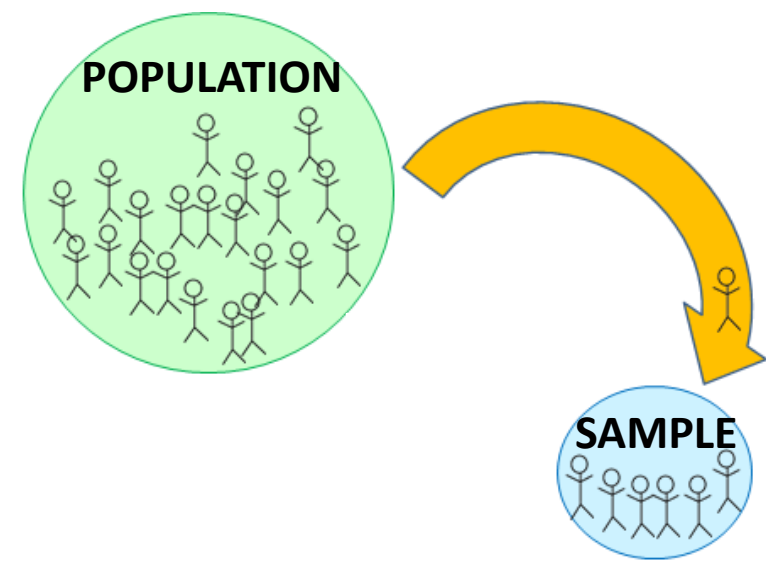


Uzorkovanje

dr. sc. Mateja Jagić

Metodologija znanstveno-istraživačko rada u biologiji, 2024/2025

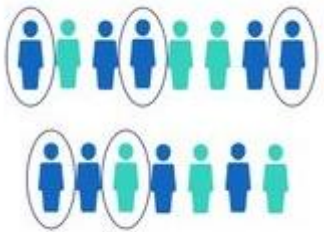
Što je uzorkovanje?



- Uzimanje uzoraka iz populacije (nasumičnost)
- Populacija: definiran skup jedinica/jedinki o kojem želimo nešto zaključiti
 - Klasa: podgrupa populacije o kojoj želimo nešto zaključiti kako bi izbjegli buku u eksperimentu
- Uzorak: skup jedinica/jedinki preuzet iz populacije na kojem se provodi istraživanje
- **Da bi statistika bila primjenjiva subjekti u uzorku moraju biti neovisni!**

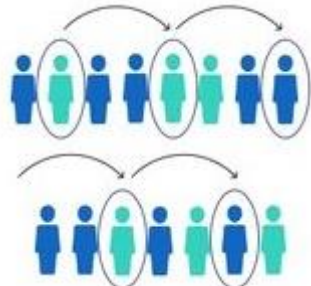
Tipovi uzorkovanja

Nasumično



Najčešće u laboratorijskim istraživanjima

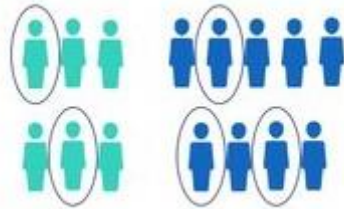
Sistematično



Obično u medicinskim i društvenim istraživanjima

↓
Kad nema uređenosti unutar istraživane populacije

Stratificirano

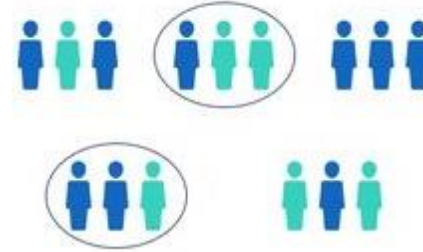


U različitim tipovima istraživanja

↓
Osigurava da su podskupine (slojevi) određene populacije adekvatno zastupljeni unutar cijele populacije

U slučajevima kad je nejednaka distribucija uzoraka

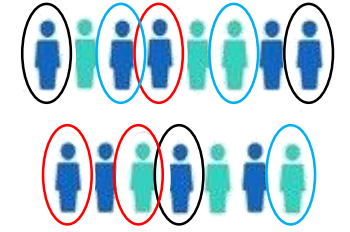
Klasterirano



Često u ekonomiji, geografiji, ali i populacijskoj biologiji

↓
Kad postoje određena ograničenja (npr. gustoća populacije, ograničena veličina uzorka, financije)

Sekvencijalno



■ Prvo uzorkovanje
■ Drugo uzorkovanje
■ Treće uzorkovanje

Kontrola kvalitete (čistoća vode, industrija...)
Klinička istraživanja
Farmakovigilancija
↓
Brzo uočavanje korisnosti i/ili štetnosti

Primjer 1.

- Provodite preliminarno istraživanje DNA metilacije za ciljanu regiju unutar gena AGL14 kojim želite utvrditi status metilacije svakog pojedinog citozina odabrane regije.

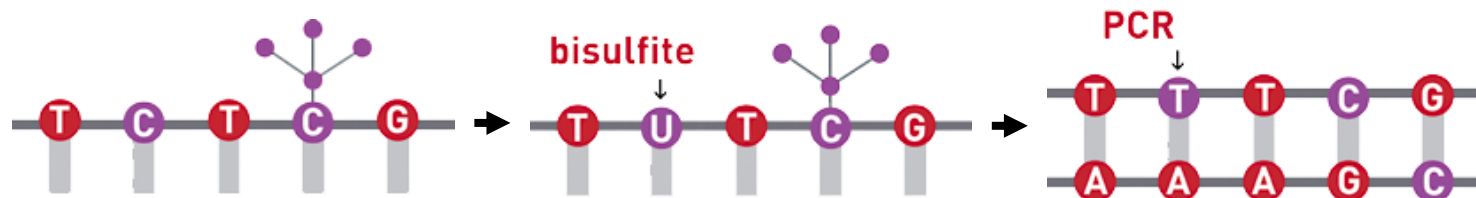


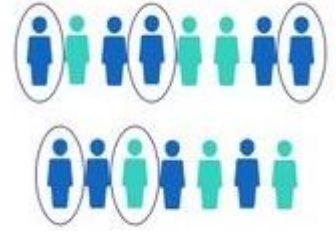
Primjer 1.

- Provodite preliminarno istraživanje DNA metilacije za ciljanu regiju unutar gena AGL14 kojim želite utvrditi status metilacije svakog pojedinog citozina odabrane regije.



