

Zientzia artikulak eta bibliografia-bilaketak

Ikerketan lorturiko emaitzen zabalkundea zientzialari-komunitatean, zientzia-aldizkari eta zientzia-artikuluen bitartez egiten da (Nature, Teknopolis, Elhuyar ...). Horrez gain, ikerketa zientifikoetan lortutako emaitzak modu ulergarriago batean helarazten zaizkio gizarte osoari (dibulgazioa).



Zientzia-aldizkari eta artikulak

Zientiaren garapenerako bidea irekitzen duten eta aurkikuntzen berri ematen duten artikulak asko argitaratzen dira zientzia aldizkarietan. Zientiaren mundua horren zabala izanik, askotariko esparruak lantzen dituzten aldizkariak daude eta gehienak oso espezializatuak diren arren, diziplina ezberdinetako artikulak biltzen dituzten aldizkariak ere badaude. Horien artean aipagarriak dira Nature, Science, Proteomics...

Zientzia-artikuluak

Ondo idatziriko artikulak zientifiko batek ikerlariak esperimendua egiteko izan duen motibazioa, esperimenduaren diseinua, esperimendua nola egin den eta emaitzen esanahia azaltzen ditu. Artikulu zientifikoetan hizkuntzarik erabiliengana ingelesa izan arren, beste hizkuntzetan ere argitaratu ohi dira lanak. Honez gain, aipagarria da artikulak zientifikoek duten **formatu zehatza** edo estandarra:

Artikulu zientifikoaren formatua

1. Izenburua
2. Egileak eta zein erakundetakoak diren (Unibertsitatea, teknologia edo ikerketa zentroa ...)
3. Laburpena (abstract)
4. Sarrera (introduction): Erreferentziak ageri dira
5. Materialak eta metodoak (materials and methods)
6. Emaitzak (results) : Atal honetan taulak, irudiak ... ageri ohi dira.
7. Eztabaida (discussion) : Erreferentziak
8. Ondorioak (conclusion)
9. Erreferentziak (references, cited literature):

Erreferentzia bat idazteko pausuak

- Egileak
- Aldizkaria (kurtsiban)
- Urtea (negritan)
- Bolumena
- Orrialdeak

Zientzia-artikulu motak

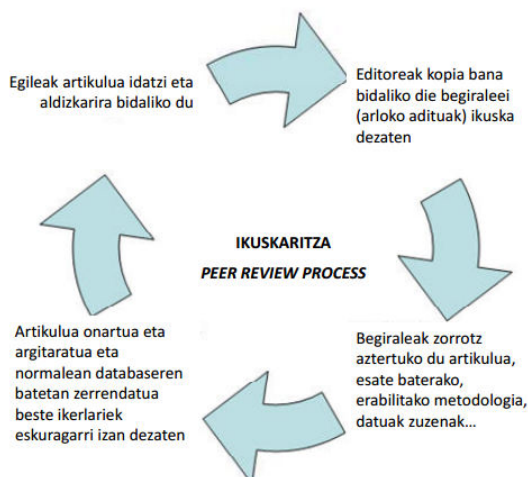
- Artikuluak (research article)
- Errebisioak (review)
- Proceedings-ak
- Letters / notes

Zientzia artikuluen argitarapenak egiten dituzten aldizkariak oso oso garestiak izaten dira, harpidetzak urteko 3000-20000€ artean balio izaten dute eta. Horregatik, artikulua hauek eskuragarri izateko ezinbestekoa izan ohi da erakunde handien laguntza. Azken urteetan prezio hauei aurka egin zaie eta ondorioz, **open-access** izeneko plataformak garatu dira, artikuluen eskuragarritasuna handitzeko asmoz.

Ikuskaritza

Bestalde, ezinbesteko da argitaratzeko asmoz bidalitako edozein artikulutan emaitza **berriren** bat agertzea (breakthrough) eta artikulua hauek arau zehatz eta zorrotzak jarraitzen dituzte argitaratu ahal izateko. Artikulu baten argitarapena **peer-review** izeneko prozesu baten bidez egiten da, arloan adituak diren pareko ikerlariek zorrotz ikuskaritzen dituzte.

Ikuskaritza: Artikulua idatzi duenaren arlo berdinean dihardutenek honen gainean eginiko errebisio edo inspektzio kritikoa.



Lehen ikuskaritza honen aurrean, erantzun ezberdinak jaso ditzake zientzialariak

- Bat-batean onartua izatea.
- Onartua izatea baldin eta egileak eskatutako aldaketak edo hobekuntzak egiten baditu.
- Baztertua izatea baina berrikustera eta berriro bidaltzera gonbidatua izatea.
- Zuzenean atzera botatzea.

Ikuskaritza orokorrean oso onartua den arren, kritikak ere jaso ditu oso prozesu geldoa izateagatik, zientzialarien arrakastaren arabera izan ditzaketen aurreiritziengatik ... Inspekzio kritiko honek garrantzi gabeko aurkikuntzen zabalkundea, frogatu gabeko aipamenak, onartezinak diren interpretazioak eta ikuspuntu pertsonalak saihesten ditu.

Hori dela eta, ikuskaritza zorrotzetik pasa gabeko artikuluak susmagarriak izan daitezke akademiko eta profesionalentzat, lan bat egiteko **iruzur** batean oinarritzeko arriskua saihestu behar da eta. Argi dago aldizkariaren maila eta zuzentasuna bermatzen dutela errebisio zorrotz hauek, baina, hala ere, nabaria da zorrotzasun maila ezberdinak daudela.

Nature eta Science moduko aldizkarietan oso zaila da argitaratzea, izan ere, kasu hauetan ikuskaritza oso zorrotza izan ohi da. Nahiz eta kalitate altuko lan zientifikoa izan, berritzailea ez dela kontsideratzen badute, artikulua atzera botako da. Hori dela eta, Nature bat izateak prestigio handia ematen dio ikerlari bati.

Zientzia artikuluen inpaktua

Aldizkariak **inpaktu faktorea** izeneko balio baten bitartez definitzen dira eta honek aldizkari horrek lantzen duen arlo horretan izandako garrantzia, zeresana edo inpaktua adierazten du.

INPAKTU FAKTOREA

$$IF = \frac{\text{Bi urte jarraietan argitaratutako artikuluek hurrengo urtean jasotako aipamen kopuru totala}}{\text{Aldizkari horretan bi urte horietan argitaratutako artikuluko kopurua}}$$

Inpaktu faktorearen erabilerak kritikak ere jaso ditu, izan ere, zenbait kasutan balorazio indibidualak egiteko irizpidetzat erabili izan da. Horrez gain, aipatzekoa da aldizkariak errebisio lan ugari argitara ditzaketela eta normalean errebisioak artikulua baino gehiago aipatzen direla. Ondorioz, errebisioak argitaratzen dituzten aldizkariaren inpaktua altuagoa izan ohi da. Metodo artikuluen kasuan ere antzekoa gertatzen da. Horregatik, badago aldizkariaren inpaktua neurtu beharrean zuzenean zientzialari baten maila adierazten duen indize bat, h indizea

Abdz. Nature aldizkariko 2004ko IFaren % 90 argitaratutakoen ¼ etan oinarrituta dago, baina batezbestekoa egiten duenez asko aipatu direnen inpaktoa gutxiesten da eta aipatzen ez direnen IFa gehiegi balioesten da.

H-indizea: Zientzialari baten ekoizpena eta bere inpaktua neurtzeko balio duen indizea da. 10eko h- indizea duen zientzialari batek gutxienez 10 aipamen jaso dituen 10 artikulua argitaratu ditu. Beraz, h- indizeak argitalpen kopurua eta argitalpen horien inpaktua islatzen du.

Metodo zientifikoa eta etika zientzian

Zientziak mundu naturala soilik du helburu, ez du azalpen supernaturalekin jokutzen.

Zientzia, mundu naturalean zer dagoen, nola funtzionatzen duen eta den bezalako nolan den ikasteko bidea da, fenomenoak ulertzeko bidea hain zuzen ere. Zientzialariek oso modu ezberdinetan lan egiten duten arren, edozein alorretan ideiak proposatuko dituzte, hauek testatuko dituzte ideia horiek sortu dituzten aurreikuspenak argituz eta behaketak eginez aurreikuspen horiek egia diren ala ez argituko dute.

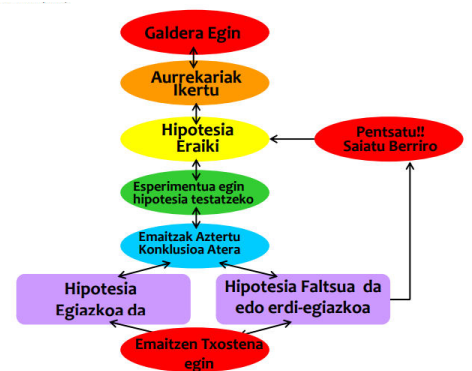
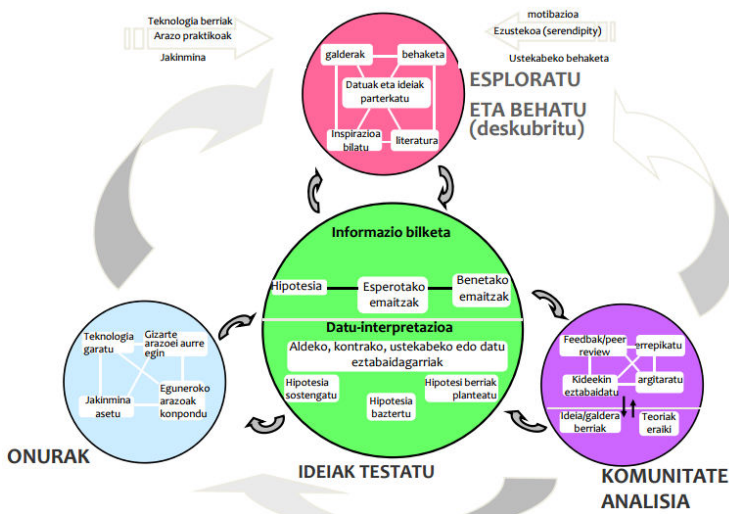
Onartutako ideia zientifikoa fidagarriak izango dira ikuskaritza zorrotzak jasan dituztelako, baina seinale eta ikuspuntu berriak biltzen direnean jatorrizko ideiak berrikusi egingo dira; **Zientzia ez da inoiz "bukatu".**

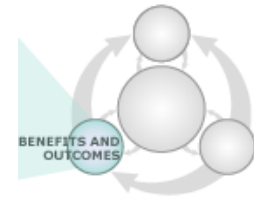
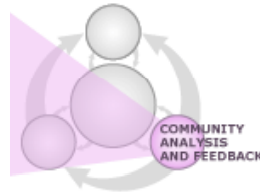
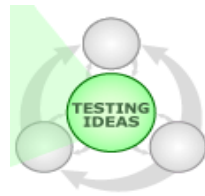
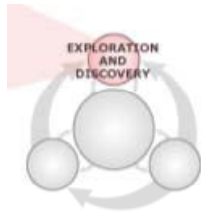
Zientzia komunitate ahalegina da. Txekeatu eta orekatze sistema batetan oinarritzen da zeinak zientzia zehaztasun eta ulergarritasun handiagorantz aurrerapausoak emango dituela ziurtatuko duen. Sistema honek zientzialarien komunitatearen dibertsitateari esker funtzionatzen du, ideia zientifikoen gaineko ikuspuntu desberdin asko eskaintzen baitu.

Metodo zientifikoa (Oxford hiztegia):

17. mendetik zientzia naturalak karakterizatzea ahalbidetu duen metodoa edo prozedura eta behaketa sistematikoek, esperimenez eta neurketek baliatzeaz gain, hipotesiak proposatu, testatu eta aldatzean oinarritzen dena.

