

Monoclonal Mouse
Anti-Human
MUM1 Protein

Clone MUM1p

Code No./ Code/ Code-Nr. M 7259

Edition/ Edition/ Ausgabe 30.09.03

ENGLISH
Intended use

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, Clone MUM1p, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels the MUM1 protein, which is expressed in a subset of B cells in the light zone of the germinal centre (representing late stages of B-cell differentiation), plasma cells, activated T cells, and a wide spectrum of related haematolymphoid neoplasms. Of non-haematolymphoid neoplasms only a proportion of melanomas are labelled. The antibody is of value, for example, for the subclassification of lymphoid malignancies (1, 2). 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.

Synonyms for antigen

IRF4 (interferon regulatory factor 4), ICSAT (interferon consensus sequence binding protein for activated T cells), and PIP (PU.1 interaction partner) (3).

Introduction

MUM1 protein (multiple myeloma oncogene-1) is a 50 kDa protein encoded by the *MUM1* gene that was originally identified because of its involvement in the rare t(6;14) (p25;q32) translocation observed in multiple myeloma (MM), causing juxtaposition of the *MUM1* gene to the Ig heavy chain locus (4, 5). MUM1-protein-deficient mice are unable to form germinal centres, lack plasma cells in the spleen and lamina propria, and exhibit a profound reduction of serum immunoglobulin levels and an inability to mount detectable antibody responses or to generate T-lymphocyte cytotoxic or antitumour responses (1). Expression of MUM1 protein is independent from the t(6;14) (p25;q32) translocation and has been detected in multiple myelomas, lymphoplasmacytic lymphomas (LPL), diffuse large B-cell lymphomas (DLBCL), and activated T cells. MUM1 protein is not specific for plasmacytic differentiation, but it may be added to the panel of phenotypic markers available for characterization of B-cell lymphoma histogenesis, in addition to being a useful marker in the subclassification of lymphoid malignancies, e.g. in B-CLL (1-3, 6).

MUM1 protein expression is restricted to cells in the lymphocytic and melanocytic lineages (5).

Reagent provided

 Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris/HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L Na₃N.

Clone: MUM1p (1). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: See label on vial.

Immunogen

Recombinant GST-MUM1 fusion protein (1).

Specificity

In Western blotting of pHeBo-CMV-MUM1-HA-transfected HeLa cell lysate, the antibody labels a band of 52 kDa corresponding to MUM1-HA protein, whereas no labelling is observed in non-transfected HeLa cell lysate. In Western blotting of lysates of IM9 (myeloma cell line), unfractionated tonsil cell suspensions, and PHA-stimulated T cells, the antibody labels a band of 50 kDa corresponding to MUM1 protein. No labelling is observed with lysates of U937 cells (myeloid cell line), and unstimulated T cells (1).

SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between lysate of the IM9 myeloma cell line and the antibody shows reaction with a 50 kDa protein corresponding to MUM1 protein (1).

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (Na₃N), 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.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

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 user must verify the conditions. 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 our Technical Services.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin or B5 (1). Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is required. For tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9.0, code No. S 2368, or DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308. Less optimal results are obtained with 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. Pre-treatment of tissues with DakoCytomation Proteinase K, code No. S 3020, was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labelling acetone-fixed, frozen sections. However, the labelling is usually weaker than in paraffin sections (1).

Staining procedure

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, code No. M 7259, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9.0, code No. S 2368, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is DakoCytomation Mouse IgG1, code No. X 0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in DakoCytomation Antibody Diluent, code No. S 0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen.

Visualization: DAKO LSAB™+/ HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4004 and K 4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the DakoCytomation APAAP kit, code No. K 0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Automation: The antibody is well-suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the DakoCytomation Autostainer.

Performance characteristics

Cells labelled by the antibody display staining predominantly confined to the nucleus, although weak to moderate staining of the cytoplasm is also present in most cases with nuclear positivity (2).

