

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

样品中文名称	丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40
Chinese names of products	
样品外文名称	
Foreign names of products	
委托单位	
Inspection requestor	
委托单位地址	
Inspection requestor address	
收样日期	2024 年 05 月 15 日
Date received	
检测项目	体外修护、保湿功效测试
Items of inspection	
方法名称	基于 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®) 的组织形态、丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量检测
Method name	
方法来源	实验室方法
Method Source	
试验日期	自 2024 年 03 月 25 日 至 2024 年 04 月 24 日, 共计 31 日
Date of test	
试验结论	基于 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®), 与对照组相比, 样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40 在 5%浓度下的表皮活细胞层厚度显著上升, 提升率为 19.84%, 丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量均显著上升, 提升率分别为 40.00%、96.43%、150.00%, 说明样品在该浓度下, 能够改善组织形态, 提升丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量, 具有修护、保湿功效。
Test conclusion	
备注	1.此报告代替原报告 G1861-2405001, 原报告作废。 2.本试验根据委托方要求完成以上检测内容, 检测结果只对来样负责。
Remarks	

编制: 寇艳 审核: 段如艳 批准: 李清



测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

1 测试依据

根据《基于 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®) 的组织形态、丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量检测方法》开展检测。

2 测试目的

本测试采用十二烷基硫酸钠 (SLS) 刺激 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®), 通过检测组织形态、丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量的变化, 评价待测样品的修护、保湿功效。

3 测试材料

3.1 测试系统

本次测试所用 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®), 批号: ES240307, 由广东博溪生物科技有限公司提供。

3.2 样品信息

表 1 样品信息

样品名称	产品类型	数量
丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40	原料	1 瓶

3.3 主要试剂

EpiGrowth 培养液 (广东博溪生物)、PBS (索莱宝)、WY14643 (Sigma)、多聚甲醛 (Biosharp)、二甲苯 (国药)、苏木精 (碧云天)、伊红 (碧云天)、SLS (Sigma)、LOR 抗体 (Abcam)、FLG 抗体 (Abcam)、Claudin-1 抗体 (Proteintech)。

3.4 主要设备

CO₂ 培养箱 (Thermo, 150I)、超净工作台 (苏净安泰, SW-CJ-1F)、正置显微镜 (Olympus, BX53)、荧光显微镜 (Leica, DM2500)。

4 测试方法

4.1 测试分组

(本页以下空白)

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

表 2 测试分组

组别	样品名称	给药浓度	刺激条件	检测模型	检测指标	检测方法
空白对照 (BC)	/	/	/			
阴性对照 (NC)	/	/				
阳性对照 (PC)	WY14643	50μM	SLS (0.1%)	EpiKutis®	1. 组织形态 2. FLG、LOR、Claudin-1	1. H&E 2. 免疫荧光
样品组	丝心蛋白油海绵-霍巴籽油 40	5%				

4.2 工作液配制

1) 0.1%SLS 工作液配置: 称取 0.006g SLS 溶于 6mL PBS 溶液中, 0.22μm 过滤, 配制成 0.1%SLS 工作液, 备用。

2) 阳性对照组 (WY14643) 工作液配制: 吸取 10μL 30mM WY14643 母液溶于 6mL 培养液中, 配制成 50μM WY14643。

4.3 模型给药

1) 根据测试分组, 将模型转移到 6 孔板中 (提前添加 0.9mL EpiGrowth 培养液), 在 6 孔板上标注测试组编号。

2) NC 组、PC 组和样品组表面添加 25μL 0.1% 的 SLS 溶液, 孵育 30min。

3) 孵育结束后, PC 组液下添加相应浓度的工作液, 样品组将样品工作液均匀分布于模型表面, 置于 CO₂ 培养箱 (37℃、5%CO₂) 中孵育 24h, 孵育结束后, 用无菌 PBS 溶液清洗残留的受试物, 用无菌棉签拭去残留液体。