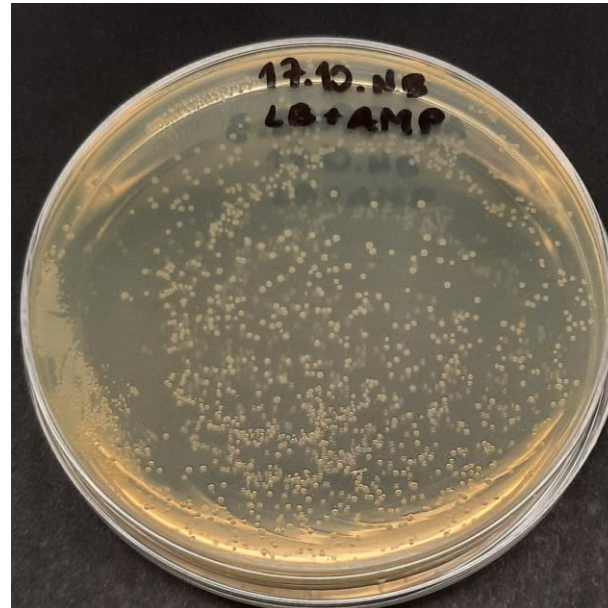
- Izolirali ste ukupnu DNA koju ste potom bisulfitno konvertirali te ste pomoću specifičnih početnica umnožili odabranu metiliranu regiju (PCR).



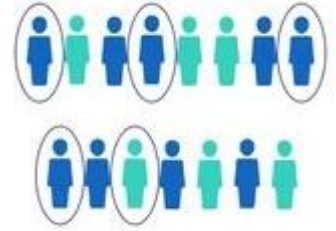


Primjer 1.

- PCR produkt ste pročistili i ugradili u vektor pGEM-T Easy (kloniranje). Takav vektor transformirali ste u kompetentne stanice *E. coli* te na selekcijskim podlogama uzgojili samo one bakterije koje su primile plazmid.
- Iz bakterija ćete izolirati plazmidnu DNA te je poslati na sekvenciranje.
- Koji tip uzorkovanja ćete koristiti kako bi odabrali bakterije čiju ćete plazmidnu DNA poslati na sekvenciranje?

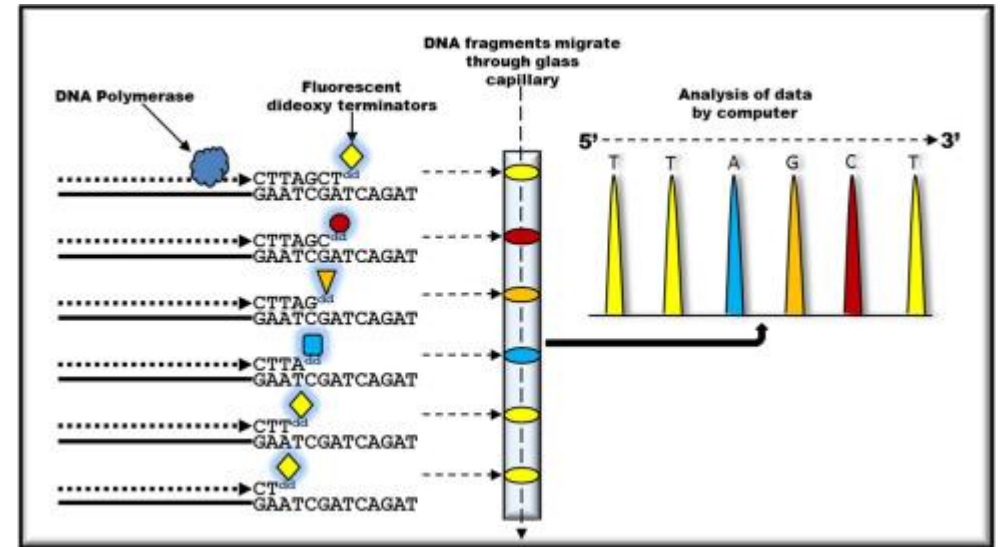
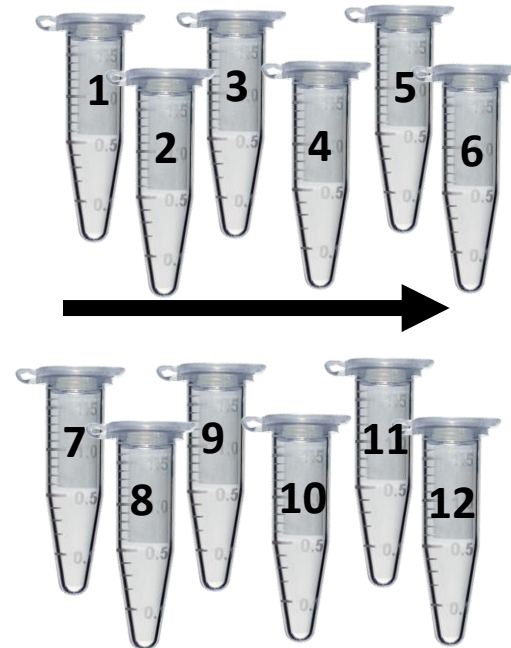
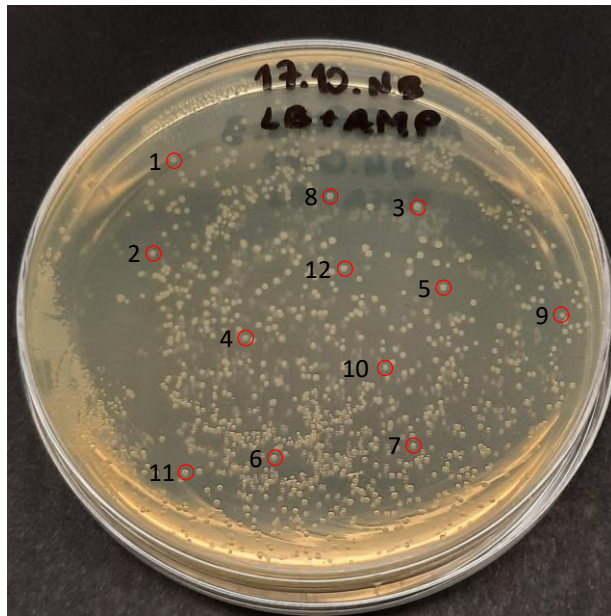


