

1. sat

Program kolegija

- Cilj, podcilj, hipoteza i znanstveno pitanje, hipoteza kao okvir istraživanja, uloga hipoteze u eksperimentalnom dizajnu, nedostaci hipoteze, uloga pilot istraživanja za postavljanje hipoteze
- Uzorkovanje, vrste uzorkovanja, poduzorkovanje, buka u eksperimentu, klasifikacija, grupiranje
- Kontrole i tretmani, uravnotežen i neuravnotežen dizajn eksperimenta
- Varijabilnost, replike, ponavljanje eksperimenta, uloga pilot istraživanja za procjenu veličine uzorka
- Uloga preliminarnog istraživanja i predstatistike za uspješan ishod eksperimenta

- Tipovi podataka. Grafičke i numeričke metode prikaza podataka
- Testiranje hipoteza u praksi
- Pregled najčešće korištenih metoda analize podataka s praktičnim primjerima. Razlike u srednjoj vrijednosti, razlike u frekvenciji, povezanost dviju ili više varijabli
- Kako odabrati primjerene metode mjerenja i obrade podataka prije početka istraživanja
- Interpretacija i prikaz rezultata istraživanja
- Najčešće pogreške pri analizi podataka. Reproducibilnost bioloških istraživanja.

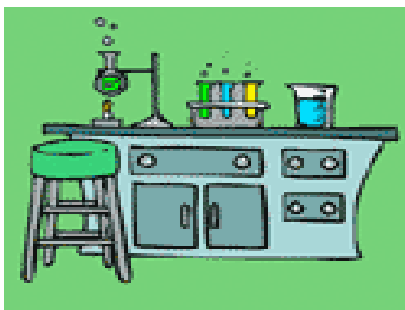
Literatura, 1. dio

- **Ruxton, Graeme; Colegrave, Nick.** Experimental Design for the Life Sciences. **Oxford University Press**
- **Debbie Holmes, Peter Moody, Diana Dine, and Laurence Trueman.** **Research Methods for the Biosciences. Oxford University Press**
- **David J. Glass, M.D.:** Experimental Design for Biologists
*Novartis Institutes for Biomedical Research,
Cambridge, Massachusetts, 2007*

- Kolokviji
- 2 kratka
- 3 pitanja, za 5 bodova po kolokviji
- sakupljeno 8 do 10 bodova – oslobađanje od pismenog ispita iz prvog dijela kolegija
- 7 bodova – 2 dodatna boda na pismeni ispit iz prvog dijela kolegija
- 6 bodova – jedan dodatni bod na pismeni ispit iz prvog dijela kolegija

Što je znanstvena metoda

Kako uočiti, pristupiti, kako riješiti i kako interpretirati problem?





grčki “methodos” = način ili put traženja

Poznata oko 150 godina
svakom znanstveniku uhodana i očita

U znanstvenom istraživanju poduzimamo logičan
slijed **postupaka**

- misaonih
- eksperimentalnih
- statističkih
- matematičkih

pomoću kojih se dolazi do znanstvenih spoznaja. Ti
postupci obuhvaćaju različite metode.

U **opće** znanstvene metode
ubrajamo:

- Opažanje problema
 - Klasifikacija uzoraka
 - Metoda uzorkovanja
 - Eksperimentalna metoda
-
- Analiza i sinteza
 - Indukcija i dedukcija
 - Kauzalna metoda
-
- Statističke metode
 - Modeliranje
 - Matematičke metode

EXP.

MISAONE

STAT. I MAT.

Znanstveni pijanac...

...svake večeri s mineralnom vodom pije drugo alkoholno piće ne bi li istražio pojavu jutarnje glavobolje.

- *Zaključak je da je mineralna voda, kao zajednička okolnost u svim slučajevima, uzrok jutarnje glavobolje.*
- MILLOVA metoda slaganja , jedna od metoda traženja uzroka

- *Apsurdan zaključak može se ukloniti ako ukažemo na činjenicu da opis okolnosti nije bio relevantan: on je trebao uključiti okolnost uzimanja alkoholnog pića umjesto okolnosti pijenja ove ili one vrste alkoholnog pića.*

1. Metode traženja uzroka

(J. S. Mill 1843)

1. SLAGANJE:

Ako nalazimo pojavu uvijek kad i specifičnu okolnost

2. RAZLIKA: ako nema X, nema ni Y

Ako se neka situacija u kojoj se fenomen (pojava) pojavljuje i situacija u kojoj se fenomen ne pojavljuje u svemu iste osim u jednoj okolnosti (uzrok) onda je ta okolnost vjerojatni uzrok fenomena.