4.4 组织形态测试

取用于检测的模型, 用 4% 的多聚甲醛进行固定处理, 固定 24h 后, 进行 H&E 染色, 显微镜下拍照观察, 采集图片并分析。

4.5 免疫荧光测试

取用于检测的模型, 用 4% 的多聚甲醛进行固定处理, 固定 24h 后, 进行免疫荧光检测, 显微镜下拍照观察, 采集图片并分析。

4.6 提升率计算

$$\text{提升率 (\%)} = \frac{\text{样品组} - \text{阴性对照组}}{\text{阴性对照组}} \times 100\%。$$

4.7 结果统计分析

应用 GraphPad Prism 作图, 结果表示为 Mean±SD。各组间比较采用 t-test 统计分析。统计分析均

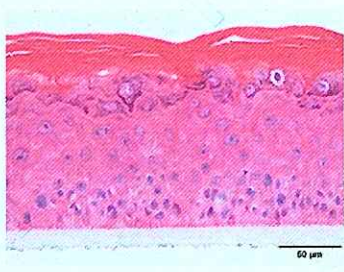
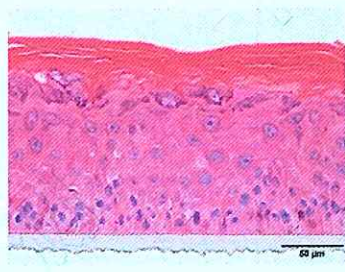
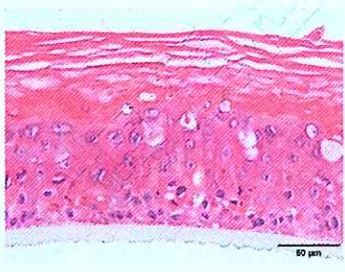
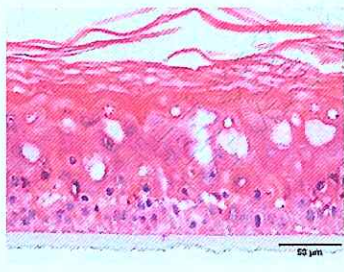
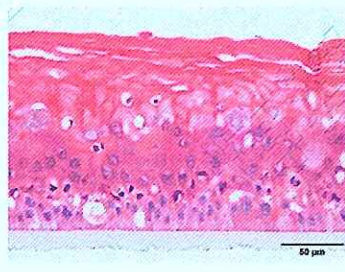
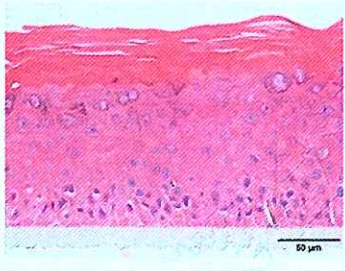
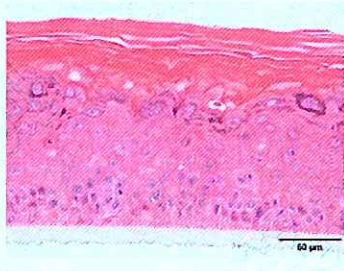
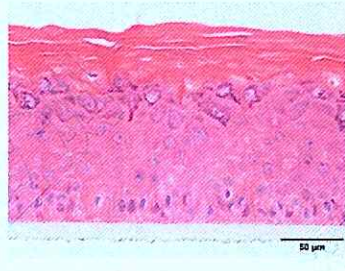
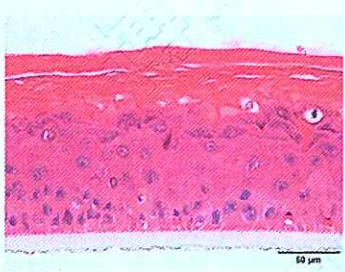
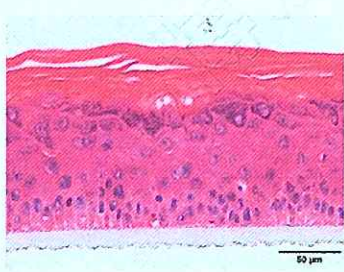
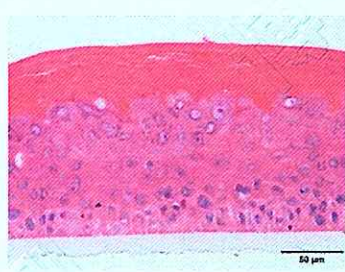
测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1
为双尾。 $P<0.05$ 认为具有显著差异, $P<0.01$ 认为具有极显著差异。

