika, czyli ich aktywność jest bardziej rozproszona niż w przypadku WT. Mutacje zaburzają sposób działania szlaku sygnałowego, co prowadzi do większego rozproszenia sygnału w przestrzeni i czasie.

Zidentyfikowano także ognisko aktywacji sygnału ERK. Znajduje się ono w prawym górnym rogu grafiki. Widać początkowe wzmocnienie sygnału i rozproszenie po kilku klatkach.

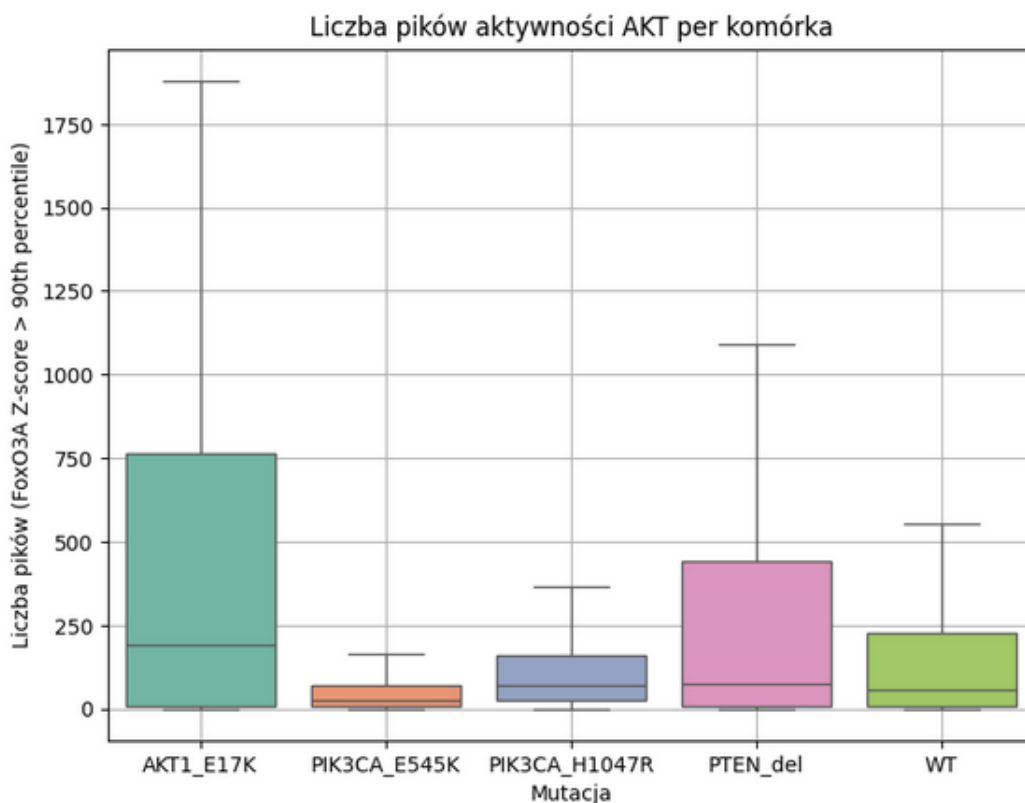
Mutacja	Średnie Moran's I	Odchylenie std
AKT1_E17K	0.0061	0.0077
PIK3CA_E545K	0.0073	0.0090
PIK3CA_H1047R	0.0016	0.0183
PTEN_del	0.0028	0.0151
WT	0.0137	0.0089

Tabela 2: Średnie wartości Moran's I oraz odchylenie standardowe dla różnych mutacji

## 4 Porównanie liczby pików aktywności między typami mutacji.

Ostatnim etapem analizy było odpowiedzenie na pytanie, czy mutacje powodują zwiększoną częstość pików aktywności AKT w stosunku do typu dzikiego (WT). Wyniki analizy widzimy na Rysunku 3.

Zauważyliśmy, że tylko dwie mutacje zwiększają średnią liczbę pików w porównaniu do WT: PTEN\_del oraz AKT1\_E17K podczas gdy mutacje typu PIK3CA mają zarówno niższą średnią liczbę pików jak i maksymalną.



Rysunek 3: Liczba pików aktywności AKT w zależności od mutacji