3. OSTATAK: ako nema X a Y ostaje

Ako se uzročnom kompleksu oduzmu neki dijelovi, a do posljedice i dalje dolazi, onda je uzrok u ostatku uzročnog kompleksa

4. POPRATNO ODSTUPANJE: ako raste uzrok raste i pojava

PRIMJER 1.1. isplanirajte tretmane u eksperimentu s ciljem da utvrdite koji tip reg. rasta utječe na metilaciju DNA

-Eksperiment se provodi u kulturi stanica na modelnim stanicama koje nužno za rast trebaju auxin i citokinin)

-5 grupa regulatora rasta treba uzeti u obzir (auksin, citokinin, giberelin, etilen i ABA)

-metilacija DNA biti će analizirana pirosekvenciranjem – iz toga će proizaći rezultati koji ukazuju na metilaciju

1. isplanirajte tretmane u eksperimentu s ciljem da utvrdite koji tip reg. rasta utječe na metilaciju DNA

-Eksperiment se provodi u kulturi stanica na modelnim stanicama koje nužno za rast trebaju auxin i ck)

- | | |
|--------------------|-------------------------------|
| • AUX, ck, gib - | • AUX, ck, gib, ABA, etilen + |
| • Aux ck ABA - | • AUX, ck, gib, ABA - |
| • Aux, ck etilen + | • AUX, ck, gib - |
| • Aux ck - | • Aux ck - |

1. isplanirajte tretmane u eksperimentu s ciljem da utvrdite koji tip reg. rasta utječe na metilaciju DNA

-Exprimant se provodi u kulturi stanica na modelnim stanicama koje nužno za rast trebaju auxin i ck)

- | | |
|--------------------|-------------------------------|
| • AUX, ck, gib + | • AUX, ck, gib, ABA, etilen + |
| • Aux ck ABA + | • AUX, ck, gib, ABA + |
| • Aux, ck etilen + | • AUX, ck, gib + |
| • Aux ck + | • Aux ck + |

Kako utvrditi djeluje li na metilaciju auxin ili ck?

- Trebali smo unaprijed uociti da ne mozemo razlučiti učinak aux i ck te uključiti metodu popratnog odstupanja. Naknadno dopunjavanje eksperimenta trosi vrijeme i novac te uvodi novu varijablu u eksperiment, a to je vrijeme provedbe
- Ovaj tip greške teško će proći jaku znanstvenu recenziju te vrlo često cijeli ekperiment treba biti ponovljen

1. isplanirajte tretmane u eksperimentu s ciljem da utvrdite koji tip reg. rasta utječe na metilaciju DNA

-Exprimet se provodi u kulturi stanica na modelnim stanicama koje nužno za rast trebaju auxin i ck)

- | | |
|--------------------|-------------------------------|
| • AUX, ck, gib + | • AUX, ck, gib, ABA, etilen + |
| • Aux ck ABA + | • AUX, ck, gib, ABA + |
| • Aux, ck etilen + | • AUX, ck, gib + |
| • Aux ck + | • Aux ck + |

Što sve nedostaje u ovim eksperimentima?

- Primjena Millovih metoda je logična i intuitivna
- Unatoč tome, u planiranju eksperimenta i prije same provedbe potrebno je voditi računa o svim mogućim ishodima (a ne samo onom obuhvaćenom hipotezom)
- Unatoč tome, ovaj intuitivni dio treba biti u svim svojim aspektima dobro proveden kako bi omogućio dobru analizu, nedvojbeno zaključivanje i interpretaciju rezultata

2. Analiza i sinteza

- Kompleksni događaj raščlaniti na jednostavnije
- Simplifikacija događaja
- Analizirati dijelove pojedinačno
- Sinteza: konstrukcija približno realne situacije (paziti na međudnose!)

3. Induktivno-deduktivna metoda

- Indukcija - osnovna metoda znanstvene spoznaje; na temelju analize **pojedinačnih** činjenica dolazi do općeg zaključka
- Dedukcija - donositi zaključak **od općih na pojedinačan** ili na druge opće zaključke; od uopćavanja prema pojedinačnome
- **U znanstvenim spoznajama dedukcija je nerazdruživo povezana s indukcijom**

Induktivno-deduktivna metoda

primjer

- Zlato je topivo (pojedinačan činjenica)
 - Srebro je topivo
 - Olovo je topivo
-
- Svi su metali topivi (opći zaključak) Auksin povećava metilaciju
- ↓
- Cink je topiv (pojedinačna činjenica)

Dizajniranje učinkovitih eksperimenata
zahtijeva razmišljanje o biologiji više
nego o matematici.

Nekoliko zabluda:

- **Zabluda1: Nije bitno kako se prikupljaju podaci uvijek će biti “statistička alata” koji će vam omogućiti analizu**

Prikupljeni podaci i način prikupljanja moraju zadovoljiti potrebe statističkog testa, biranje testa prema željenom ishodu nije znanstveno prihvatljivo

Dobro planiranje na početku može uštedjeti puno mukekada je riječ o analizi i interpretaciji podataka.

