

## 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 NaN<sub>3</sub>.  
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 (NaN<sub>3</sub>), 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.

(104293-002)	M 7259/EFG/CE/30.09.03 p. 1/4
DakoCytomation Denmark A/S · Produktionsvej 42 · DK-2600 Glostrup · Denmark · Tel. +45 44 85 95 00 · Fax +45 44 85 95 95 · CVR No. 33 21 13 17	

### 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, Hassal'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 MUM1Protein, 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 luminale 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 hématolymphoïdes liés. Parmi les néoplasmes non hématolymphoïdes, 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 diagnostics.

**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'histogénèse 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 mélanocytaires (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 NaN<sub>3</sub>.  
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 (lignée cellulaire du myé­lome), de suspensions de cellules d'amygdale 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 (lignée 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 (NaN<sub>3</sub>), un produit chimique hautement toxique 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).

(104293-002)	M 7259/EFG/CE/30.09.03 p. 2/4
DakoCytomation Denmark A/S · Produktionsvej 42 · DK-2600 Glostrup · Denmark · Tel. +45 44 85 95 00 · Fax +45 44 85 95 95 · CVR No. 33 21 13 17	

