



检测报告

Test Report

样品名称: TakuMin

项目编号: 5776-6

委托单位: 拿波佳尔株式会社

境内责任人: 浅花堂健康科技(中国)有限公司

报告日期: 2023年04月20日

北京环特智鱼优检生物科技有限公司
HUNTER BIOTECHNOLOGY, INC.

检测报告

客户信息:

备案人: 拿波佳尔株式会社

备案人地址: 东京都千代田区神田神保町 3-10-4

境内责任人: 浅花堂健康科技(中国)有限公司

境内责任人地址: 广州市天河区金穗路 3 号 1703 室(部位: 自编 A 房)(仅限办公)

项目信息:

样品名称: TakuMin

规格及数量: 20 g/瓶 × 1 瓶

颜色及物态: 淡黄色液体

生产企业: 株式会社サリエンス

生产地址: 千叶县茂原市下太田字青柳 183 番 1

储存条件: 常温、干燥、避光

收样日期: 2023.02.13

完成日期: 2023.04.12

检测项目: 屏障修护相关因子 *tgm2a*、*slpr2* 表达功效

检测结论: 样品 TakuMin 具有促进屏障修护相关因子 *tgm2a*、*slpr2* 表达功效。

检测方法: 请详见附页

检测结果: 请详见附页

备注: 本检测报告仅对接收样品的测试结果负责

北京环特智鱼优检生物科技有限公司

授权签名:



周示玉 环特生物授权签字人

- 第 1 页, 共 7 页 -



测试样品的斑马鱼检测结果为“有效”时, 可授予其“Verified by Zebrafish”功效有效认可标识。本单位已通过国家 CNAS 实验室认可、CMA 资质认定及 AAALAC 国际实验动物认证。本单位保证检测的公正性、独立性和诚实性, 对检测结果负责, 对委托方所提供的检测样品及在检测活动中获得的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。本报告未盖本单位检测专用章无效。本报告涂改、缺页、部分复印无效, 复制报告未重新加盖本单位检测专用章无效。委托方若对本报告有异议, 须在检测报告收到之日起 15 日内向本单位提出。本单位接收的委托送检样品, 其代表性、真实性和准确性由委托方负责。本报告的检测数据和结果仅对接收的样品负责。

北京环特智鱼优检生物科技有限公司 北京市北京经济技术开发区科创六街 2 号院 9 号楼 1 层 101 室(北京自贸试验区高端产业片区亦庄组团)

www.zhunter.com 0571-83782191 info@zhunter.com

检测项目 1：屏障修护相关因子 *tgm2a* 表达功效

一、实验室试验简述

方法名称	斑马鱼屏障修护相关因子 <i>tgm2a</i> 表达功效试验方法
方法来源	Kcnb1 plays a role in development of the inner ear.
试验起止日期	2023 年 03 月 22 日-2023 年 04 月 12 日
结果简述	<p>体系及样本量</p> <p>试验体系：野生型 AB 品系斑马鱼。</p> <p>斑马鱼鱼龄：受精后 4 天 (4 dpf) 。</p> <p>每组实验样本量：30 尾 (三次生物学重复, N=3)</p> <p>成鱼饲养及繁殖方法：按照本公司实验室标准饲养和繁殖方法，符合国际 AAALAC 认证 (认证编号：001458) 的要求。</p>
	<p>原理方法</p> <p>转谷氨酰胺酶 (TGM) 是一种催化酰基转移反应的酶，为球状单体蛋白，能够催化肽链上谷氨酰胺残基的 γ-酰基供体与 Lys 残基的 ϵ-氨基反应，生成 ϵ-(γ-Gln)-Lys 肽键，从而使蛋白分子间或分子内发生交联，这种交联较稳定，可以抵抗蛋白酶的水解作用，是角质形成细胞终末分化组成角质包膜的关键步骤，是皮肤屏障功能的物质基础，参与形成表皮屏障等多种生物活动。斑马鱼具有与人相似的 <i>tgm2a</i> 基因。因此，添加受试物后，通过检测 <i>tgm2a</i> 基因相对表达量可表明样品是否具有屏障修护功效。</p>
	<p>实验步骤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 随机选取斑马鱼于6孔板中，每孔30尾。 2. 水浴给予样品，同时设置正常对照组，每孔容量为3 mL。三次生物学重复。 3. 28 °C 条件下避光孵育24 h。 4. 提取各实验组斑马鱼总RNA，合成cDNA，利用q-PCR检测β-actin和目的基因的基因表达。 5. 用β-actin作为基因表达的内参，计算目的基因的RNA相对表达量。 $\text{RNA相对表达量} = 2^{\Delta\Delta C(t)}$ $\Delta\Delta C(t) = \frac{\Delta C(t)_{\text{正常对照组}}}{\Delta C(t)_{\text{样品组}}}$



