

Esercitazioni BFCM

Analisi dei dati

ATP-induced Ca^{2+} signals in endothelial cells

Cellular and Molecular Biophysics
2024/25

Esperimenti di imaging del Ca^{2+} citosolico

Cellule caricate con **FURA2-AM (2 μM)**

1

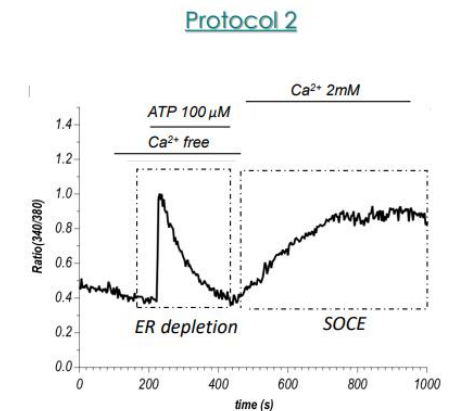
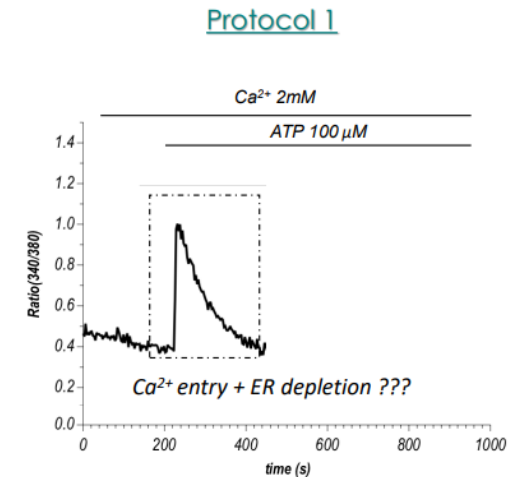
Protocollo 1: Segnali di Ca^{2+} indotti da ATP

1. Soluzione fisiologica tyrode standard (circa 30 frames, f; 1f = 3sec)
2. Applicazione agonista (ATP 100 μM) in tyrode standard (circa 100 frames)
3. Lavaggio in Soluzione tyrode standard
4. Applicazione ionomicina (lono 5 μM) come controllo positivo dell'esperimento

2

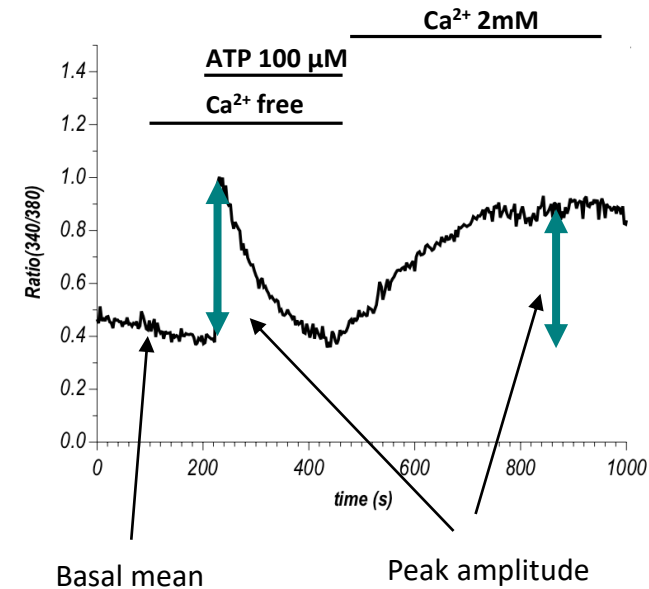
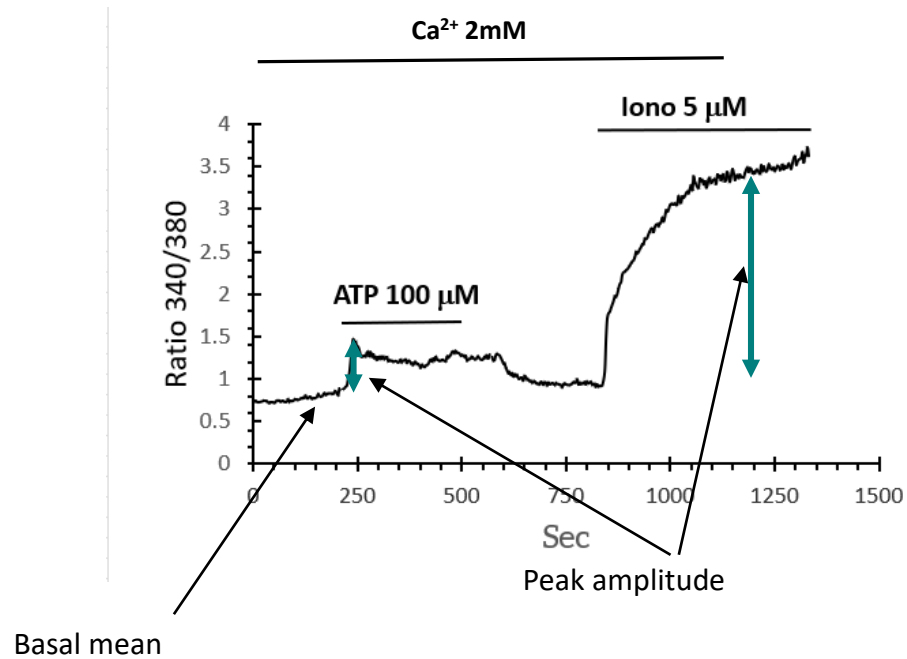
Protocollo 2: Contributo degli store ai segnali indotti da ATP e SOCE

1. Soluzione fisiologica tyrode standard (circa 30 frames, f; 1f = 3sec)
2. Soluzione fisiologica 0 Ca^{2+} 0.5 mM EGTA (circa 10f)
3. Soluzione fisiologica 0 Ca^{2+} 0.5 mM EGTA + ATP 100 μM (circa 100f o meno finché la risposta non si esaurisce)
4. Soluzione fisiologica tyrode standard (circa 100f)



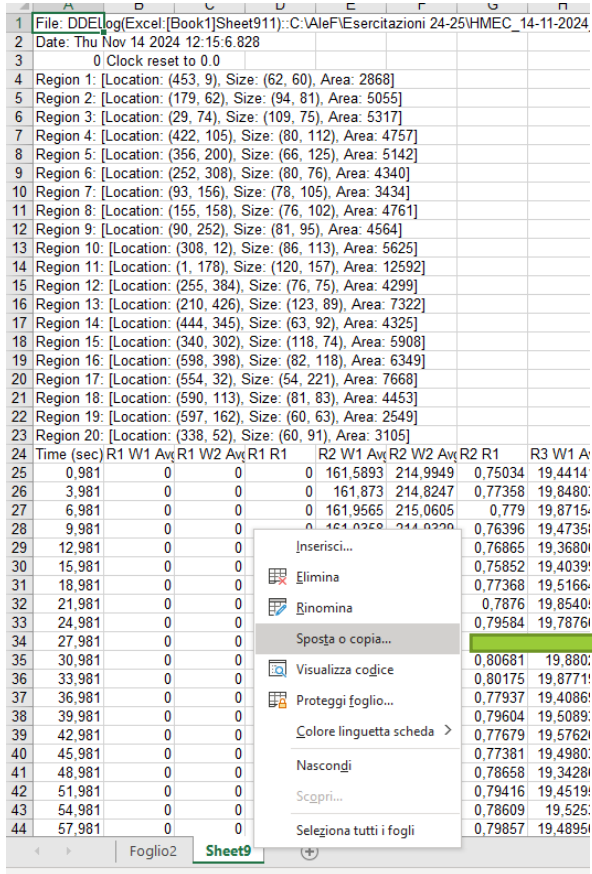
Analisi dei dati: cytosolic Ca^{2+} signals

1. Calculate the % of cellular responses
2. Calculate the peak amplitudes of all signals obtained during Ca^{2+} imaging experiments

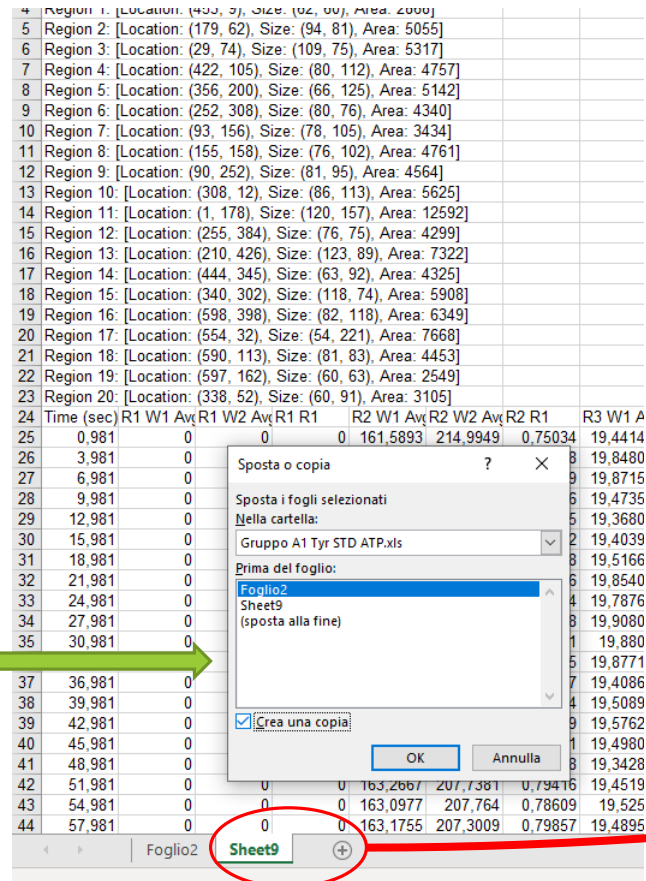


Guida all'analisi dei dati con Excel

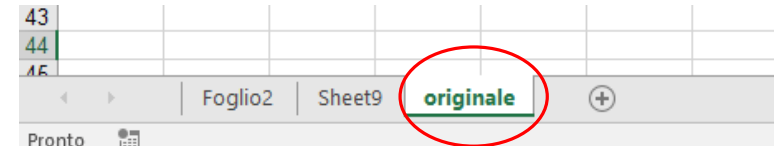
1. Aprire il file Excel da analizzare
2. **Copiare** il foglio Sheet9 con i valori e rinominarlo come 'originale'



Region	Location	Size	Area
Region 1	(453, 9)	(62, 60)	2868
Region 2	(179, 62)	(94, 81)	5055
Region 3	(29, 74)	(109, 75)	5317
Region 4	(422, 105)	(80, 112)	4757
Region 5	(356, 200)	(66, 125)	5142
Region 6	(252, 308)	(80, 76)	4340
Region 7	(93, 156)	(78, 105)	3434
Region 8	(155, 158)	(76, 102)	4761
Region 9	(90, 252)	(81, 95)	4564
Region 10	(308, 12)	(86, 113)	5625
Region 11	(1, 178)	(120, 157)	12592
Region 12	(255, 384)	(76, 75)	4299
Region 13	(210, 426)	(123, 89)	7322
Region 14	(444, 345)	(63, 92)	4325
Region 15	(340, 302)	(118, 74)	5908
Region 16	(598, 398)	(82, 118)	6349
Region 17	(554, 32)	(54, 221)	7668
Region 18	(590, 113)	(81, 83)	4453
Region 19	(597, 162)	(60, 63)	2549
Region 20	(338, 52)	(60, 91)	3105



Time (sec)	R1 W1	Av	R1 W2	Av	R1 R1	R2 W1	Av	R2 W2	Av	R2 R1	R3 W1	Av
0,981	0	0	0	0	161,5893	214,9949	0,75034	19,4414				
3,981	0	0	0	0	161,873	214,8247	0,77358	19,8480				
6,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
9,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
12,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
15,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
18,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
21,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
24,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
27,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
30,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
33,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
36,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
39,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
42,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
45,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
48,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
51,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
54,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				
57,981	0	0	0	0	161,9565	215,0605	0,779	19,8715				