- **Zabluda2: Ako prikupimo puno podataka nešto zanimljivo će izaći, i doći ćemo do barem jednog važnog otkrića**

U znanosti, naporan rad nikada ne nadoknađuje jasno razmišljanje, malo smislenih mjerenja bolje je od puno besmislenih

Nemojte biti preambiciozni: bolje da dobijete jasan odgovor na jedno pitanje nego da nagađate odgovore na tri pitanja.

Cijena lošeg dizajna

Loše isplanirani eksperimenti ne dovode do jednoznačnih i točnih odgovora

Osim trošenja vremena i energije na loše dizajnirane eksperimente, oni uzrokuju više patnje eksperimentalnih modela (ljudi, životinja) ili više poremećaja u ekosustavu.

Pitanje troškova (broj replika, ponavljanja...)

Etičnost istraživanja

Točnost rezultata i zaključka

Glavni problemi bioloških sustava zbog kojih eksperiment mora biti planiran

Priroda bioloških sustava:

- Slučajna, randomizirana varijabilnost kao karakteristika bioloških sustava (npr. nisu sve djevojčice od 5 godina iste visine)
- Zbunjujući čimbenici (jesu li djevojčice iz Norveške više od vršnjakinja iz Turske, i je li uzrok tome nacionalnost ili ekonomska različitost).

Ukoliko se hipoteza odnosila na nacionalnost kao uzrok različitosti, onda je ekonomska različitost zbunjujući čimbenik. Na tome se treba temeljiti dizajn.

Kako započeti istraživanje

Definirati glavni cilj (aim, stremljenje)

Definirati specifične podciljeve (objectives)

Svako istraživanje ima barem jedan cilj i jedan podcilj
Koja je razlika cilja i podcilja

The aim (CILJ)

- Cilj je znanje (otkriće) kojem se stremi
- Generalna izjava koja opisuje područje koje istražujete
- To je područje istraživanja

Primjer 1.2.

Područje istraživanja: učinak unošenja novih jedinki u stado životinja u safari parku

Cilj ovog istraživanja je utvrditi promjene ponašanja u stadu nakon uvođenja novih jedinki.

Definiranje cilja je uglavnom jednostavno i intuitivno i uglavnom naslov vašeg projekta definira cilj

Primjer 1.3. Želite proučiti kapacitete vrijeska za upijanje teških metala iz tala kontaminiranih ispiranjem električnih stupova. Želite usporediti tlo oko sedam stupova odmah oko stupa i 1 km dalje

Napišite cilj istraživanja:

Cij ovog istraživanja je utvrditi kapacitet vrijeska za upijanje teških metala iz tala kontaminiranih ispiranjem električnih stupova

The objective, PODCILJ

- Područje istraživanja podrazumijeva više podciljeva (od kojih će svaki podcilj imati hipotezu) za razrješavanje pojedinog aspekta globalnog cilja
- Hipoteza svakog podcilja definirati će eksperiment.
- Svaki eksperiment podcilja imati će svoj eksperimentalni dizajn i generirati specifične podatke
- To pomaže istraživaču da prati svoj rad a pratitelju da vidi kako se odvojeni eksperimenti nadovezuju i kako se uklapaju u glavni cilj

Definirajte cilj i podciljeve

Primjer 1.4.

Istraživač želi utvrditi može li uspješnije kultivirati stanice duhana u mikropruветama (0.5 ml) nego u velikim volumenima. Sve to želi pratiti ovisno o temperaturi mjereći vijabilnost i broj stanica.

Cilj Cilj je ispitati učinak volumena suspenzije stanica na rast stanica duhana

- Podciljevi**
1. Ispitati učinak temperature (20 °C, 25 °C, 30 °C) tijekom 24 sata na vijabilnost stanica u malom i u velikom volumenu
 2. Ispitati učinak temperature (20 °C, 25 °C, 30 °C) tijekom 24 sata na broj stanica u malom i u velikom volumenu
 3. Ispitati učinak učestalosti subkultivacije na vijabilnost stanica u malom i u velikom volumenu
 4. Ispitati učinak učestalosti subkultivacije na broj stanica u malom i u velikom volumenu

Objedinjavanje ili odvajanje podciljeva

1. Ispitati učinak temperature (20, 25, 30 C) tijekom 24 sata na vijabilnost i broj stanica u malom i u velikom volumenu
2. Ispitati učinak frekvencije subkultiviranja na vijabilnost i broj stanica u malom i u velikom volumenu

Manji broj ciljeva daje manje ponavljanja u raspisivanju projektne dokumentacije i stoga je možda prihvatljiviji.