Arazo edo galdera bat modu zientifikoa argitz





- Lehenik eta behin inspirazioa edota motibazio bilatzen ahalegindu behar da. Esploratu eta behatu egin behar da (deskubritu), datuak eta ideiak partekatu, galderak egin ... Ezustekoak ere lagungarri izaten dira.
- Kasu askotan, lehen pausoa inspirazioa baina gehiago ardura bat izaten da, esaterako arazo larriak eragiten ari den gaixotasun batentzako tratamendu bat aurkitu behar izatea, presio handia gizartearengandik eta erakunde farmazeutikoengandik. Gainera, garapen teknologiko berriak eman ahala, aurreko teoriak berplanteatu behar ira esperimentu berriak bideratuz.
- Batzuetan gainera, **serendipity** izeneko fenomeno gertatzen da, hau da, esperimentu batetik ustekabeko emaitzak lortzea, jatorriz bilatzen ez zirenak baina esperimentuari esker argitu direnak.
- **Hipotesia:** Esperimentalki testa daitekeen fenomeno edo gertakari bat esplikatzeko proposaturiko azalpena da. Hipotesiak aurreko esperientzietan oinarrituak egoten dira; aurretik ikasitakoan, aurretik behatutakoan eta logikan. Hipotesiak testatzea zientzia prozesuaren muina da.
- **Ideiak testatu:** Ideiak testatzean jasotako emaitza edo behaketak proposatutako hipotesiarekin bat badatoz edota hipotesiaren alderantzkoak badira, esperotako emaitzak edota behaketak direla esango dugu. Bat ez badatoz, aldiz, hipotesiaren aurkakoak izango dira, espero ez genituenak. Garrantzitsua da ideia hauek behin eta berriro testatzea eta hainbatetan testatzen direnez, geroz eta konfiantzazkoagoak izango dira.
- Komunitate analisia: Komunitate zientifikoko kideek (ikerlariak, teknikoak, irakasleak, ikasleak ...) zientzia prozesuan eginkizun desberdin asko ditugu, baina bereziki garrantzitsuak gara ideiak sortu, ideia hauek aztertu eta aldeko eta kontrako ebidentziak balantzan jartzen. Izan ere, komunitate honi esker zientziak bere burua zuzentzen du (fusio hotza).
- Jakintza gauza askotarako baliagarria da, diseinurako, gauza eraginkorrek garatzeko ... (zubiak diseinatu, aldaketa klimatikoa astiroagotzeko, urtero gripearen aurkako txerto eraginkorrek garatzeko ...) Atomoaren nukleoaren gaineko ezagutza arlo desberdinetan aplikatu da.

Biokimika

Biokimika izaki bizidunetan ematen diren prozesu kimikoen ikasketaz arduratzen den zientziaren atala da. Biokimikak gidatzen ditu izaki bizidunetan ematen diren prozesuak eta azken finean izakiak eurak ere bai.

- **Galdera:** Nukleotidoen egitura, konposaketa eta informazio genetikoaren zeramala agi zegoen, baina, informazio genetikoaren gorde eta transmititzeko mekanismoa ez zegoen hain argi.
- **Hipotesia:** Crick eta Watsonek DNAk helize-egituraren susmoa zuten.
- **Aurreikuspena:** X izpien difrakzioa erabiliz X itxurako irudi bat ikusi beharko litzateke.
- **Esperimentua:** Rosalind Franklinek DNA purua kristalizatu eta X izpien difrakzio teknika bidez, X itxurako irudi bat lortu zuen emaitza gisa.
- **Analisisa:** Helize bikoitza zela ondorioztatu eta euren modeloa garatu zuten hidrogeno-zubi eta guzti.

Zientziak guk zuzenean beha ez dezakegunaren gaineko hipotesiak testa ditzake eta zientziak zientzialarien komunitatearen komunikazioari esker egin du aurrera. Zientzialariek onespina emango dute onespina zilegi denean eta aurkikuntza zientifikoek ikerkuntzaren jarraipena dakarte.

Etika zientzian

Jarrera etikoak ikerkuntza emaitzen fidagarritasuna (ikerketaren diseinua, prozedurak, datuen analisisa, interpretazioa eta argitaratzea) eta ikerkuntzarako erabilitako bizidunen duintasuna bermatuko du.

Estandar etikoak zientzian

XX. mendearen erdialdean argitaratu ziren zientziaren jardura etikoaren oinarriak eta bi kategoria bereizten dira:

Esperimentuen diseinua, prozedura, datuen analisisa, interpretazioa eta guzti hau ezagutzera ematearekin zer ikusia duena

Estandar etikoen urraketa oso zabala da, datuak asmatzetik, ikuskari batek lehiakide baten lana atzera botatzeraino, edo argitaratu beharrean datuak plagiatzeraino. Zientzian zintzotasunez jardun behar da, ez dira datuak manipulatu behar, eta ezinbestekoa da espero ez genituen emaitzak lortuta ere, emaitza negatiboak, apuntatzea edo aipatzea. Esperimentuan zehar burutzen baditugu, hauek apuntatu egin behar dira, izan ere, emaitzetan islatzen dira eginiko akatsak. Fisikako iruzurrik zalapartatsuena 2001ean eman zen (Jan Hendrik Schon). Bere hainbat lanetan datu faltsuak eta duplikatuak argitaratu zituen.

Aipatzekoa da **fusio hotzaren kasua**. Fusio hotzaren aurkikuntza (eta datu okerrak) ikuskaritzarik gabe argitaratu zuten aldizkari batean eta nahiz eta datuak ez zituzten manipulatu edo "fabrikatu", guzti honek eragin latza izan zuen fusio hotza ikertzen ari ziren ikerlariengan. Izena ere aldatu behar izan zitzaion low-energy nuclear reaction izena ezarriz.

Gizaki eta animalien erabilera zientzian

II. Mundu Gerraren ondoren, 1949ko Nurembergo kodea idatzi zen, esperimentuetan gizaki eta animalien erabilerari mugak jarritz.

Gizakiekin ikertzeko, pertsonari egingo zaion esperimentuaren gaineko **informazio osoa** eman behar zaio eta pertsonaren **onespena derrigorrezkoa** izango da esperimentua burutzeko. **Tratu duina** izan behar du. Honez gaiz, ikertzaileak balantzan jarri beharko ditu ikerketaren kalte posibleak eta onurak, nahita eginiko kalte fisiko eta mentalak derrigorrez saihestuz.

- Willowbrook state School, New York City:
1950-60 urte bitarteetan adimen desgaitasuna zuten haurrei hepatitisaren birusa ziztatu zitzaien.
- 1964an, aldiz, ospitale bateko gaixoei minbizi zelulak ziztatu zizkien berauei informaziorik eman gabe, American Cancer Society-k finantzatutakoa.
- 1932-1972, EEBB (Tuskegee syphilis experiment): Sifilisaren aurkako tratamenduak oraindik oso eraginkortasun baxukoak eta oso toxikoak ziren, hauek testatzen ari ziren eta 399 gizon beltz sifiliaz kutsatuta eta 201 gizon osasuntsu.
- 1947 penizilina: Ikerketak 1972. Urtera arte jarraitu zuen. Guatemala, 1946-48 bitartean USAk egindako "esperimentuak"

Gizaki eta animaliak erabiltzen diren esperimentuak arautzen dituen legedia 1964ko Helsinkiko Adierazpena da.

Etika Zientzian

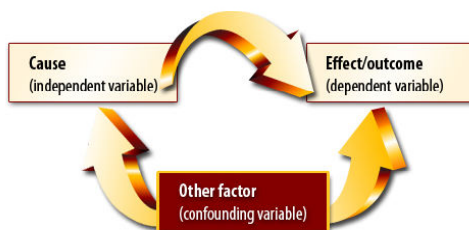
- Datu zientifikoak zuzentasunez idatzi eta kontatu behar dira, datuak manipulatu gabe.
- Emaizak aztertzerakoan akatsak ekidin behar dira.
- Datuetan oinarritutako emaitzen analisi eta interpretazio independentea egin behar da.
- Metodoak, datuak eta interpretazioak lana argitaratuz eta lanaren aurkezpena eginez partekatu behar dira.
- Emaizak balioztatu behar dira esperimentuak errepikatuz eta ikertzaile kideekin elkarlanean.
- Informazioa, datuak eta ideiak zein iturrietatik lortu diren aipatu behar da (**erreferentziak**).
- Gizaki eta animalien gaineko ikerketan hauen eskubideak kontuan hartu behar dira.

Esperimentuen diseinua

Oinarri oinarrian ikerketa jakin batek jatorri, kausa, eragile eta ondorioaren arteko erlazioa ezarri nahi du. Hau da, aldagai independente batek (kausa) nola aldatzen duen aldagai dependiente (ondorioa /eragina).

Esperimentu bat ikerketa lan bat da aldagai independente bat edo gehiagoren manipulazioak, aldagai dependiente bat edo gehiagotan duen eragina aztertzeko baldintza kontrolatuetan.

Alor askotan “beste” aldagai horiek ezin ezaba daitezke, batez ere laborategietako kontrolpeko baldintzetatik kanpoko ikerlanetan.

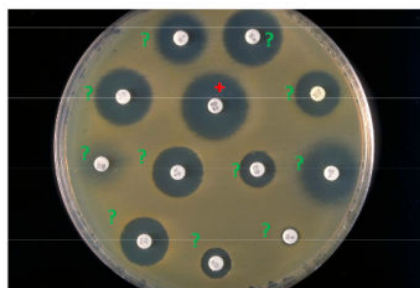
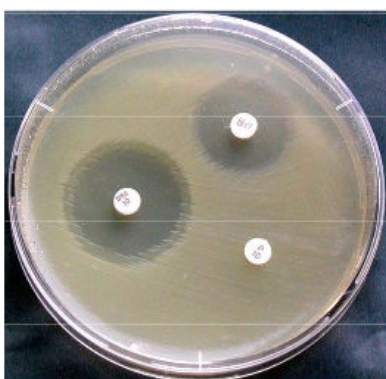


Esperimentu batean aldagai independente batek aldagai dependientearen aldaketa jakin bat eragiten duela eta aldaketa hori aldagai independenteari soilik egotzi daskiokeela esperimentuaren diseinuaren arabera izango da. Askotan estatistikak emango digu horren neurria edo kantitatea baina prozedura estatistikoa aplikatzearekin bakarrik ez dugu esperimentua ondo diseinatua dagoela bermatuko.

Kontrol positiboa: Emaitza positiboa ematea espero den kontrol taldea. Esperimentuaren diseinuan, esperimentuaren baldintzak egokiak izan diren ala ez esango digu.

Kontrol negatiboa: Emaitza negatiboa ematea espero den kontrol taldea. Esperimentuaren emaitzetan gure aldagai independentearen eragina besterik egon den ala ez esango digu.

Metodo zientifikoan kontrol onak ezartzea eta hauek balioztatzea ezinbestekoa da. Hori egin ezean emaitzak baliogabetu daitezke.



Ogia egiten ari gara. Legamiak azukrea erabilita CO₂ askatzen du eta masa "puztu" egiten da, hartidura ematen da. (Behaketa eta informazio bilaketa). Hipotesia: Zenbat eta azukre gehiago jarri, ogia gehiago puztuko da.

- **Aldagai independenteak** (manipulatua,x): masa (25g, 50g, 100g, 250g, 500g ...)
- **Aldagai dependentea** (ondorioa,y): ogiaren tamaina
- **Kontrola:** Konparaketarako estandarra. Berdin tratatzen duzu baina aldagai independentea aldatu gabe. Ogia egiten duzun aldiro 50g erabiltzen ditugunez hau da izango da kontrola.

Azukre kantitateaz gain **beste baldintza guztiak konstante** mantendu behar dira (osagaiak, denbora, labea, tenperatura...) edozein aldaketa gertatuz gero ere azukre kopuruaren arabera soilik izan dadin.

Egindako guztia zehatz apuntatu behar da.

Erreplikak: Baldintza berdinetan jarritako taldeak dira.