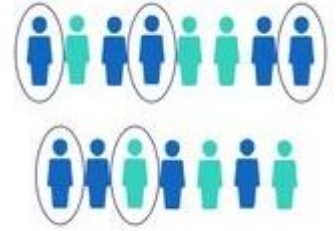
Primjer 1



Jednostavno nasumično uzorkovanje

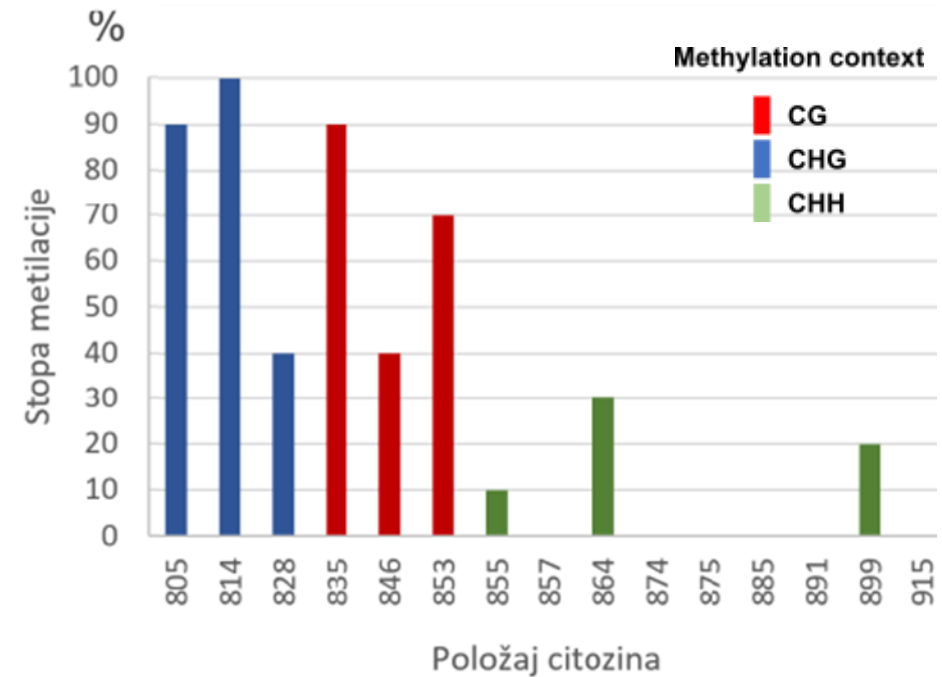
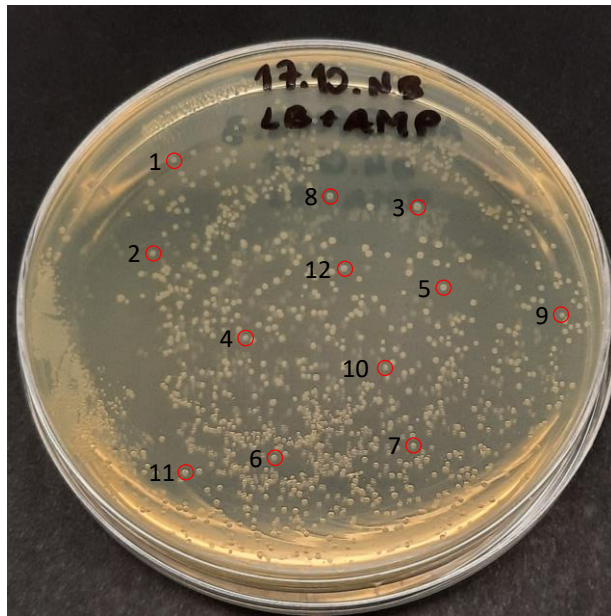
- Nasumično birate 12 klonova iz kojih izolirate plazmidnu DNA i šaljete na sekvenciranje i na temelju rezultata sekvenciranja izračunali ste postotak metilacije za svaki citozin.



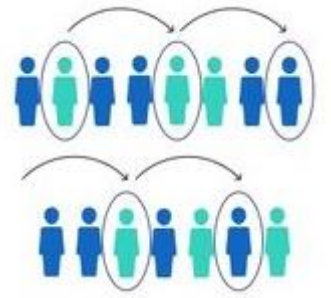


Jednostavno nasumično uzorkovanje

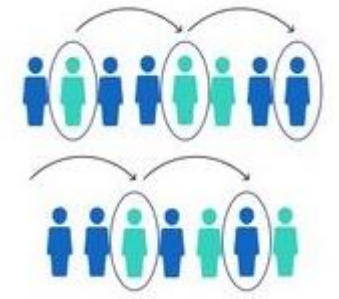
- Nasumično birate 12 klonova iz kojih izolirate plazmidnu DNA i šaljete na sekvenciranje i na temelju rezultata sekvenciranja izračunali ste postotak metilacije za svaki citozin.



Primjer 2



- Radite kao sanitarni inspektor u Državnom inspektoratu te ste kao zadatak dobili utvrditi zdravstvenu ispravnost određenih prehrambenih artikala u jednom prehrambenom lancu. Konkretno, istražujete prisutnost salmonele u puretini robne marke tog lanca (pakiranje 400 g).
- Koji tip uzorkovanja ćete koristiti u ovom istraživanju?



Sistematično uzorkovanje

- Provodite sistematično uzorkovanje tako da s polica uzimate svaki peti proizvod i nosite ga na daljnju analizu