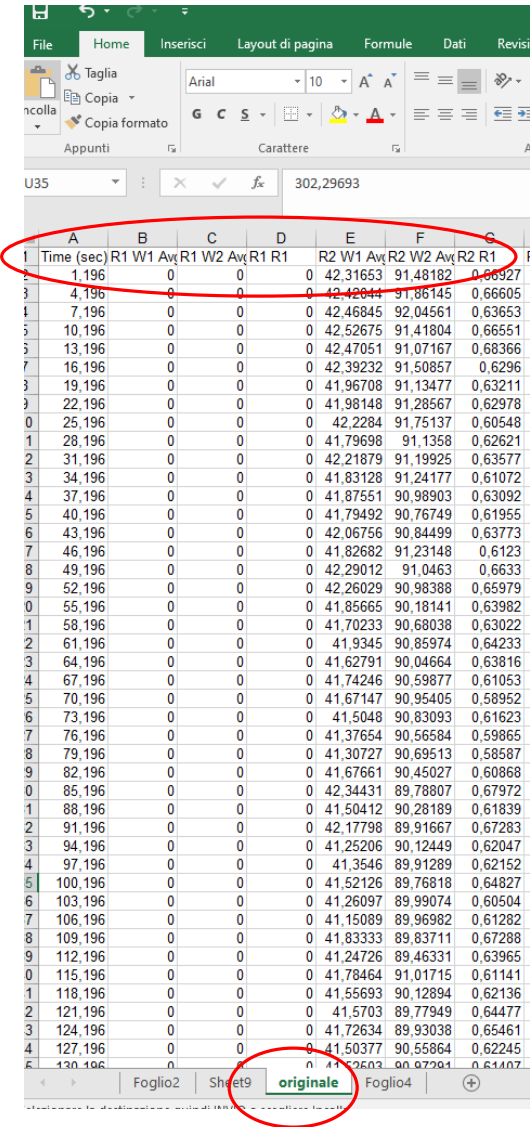
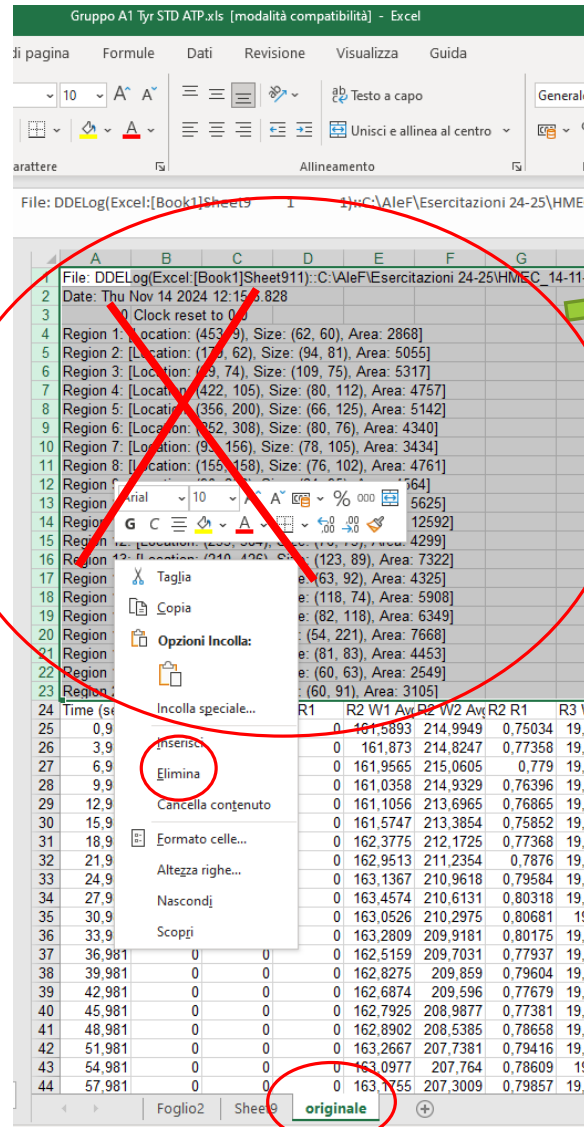


Guida all'analisi dei dati con Excel

3. Lavorare sul foglio ORIGINALE

4. Eliminare dal foglio 'originale' le righe con le Regions

- Selezionare le righe come in figura ed eliminarle in modo che nella prima riga compaiano le scritte TIME e le ROI



Guida all'analisi dei dati con Excel

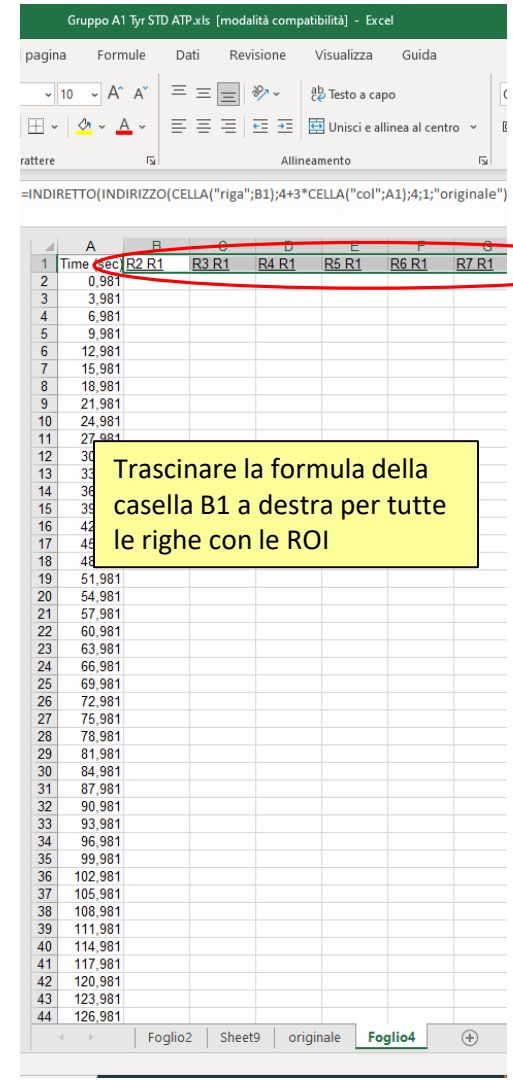
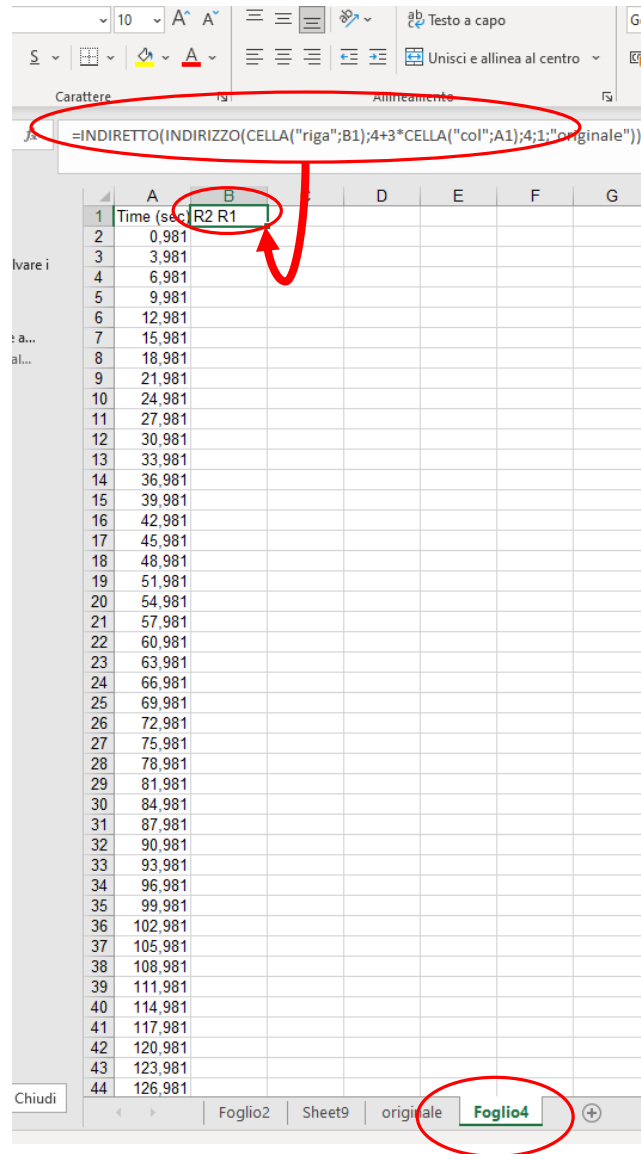
5. Creare un nuovo foglio di lavoro (Foglio4)
6. Sul foglio nuovo nella **casella B1** (prima riga della seconda colonna) applicare la seguente formula:

`=INDIRETTO(INDIRIZZO(CELLA("riga";B1);4+3*CELLA("col";A1);4;1;"originale"))`



questa formula vi consente di copiare dal foglio «originale» le colonne relative ai rapporti 340/380 eliminando quelle relative alle singole lunghezze d'onda

7. Trascinare la formula in modo da applicarla a tutte le righe di tutte le ROI



Trascinare la formula della casella B1 a destra per tutte le righe con le ROI

Guida all'analisi dei dati con Excel

8. Nella Colonna A riportare la scala dei tempi :

Ricordare che abbiamo impostato un'acquisizione ogni 3s

Time(sec) → 0,3,6

- Trascinare il quadratino verde con i tre tempi (0,3,6) selezionati verso il basso per tutta la durata dell'esperimento
- O fare doppio click sul quadratino verde per estendere la formula

Gruppo A1 Tyr STD ATP.xls [modalità compatibilità] - Excel

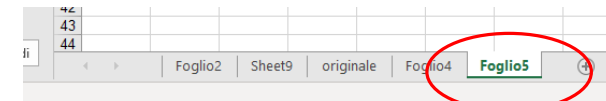
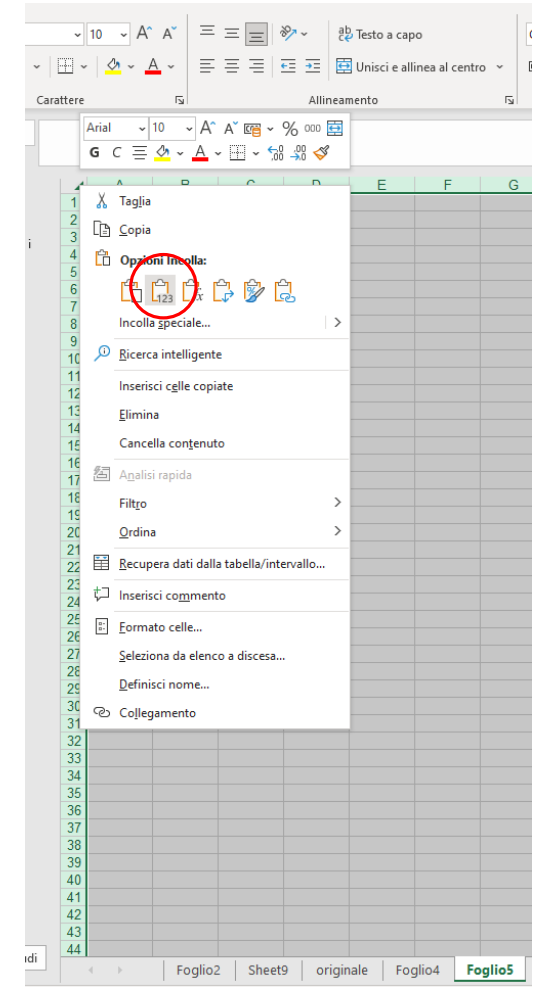
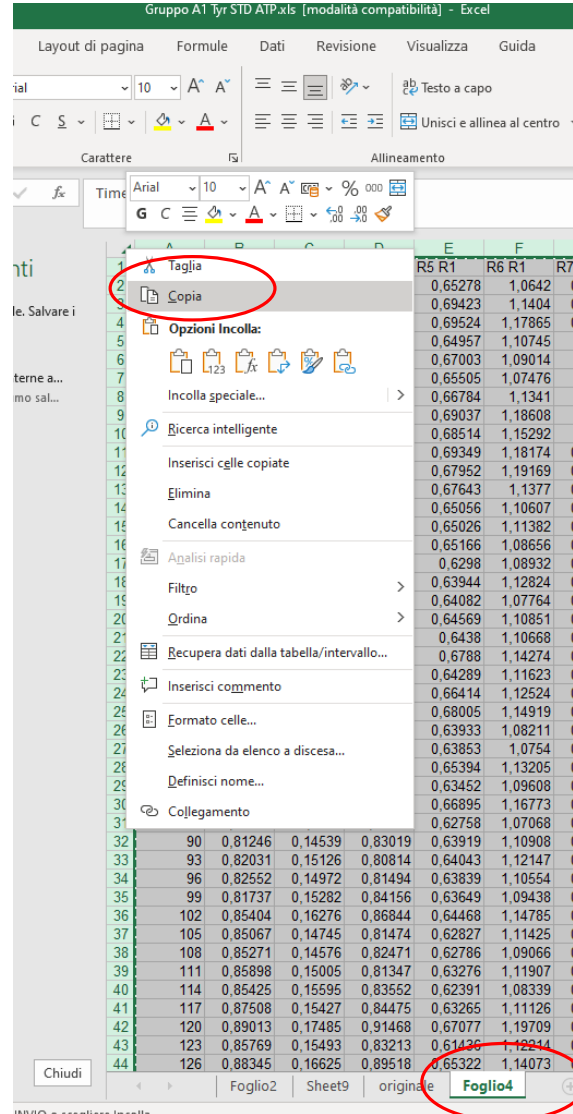
	A	B	C	D	E	F
1	Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1
2	0					
3	3					
4	6					
5	9,981					
6	12,981					
7	15,981					
8	18,					
9	21,					
10	24,					
11	27,					
12	30,					
13	33,					
14	36,					
15	39,					
16	42,					
17	45,					
18	48,					
19	51,					
20	54,					
21	57,					
22	60,					
23	63,					
24	66,					
25	69,					
26	72,					
27	75,					
28	78,					
29	81,					
30	84,					
31	87,					
32	90,					
33	93,					
34	96,9					
35	99,98					
36	102,981					
37	105,981					
38	108,981					
39	111,981					
40	114,981					
41	117,981					
42	120,981					
43	123,981					
44	126,981					