- 3 ogi 25g azukre
- 3 ogi 50g azukre
- 3 ogi 100g azukre ...

Azukre kopurua gramotan	1	2	3	batezbesteko tamaina (zm ³)
25	768	744	761	758
50	1296	1188	1296	1260
Kontrola				
100	1188	1080	1080	1116
250	672	576	588	612
500	432	504	360	432

Azukre kopurua gramotan	1	2	3	Batez besteko tamaina zm ³
50	1296	1440	1296	1344
60	1404	1296	1440	1380
70	1638	1638	1560	1612
80	1404	1296	1296	1332
90	1080	1200	972	1084

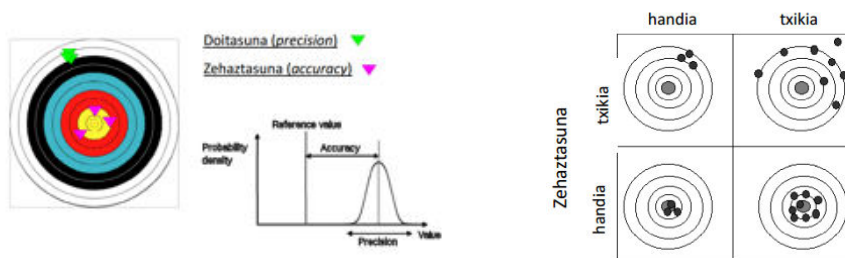
Neurketa biokimiko kuantitatiboak: Analitoaren (laginaren) kantitatea edo kontzentrazioa kuantifikatzea (entzimak, mintz-zeharreko garraioa, biokimika klinikoan).

Datu esperimentalak: Benetako balioen estima onargarriak.

Metodo analitiko edo instrumentu baten funtzionamenduaren azterketa

Metodo analitiko guztiak indikatzaile batzuen bidez ebalua daitezke eta indikatzaile horien balioen arabera aplikazio jakin batetarako metodoa erabiliko dugun ala ez erabakitzen da.

- **Doitasuna** (precision, reproducibility, repeatability): lagin bera zenbait aldiz neurtuta neurketa desberdinetan emandako balioak berdinak badira, doitasuna handia izango da. Neurketen balioak ez badatoz bat, aldiz, doitasun txikia izango da.
- **Zehaztasuna** (accuracy): Neurtutako balioaren (balioen batez bestekoa) eta benetako balioaren arteko diferentzia.
- **Detekzio-muga edo sentikortasuna** (sensitivity): Konfidantzarekin substantzia ezatik (zuria-blank) desberdindu daitekeen substantzia jakin baten kantitaterik txikiena. Detekzio mugatik azpiko kontzentrazioak “detekzio muga baino gutxiago” bezala anotatu beharko lirateke. Metodo guztiek dute detekzio muga eta hau izaten da maiz metodoa aukeratzeko edo ez erabiltzen den faktoreetariko bat.
- **Tarte analitikoa:** Modu errepikakorrean neurtu daitekeen analitoaren kontzentrazio tarte, tartearen beheko muturra detekzio muga delarik.
- **Espezifitate analitikoa (selectivity):** laginean egon daitezkeen beste substantziek zure analitoaren analisia zein neurritan oztopatzen duten, ondorioz balio faltsu altua edo baxua emango duelarik. Metodo baten gaitasuna glukosa neurtzeko beste hexosa batzuk, manosa eta galaktosa esaterako, laginean daudenean.



Metodo analitiko egokiak aukeratu behar dira: espektrofotometria (ikuskorra, ultramorea, fluorometrikoa ...), kromatografia, metodo immunologikoak (ELISA). Metodo desberdinak erabili daitezke analisi berdina egiteko eta metodoaren aukeraketa ondorengoan arabera egin daiteke:

- Analisia burutzeko instrumentua laborategia edukitzea ala ez.
- Metodoaren zehaztasuna eta detekzio limitea gure analisirako egokia izatea.
- Laginean egon daitezkeen bestelako konposatuak, analisia eragotzi dezaketenak.
- Metodoaren kostua, batez ere analisi errepikakorren kasuan.
- Metodoaren arriskuak eta hartu beharreko neurriak arriskuak saihesteko.
- Literaturan zein metodo izan den aukeratua.
- Pertsonalki nahiago dena.

Esperimentuetako errorea

Benetako balioa eta balio esperimentalaren arteko aldea, neurketetan azaltzen diren zehazgabetasun ekidin ezinak. Errore esperimentalak daudela eta, neurtutako balioa konfiantza altuarekin, ertainarekin edo txikiarekin onartuko da erabilitako teknikaren arabera.

Errore esperimental motak

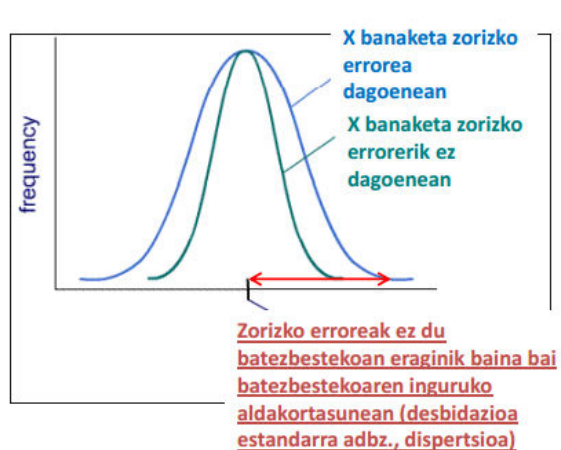
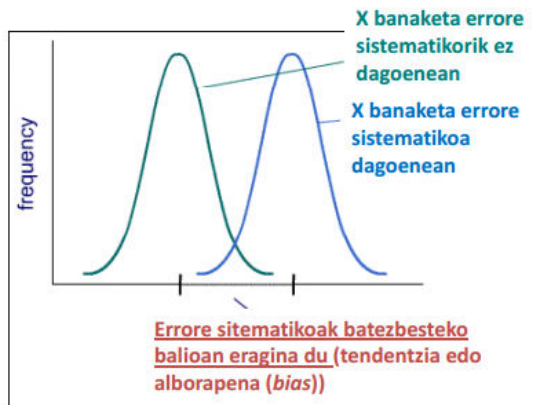
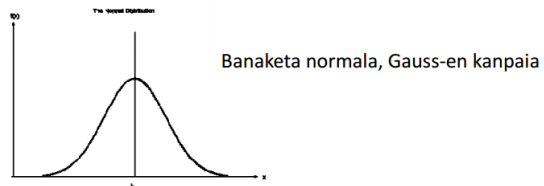
- **Errore sistematikoa:** Errepikakorrek diren zehazgabetasunak, beti noranzko berean ematen direnak (beti balio zehatzaren gainetik edo azpitik) eta maiz esperimentu osoan zehar irauten dutenak. Adibidez, mikropipeta horia erabiltzen dugun bakoitzean markatua dagoena baino 5µl gutxiago hartzen du edo erabiltzen dugun balantzak beti 0,05g gehiagoko pisua ematen du gaizki kalibratuta edo tara gaizki egiten duelako. Ondorioz, esperimentuan zeharreko neurketa guztiek errore berbera pairatzen dute.
- **Zorizko errorea:** Hainbat arrazoiengatik bi noranzkotan ematen den zehazgabetasuna, balio zehatzaren gainetik zein azpitik; adibidez, neurketetarako erabilitako gailuak doitasunik ez duelako ... Estatistikoki txikiagotu edo minimiza daiteke, neurketa gehiago eginez, datu gehiago pilatu eta batez bestekoa kalkulatu. Maiz, erabiltzaileak edo ikertzaileak zehazki modu berean ezin duelako neurketa egin gertatzen dira (pipeteatzearen arabera, laborategiko tenperatura ...)

Adibidez, balantza berean eraztun bera pisatzen duzu 3 aldiz eta 17.46g, 17.42g eta 17.44g lortzen dituzu. Kasu horretan neurketa gehiago egin eta batez bestekoa kalkulatu da.

Banakako zenbait neurketa egiten ditugunean neurketen balioak batez besteko baten inguruan banatzen dira.

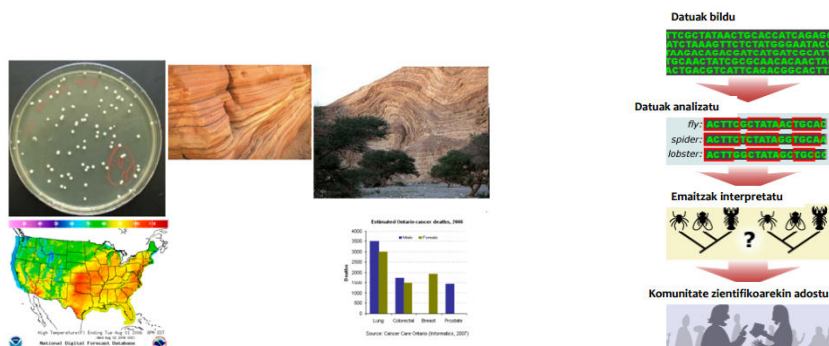
Bataz bestekoa:

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$



Datuen analisia eta interpretazioa

Datuak (datum / data): Informazio zatien bildumak dira eta zenbaki, testu edo ekintzak izan daitezke. Behaketa zientifikoak eta neurketak dira datuak, eta hauek behin analizatu eta interpretatu direnean galdera bat erantzuteko ebidentzian bihurtu daitezke. Ikertzaile guztiek biltzen dituzte era bateko edo besteko datuak.



Datu baseetan ikerlarietarako informazioa dago eskuragarri. Datuak biltzea ikerkuntzaren pausu bat besterik ez da. Jakintza zientifikoak jasotako datu-bilduma bat baino gehiago da eta logika jarraituz bildu behar dira. Prozesamendu eta analisiari esker datuak baliagarria den informazioan bilakatuko dira eta prozesatutako eta analizatutako datuak interpretatu egingo dira ideia edo hipotesi zientifikoak sostengatuko dituzten ebidentzian bilakatu daitezke.

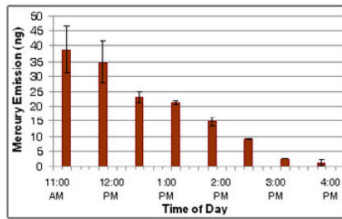
Datu gordinak (raw data): Prozesatu gabeko datuak dira; zenbaki-taulak (datak eta temperaturak), deskribapenak (laintuta, tokia ...) eta selektiboki erabiltzeko, antolatu eta analizatu behar dira. Adibidez, erosi bateko kaja batean datu pila biltzen dira, baina, prozesamendurik gabe informazio gutxi lor daiteke. Datu horiek prozesatu gero, zer erosten den gehien, zein motatako gauzak erosten diren, zein ordutan, zein prezioetakoak ... jakin ahal izango genuke.

Azken urteetan aldizkarietan grafiken erabilera areagotu egin da, izan ere, grafikoak erraz egiteko software-ak daude eta lortzen diren datu bildumak ikaragarri handiak direnez, ezinbesteko da hauek modu egokian interpretatzeko irudikatzea. Datuak irudikatzeko grafikoen gain, irudiak, animazioak, mapak eta satelite irudiak ere erabiltzen dira. Beraz, datuak analizatu eta interpretatzeko modu bat da eta ikerkuntzako arlo guztietan erabiltzen da. Science aldizkariako grafiko gehienek bi aldagaien arteko erlazioa erakusten dute, bata x ardatzean eta bestea y ardatzean.

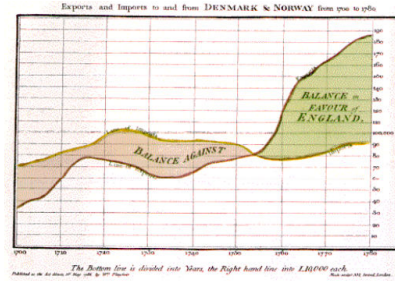
Grafika bat ikusterakoan testua bezain beste irakurri eta berrirakurri behar da.