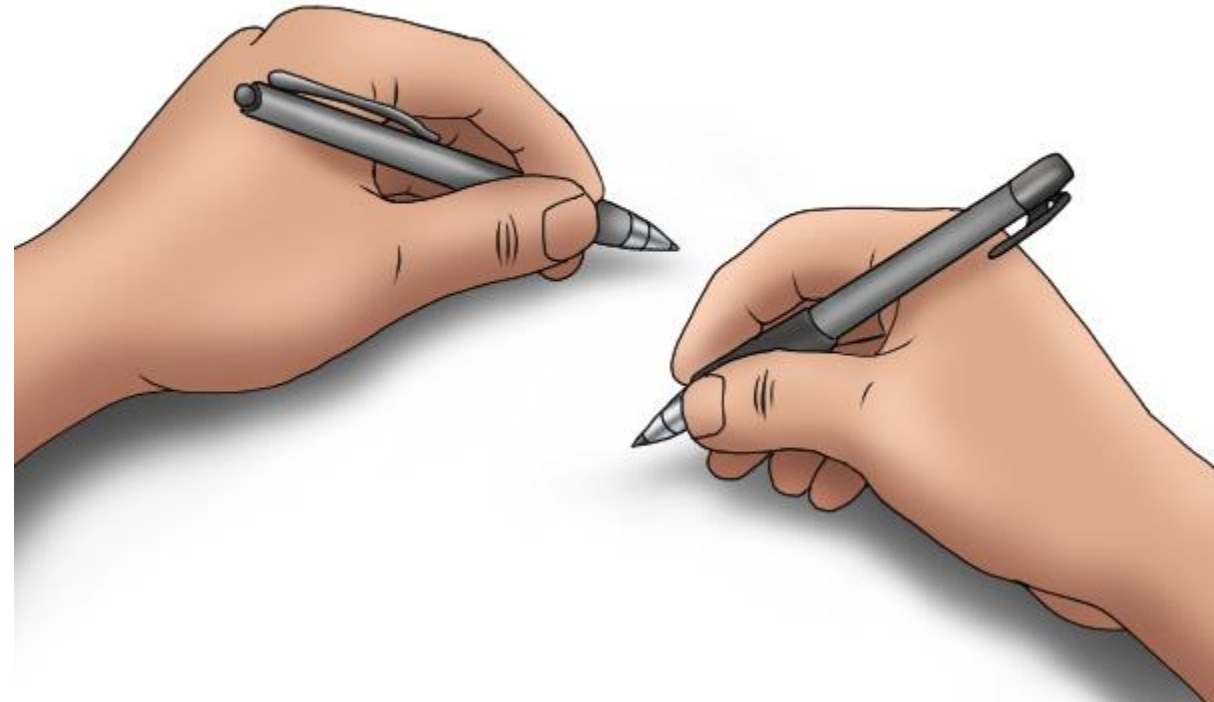
D OBJAVO RASFF

Rizik od salmonele: S polica se povlači pureće meso

Human handedness: A meta-analysis.

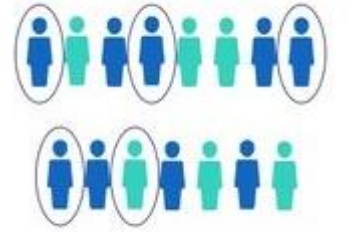
- Istraživanje iz 2020. utvrdilo je da je prosječno 10,6 % [9,3%, 18,1%] ljudi lijevoruko.
- Istraživanje je provedeno na gotovo 2,4 milijuna pojedinaca (metadata).

Papadatou-Pastou et al (2020)



Jednostavno nasumično uzorkovanje

Zadatak 1



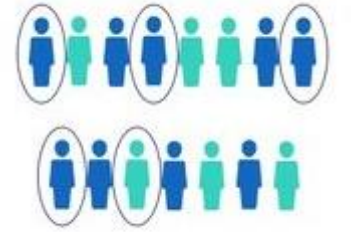
- Istražiti koliko studenata koji su upisali kolegij MZIR je ljevoruko.



<https://pickerwheel.com/>



Jednostavno nasumično uzorkovanje



Zadatak 1

- Istražiti koliko studenata koji su upisali kolegij MZIR je ljevoruko.



Koja ruka Vam je dominantna?

30 responses



● Desna
● Lijeva

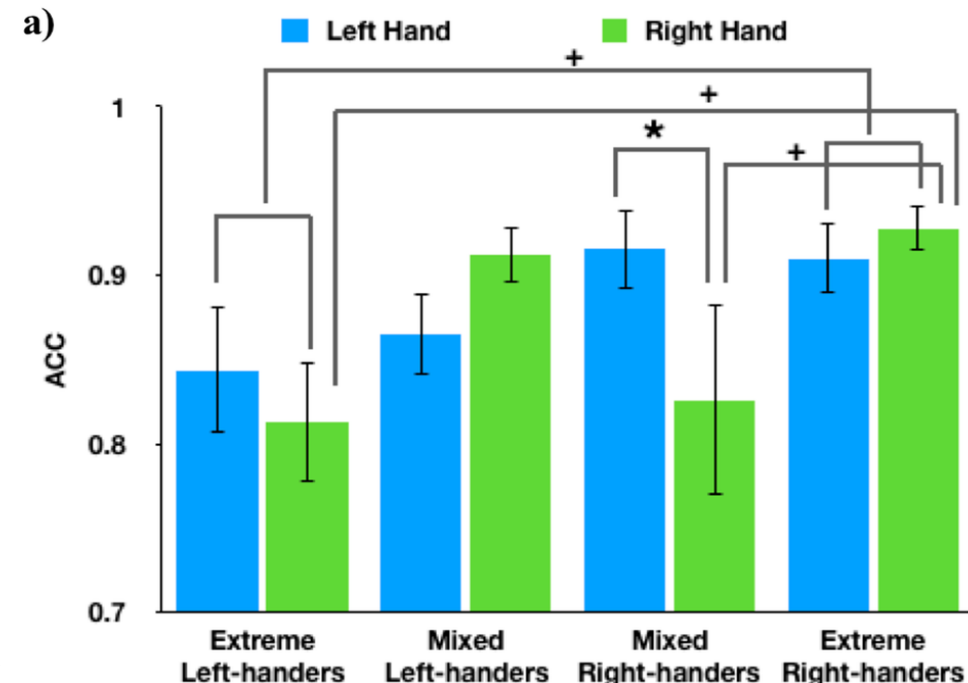


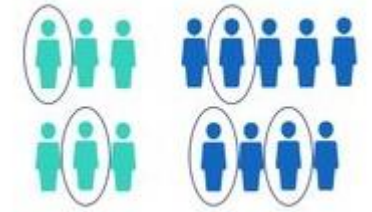
<https://pickerwheel.com/>

Telling right from right: the influence of handedness in the mental rotation of hands

Rezultati:

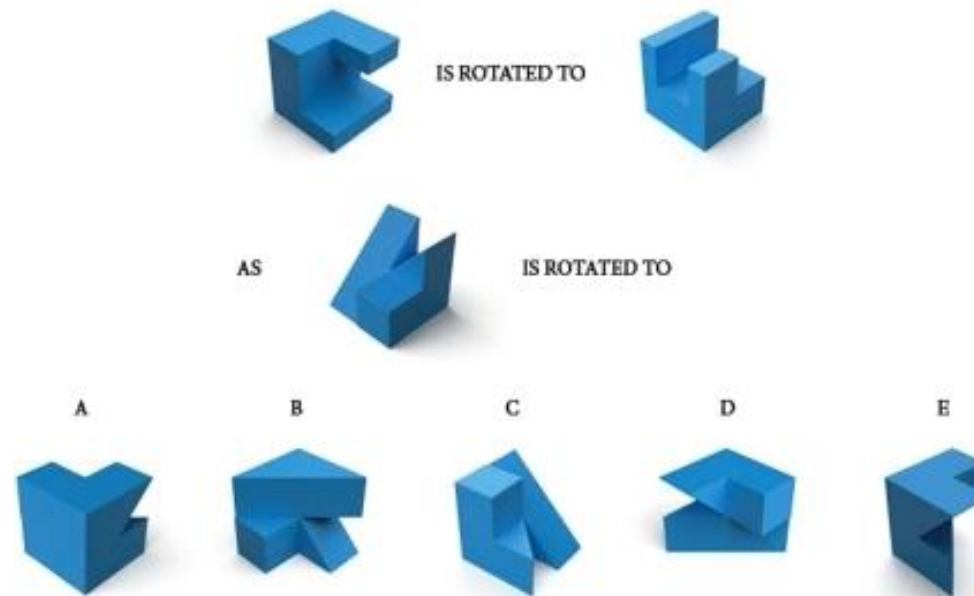
- Dešnjaci su točnije odredili lijeve ruke, a ljevac desne.
- Neovisno o grupi, nije bilo varijacije u prepoznavanju lijeve ruke, dok je kod prepoznavanja desne ruke zabilježena značajna varijacija.





Zadatak 2

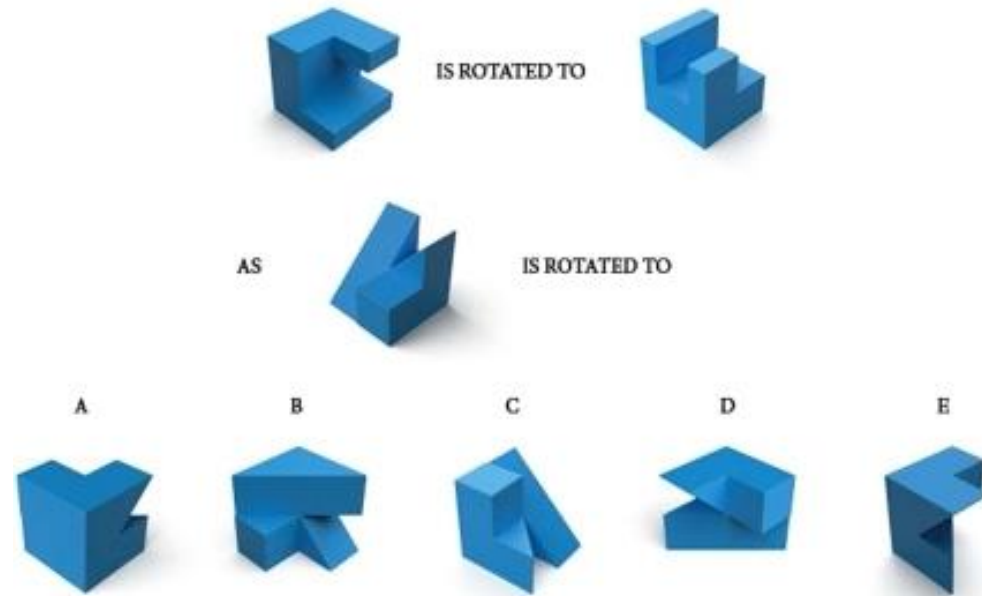
- Koliko su studenti kolegija MZIRB na uspješni na testu mentalne rotacije (mental rotation task, MRT).
- Koji biste tip uzorkovanja ovdje koristili?



Zadatak 2



- Postoji li veza između dominantne ruke i uspješnosti na testu mentalne rotacije (mental rotation task, MRT) kod studenata MZIRB.
- Koji biste tip uzorkovanja ovdje koristili?



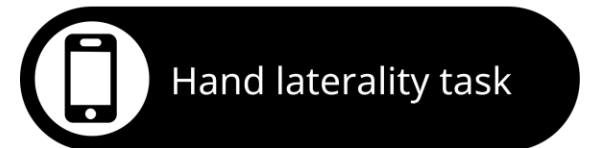
Zadatak 2



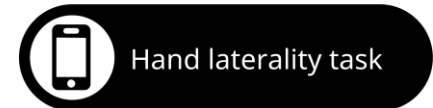
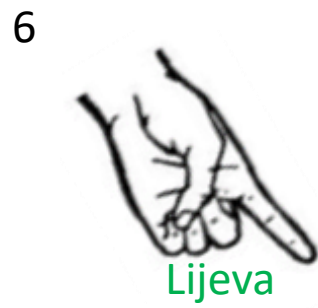
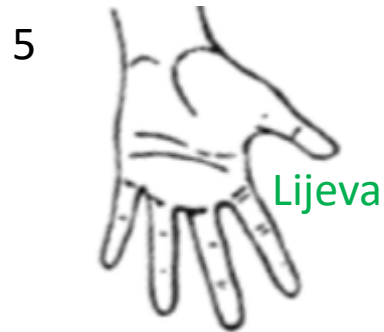
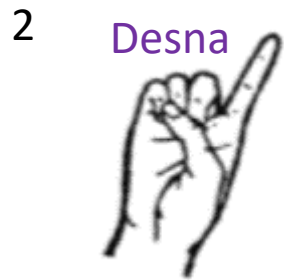
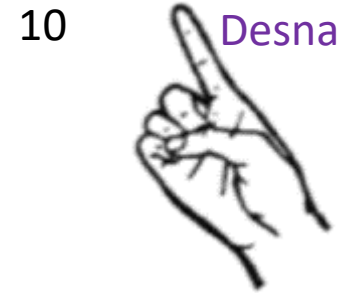
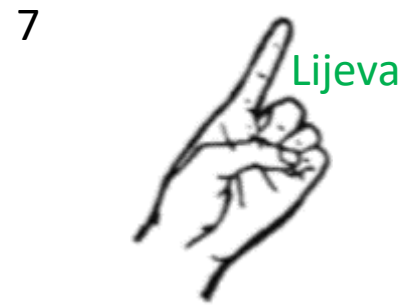
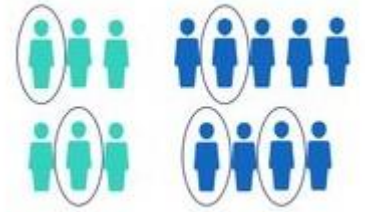
- Postoji li veza između dominantne ruke i uspješnosti na testu mentalne rotacije (mental rotation task, MRT) kod studenata MZIRB.