Gruppo A1 Tyr STD ATP.xls [modalità compatibilità] - Excel

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8
2	0	0,75034	0,14166	0,80556	0,65278	1,0642	0,60857	
3	3	0,77358	0,16209	0,87631	0,69423	1,1404	0,63296	
4	6	0,779	0,16843	0,8581	0,69524	1,17865	0,62505	
5	9	0,76396	0,1492	0,7962	0,64957	1,10745	0,6166	
6	12	0,76865	0,15391	0,83276	0,67003	1,09014	0,5983	
7	15	0,75852	0,13833	0,81129	0,65505	1,07476	0,6013	
8	18	0,77368	0,15621	0,85783	0,66784	1,1341	0,6065	
9	21	0,7876	0,15835	0,89854	0,69037	1,18608	0,61	
10	24	0,79584	0,16015	0,87503	0,68514	1,15292	0,6251	
11	27	0,80318	0,16557	0,91459	0,69349	1,18174	0,62436	
12	30	0,80681	0,16804	0,87285	0,67952	1,19169	0,61873	
13	33	0,80175	0,17066	0,85374	0,67643	1,1377	0,61375	
14	36	0,77937	0,14708	0,8143	0,65056	1,10607	0,59585	
15	39	0,79604	0,15072	0,8147	0,65026	1,11382	0,59425	
16	42	0,77679	0,15067	0,79894	0,65166	1,08656	0,62208	
17	45	0,77381	0,14969	0,80637	0,6298	1,08932	0,61751	
18	48	0,78658	0,14641	0,82609	0,63944	1,12824	0,62475	
19	51	0,79416	0,15429	0,84516	0,64082	1,07764	0,64736	
20	54	0,78609	0,153	0,81602	0,64569	1,10851	0,65166	
21	57	0,79857	0,14996	0,82894	0,6438	1,10668	0,63991	
22	60	0,82585	0,15644	0,88977	0,6788	1,14274	0,66719	
23	63	0,80798	0,14889	0,81375	0,64289	1,11623	0,64539	
24	66	0,80789	0,14829	0,82776	0,66414	1,12524	0,66453	
25	69	0,82279	0,16151	0,88093	0,68005	1,14919	0,69977	
26	72	0,80211	0,1496	0,8173	0,63933	1,08211	0,66957	
27	75	0,79669	0,14803	0,7969	0,63853	1,0754	0,64553	
28	78	0,81492	0,15515	0,82323	0,65394	1,13205	0,65284	
29	81	0,80365	0,14725	0,81863	0,63452	1,09608	0,64335	
30	84	0,83404	0,16331	0,86269	0,66895	1,16773	0,67888	
31	87	0,79357	0,1501	0,79405	0,62758	1,07068	0,64907	
32	90	0,81246	0,14539	0,83019	0,63919	1,10908	0,65752	
33	93	0,82031	0,15126	0,80814	0,64043	1,12147	0,65668	
34	96	0,82552	0,14972	0,81494	0,63839	1,10554	0,64396	
35	99	0,81737	0,15282	0,84156	0,63649	1,09438	0,65752	
36	102	0,85404	0,16276	0,86844	0,64468	1,14785	0,65767	
37	105	0,85067	0,14745	0,81474	0,62827	1,11425	0,64623	
38	108	0,85271	0,14576	0,82471	0,62786	1,09066	0,65028	
39	111	0,85898	0,15005	0,81347	0,63276	1,11907	0,64158	
40	114	0,85425	0,15595	0,83552	0,62391	1,08339	0,64591	
41	117	0,87508	0,15427	0,84475	0,63265	1,11126	0,64566	
42	120	0,89013	0,17485	0,91468	0,67077	1,19709	0,69022	
43	123	0,85769	0,15493	0,83213	0,61436	1,12214	0,63931	
44	126	0,88345	0,16625	0,89518	0,65322	1,14073	0,69138	

Guida all'analisi dei dati con Excel

- Copiare il foglio così ottenuto (Foglio 4) e creare un altro foglio di calcolo (**Foglio 5**) incollando **SOLO** i valori (senza le formule)



Guida all'analisi dei dati con Excel

- Nel **foglio 5** eliminare le righe con gli 0 (che corrispondono al tempo in cui è stata cambiata la soluzione); tener traccia di questi tempi riportandoli in una tabella come quella riportata come esempio nel **foglio 2** sotto gli screenshot delle immagini
- Nel foglio 2 riportare anche il **numero totale di cellule**
- Salvare il file Excel rinominandolo con l'indicazione anche del proprio gruppo di appartenenza

	A	B	C	D	E	F	G
43	123	0,85769	0,15493	0,83213	0,61436	1,12214	0,63931
44	126	0,88345	0,16625	0,89518	0,65322	1,14073	0,69138
45	129	0,87291	0,16999	0,89273	0,65511	1,18932	0,67879
46	132	0,87135	0,15781	0,86549	0,63613	1,10018	0,66176
47	135	0,87512	0,16859	0,90567	0,65006	1,16869	0,67234
48	138	0,86037	0,15337	0,84389	0,63638	1,13205	0,6631
49	141	0,84097	0,15024	0,82389	0,62538	1,09577	0,6417
50	144	0,82768	0,15197	0,81745	0,64395	1,10834	0,65339
51	147	0,82116	0,14735	0,81184	0,62131	1,10758	0,64338
52	150	0,83881	0,16285	0,84253	0,6412	1,1138	0,66321
53	153	0,83971	0,16473	0,87454	0,652	1,13449	0,66573
54	156	0,85261	0,16613	0,891	0,66867	1,22991	0,66966
55	159	0,83903	0,15667	0,86481	0,64201	1,12876	0,6736
56	162	0,8282	0,15532	0,84366	0,63623	1,15971	0,66764
57	165	0,80645	0,14669	0,80204	0,61422	1,07671	0,6412
58	168	0,83325	0,15353	0,86116	0,63419	1,10628	0,66097
59	171	0,83522	0,16969	0,91323	0,6744	1,22443	0,69273
60	174	0,81977	0,16404	0,84773	0,64186	1,13123	0,67124
61	177	0,81022	0,15025	0,83764	0,63015	1,11742	0,66532
62	180	0,81237	0,15814	0,85087	0,63095	1,17511	0,6936
63	183	0,81069	0,16188	0,85941	0,6467	1,11976	0,67491
64	186	0,80418	0,14975	0,82114	0,63236	1,11356	0,68345
65	189	0,79576	0,15826	0,83197	0,63007	1,11188	0,66904
66	192	0,79025	0,15836	0,8371	0,63281	1,05842	0,67239
67	195	0,80544	0,17143	0,84397	0,62759	1,14199	0,69183
68	198	0,81246	0,15787	0,90921	0,6626	1,2004	0,69849
69	201	0,78667	0,15943	0,85883	0,6436	1,11515	0,66954
70	204	0,76263	0,14217	0,78981	0,61536	1,03322	0,65123
71	207	0,81853	0,16558	0,93515	0,6644	1,20608	0,70466
72	210	0	0	0	0	0	0
73	213	0,81032	0,14511	0,8049	0,63643	1,12228	0,69659
74	216	0,95411	0,1581	0,9007	0,66498	1,09914	0,74566
75	219	1,71482	0,16967	1,36095	0,85916	1,11215	1,30853
76	222	1,79356	0,21018	1,68879	1,00564	1,21819	1,53533
77	225	1,7741	0,22401	1,69886	1,04559	1,14004	1,52387
78	228	1,75762	0,24493	1,78325	1,11334	1,1659	1,54618
79	231	1,70343	0,25414	1,78109	1,1084	1,20459	1,47947
80	234	1,66873	0,24054	1,76384	1,0794	1,12966	1,44188
81	237	1,6926	0,25413	1,86074	1,13311	1,24796	1,47626
82	240	1,6773	0,24803	1,86733	1,13804	1,23852	1,45688
83	243	1,60413	0,24779	1,76343	1,09227	1,14171	1,43528
84	246	1,64986	0,27399	1,84228	1,14429	1,23898	1,47384
85	249	1,59468	0,24987	1,79935	1,1176	1,28359	1,47372
86	252	1,63137	0,2663	1,86436	1,14789	1,33023	1,4620

ATT. Eliminare SOLO gli 0, non cancellare l'intera riga!

Numero di ROI (tutte meno la Roi 1 che è il background)			
Per	Protocollo 1	Cyclo	Sec
	Tempi	72	210 (Per esempio)
	Tyr + ATP		
	Wash		
	Ionicinica		
Protocollo 2			
	Tempi	Cyclo	Sec
	Tyr		
	Tyr 0 Ca		
	Tyr 0 Ca + ATP		
	Wash		
	Ionicinica		

Numero di cellule = N° Regions - 1 (per es 49 regions -1 = 48 cellule)

Analisi qualitativa (1)

1. Lavorando sul foglio 5, **creare dei grafici** per le varie cellule analizzate durante l'esperimento, selezionando due ROI alla volta; i grafici devono riportare:
 - Sull'asse X il tempo
 - Sull'asse Y i valori della Ratio
2. Facendo doppio click sull'asse Y è possibile aggiustare la scala (Formato asse) in modo da vedere bene i segnali (mantenere la stessa scala per tutti i grafici)

The screenshot displays an Excel spreadsheet with a data table and a line graph. The data table has columns for 'Time (sec)' and various 'R' values (R2 R1, R3 R1, R4 R1, R5 R1, R6 R1, R7 R1, R8 R1, R9 R1, R10 R1). The line graph, titled 'ROI 1 e 2', plots two data series: 'R2 R1' (blue line) and 'R3 R1' (orange line) against 'Time (sec)'. The Y-axis represents the Ratio values. A red circle highlights the Y-axis, and a red arrow points from the 'Formato asse' task in the list to the 'Formato asse' task pane on the right. A green arrow points from the 'Formato asse' task pane to the Y-axis of the graph.

