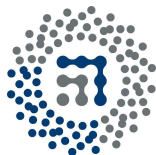


Genetika, zelulen, molekulen eta eboluzioaren biologiaren esparru barneko esperimentazioaren hastapena

6. Gaia: Diseinu esperimentalak



OCW
OpenCourseWare



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

NAZIOARTEKO
BIKAINASUN
CAMPUSA
CAMPUS DE
EXCELENCIA
INTERNACIONAL

ZER DA IKERKETA ZIENTIFIKO BAT?

Ikerketa bat, gai zientifiko baten inguruan momentu zehatz batean existitzen diren datuak ezagutu ondoren eta momentu horretan erantzunik ez duen galdera bat planteatu ondoren martxan jartzen den prozesu bat da. Horretarako informazio edo/eta printzipio orokor berriak deskubritzeko esperimentu edo frogak diseinatu eta garatzen dira.



ZER DA ESPERIMENTU BAT?

- Ikerketa esperimental batek, egoera konkretu baten kausa deskribatu nahi du, edota aldagai bat modu kontrolatu batean aldatzen denean, egoera hori nola aldatzen den deskribatu nahi du.
- Esperimentu batean, ikertzaileak berariazko modu batean aldagai determinatu batzuk sartzen ditu modu konkretu batean beraien efektua aldez aurretik aukeratutako beste aldagai batzuetan neurtzeko asmoarekin.



IKERKETAREN ETAPAK

- Arazoa edo Galdera identifikatu gaiaren inguruko berrikustapen bibliografikoa egin eta gero
- Hipotesia definitu eta ikerketa gai izango diren aldagaiak definitu
- Plangintza esperimental bat diseinatu
- Esperimentua burutu
- Datuak estatistikoki tratatu eta beraien konfiantza egiaztatu
- Ondorioak ezarri eta emaitzak komunikatu



ZER DA HIPOTESI BAT?

- Ikerketa hipotesi bat, ikerketa arazo batek eduki dezakeen ebazpen posibleetako bat da.
- Momentuan dauden esperimentazio-teknika eta aldez aurretik dauden ezagumenduan oinarriturik, frogagarria izan behar da.



NOLA PLANTEATZEN DA HIPOTESI BAT?

- Erabiltzen diren terminoak argiak eta zehatzak izan behar dira.
- Hipotesi bat enpirikoki ezin bada egiaztatu, ez dauka baliorik.
- Hipotesiak objektiboak izan behar dira inolako aurreiritzirik gabekoa.
- Hipotesiak espezifikoak izan behar dira.
- Hipotesiak eskuragarri dauden azpiegitura eta teknikekin erlazionaturik egon behar dira.
- Hipotesia ikerketaren ezagutza-testuinguruarekin zuzenean erlazionatuta egon behar da.



HIPOTESI BATEN ADIERAZPENAREN EZAUGARRI FORMALAK

- Hipotesiak ahalik eta termino/hitz gutxien eduki behar ditu.
- Baieztapen bat bezala formulatzen da (ez galdera bat bezala).
- BAI edo EZ batez erantzuteko moduan formulatu behar da.
- Frogagarria izan behar da.
- Bere formulazioan aztertu nahi den arazoa barneratu behar du.



ZER DIRA HELBURUAK?

- Helburuak ikerketa burutzeko motibazio nagusiak dira. orokorrak edo espezifikoak izan daitezke.
- Helburu orokorrak ikerketa burutzeko xedeak adierazten dute.
- Helburu espezifikoak ikerketaren asmo zehatzak zehatzen dituzte.



OBJEKTIBOEN ADIERAZPENAREN EZAUGARRI FORMALAK

- Ikerketa baten objektiboa, aditza beti infinitiboan dagoela adierazi behar da eta "zertarako?" galderari erantzun behar dio
- Objektiboak adierazteko erabiltzen diren zenbait aditzen adibideak: egiaztatu, deskribatu, miatu, aztertu, ikertu, ulertu, konparatu, ebaluatu, estimatu, baieztatu, azaldu, aurrean...



ZER ESAN NAHI DUGU "PLANGINTZA ESPRIMENTAL BAT DISEINATU" DIOGUNEAN?

