

Hücre Proliferasyonu Etki Test Raporu

Kayıt/Rapor No	2023.01.073
Rapor Tarihi	19.01.2023
Test Başlangıç-Bitiş Tarihi	12.01.2023-18.01.2023
Talepte Bulunan Firma	Teksel Tekstil Ürünleri Pazarlama Sanayi ve Ticaret A.Ş
Talepte Bulunan Firma Adresi	15 Temmuz Mah. Bahar. Cad. No:6 Polat İş Mrkz. C Blok D41 K4 Bağcılar-İSTANBUL
Ürün Adı	Gümüş ve Umorfil İplikler İle Tasarlanmış Özel Karışımli Kumaş
İstenen Testler	Hücre Proliferasyonu Testi
Sonuç Yorum	Test materyali proliferatif (hücre yenileme) etkiye sahiptir.
Ek	Test Raporu

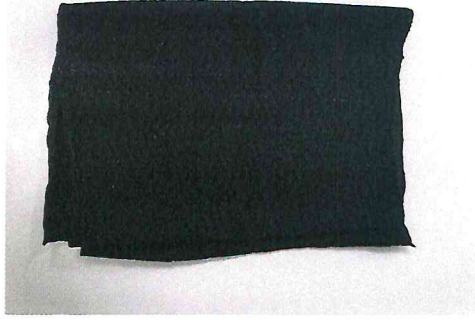
Raporu Onaylayan

Öğretim Görevlisi Dr. OĞUZ ÖZTÜRK

Hücre Proliferasyonu Etki Test Raporu

- | | |
|----|--------------------------|
| 1. | Test materyali Bilgileri |
| 2. | Test Bilgileri |
| 3. | Test Sonucu |

- 1: Test materyali Bilgileri (TM):** Gümüş ve Umorfil İplikler ile Tasarlanmış Özel Karışımli Kumaş
İçerik Bilgisi: Belirtilmemiş
Üretim Tarihi: Belirtilmemiş
Test Materyali Resmi: Numune miktarı: 100 cm²



2 Test bilgisi

Proliferasyon testi, hücrelerdeki DNA'ya BrdU (5-bromodeoksiüridin) bağlanmasının saptanması ile ölçülen bir test yöntemidir (ROCHE, 2012). Prolifiye olan hücrelerin DNA'sındaki timidinle BrdU yer değiştirmektedir. S fazındaki hücrelerin BrdU ile işaretlenmesi ve bu işaretli hücre grubunun hücre siklusundaki ilerlemesinin izlenmesine dayanmaktadır.

Hücre Kültürü şartları

Çalışma kapsamındaki tüm deneylerde ATCC'den temin edilen İnsan deri fibroblast hücre hattı HS68 (ATCC CRL-1635) kullanıldı. Hücreler, %10 FBS ve %2 glutamin ile desteklenmiş DMEM (ATCC Kat No: 30-2006) besiyerinde çoğaltılarak, %5 CO₂'li etüvde 37°C'de inkübe edildi. ATCC'nin önerdiği şekilde hücrelerin tripsinasyonu için %0,25 tripsin, %0,03 EDTA karışımı kullanıldı.

Tripsinasyon işlemi ile santrifüj sonrası falkon tüpte elde edilen hücreler üzerine 10 mL %10'luk FBS içeren DMEM besiyeri eklenerek iyice karışması sağlandı. Daha sonra ependorf tüpün içerisine 900 µL %10'luk DMEM besiyeri, 100 µL de içerisinde hücre bulunan besiyerinden eklenerek 10 kat sulandırıldı. Bu hücre karışımı Thoma lamında sayıldı. Dört tane 16 karenin bulunduğu Thoma lamında bu alanlardaki hücrelerin sayısının ortalaması alındı. Bu ortalama değer sulandırma katsayısı ve 10⁴ ile çarpılarak mL'deki hücre sayısı elde edildi. Hücreler 6 kuyucuklu plaklara her kuyucuk başına 2x10⁵ hücre olacak şekilde bölündü.

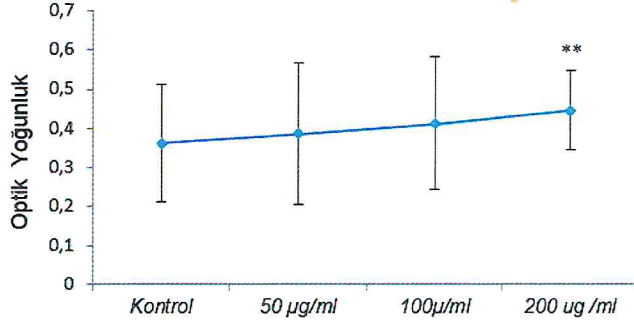
Test materyalinin hücre çoğalması üzerindeki etkilerini incelemek için doz taraması yapıldı. HS68 hücreleri 5x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara bölündü ve yapışmaları için 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hücrelerin besiyerleri çekilerek her bir kuyucuğa farklı konsantrasyonlarda test materyali 100µl/kuyucuk olacak şekilde uygulandı. 72 saat boyunca inkübatörde bekletildi. Süre sonunda, anti-BrdU-peroksidaz antikoruna eklendikten sonra oluşan immün kompleksler spektrofotometrede 370 nm de ölçülerek değerlendirildi.

Negatif Kontrol (NK): Ultra saf su
Test materyali % 0,05 DMSO bileşiminde çözülmüştür

Dozlar (w/v)% 50, 100,200 µg/ml

3: Testi Sonucu

Roche marka Cell Proliferation Elisa BrdU (kolorimetrik) Version 16 kiti ile ölçümler her bir konsantrasyon 5 kez tekrar edilerek yapıldı. Instad 10.0 istatistik programında Student-Newman-Keuls Multiple Comparisons Testi ile değerlendirildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak verildi.



Şekil 1. Test materyalinin proliferatif özelliğinin optik yoğunluk ölçümleri grafiği

Optik yoğunluk (OD)			
Kontrol	50µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml
0,362±0,15	0,386±0,18	0,412±0,17	0,446±0,1**

Tablo 1. Test materyalinin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisinin gösterilmesi

Test sonucunda test materyali 200 µg/ ml dozu uygulaması ile kontrol grubuna göre proliferatif etkinin (hücre yenileme) artış gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre “Gümüş ve Umorel İplikler İle Tasarlanmış Özel Karışım Kumaş” etkili bir üründür.

TASDİK OLUNUR. 19.01.2023

ÖĞR. GÖR. DR. OĞUZ ÖZTÜRK



Kaynaklar

Elisa Vega-Avila and Michael K. Pugsley. An Overview of Colorimetric Assay Methods Used to Assess Survival or Proliferation of Mammalian Cells. Proc. West. Pharmacol. Soc. 54: 10-14 (2011)

Tina Friis , Birgitte Kjaer Sørensen, Anne-Marie Engel, Jørgen Rygaard, Gunnar Houen. A quantitative ELISA-based co-culture angiogenesis and cell proliferation assay. APMIS.111(6):658-68 (2013).

Morshed SA, Ma R, Latif R, Davies TF. Mechanisms in Graves Eye Disease: Apoptosis as the End Point of Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Inhibition, Thyroid.32(4):429-439. (2022).