5 测试结果

5.1 组织形态测试结果

表 3 组织形态测试结果汇总表

组别	复孔 1	复孔 2	复孔 3
BC			
NC			
PC			
丝心蛋白油 海绵-霍霍 巴籽油 40-5%			

(本页以下空白)

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

表 4 表皮活细胞层厚度数据结果汇总表

组别	平均厚度 (μm)	SD	P-value	提升率 (vs NC)
BC	126.50	2.04	/	/
NC	87.64	1.69	0.000##	/
PC	115.28	5.29	0.001**	31.54%
丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40-5%	105.03	4.74	0.004**	19.84%

备注：用 *t*-test 方法进行统计分析时，与 BC 组相比，显著性以#表示，*P*-value<0.05 表示为#，*P*-value<0.01 表示为##；与 NC 组相比，显著性以*表示，*P*-value<0.05 表示为*，*P*-value<0.01 表示为**。

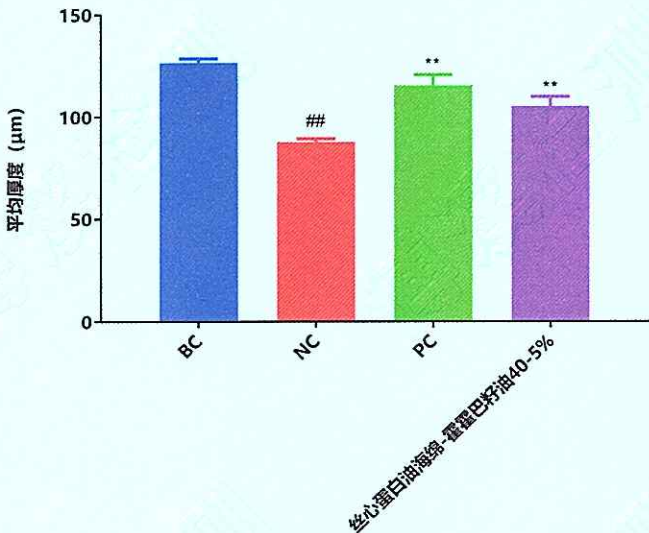


图 1 表皮活细胞层厚度数据结果柱状图

与 BC 组相比，NC 组的表皮活细胞层厚度显著下降，说明本次测试刺激条件有效。

与 NC 组相比，PC 组的表皮活细胞层厚度显著上升，说明本次测试阳性对照有效。

与 NC 组相比，样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40-5%的表皮活细胞层厚度显著上升，提升率为 19.84%。

5.2 丝聚蛋白 (FLG) 测试结果

(本页以下空白)