Metoda: **Hand laterality task (HLT)**

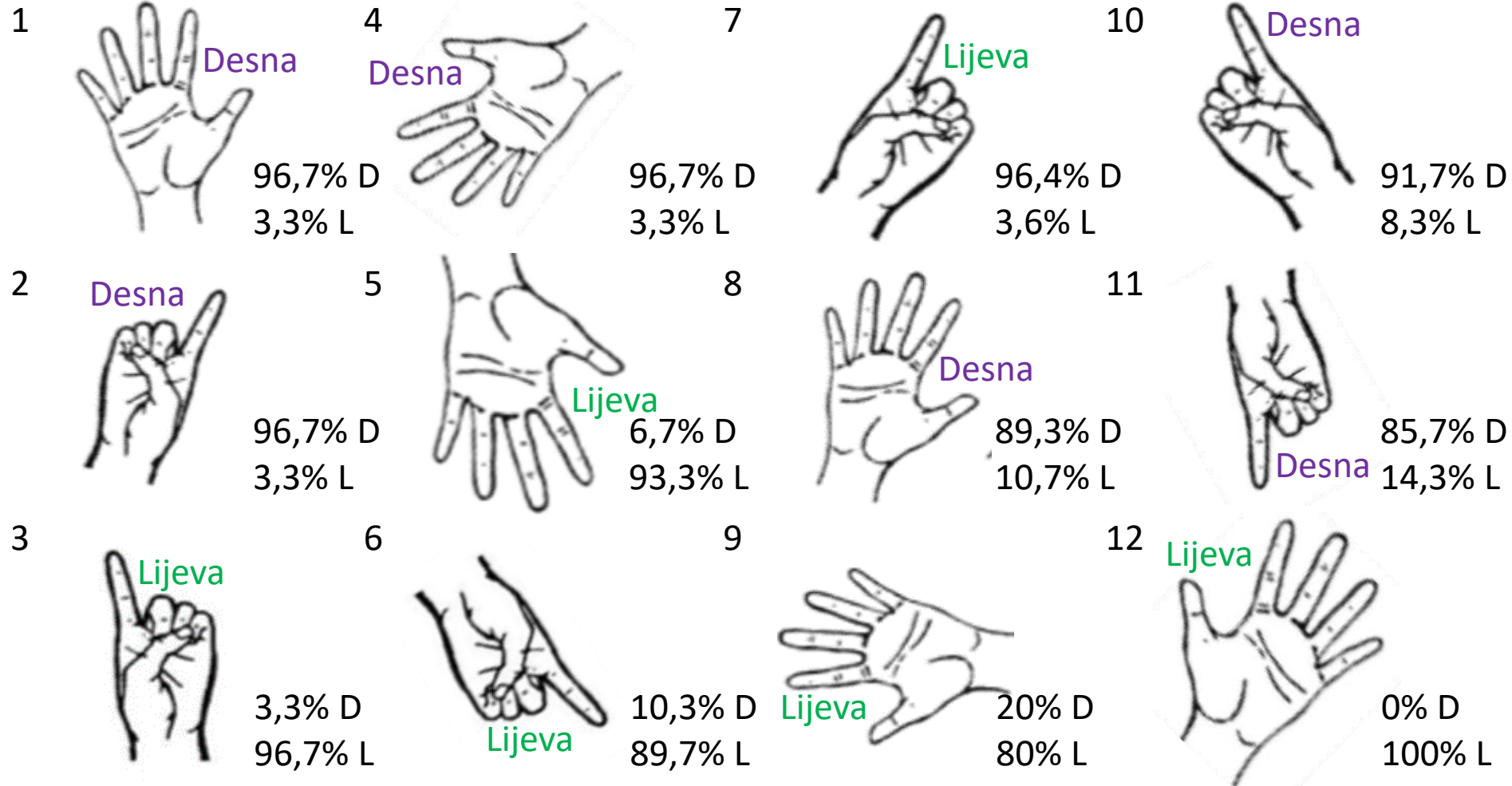
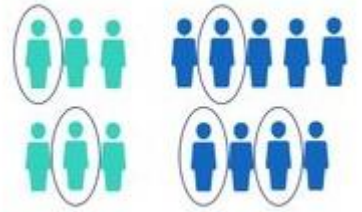
- Sudionici istraživanja moraju odrediti je li ruka na slici lijeva ili desna.



Zadatak 2



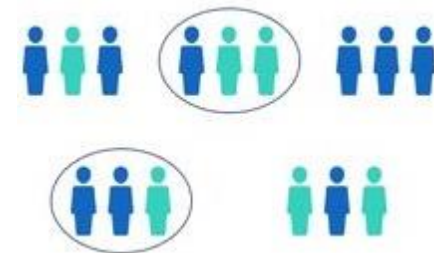
Zadatak 2 - Rezultati



Napomena: Test je trajao 1 min, nakon isteka vremena odgovori bi se automatski zabilježili tako da je na prvih par pitanja odgovorilo svih 30 studenata, a na zadnje pitanje 22 studenta.



Primjer 3

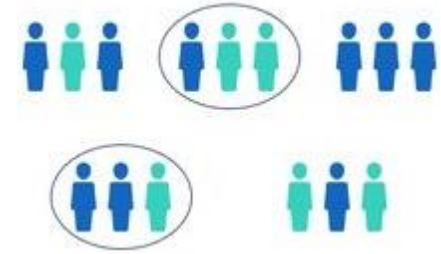


- Želite istražiti srodstvene odnose čovječje ribice (*Proteus anguinus*). Radi se o vodozemcu koji obitava u špiljama i jamama Dinarida. Nalazišta ove životinje su rijetka, međutim na pojedinim područjima uočena je veća brojnost jedinki. Kako bi proveli istraživanje, potrebno je prikupiti uzorke DNA različitih jedinki ove vrste.
- Koji tip uzorkovanja ćete koristiti u ovom istraživanju?