Suprotno tome, veći broj ciljeva svaki cilj povezuje s jednim tipom podataka što daje prednost pri pisanju izvještaja o rezultatima

Stvar osobnog odabira no veći broj ciljeva u ovom primjeru daje bolju preglednost...

- U diplomskim radovima često je manji broj ciljeva koji je ujedno i podciljevi većeg projekta
- Glavni cilj projekta je utvrditi je li alternativni splicing mehanizam kojim neke vrste kompenziraju nedostatak gena određenih funkcija koji su brojni kod drugih vrsta

The aim of the thesis is to characterize alternative splicing variants of BPM2 gene transcripts based on data obtained by sequencing complete mRNAs in the *Arabidopsis thaliana* species (Zhang et al., 2022), and to identify novel functional isoforms.

The first objective is analysis of expression for several novel isoforms in different tissues of *Arabidopsis*.

The second objective is the evaluation whether the *BPM2* gene encodes splice variants with specific functions.

The third objective is detection of theoretically unexpected amplicons based on the results of the splicing variant expression analysis.

Svakako treba moći razlikovati The Aim and objectives

Pojam „personal objectives”

- To su npr. provesti eksperiment te napisati izvještaj, objaviti publikaciju i sl.

Ovi ciljevi se ne uključuju u znanstvenu komunikaciju ali se podrazumijevaju

4 podcilja

- Podciljevi
1. Ispitati učinak temperature (20 °C, 25 °C, 30 °C) tijekom 24 sata na vijabilnost stanica u malom i velikom volumenu
 2. Ispitati učinak temperature (20 °C, 25 °C, 30 °C) tijekom 24 sata na broj stanica u malom i velikom volumenu
 3. Ispitati učestalost subkutivacije na vijabilnost stanica u malom i velikom volumenu
 4. Ispitati učestalost subkutivacije na broj stanica u i velikom volumenu

Svaki od ova četiri podcilja definira eksperiment međutim u svakom istraživanju mogu se dodati osobni podciljevi

5. Analiza podataka
6. Pisanje izvješća

To su osobni a ne eksperimentalni ciljevi a u prijavama istraživanja pišu se samo eksperimentalni ciljevi

2 sat

Preduvjet dobrog dizajna

- Početak s dobro definiranom HIPOTEZOM

-hipoteza (grčki) *hipo* – *ispod* i *thesis* - ideja čime bi doslovni prijevod riječi hipoteza bio *podloga ideje ili podloga rješenja*.

FORMALIZACIJA PODCILJEVA

- Hipoteza – jasno objašnjenje promatranog (opaženog), deklarativna izjava najvjerojatnijeg rješenja
- Mora biti provjeriva - nužnost je imati jaka (nedvojbeno) testiranja valjanosti baš te hipoteze (a ne i drugih)
- Postavljena na način da omogući prikupljanje podataka koji će je potvrditi ili odbaciti
- **Nema nikakvih izgleda za dobar eksperimentalni dizajn bez dobre hipoteze**

Uz jedan cilj (opažanje) može postojati više podciljeva pa tako i hipoteza

- **Npr. opažamo da bolesnici na ulazu u bolničku sobu bolje reagiraju na medicinski tretman**
- Cilj: ispitati učinak pozicije na reakciju na medicinski tretman
- Podcilj1 i H1: teži slučajevi smješteni su u kut sobe (zbog mira)
- Podcilj2 i H2 medicinsko osoblje posvećuje više vremena onima bliže ulazu

Kako postaviti dobru hipotezu?

- Odnosno kako uočiti zanimljiv problem?

Čimpanze su zaista zanimljive životinje, stoga idem u ZOO snimati ih 100 sati i u snimci će biti puno toga zanimljivo

Mogu li se iz snimke donositi zaključci o ponašanju čimpanza?

Mogu li se iz snimke mogu postaviti jasna pitanja o ponašanju čimpanza?

- Pilot istraživanje / promatranje omogućava **generiranje zanimljiva pitanja**.
- Ovakav pristup koji podrazumijeva definiranje specifičnih pitanja i ciljeva
- Uočiti najzanimljivije je presudno!

Tijek od pitanja do hipoteze i dizajna - primjer

- U ZOO-u primjećujemo da čimpanze imaju varijacije u aktivnosti tijekom dana.
 - 1) To navodi na pitanje: Zašto aktivnost čimpanza varira tijekom dana?
 - 2) Postaviti ćemo H: Aktivnost čimpanzi uvjetovana je režimom prehrane (najvjerojatnije rješenje).
 - 3) Sada moramo predvidjeti stanja (događaje) koji će potvrditi hipotezu, a koje možemo testirati, npr: udio vremena u kojem su čimpanze neaktivne biti će veći nakon hranjenja – imamo definiran eksperiment

Predviđanje događaja koji se mogu testirati je uvjet upotrebljivosti hipoteze

Null hipoteza: Aktivnost čimpanzi ne ovisi o režimu prehrane.

