

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

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

Essas células apresentam uma morfologia semelhante à dos macrófagos, refletindo as principais funções dos macrófagos humanos, servindo assim como um modelo relevante para a investigação de vários aspectos da saúde canina, particularmente das condições relacionadas ao sistema imunológico.

Uma característica marcante das células DH-82 é sua capacidade de fagocitar partículas de látex, uma função essencial dos macrófagos responsável pela eliminação de substâncias estranhas no organismo. Essa propriedade posiciona as células DH-82 como uma ferramenta robusta para o estudo das respostas imunológicas dos cães, especialmente diante de infecções e doenças inflamatórias. A expressão de receptores Fc gama nas células DH-82 é uma característica notável.

Esses receptores são essenciais para as respostas imunológicas, pois se ligam aos anticorpos e facilitam a fagocitose de patógenos ou partículas revestidas por anticorpos. Isso torna as células DH-82 particularmente valiosas em estudos focados em respostas imunológicas e 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 — normalmente encontrados nas células B e envolvidos na apresentação de antígenos — e de receptores C3b — que se ligam às proteínas do complemento nas respostas imunológicas — proporciona um ambiente controlado para examinar mecanismos imunológicos específicos que possam ser influenciados por esses receptores.

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

No campo das doenças infecciosas, as células DH-82 têm se mostrado particularmente úteis no estudo da erliquiose monocítica canina (CME), uma doença transmitida por carrapatos causada pela Ehrlichia canis.

As células proporcionam um ambiente propício ao crescimento da bactéria, auxiliando na exploração do desenvolvimento da doença e de possíveis tratamentos. O tempo de duplicação das células DH-82, de aproximadamente 26 horas, também é um aspecto crítico em seu uso, influenciando o desenho experimental e a interpretação dos resultados.

**Organism** Cachorro

**Disease** Sarcoma histiocítico canino

**Synonyms** DH-82, DH 82

**Características**

**Breed/Subspecies** Golden Retriever

**Células DH82 | 305003****Age** 10 anos**Gender** Masculino**Morphology** Semelhante a um macrófago**Cell type** Histiócito**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** DH82 (número de catálogo da Cytion 305003)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL\_2018**Dados biomoleculares****Manuseio****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

## Células DH82 | 305003

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

## Células DH82 | 305003

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196$  °C. O armazenamento a  $-80$  °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

### Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.