https://unsung-animals.fandom.com/wiki/White_Olm



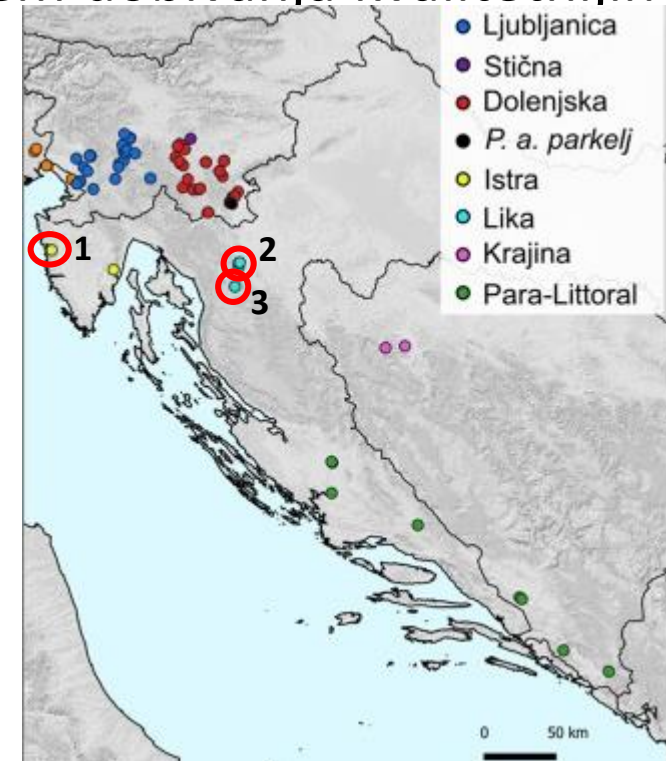


Klasterirano uzorkovanje

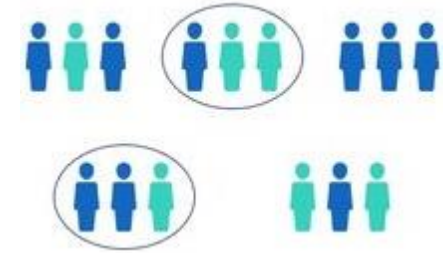
- Pretraživanjem dostupnih podataka dolazite do popisa lokaliteta s češćim opažanjima čovječe ribice u većem broju. Lokalitete dijelite na klustere te odabirete tri klastera (špiljska sustava) u kojima ćete provesti uzorkovanje.
- Na ovaj način smanjujete varijancu unutar uzorka s ciljem dobivanja kvalitetnijih i vrijednijih rezultata.

Table 1. Localities, number of samples (N), geographical coordinates (WGS84), population density (ind / 10 m²) gained from monitoring and total estimate of population size on the known part of the cave system

Populations	N	Lat.	Long.	Population density	Population size
1 Pincinova cave	32	45.28	13.63	1.12–1.38	235–291
2 Rupečica cave	26	45.18	15.22	0.45–1.08	113–269
3 Markarova cave	32	45.03	15.25	7.00–11.45	1820–2795



Primjer 3



Klasterirano uzorkovanje

- Pretraživanjem dostupnih podataka dolazite do popisa lokaliteta s češćim opažanjima čovječe ribice u većem broju. Lokalitete dijelite na klustere te odabirete tri klastera (špiljska sustava) u kojima ćete provesti uzorkovanje.
- Na ovaj način smanjujete varijancu unutar uzorka s ciljem dobivanja kvalitetnijih i vrijednijih rezultata.

Table 1. Localities, number of samples (N), geographical coordinates (WGS84), population density (ind / 10 m²) gained from monitoring and total estimate of population size on the known part of the cave system

	Populations	N	Lat.	Long.	Population density	Population size
1	Pincinova cave	32	45.28	13.63	1.12–1.38	235–291
2	Rupečica cave	26	45.18	15.22	0.45–1.08	113–269
3	Markarova cave	32	45.03	15.25	7.00–11.45	1820–2795

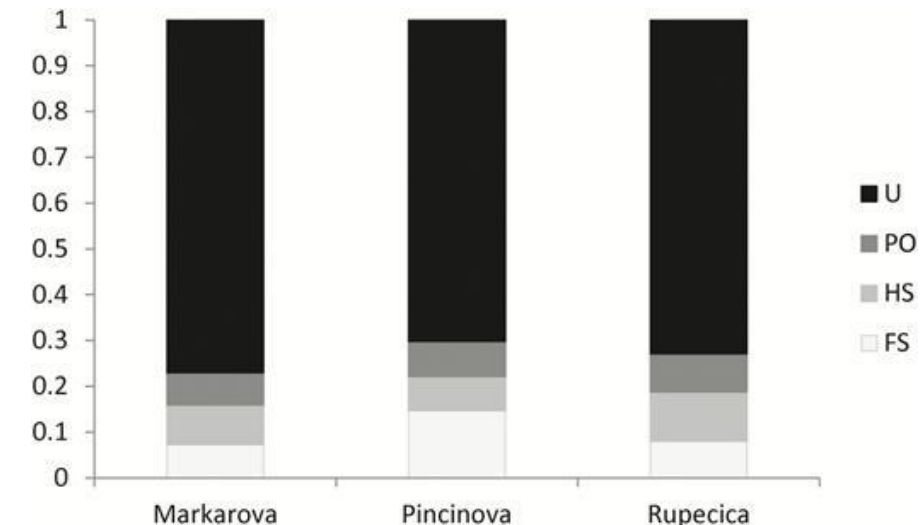
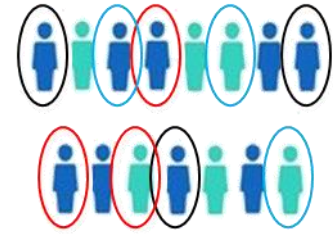
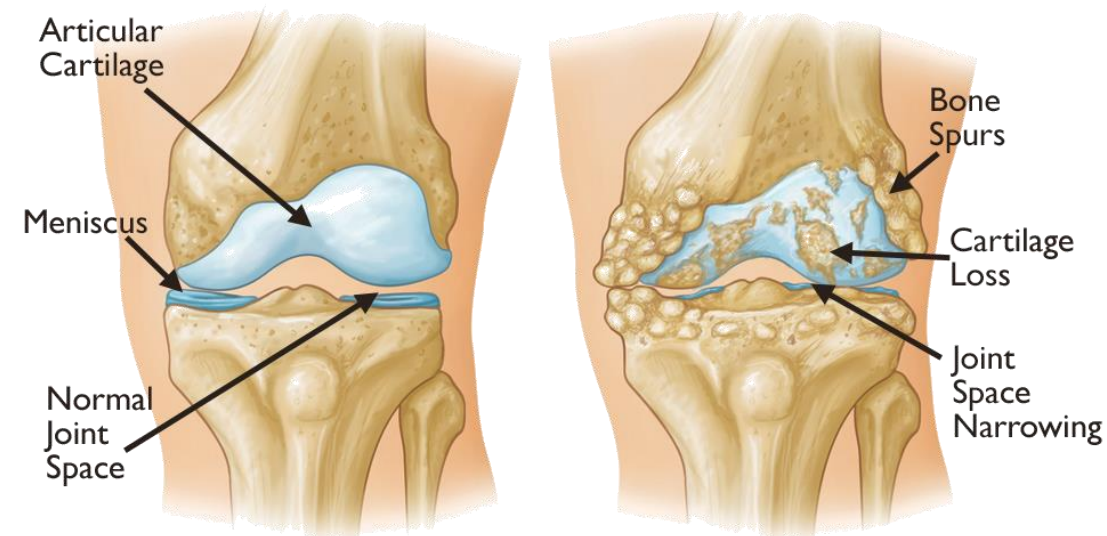


