

LabAssay™ AST (GOT)

1. Intended use

This product is a research reagent for measuring aspartate aminotransferase (AST/GOT).

AST is an enzyme with a molecular weight of approximately 90,000. It catalyzes the transfer of an amino group between specific pairs of an amino acid and a 2-oxo acid⁽¹⁾. In descending order of concentration, AST is abundantly present in the heart, liver, skeletal muscle, and kidneys. Elevated AST levels are associated with conditions such as myocardial infarction, muscle disorders, and hemolytic anemia. Additionally, the ratio of aspartate aminotransferase (AST) to ALT is considered a useful parameter for evaluating liver damage. Thus, measuring ALT and AST simultaneously is standard practice.

2. Storage and expiration date

Store at 2°C - 10°C and do not freeze. The expiration date is indicated on the label on the outer box of the kit.

3. Kit component reagents

	Components	Use Status	Amount
(1)	Substrate-Enzyme Solution	Solution	12 mL/1 bottle
(2)	α -KG Solution	Solution	11 mL/1 bottle
(3)	AST Standard	Freeze-dried	2 bottles
(4)	Buffer	Solution	6 mL/1 bottle
(5)	Stop Solution	Solution	12 mL/1 bottle

*For 100 tests

4. Principle of the method

When a sample is mixed with Substrate-Enzyme Solution and α -KG Solution, glutamate and oxaloacetate are formed from L-aspartate and α -ketoglutarate in a reaction catalyzed by AST in the sample. The oxaloacetate thus produced is converted to malate by malate dehydrogenase (MDH). At the same time, NADH is oxidized to NAD, and the absorbance at 340 nm decreases. Finally, the reaction is stopped using a reaction Stop Solution, and the absorbance is measured to determine the AST activity value in the sample.

5. Equipment or supplies required but not provided in the kit

- 96-well microplate (transparent type)
- Micropipette
- Microtube
- Pipette
- Incubator maintained at 37°C
- Plate mixer
- Microplate reader with 340 nm/405 nm wavelength filter

6. Preparation of reagents

① Substrate-Enzyme Solution : Ready to use. After opening the bottle, store at 2°C - 10°C.

② α -KG Solution : Ready to use. After opening the bottle, store at 2°C - 10°C.

③ Dilution series of AST Standard : Reconstitute AST Standard with purified water in the amount specified in "Reconstitution of standard"* to prepare the original standard solution (810 U/L). Then prepare a dilution series using the Buffer included in the kit that has been allowed to warm up to room temperature.

*Find and check "Reconstitution of standard" on this product page. As the amount of purified water to be added varies by lot, be sure to check it for every lot. After preparing each concentration of the standard solution, use immediately and do not store.

Example of preparation of dilution series of standard solution

AST activity (U/L)	405	135	45.0	15.0	7.50	0.00
AST Standard (μ L)	Original standard solution : 50	50*	50*	50*	50*	-
Buffer (μ L)	50	100	100	100	50	50

*One rank higher standard solution.

④Stop Solution : Ready to use. After opening the bottle, store at 2°C - 10°C.

7. Preparation of specimen

Serum/Plasma

- Analyze specimens immediately after collection.
- The anticoagulant heparin, EDTA and citrate does not significantly influence the assay when used in normal amounts.
- Please treat the measured values of hemolyzed samples as reference values.
- Chyle, ascorbic acid, and bilirubin have almost no effect on the measured values.
- If the measured value exceeds the measurable range, dilute the sample with saline solution before measurement. Multiply the result by the dilution factor.

8. Assay procedure

Ensure that the reagents are brought up to room temperature (20°C - 25°C) before use.

- (1) Dispense 100 μ L of Substrate-Enzyme Solution into each well of a 96-well microplate.
 - (2) Dispense 7 μ L of each concentration of standard solution into the well in which the standard is to be measured.
 - (3) Dispense 7 μ L of sample into the well in which the sample is to be measured.
 - (4) Shake the 96-well microplate on a plate mixer (*①).
 - (5) Allow to react in a incubator at 37°C for 20 minutes.
 - (6) Remove the 96-well microplate from the incubator and dispense 90 μ L of α -KG Solution into each well.
 - (7) Shake the 96-well microplate on a plate mixer (*①).
 - (8) Allow to react in a incubator at 37°C for 20 minutes.
 - (9) Remove the 96-well microplate from the incubator and dispense 100 μ L of Stop Solution into each well.
 - (10) Immediately after shaking (*②), measure the absorbance of each well at 340 nm (reference wavelength 405 nm) using a spectrophotometer for microplates.
- (*①) Guideline for shaking : 600 rpm - 700 rpm for 10 seconds, repeated 3 times.
(*②) Guideline for shaking : 600 rpm - 700 rpm for 10 seconds, repeated 1 time.