- Grafikoa deskribatu behar da: Zer dio tituluak? Zein aldagai dago x ardatzean eta zein y ardatzean? Zein dira erabiltzeko unitateak? Zein da kolore eta sinboloen esanahia?
- Datuen deskribapena: Zein da datuen tartea? Zein patroi, bilakaera, joera antzeman dezakegu grafikoan?
- Amaitzeko datu horiek interpretatu behar dira ezagumendua erabiliz. Adibidez, bilakaeren esanahia interpretatu.

Ziurgabetasunaren neurria ere irudika daiteke

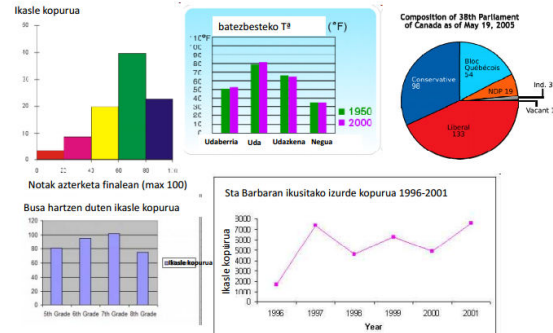
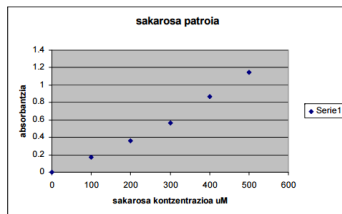


Egunean zeharreko luraren merkurio-isurien batezbestekoa eta desbidazio estandarrek (neurketa bakoitzaren aldakortasuna).



1708-1780
Ingalaterrako inportazio-espurtazio balantzea

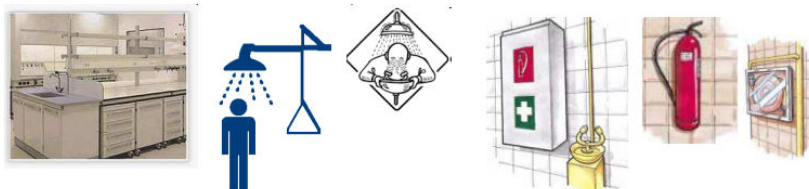
[sakarosa] μM	Abs540
0	0
100	0.172
200	0.361
300	0.568
400	0.868
500	1.149



Segurtasuna laborategian

Laborategiko oinarrizko segurtasun neurriak

- Laborategiak diseinu egokia eduki behar du; banaketa, instalazioak, aireztatena ...
- Ezinbestekoa da larrialdietarako dutxak, begiak garbitzeko iturriak, estintoreak, botikina ... non dauden jakitea.
- Laborategiko pasillo eta irteera sarreretan oztoporik ez du egon behar.

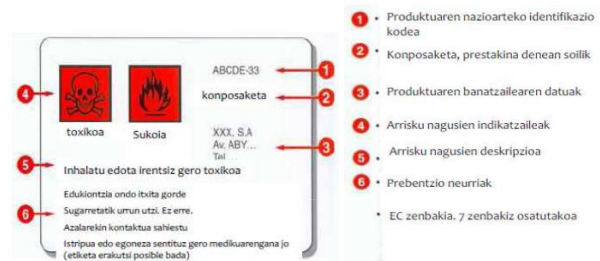


Jokabide ohiturak

- Bata, betaurrekoak eta eskularruak erabili behar dira eta baita maskarilla ere beharrezkoa denean.
- lleak jasota eraman behar dira (koleta).
- Ezin da jan, edan edo erre.
- Eskuak garbitu behar dira laborategitik irten aurretik.

Lan ohiturak

- Lana planifikatu behar da.
- Lana lasai egin behar da, presarik gabe.
- Lan mahaia txukun mantendu behar dira lanerako behar ez ditugun gauzak bertatik kenduz.
- Ahal denean gas edo ke kanpaiak erabili.
- Substantzia kaltegarri edo toxikoein lan eginez gero, azalarekiko kontaktua eta substantzia hauen irenstea saihestu.
- Ekipo, instrumentu edo aparatu bat erabili aurretik hauen erabilera ikasi.
- Laborategitik mugitzerakoan kontuz ibili, lanean ari direnei enbarazurik egin gabe.
- Ez erabili pitzatutako beirarik.
- Likidoren baten isurketa botilatik prezipitatu ontzi batera kontuz egin.
- Substantzi solidoak hartzeko espatulak edo kutxarilak erabili.
- Likidoak hartzeko pipetak erabili. Sekula ez pipeteatu ahoarekin.
- Erabili aurretik produktu eta material guztien etiketak eta egoera berrikusi.
- Prestatutako soluzioak ondo izendatu; konposaketa, noiz prestatu den eta izena markatuz.
- Laborategiko lana amaitutakoan material eta erreaktibo guztiak dagokien lekuan gorde, mahaia garbitu eta aparatuak (gasa, iturria) itxi.
- Hondakinak dagokien edukiontzietara bota.



Substantzia kimikoen manipulazioa

Pertsona edota ingurunearentzat kaltegarriak izan daitezkeen substantziak:

- **Leherkorrak:** Bero, sugarren, talka edo urratzeen eraginez eztanda egin dezaketen substantzia edo prestakinak.
- **Oxidatzaileak:** Peroxidoak, kloratoak, perkloratoak, nitratoak, permanganatoak ...
- **Suharberak:** Gasolina, etanola, isopropanola, metanola, azetona ...
- **Toxikoak:** Beruna, merkurioa, asbestosa (amianto, heriotza isila eragiten du), HF, kloroa
- **Korrosiboak:** Azido sulfurikoa, klorhidrikoa, zilar nitratoa, HF
- **Narritagarriak:** potentzialki kaltegarriak; azal, begi edo arnas aparatuan eragin dezakete.
- **Ingurumenarekiko kaltegarriak**
- **Substantzia kantzerigenoak, teratogenikoak** (enbrioi edo fetuaren garapenean eragina izan dezaketen substantziak), **mutagenikoak eta alergenikoak**

	+	-	-	-	+
	-	+	-	-	-
	-	-	+	-	+
	-	-	-	+	0
	+	-	+	0	+

+	Batera gorde daitezke
0	Neurriak hartuz gero batera gorde daitezke
-	Ez dira batera gorde behar

Azidoak baseetatik bereizi behar dira, oxidatzaileak sukoietatik eta substantzia toxikoak eta kantzerigenoak toki ezberdinetan gorde behar dira.

- **Biohazard:** bakterioak, birusak, onddoak, parasitoak... jario biologikoak (odola, plasma, txistua, hazia...). Hauek zakarretara bta aurretik esterilizatzea derrigorrezkoa da.

Hondakinak

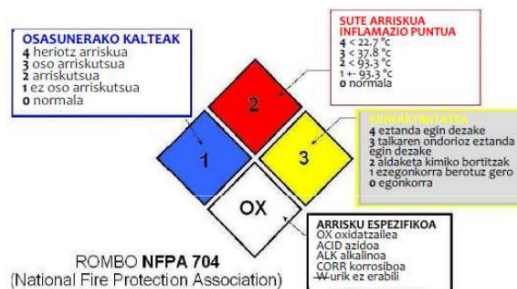
- Hiri-hondakinekin parekatu daitezkeen hondakin birziklagarriak: plastikoa, papera, beira ...
- Hondakin kimikoak
- Hondakin biologikoak

Edukiontzi bereziak

- Plastikoa, paper, kartoia eta apurtutako beirentzako.
- Ingurunearentzat toxiko edo kaltegarriak diren errektibo toxikoak, korrosiboak, erradiaktiboak eta disolbatzaile organikoak botatzeko edukiontziak.
- Hondakin biologikoentzako edukiontziak.

Sua laborategian

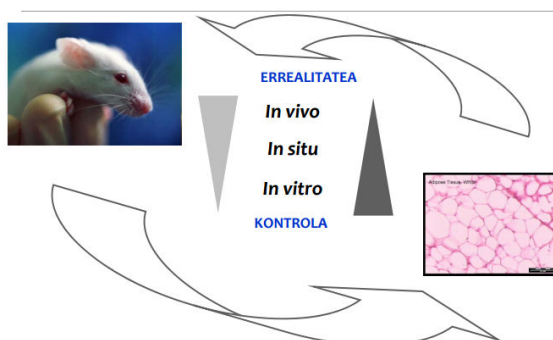
Temperatura oso altua izaten da eta gerta liteke batzuetan garra ez ikustea ere, transparente modukoa izaten baita. Estatu Batuetan garatutako kodigoa da, zenbait enpresetan erabiltzen da.



- Estintoreak erabili
- Inoiz ez erabili ura disolbatzaile batek eragindako sua itzaltzeko
- Arropak su hartuz gero ez egin korrika eta ez erabili estintoreak. Sutan dagoen pertsona lurrera bota eta birak eman sua itzaltzeko.
- Erredura txikiak ur korrontez sendatu. Erredura larriagoak gertatuz gero medikuarengana joan.
- Beiraz egindako ebakiak ur korrontean garbitu.
- Produktu kimikoak larruazalean isuriz gero, ur korrontean jarri minutuko zonaldea. Zonaldea zabala bada segurtasun dutxa erabili

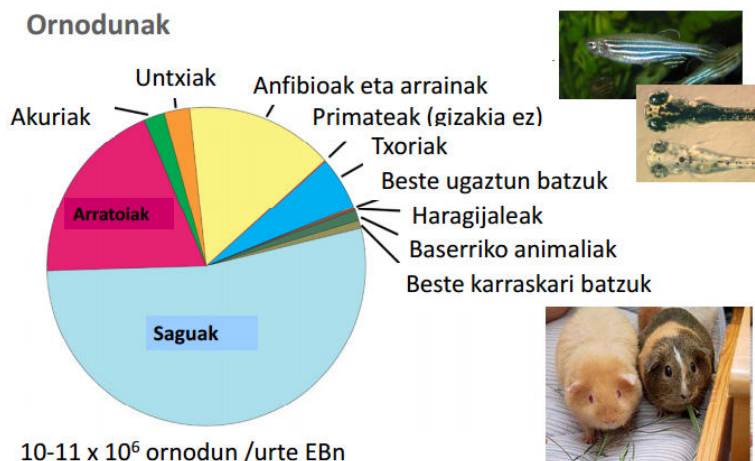
Esperimentazio mailak biokimikan

- **Molekula:** Atomo taldea
- **Organulua:** Biomolekulez osatutako talde funtzionala
- **Zelula:** Biziaren oinarriko unitatea den organulu taldea
- **Ehuna:** Funtzionala den zelula multzoa
- **Organoa:** Funtzionala den ehun multzoa
- **Organo sistema:** Funtziodun organo multzoa
- **Biziduna:** Oinarriko bizidun sistema, funtzioduna den azpiko osagaien multzoa, gutxienez zelula bat duelarik.



- **In vivo:** Bizidun oso bat erabiltzen denean, hau da, bizidunean bertan burutzen denean (animalia edo pertsona egoera normalean). Aldagaien aldaketak itzelak dira hori dela eta emaitzak interpretatzea zailagoa da.
- **In vitro:** Plaka batean edo burutzen denean, baldintza kontrolatuagoetan. In vitro erabilia kontrol zehatzagoa izaten da baina errealitateetik urrunago dago.
- **Ex vivo:** Zelula atera, tratatu eta berriro sartu.
- **In situ:** Bizidunean bertan egiten da, baina, atal batean zentratua dago eta ez egoera normalean.

Esperimentuak burutzeko animalia ugari erabiltzen dira, baina, etika batzordeen kontrol zorrotza dela eta, animalien erabilera gutxiagotzen ari da. Ikerketan animalia ornodunak, ornogabeak, zelula prokarioto nahiz eukariotoak ... erabiltzen dira. Saguen eta gure genoma osos antzeka denez, ikerkuntza munduan gehien erabiltzen diren animaliak saguak dira.