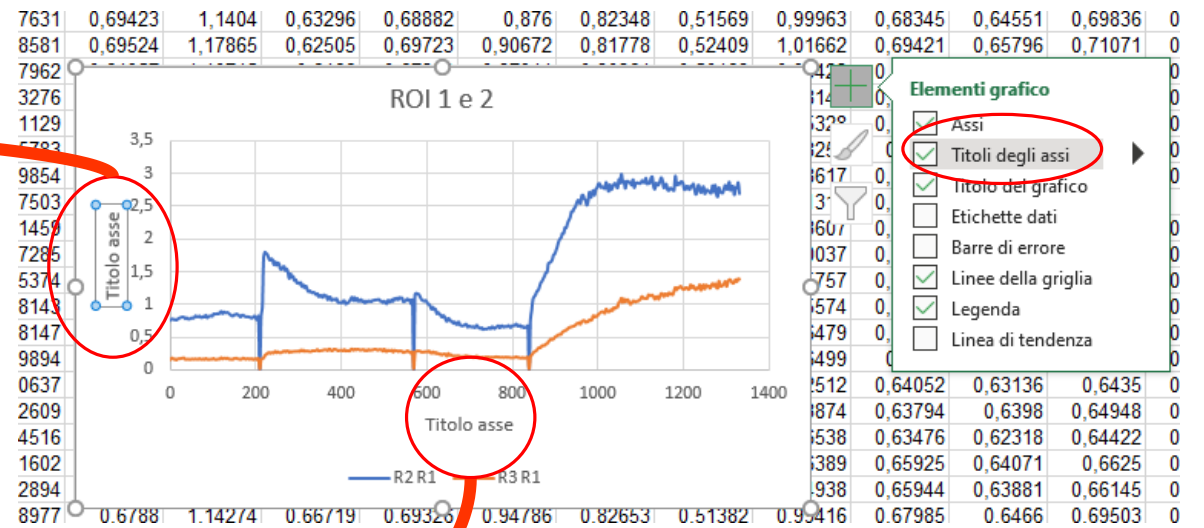
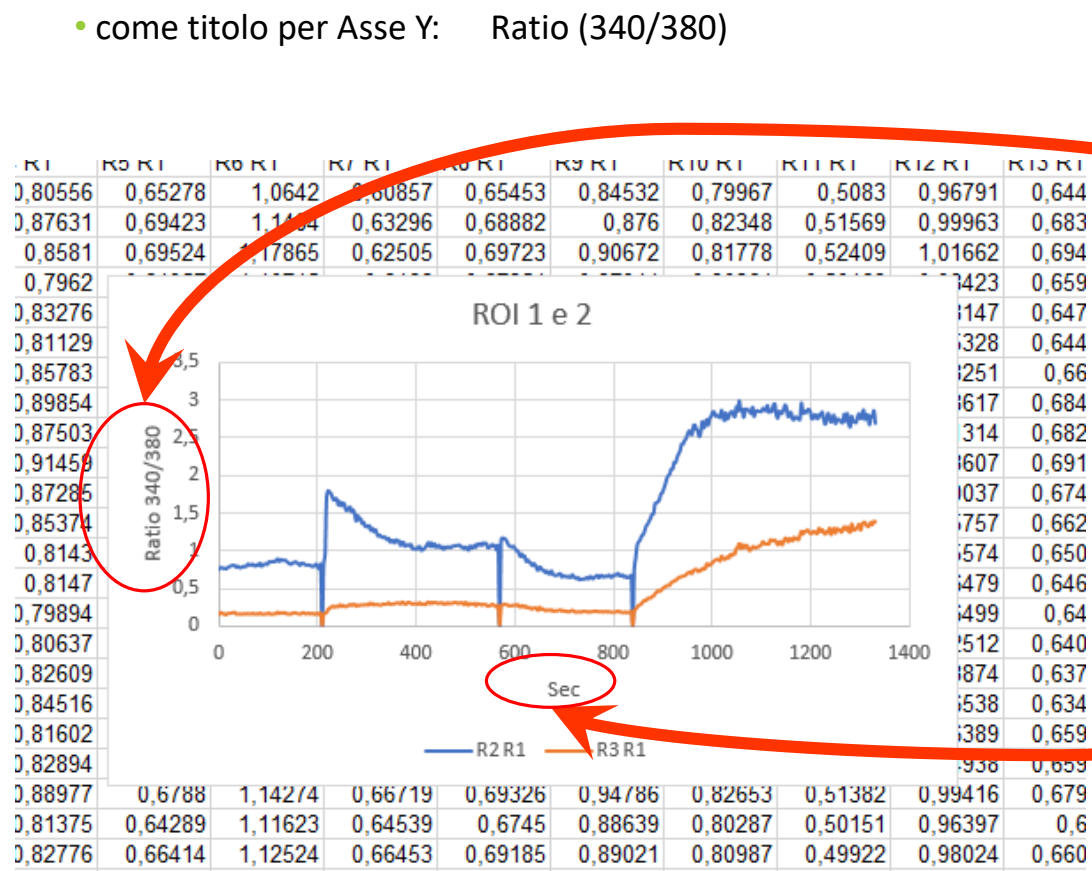
Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1
0	0,75034	0,14166	0,80556	0,65278	1,0642	0,60857	0,65453	0,84532	0,79967
3	0,77358	0,16209	0,87631	0,69423	1,1404	0,63296	0,68882	0,876	0,82348
6	0,779	0,16843	0,8581	0,69524	1,17865	0,62505	0,69723	0,90672	0,81778
9	0,76396	0,1492	0,7962	0,64957	1,10745	0,6166	0,67354	0,87914	0,80361
12	0,76865	0,15391	0,83276	0,67003	1,09014	0,5983	0,6656	0,85218	0,79795
15	0,75852	0,13833	0,81129	0,65505	1,07476	0,6013	0,66886	0,85665	0,79892
18	0,77368	0,15621	0,85783	0,66784	1,1341	0,6065	0,658	0,90131	0,80362
21	0,7816	0,15836	0,89854	0,69037	1,18608	0,51	0,67696	0,92244	0,80936
24	0,79584	0,16015	0,87503	0,68514	1,15292	0,5251	0,68701	0,91028	0,80925
27	0,80318	0,16557	0,91459	0,69349	1,18174	0,62436	0,69355	0,91228	0,82271
30	0,80681	0,16804	0,87285	0,67952	1,19169	0,61873	0,67975	0,90265	0,80697
33	0,80175	0,17066	0,85374	0,67643	1,1377	0,61375	0,67441	0,87759	0,80731
36	0,77937	0,14708	0,8143	0,65056	1,10607	0,59585	0,65941	0,87581	0,79433
39	0,79604	0,15072	0,8147	0,65026	1,11382	0,59425	0,65219	0,86529	0,81307
42	0,77679	0,15067	0,79894	0,65166	1,08656	0,62208	0,65824	0,88206	0,8007
45	0,77381	0,14969	0,80637	0,6298	1,08932	0,61751	0,64846	0,85879	0,79785
48	0,78658	0,14641	0,82609	0,63944	1,12824	0,62475	0,65677	0,87402	0,80199
51	0,79416	0,15429	0,84516	0,64082	1,07764	0,64736	0,66733	0,86893	0,8041
54	0,78609	0,153	0,81602	0,64569	1,10851	0,65166	0,66274	0,87531	0,79714
57	0,79857	0,14996	0,82894	0,6438	1,10668	0,63991	0,68058	0,89664	0,80315
60	0,82585	0,15644	0,88977	0,6788	1,14274	0,66719	0,69326	0,94786	0,82653
63	0,80798	0,14889	0,81375	0,64289	1,11623	0,64539	0,6745	0,88639	0,80287
66	0,80789	0,14829	0,82776	0,66414	1,12524	0,66453	0,69185	0,89021	0,80987
69	0,82279	0,16151	0,88093	0,68005	1,14919	0,69977	0,70546	0,93238	0,81243
72	0,80211	0,1496	0,8173	0,63933	1,08211	0,66957	0,69542	0,89374	0,79564
75	0,79669	0,14803	0,7969	0,63853	1,0754	0,64553	0,68605	0,8666	0,79786

Analisi qualitativa (2)

3. Inserire le **etichette** sugli assi X e Y cliccando con tasto **+** accanto al grafico e spuntando la voce «Titoli degli assi»

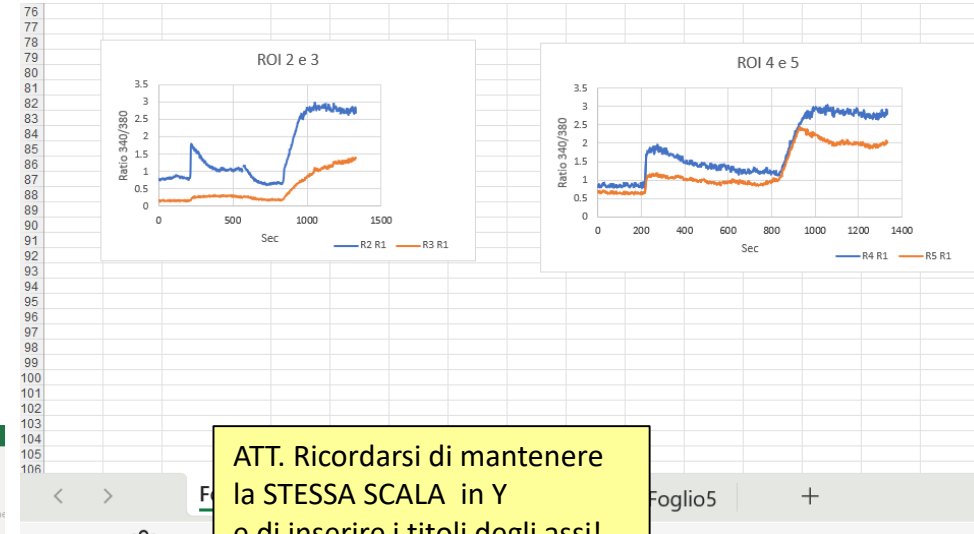
4. Inserire:

- come titolo per Asse X: Sec
- come titolo per Asse Y: Ratio (340/380)

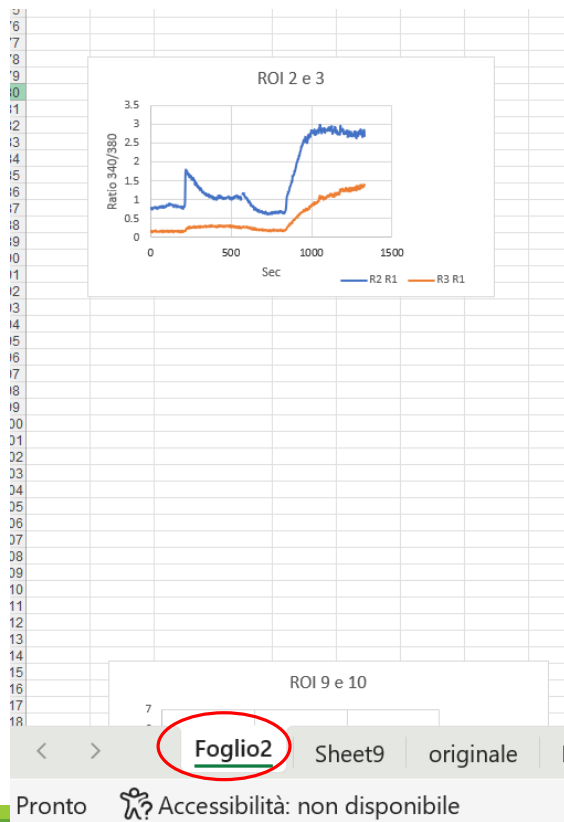


Analisi qualitativa (3)

- Copiare il grafico e incollarlo come immagine nel foglio 2
- Procedere in questo modo per tutte le ROI **creando diversi grafici** contenuti ognuno due tracce



ATT. Ricordarsi di mantenere la **STESSA SCALA** in Y e di inserire i titoli degli assi!



