

**Monoclonal Mouse
Anti-Human MITF
(microphthalmia transcription factor)
Clone D5**

**English
Code M3621**

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

This antibody is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy MITF expressing cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods. Positive results aid in the classification of melanoma.³ Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonym

Microphthalmia Transcription Factor

Summary and explanation

MITF (microphthalmia transcription factor) is a basic-helix-loop-helix-leucine-zipper (bHLHzip) transcription factor which regulates the development and survival of melanocytes and retinal pigment epithelium, and is also involved in transcription of pigmentation enzyme genes such as tyrosinase, TRP1 and TRP2.^{2,4} MITF has been shown to be phosphorylated by MAP kinase in response to c-Kit activation, resulting in upregulation of MITF transcriptional activity.¹ Mutations of the MITF gene are associated with the autosomal dominant hereditary deafness and pigmentation condition, Waardenburg Syndrome type 2A.⁵ Multiple isoforms of MITF exist including MITF-A, MITF-B, MITF-C, MITF-H, and MITF-M, which differ in the amino-terminal domain and in their expression patterns. The MITF-M isoform is restricted to the melanocyte cell lineage.⁴

Anti-MITF recognizes a nuclear protein which is expressed in the majority of primary and metastatic epithelioid malignant melanomas as well as in normal melanocytes, benign nevi and dysplastic nevi. A wide range of non-melanoma malignancies have been tested with anti-MITF, and only a small subset of tumors were found to be immunoreactive.^{6,7,8}

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Anti-MITF is provided in liquid form as tissue culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and 0.015 mol/L sodium azide. Contains stabilizing protein.

Clone: D5 Isotype: IgG₁, kappa
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M3621 may be used at a dilution of 1:100 when performing IHC using the EnVision+™ detection system. These are guidelines only. Optimal antibody concentrations may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined individually in each laboratory.

Immunogen

Histidine fusion protein of the amino-terminal *Taq-Sac* fragment of human *MITF* cDNA^{1,2}

Specificity

In Western blot analysis of human melanoma cell line, 501mel, anti-MITF demonstrated 54 and 60 kD bands corresponding to MITF variants differing in phosphorylation status. Further specificity was demonstrated in gel-mobility assays where anti-MITF produced a specific gel-mobility supershift with MITF but not with related bHLHzip factors TFEB, TFEC and TFE3.¹

Materials required, but not supplied

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions. Suggested diluent(s) for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.^{9,10}
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

Paraffin Sections

Anti-MITF can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Pretreatment of tissue with proteolytic enzymes is not recommended.

The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Heat-induced epitope retrieval (HIER) for this primary antibody requires immersion of tissue sections in a buffer solution and heating in a pressure cooker (121 °C). Use a 5 minute heating protocol in a pressure cooker set at 121 °C. Rinse well with buffer or deionized water following HIER. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution (code S1700) or 10x Concentrate (code S1699) is recommended.

Cryostat Sections And Cell Smears

Anti-MITF can be used for labelling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears.

Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-MITF is nuclear.

Performance characteristics

Normal Tissues¹¹

Tissue Type (# tested)	Positively Staining Tissue Elements
Skin ^b	nuclei of melanocytes
Nevi ^b	nuclei of melanocytes
Dysplastic nevi ^b	nuclei of melanocytes
Adrenal (3) ¹¹	0/3
Bone Marrow (3) ¹¹	0/3
Brain, cerebellum (3) ¹¹	0/3
Brain, cerebrum (3) ¹¹	0/3
Breast (3) ¹¹	0/3
Cervix (3) ¹¹	0/3
Colon (3) ¹¹	0/3
Esophagus (3) ¹¹	0/3
Heart (3) ¹¹	1/3 nuclei of myocytes
Kidney (3) ¹¹	0/3
Liver (3) ¹¹	0/3
Lung (3) ¹¹	1/3 nuclei and cytoplasm of alveolar macrophages (weak)
Mesothelial Cells (3) ¹¹	0/3
Nerve, peripheral (3) ¹¹	0/3
Ovary (3) ¹¹	0/3
Pancreas (3) ¹¹	0/3
Parathyroid (3) ¹¹	0/3
Pituitary (3) ¹¹	1/3 cytoplasm (granular) of rare cells in neurohypophysis*
Prostate (3) ¹¹	0/3
Salivary Gland (3) ¹¹	0/3
Skeletal Muscle (3) ¹¹	0/3
Skin (3) ¹¹	3/3 nuclei of melanocytes
Small Intestine (3) ¹¹	0/3
Spleen (3) ¹¹	0/3
Stomach (3) ¹¹	0/3
Testis (3) ¹¹	0/3
Thymus (3) ¹¹	0/3
Thyroid (3)	0/3
Tonsil (3) ¹¹	0/3
Uterus (3) ¹¹	1/3 nuclei and cytoplasm of endometrial stromal cells