Predviđanja: udio vremena u kojem su čimpanze neaktivne neće biti veći nakon hranjenja.

Null hipoteza je važna za statistiku ali prema Filozofiji znanosti ona je ishodišna zbog polazišta da ništa nije interesantno sve dok se ne dokaže suprotno

Tijek u dizajniranju:

Istraživačko pitanje – hipoteza – predviđanje – **eksperiment** –
ISHOD

- Hipoteza je dobra ako na temelju nje možemo postaviti provjerljiva predviđanje
- Hipoteza i predviđanje sugeriraju varijable (tretman i mjerenje)
- Ishod može biti bilo koji (bilo u prilog null hipoteze ili njoj alternativne hipoteze) – metode procjene, statistika

- Pilot istraživanje omogućuje i planiranje eksperimenta

Npr. iz snimke se može vidjeti kada treba hraniti čimpanze kako bi to bilo u vrijeme kada hoće jesti, jedu li sve čimpanze ili ima onih koje odbijaju hranu, i druge detalje važne za provedbu eksperimenta

**Pilot istraživanje omogućuje
postavljanje najinteresantnijih pitanja i
hipoteza i planiranje eksperimenta**

PRIMJER1.5 Zadatak vam je izbrojiti automobile koji voze u smjeru sjevera te usporediti s brojem onih u smjeru juga, sa mosta iznad autoceste. Kako biste proveli pilot istraživanje i što biste provjerili u svom pilot istraživanju

Vidite li s mosta sve automobile koji prolaze
Možete li istovremeno pratiti oba smjera i brojati oba smjera
Trebali vam brojač ili neki drugi način provedbe
Možete li eksperiment obaviti sami.....

Primjer 1.6. Ispitujete utjecaj masne prehrane na razvoj dijabetesa u štakora

S kojim ciljem provodite pilot istraživanje?

Jedu li uopće životinje hranu koju ispituje, u koje vrijeme ih hraniti, jedu li sve životinje, kada se pojavljuju simptomi dijabetesa i koje ćete pratiti kao relevantne.....

Koji su parametri dijabetesa, kako i kada se mjere

Kolika je varijabilnost parametara dijabetesa u nekoj određenoj vremenskoj točki među različitim životinjama.....

Važnost veze hipoteza – predviđanje – ishod
još neki problemi....

H: Studenti više vole Biokemiju nego Metodologiju zn.-
istr. rada

P: Studenti će imati više ocjene iz Biokemije
nego Metodologije zn.- istr. rada

Ishod: više ocjene iz Biokemije – potvrda
hipoteze ili ne?

1. Problem

Ishod se slaže i s drugim hipotezama

Npr. ispit je lakši, odvija na početku dana ili ispitnog roka
kada su studenti odmorniji....

**Podaci koji se slažu s hipotezom nisu korisni ako se
slažu i s drugim mogućim hipotezama**

Postavljanje više hipoteza ili grupiranje hipoteza u parove

2. problem:

Hoće li istraživanje biti vrijedno (korisno) čak i ako se potvrdi null-hipoteza?

H1: uživanje marihuane utječe na sposobnost upravljanja vozilom - **svaki ishod je koristan, i ako su potvrdi null i ako se potvrdi alternativna hipoteza**

H2: konzumiranje maslaca a ne margarina utječe na sposobnost upravljanja vozilom

- Samo potvrda hipoteze je spektakularna, suprotan ishod od potvrde je beskoristan (rezultati u prilog null hipoteze su beskorisni)

Ponekad spektakularnost očekivanog ishoda je toliko velika da se isplati proizvesti i puno neupotrebljivih rezultata – to je nakraju i način na koji se funkcionira u znanosti

Razmišljanje o interpretaciji svih mogućih ishoda

Sagledavanje svih mogućih ishoda eksperimenta

- Za svaki mogući ishod moramo imati objašnjenje i interpretaciju
- Ne izgleda impresivno reakcija: Rezultati pokazuju *to, to i to* ali nemam pojma što zaključiti
- **Problem je situacija u kojoj nas samo specifičan ishod zadovoljava**
- “napraviti ću eksperiment jer ako dobijem specifičan rezultat imam senzacionalno otkriće” - **no treba se pitati koliko je svaki mogući rezultat koristan.**

Hipoteza kao okvir znanstvenog projekta



H određuje:

- kako ćemo pristupiti rješavanju problema i
- kako ćemo interpretirati rezultate.
- **OKVIR PROJEKTA**

H određuje:

- kako ćemo pristupiti rješavanju problema i
- kako ćemo interpretirati rezultate.
- OKVIR PROJEKTA

MOGUĆI NEDOSTACI HIPOTEZE

H: Nebo je crveno.