Ornogabeak



Drosophila melanogaster



Caenorhabditis elegans

Drosophila melanogaster: Frutetara hurbiltzen da.

Escherichia coli: Metabolismoari buruz dakiguna honi esker dakigu. Zelula hauek etengabe hazten dira eta hurbiltasun biologiko handia dute. Emakumeari biopsian ateratako zelulak, umetokian minbizia zuena ...

Organuluak: Organuluak isolatzeko zelulak apurtu egiten dira, hau da, zelulak frakzionatu egiten dira organuluak apurtu gabe.

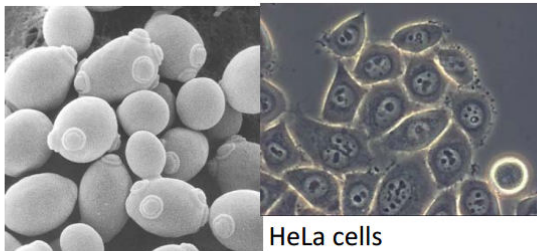
Zelulak

Prokariotoak



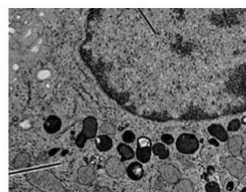
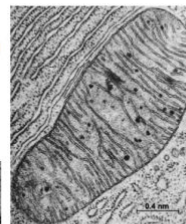
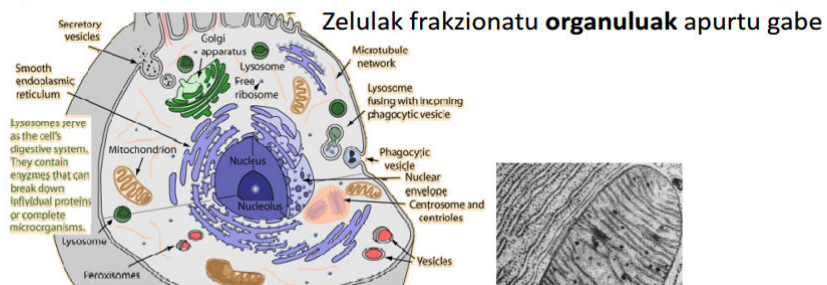
Escherichia coli

Eukariotoak



HeLa cells

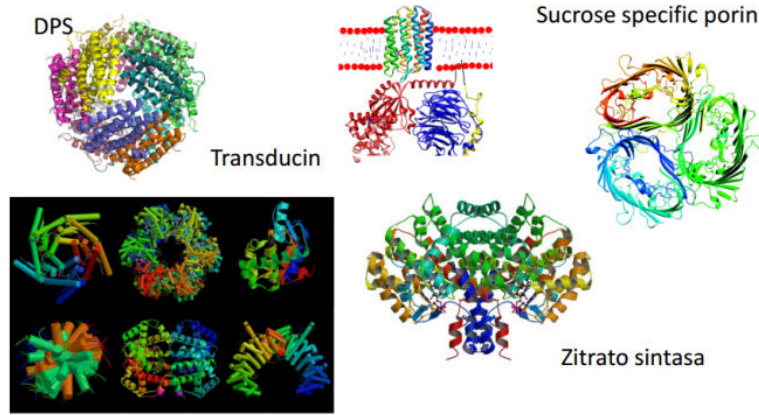
Saccharomyces cerevisiae



Molekula-maila

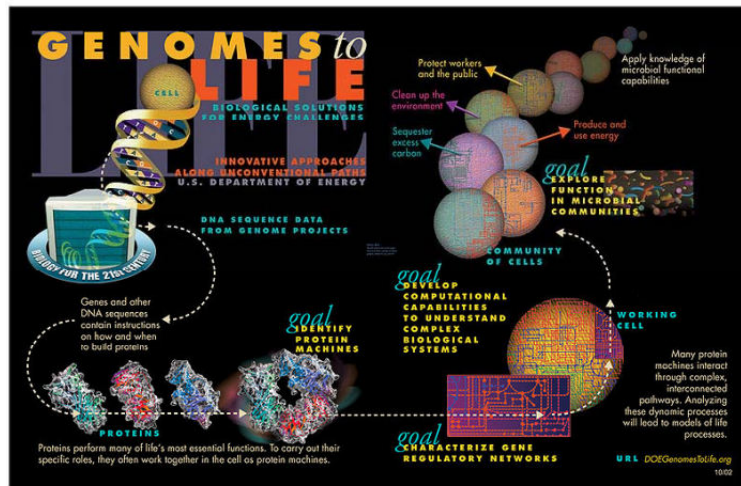
ADNa, proteinak, lipidoak ... Gorputzeko zelula guztiek genoma berdina dute eta proteinak dira zelulako faktore printzipalak (energia lortzeko, komunikaziorako ...) eta hauen egitura eta funtzioen artean lotura zuzena dago.

Molekula-maila: egitura eta funtzioa



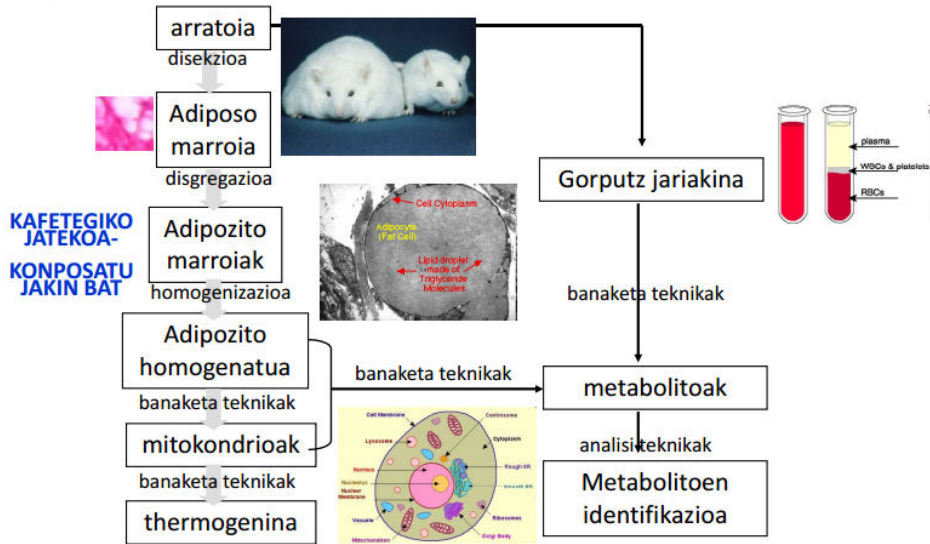
Sistemen Biologia

Sistemen biologia (*Systems biology*)



Ikerkuntzan orain arte joera erredukzionista eman den arren, gaur egun zelularen osotasunean jarduteko joera da nagusi. Biologiak, teknologiak eta konputazioak berebiziko garrantzia izan dute (zelularen frakzionamendua, zer den ezagutzeko ...).

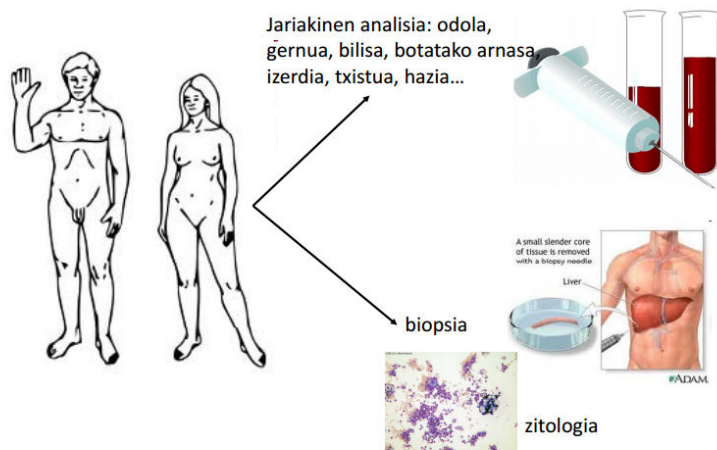
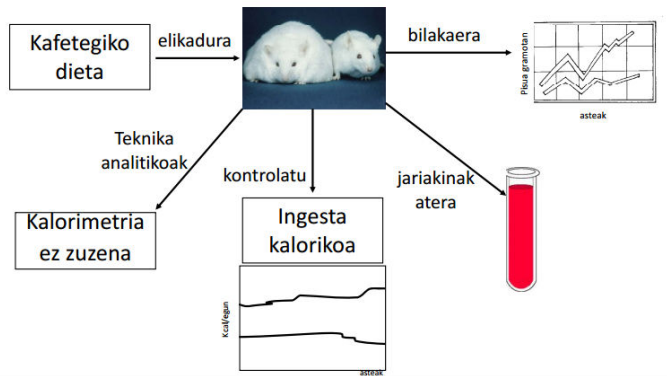
Obesitatearen froga



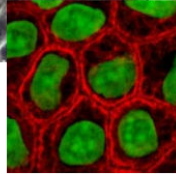
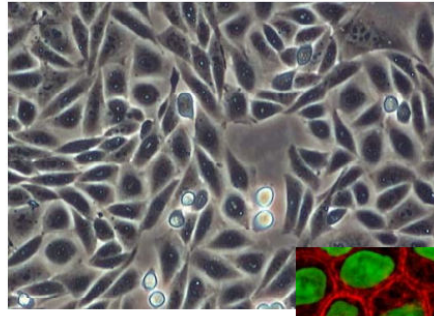
Esperimentazio mailak biokimikan

- Animalia edo landare osoa
- Isolatutako ehunak
- Ehun eta zelula hazkuntzak
- Organuluak
- Molekulak

Animalia osoa



Ehun- eta zelula-hazkuntzak



X konposatua



Y konposatua



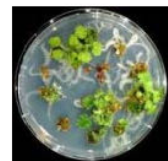
mRNA ikertu, proteinen adirezpena

Proteinak purifikatu, funtzioa, egitura, interkazioak... ikertu

Zelula hazkuntzak

Zelulen hazkuntzak: Ehun edo organoetatik isolatutako zelulak in vitro hazi eta mantentzeko teknika.

- Animalia zelulak
- Landare zelulak
- Mikroorganismoak (bakterioak, onddoak eta legamiak)



- Baldintza esteriletan lan egin behar da; zelula-hazkuntza puru esterilak.
- Teknika aseptiko egokiak erabili behar dira.
- Zelulen hazkuntza optimoa bermatzeko baldintza egokiak.

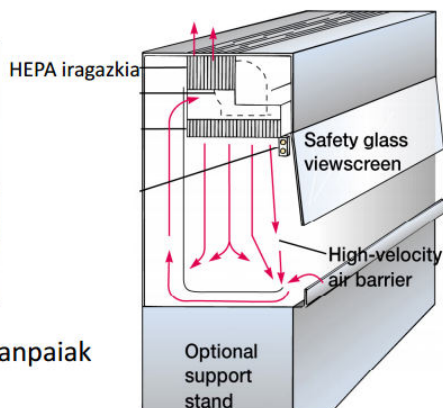
Behin hazten hasita zelulen **hazkuntzak ikerketa ezberdinetarako erabil daitezke**: zelula barneko prozesuak ikertzeko, hala nola, proteinen sintesia, seinalizazioa edo drogen metabolismoa, zelulen arteko elkarrekintzak aztertzeko, genetika, antigorputzen ekoizpena, birusen infekzioak, farmakoen eragina, toxikotasun maila ...

Zelula **hazkuntzak laborategi berezi batzuetan egiten dira**, fluxu laminarreko kanpaietan eta baldintza guztiz esteriletan. Ikus daitekeen bezala garbiketa etanolarekin egiten da. Argi ultramoreak mikroorganismoak hiltzen ditu, eta hau neurri garrantzitsua da baldintza aseptiko edo esterilak mantentzeko.