*only nuclear immunoreactivity was considered as positive

Abnormal Tissues^{5,6}

Tissue Type (# tested)	Positively Staining Tissue Elements
Malignant melanoma (76) ⁶	76/76 nuclei of tumor cells
In situ (19) ⁶	19/19 nuclei of tumor cells
Primary (50) ⁶	50/50 nuclei of tumor cells
Metastatic (7) ⁶	7/7 nuclei of tumor cells
Epithelioid melanoma (32) ⁷	29/32 nuclei of tumor cells
Melanoma (44) ⁸	44/44 nuclei of tumor cells
Ameloblastoma (1) ⁷	0/1
Angiosarcoma (2) ⁷	0/2
Breast carcinoma, invasive ductal cell (10) ⁶	0/10 nuclei of tumor cells 2/10 cytoplasm of tumor cells*
Breast carcinoma (8) ⁷	1/8 nuclei of tumor cells (multi-focal and weak)
Carcinoid (2) ⁷	0/2
Colon carcinoma (18) ⁷	0/18
Endometrial adenocarcinoma (10) ⁶	0/10
Endometrial stroma sarcoma (2) ⁷	0/2
Esophagus carcinoma (2) ⁷	0/2
Gastric carcinoma (3) ⁷	0/3
Leiomyosarcoma (5) ⁷	2/5 nuclei of tumor cells (focal)
Lung adenocarcinoma (6) ⁷	0/6
Lung small-cell carcinoma (5) ⁷	0/5
Lung squamous cell carcinoma (19) ^{6,7}	0/19
Malignant mixed mullerian tumor (1) ⁷	1/1 nuclei of tumor cells (weak)
Malignant peripheral nerve sheath tumor (3) ⁷	0/3
Nasopharyngeal carcinoma (1) ⁷	0/1
Osteosarcoma (1) ⁷	0/1
Ovarian carcinoma (1) ⁷	0/1
Pancreatic carcinoma (1) ⁷	0/1
Papillary thyroid (2) ⁷	0/2
Pheochromocytoma (1) ⁷	0/1
Prostate carcinoma (2) ⁷	0/2
Renal cell carcinoma (17) ⁷	2/17 nuclei of tumor cells
Rhabdomyosarcoma (1) ⁷	0/1
Squamous carcinoma of the vulva (10) ⁶	0/10
Synovial sarcoma (1) ⁷	0/1
Testicular cancer (10) ⁶	0/10
Thymoma (1) ⁷	0/1
Thyroid carcinoma (10) ⁶	0/10
Wilm's tumor (1) ⁷	0/1

*only nuclear immunoreactivity was considered as positive

Français

Réf. M3621

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

Cet anticorps est conçu pour être utilisé en laboratoire en vue de l'identification qualitative par microscopie optique des cellules exprimant le MITF dans les tissus sains et néoplasiques en utilisant des méthodes de test immunohistochimiques (IHC). Des résultats positifs permettent de classer les mélanomes.³ L'identification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation doit tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques réalisés par un pathologiste qualifié.

