

MUM1/IRF4 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (MUM1p)

Mouse anti-human MUM1/IRF4 Monoclonal Antibody (Clone MUM1p)

Código	EP-12-52123	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	MUM1p
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1kappa
• Imunógeno	:	Proteína GST-MUM1 Recombinante.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala
• Marcação	:	Nuclear

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

MUM1 / IRF4 é um oncogene associado ao mieloma. A proteína tem um peso molecular de 51,6 kDa e é codificada por um gene na região do cromossomo 6p25-p23 localizado principalmente no núcleo dos linfócitos. Quando MUM1 não é expresso, as células B / T não são ativadas e as imunoglobulinas não são secretadas pelas células plasmáticas. A maioria das neoplasias compostas por células linfóides maduras expressa MUM1. Portanto, esta proteína é expressa em um subconjunto de células B no centro germinativo em células plasmáticas e em células T ativadas. MUM1 é um marcador que auxilia na caracterização da histogênese do linfoma / leucemia de origem B. Nos linfomas de células B, a expressão de MUM1 apresenta um papel preditivo do perfil genético e representa, juntamente com CD10 e BCL-6, a base da classificação de Hans para linfomas difusos de grandes células B. A positividade de MUM1, nesses casos, sugere um fenótipo de centro não germinativo e é preditivo para o prognóstico, especialmente em casos pediátricos. Nos linfomas de Burkitt, que compartilham aspectos citológicos, arquiteturais e histológicos com alguns casos de DLBCL de “tipo-Burkitt”, a MUM1 é negativa em geral ou positiva em uma pequena porcentagem de casos. Todos os casos de linfomas de efusão primária e a maioria dos casos de linfomas cerebrais primários são positivos para MUM1. Outras neoplasias linfóides podem expressar MUM1. Os melanomas também podem corar com MUM1.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2°C e 8°C, porém o uso é feito em temperatura ambiente.

Conteúdo:

1. Ver frasco.

Notas técnicas importantes:

1. Evitar contato dos reagentes com os olhos e membranas mucosas. Caso os reagentes entrem em contato com áreas sensíveis lavar abundantemente com água.
2. Esse produto é prejudicial se ingerido.
3. Consulte as autoridades locais ou estaduais com relação ao método recomendado de descarte
4. Evitar a contaminação microbiana dos reagentes
5. Recomendado para uso em pesquisa (RUO)

Notas do protocolo:

A diluição ideal do anticorpo e protocolos para uma aplicação específica podem variar. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Esses incluem, mas não estão limitados à fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da secção de tecido. As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do pesquisador para determinar as condições ideais. Este produto é apenas para uso profissional. A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico de múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados, seleção de tecidos, fixação e em processamento, preparação da lâmina IHQ e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinização - Estufa 60-65 °C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (MuscaePlus/EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a câmara e deixar 15 minutos em 110 °C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Anticorpo primário (Biocare ou EasyPath) por 30-60 minutos (Conforme padronização do laboratório), lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Amplificador do anticorpo EasyPath por 15 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Polímero PolyFusion-HRP EasyPath por 30 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio. Nota: O polímero é sensível à luz. Evitar a exposição desnecessária.
- 7 - Preparar o DAB EasyPath com 15 minutos de antecedência (Proporção: 1ml de DAB Substrato para 1 gota de DAB Cromógeno).
- 8 - DAB EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 9 - Potencializador do DAB EasyPath (etapa não obrigatória) por 2 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 10 - Hematoxilina EasyPath por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 11 - Bateria de álcool e xilol.
- 12 - Montar a(s) lâmina(s).

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados *

O número mínimo de testes é calculado com 100µl gotas de reagente, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinizar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada produto possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Bandeja de incubação comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada MuscaePlus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinizar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.
- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Podem-se ser utilizadas micropipetas para reduzir a quantidade de reagentes utilizados durante o processo, bem como outros sistemas de recuperação antigênica como micro-ondas, panela de pressão, banho maria ou sistema automatizados para imuno-histoquímica como IntelliPATH (Biocare).

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina, pelo tempo mínimo de fixação (Recomendado – Histofix, fixador EasyPath). A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5), temperatura do processamento, inclusão e desparafinização podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Referência Bibliográfica

1. Grossman A, Mittrücker HW, Nicholl J, Suzuki A, Chung S, Antonio L, Suggs S, Sutherland GR, Siderovski DP, Mak TW. Cloning of human lymphocyte-specific interferon regulatory factor (hLSIRF/hIRF4) and mapping of the gene to 6p23-p25. *Genomics*. 1996;15;37:229-233
2. Iida S, Rao PH, Butler M, Corradini P, Boccadoro M, Klein B, Chaganti RS, Dalla-Favera R. Deregulation of MUM1/IRF4 by chromosomal translocation in multiple myeloma. *Nat Gen et*. 1997;17:226-230
3. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Bigerna B, Marafioti T, Gambacorta M, Pacini R, Alunni C, Natali-Tanci L, Ugolini B, Sebastiani C, Cattoretti G, Pileri S, Dalla-Favera R, Stein H. 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*; 95: 2083-2092. 2000.
4. Ito M, Iida S, Inagaki H, Tsuboi K. MUM1/IRF4 expression is an unfavourable prognostic factor in B-cell Chronic lymphocytic leukaemia (CLL)/ small lymphocytic lymphoma (SLL). *Jpn J. Cancer Res*. 93: 685-694, 2002.
5. Chang CC, Lorek J, Sabath DE, Li Y, Chitambar CR, Logan B, Kampalath B, Cleveland RP. Expression of MUM1/IRF4 correlates with clinical outcome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;100:4671-4675
6. Chang CC, McClintock S, Cleveland RP, Trzpuć T, Vesole DH, Logan B, Kajdacsy-Balla A, Perkins SL. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:464-470
7. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Müller-Hermelink HK, Campo E, Braziel RM, Jaffe ES, Pan Z, Farinha P, Smith LM, Falini B, Banham AH, Rosenwald A, Staudt LM, Connors JM, Armitage JO, Chan WC. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103:275-282
8. Ponzoni M, Arrighoni G, Doglioni C. New transcription factors in diagnostic hematopathology. *Adv Anat Pathol*; 14(1): 25-35. 2007.
9. Gualco G, Weiss LM, Bacchi CE. MUM1/IRF4: A Review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18:301-310