- Esperimentu bat diseinatzea, esperimentazio bat modu zehatzean antolatzean oinarritzen da, ikerketa pean dagoen arazoaren gaineko informazio egokia eskuratu ahal izateko.
- Esperimentu baten diseinua, modu egoki batean lortutako datuak eskuratzea baimentzen digun aldez aurretik aurreikusitako pausuen sekuentzia oso bat da, eta modu horretan datuen analisi objektibo bat egitea eta daukagun arazoaren gaineko ondorio egokiak eskuratzea baimentzen digu.



ZELAN PLANTEATU BEHAR DUGU DISEINU ESPERIMENTALA?

- Ikerketa pean dagoen gaiari buruzko ahalik eta informazio egoki gehien eskaini behar du.
- Diseinua, plana edo programa ahalik eta sinpleena izan behar da.
- Ikerketa ahalik eta modu efizienteenean burutu behar da: denbora, dirua, pertsonala eta materiala aurreztu behar du.

Diseinu experimental on bat koste minimoarekin informazio gehien eskaintzen duena da.



DISEINU ESPERIMENTALEKO ETAPAK

1. Analisia burutuko den **unitate esperimentalak** identifikatu
2. Efektua **zelan neurtuko** den eta kontutan hartuko diren **ezaugarriak eta aldagaiak**
3. Analizatuko diren faktoreen gain zeintzuk **faktore** eragingo duten identifikatu: barne eta kanpo faktoreak, tratamenduak, koaldagaiak...
4. Erabiliko diren **teknika motak** eta neurriak zehaztu, eta hauek nola egingo diren zehaztu: erabiliko diren ikerketa baldintzak (tratamenduak,), ikerketan aztertuko diren faktoreak eta kontrolak (positiboak, negatiboak, barne, kanpo,...). Analisisirako erabiliko diren pausuak eskematizatu
5. Laginen tamaina determinatu edo/eta esperimentera errepikatuko den aldi kopurua
6. Efektuaren garrantzia determinatzeko beharrezkoak diren **prozedura estatistikoak** aplikatu
7. Aurreko erabakiak berrikusi. Beharrezkoa bada, aldatu



PUNTU HONETAN HASTEN DA :

- AUZIARI BURUZKO EGUNGO EGOERA**
- ERABILI DAITEZKEEN TEKNIKA
ESPERIMENTALAK**

**INGURUAN DAKIGUNAREN APLIKAZIOA,
HIPOTESIA ASKATZEKO ASMOAREKIN
ETA HELBURU OROKORRAK BETETZEKO
ASMOAREKIN**

HIPOTESIA GOGORATU

HASIERAKO ANTOLAMENDUA:

-*MC1R* geneak aniztasun genetikoa dauka giza-populazioetan

-*MC1R*-ren sekuentzia arbasoa eumelaninaren sintesian bukatzen duen seinaleztapen bidezidorra aktibatzea baimentzen duen proteina bat kodifikatzen du.

Lan honetan planteatzen den **hipotesia** hurrengoa da: *MC1R* proteinaren konformazioa asaldatzen dituzten modifikazioek eta bereziki oso kontserbaturik dauden aminoazido abarrei dagozkienak bere funtzioaren gain eragiten dute.



IKERKETA HONEN HELBURU OROKORRAK GOGORATU

1. Kontserbatutako zonaldeetan eragiten duten eta giza populazioetan deskribaturiko aldagai alelikoetako bat, R151C zehazki, MC1R-ren gain modifikazioak eragiten dituen aztertzea, bai melanozitoek eumelanina sintetizatzekeo duten ahalmenean eta baita zelulen zatiketa blokeatzeko duen ahalmenean.
2. Hau horrela izango balitz eta aldagai alelikoa eguneko giza populazioetan eta iraungita dauden beste *Homo* taldeetan sakabanapen zabala duela kontutan hartuta, hurrengo helburua aldagai honek izan ditzakeen inplikazio ebolutibo eta medikoak aztertzea izango litzateke, eumelanina sintetizatzekeo duen gaitasunarekin erlazionatuz eta MC1R funtzionalki inplikaturik egon litekeen beste funtzio batzuekin.