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

表 5 FLG免疫荧光结果汇总表

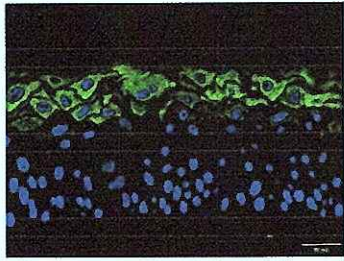
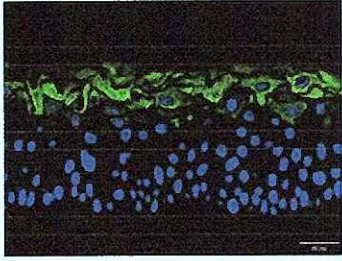
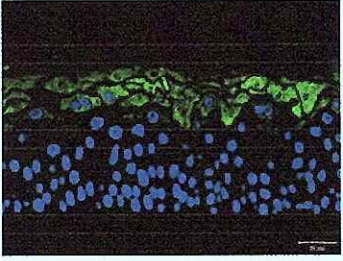
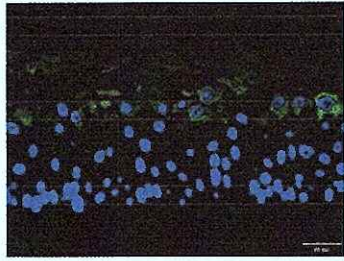
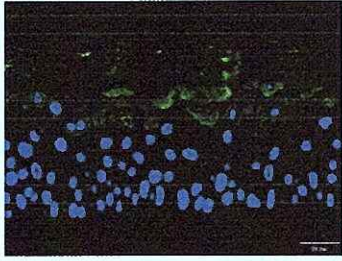
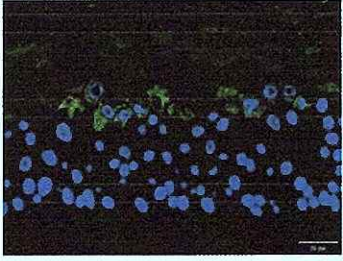
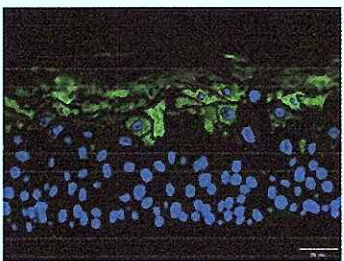
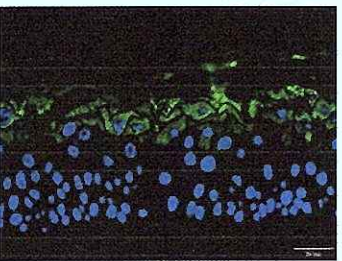
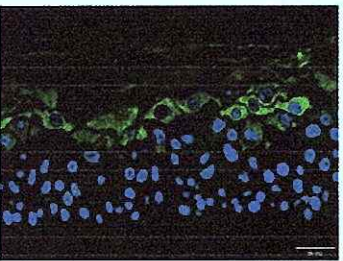
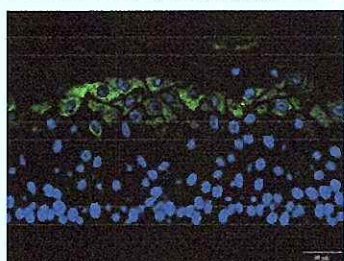
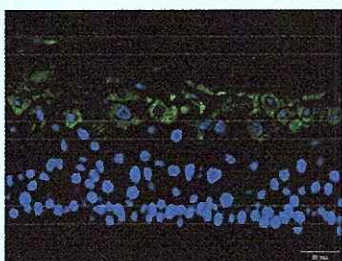
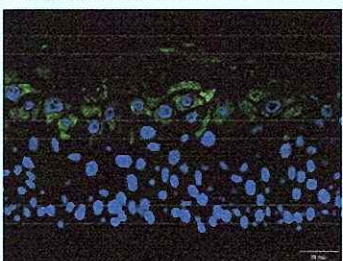
组别	复孔 1	复孔 2	复孔 3
BC			
NC			
PC			
丝心蛋白油 海绵-霍霍巴 籽油 40-5%			

表 6 FLG 免疫荧光分析结果汇总表

组别	相对 IOD 平均值	SD	P-value	提升率 (vs NC)
BC	1.00	0.11	/	/
NC	0.20	0.02	0.000 ##	/
PC	0.54	0.05	0.000 **	170.00%
丝心蛋白油海绵-霍 霍巴籽油 40-5%	0.28	0.02	0.008 **	40.00%