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1	R12 R1	R13 R1	R14 R1
2	0	0.75034	0.14166	0.80556	0.65278	1.0642	0.00957	0.85453	0.84533	0.70967	0.6083	0.56731	0.64467	0.632
3	3	0.77358	0.16209	0.87631	0.69423	1.1404								
4	6	0.779	0.16843	0.8581	0.69524	1.17865								
5	9	0.76396	0.1492	0.7962	0.64957	1.10745								
6	12	0.76865	0.15391	0.83276	0.67003	1.09014								
7	15	0.75852	0.13833	0.81129	0.65505	1.07476								
8	18	0.77368	0.15621	0.85783	0.66784	1.1341								
9	21	0.7876	0.15835	0.89854	0.69037	1.18608								
10	24	0.79584	0.16015	0.87503	0.68514	1.15292								
11	27	0.80318	0.16557	0.91459	0.69349	1.18174								
12	30	0.80681	0.16804	0.87285	0.67952	1.19169								
13	33	0.80175	0.17066	0.85374	0.67643	1.1377								
14	36	0.77937	0.14708	0.8143	0.65056	1.10607								
15	39	0.79604	0.15072	0.8147	0.65026	1.11382								
16	42	0.77679	0.15067	0.79894	0.65166	1.08656								
17	45	0.77381	0.14969	0.80637	0.6298	1.08932								
18	48	0.78658	0.14641	0.82609	0.63944	1.12824								
19	51	0.79416	0.15429	0.84516	0.64082	1.07764								
20	54	0.78609	0.153	0.81602	0.64569	1.10857	0.65166	0.66274	0.87531	0.79714	0.49474	0.96389	0.65925	0.640
21	57	0.79857	0.14996	0.82894	0.6438	1.10668	0.63991	0.68058	0.89664	0.80315	0.50015	0.94938	0.65944	0.638
22	60	0.82585	0.15644	0.89977	0.6788	1.14274	0.66719	0.69326	0.94786	0.82653	0.51382	0.99416	0.67985	0.64
23	63	0.80798	0.14889	0.81375	0.64289	1.11623	0.64539	0.6745	0.88639	0.80287	0.50151	0.96397	0.653	0.640
24	66	0.80789	0.14829	0.82776	0.66414	1.12524	0.66453	0.69185	0.89021	0.80987	0.49922	0.98024	0.66099	0.645
25	69	0.82279	0.16151	0.88093	0.68005	1.14919	0.69977	0.70546	0.93238	0.81243	0.50987	0.98908	0.68379	0.654
26	72	0.80211	0.1496	0.8173	0.63933	1.08211	0.66957	0.69542	0.89374	0.79564	0.50255	0.95695	0.65831	0.641
27	75	0.79669	0.14803	0.7969	0.63853	1.0754	0.64553	0.68605	0.8666	0.79786	0.50238	0.95456	0.66602	0.629
28	78	0.81492	0.15515	0.82323	0.65394	1.13205	0.65284	0.68843	0.90322	0.81228	0.5048	0.9674	0.64827	0.646
29	81	0.80365	0.14725	0.81863	0.63452	1.09608	0.64335	0.68507	0.89724	0.80053	0.50326	0.93879	0.65884	0.632
30	84	0.83404	0.16331	0.96069	0.66095	1.16773	0.67888	0.72175	0.91628	0.82246	0.51882	0.99217	0.68608	0.655
31	87	0.79367	0.1501	0.79405	0.62758	1.07068	0.64907	0.68235	0.86475	0.78578	0.50108	0.90547	0.6424	0.629
32	90	0.81246	0.14539	0.83019	0.63919	1.10908	0.65752	0.69855	0.89666	0.80726	0.50614	0.95997	0.65881	0.626
33	93	0.82031	0.15126	0.80814	0.64043	1.12147	0.65668	0.70293	0.90446	0.80076	0.50675	0.94614	0.65798	0.638
34	96	0.82552	0.14972	0.81494	0.63839	1.10554	0.64396	0.70116	0.90049	0.79926	0.50561	0.93503	0.65502	0.628
35	99	0.81737	0.15282	0.84156	0.63649	1.09438	0.65752	0.70122	0.91916	0.80286	0.50524	0.94933	0.67045	0.638
36	102	0.85404	0.16276	0.86844	0.64468	1.14785	0.65767	0.71856	0.92007	0.80553	0.51356	0.9638	0.6686	0.643
37	105	0.85067	0.14745	0.81474	0.62827	1.11425	0.64623	0.71668	0.92289	0.80386	0.50818	0.95853	0.65641	0.646
38	108	0.85271	0.14576	0.82471	0.62786	1.09066	0.65028	0.71637	0.89877	0.79695	0.51125	0.9247	0.65372	0.64

Analisi qualitativa (4)

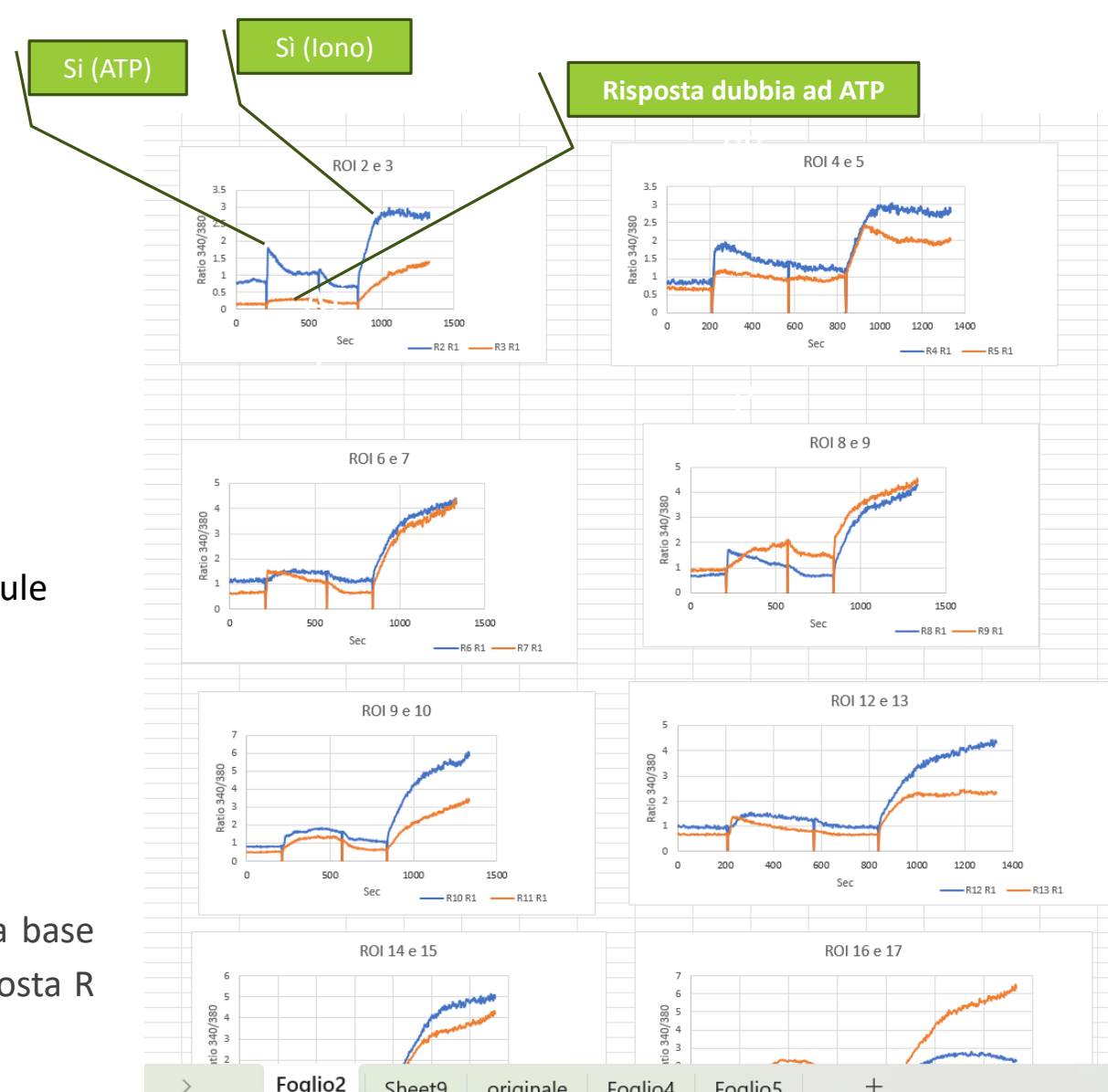
7. Osservare i grafici così ottenuti e:

- eliminare le cellule (ROI) che hanno un basale molto alto

8. Calcolare le varie % di risposta:

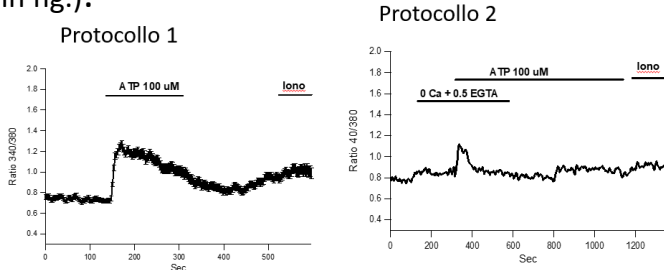
- risposte alla ionomicina (controllo positivo nel protocollo 1)
- risposte all'ATP in tyrode standard (considerando solo le cellule che hanno risposto alla ionomicina – protocollo 1)
- risposte da release dagli stores (ATP in 0 Ca²⁺ - protocollo 2)
- risposte SOCE (protocollo 2)

9. Nel caso di risposte **dubbie** (come mostrato in figura) valutare sulla base dell'analisi quantitativa riportata nelle slide successive (soglia di risposta $R(340/380) \geq 0.1$)



Analisi qualitativa (5)

10. Calcolare la **traccia media** e la **deviazione standard** (o errore standard) e riportarla su un grafico con l'indicazione dei vari trattamenti (come es. in fig.):



- Sul **foglio 5** creare nella colonna al fondo delle ROI le colonne **MEAN** e **STD** (standard deviation)
- Calcolare il valore medio delle ROI al tempo 0
- Procedere così per tutti i tempi
- Fare la stessa cosa per il calcolo della **DEV STD**

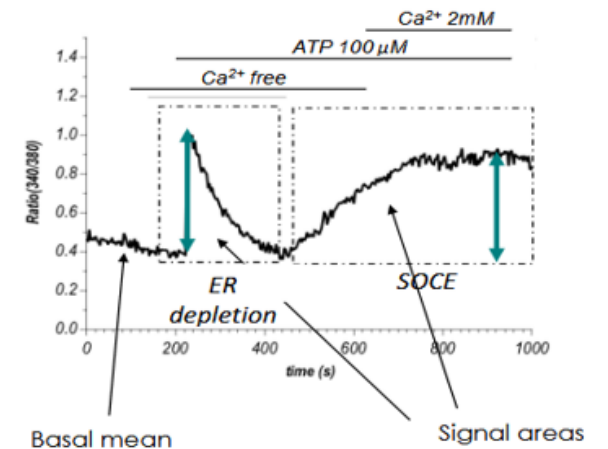
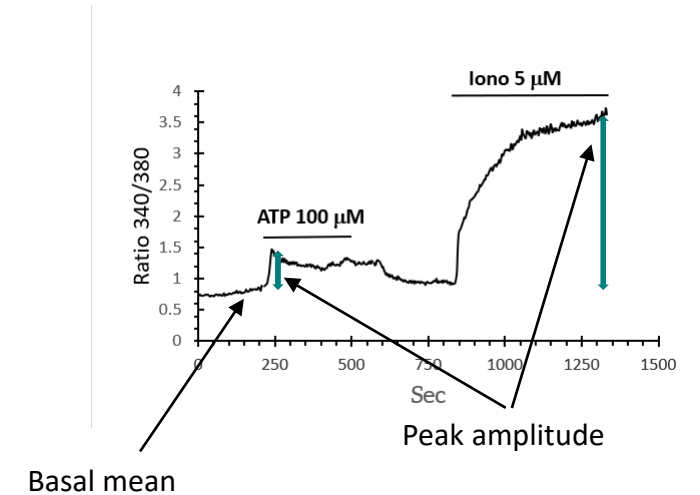
Analisi quantitativa (1)

1. All'analisi qualitativa segue l'analisi quantitativa:

- Eliminare le cellule che non rispondono alla ionomicina (soglia di risposta $R(340/380) > 0.1$)

2. Calcolare:

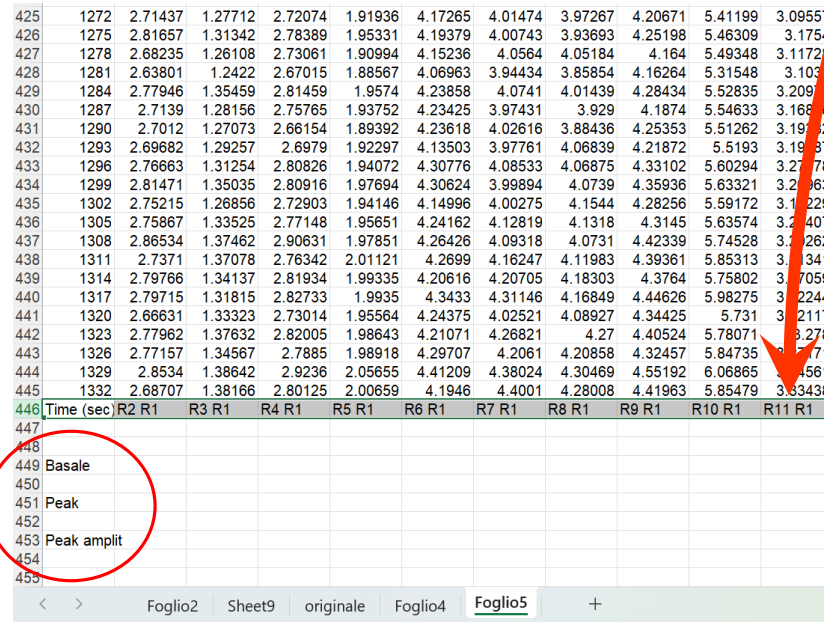
- **Ampiezza media** del picco (peak amplitude) **della risposta all'ATP in soluzione fisiologica Tyrode Standard** (protocollo 1)
- **Ampiezza media del release** (=risposta all'ATP in soluzione fisiologica $0Ca^{2+} 0.5 mM EGTA$ – protocollo 2)
- **Ampiezza media del picco SOCE** (= ripristino del Ca^{2+} extracellulare mediante soluzione fisiologica Tyrode Standard – protocollo 2)



