

Úloha 6: Stanovení aktivity aminotransferáz: AST (aspartátaminotransferázy) a ALT (alaninaminotransferázy) v krevním séru

1. Připravíme si **čtyři zkumavky**. Na **dvě** napíšeme **AST (1 – kontrola, 2 – vzorek)**, na další dvě **ALT (1 – kontrola, 2 – vzorek)**.
2. Pipetujeme jednotlivá činidla podle následující tabulky: **VŽDY ZÁROVEŇ PRO ČINIDLA ALT I AST, JEN KAŽDÉ DO JINÉ ZKUMAVKY.**

Tabulka 1

Jednotlivá činidla	Zkumavka - vzorek	Zkumavka - kontrola
Činidlo 4	0,25 ml	0,25 ml
Fyziologický roztok	–	0,05 ml
Preinkubace 3 min při teplotě 37 °C		
Vzorek (sérum)	0,05 ml	–
Inkubace 60 minut při teplotě 37 °C		
Činidlo 2	0,25 ml	0,25 ml
Promíchat a nechat 20 minut inkubovat při laboratorní teplotě		
NaOH	0,25 ml	0,25 ml
Promíchat a nechat 10 minut inkubovat při laboratorní teplotě		

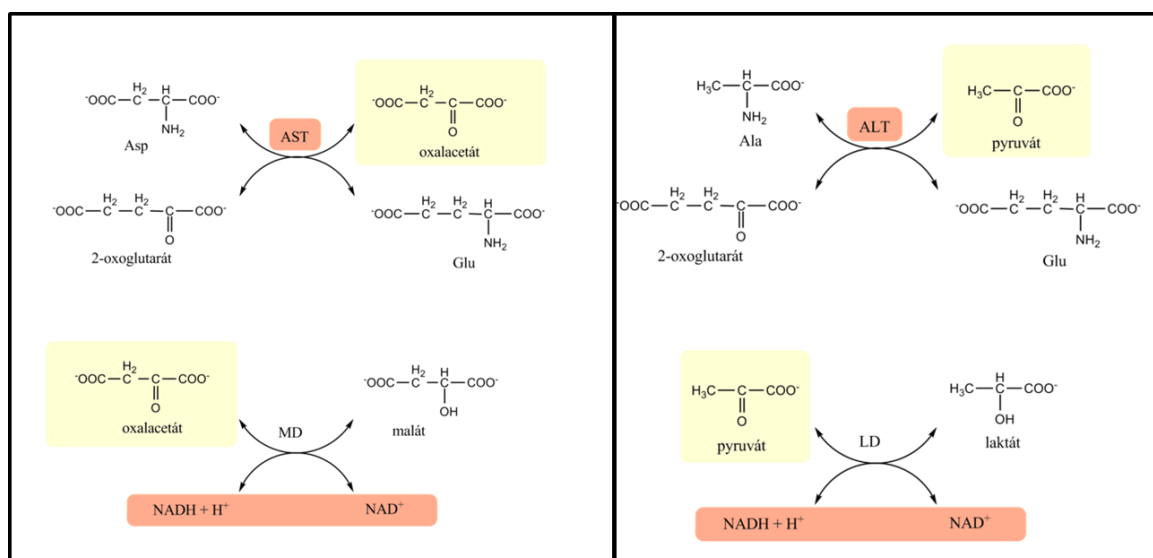
!!!! Jakmile čekáte 60 minut, pokračujte tabulkou 2 !!!!!

3. Připravíme si 10 zkumavek, 5 pro ALT a 5 pro AST, pokračujeme tabulkou 2.

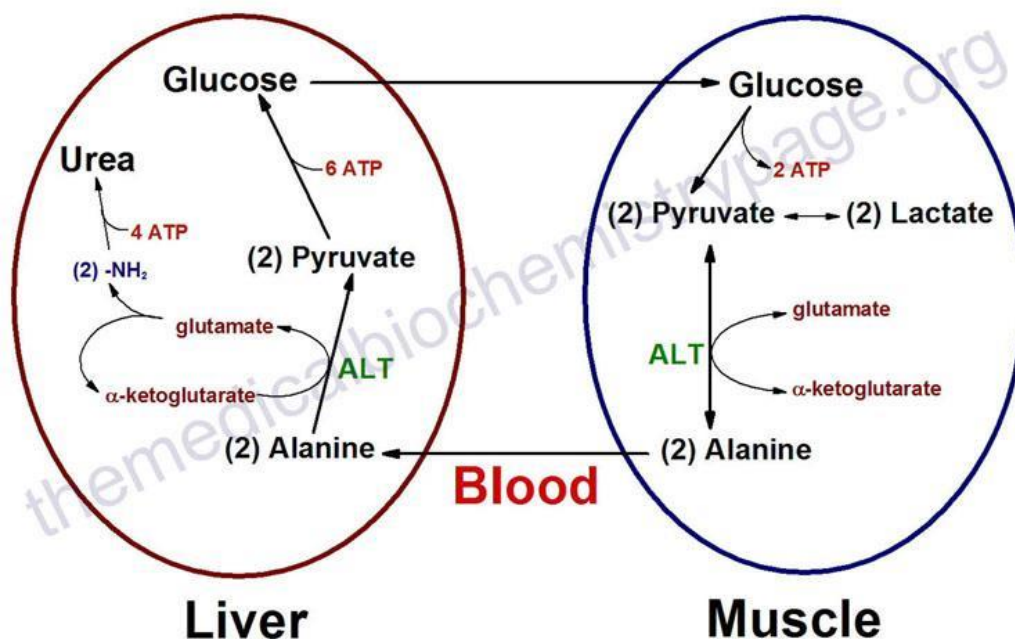
Tabulka 2

Zkumavka	Fyziologický roztok (ml)	Činidlo 4 (ml)	Pyrohroznán (ml)	Činidlo 2 (ml) Nechat 20 minut reagovat	NaOH (ml) Nechat 10 minut reagovat	Výsledná katalytická koncentrace (μkat)
1	0,1	0,50	-	0,5	5,0	0
2	0,1	0,45	0,05	0,5	5,0	0,28
3	0,1	0,40	0,10	0,5	5,0	0,56
4	0,1	0,35	0,12	0,5	5,0	0,83
5	0,1	0,30	0,20	0,5	5,0	1,11

Měříme absorbanci při 500-530 nm, slepý vzorek (kontrola) je roztok ve zkumavkách č. 1.
V excelu uděláme kalibrační křivku, osa x – katalytická koncentrace, osa y - absorbance



Glucose-Alanine Cycle



Do protokolu:

Uvést **postup**, **vyfotit a vložit** do protokolu **výsledek z obou tabulek, kalibrační křivka** (z obou tabulek). Následně do závěru uvést, kde se stanovení **ALT a AST** používá, co lze tímto testem říct, jaké rozmezí koncentrací se vyskytuje u žen a u mužů, jaké faktory mohou ovlivnit výslednou koncentraci ALT a AST.