Normal tissues: In tonsil and spleen, the antibody strongly labels plasma cells and between 3 and 10% of the germinal centre (GC) B cells, mainly located in the light zone. Rare MUM1 protein-positive cells in the mantle zone represent B cells exiting GC and transiting through the follicle mantle zone. The antibody also labels 1-5% of the T cells present in the GC and the interfollicular area. No labelling is observed in tonsil macrophages, follicular dendritic cells, endothelia and epithelia. Thymus cortex, thymus medulla, Hassall's corpuscles, and bone marrow erythroid and myeloid precursors, megakaryocytes, osteoblasts and osteoclasts are also MUM1 protein-negative (1). In an additional study of 142 normal, non-lymphoid tissues representing 33 tissue types, all tissues were found to be negative with the antibody (2).

Abnormal tissues: In a study of a large number (N=210) and variety (18 types) of human haematolymphoid malignancies, the antibody labelled a wide spectrum of B-, T-, and natural killer (NK)-cell lymphomas. All types of haematolymphoid neoplasms tested were labelled, except for Burkitt's lymphoma, mast cell, and histiocytic disorders. A total of 56% of T- and NK-cell lymphomas, and a total of 35% B-cell neoplasms were labelled, with a strong labelling of MM (100%), DLBCL (51%), marginal-zone lymphoma (58%), LPL (50%), post-transplant lymphoproliferative disorders (67%), and Hodgkin's disease (100%). Of 122 follicle centre lymphomas, 23% were labelled by the antibody, i.e. 79% of grade III and 21% of grade I+II. Lesional cells labelled by the antibody did not necessarily show plasmacytic differentiation, suggesting that MUM1 protein expression may precede the expression of CD138 and VS38 proteins that are more specific markers for plasmacytic differentiation. Of 731 non-lymphoid neoplasms representing 20 different types, only 5/22 melanomas were labelled by the antibody (2).

FRANÇAIS
Intérêt

Pour diagnostic in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, Clone MUM1p, est destiné pour un usage en immunocytochimie. L'anticorps marque la protéine MUM1 exprimée dans un sous-groupe de cellules B dans la région lumineuse du centre germinatif (représentant les stades tardifs de la différenciation des cellules B), les cellules plasmatiques, les lymphocytes T et un large spectre de néoplasmes hématoïlymphoïdes liés. Parmi les néoplasmes non hématoïlymphoïdes, seulement une certaine proportion de mélanomes sont marqués. L'anticorps est utile, par exemple, pour la sous-classification des tumeurs lymphoïdes malignes (1, 2). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostiques.

Synonymes de l'antigène

IRF4 (interféron régulateur facteur 4), ICSAT (protéine de liaison de séquence consensus d'interféron pour les cellules T activées), et PIP (partenaire d'interaction PU.1) (3).

Introduction

La protéine MUM1 (myélome multiple oncogène-1) est une protéine de 50 kDa codée par le gène *MUM1* initialement identifiée à cause de son implication dans la translocation t(6;14) (p25;q32) rare observée dans les myélomes multiples (MM), qui provoque une juxtaposition du gène *MUM1* sur le locus Ig de la chaîne lourde (4, 5). Les souris déficientes en protéine MUM1 sont incapables de former des centres germinatifs, manquent de cellules plasmatiques dans la rate et la lamina propria, et souffrent d'une forte réduction des niveaux d'immunoglobuline sérique et d'une incapacité à générer des réponses détectables aux anticorps ou des réponses cytotoxiques aux lymphocytes T ou antitumorales (1). L'expression de la protéine MUM1 est indépendante de la translocation t(6;14) (p25;q32) et elle a été détectée dans les myélomes multiples, les lymphomes lymphoplasmacytaires (LPL), les lymphomes diffus à grandes cellules B (DLBCL), et les cellules T activées. La protéine MUM1 n'est pas spécifique pour la différenciation plasmacytaire, mais elle peut être ajoutée au panel de marqueurs phénotypiques disponibles pour la caractérisation de l'histogénése des lymphomes à cellules B, et c'est aussi un marqueur utile pour la sous-classification des tumeurs lymphoïdes malignes, par exemple la B-CLL (1-3, 6).