		$\Delta C(t) = C(t)_{\text{目的基因}} - C(t)_{\beta\text{-actin}}$
适用性及局限性		适用于化妆品及其原料的屏障修护功效测试，要求样品能溶解于水或制备成能在水中均匀分散的悬浮液。
判定依据		统计学分析 $p < 0.05$ ，判定为有显著性差异。

二、检测结果

检测项目	检测浓度 (%)	<i>tgm2a</i> 基因相对表达量	p 值	检测结果
屏障修护功效	0.125	1.46	< 0.05	显著

该样品功效实验柱形图，如下图 1 所示：

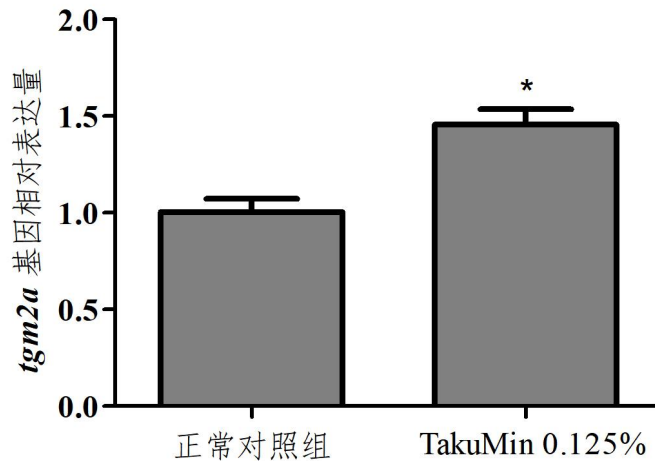


图 1. *tgm2a* 基因相对表达量柱形图
与正常对照组比较，* $p < 0.05$

观察发现，样品 TakuMin 的 *tgm2a* 基因相对表达量与正常对照组相比，明显增加，揭示了该样品具有促进屏障相关因子 *tgm2a* 表达功效。

三、结论

在本次实验条件下，样品 TakuMin，具有促进屏障相关因子 *tgm2a* 表达功效。

四、参考文献

[1] Jedrychowska J. Kcnb1 plays a role in development of the inner ear[J]. Developmental biology, 2021, 471(1).

- 第 4 页，共 7 页 -



测试样品的斑马鱼检测结果为“有效”时，可授予其“Verified by Zebrafish”功效有效认可标识。本单位已通过国家 CNAS 实验室认可、CMA 资质认定及 AAALAC 国际实验动物认证。本单位保证检测的公正性、独立性和诚实性，对检测结果负责，对委托方所提供的检测样品及在检测活动中获得的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。本报告未盖本单位检测专用章无效。本报告涂改、缺页、部分复印无效，复制报告未重新加盖本单位检测专用章无效。委托方若对本报告有异议，须在检测报告收到之日起 15 日内向本单位提出。本单位接收的委托送检样品，其代表性、真实性和准确性由委托方负责。本报告的检测数据和结果仅对接收的样品负责。

北京环特智鱼优检生物科技有限公司 北京市北京经济技术开发区科创六街 2 号院 9 号楼 1 层 101 室(北京自贸试验区高端产业片区亦庄组团)

www.zhunter.com 0571-83782191 info@zhunter.com

检测项目 2：屏障修护相关因子 *s1pr2* 表达功效

一、实验室试验简述

方法名称		斑马鱼屏障修护相关因子 <i>s1pr2</i> 表达功效试验方法
方法来源		Adamts18 deficiency in zebrafish embryo causes defective trunk angiogenesis and caudal vein plexus formation.
试验起止日期		2023 年 03 月 22 日-2023 年 04 月 12 日
结果简述	体系及样本量	<p>试验体系：野生型 AB 品系斑马鱼。</p> <p>斑马鱼鱼龄：受精后 4 天 (4 dpf) 。</p> <p>每组实验样本量：30 尾 (三次生物学重复, N=3)</p> <p>成鱼饲养及繁殖方法：按照本公司实验室标准饲养和繁殖方法，符合国际 AAALAC 认证 (认证编号：001458) 的要求。</p>
	原理方法	<p>神经酰胺产生的 1-磷酸鞘氨醇(S1P)，是作为与表皮基底层沟通的信使。S1P 是一种生物活性鞘脂介体，通过角质形成细胞表达的 S1P 受体(S1PR)1-5 参与调节各种细胞功能 (如增殖、分化、迁移)。有研究表明，<i>s1pr2</i> 是维持表皮屏障稳态的核心。斑马鱼具有与人相似的 <i>s1pr2</i> 基因。因此，通过检测 <i>s1pr2</i> 基因相对表达量可表明样品是否具有屏障修护功效。</p>
	实验步骤	<ol style="list-style-type: none"> 1. 随机选取斑马鱼于6孔板中，每孔30尾。 2. 水浴给予样品，同时设置正常对照组，每孔容量为3 mL。三次生物学重复。 3. 28 °C 条件下避光孵育24 h。 4. 提取各实验组斑马鱼总RNA，合成cDNA，利用q-PCR检测β-actin和目的基因的基因表达。 5. 用β-actin作为基因表达的内参，计算目的基因的RNA相对表达量。 $\text{RNA相对表达量} = 2^{\Delta\Delta C(t)}$ $\Delta\Delta C(t) = \overline{\Delta C(t)}_{\text{正常对照组}} - \Delta C(t)_{\text{样品组}}$ $\Delta C(t) = C(t)_{\text{目的基因}} - C(t)_{\beta\text{-actin}}$