Synonyme

Facteur de transcription de la microphthalmie (MITF)

Résumé et explications

Le MITF (facteur de transcription de la microphthalmie) est un facteur de transcription à domaine basique hélice-boucle-hélice/gliissière à leucine (bHLHZip) qui régule le développement et la survie des mélanocytes et l'épithélium pigmentaire de la rétine. Le MITF est également impliqué dans la transcription des gènes de l'enzyme de pigmentation telle la tyrosinase, TRP1 et TRP2.^{2,4} Il a été démontré que le MITF est phosphorylé par la kinase MAP en réponse à l'activation de la c-Kit, entraînant une régulation à la hausse de l'activité transcriptionnelle du MITF.¹ Des mutations du gène MITF sont associées à des troubles de la pigmentation et à une surdité héréditaire dominante de type autosomique, le syndrome de Waardenburg type 2A.⁵ Des isoformes multiples du MITF existent, notamment les MITF-A, MITF-B, MITF-C, MITF-H et MITF-M, qui diffèrent au niveau du domaine amino-terminal et du schéma d'expression. L'isoforme MITF-M est retreint à la lignée cellulaire mélanocytaire.⁴

L'anti-MITF reconnaît une protéine nucléaire exprimée dans la majorité des mélanomes malins épithélioïdes primaires et métastatiques ainsi que dans les mélanocytes normaux, les nævi bénins et dysplasiques. Un grand nombre de tumeurs malignes autres que des mélanomes a été testé à l'aide de l'anti-MITF, et seul un sous-ensemble de quelques tumeurs s'est avéré immunoréactif.^{6,7,8}

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

L'anti-MITF est fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire (contenant du sérum fœtal bovin) dialysé en utilisant du tampon Tris-HCl à 0,05 mol/L, pH 7,2, et de l'azide de sodium à 0,015 mol/L. Contient une protéine stabilisante.

Clone: D5¹ Isotype: IgG₁, kappa
Concentration des IgG de souris en mg/l : Voir l'étiquette sur le flacon.

Le M3621 peut être utilisé à une dilution de 1:100 lors de la procédure IHC faisant appel au système de détection EnVision+™. Il ne s'agit là que de conseils. Les concentrations d'anticorps optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation et doivent être déterminées par chaque laboratoire de manière indépendante.

Immunogène

Protéine de fusion de l'histidine du fragment amino-terminal *Taq-Sac* de l'ADNc de *MITF* humain^{1,2}

Spécificité

Lors d'une analyse Western blot de la lignée cellulaire de mélanome humain, 501mel, l'anti-MITF a présenté des bandes de 54 et 60 kD correspondant aux variantes du MITF présentant un état de phosphorylation différent. Une plus grande spécificité a été démontrée par des essais de mobilité sur gel au cours desquels l'anti-MITF a généré un changement radical spécifique de la mobilité sur gel avec le MITF mais pas avec les facteurs bHLHZip liés, tels les TFEB, TFEC et TFE3.¹

Matériels requis mais non fournis

Se référer aux *Dako's Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection. Diluant(s) requis pour les procédures IHC :

Antibody Diluent (Diluant d'anticorps) (réf. S0809)

Le contrôle négatif suivant est recommandé pour les procédures IHC :

Mouse IgG₁ (IgG₁ de souris) (réf. X0931)

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN₃ peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.^{9,10}
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine

L'anti-MITF peut être utilisé sur des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. Le prétraitement des tissus par des enzymes protéolytiques n'est pas recommandé.

Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées à la chaleur avant d'appliquer la procédure de coloration IHC. La restauration de l'épitope par la chaleur (HIER) pour cet anticorps primaire requiert l'immersion des coupes de tissu dans une solution tampon, suivi d'une étape de chauffage dans un autocuiseur (121 °C). Suivre un protocole de chauffage de 5 minutes dans un autocuiseur réglé sur 121 °C. Bien rincer en utilisant du tampon ou de l'eau déionisée après la procédure HIER. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Silanized Slides (lames silanisées) (réf. S3003). La Target Retrieval Solution (Solution de restauration des cibles) (réf. S1700) ou le 10x Concentrate (Concentré 10x) (réf. S1699) sont recommandés.

Coupes cryostat et frottis cellulaires

L'anti-MITF peut être utilisé pour le marquage des coupes cryostat fixées à l'acétone ou des frottis cellulaires fixés.

Procédure de coloration

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection sélectionné.

Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire pour l'anti-MITF est nucléaire.