L'expression de la protéine MUM1 est restreinte aux cellules des lignées lymphocytaires et mélanoctytes (5).

Réactif fourni

 Anticorps monoclonal de souris à l'état liquide sous forme de surnageant de culture cellulaire dialysé contre du Tris/HCl 0,05 mol/L, pH 7,2, 15 mmol/L Na₃N.

Clone: MUM1p (1).

Isotype: IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris: voir l'étiquette sur le flacon.

Immunogène

Protéine de fusion recombinante GST- MUM1 (1).

Spécificité

Dans les transferts de type Western sur des lysats de cellules HeLa transfectées par le pHeBo-CMV-MUM1-HA, l'anticorps marque une bande de 52 kDa correspondant à la protéine MUM1-HA, alors qu'aucun marquage n'est observé dans les lysats de cellules HeLa non transfectées. Lors de transferts de type Western sur des lysats de IM9 (ligne cellulaire du myélome), de suspensions de cellules d'amygdales non fractionnées et de cellules T stimulées par la PHA, l'anticorps marque une bande de 50 kDa correspondant à la protéine MUM1. Aucun marquage n'est observé dans les lysats de cellules U937 (ligne cellulaire myéloïde) et les cellules T non stimulées (1).

L'analyse SDS-PAGE des immunoprécipités formés entre le lysat de lignée cellulaire de myélome IM9 et l'anticorps montre une réaction à une protéine de 50 kDa correspondant à la MUM1 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.

2. Ce produit contient de l'azide de sodium (Na₃N), un produit chimique hautement毒ique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, rincer à grande eau pour éviter toute accumulation d'azide métallisé dans la tuyauterie.

3. Comme pour tout dérivé biologique, les procédures de manipulation correctes doivent être respectées.

Stockage

Conserver entre 2°C et 8°C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Dans le cas où les réactifs seraient conservés dans des conditions différentes de celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Aucun signe visible n'indique l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positif et négatif doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.

Préparation de l'échantillon

Coupes en paraffine: L'anticorps peut être utilisé pour marquer les coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol ou B5 (1). Le prétraitement des tissus par restauration de l'épitope par la chaleur est requis. Pour les tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus avec DakoCytomation Target Retrieval Solution, code S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9.0, code S 2368, ou DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH élevé, code S 3308. De moins bons résultats sont obtenus avec un tampon citrate 10 mmol/L, pH 6.0. Le prétraitement des tissus avec DakoCytomation Proteinase K, code S 3020, s'est avéré inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure de coloration immunocytochimique qui suit.

Coupes congelées et préparations cellulaires: L'anticorps peut être utilisé pour le marquage de coupes de tissus congelées fixées à l'acétone. Cependant, le marquage est plus faible que sur les coupes incluses en paraffine (1).

Procédure d'immunomarquage

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, code M 7259, peut être dilué entre 1:25 et 1:50 pour une application sur des coupes, fixées au formol d'amygdale humaine et avec récupération de l'épitope par la chaleur pendant 20 minutes dans DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,0, code S 2368, et une incubation de 30 minutes à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire. Le contrôle négatif recommandé est DakoCytomation Mouse IgG1, code X 0931, dilué à la même concentration d'IgG de souris que l'anticorps primaire. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie au cours la procédure effective de coloration, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant usage ou de les diluer dans DakoCytomation Antibody Diluent, code S 0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient.

Visualisation: Les trousse DAKO LSAB™+/HRP, code K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP, code K 4004 et K 4006, sont recommandées. Pour les coupes congelées et les préparations cellulaires, la trousse DakoCytomation APAAP, code K 0670, est une alternative valable si le marquage de la péroxydase endogène est à craindre. Suivre la procédure incluse dans la trousse de visualisation choisie.

Automatisation: L'anticorps convient bien à la coloration immunocytochimique à l'aide de plate-formes automatisées, telles que DakoCytomation Autostainer.

