

Células DH82 | 305003**Informações gerais****Description**

As células DH-82, derivadas da histiocitose maligna de um Golden Retriever macho de dez anos de idade, são uma pedra angular no estudo da imunologia canina e das doenças relacionadas.

Estas células apresentam uma morfologia semelhante à dos macrófagos, reflectindo as principais funções dos macrófagos humanos, constituindo assim um modelo relevante para a investigação de vários aspectos da saúde canina, em especial as doenças relacionadas com o sistema imunitário.

Uma característica definidora das células DH-82 é a sua capacidade de fagocitar partículas de látex, uma função essencial dos macrófagos responsável pela eliminação de substâncias estranhas ao organismo. Esta propriedade posiciona as células DH-82 como uma ferramenta robusta para investigar as respostas imunitárias dos cães, especialmente face a infecções e doenças inflamatórias. A expressão de receptores Fc gama nas células DH-82 é uma característica notável.

Estes receptores fazem parte integrante das respostas imunitárias, uma vez que se ligam a anticorpos e facilitam a fagocitose de agentes patogénicos ou partículas revestidas por anticorpos. Este facto torna as células DH-82 particularmente valiosas em estudos centrados nas respostas imunitárias e na citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC). Em contrapartida, as células DH-82 não expressam receptores Fc mu e C3b.

A ausência de receptores Fc mu, que se encontram normalmente nas células B e estão envolvidos na apresentação de antígenos, e de receptores C3b, que se ligam a proteínas do complemento nas respostas imunitárias, proporciona um ambiente controlado para examinar mecanismos imunitários específicos que podem ser influenciados por estes receptores.

Além disso, as células DH-82 não são produtoras de IL-1, uma citocina fundamental nas respostas inflamatórias. Esta característica oferece uma perspetiva única para investigar o papel da IL-1 em vários processos biológicos e compreender as doenças mediadas pela IL-1.

No domínio das doenças infecciosas, as células DH-82 revelaram-se particularmente úteis no estudo da erliquiose monocítica canina (EMC), uma doença transmitida por carraças causada pela *Ehrlichia canis*.

As células proporcionam um ambiente propício ao crescimento da bactéria, ajudando na exploração do desenvolvimento da doença e de potenciais tratamentos. O tempo de duplicação das células DH-82, aproximadamente 26 horas, é também um aspeto crítico na sua utilização, influenciando a conceção experimental e a interpretação dos resultados.

Organism Cão**Disease** Sarcoma histiocítico canino**Synonyms** DH-82, DH 82**Caraterísticas****Breed/Subspecies** Golden Retriever

Células DH82 | 305003

Age	10 anos
Gender	Masculino
Morphology	Tipo macrófago
Cell type	Histiócito
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	DH82 (número de catálogo Cytion 305003)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_2018

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio	1:2 a 1:4
--------------------	-----------

Células DH82 | 305003**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.**Flask Coating**

Nenhum

Células DH82 | 305003

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.