备注：积分光密度（IOD），其数值反映 FLG 的含量。用 *t*-test 方法进行统计分析时，与 BC 组相比，显著

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

性以#表示, $P\text{-value}<0.05$ 表示为#, $P\text{-value}<0.01$ 表示为##; 与 NC 组相比, 显著性以*表示, $P\text{-value}<0.05$ 表示为*, $P\text{-value}<0.01$ 表示为**。

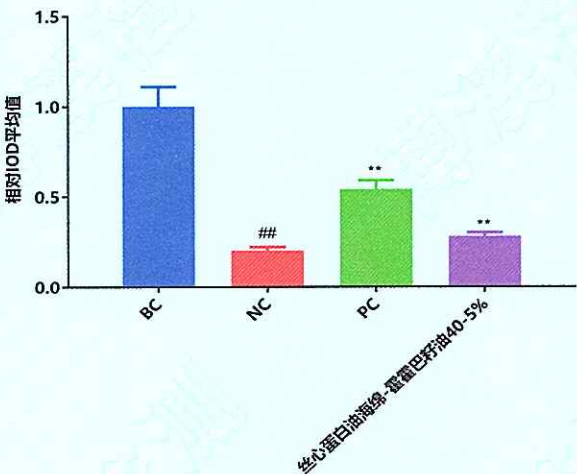


图 2 FLG 相对积分光密度 (IOD) 值柱状图

与 BC 组相比, NC 组的 FLG 含量显著下降, 说明本次测试刺激条件有效。
与 NC 组相比, PC 组的 FLG 含量显著上升, 说明本次测试阳性对照有效。
与 NC 组相比, 样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40-5% 的 FLG 含量显著上升, 提升率为 40.00%。