- 第 5 页，共 7 页 -



测试样品的斑马鱼检测结果为“有效”时，可授予其“Verified by Zebrafish”功效有效认可标识。本单位已通过国家 CNAS 实验室认可、CMA 资质认定及 AAALAC 国际实验动物认证。本单位保证检测的公正性、独立性和诚实性，对检测结果负责，对委托方所提供的检测样品及在检测活动中获得的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。本报告未盖本单位检测专用章无效。本报告涂改、缺页、部分复印无效，复制报告未重新加盖本单位检测专用章无效。委托方若对本报告有异议，须在检测报告收到之日起 15 日内向本单位提出。本单位接收的委托送检样品，其代表性、真实性和准确性由委托方负责。本报告的检测数据和结果仅对接收的样品负责。

北京环特智鱼优检生物科技有限公司 北京市北京经济技术开发区科创六街 2 号院 9 号楼 1 层 101 室(北京自贸试验区高端产业片区亦庄组团)

www.zhunter.com 0571-83782191 info@zhunter.com

适用性及局限性	适用于化妆品及其原料的屏障修护功效测试，要求样品能溶解于水或制备成能在水中均匀分散的悬浮液。
判定依据	统计学分析 $p < 0.05$ ，判定为有显著性差异。

二、检测结果

检测项目	检测浓度 (%)	<i>s1pr2</i> 基因相对表达量	p 值	检测结果
屏障修护功效	0.125	1.45	< 0.05	显著

该样品功效实验柱形图，如下图 2 所示：

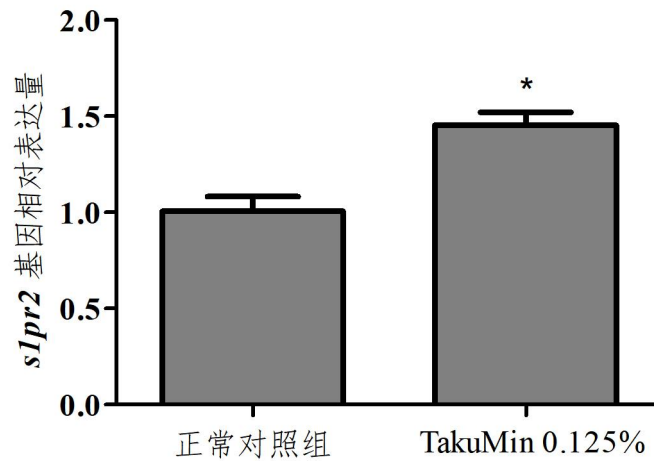


图 2. *s1pr2* 基因相对表达量柱形图

与正常对照组比较，* $p < 0.05$

观察发现，样品 TakuMin 的 *s1pr2* 基因相对表达量与正常对照组相比，明显增加，揭示了该样品具有促进屏障相关因子 *s1pr2* 表达功效。

三、结论

在本次实验条件下，样品 TakuMin，具有促进屏障相关因子 *s1pr2* 表达功效。

四、参考文献

[1] Tl, Tz A, Cw A, et al. Adamts18 deficiency in zebrafish embryo causes defective trunk angiogenesis and caudal vein plexus formation[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 521(4):907-913.

检 测：徐鹤然
日 期：2023 年 04 月 20 日

审 核：俞航萍
日 期：2023 年 04 月 20 日

- 第 7 页，共 7 页 -



测试样品的斑马鱼检测结果为“有效”时，可授予其“Verified by Zebrafish”功效有效认可标识。本单位已通过国家 CNAS 实验室认可、CMA 资质认定及 AAALAC 国际实验动物认证。本单位保证检测的公正性、独立性和诚实性，对检测结果负责，对委托方所提供的检测样品及在检测活动中获得的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。本报告未盖本单位检测专用章无效。本报告涂改、缺页、部分复印无效，复制报告未重新加盖本单位检测专用章无效。委托方若对本报告有异议，须在检测报告收到之日起 15 日内向本单位提出。本单位接收的委托送检样品，其代表性、真实性和准确性由委托方负责。本报告的检测数据和结果仅对接收的样品负责。

北京环特智鱼优检生物科技有限公司 北京市北京经济技术开发区科创六街 2 号院 9 号楼 1 层 101 室(北京自贸试验区高端产业片区亦庄组团)

www.zhunter.com 0571-83782191 info@zhunter.com