Caractéristiques de performance

Tissus sains¹¹

Type de tissu (nbre testés)	Éléments de tissus colorés positivement
Peau ⁶	noyaux de mélanocytes
Nævi ⁶	noyaux de mélanocytes
Nævi dysplasique ⁶	noyaux de mélanocytes
Surrénale (3) ¹¹	0/3
Moelle osseuse (3) ¹¹	0/3
Cerveau, cervelet (3) ¹¹	0/3
Cerveau, cerebrum (3) ¹¹	0/3
Sein (3) ¹¹	0/3
Col de l'utérus (3) ¹¹	0/3
Côlon (3) ¹¹	0/3
Œsophage (3) ¹¹	0/3
Cœur (3) ¹¹	1/3 noyaux de myocytes
Rein (3) ¹¹	0/3
Foie (3) ¹¹	0/3
Poumon (3) ¹¹	1/3 noyaux et cytoplasme de macrophages alvéolaires (faible)
Cellules mésothéliales (3) ¹¹	0/3
Nerf périphérique (3) ¹¹	0/3
Ovaire (3) ¹¹	0/3
Pancréas (3) ¹¹	0/3
Parathyroïde (3) ¹¹	0/3
Hypophyse (3) ¹¹	1/3 cytoplasme (granulaire) de quelques cellules dans la neurohypophyse*
Prostate (3) ¹¹	0/3
Glande salivaire (3) ¹¹	0/3
Muscle squelettique (3) ¹¹	0/3
Peau (3) ¹¹	3/3 noyaux de mélanocytes
Intestin grêle (3) ¹¹	0/3
Rate (3) ¹¹	0/3
Estomac (3) ¹¹	0/3
Testicule (3) ¹¹	0/3
Thymus (3) ¹¹	0/3
Thyroïde (3)	0/3
Amygdale (3) ¹¹	0/3
Utérus (3) ¹¹	1/3 noyaux et cytoplasme de cellules du stroma endométrial

*seule l'immunoréactivité nucléaire a été considérée comme positive

Tissus tumoraux^{5, 6}

Type de tissu (nbre testés)	Éléments de tissus colorés positivement
Mélanome malin (76) ⁶	76/76 noyaux de cellules tumorales
In situ (19) ⁶	19/19 noyaux de cellules tumorales
Primaire (50) ⁶	50/50 noyaux de cellules tumorales
Métastatique (7) ⁶	7/7 noyaux de cellules tumorales
Mélanome épithélioïde (32) ⁷	29/32 noyaux de cellules tumorales
Mélanome (44) ⁸	44/44 noyaux de cellules tumorales
Améloblastome (1) ⁷	0/1
Angiosarcome (2) ⁷	0/2
Carcinome mammaire invasif, cellules canalaire(10) ⁶	0/10 noyaux de cellules tumorales
Carcinome mammaire (8) ⁷	2/10 cytoplasme de cellules tumorales*
Carcinoïde (2) ⁷	1/8 noyaux de cellules tumorales (multifocale et faible)
Carcinoïde (2) ⁷	0/2
Carcinome du côlon (18) ⁷	0/18
Adénocarcinome de l'endomètre (10) ⁶	0/10
Sarcome du stroma endométrial (2) ⁷	0/2
Carcinome de l'œsophage (2) ⁷	0/2
Carcinome gastrique (3) ⁷	0/3
Léiomyosarcome (5) ⁷	2/5 noyaux de cellules tumorales (focale)
Adénocarcinome pulmonaire (6) ⁷	0/6
Carcinome pulmonaire à petites cellules (5) ⁷	0/5
Carcinome pulmonaire à cellules squameuses (19) ^{6, 7}	0/19
Tumeur mullérienne mixte maligne (1) ⁷	1/1 noyaux de cellules tumorales (faible)
Tumeur maligne de la gaine du nerf périphérique (3) ⁷	0/3
Carcinome nasopharyngé (1) ⁷	0/1
Ostéosarcome (1) ⁷	0/1

Carcinome ovariens (1) ^f	0/1
Carcinome pancréatique (1) ^f	0/1
Carcinome papillaire de la thyroïde (2) ^f	0/2
Phéochromocytome (1) ^f	0/1
Carcinome de la prostate (2) ^f	0/2
Carcinome des cellules rénales (17) ^f	2/17 noyaux de cellules tumorales
Rhabdomyosarcome (1) ^f	0/1
Carcinome squameux de la vulve (10) ^g	0/10
Sarcome synovial (1) ^f	0/1
Cancer testiculaire (10) ^g	0/10
Thymome (1) ^f	0/1
Carcinome de la thyroïde (10) ^g	0/10
Tumeur de Wilms (1) ^f	0/1

*seule l'immunoréactivité nucléaire a été considérée comme positive

Deutsch Code M3621

Verwendungszweck

Zur In-vitro Diagnostik.