Laborategia eta ekipamendua



Fluxu laminardun kanpaiak



garbiketa **70% EtOH**

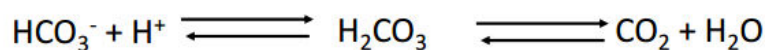
Karbono dioxidoa pH-aren mantenurako beharrezkoa da, izan ere, zelulek ekoiztutako hondakinen ondorioz azidotu egingo litzateke ingurua.



CO₂ inkubatzaileak

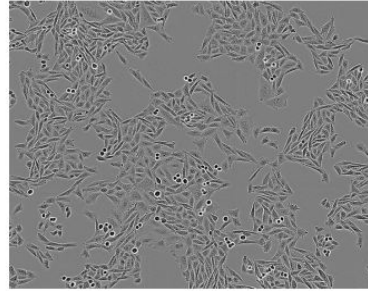
37 °C eta 5-10% CO₂

pH 7.2-7.4





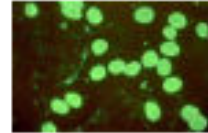
Mikroskopiaok
Fase-kontrastedun
mikroskopiaok



Kontaminazioak

Zelula hazkuntzak baldintza esteriletan burutzen diren arren, gerta liteke kontaminatuak izatea

Onddo eta bakterioei dagokienez, hautemateko oso errazak dira. Hauek kutsatutako medioa uherra izan ohi da, medioaren kolore aldaketa eragiten dute (horixka), hifak sortzen dira ...



Mycoplasma (prokariotik txikiena) : Ez dute paretarik eta gehienetan ugaztun-zelulen zitoplasma kutsatzen dute. Oso zaila izaten da hautemateko eta baita eliminatzeko ere.

Hazkuntza Motak

Hazkuntza primarioak: Entzimatikoki disoziatutako ehunetik zuzenean eratorritako zelula-kultiboak. Biopsiatik desintegratutako zelulak, zelula mota ezberdinak eta hilezkorak ez direnak.

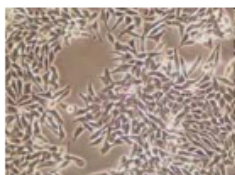
Zelula-lerroak: Infinituko ahazteko ahalmena duen zelula mota bakarrez osatutakoak. Zelula-lerroen bildumetan erosi daitezke (ECACC = European Collection of Animal Cell Cultures)

Table 2.1 **Examples of cell lines supplied by commercial sources**

Cell line	Morphology	Species	Tissue origin
BAE-1	Endothelial	Bovine	Aorta
BHK-21	Fibroblast	Syrian hamster	Kidney
CHO	Fibroblast	Chinese hamster	Ovary
COS-1/7	Fibroblast	African green monkey	Kidney
HeLa	Epithelial	Human	Cervix
HEK-293	Epithelial	Human	Kidney
HIT-29	Epithelial	Human	Colon
MRC-5	Fibroblast	Human	Lung
NCT-H660	Epithelial	Human	Lung
NIH/3T3	Fibroblast	Mouse	Embryo
THP-1	Monocytic	Human	Blood
V-79	Fibroblast	Chinese hamster	Lung
HEP1	Hepatocytes	Human	Liver

Animalia zelulentzako hazkuntza medioa

- Elikagai nahasketa konplexua (aminoazidoak, gluzidoak (glukosa) eta bitaminak).
- Gatz inorganikoak: magnesioa, sodioa, potasioa, kaltzioa, fosfata, kolora, sulfata eta bikarbonata.
- Espektra zabaleko antibiotikoak: penizilina eta estreptomizina
- pH indikatzailea: fenol gorria
- Seroa: behi jatorrizkoa



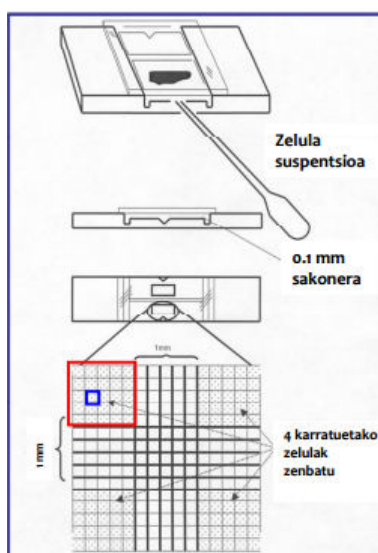
Phenol red	
below	above
pH	pH
6.8	8.2

Zelulen azpi hazkuntzak

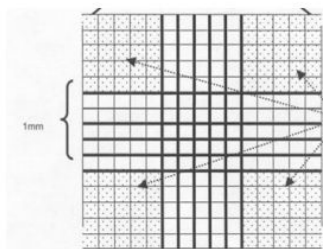
Zelula kopuru handitzen doan heinean, hondakin kopurua handitu eta elikagaiak gutxitzen dira. Hori dela eta, zelulak jaso, medio freskoan diluitu eta botila (medio) berri batera pasatzen dira hazten jarraitzeko. Normalean astelehen eta ostegunetan burutzen da prozesu hau eta "paseak" egitea deritzo honi, ezinbestekoa da zelulak osasuntsu mantentzeko.

Azalera itsasten diren zelulak azalera guztia betetzen dutenean **hazkuntza konfluenta** dela esango dugu, bat egiten duten zelula guztiek zelula geruza bat osatzen dutenean alegia. Tripsina zelulak bakantzeko erabiltzen da. Hala ere, badaude zelula batzuk ez direnak itsasten, suspentsioan egoten dira.

Zelulen kuantifikazioa **hemozitimetroaren** bidez egiten da.



$$\text{Zelulak / ml} = \frac{\text{batezbesteko zelula kopurua}}{\text{karratuko bolumena}} \times \text{diluzioa} \times \text{bolumena}$$

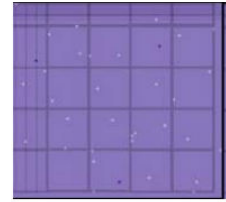


Karratuko bolumena: $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 0.1 \text{ mm} = 0.1 \text{ mm}^3 = 0.1 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$ ($\text{cm}^3 = \text{ml}$)

Karratu txikiko bolumena: $0.1 \times 10^{-3} \text{ ml} / 25 = 4 \times 10^{-6} \text{ ml}$

Zelulen bideragarritasuna: Zenbat zelula dauden bizirik eta zenbat hilik jakiteko *tripan urdina* erabiltzen da.

$$\text{Zelulen bideragarritasun \%} = \frac{\text{Koloreztu gabeko zenbatutako zelulak}}{\text{Zenbatutako zelula kopuru totala}} \times \text{diluzioa} \times \text{bolumena}$$



Osasuntsu dauden zelulentzat tripan urdina iragazgaitza da. Hilik dauden zelulek mintzean arazoren bat izango dute eta ondorioz tripan urdina barneratuko da zelula barnera.

Zelulek tenperatura eta bestelako baldintza egokiak behar dituzte ondo hazteko, hau da, zelulek aireztapena ere beharrezkoa da.

Honen bidez koloniak oso ondo banatzen dira eta bakterio bakar batetik eratorria den kolonia lor genezake.

Mikroorganismoen hazkuntzak
Bakterioak, onddoak, legamiak...

Escherichia coli
Saccharomyces cerevisiae
Aspergillus

Baldintza aseptikoak: fluxu laminarreko kanpaiak edo Bunsen metxeroa

Ereinketa euskarria

Medio solidoetan agar agarra gehitzen da, algetatik eratorritako polisakaridoa. Medio hauek autoklabean esterilizatzen dira.

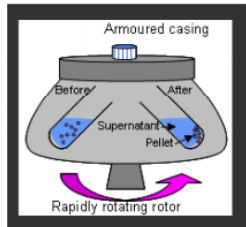
Autoklabea laborategiko materiala eta medioak esterilizatzeko erabiltzen den tresna da, presio zein tenperatura altuko ur-lurruna erabiltzen duena (“bero hezea”). Bakterioak hiltzen ditu baina dirudienez prioiak ez. Azpian ura egoten da eta tenperatura altuaren eraginez ura lurruntzean, honek presioa eragiten du eta medioek ez dute irakiten.

Medio likido eta solidoak

Zelulak banatzeko teknikak

Zentrifugazioa

Zelulak, frakzioa azpizelularrak, molekula-konplexuak eta makromolekulak (proteinak eta azido nukleikoak) isolatu eta aztertzeke ezinbesteko teknika da. Zentrifuga bat partikulen tamaina, forma eta dentsitatearen arabera, bai eta medioaren biskotsitatea eta errotorearen abiaduraren arabera partikulak banatzen dituen aparatua da.



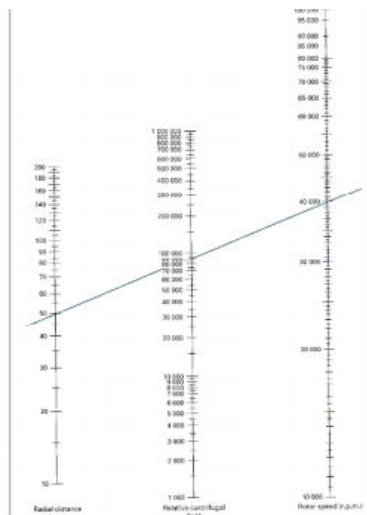
- *supernatant* (sobrenadante)= gainjalkina
- *pellet* (sedimento)= jalkina

Zentrifugazio indar erlatiboa xg (RCF) bezala adierazi ohi da, lurraren gainazalean grabitazioaren ondoriozko azelerazioa delarik ($9,8m /s^2$).

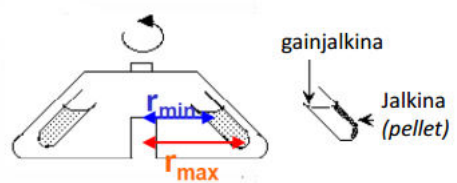
r.p.m bezala adierazten da zentrifuga baten errotorearen biraketa-abiadura. **Baina r.p.m berdinean biratzen duten erradio desberdineko bi errotorek indar zentrifugo erlatibo desberdina eragingo dute saio-hodiaren gainean.**

$$RCF \text{ (relative centrifugal force)} = 1.12 \times 10^{-5} \times r \times r.p.m.^2$$

RCFa da soluzio bateko partikulak banatzen dituen, ez rpm-a.



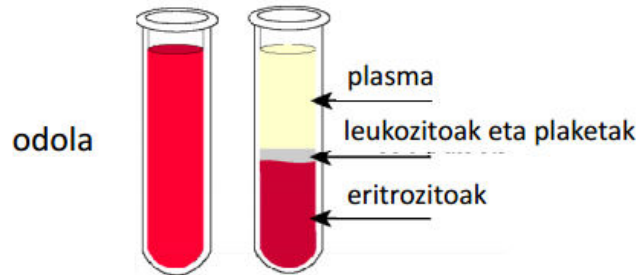
nomogramoa



Nomograma: erregela eta kurba graduatuak erabiliz bi balio edo gehiagori dagokien beste balio bat kalkulatzeko erabiltzen den diagrama bat da.

Errotore-abiadura eta erradio jakin baten RCF kalkulatzeko nomogramoa. Lehen zutabeak distantzia radiala (mm-tan), 2. eta RCF (matematik ez) eta 3. eta errotorearen abiadura (r.p.m. tan) dagor adierazita. RCF eta errotorearen abiaduraren arteko konbentsioa egonko balio eratorrituak arren zuzen bat iradikatu.

Jalkitze- indizeak partikula batek eremu zentrifugo batean duen abiadura adieraziko digu. Sedimentazio- abiadura aplikatutako eremu zentrifugoaz gain, partikularen beraren naturaren araberkoa ere bada (forma) eta Svedberg unitatetan adierazten da. 1 Svedberg (S) = 10^{-13} s
 Erribosomak: 70S (30S +50S)



- Zenbat eta dentsitate altuagoa izan egitura biologikoa arinago jalkiko da eremu zentrifugo baten pean.
- Zenbat eta handiagoa izan partikula biologikoa arinago mugituko da eremu zentrifugoan.
- Soluzio indargetzailea zenbat eta dentsuagoa izan, astiroago mugituko da partikula biologikoa.
- Zentrifugazio indarra handiagoa denean arinago mugituko dira partikulak.
- Partikula baten sedimentazio abiadura 0 izango da beronen dentsitatea eta ingurunekeo medioarena berdinak direnean.
- Zenbat eta frikzio-koefizientea handiagoa izan orduan eta polikiago mugituko da partikula biologikoa.