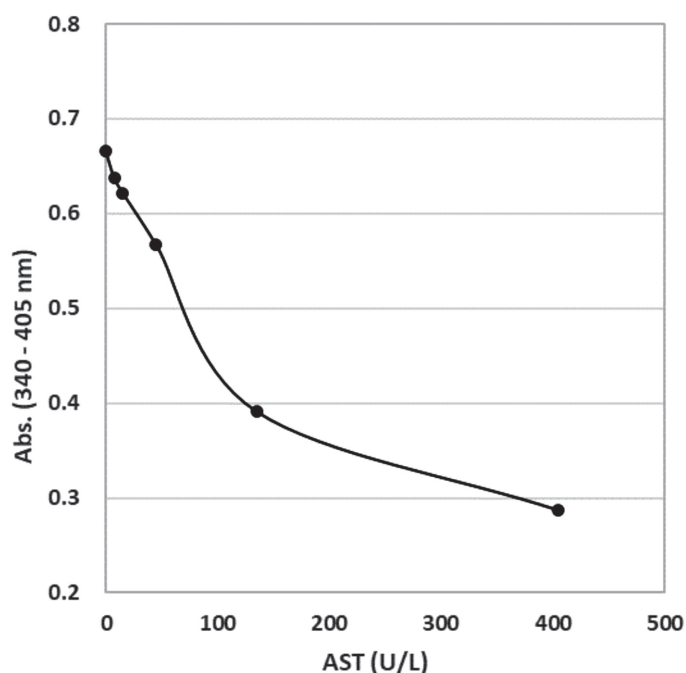
9. Calculation

- (1) Create a calibration curve for each measurement, with the AST activity (U/L) on the X-axis and absorbance on the Y-axis.
 - (2) From the calibration curve, read the AST activity (U/L) corresponding to the absorbance of the sample. If a diluted sample is used, the concentration reading is multiplied by the sample dilution ratio to obtain the measurement value.
- *If the absorbance of a sample is outside the standard curve, dilute the sample with saline to an appropriate dilution ratio and repeat the assay.

*In computer software calculations, we recommend using 4 parameters or 5 parameters.

10. Standard curve

- Measurement range : 0 - 405 U/L



11. Performance

- Accuracy
 - When control serum of known concentration is measured, the measured value is within $\pm 15.0\%$ of the known concentration.
- Simultaneous repeatability
 - When the same sample is measured simultaneously 5 times, the CV (%) of measured values is 15.0% or less.

Notes

- If any reagent accidentally comes into contact with the mouth, eyes, or skin, flush immediately with a large amount of water. Consult a physician if necessary.
- Handle samples being cognizant of the risk of infection (e.g., viruses).
- Wear disposable gloves to avoid the risk of infection when performing a test.
- Store reagents under the specified conditions and do not use expired reagents.
- Do not use reagents that have been accidentally frozen because accurate results may not be obtained.
- After opening, use the reagent as soon as possible. If it is stored, close the lid and store under the specified conditions.
- Do not top up any reagent.
- Be careful regarding contamination when collecting reagents with a pipette.
- Do not mix and use reagents with different lot numbers.
- When disposing of the reagents, dispose of them according to Waste Management and Public Cleansing Law (Waste Disposal and Cleaning Act) and wastewater standards.
- Substrate-Enzyme Solution contains less than 0.1% sodium azide as a preservative. Sodium azide may react with copper or lead plumbing to form explosive compounds. Even though the reagent contains minute quantities of sodium azide, drains should be flushed well with a large amount of water, when discarding the reagents.
- Any reagent or reagent bottle that comes into contact with a specimen should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- Any scattering/splashes of samples or waste fluids should be removed with a disinfectant such as sodium hypochlorite or glutaraldehyde (2%).

[Reference]

(1) Kanai, M. et al. : *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, Kanehara Shuppan : 35th edition (2020).

LabAssayTM AST (GOT)

[Storage] Store at 2°C - 10°C

[Term of validity] Indicated on the label.