5.3 兜甲蛋白 (LOR) 测试结果

表 7 LOR免疫荧光结果汇总表

组别	复孔 1	复孔 2	复孔 3
BC			

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

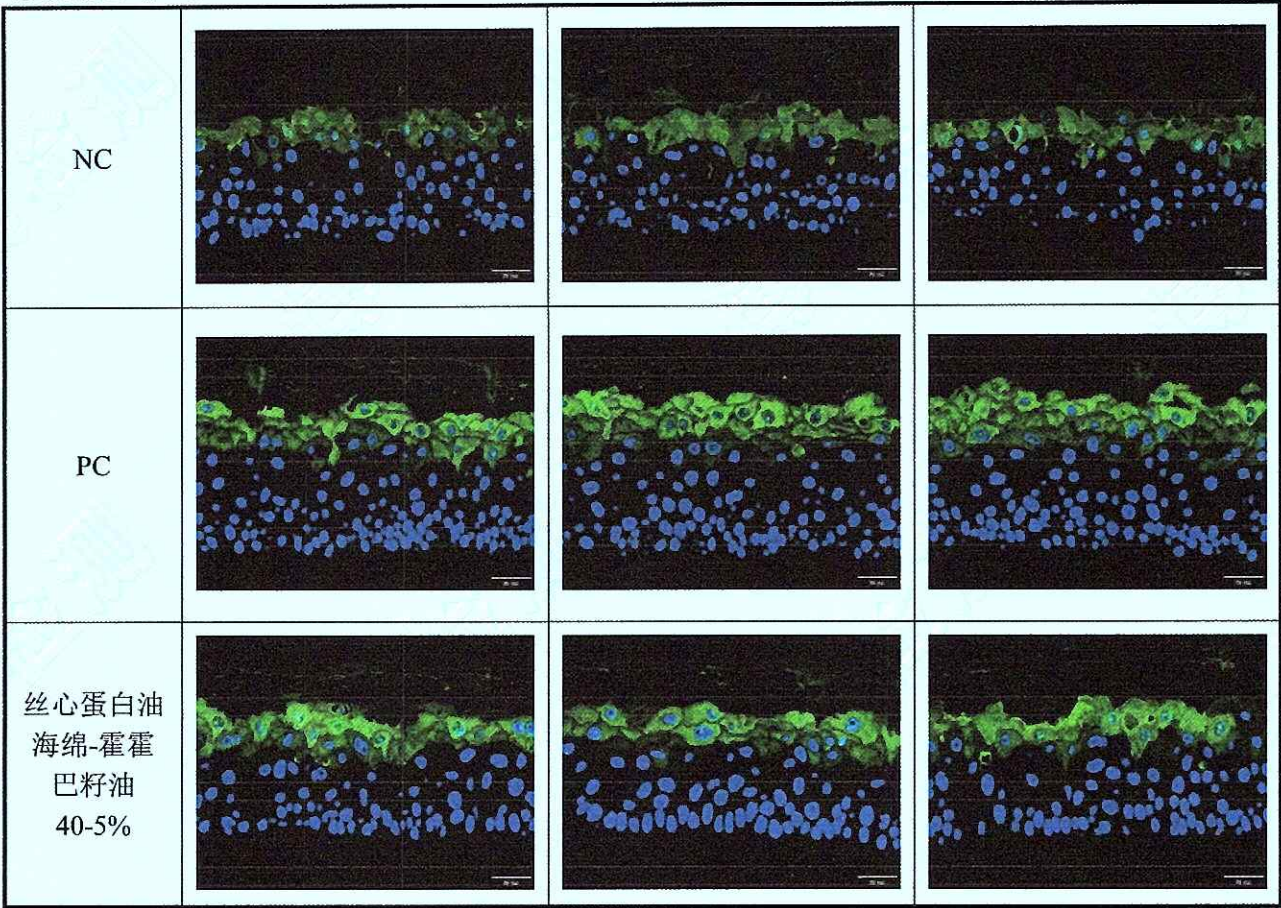


表 8 LOR 免疫荧光分析结果汇总表

组别	相对 IOD 平均值	SD	P-value	提升率 (vs NC)
BC	1.00	0.09	/	/
NC	0.28	0.05	0.000##	/
PC	0.60	0.05	0.001**	114.29%
丝心蛋白油海绵-霍 巴籽油 40-5%	0.55	0.05	0.002**	96.43%

备注：积分光密度（IOD），其数值反映 LOR 的含量。用 *t*-test 方法进行统计分析时，与 BC 组相比，显著性以#表示，*P*-value<0.05 表示为#，*P*-value<0.01 表示为##；与 NC 组相比，显著性以*表示，*P*-value<0.05 表示为*，*P*-value<0.01 表示为**。