1) Eksperiment tj. test hipoteze je MJERITI CRVENO.
Prema ovoj hipotezi ne treba mjeriti ništa drugo!!!

2) Uređaj: crvenometar

3) Crveni predmet kao pozitivna kontrola.

4) Zeleni predmet kao negativna kontrola.

5) Kalibriranje uređaja.

Eksperimentalni dizajn

Eksperimentalni dizajn (bez preliminarnog istraživanja)

6) Vremenski okvir eksperimenta *koji je vremenski okvir?

Mjerenje crvenometrom tijekom:

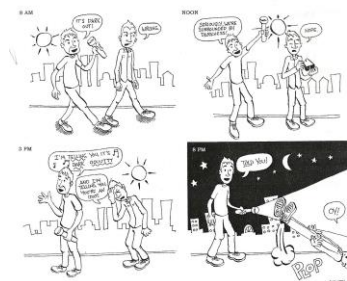
1 h – negativan rezultat

4 h – negativan rezultat

24 h – pozitivan rezultat

Proširenje okvira istraživanja sve do pozitivnog rezultata

(težnja znanstvenika da dokaze hipotezu a ne da je odbaci, nedostatak prethodnog znanja)



7) Zaključak: Nebo je crveno

Koje su pogreške učinjene?

Sam uređaj je ograničavajući - mjeri samo crveno i ne-crveno.

Čak i ako bi se ne-crveno kalibriralo na crni predmet neće biti opaženo da je nebo crno, jer je pozitivno kalibrirano na crveno.

Hipoteza uzrokuje "filtraciju" podataka koje mjerimo
 Relevantni podaci nisu uočeni, a pozitivan rezultat je precijenjen
 – **OGRAIČAVAJUĆA HIPOTEZA**

PREOPĆENITA HIPOTEZA

H: Gen X uzrokuje rak

EXP: kloniranje gena X pod konst promotorom
kloniranje gena X s vlastitim promotorom – neg. kontrola

Transfekcija modelnih stanica
(10 x ponovljen eksp)

REZ: konstitutivna ekspresija - kancerozni fenotip
normalna ekspresija – normalan fenotip

ODLIČAN REZULTAT?!

- 1) Što ako stanice koje su transformirane ne ekspimiraju normalno taj gen? (pogrešan odabir modelnog sustava)
- 2) Što ako smo previdjeli podatak da stanice koje inače normalno ekspimiraju gen X drugačije reagiraju na prekomjernu ekspresiju, one se specifično diferenciraju uslijed pojačane ekspresije a ne razvijaju tumor?

➤ Saznali smo **fiziološki nerelevantne podatke!!!!**

Gen x je TrkA (tirozin kinazaA) koja je klonirana iz tumora debelog crijeva gdje njena aktivacija uzrokuje tumor međutim u stanicama mozga vazna je za diferencijaciju neurona.

Očito je da je hipoteza utjecala na provođenje eksperimenta (preopćenita!) i dovela do djelomično točnog zaključka

Što je alternativa?????

Hypothesis
Testing



Question/
Answer



PITANJE/ODGOVOR:

1) Da/Ne npr. Da li je nebo crveno?

Da li je put X najbrži?

Da li gen x urokuje rak?

Binarna pitanja (da/ ne)

Pitanja zatvorenog tipa
(kao i hipoteza)

2) Pitanja otvorenog tipa: Koje boje je nebo?

Koji je najbrži put?

Koji geni uzrokuju rak?

Koja je funkcija gena X?

Otvoreno pitanje

Ne favorizira

pojedini odgovor

Pitanja otvorenog tipa obuhvaćaju seriju binarnih pitanja. Što je serija potpitanja veća to je mogućnost pozitivnog odgovora veća

Postavljanjem pitanja otvorenog tipa

Koje je boje nebo?

- Izbjegnuta je nužnost odgovora na pitanje unutar hipoteze
- Nema zategnutosti između hipoteze i eksperimenta
- Nema ograničenja

Eksperimentalno se mjere sve valne duljine i svaka ima šansu biti pozitivan rezultat.

npr. H: “*Nebo je smeđe*”. u odnosu na “*Koje je boje nebo?*”

Otvoreno pitanje:

- Ne favorizira pojedine odgovor
- Ne ograničava okvir istraživanja
- Ostvaruje poziciju ignoriranja u eksperimentu
- Omogućuje seriju potpitanja

Povezan s CILJEM

H: Gen X kada je mutiran uzrokuje rak (uzrokuje li gen 99 rak?)