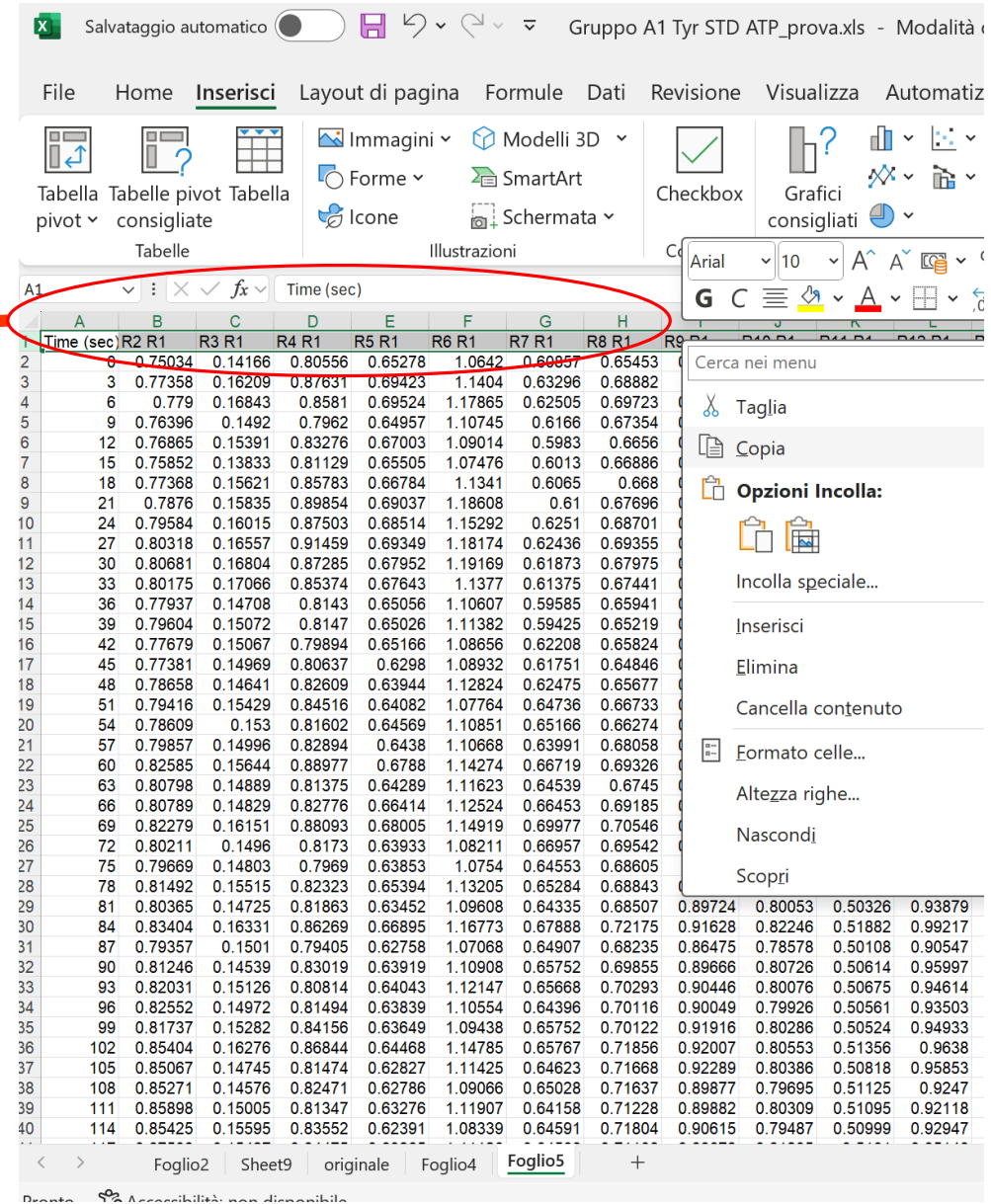
Analisi quantitativa (2)

Analisi dell'ampiezza del picco della risposta in seguito a stimolazione con ATP (in soluzione fisiologica TYR STD o $0Ca^{2+}$ 2mM EGTA)

1. Copiare la riga 1 del foglio 5 e riportarla al fondo del foglio
2. Riportare le scritte 'basale', 'peak' e 'peak ampl' sotto la riga appena copiata



425	1272	2.71437	1.27712	2.72074	1.91936	4.17265	4.01474	3.97267	4.20671	5.41199	3.09557
426	1275	2.81657	1.31342	2.78389	1.95331	4.19379	4.00743	3.93693	4.25198	5.46309	3.1754
427	1278	2.68235	1.26108	2.73061	1.90994	4.15236	4.05684	4.05184	4.164	5.49348	3.1172
428	1281	2.63801	1.2422	2.67015	1.88567	4.06963	3.94434	3.85854	4.16264	5.31548	3.103
429	1284	2.77946	1.35459	2.81459	1.9574	4.23858	4.0741	4.01439	4.28434	5.52835	3.2093
430	1287	2.7139	1.28156	2.75765	1.93752	4.23425	3.97431	3.929	4.1874	5.54633	3.1686
431	1290	2.7012	1.27073	2.66154	1.89392	4.23618	4.02616	3.88436	4.25353	5.51262	3.1912
432	1293	2.69682	1.29257	2.6979	1.92297	4.13503	3.97761	4.06839	4.21872	5.5193	3.1918
433	1296	2.76663	1.31254	2.80826	1.94072	4.30776	4.08533	4.06875	4.33102	5.60294	3.2778
434	1299	2.81471	1.35035	2.80916	1.97694	4.30624	3.99894	4.0739	4.35936	5.63321	3.2763
435	1302	2.75215	1.26856	2.72903	1.94146	4.14996	4.00275	4.1544	4.28256	5.59172	3.1229
436	1305	2.75867	1.33525	2.77148	1.95651	4.24162	4.12819	4.1318	4.3145	5.63574	3.2407
437	1308	2.86534	1.37462	2.90631	1.97851	4.26426	4.09318	4.0731	4.42339	5.74528	3.2262
438	1311	2.7371	1.37078	2.76342	2.01121	4.2699	4.16247	4.11983	4.39361	5.85313	3.3341
439	1314	2.79766	1.34137	2.81934	1.99335	4.20616	4.20705	4.18303	4.3764	5.75802	3.7059
440	1317	2.79715	1.31815	2.82733	1.9935	4.3433	4.31146	4.16849	4.44626	5.98275	3.2244
441	1320	2.66631	1.33323	2.73014	1.95564	4.24375	4.02521	4.08927	4.34425	5.731	3.2117
442	1323	2.77962	1.37632	2.82005	1.98643	4.21071	4.26821	4.27	4.40524	5.78071	3.2378
443	1326	2.77157	1.34567	2.7885	1.98918	4.29707	4.2061	4.20858	4.32457	5.84735	3.1771
444	1329	2.8534	1.38642	2.9236	2.05655	4.41209	4.38024	4.30469	4.55192	6.06865	3.4561
445	1332	2.68707	1.38166	2.80125	2.00659	4.1946	4.4001	4.28008	4.41963	5.85479	3.33438
446	Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1
447											
448											
449	Basale										
450											
451	Peak										
452											
453	Peak ampl										
454											
455											



Salvataggio automatico Gruppo A1 Tyr STD ATP_prova.xls - Modalità

File Home Inserisci Layout di pagina Formule Dati Revisione Visualizza Automatizza

Tabella Tabelle pivot Tabelle pivot con consigliate Tabelle Illustrazioni

Time (sec)

Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1
0	0.75034	0.14166	0.80556	0.65278	1.0642	0.69957	0.65453			
3	0.77358	0.16209	0.87631	0.69423	1.1404	0.63296	0.68882			
6	0.779	0.16843	0.8581	0.69524	1.17865	0.62505	0.69723			
9	0.76396	0.1492	0.7962	0.64957	1.10745	0.6166	0.67354			
12	0.76865	0.15391	0.83276	0.67003	1.09014	0.5983	0.6656			
15	0.75852	0.13833	0.81129	0.65505	1.07476	0.6013	0.66886			
18	0.77368	0.15621	0.85783	0.66784	1.1341	0.6065	0.668			
21	0.7876	0.15835	0.89854	0.69037	1.18608	0.61	0.67696			
24	0.79584	0.16015	0.87503	0.68514	1.15292	0.6251	0.68701			
27	0.80318	0.16557	0.91459	0.69349	1.18174	0.62436	0.69355			
30	0.80681	0.16804	0.87285	0.67952	1.19169	0.61873	0.67975			
33	0.80175	0.17066	0.85374	0.67643	1.1377	0.61375	0.67441			
36	0.77937	0.14708	0.8143	0.65056	1.10607	0.59585	0.65941			
39	0.79604	0.15072	0.8147	0.65026	1.11382	0.59425	0.65219			
42	0.77679	0.15067	0.79894	0.65166	1.08656	0.62208	0.65824			
45	0.77381	0.14969	0.80637	0.6298	1.08932	0.61751	0.64846			
48	0.78658	0.14641	0.82609	0.63944	1.12824	0.62475	0.65677			
51	0.79416	0.15429	0.84516	0.64082	1.07764	0.64736	0.66733			
54	0.78609	0.153	0.81602	0.64569	1.10851	0.65166	0.66274			
57	0.79857	0.14996	0.82894	0.6438	1.10668	0.63991	0.68058			
60	0.82585	0.15644	0.88977	0.6788	1.14274	0.66719	0.69326			
63	0.80798	0.14889	0.81375	0.64289	1.11623	0.64539	0.6745			
66	0.80789	0.14829	0.82776	0.66414	1.12524	0.66453	0.69185			
69	0.82279	0.16151	0.88093	0.68005	1.14919	0.69977	0.70546			
72	0.80211	0.1496	0.8173	0.63933	1.08211	0.66957	0.69542			
75	0.79669	0.14803	0.7969	0.63853	1.0754	0.64553	0.68605			
78	0.81492	0.15515	0.82323	0.65394	1.13205	0.65284	0.68843			
81	0.80365	0.14725	0.81863	0.63452	1.09608	0.64335	0.68507	0.89724	0.80053	0.50326
84	0.83404	0.16331	0.86269	0.66895	1.16773	0.67888	0.72175	0.91628	0.82246	0.51882
87	0.79357	0.1501	0.79405	0.62758	1.07068	0.64907	0.68235	0.86475	0.78578	0.50108
90	0.81246	0.14539	0.83019	0.63919	1.10908	0.65752	0.69855	0.89666	0.80726	0.50614
93	0.82031	0.15126	0.80814	0.64043	1.12147	0.65668	0.70293	0.90446	0.80076	0.50675
96	0.82552	0.14972	0.81494	0.63839	1.10554	0.64396	0.70116	0.90049	0.79926	0.50561
99	0.81737	0.15282	0.84156	0.63649	1.09438	0.65752	0.70122	0.91916	0.80286	0.50524
102	0.85404	0.16276	0.86844	0.64468	1.14785	0.65767	0.71856	0.92007	0.80553	0.51356
105	0.85067	0.14745	0.81474	0.62827	1.11425	0.64623	0.71668	0.92289	0.80386	0.50818
108	0.85271	0.14576	0.82471	0.62786	1.09066	0.65028	0.71637	0.89877	0.79695	0.51125
111	0.85898	0.15005	0.81347	0.63276	1.11907	0.64158	0.71228	0.89882	0.80309	0.51095
114	0.85425	0.15595	0.83552	0.62391	1.08339	0.64591	0.71804	0.90615	0.79487	0.50999