[Package] For 100 tests

[Cat #] 299-97601

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

Group Companies



Distributors



ラボアッセイ™ AST (GOT)

1. はじめに

本製品は、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST/GOT）を測定する研究用試薬です。
AST は分子量約 90,000 の酵素であり、特定の一对のアミノ酸と 2- オキソ酸との間でアミノ酸転移を触媒する酵素です⁽¹⁾。心臓、肝臓、骨格筋、腎臓の順に高濃度に存在し、心筋梗塞や筋疾患、溶血性貧血などで上昇します。また、肝障害を評価する際には AST/ALT 比が有用であるとされており、一般的に ALT と AST を一緒に測定されることが多くみられます。

2. キットの保存と使用期限

2℃～10℃で保存し、凍結させないで下さい。使用期限はキット外箱のラベルに記載しています。

3. キット構成試薬

構 成 試 薬		状 態	容 量
(1)	基質酵素液	液体	12mL/1 本
(2)	α-KG 溶液	液体	11mL/1 本
(3)	AST 標準品	凍結乾燥品	2 本
(4)	緩衝液	液体	6mL/1 本
(5)	反応停止液	液体	12mL/1 本

※100 回用

4. 測定原理

試料中の AST の作用により、L- アスパラギン酸とα- ケトグルタル酸（α-KG）は、グルタミン酸とオキザロ酢酸に変化します。オキザロ酢酸は、β- ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型（NADH）の存在下でリンゴ酸脱水素酵素（MDH）の作用により、リンゴ酸に変化します。このとき NADH は、β- ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型（NAD）に酸化され、340nm の吸光度が減少します。最後に反応停止液で反応を止め、吸光度を測定することにより試料中の AST 活性値を求めます。

5. キット以外に必要な器具・器材

- ・96 ウェルの透明マイクロプレート
- ・マイクロピペット
- ・マイクロチューブ
- ・ピペット
- ・恒温槽（37℃）
- ・マイクロプレート振とう器（プレートミキサー）
- ・マイクロプレートリーダー（340nm/405nm 吸光フィルター）

6. 試薬の調製法

- ①基質酵素液：そのままお使い下さい。開封後は 2℃～10℃で保存して下さい。
- ②α-KG 溶液：そのままお使い下さい。開封後は 2℃～10℃で保存して下さい。
- ③AST 標準品希釈系：AST 標準品に精製水を「標準品原液の調製について」に記載の指定量*を加え溶解し、標準品原液（810 U/L）を調製して下さい。その後、室温化されたキット添付の緩衝液で調製して下さい。
- *「標準品原液の調製について」は、当社製品ページより確認して下さい。ロットにより添加する精製水量が異なるため、必ずロットごとにご確認下さい。各濃度に調製した標準液は、直ちに使用し、保存はしないで下さい。

標準品原液の希釈例

AST活性 (U/L)	405	135	45.0	15.0	7.50	0.00
AST標準品 (μL)	原液：50	50*	50*	50*	50*	-
緩衝液 (μL)	50	100	100	100	50	50

*：ひとつ高濃度の標準溶液

- ④反応停止液：そのままお使い下さい。開封後は 2℃～10℃で保存して下さい。

7. 検体の調製

血清／血漿検体

- ・採取後の検体は速やかに測定して下さい。
- ・抗凝固剤の EDTA、ヘパリン、クエン酸塩は通常の使用量では測定値に影響を与えません。
- ・溶血検体の測定値は、参考値程度にとどめて下さい。
- ・乳び、アスコルビン酸、ビリルビンは測定値に影響を与えません。
- ・測定範囲の上限を超える検体については、検体を生理食塩水で希釈して測定して下さい。得られた値に希釈倍数を乗じたものが測定値となります。