Dieser Antikörper wird im Labor verwendet, um mit Lichtmikroskopie anhand von immunohistochemischen (IHC) Testmethoden MITF exprimierende Zellen in normalem und neoplastischem Gewebe qualitativ nachzuweisen. Positive Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von Melanomen bei.³ Die Identifizierung wird anhand der Ergebnisse des Antikörper-Panels unterstützt. Auswertungen müssen von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests der Patienten vorgenommen werden.

Synonym

Mikrophthalmie-Transkriptionsfaktor

Zusammenfassung und Erklärung

Der MITF (Mikrophthalmie-Transkriptionsfaktor) ist ein basischer Helix-Loop-Helix-Leuzin-Zipper (bHLHzip)-Transkriptionsfaktor, der die Entwicklung und das Überleben von Melanozyten und das Epithel des Netzhautpigments steuert und ebenfalls an der Transkription von Pigmentationsenzymgenen wie Tyrosinase, TRP1 und TRP2 beteiligt ist.^{2,4} Es wurde gezeigt, dass MITF durch MAP-Kinase als Reaktion auf die c-Kit-Aktivierung phosphoryliert wird und zu einer Hochregulation der MITF-Transkriptionsaktivität führt.¹ Mutationen des MITF-Gens werden mit der autosomalen dominanten Vererbung von Taubheit und Pigmentstörungen, dem Waardenburg-Syndrom Typ 2A, assoziiert.⁵ Es existieren mehrere Isoformen des MITF wie MITF-A, MITF-B, MITF-C, MITF-H, und MITF-M, welche sich im Bereich des Aminoterminals und im Expressionsmuster unterscheiden. Die MITF-M-Isoform beschränkt sich auf die Zelllinie der Melanozyten.⁴

Anti-MITF erkennt ein nukleäres Protein, das in der Mehrzahl primärer metastatischer, maligner Epithelioidmelanome und in normalen Melanozyten sowie in benignen und dysplastischen Naevi exprimiert wird. Es wurde eine Vielzahl nichtmelanomer Malignitäten mit Anti-MITF getestet, wobei nur wenige Tumore Immunreaktivität aufwiesen.^{6,7,8}

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunohistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

Anti-MITF wird in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand (mit fötalem Rinderserum) geliefert, der gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid dialysiert wurde. Enthält Proteine zur Stabilisierung.

Klon: D5¹ Isotyp: IgG₁, kappa
Konzentration Maus-IgG mg/l: Siehe Fläschchenetikett.

M3621 kann in der IHC mit dem EnVision+™ Detektionssystem bei einer Verdünnung von 1:100 verwendet werden. Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Antikörperkonzentrationen können je nach Probe und Vorbereitungsmethode unterschiedlich sein und sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden.

Immunogen

Histidin-Fusionsprotein des Aminoterminale-Taq-Sac-Fragments humaner MITF cDNA^{1,2}

Spezifität

In Western-Blot-Analysen der menschlichen Melanomzelllinie 501mel zeigte Anti-MITF 54 kD und 60 kD Bänder auf, die MITF-Varianten entsprechen, die sich im Phosphorylierungsstatus unterscheiden. Weitere Spezifitäten wurden in Gel-Mobility-Assays aufgezeigt, bei denen MITF mit MITF, aber nicht mit den verwandten bHLHzip-Faktoren TFEB, TFEC und TFE3 eine spezifische Gel-Mobility-Supershift produzierte.¹

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlenes Verdünnungsmittel für IHC-Verfahren:

Antibody Diluent (Code S0809)

Die folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:

Mouse IgG₁ (Code X0931)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN₃ können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.^{9,10}
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe

Paraffinschnitte

Anti-MITF kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Eine Vorbehandlung des Gewebes mit proteolytischen Enzymen wird nicht empfohlen.