Analisi quantitative (3)

Analisi dell'ampiezza del picco della risposta in seguito a stimolazione con ATP (TYR STD o 0Ca²⁺ 2mM EGTA)

3. Calcolare il Basale

- Selezionare, per le diverse ROI, i valori dei 30 sec (10 valori) prima della stimolazione con l'agonista ed evidenziarli
- Calcolare il valor medio di questi 10 valori e riportarlo in fondo al foglio 5 accanto alla scritta 'basale'
- Trascinare la formula lungo tutta la riga per tutte le ROI

420	1257	2.74185	1.26918	2.7284	1.917	4.15846	3.9
421	1260	2.72762	1.27813	2.71199	1.9036	4.04222	3.8
422	1263	2.70214	1.24259	2.68522	1.87418	4.02381	3.7
423	1266	2.69504	1.27844	2.68382	1.88397	4.08057	3.8
424	1269	2.81034	1.31464	2.82223	1.94942	4.24947	4.0
425	1272	2.71437	1.27712	2.72074	1.91936	4.17265	4.0
426	1275	2.81657	1.31342	2.78389	1.95322	4.15315	3.9
427	1278	2.68235	1.26108	2.73005	1.90994	4.15236	4.1
428	1281	2.63801	1.24222	2.67015	1.88567	4.06963	3.9
429	1284	2.77946	1.35156	2.81459	1.9574	4.23858	4.1
430	1287	2.7139	1.28156	2.75765	1.93752	4.23425	3.9
431	1290	2.70117	1.27073	2.66154	1.89392	4.23618	4.0
432	1293	2.69912	1.29257	2.6979	1.92297	4.13503	3.9
433	1296	2.70663	1.31254	2.80826	1.94072	4.30776	4.0
434	1299	2.71471	1.35035	2.80916	1.97694	4.30624	3.9
435	1302	2.75215	1.26856	2.72903	1.94146	4.14996	4.0
436	1305	2.75867	1.33525	2.77148	1.95651	4.24162	4.1
437	1308	2.86534	1.37462	2.90631	1.97851	4.26426	4.09318
438	1311	2.7371	1.37078	2.76342	2.01121	4.2699	4.16247
439	1314	2.79766	1.34137	2.81934	1.99335	4.20616	4.20705
440	1317	2.79715	1.31815	2.82733	1.9935	4.3433	4.31146
441	1320	2.66631	1.33323	2.73014	1.95564	4.24375	4.02521
442	1323	2.77962	1.37632	2.82005	1.98643	4.21071	4.26821
443	1326	2.77157	1.34567	2.7885	1.98918	4.29707	4.2061
444	1329	2.8534	1.38642	2.9236	2.05655	4.41209	4.38024
445	1332	2.8707	1.38166	2.80125	2.00659	4.1946	4.4001
446	Time (sec)	R2	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1
447							
448							
449	Basale						
450							
451	Peak						
452							
453	Peak amplit						
454							

File	Home	Inserisci	Layout di pagina	Formule			
Incolla							
Appunti							
B62							
	A	B	C	D	E	F	G
43	123	0.85769	0.15493	0.83213	0.61436	1.12214	0.63931
44	126	0.88345	0.16625	0.89518	0.65322	1.14073	0.6
45	129	0.87291	0.16999	0.89273	0.65511	1.18932	0.6
46	132	0.87135	0.15781	0.86549	0.63613	1.10018	0.6
47	135	0.87512	0.16859	0.90567	0.65006	1.16869	0.6
48	138	0.86037	0.15337	0.84389	0.63638	1.13205	0.
49	141	0.84097	0.15024	0.82389	0.62538	1.09577	0.
50	144	0.82768	0.15197	0.81745	0.64395	1.10834	0.6
51	147	0.82116	0.14735	0.81184	0.62131	1.10758	0.6
52	150	0.83881	0.16285	0.84253	0.6412	1.1138	0.6
53	153	0.83971	0.16473	0.87454	0.652	1.13449	0.6
54	156	0.85261	0.16613	0.891	0.66867	1.22991	0.6
55	159	0.83903	0.15667	0.86481	0.64201	1.12876	0.
56	162	0.8282	0.15532	0.84366	0.63623	1.15971	0.6
57	165	0.80645	0.14669	0.80204	0.61422	1.07671	0.
58	168	0.83325	0.15353	0.86116	0.63419	1.10628	0.6
59	171	0.83522	0.16969	0.91323	0.6744	1.22443	0.6
60	174	0.81977	0.16404	0.84773	0.64186	1.13123	0.6
61	177	0.84022	0.15025	0.83764	0.63015	1.11742	0.6
62	180	0.81237	0.15814	0.85087	0.63095	1.17511	0.
63	183	0.81069	0.16188	0.85941	0.6467	1.11976	0.6
64	186	0.80418	0.14975	0.82114	0.63236	1.11356	0.6
65	189	0.79576	0.15826	0.83197	0.63007	1.11188	0.66904
66	192	0.79025	0.15836	0.80712	0.62681	1.05842	0.67239
67	195	0.80544	0.143	0.84397	0.62759	1.14199	0.69183
68	198	0.82246	0.15787	0.90921	0.6626	1.2004	0.69849
69	201	0.78667	0.15943	0.85883	0.6436	1.11515	0.66954
70	204	0.76263	0.14217	0.78981	0.61536	1.03322	0.65123
71	207	0.81852	0.16558	0.93516	0.6644	1.20608	0.70466
72	210						
73	213	0.81032	0.14511	0.8049	0.63643	1.12228	0.69559
74	216	0.95411	0.1581	0.9007	0.66498	1.09914	0.74566
75	219	1.71482	0.16967	1.36095	0.85916	1.11215	1.30853
76	222	1.79356	0.21018	1.68879	1.00564	1.21819	1.53533
77	225	1.7741	0.22401	1.69886	1.04559	1.14004	1.52387
78	228	1.75762	0.24493	1.78325	1.11334	1.1659	1.54618
79	231	1.70343	0.25414	1.78109	1.1084	1.20459	1.47947
80	234	1.66873	0.24054	1.76384	1.0794	1.12966	1.44188
81	237	1.6926	0.25413	1.86074	1.13311	1.24796	1.47626
82	240	1.6773	0.24803	1.86733	1.13804	1.23852	1.45688

Analisi quantitativa (4)

Analisi dell'ampiezza del picco della risposta in seguito a stimolazione con ATP (TYR STD o 0Ca²⁺ 2mM EGTA)

- Calcolare l'ampiezza del picco della risposta
 - Selezionare, per le diverse ROI, l'intervallo di valori durante la stimolazione con l'agonista considerato ed evidenziarlo
 - Calcolare il valore MAX di questi dati e riportarlo in fondo al foglio 5 accanto alla scritta peak
 - Trascinare la formula lungo tutta la riga per tutte le ROI
- Calcolare la peak amplitude
 - Differenza tra peak – basale
 - Trascinare la formula lungo tutta la riga per tutte le ROI

93		1173		1,2034		1,25913		0,66627		0,9022		0,93418
94												
95	Time (sec)	R2 R1		R3 R1		R4 R1		R5 R1		R6 R1		
96												
97	basale							0,637838182				
98	peak							0,771951				
99												
100	peak amp							=B398-B397				
101												
102												
103												
104												
105												
106												

427	1278	2.6823	1.26108	2.73061	1.90994	4.15236	4.0564	4.05184	4.1624			
428	1281	2.638	1.2422	2.67015	1.88567	4.06963	3.94434	3.85854	4.16264			
429	1284	2.775	1.35459	2.81459	1.9574	4.23858	4.0741	4.01439	4.28434			
430	1287	2.709	1.28156	2.75765	1.93752	4.23425	3.97431	3.929	4.1874			
431	1290	2.712	1.27073	2.66154	1.89392	4.23618	4.02616	3.88436	4.2535			
432	1293	2.6882	1.29257	2.6979	1.92297	4.13503	3.97761	4.06839	4.21877			
433	1296	2.7563	1.31254	2.80826	1.94072	4.30776	4.08533	4.06875	4.33102			
434	1299	2.7471	1.35035	2.80916	1.97694	4.30624	3.99894	4.0739	4.3593			
435	1302	2.75215	1.26856	2.72903	1.94146	4.14996	4.00275	4.1544	4.2825			
436	1305	2.75867	1.33525	2.77148	1.95651	4.24162	4.12819	4.1318	4.314			
437	1308	2.76534	1.37462	2.90631	1.97851	4.26426	4.09318	4.0731	4.4233			
438	1311	2.7371	1.37078	2.76342	2.01121	4.2699	4.16247	4.11983	4.3936			
439	1314	2.79766	1.34137	2.81934	1.99335	4.20616	4.20705	4.18303	4.3764			
440	1317	2.79715	1.31815	2.82733	1.9935	4.3433	4.31146	4.16849	4.4462			
441	1320	2.76631	1.33323	2.73014	1.95564	4.24375	4.02521	4.08927	4.3442			
442	1323	2.77962	1.37632	2.82005	1.98643	4.21071	4.26821	4.27	4.4052			
443	1326	2.77157	1.34567	2.7885	1.98918	4.29707	4.2061	4.20858	4.3245			
444	1329	2.8534	1.38642	2.9236	2.05655	4.41209	4.38024	4.30469	4.5519			
445	1332	2.68707	1.38166	2.80125	2.00659	4.1946	4.4001	4.28008	4.4196			
446	Time (sec)	R2 R1		R3 R1		R4 R1		R5 R1		R6 R1		R7 R1
447												
448	Basale							0,8000				
449												
450												
451	Peak							=MAX(B73:B191)				
452												
453	Peak amplit											
454												
455												
456												
457												