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps montrent une coloration confinée principalement au noyau, bien qu'une coloration allant de faible à modérée du cytoplasme soit également visible dans la plupart des cas présentant une positivité nucléaire (2).

Tissus normaux: Dans des coupes congelées d'amygdale et de rate, l'anticorps marque fortement les cellules plasmatiques et 3 à 10 % des cellules B du centre germinatif (GC), situées principalement dans la région lumineuse. Les quelques rares cellules positives à la protéine MUM1 dans la zone du manteau sont des cellules B sortant du centre germinatif et transitant par la zone du manteau folliculaire. L'anticorps marque aussi 1 à 5 % des cellules T présentes dans le GC et dans la zone interfolliculaire. Aucun marquage n'est observé dans les macrophages des amygdales, les cellules dendritiques folliculaires, l'endothélium et l'épithélium. Le thymus cortical, le thymus médullaire, les corpuscules de Hassall, la moelle osseuse érythroïde et les précurseurs myéloïdes, les mégacaryocytes, les ostéoblastes et les ostéoclastes sont aussi négatifs à la protéine MUM1 (1). Dans une étude complémentaire de 142 tissus normaux non lymphoïdes représentant 33 types de tissus, tous se sont révélés négatifs à l'anticorps (2).

Tissus anormaux: Dans une étude portant sur un grand nombre (N=210) et une grande variété (18 types) de tumeurs malignes hématoïlymphoïdes humaines, l'anticorps a marqué un large éventail de lymphomes à cellules B, T et NK. Tous les types de néoplasmes hématoïlymphoïdes testés ont été marqués, sauf les lymphomes de Burkitt, les mastocytes et les troubles histiocytaires. Un total de 56 % de lymphomes à cellules T et NK, et un total de 35 % de néoplasmes à cellules B ont été marqués avec un fort marquage des MM (100 %), des DLBCL (51 %), des lymphomes de la zone marginale (58 %), des LPL (50 %), des troubles lymphoprolifératifs post-transplantation (67 %) et de la maladie de Hodgkin (100 %). Sur 122 lymphomes centrofolliculaires, 23 % ont été marqués par l'anticorps, dont 79 % de grade III et 21 % de grade I + II. Les cellules lésionnelles marquées par l'anticorps ne montrent pas forcément une différenciation plasmacytaire, ce qui suggère la possibilité que l'expression de la protéine MUM1 précède l'expression des protéines CD138 et VS38 qui sont des marqueurs plus spécifiques des différenciations plasmacytaires. Parmi 731 néoplasmes non lymphoïdes représentant 20 types différents de mélanomes, seulement 5 mélanomes sur 22 ont été marqués par l'anticorps (2).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, Clone MUM1p, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert das MUM1-Protein, das in einer Untergruppe von B-Lymphozyten in der hellen Zone des Keimzentrums (die späten Stadien der B-Zelldifferenzierung repräsentierend), Plasmazellen, aktivierten T-Zellen und einem umfangreichen Spektrum verwandter hämatolymphoïder Neoplasmen exprimiert wird. Von den nicht hämatolymphoïden Neoplasmen wird nur ein Teil der Melanome markiert. Der Antikörper ist beispielsweise für die Unterklassifizierung lymphoïder Malignitäten wertvoll (1, 2). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens Einleitung

IRF4 (Interferon-regulierender Faktor 4), ICSAT (interferon consensus sequence binding protein für aktivierte T-Zellen) und PIP(PIU.1-Interaktionspartner) (3).