（本页以下空白）

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

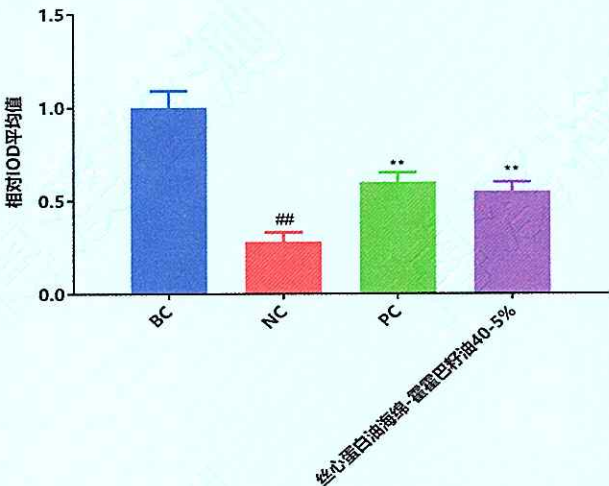
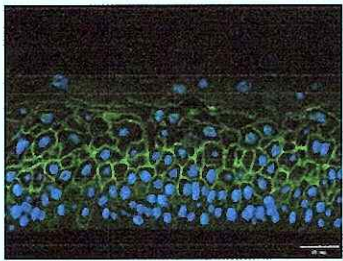
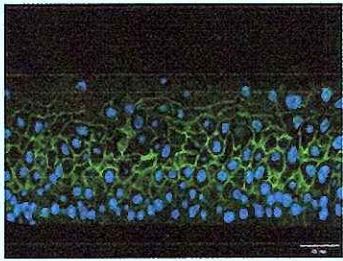
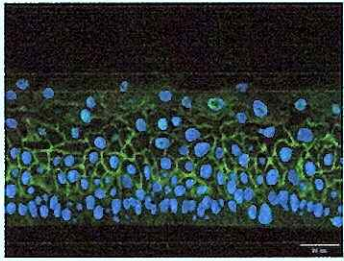
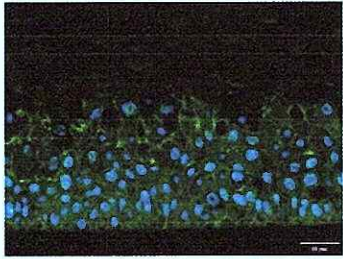
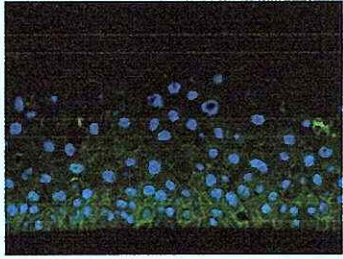
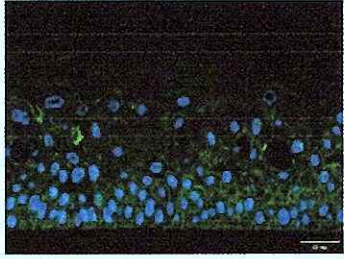


图 3 LOR 相对积分光密度 (IOD) 值柱状图

与 BC 组相比, NC 组的 LOR 含量显著下降, 说明本次测试刺激条件有效。
与 NC 组相比, PC 组的 LOR 含量显著上升, 说明本次测试阳性对照有效。
与 NC 组相比, 样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40-5% 的 LOR 含量显著上升, 提升率为 96.43%。