Vor dem IHC-Färbeverfahren müssen die entparaffinierten Gewebeschnitte mit Hitze behandelt werden. Zur hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER) gehört ein Eintauchen der Gewebeschnitte in eine Pufferlösung und Erwärmung in einem Dampfdruckkocher (121 °C). Für den auf 121 °C eingestellten Dampfdruckkocher ein 5-minütiges Hitzeprotokoll verwenden. Nach der HIER mit Puffer oder entionisiertem Wasser gründlich spülen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträger wird die Verwendung von Silanized Slides (Code S3003) empfohlen. Es wird die Verwendung von Target Retrieval Solution (Code S1700) oder 10x Concentrate (Code S1699) empfohlen.

Gefrierschnitte und Zellausstriche

Anti-MITF kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und fixierten Zellausstrichen verwendet werden.

Färbeverfahren

Das empfohlene Verfahren des ausgewählten Detektionssystems befolgen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-MITF ist nukleär.

Leistungsmerkmale

Normales Gewebe¹¹

Gewebetyp (Anz. getestet)	Gewebeelement mit positiver Färbung
Haut ⁶	Zellkerne der Melanozyten
Naevi ⁶	Zellkerne der Melanozyten
Dysplastische Naevi ⁶	Zellkerne der Melanozyten
Adrenal (3) ¹¹	0/3
Knochenmark (3) ¹¹	0/3
Gehirn, Zerebellum (3) ¹¹	0/3
Gehirn, Zerebrum (3) ¹¹	0/3
Brust (3) ¹¹	0/3
Zervix (3) ¹¹	0/3
Darm (3) ¹¹	0/3
Ösophagus (3) ¹¹	0/3
Herz (3) ¹¹	1/3 Zellkerne der Myozyten
Niere (3) ¹¹	0/3
Leber (3) ¹¹	0/3
Lunge (3) ¹¹	1/3 Zellkerne und Zytoplasma alveolarer Makrophagen (schwach)
Mesothelzellen (3) ¹¹	0/3
Nerv, peripher (3) ¹¹	0/3
Eierstock (3) ¹¹	0/3
Pankreas (3) ¹¹	0/3
Nebenschilddrüse (3) ¹¹	0/3
Hypophyse (3) ¹¹	1/3 Zytoplasma (granulär) seltener Zellen der Neurohypophyse*
Prostata (3) ¹¹	0/3
Speicheldrüsen (3) ¹¹	0/3
Skelettmuskeln ¹¹	0/3
Haut (3) ¹¹	3/3 Zellkerne der Melanozyten

Dünndarm (3) ¹¹	0/3
Milz (3) ¹¹	0/3
Magen (3) ¹¹	0/3
Hoden (3) ¹¹	0/3
Thymus (3) ¹¹	0/3
Schilddrüse (3)	0/3
Mandeln (3) ¹¹	0/3
Uterus (3) ¹¹	1/3 Zellkerne und Zytoplasma von endometrialen Stromazellen

