**OZNACZANIE GAL (β-GALAKTOZYDAZA)**

METODA

Analiza oparta na kolorymetrycznym oznaczaniu uwalnianego 4-nitrofenolu w środowisku alkalicznym

z substratu przez β-galaktozydazę w reakcji:

β-4-nitrofenyl-β-D-galaktopiranozyd + H2O = 4-nitrofenol + β-D-galaktoza

Materiał badany: mocz

ODCZYNNIKI

1. 0,1M bufor cytrynianowy, pH=4,0
2. 0,75M AMP (2-amino-2-methylo1-propanol), pH=10,25
3. 0,9% NaCl
4. Substrat: 5mM 4-nitrofenyl-β-D-galaktopyranoside

WYKONANIE

Mocz do badania należy zwirować (10min przy 4000 obr/min) i użyć supernatantu.

Próbka badana: do małej szklanej probówki pobrać 500 µl moczu i dodać 500 µl roztworu substratu, dokładnie wymieszać.

Próbka kontrolna: do małej szklanej probówki dodać 500 µl 0,9% NaCl i 500 µl roztworu substratu, dokładnie wymieszać.

Obie próbki umieścić w łaźni wodnej: 37°C , 45min.

Po inkubacji do każdej probówki dodać 500 µl roztworu AMP 0,75M, wymieszać i czytać absorbancje próbki badanej oraz próbki kontrolnej na aparacie Metertech przy długości fali 405nm.

Próbka ślepa: woda destylowana

OBLICZENIA

**GAL [mU/ml] = [(Ab – Ak)\*2,81]/mg kreatyniny w moczu**

Wartości referencyjne GAL w moczu: 0,01 – 1,15 [mU/ml]