



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗 MUM1モノクローナル抗体 (EAU32)

(動物種：マウス)

包装：50 テスト (6mL)

Code：418411

製造販売元

株式会社ニチレイバイオサイエンス

〒104-8402

東京都中央区築地 6-19-20

TEL. 03(3248)2208 FAX. 03(3248)2243

■ **特異性及び抗原分布**：MUM1(Multiple myeloma oncogene 1)と特異的に反応する。MUM1(別名：IRF4)は、免疫細胞の分化に重要な役割を果たすインターフェロン調節転写因子の1つである⁽¹⁾⁽²⁾。正常では、分化後期段階の胚中心B細胞、形質細胞、活性化T細胞、メラノサイトなどの核に発現がみられる⁽³⁾。腫瘍では、多発性骨髄腫、古典的ホジキンリンパ腫やびまん性大細胞型B細胞リンパ腫・非特定型(DLBCL, NOS)の一部などで発現がみられる⁽⁴⁾。MUM1の免疫組織化学染色はCD10、BCL-6と共に、DLBCL, NOSにおいて起源となる細胞(GCB^{*1}/non-GCB^{*2})の分類に使用されている⁽⁵⁾⁽⁶⁾。

注) MUM1が発現している細胞は、核の他に細胞質にも弱～中程度の染色がみられることがある。

*1 GCB：Germinal center B-cell-like(胚中心B細胞様)

*2 non-GCB：non-Germinal center B-cell-like(非胚中心B細胞様)

■ **クローン名**：EAU32

■ **抗体のクラス/サブクラス**：IgG1

■ **免疫原**：ヒト MUM1 の 313 個のアミノ酸配列からなるリコンビナントタンパク質

■ **製法**：培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗 MUM1モノクローナル抗体(EAU32) (動物種：マウス)。

液状。

ウシ血清アルブミン(BSA)と、0.1%アジ化ナトリウムを含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中にて、即時使用可能な抗体濃度に希釈済み。

1バイアル中に6mLを含む。

2. 使用目的

組織・細胞中の MUM1 の染色。

研究用としてのみ使用すること。

3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学及び免疫細胞化学染色に使用できる第一抗体である。

パラフィン包埋切片の場合、前処理(抗原賦活化)として 10mM クエン酸緩衝液(pH6.0)を用いた温浴処理が必要である(裏面の■操作手順参照)。

スライド上の組織切片が完全に覆われるように第一抗体を 2 滴(100 μ L)滴下し、常温(15-25 $^{\circ}$ C)で 30 分~1 時間インキュベートする。

この反応時間は、ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)を使用する場合の目安であり、他のキットを使用する場合は、研究者自身が至適反応時間を調べる必要がある。

■ **参考**：抗原賦活化処理方法を変更することで良好な染色結果が得られる場合がある。

■ **組織の固定状況等が染色結果に影響を及ぼすため学会等が推奨する固定液や固定時間を遵守し、検体の取扱いは十分注意すること。** 染色条件を変更することで良好な染色結果が得られる場合があるが、組織へのダメージや偽陽性化、偽陰性化が起こるおそれがあるため、研究者自身の責任において至適条件をよく検討すること。

4. 貯法及び使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C保存。

2. 使用期限はラベルに記載されているので使用前に確認すること。

3. 使用前に室温に戻すこと。

4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。

5. 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたりしないこと。

5. 取扱い上(危険防止)の注意

1. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
2. 本品に関する化学物質の安全情報は安全データシートを参照すること。
3. 本品を吸い込んだり、眼、口、皮膚、衣類などへの接触を避けること。
4. 本品の廃棄の際には、各施設や地域及び国のルールに従い、適切に廃棄すること。
5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱いに注意が必要である。
6. アジ化ナトリウムは有毒化学薬品である。本品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。
7. ヒト由来の検体は、取扱い者に感染をひき起こす危険性がある。従って、適切な取扱い及び廃棄法を用いるとともに、この免疫組織(細胞)化学染色法を施行するに際し、関連技術及び操作法に充分習熟しておかなければならない。

6. 参考文献

- (1) Heo MH, et al. IRF4/MUM1 expression is associated with poor survival outcomes in patients with peripheral T-cell lymphoma. J Cancer. 2017 Mar 29;8(6):1018-1024.
- (2) Agnarelli A, et al. IRF4 in multiple myeloma-Biology, disease and therapeutic target. Leuk Res. 2018 Sep;72:52-58.
- (3) Huang W, et al. MUM-1 expression differentiates AITL with HRS-like cells from cHL. Int J Clin Exp Pathol. 2015 Sep 1;8(9):11372-8.
- (4) Natkunam Y, et al. Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. Mod Pathol. 2001 Jul;14(7):686-94.
- (5) Swerdlow SH, et al. WHO classification of tumor, Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues revised 4th Ed. IARC Press. 2017
- (6) Hans CP, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood. 2004 Jan 1;103(1):275-82.

免疫染色における操作手順及び前処理(抗原賦活化)

■ 操作手順

[切片の準備]

1. 50℃で十分に湯伸ばしした切片(3-4µm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付け、37℃の恒温器内で16時間以上乾燥させる。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化): 温浴処理

- ① 温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
- ② 調製した抗原賦活化液(下記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを恒温槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③ 抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする。
- ④ 抗原賦活化液の温度が再び95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99℃でインキュベートする。
- ⑤ 染色バットを温浴槽から取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15-25℃)で20分間放置しゆっくり熱を冷ます。
- ⑥ スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、又は洗浄びんを使用する)。

[染色手順] <ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)使用の場合>

4. 内因性ペルオキシダーゼの除去 10~15分間/常温 → PBS洗浄
5. 第一抗体の添加・反応 30分~1時間/常温 → PBS洗浄
6. シンプルステインMAX-PO(M)の添加・反応 30分間/常温 → PBS洗浄
7. 基質溶液の添加・反応 DAB発色 → 水洗
8. 対比染色 核染(ヘマトキシリン) → 封入 → 乾燥 → 検鏡

■ 注意

- ・「PBS洗浄」は5分間ずつ容器を2度かえるか、又は洗浄びんを使用する。
- ・4.のプロセスは3.の前に行ってもよい。
- ・ヒストファインSABキットを使用する場合は上記1.~4.までを行いSABキットの操作方法に従って染色を行う。
- ・10mM クエン酸緩衝液(pH6.0)の作り方

A液 9mL+B液 41mL+精製水 450mL (用時調製)

A液: 0.1M クエン酸水溶液: 常温で保存可能

クエン酸一水和物 (C₆H₈O₇ · H₂O) 2.1g/精製水 100mL

B液: 0.1M クエン酸ナトリウム水溶液: 常温で保存可能

クエン酸三ナトリウム二水和物 (C₆H₅O₇Na₃ · 2H₂O) 14.7g/精製水 500mL

ここから必要な時に調製する。