

样品

防治卵巢早衰功效检测报告

由环特生物——AAALAC 国际实验动物认证的 CRO 机构权威出具



环特生物创新实验中心 | 杭州

本中心实验动物生产许可证编号 SCXK(浙)2022-0003

实验动物使用许可证编号 SYXK(浙)2022-0004

项目编号: 8129-3R1

委托单位: 厦门元之道生物科技有限公司

报告日期: 2024 年 10 月 09 日

声 明

尊敬的客户：

感谢您对环特生物的信任。我单位基于“严谨、真实、保密”的科研服务原则，特对持续信赖我们的广大客户做出以下声明：

- 实验流程的质控声明

本单位对实验流程始终履行严格的质控体系要求。实验人员拥有专业的背景，且经过系统的培训考核，取得上岗资格。在实验室制度和标准操作规程的约束下，开展相关实验。实验过程采用多种内外部的监督手段，确保实验动物、人员、仪器、试剂及环境符合要求，将实验操作的随机误差和操作误差降到最低。

- 实验数据的真实声明

本单位保证实验的公正性、独立性和诚实性，实验结论对接收的委托样品负责，其样品所代表性、真实性和准确性由委托方负责。本单位保证实验数据的真实性、客观性，并提供原始的分析数据及图文素材供您查阅。同时，我们明令禁止对任何实验数据，进行无科学依据的凭空捏造或人为修改。

- 实验结果的保密声明

尊重客户知识产权、全力以赴创造价值，是所有环特人开展对外服务的纯粹信仰。我们保证严格遵守契约精神，不在客户未知的情况下，随意对实验的具体细节和结论进行曝光和传播。对委托方所提供的样品及在提供试验服务的活动中所获的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。

本报告未盖本单位公章无效，涂改、缺页、复印无效，复制报告未重新加盖本单位公章无效。委托方如对本报告有异议，须在收到本报告之日起 15 日内向本单位提出。

环特生物

目 录

样品信息	1
判定标准	1
检测结论	1
检测项目 1：防治卵巢早衰功效	2
1. 检测材料	2
1.1. 样品配制信息	2
1.2. 实验动物	2
1.3. 仪器、耗材与试剂	2
2. 检测方法	3
3. 检测结果	4
3.1. 防治卵巢早衰功效评价（体重和卵巢重量）	4
3.2. 防治卵巢早衰功效评价（卵巢组织结构）	5
3.3. 防治卵巢早衰功效评价（试剂盒）	6
检测人员及分工	9
检测单位信息	9
委托单位信息	9

样品信息

样品名称	FERMLOVE®鲟鱼卵巢复合肽	颜色和物态	米色粉末
样品规格及数量	65 g/袋 × 1 袋	收样日期	2024.08.07
生产日期或批号	/	储存条件	阴凉、干燥、避光

判定标准

具有功效（ $p < 0.05$ 差异具有统计学意义）。

检测结论

在本实验条件下，由厦门元之道生物科技有限公司提供的 FERMLOVE®鲟鱼卵巢复合肽具有防治卵巢早衰功效，具体表现为可以增加卵巢重量、改善卵巢病理组织结构、降低促黄体激素活力、提高雌二醇含量、降低促卵泡素活力和提高抗穆勒试管激素含量。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：防治卵巢早衰功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

FERMLOVE® 鲑鱼卵巢复合肽，溶剂为标准稀释水。

阳性对照：坤泰胶囊，棕色粉末，批号 220717，贵阳新天药业股份有限公司，溶剂为标准稀释水。

1.2. 实验动物

斑马鱼均饲养于 28°C 的养鱼用水中（水质：每 1 L 反渗透水中加入 200 mg 速溶海盐，电导率为 450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；pH 为 6.5~8.5；硬度为 50~100 mg/L CaCO_3 ），由本公司养鱼中心繁殖提供，实验动物使用许可证号为：SYXK（浙）2022-0004，饲养管理符合国际 AAALAC 认证（认证编号：001458）的要求，IACUC 伦理审查号：IACUC-2024-8129-01。

1.3. 仪器、耗材与试剂

解剖显微镜（SZX7, OLYMPUS, Japan）；CCD 相机（VertA1, 上海土森视觉科技有限公司, China）；精密电子天平（CP214, OHAUS, USA）；切片机（KD2258, 金华科迪医疗器械有限公司, China）；电子恒温不锈钢水浴锅（HHS-2S, 上海康路仪器设备有限公司, China）；智能型电热板（400X280, 天津市莱悦纳格实验室仪器销售有限公司, China）；生物显微镜（CX31, OLYMPUS, Japan）；全自动样品快速研磨仪（JXFSTPRP-24L, 上海净信实验设备科技部, China）；多功能酶标仪（SPARK, TECAN, Austria）；高速冷冻离心机（PICO17/21, Thermo, USA）；96 孔板（Nest Biotech, China）。