5.4 紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 测试结果

表 9 Claudin-1 免疫荧光结果汇总表

组别	复孔 1	复孔 2	复孔 3
BC			
NC			

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (№.) : G1861-2405001-1

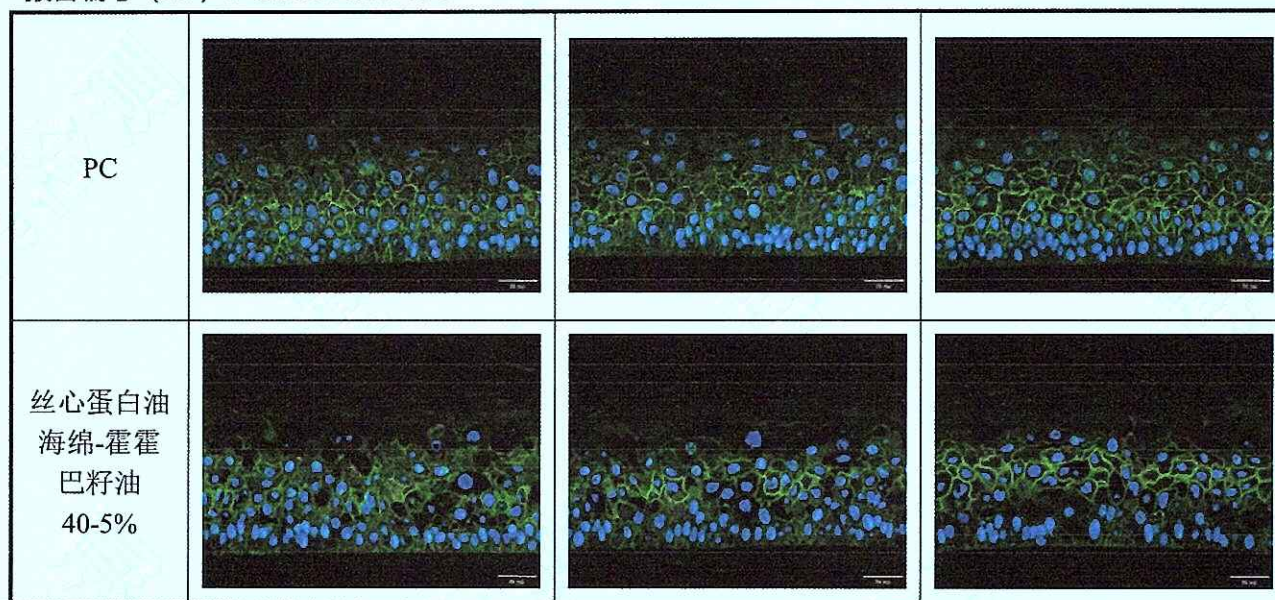


表 10 Claudin-1 免疫荧光分析结果汇总表

组别	相对 IOD 平均值	SD	P-value	提升率 (vs NC)
BC	1.00	0.05	/	/
NC	0.18	0.02	0.000 ##	/
PC	0.59	0.11	0.003 **	227.78%
丝心蛋白油海绵-霍 霍巴籽油 40-5%	0.45	0.02	0.000 **	150.00%

备注：积分光密度 (IOD)，其数值反映 Claudin-1 的含量。用 *t*-test 方法进行统计分析时，与 BC 组相比，显著性以#表示，*P*-value<0.05 表示为#，*P*-value<0.01 表示为##；与 NC 组相比，显著性以*表示，*P*-value<0.05 表示为*，*P*-value<0.01 表示为**。

(本页以下空白)

测试报告
TEST REPORT

报告编号 (No.) : G1861-2405001-1

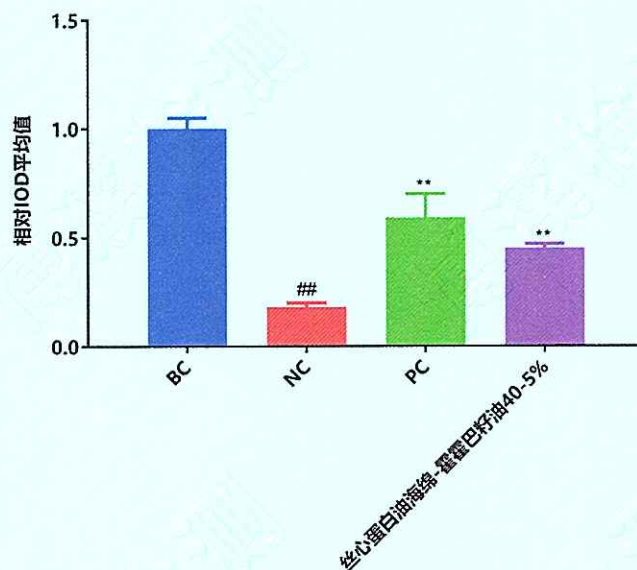


图 4 Claudin-1 相对积分光密度 (IOD) 值柱状图

与 BC 组相比, NC 组的 Claudin-1 含量显著下降, 说明本次测试刺激条件有效。

与 NC 组相比, PC 组的 Claudin-1 含量显著上升, 说明本次测试阳性对照有效。

与 NC 组相比, 样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40-5% 的 Claudin-1 含量显著上升, 提升率为 150.00%。

6 结论

基于 3D 表皮皮肤模型 (EpiKutis®), 与对照组相比, 样品丝心蛋白油海绵-霍霍巴籽油 40 在 5% 浓度下的表皮活细胞层厚度显著上升, 提升率为 19.84%, 丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量均显著上升, 提升率分别为 40.00%、96.43%、150.00%, 说明样品在该浓度下, 能够改善组织形态, 提升丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 和紧密连接蛋白 1 (Claudin-1) 含量, 具有修护、保湿功效。

(报告结束)