HELBURU ESPEZIFIKOAK

- 1.- MC1R-n dauden mutazioek, proteinak zelulan duen kokapenean nola eragiten duen ebaluatu
- 2.- MC1R-n dauden mutazioak melanina sintesiaren bidezidorrean eragiten duten testatu.
 - 2.1.- Melaninaren sintesian parte hartzen duten geneek adierazpen diferentziala erakusten duten aztertu WT duten zeluletan eta MC1R mutantea duten zeluletan
 - 2.2.- Melaninaren sintesia aztertu WT bertsioa daramaten zeluletan eta MC1R mutantea daramaten zeluletan
- 3.- MC1R-n dauden mutazioek zelulen zatiketari eraginik duen testatu
- 4.- Giza-populazio desberdinetan MC1R polimorfismo desberdinen maiztasunak aztertu , eta hautespen mota baten pean dauden testatu
- 5.- Zeintzu zonalde geografiko edo populazioetan melanomaren intzidentzia handiago/txikiagoa izango den aurrean



IKASTARO HONETAN PLANTEATZEN DEN KASUARI APLIKATZEN ZAIZKION IKERKETAREN ETAPAK

- Diseinu esperimental bat garatu behar da (lan plangintzaren zirriborro bat) eta horrela, auziaren inguruan dagoen informazioa ezagututa eta hipotesia zein eskuratu nahi diren helburuak adierazita (ikusirik aurrerago), hau BAI edo EZ batekin erantzutea posible egitea.
- Diseinu esperimental bat garatzeko, zenbait galdera egiten dira eta hauek gida gisa erabili daitezke



UNITATE/MODELO ESPERIMENTALAREN INGURUAN

- Zein zelula-modelo eta zein espezierena da egokiena melaninaren sintesiaren inguruko *in vivo* esperimentu bat egiteko?
- Nola eskuratuko zenituzke giza alelo mutatua daramaten zelulak? Eta giza-bertsio arbasoarena?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIAK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (I)

- Nola determinatu dezakezu proteina ekoizten bada eta zein kopurutan ekoizten den?
- Nola detektatuko zenuke interesezko proteina zelulan toki egokian dagoela?
- Nola aktibatuko zenuke MC1R?
- Nola arakatuko zenuke aktibazio horrek zelulen bideragarritasunaren gain eraginik duen?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (II)

- Nola jakin dezakezu bertsio mutatua melaninaren sintesi ur-jauzia aktibatzen duen?
- Zeintzu gene aukeratuko zenituzke melaninaren sintesiaren bidezidorraren egoera aztertzeko?
- Nola determinatu dezakezu interesezko genea adierazten den eta zein mailatan?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (III)

- Zenbat aldiz errepikatu beharko zenuke esperimentua?
- Zenbat lagin hartuko zenituzke esperimentu bakoitzean?
- Esperimentuaren pausu bakoitzean zein kontrol (positibo eta negatibo) erabiliko zenituzke?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (IV)

- Nola atzitu zaitezke *MC1R* genearen sekuentzia nukleotidokora?
- Zein tresna informatiko erabiliko zenuke gaur eguneko giza populazioetan gene horretan deskribatu den aldakortasuna ezagutzeko eta konparatzeko?
- Nola determinatuko zenuke *MC1R* genea hautespen naturalaren azpian egongo balitz?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIAK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (V)

- Zein metodologia erabiliko zenuke sekuentzia honek *Homo* generoko beste espezieekin duen kontserbazio-maila aztertzeko?
- Nola aztertuko zenuke baldin eta *MC1R* genearen aldakien artean eta karaktere fenotipikoen artean (ile gorria edo larruazal argia) erlaziorik dagoen?
- Nola aztertuko zenuke baldin eta *MC1R* genearen aldakien artean eta melanoma minberatasunaren artean?



NEURTUKO DIREN ALDAGAIK ETA KONTUTAN HARTZEKO FAKTORE ETA EZAUGARRIAK (VI)

- Zeintzu metodologia estatistiko erabiliko zenituzke metodologia bakoitzean detektatutako efektua frogatzeko?