File Home Inserisci Layout di pagina Formule

Incolla

Appunti

Carattere

B73

0.81032

67	195	0.80544	0.143	0.84397	0.62759	1.14199	0.69183	0.7606	0.94149
68	198	0.82246	0.15787	0.90921	0.6626	1.2004	0.69849	0.76788	0.94647
69	201	0.78667	0.15943	0.85883	0.6436	1.11515	0.66954	0.74277	0.8732
70	204	0.76263	0.14217	0.78981	0.61536	1.03322	0.65123	0.72373	0.85415
71	207	0.81853	0.16558	0.93516	0.6644	1.20608	0.70466	0.77605	0.96058
72	210								
73	213	0.81032	0.14511	0.8049	0.63643	1.12228	0.69559	0.75428	0.92957
74	216	0.95411	0.1581	0.9007	0.66498	1.09914	0.74566	0.86995	0.95487
75	219	1.71482	0.16867	1.36095	0.85916	1.11215	1.30853	1.513	0.9934
76	222	1.79356	0.21018	1.68879	1.00564	1.21819	1.53533	1.69364	1.03455
77	225	1.7741	0.2241	1.69886	1.04559	1.14004	1.52387	1.66458	1.00747
78	228	1.75762	0.2449	1.78325	1.11334	1.1659	1.54618	1.69433	1.04179
79	231	1.70343	0.25414	1.78109	1.1084	1.20459	1.47947	1.65973	1.07007
80	234	1.66873	0.24054	1.76384	1.0794	1.12966	1.44188	1.60562	1.04021
81	237	1.6926	0.25413	1.86074	1.13311	1.24796	1.47626	1.65837	1.11347
82	240	1.6773	0.24803	1.86733	1.13804	1.23852	1.45688	1.63927	1.11919
83	243	1.60413	0.24779	1.76343	1.09227	1.14171	1.43528	1.55726	1.05802
84									
178	528	1.07428	0.28248	1.36948	0.94247	1.45518	1.11741	1.1442	1.93714
179	531	1.0965	0.28232	1.38102	0.93298	1.48352	1.12856	1.12489	1.87756
180	534	1.06977	0.26783	1.32077	0.89933	1.40832	1.09563	1.09918	1.80436
181	537	1.10343	0.27915	1.41145	0.92765	1.47645	1.13795	1.1243	1.93406
182	540	1.09268	0.27804	1.3877	0.91708	1.52061	1.10778	1.12095	1.97889
183	543	1.09741	0.27127	1.39054	0.90652	1.46713	1.10117	1.10058	1.93859
184	546	1.03763	0.25243	1.28621	0.87921	1.38376	1.04733	1.07171	1.8748
185	549	1.04533	0.26405	1.28051	0.89232	1.40734	1.0649	1.07673	1.87406
186	552	1.05734	0.26251	1.28808	0.88589	1.4118	1.05019	1.07261	1.92059
187	555	1.08339	0.28105	1.34773	0.91449	1.43803	1.08512	1.07564	1.95127
188	558	1.05779	0.27085	1.40446	0.90297	1.44072	1.05359	1.06173	1.94965
189	561	1.06687	0.25844	1.38118	0.92687	1.48436	1.07446	1.08812	2.0451
190	564	1.00636	0.24277	1.27308	0.85346	1.32202	1.00911	1.03758	1.91387
191	567	1.06731	0.23324	1.4168	0.90688	1.47291	1.06767	1.08707	2.04513
192	570								
193	573	1.14695	0.25937	1.35628	0.9214	1.50505	1.08919	1.1167	2.1024
194	576	1.16758	0.27366	1.41158	0.95259	1.48794	1.09701	1.10515	2.0818
195	579	1.15908	0.2784	1.41472	0.92962	1.48638	1.06053	1.07288	2.01821
196	582	1.15255	0.27711	1.39795	0.93571	1.45943	1.05288	1.07169	2.01822
197	585	1.11573	0.27468	1.377	0.92004	1.40263	1.03511	1.05572	1.94742
198	588	1.0755	0.26047	1.36843	0.9477	1.377	1.01373	1.03481	1.88363
199	591	1.05818	0.26045	1.28172	0.90487	1.33557	0.9933	1.00661	1.84267
200	594	1.04849	0.26197	1.33134	0.92385	1.30392	0.97567	1.01304	1.82569
201	597	1.05864	0.26509	1.34563	0.94252	1.34458	0.97966	1.00963	1.85782
202	600	1.04729	0.26835	1.38318	0.93569	1.35118	0.99787	0.99377	1.81039
203	603	1.00393	0.2645	1.325	0.95521	1.30884	0.96034	0.98478	1.75969
204	606	1.0021	0.2781	1.30721	0.96048	1.27188	0.92978	0.98848	1.75763
205	609	0.96689	0.25004	1.27701	0.95644	1.24301	0.89746	0.93594	1.68123
206	612	0.92357	0.24411	1.22535	0.91775	1.19061	0.87235	0.91377	1.64822
207	615	0.95682	0.26511	1.35468	0.96626	1.283	0.89198	0.93738	1.70815
208	618	0.91836	0.24224	1.33753	0.9588	1.24506	0.86589	0.9061	1.68981
209	621	0.92578	0.25811	1.35513	1.0091	1.28812	0.86845	0.9018	1.706
210	624	0.85575	0.23596	1.27466	0.96812	1.19782	0.83835	0.86642	1.5783
211	627	0.87645	0.24515	1.29238	0.98942	1.24666	0.83017	0.85588	1.63311
212	630	0.85294	0.2265	1.26522	0.94173	1.20669	0.78946	0.82723	1.58775
213	633	0.83576	0.23022	1.27581	0.96799	1.24931	0.80228	0.82024	1.60064

Analisi quantitativa (4)

Analisi dell'ampiezza del picco della risposta in seguito a stimolazione con ATP (TYR STD o 0Ca²⁺ 2mM EGTA)

- Una volta ottenuti i valori della Peak ampl per tutte le ROI calcolare quante sono le risposte (soglia di risposta R(340/380)> 0.1)
- Calcolare la percentuale di risposte rispetto al numero di cellule considerate
- Procedere nel calcolare la Peak amplitude anche per gli altri segnali:

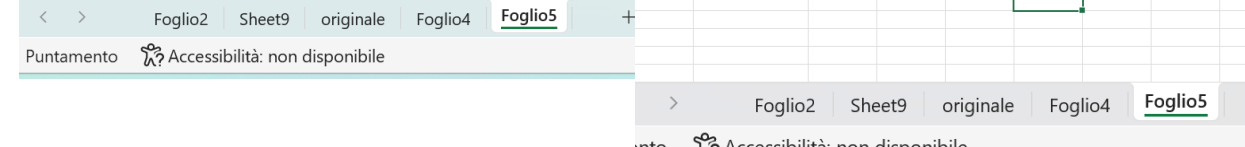
- Ionomicina
- induzione SOCE

ATT. Basale: medie dei valori 30 sec prima del segnale da analizzare (10 cicli)

Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1	R12 R1	R13 R1	R14 R1
Basale	0.800898	0.15544	0.85075	0.63804	1.12756	0.68091	0.75542	0.91095	0.81965	0.53518	0.93617	0.66529	0.648
Peak	1.79356	0.30781	1.95592	1.17414	1.59007	1.54618	1.69433	2.04513	1.82605	1.39497	1.54849	1.36107	1.403
Peak amp	0.992662	0.15237	1.10517	0.5361	0.46251	0.86527	0.93892	1.13418	1.0064	0.85979	0.61232	0.69578	0.7

ATP	
Roi totale	19
Roi scartate	0
Risp	19
Percentuale ripost	=C459/C457

Roi totale	19
Roi scartate	0
Risp	19
Percentuale ripost	100.00%



Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1
Basale	0.800898	0.15544	0.85075	0.63804	1.12756	0.68091	0.75542	0.91095
Peak	1.79356	0.30781	1.95592	1.17414	1.59007	1.54618	1.69433	2.04513
Peak amp	0.992662	0.15237	1.10517	0.5361	0.46251	0.86527	0.93892	1.13418

IONO o SOCE	
Roi totale	19
Roi scartate	0
Risp	19
Percentuale ripost	100.00%

Basale	=MEDIA(B182:B191)
Peak	
Peak ampl	

Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1
Basale	0.800898	0.15544	0.85075	0.63804	1.12756	0.68091	0.75542	0.9
Peak	1.79356	0.30781	1.95592	1.17414	1.59007	1.54618	1.69433	2.0
Peak amp	0.992662	0.15237	1.10517	0.5361	0.46251	0.86527	0.93892	1.1

IONO o SOCE	
Roi totale	19
Roi scartate	0
Risp	19
Percentuale ripost	100.00%

Basale	1.061211
Peak	=MAX(B193:B445)
Peak ampl	

Analisi quantitativa (5)

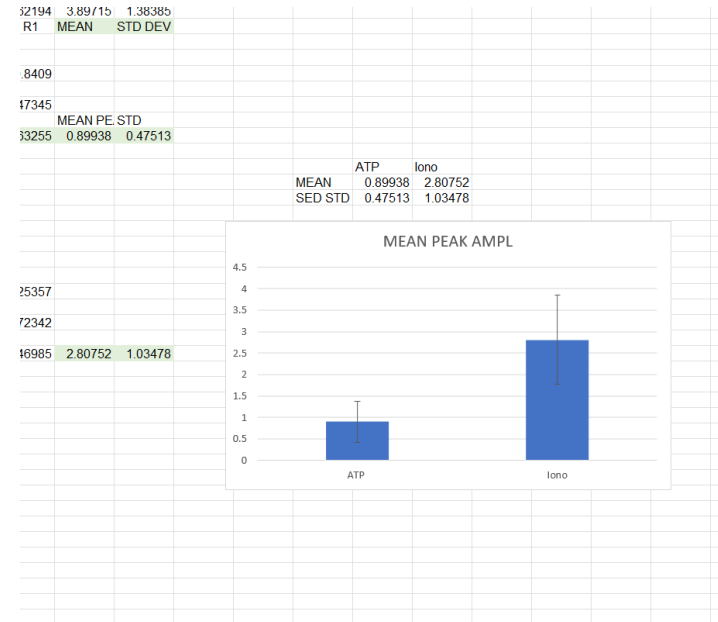
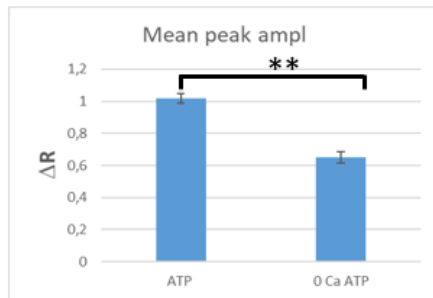
Calcolare le **MEAN peak ampl** e la **deviazione STD** delle diverse risposte:

- con stimolazione con ATP in Tyrode Standard o in soluzione fisiologica $0Ca^{2+}$ 2mM EGTA
- con stimolazione con ionomicina
- per induzione del meccanismo STORE OPERATED $0Ca^{2+}$ ENTRY (SOCE)

Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1	R12 R1	R13 R1	R14 R1	R15 R1	R16 R1	R17 R1	R18 R1	R19 R1	R20 R1	MEAN	STD DEV	
42	1323	2.77962	1.37632	2.82005	1.98643	4.21071	4.26821	4.27	4.40524	5.78071	3.278	4.23375	2.24914	4.84359	4.15072	2.27898	6.23224	5.56775	5.15557	3.63111	3.86938	1.35953
43	1326	2.77157	1.34567	2.7885	1.98918	4.29707	4.2061	4.20858	4.32457	5.84735	3.27171	4.34932	2.27862	4.96461	4.2048	2.24434	6.16268	5.54788	5.21015	3.63458	3.87607	1.37061
44	1329	2.8534	1.38642	2.9236	2.05655	4.41209	4.38024	4.30469	4.55192	6.08865	3.44561	4.42145	2.3423	5.09621	4.31924	2.32564	6.49497	5.73125	5.18572	3.72342	4.00134	1.41059
45	1332	2.68707	1.38166	2.80125	2.00659	4.1946	4.4001	4.28008	4.41963	5.65479	3.33438	4.33413	2.28195	4.94587	4.18739	2.25758	6.29897	5.58539	5.1725	3.62194	3.89715	1.38385
46	Time (sec)	R2 R1	R3 R1	R4 R1	R5 R1	R6 R1	R7 R1	R8 R1	R9 R1	R10 R1	R11 R1	R12 R1	R13 R1	R14 R1	R15 R1	R16 R1	R17 R1	R18 R1	R19 R1	R20 R1	MEAN	STD DEV
47	17																					
48	ATP																					
49	Basale	0.800898	0.15544	0.85075	0.63804	1.12756	0.68091	0.75542	0.91095	0.81965	0.53518	0.93617	0.66529	0.64895	0.73536	0.79131	0.75676	1.0162	0.98733	0.8409		
50	Peak	1.79356	0.30781	1.95592	1.17414	1.59007	1.54618	1.69433	2.04513	1.82605	1.39497	1.54849	1.36107	1.40395	1.14702	1.34001	2.30668	2.93968	2.89271	1.47345		
51	Peak amp	0.992662	0.15237	1.10517	0.5361	0.46251	0.86527	0.93892	1.13418	1.0064	0.85979	0.61232	0.69578	0.755	0.41166	0.5487	1.54993	1.92348	1.90538	0.63355	0.47513	
52																						
53																						
54																						
55																						
56																						
57																						
58																						
59																						
60																						
61																						
62																						
63																						
64																						
65																						
66																						
67																						
68																						
69																						
70																						
71																						
72																						
73																						

Inserire i valori delle mean peak ampl (+ DEV std) così ottenuti in un **istogramma**

Confrontare le risposte alla stimolazione con ATP in Tyrode Standard o in soluzione fisiologica $0Ca^{2+}$ 2mM EGTA, ottenute dai due sottogruppi, creando un istogramma



Risultati

Per ciascun esperimento riportare nella relazione finale:

- Due grafici (uno per ciascun esperimento) che rappresenti la **traccia media delle cellule** (con relativa deviazione standard o errore standard)
 - asse X: tempo
 - asse Y: media ratio 340/380
- le **% di risposta** ai diversi stimoli applicati
- gli istogrammi con:
 - ❖ l'**ampiezza media del picco** di risposta dovuto a stimolazione con ATP in TYr STD a confronto con quello indotto da ionomicina
 - ❖ l'ampiezza media del picco di risposta dovuto a stimolazione con ATP in TYr STD a confronto con quello in soluzione fisiologica 0Ca^{2+} 2mM EGTA
 - ❖ l'ampiezza media del picco di risposta dovuto a stimolazione con ATP in soluzione fisiologica 0Ca^{2+} 2mM EGTA a confronto con quello dovuto all'induzione del meccanismo SOCE in soluzione fisiologica Tyrode Standard
- **Discutere i risultati ottenuti**