Bei dem MUM1-Protein (multiple myeloma oncogene-1) handelt es sich um ein 50 kDa schweres Protein, das vom MUM1-Gen kodiert wird und das ursprünglich wegen seiner Beteiligung an der seltenen t(6;14) (p25;q32)-Translokation identifiziert wurde, die beim multiplen Myelom (MM) beobachtet wird und eine Juxtaposition des MUM1-Gens an den Ig-Schwerketten-Lokus verursacht (4, 5). Mäuse mit einer Defizienz des MUM1-Proteins sind nicht in der Lage, Keimzentren zu bilden, haben einen Mangel an Plasmazellen in Milz und Lamina propria und zeigen eine tiefgreifende Herabsetzung der Immunglobulin-Spiegel im Serum ebenso wie eine Unfähigkeit, nachweisbare Antikörperreaktionen zu aktivieren oder über T-Lymphozyten vermittelte zytotoxische oder Antitumor-Reaktionen zu generieren (1). Die Expression des MUM1-Proteins ist unabhängig von der t(6;14) (p25;q32)-Translokation und wurde bei multiplen Myelomen, lymphoplasmzytischen Lymphomen (LPL), diffusen großzelligeren B-Zell-Lymphomen (DLBCL) und aktivierten T-Zellen nachgewiesen. Das MUM1-Protein ist nicht für die Plasmazelldifferenzierung spezifisch, es kann jedoch in den Panel phänotypischer Marker aufgenommen werden, der für die Charakterisierung der Histiogenese des B-Zelllymphoms zur Verfügung steht. Zudem ist es ein nützlicher Marker bei der Unterklassifizierung lymphoïder Malignitäten wie beispielsweise der B-CLL (1-3, 6).

Die Expression des MUM1-Proteins ist bei den Lymphozyten- und Melanozyten-Zelllinien restriktiv (5).

Geliefertes Reagenz

Der monoklonale murine Antikörper liegt in flüssiger Form als Zellkulturüberstand vor, wurde gegen 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2, dialysiert und enthält 15 mmol/L Na₃N.

Klon: MUM1p (1). Isotyp: IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Immunogen

Rekombinantes GST-MUM1-Fusionsprotein (1).

Spezifität

In Western-Blot-Analysen des pHeBo-CMV-MUM1-HA-transfizierten HeLa-Zellsatzes markiert der Antikörper eine Bande von 52 kDa, die dem MUM1-HA-Protein entspricht. Demgegenüber wird bei nicht transfiziertem HeLa-Zellsatz keine Markierung beobachtet. Bei Western-Blot-Analysen der Lysate von IM9 (Myelom-Zelllinie), Suspensionen nicht fraktionierter Tonsillenzellen und PHA-stimulierter T-Zellen markiert der Antikörper eine dem MUM1-Protein entsprechende Bande von 50 kDa. Keine Markierung wird festgestellt bei Lysaten von U937-Zellen (myeloide Zelllinie) und nicht stimulierten T-Zellen (1).

Die SDS-PAGE-Analyse der Immunpräzipitate, die zwischen dem Lysat der IM9-Myelom-Zelllinie und dem Antikörper gebildet wurden, zeigt Reaktion mit einem 50 kDa schweren, dem MUM1-Protein entsprechenden Protein (1).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.

2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃N), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-Anreicherung zu vermeiden.

3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.

Lagerung

Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses

Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin oder B5 fixierten histologischen Schnitten genutzt werden (1). Eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Bei formalinfixierten Geweben werden optimale Ergebnisse erhalten mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 2368, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S 2368 oder DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308. Weniger optimale Resultate werden mit 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, erzielt. Eine Vorbehandlung der Gewebe mit DakoCytomation Proteinase K, Code-Nr. S 3020, hat sich nicht als effizient erwiesen. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbepräzess darf die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung acetongefixierter Gefrierschnitte genutzt werden. Die Markierung ist in der Regel jedoch schwächer als bei Paraffinschnitten (1).

Färbepräzess

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human MUM1 Protein, Code-Nr. M 7259, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:25-1:50 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte paraffineingebettete Schnitte der menschlichen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S 2368, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist DakoCytomation Mouse IgG1, Code-Nr. X 0931, das auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit DakoCytomation Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: DAKO LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K 4004 und K 4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der DakoCytomation APAAP Kit, Code-Nr. K 0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Automatisierung: Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von DakoCytomation geeignet.