Mogućnost potvrđivanja hipoteze je niska

Koji genski produkt kada je mutiran uzrokuje rak?

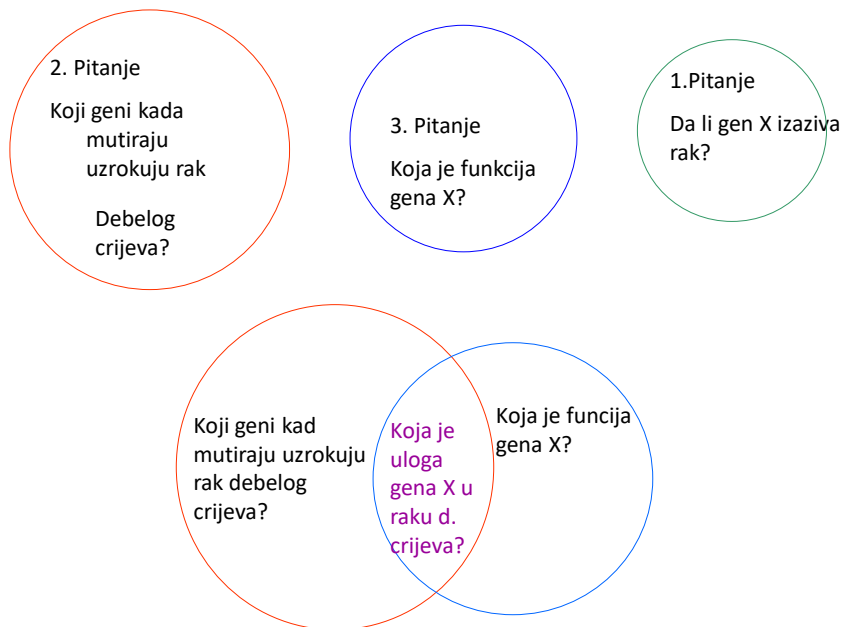
- Preveliki broj da/ne pitanja (oko 35 000 gena),
- Čak i ako se ne testiraju svi postoji mogućnost da se naiđe na odgovor
- Takav pristup traženju odgovora nije dobar

Umjesto H: Aktivacija (mutacija) enzima X uzrokuje rak

Koji genski produkt kada je mutiran uzrokuje rak?**Koja je funkcija gena X?**

U biologiji ovako široka (otvorena) pitanja izgledaju nezahvalno za kreiranje eksp., ako se promatraju pojedinačno

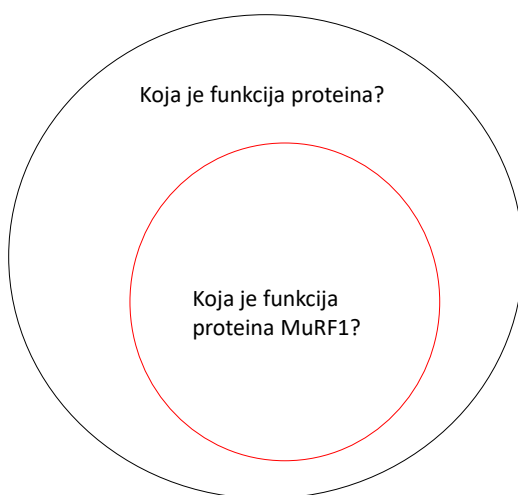
1. POSTAVLJANJE NEKOLIKO SPECIFIČNIJIH PITANJA – traženje odgovora odgovora u presjeku skupova (podciljeve ovdje definiramo podpitanjima)



2. PROŠIRIVANJE INDUKTIVNOG PROSTORA

Primjer postavljanja 1. osnovnog pitanja:

Koja je funkcija proteina MuRF1?

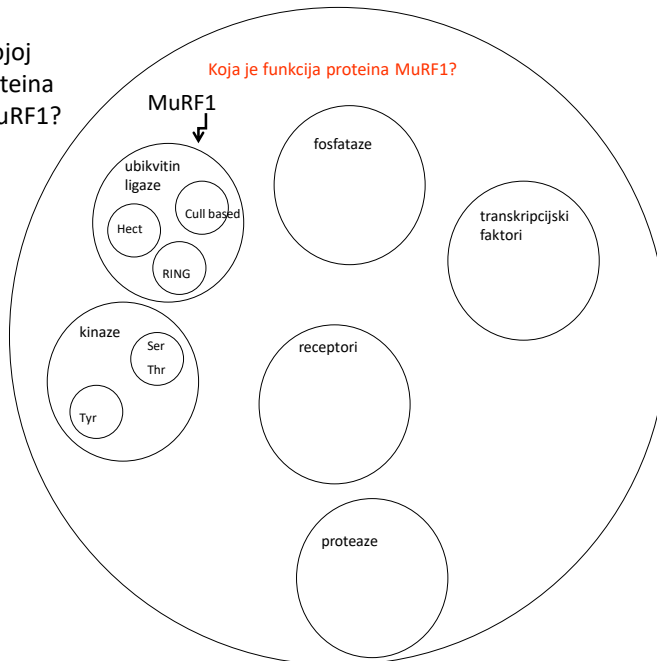


Pitanje stavljamo u kontekst s poznatom činjenicom da je MuRF1 protein i definiramo