Errotore motak



Angulu-finkoko errotorea



Hodi bertikaldunak



errotore kulunkaria

Swinging-bucket

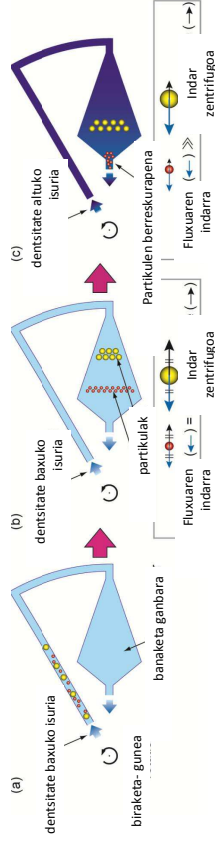
Zentrifuga motak



- Abiadura maximoa
- Hutsa duten ala ez
- Laginak hotzetan mantentzeko ahalmena (arinago piztu)
- Laginen bolumen maximoa eta zenbat hodi zentrifuga daitezke aldi berean

Zelula ezberdinak banatzeko teknikak

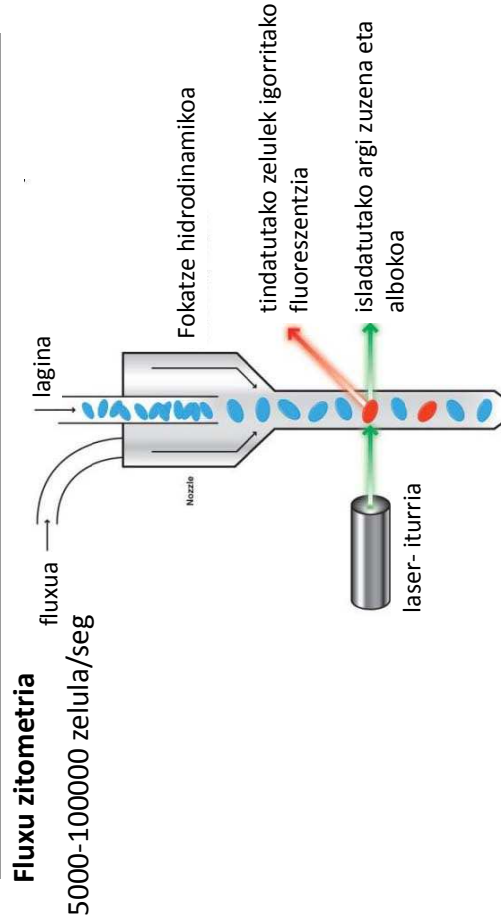
Elutriazio zentrifugoa Sedimentazio indizea eta kontrako fluxua



- Zelulei kalterik ez
- Zelula bideragarrien berreskurapena
- Banandutako zelulak erabil daitezke
- Linfzito (6-8mm) vs monozitoak 8-10 μm

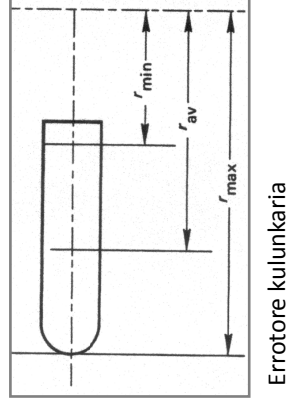
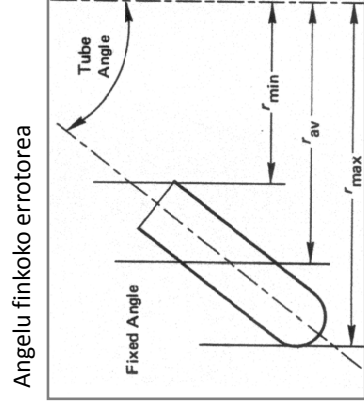
- Azkarra
- Sedimentazioaren (tamainaren) arabera banaduko dira; ezin izango dira ezaugarri desberdinen arabera banandu

Zelula ezberdinak banatzeko teknikak



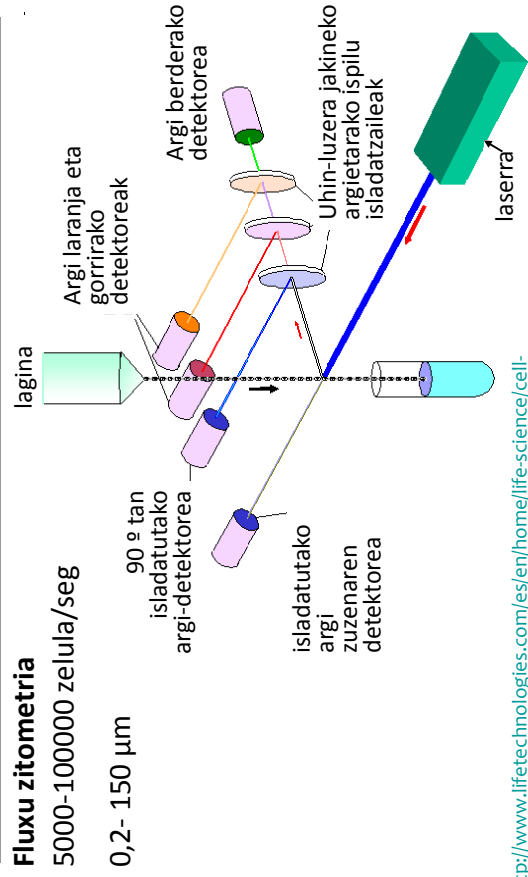
Fluxu zitometria
5000-100000 zelula/seg

Zentrifugazioa



Errore kullunkaria

Zelula ezberdinak banatzeko teknikak



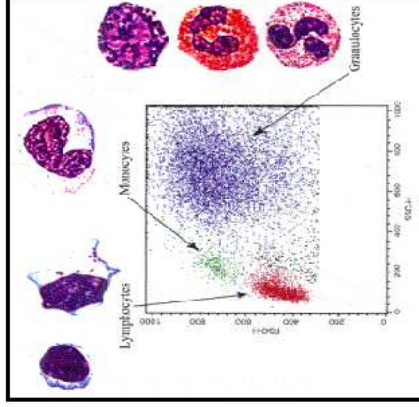
Fluxu zitometria
5000-100000 zelula/seg
0,2- 150 μm

<http://www.lifetechnologies.com/es/en/home/life-science/cell-analysis/flow-cytometry/flow-cytometry-technical->

Zelula ezberdinak banatzeko teknikak

- Isladatutako argi zuzenaren intentsitatea tamainarekiko proportzionala

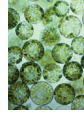
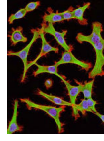
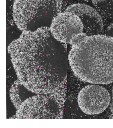
- Isladatutako alboko argiaren intentsitatea, konplexutasunaren araberakoa



Zelula/Ehun-homogeneizazioa

HOMOGENEIZAZIOA

- Bakterioak: zelula-pareta eta mintza
- Onddoak (legamiak): pareta lodia eta mintza
- Ugaztun-zelulen hazkuntzak: mintza soilik. Oso hauskorrak
- Landare-zelulen hazkuntzak: zelulosazko pareta (esporak zailak apurtzeko).

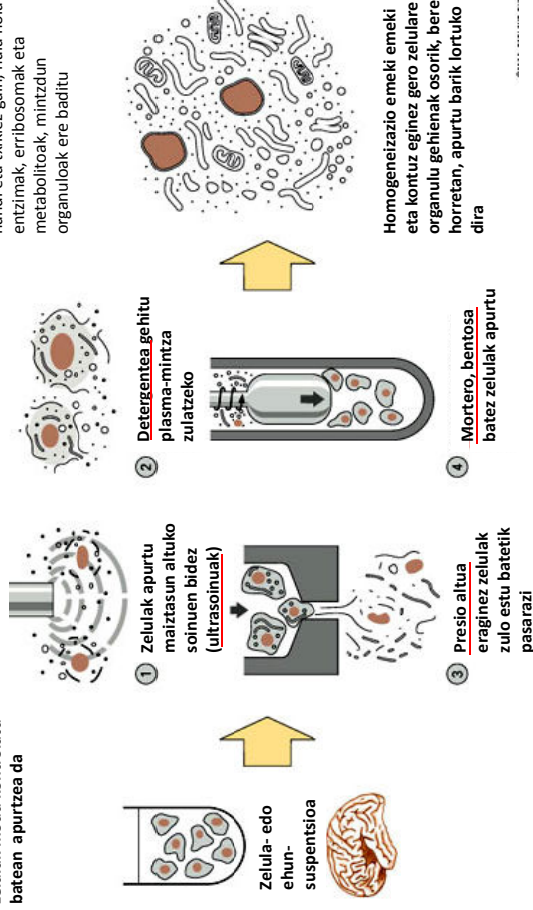


Ehun eta zelulen apurketa

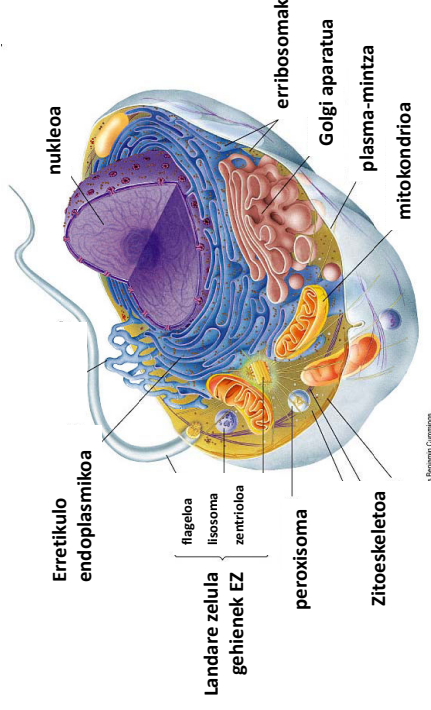
Organulu edo proteinen purifikaziorako lehen pausua ehunak edota zelulak modu kontrolatu batean apurtzea da

Badira zelulak homogenizatzekeo prozedura mekaniko sotilak non zelulien plasma-mintza apurtu eta zelula barneko edukia askatzen den. Azpian ohikoak diren lau prozedura ikus ditzakezu

Lortutako zopa likatsua erauzkin edo **HOMOGENATU** deritzona, zitosoleko molekula handi eta txikiez gain, hala nola entzimak, erribosomak eta metabolitoak, mintzdun organuloak ere baditu



Zelula/Ehun-homogeneizazioa



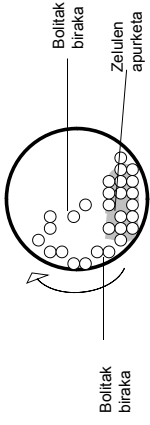
Zelula/Ehun-homogeneizazioa

HOMOGENEIZAZIO-METODOAK

- Mekanikoak
 - bihitxoak
 - french-press
 - sonikazioa
- Ez mekanikoak
 - detergenteak (surfaktanteak)
 - entzimak (lisoizima, zimoliasa...)
 - txoke osmotikoa

Zelula/Ehun-homogeneizazioa

Bihierrota (Bead-Mill)



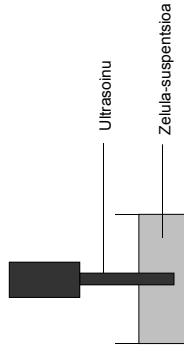
Bakterio, legami, landare-zelulak eta animalia-zelulak

Bihien tamaina: 0.1 mm-tik 7 mm-tara

Bihien materiala: beira, zeramika, altzairua, tungstenoa...