*Es wurde nur die nukleäre Immunreaktivität als positiv betrachtet

Abnormales Gewebe^{5,6}

Gewebetyp (Anz. getestet)	Gewebeelement mit positiver Färbung
Malignes Melanom (76) ⁶	76/76 Zellkerne von Tumorzellen
In situ (19) ⁶	19/19 Zellkerne von Tumorzellen
Primär (50) ⁶	50/50 Zellkerne von Tumorzellen
Metastatisch (7) ⁶	7/7 Zellkerne von Tumorzellen
Epithelioides Melanom (32) ⁷	29/32 Zellkerne von Tumorzellen
Melanom (44) ⁸	44/44 Zellkerne von Tumorzellen
Ameloblastom (1) ⁷	0/1
Angiosarkom (2) ⁷	0/2
Brustkarzinom, invasive Gangzelle (10) ⁶	0/10 Zellkerne von Tumorzellen 2/10 Zytoplasma von Tumorzellen*
Brustkarzinom (8) ⁷	1/8 Zellkerne von Tumorzellen (multifokal und schwach)
Karzinoid (2) ⁷	0/2
Kolonkarzinom (18) ⁷	0/18
Endometriales Adenokarzinom (10) ⁶	0/10
Endometriales Stromakarzinom (2) ⁷	0/2
Ösophaguskarzinom (2) ⁷	0/2
Magenkarzinom (3) ⁷	0/3
Leiomyosarkom (5) ⁷	2/5 Zellkerne von Tumorzellen (fokal)
Lungenadenokarzinom (6) ⁷	0/6
Kleinzelliges Bronchialkarzinom (5) ⁷	0/5
Plattenepithelkarzinom der Lunge (19) ^{6,7}	0/19
Maligner Müllerscher Tumor(1) ⁷	1/1 Zellkerne von Tumorzellen (schwach)
Maligner peripherer Nervenscheidentumor (3) ⁷	0/3
Nasopharyngeales Karzinom (1) ⁷	0/1
Osteosarkom (1) ⁷	0/1
Ovarialkarzinom (1) ⁷	0/1
Pankreaskarzinom (1) ⁷	0/1
Schilddrüsenpapillom (2) ⁷	0/2
Phäochromozytom (1) ⁷	0/1
Prostatakarzinom (2) ⁷	0/2
Nierenkarzinom (17) ⁷	2/17 Zellkerne von Tumorzellen
Rhabdomyosarkom (1) ⁷	0/1
Plattenepithelkarzinom der Vulva (10) ⁶	0/10
Synovialsarkom (1) ⁷	0/1
Hodenkrebs (10) ⁶	0/10
Thymom (1) ⁷	0/1
Schilddrüsenkarzinom (10) ⁶	0/10
Wilm-Tumor (1) ⁷	0/1

*Es wurde nur die nukleäre Immunreaktivität als positiv betrachtet




References

Bibliographie

Literaturangaben

- Hemesath TJ, Price ER, Takemoto C, Badalian T, Fisher DE. MAP kinase links the transcription factor Microphthalmia to c-Kit signalling in melanocytes. *Nature*. 1998; 391(6664):298
- Tachibana M, Perez-Jurado LA, Nakayama A, Hodgkinson CA, Li X, Schneider M, Miki T, Fex J, Francke U, Arnheiter H. Cloning of *MITF*, the human homolog of the mouse *microphthalmia* gene and assignment to chromosome 3p14.1-p12.3. *Hum Mol Genet*. 1994; 3(4):553
- Chang KL, Folpe AL. Diagnostic utility of microphthalmia transcription factor in malignant melanoma and other tumors. *Adv Anat Pathol*. 2001; 8(5):273
- Widlund HR, Fisher DE. Microphthalmia-associated transcription factor: a critical regulator of pigment cell development and survival. *Oncogene*. 2003; 22(20):3035
- Tassabehji M, Newton VE, Read AP. Waardenburg syndrome type 2 caused by mutations in the human microphthalmia (*MITF*) gene. *Nat Genet*. 1994; 8(3):251
- King R, Weilbaecher KN, McGill G, Cooley E, Mihm M, Fisher DE. Microphthalmia transcription factor. A sensitive and specific melanocyte marker for MelanomaDiagnosis. *Am J Pathol*. 1999; 155(3):731
- Granter SR, Weilbaecher KN, Quigley C, Fisher DE. Role for microphthalmia transcription factor in the diagnosis of metastatic malignant melanoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002; 10(1):47

8. Dorvault CC, Weilbaeher KN, Yee H, Fisher DE, Chiriboga LA, Xu Y, Chhieng DC. Microphthalmia transcription factor: a sensitive and specific marker for malignant melanoma in cytologic specimens. *Cancer*. 2001; 93(5):337
9. Department of Health, Education and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13. August 16, 1976
10. Centers for Disease Control Manual Guide – Safety Management, No. CDC-22, Atlanta, GA. "Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts." April 30, 1976
11. IHC003 Report On File

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i>
	Manufacturer Fabricant Hersteller	LOT	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung
EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		IVD
		In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC **REP**

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0039/Rev C