8. 測定操作法

試薬類を十分に室温（20℃～25℃）に戻してからお使い下さい。

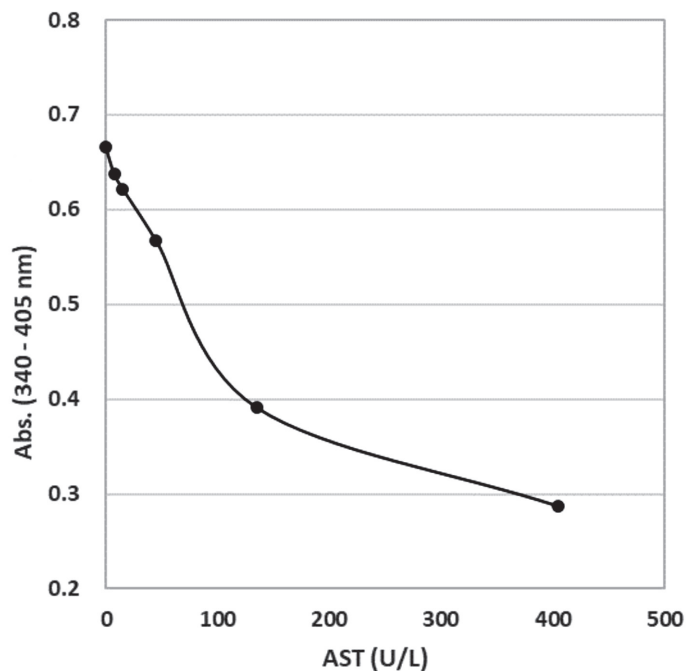
- (1) マイクロプレートに基質酵素液を 100 μ L ずつ分注します。
 - (2) 標準品測定ウェルに各濃度の標準溶液を 7 μ L ずつ分注します。
 - (3) 検体測定ウェルに検体を 7 μ L ずつ分注します。
 - (4) マイクロプレート振とう器などを用いて、攪拌（＊①）します。
 - (5) 恒温槽内で 37℃、20 分間反応させます。
 - (6) マイクロプレートを恒温槽から出し、各ウェルに α -KG 溶液を 90 μ L ずつ分注します。
 - (7) マイクロプレート振とう器などを用いて、攪拌（＊①）します。
 - (8) 恒温槽内で 37℃、20 分間反応させます。
 - (9) マイクロプレートを恒温槽から出し、各ウェルに反応停止液を 100 μ L ずつ分注します。
 - (10) 攪拌（＊②）後、直ちにマイクロプレート分光光度計で 340nm（副波長 405nm）での吸光度を測定します。
- （＊①）攪拌の目安は 600rpm～700rpm-10 秒間、3 回
（＊②）攪拌の目安は 600rpm～700rpm-10 秒間、1 回

9. 計算

- (1) 測定ごとに標準曲線を作成します。X 軸に AST 活性（U/L）、Y 軸に吸光度の標準曲線グラフを作成して下さい。
 - (2) 標準曲線より、検体の吸光度に対応する AST 活性（U/L）を読み取ります。希釈した検体を使用した場合は読み取った濃度に検体希釈率を乗じ測定値とします。
- ＊検体の吸光度が標準曲線吸光度より外れた場合は、生理食塩水で適当倍率に調製し、再度測定を実施して下さい。
＊コンピュータソフトでの演算処理では、4 パラメーターまたは 5 パラメーターの使用をお勧め致します。

10. 標準曲線

- ・測定範囲：0～405U/L



11. キットの性能

- ・特異性
 - ・既知濃度の管理用血清を測定するとき、既知濃度の $\pm 15.0\%$ 以内です。
- ・同時再現性
 - ・同一検体を 5 回同時に測定する時、測定値の CV（％）は 15.0％ 以下です。

注意事項

- ・ 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けて下さい。
- ・ 検体はウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱って下さい。
- ・ 検査にあたって感染の危険性を避けるため、使い捨て手袋を着用して下さい。
- ・ 試薬は指定された保存条件で保管し、使用期限の過ぎたものは使用しないで下さい。
- ・ 誤って凍結させた試薬は使用しないで下さい。正しい結果が得られないことがあります。
- ・ 試薬の開封後はなるべく早く使用し、保存する場合は蓋を閉めて指定の条件で測定して下さい。
- ・ 試薬を継ぎ足して使用しないで下さい。
- ・ 試薬採取の際、ピペットからの汚染に注意して下さい。
- ・ ロット番号の違う試薬とは混ぜて使わないで下さい。
- ・ 廃棄に際しては廃棄物の処理および清掃に関する法律（廃棄物処理法）および排水基準に従って適切に処理して下さい。
- ・ 基質酵素液は、防腐剤としてアジ化ナトリウムを＜0.1% 含有しています。アジ化ナトリウムは、銅や鉛などの重金属と結合してアジ化物を形成します。重金属のアジ化物は、乾燥状態で衝撃により爆発する性質がありますので、排水後は、排水管に残留しないように十分量の水で洗い流して下さい。
- ・ 検体と接触した試薬および試薬容器は、感染の危険性があるものとして処理して下さい。
- ・ 検体、廃液等が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム、グルタルアルデヒド（2%）等の消毒液を用いて拭き取って下さい。

〔参考文献〕

(1) Kanai, M. et al. : *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, Kanehara Shuppan : 35th edition (2020).

【測定名】

【所属】

【測定者】

【測定日】

【ロット番号】

【使用期限】

【備考】

【製品名】 ラボアッセイTM AST (GOT)

【和光コード】 299-97601

【英語表記】 LabAssayTM AST (GOT)

【貯法】 2℃～10℃

【使用期限】 ラベルに記載

【包装】 100 回用

製造発売元
富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪市中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741