Leistungseigenschaften

Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen eine vordringlich auf den Nukleus begrenzte Färbung, auch wenn in den meisten Fällen einer nukleären Positivität ebenfalls eine schwache bis mittelgradige Anfärbung des Zytoplasmas vorliegt (2).

Normalgewebe: Bei Tonsille und Milz markiert der Antikörper in starkem Ausmaß Plasmazellen und zwischen 3 und 10 % der hauptsächlich in der hellen Zone des Keimzentrums lokalisierten -B-Lymphozyten. Vereinzelt, für das MUM1-Protein positive Zellen in der Mantelzone repräsentieren das Keimzentrum verlassende und die folliculäre Mantelzone passierende B-Lymphozyten. Der Antikörper markiert außerdem 1-5 % der im Keimzentrum und im interfollikulären Bereich vorliegende T-Zellen. Keine Markierung wird beobachtet bei Makrophagen der Tonsille, folliculär-dendritischen Zellen, Endothelien und Epithelien. Ebenfalls für das MUM1-Protein negativ sind Kortex und Medulla des Thymus, Hassall-Körperchen und erythroide wie auch myeloide Vorläuferzellen des Knochenmarks, Megakaryozyten, Osteoblasten und Osteoklasten (1). Bei einer weiteren Studie an 142 normalen, nicht lymphoiden Geweben, die insgesamt 33 Gewebetypen repräsentierten, erwiesen sich alle Gewebe als für den Antikörper negativ (2).

Anomale Gewebe: Im Rahmen einer Studie an einer großen Anzahl (n=210) unterschiedlichster (18 Typen) humaner hämatolymphoïder Malignitäten markierte der Antikörper ein weitreichendes Spektrum von B-, T-, und NK-Zelllymphomen. Alle untersuchten Arten hämatolymphoïder Neoplasmen testeten positiv, mit Ausnahme von Burkitt-Lymphom, Mastzellen- und histiozytären Anomalien. Insgesamt 56 % der T- und NK-Zelllymphome und insgesamt 35 % der B-Zellneoplasmen wurden markiert, mit ausgeprägter Markierung von MM (100 %), DLBCL (51 %), Marginalzonallymphom (58 %), LPL (50 %), nach Transplantation aufgetretenen lymphoproliferativen Störungen (67 %) und Hodgkin-Krankheit (100 %). Von 122 Follikelzelllymphomen wurden 23 % durch den Antikörper markiert, d. h. 79 % der als Grad III und 21 % der als Grad I+II eingestuften Malignitäten. Durch den Antikörper markierte läsionale Zellen zeigten nicht notwendigerweise Plasmazelldifferenzierung, was nahelegt, dass die Expression des MUM1-Proteins der Expression der Proteine CD138 und VS38 vorangeht, die spezifischere Marker der Differenzierung von Plasmazellen sind. Von 731 nicht lymphoiden Neoplasmen, die insgesamt 20 unterschiedliche Typen repräsentierten, wurden nur 5/22 Melanomen durch den Antikörper markiert (2).

References/ Références/ Literatur

1. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Bigerna B, Marafioti T, Gambacorta M, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. Blood 2000;95:2084-92.
2. Natkunam Y, Warnke RA, Montgomery K, Falini B, van de Rijn M. Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. Mod Pathol 2001;14:686-94.
3. Gaidano G, Carbone A. MUM1: a step ahead toward the understanding of lymphoma histogenesis. Leukemia 2000;14:563-6.
4. Iida S, Rao PH, Butler M, Corradini P, Boccadoro M, Klein B, et al. Dereulation of MUM1/IRF4 by chromosomal translocation in multiple myeloma. Nat Genet 1997;17:226-30.
5. Tsuibo K, Iida S, Inagaki H, Kato M, Hayami Y, Hanamura I, et al. MUM1/IRF4 expression as a frequent event in mature lymphoid malignancies. Leukemia 2000;14:449-56.
6. Chang CC, Lorek J, Sabath DE, Li Y, Chitambar CR, Logan B, et al. Expression of MUM1/IRF4 correlates with clinical outcome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002;100:4671-5.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2 °C - 8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 LOT Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	