Zelula/Ehun-homogeneizazioa

Sonikazioa



- maiztasuna: 25 kHz

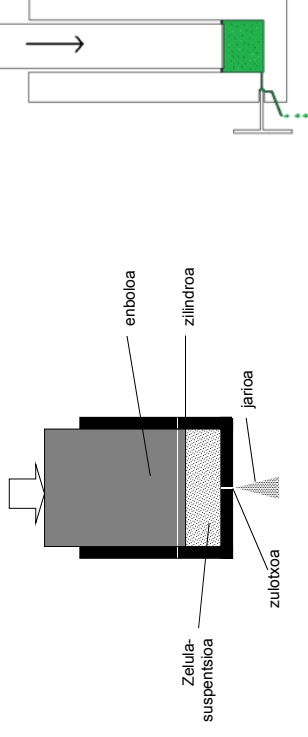
- denbora tarteak: bakterioak 30-60 segundu, legamiak 2-10 minutu

desabantailak

- Segurtasuna - zarata
- Berotu egiten da lagina
- Proteinen ezegonkortasuna

Zelula/Ehun-homogeneizazioa

French-press

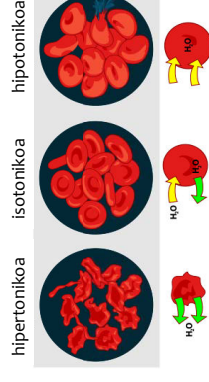


- Zelulen (baita bakterioenak ere) mintza eta paretak apurtzeko
- Kloroplastoak edo animalia jatorriko ehunak desintegratzeko...

Zelula/Ehun-homogeneizazioa

Metodo ez mekanikoak

- Kimikoak (solbenteak, detergenteak (CHAPS, Triton X, SDSa), urea, baldintza basikoak...)
- Fisikoak (txoke osmotikoa, konjelatu/urtu)
- Entzimatikoak (lisozima, zimoliasa, proteasak...)



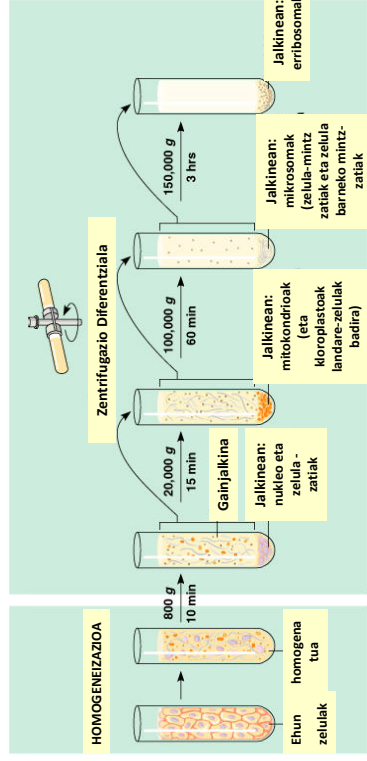
Zelula/Ehun-homogeneizazioa

Zein metodo aukeratu? Zein apurketa-eraginkortasun komeni zait?

- Zelulen hauskortasunaren araberakoa
- Ikertzen ari zaren produktuaren egonkortasunaren arabera (proteinak ikertzerakoan adbz., proteasa inhibitzaileak!!!!)
- Zure intereseko elementua zelula hondakinetatik banatzeko zailtasunak
- Metodoaren azkartasuna
- Metodoaren kostua
- Lisia egiterakoan garrantzitsua zein tanpoi, zein pH, zein T^o-tan egingo den

Zentrifugazioa (frakzionamendua)

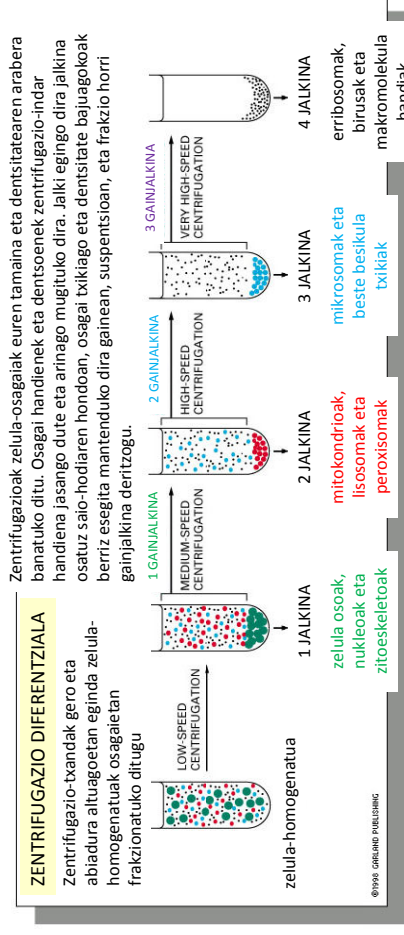
Zentrifugazio diferentziala



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

<http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/cellfractionation.n.html>

Zentrifugazioa (frakzionamendua)



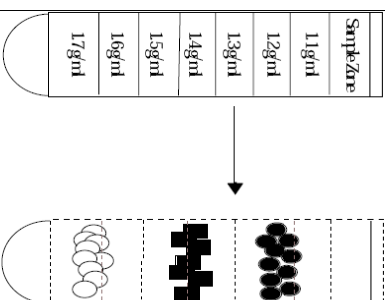
Zentrifugazioa (frakzionamendua)

Partikulak	RCF (xg)	Denbora (min)
nukleoak	1000	10
mitokondrioak	3300	10
lisosomak	16300	20
mikrosomak	100000	20
Erribosomak eta makromolekulak	300000	120

Zentrifugazioa (frakzionamendua)

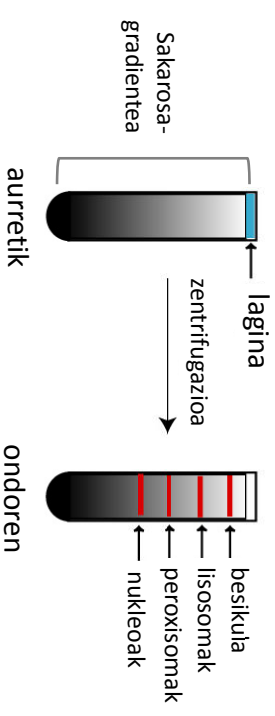
Dentsitate gradienteko zentrifugazioa

mailakako gradientea edo gradiente jarraia



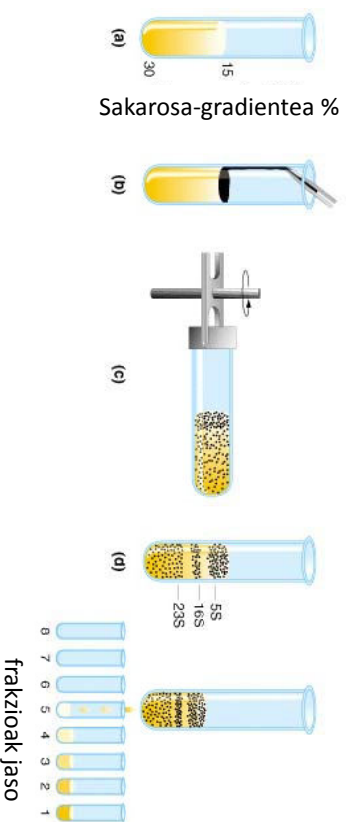
Zentrifugazioa (frakzionamendua)

Dentsitate gradienteko zentrifugazioa

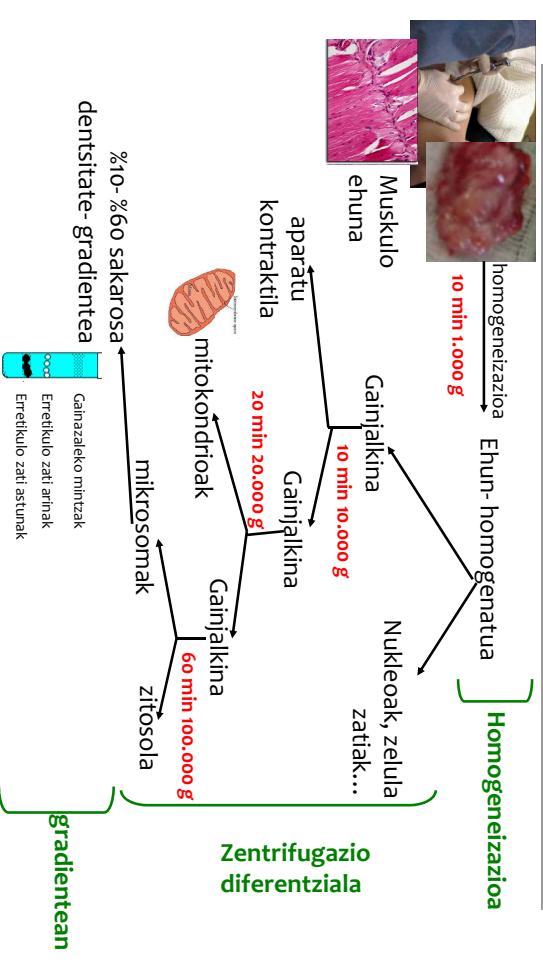


Zentrifugazioa (frakzionamendua)

Dentsitate gradienteko zentrifugazioa

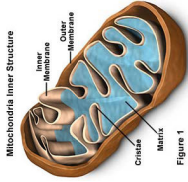


Zentrifugazioa (frakzionamendua)



Zentrifugazioa (frakzionamendua)

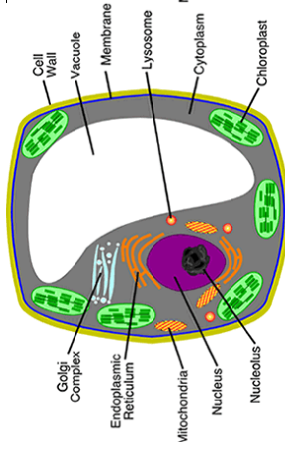
Entzima markatzaileak zelula, zelularen azpiosagai edo organulu jakin batean azaltzen diren entzimak dira, hau da, ez daudenak zelularen edozein konpartimentutan barreiatuta baizik eta organulu, zelula edo azpiosagai batera mugatuta.



Mitondrioen mikro konpartimentuetan adb.: monoamino oxidasa kanpo mintzean batez ere; sukzinato deshidrogenasa barne mintzean eta bien arteko kontaktu zonaldeetan glutation transferasa dago batez ere.

Zentrifugazioa (frakzionamendua)

- Zelula-mintza: ATPasa
- Erretikulo endoplasmikoa: glukosa-6-P
- Golgi aparatua: galactosyl transferasa
- Mitokondrioak: sukzinato deshidrogenasa
- Lisosomak: fosfatasa
- Peroxisomak: katalasa
- zitosola: laktato deshidrogenasa



Txoke osmotikoa, sonikazioa

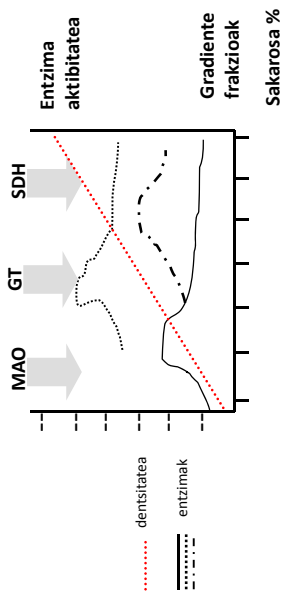
20 h 150.000 g

Kanpo-mintza (MAO, monoamino oxidasa)

Kontaktatu zonaldeak

barne-mintza (SDH, sukzinato deshidrogenasa)

% 30-70 sakarosa gradientea



Zentrifugazio analitikoa

Hasieran, zentrifugazioa hasi aurretik

absorbantzia

erradioa

zentrifugazioa

Datuak jaso

absorbantzia

erradioa