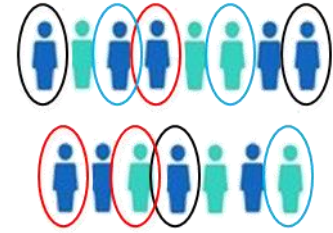
Figure 1. Percentage of individuals with pairwise relationships calculated with ML-relate. U, unrelated; PO, parent-offspring; HS, half sibling; FS, full sibling.



Primjer 4

- Istražujete rizik upotrebe selektivnog lijeka Rofecoxib za osteoartritis. Kao kontrolu koristite neselektivni lijek Naproxen. Istraživanje provodite na 46 790 pacijenata (pola pacijenata dobiva Rofecoxib, dok drugoj polovici dajete Naproxen). Neželjeni ishodi ovog istraživanja su srčani udar i krvarenje u probavnom sustavu.
- Koji tip uzorkovanja ćete koristiti u ovom istraživanju?



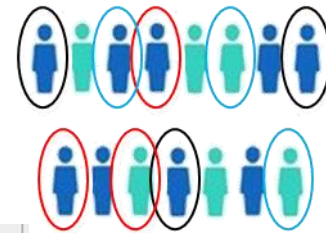


Sekvencijalno uzorkovanje

- Provodite sekvencijalno uzorkovanje, odnosno prikupljate uzorke (podatke) jedan po jedan.
- Postavljate hipotezu (H_0 i H_1), određujete kritičnu vrijednost (critical value, CV) i maksimalno trajanje istraživanja (N).
- H_0 : Nema razlike između dva lijeka
- H_1 : Postoji razlika između dva lijeka (Rofecoxib dovodi do ozbiljnijih ishoda)
- Istraživanje se prekida:
 - Ukoliko je trajanje istraživanja $\geq N$, a dobivene vrijednosti $< CV \rightarrow$ Ne odbacujemo H_0
 - Ukoliko je trajanje istraživanja $< N$, a dobivene vrijednosti $\geq CV \rightarrow$ Odbacujemo H_0

Primjer 4

Sekvencijalno uzorkovanje



- Podaci se prikupljaju jednom mjesečno (Test)
- Prikupljaju se kumulativni podaci za oba neželjena ishoda (R)
- Dobivena vrijednost:
$$T = \frac{R_{Rofecoxib}}{R_{Naproxen}}$$
- Nakon 15 mjeseci dostignuto je $T = CV \rightarrow$ odbacujemo H_0

Rofecoxib povećava rizik od srčanog udara (i krvarenja probavnog sustava).

Test	Cumulative data(\hat{R})		T	Critical value	
	Gastro. bleed.	Myoc. inf.		Lower	Upper
1	22 (0.85)	24 (1.20)	0.85	0.34	2.97
2	45 (1.03)	59 (1.14)	1.04	0.48	2.07
3	59 (1.20)	90 (1.11)	1.19	0.55	1.80
4	74 (1.38)	133 (1.11)	1.37	0.62	1.60
5	92 (1.36)	170 (0.88)	1.36	0.65	1.56
6	108 (1.28)	196 (0.86)	1.27	0.68	0.148
7	122 (1.25)	225 (0.94)	1.25	0.69	1.44
8	135 (1.27)	252 (0.99)	1.27	0.71	1.42
9	146 (1.23)	286 (1.00)	1.27	0.72	1.38
10	156 (1.25)	319 (1.05)	1.24	0.74	1.36
11	168 (1.24)	340 (1.05)	1.24	0.74	1.34
12	177 (1.23)	353 (1.08)	1.23	0.75	1.34
13	181 (1.27)	368 (1.06)	1.27	0.65	1.34
14	189 (1.30)	384 (1.03)	1.30	0.76	1.32
15	199 (1.32)	395 (1.03)	1.32	0.76	1.32
16	206 (1.32)	408 (1.04)	1.32	na	na
17	218 (1.31)	428 (1.02)	1.31	na	na
18	236 (1.27)	457 (0.98)	1.27	na	na
19	247 (1.24)	478 (0.96)	1.24	na	na
20	258 (1.24)	485 (0.96)	1.23	na	na

Literatura

- Cetinkaya-Rundel, M., Diez, D., & Barr, C. (2019). *OpenIntro Statistics*. (Fourth Edition ed.) OpenIntro, Inc. <https://www.openintro.org/book/os/>
- Vuk, T. (2022). Uloga proteina BPM1 u mehanizmu metilacije DNA de novo tijekom razvoja uročnjaka (*Arabidopsis thaliana* L.). Doctoral thesis, University of Zagreb, Faculty of Science. urn:nbn:hr:217:895020
- Papadatou-Pastou, M., Ntolka, E., Schmitz, J., Martin, M., Munafò, M. R., Ocklenburg, S., & Paracchini, S. (2020) Human handedness: A meta-analysis. *Psychological Bulletin* 146 (6). <https://doi.org/10.1037/bul0000229>
- Cheng, Y., Hegarty, M., & Chrastil, E.R. (2020). Telling right from right: the influence of handedness in the mental rotation of hands. *Cognitive Research: Principles and Implications* 5 (25). <https://doi.org/10.1186/s41235-020-00230-9>
- Vörös, J., Ursenbacher, S., & Jelić, D. (2019). Population Genetic Analyses Using 10 New Polymorphic Microsatellite Loci Confirms Genetic Subdivision within the Olm, *Proteus anguinus*. *Journal of Heredity* 110 (2). <https://doi.org/10.1093/jhered/esy067>
- Silva, I. R., Gagne, J. J., Najafzadeh, M., & Kulldorff, M. (2019). Exact sequential analysis for multiple weighted binomial end points. *Statistics in Medicine* 39 (3). <https://doi.org/10.1002/sim.8405>