INDUKTIVNI PROSTOR

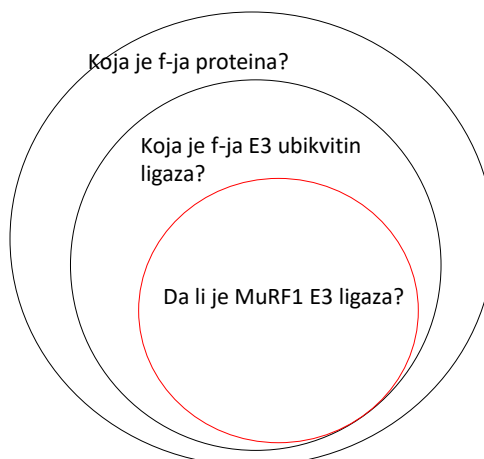
2. Pitanje – kojoj skupini proteina je sličan MuRF1?

Pretraživanje sljedova ukazuje da pripada već poznatoj grupi



FOKUSIRANJE – sužavanje induktivnog prostora

3. pitanje: **Da li** MuRF1 funkcionira kao E3 ligaza? (npr. nađena je homologija u sekvenci) – preuranjeno pitanje



Paziti da se ne postavi to da/ne pitanje jer bi ono moglo ograničiti istraživanje. Prije da/ne pitanja se može istražiti struktura, biokemija,...

Binarno pitanje: Da li MuRF1 funkcionira kao E3 ligaza?

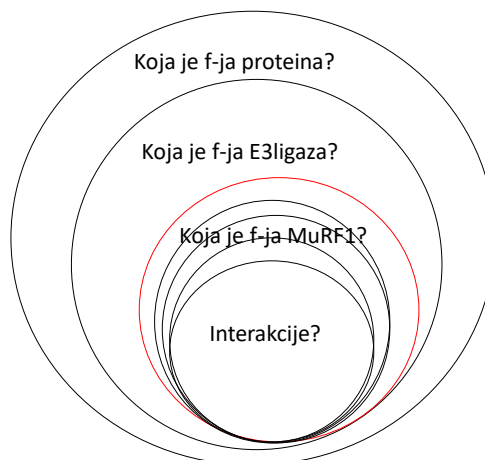
Takvo pitanje treba izbjeći na ovoj razini!

...Ili ako postoji test testirati ali se ne ograničiti!
(Npr. E3 ligaze imaju autoubikvitinirajuću sposobnost i to se može ispitati za MuRF1 ali to nije rezultat iskoristiv kao zaključak o funkciji!!!)

EKSPERIMENTALNA PITANJA NE DONOSE ZAKLJUČAK (ako su postavljena prerano)

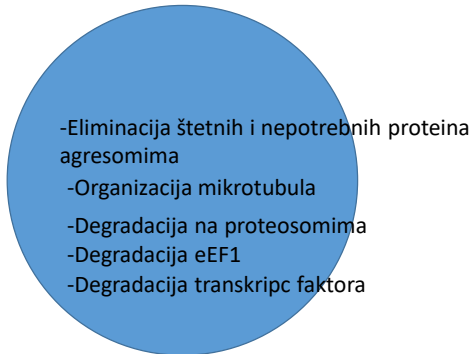
4. pitanje: Koji su interakcijski partneri MuRF1?

Usredotočiti se na partnere Cul3 E3 ligaza (proteini supstrati)



Nova pitanja FOKUSIRAJU istraživanja. Prednosti i mane.

Funkcije sa specifičnom porodicom proteina:



Nizom
 eksperimentalnih
 pitanja i odgovora
 došli smo do
smanjenog
induktivnog prostora
 -brzi eksperimentalni
 dio i manji filter
 istraživanja

Pitanje kao okosnica istraživanja:

- Definira područje istraživanja
- Ne ograničava istraživanje
- Omogućuje postepeno fokusiranje
- Ne usmjerava na odgovor dan hipotezom
- Obećava nepristranu izvedbu eksperiment
- Potiče na postavljanje potpitanja
- Ne preuveličava pojedino rješenje
- Garantira uspješan eksperiment
- Nekada nije moguće postaviti hipotezu

Koja je sekvenca humanog genoma?

- Nađite odgovarajuću hipotezu

Poznavanje sekvence biti će primjenjivo