环磷酸胺，一水（批号 A2203038, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；二甲基亚砜（DMSO, 批号 I2229063, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；4%组织细胞固定液（批号 20230401, 北京索莱宝科技有限公司, China）；二甲苯（批号 20231019, 国药集团化学试剂有限公司, China）；无水乙醇（批号 20230329, 国药集团化学试剂有限公司, China）；高效切片石蜡（熔点 54-56°C, 批号 20201020, 上海华永石蜡有限公司, China）；高效切片石蜡（熔点 62-64°C, 批号 20201020, 上海华永石蜡有限公司, China）；Mayer 苏木素染色液

（批号 20220120，上海依赫生物科技有限公司，China）；伊红染色液（批号 20220120，上海依赫生物科技有限公司，China）；中性树胶（批号 330A021，Solarbio，China）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（批号 18J11B89，博士德生物，China）；0.9%氯化钠注射液（批号 S21091609，湖南科伦制药有限公司，China）；促卵泡素（FSH）试剂盒（批号 20240401，南京建成生物工程研究所，China）；促黄体激素（LH）试剂盒（批号 20240305，南京建成生物工程研究所，China）；雌二醇（E2）试剂盒（批号 20240305，南京建成生物研究所，China）；zebra fish MIS，AMH ELISA KIT 试剂盒（批号 202408，上海酶联生物科技有限公司，China）。

2. 检测方法

随机选取 6 mpf 野生型 AB 品系雌性斑马鱼于培养缸中，每缸（实验组）均处理 20 尾斑马鱼。水溶给予样品（浓度见表 1-1），阳性对照坤泰胶囊 250 $\mu\text{g/mL}$ ，同时设置正常对照组和模型对照组，每缸容量为 2 L。样品处理 8 天后，除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予环磷酰胺建立斑马鱼卵巢早衰症模型。各实验组同环磷酰胺继续处理至 16 天后：1）测量并统计体重；2）测量并统计卵巢重量；3）按促黄体激素试剂盒说明书收集各实验组斑马鱼卵巢组织样本，利用多功能酶标仪软件采集数据，分析各实验组斑马鱼卵巢促黄体激素活力，以该指标的统计学分析结果评价样品对卵巢早衰症斑马鱼促黄体激素活力的影响；4）按雌二醇试剂盒说明书收集各实验组斑马鱼卵巢组织样本，利用多功能酶标仪软件采集数据，分析各实验组斑马鱼卵巢雌二醇含量，以该指标的统计学分析结果评价样品对卵巢早衰症斑马鱼雌二醇含量的影响；5）按促卵泡素试剂盒说明书收集各实验组斑马鱼卵巢组织样本，利用多功能酶标仪软件采集数据，分析各实验组斑马鱼卵巢促卵泡素活力，以该指标的统计学分析结果评价样品对卵巢早衰症斑马鱼促卵泡素活力的影响；6）按抗穆勒试管激素试剂盒说明书收集各实验组斑马鱼卵巢组织样本，利用多功能酶标仪软件采集数据，分析各实验组斑马鱼卵巢抗穆勒试管激素含量，以该指标的统计学分析结果评价样品对卵巢早衰症斑马鱼抗穆勒试管激素含量的影响。以上指标的统计学分析结果评价样品防治卵巢早衰功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用 SPSS26.0 软件（独立 T 检验，两两比较）进行统计学分析， $p < 0.05$ 表明差异具有统计学意义；7）用 4%组织细胞固定液将斑马鱼卵巢固定，经系列脱水-包埋-切片-染色等步骤，对斑马鱼卵巢进行组织病理学 H&E 染色分析。通过卵巢组织病理分析，评价样品对斑马鱼卵巢组织结构的影响。

3. 检测结果

3.1. 防治卵巢早衰功效评价（体重和卵巢重量）

在本实验条件下，各实验组斑马鱼体重均无明显变化；FERMLOVE®鲟鱼卵巢复合肽具有防治卵巢早衰功效，具体表现为可以增加卵巢重量。详见表 1-1、图 1-1、图 1-2。

表 1-1. 样品防治卵巢早衰功效评价（体重和卵巢重量）实验结果（n = 10）

组别	浓度 (μg/mL)	体重 (g, mean ± SE)	卵巢重量 (mg, mean ± SE)
正常对照组	-	0.495 ± 0.009	47.1 ± 1.65***
模型对照组	-	0.491 ± 0.012	25.3 ± 1.43
坤泰胶囊	250	0.483 ± 0.010	37.3 ± 1.39***
FERMLOVE®鲟鱼卵巢复合肽	104	0.488 ± 0.012	26.4 ± 1.29
	208	0.486 ± 0.009	36.5 ± 1.57***
	417	0.482 ± 0.009	42.3 ± 2.34***

与模型对照组比较，***p < 0.001

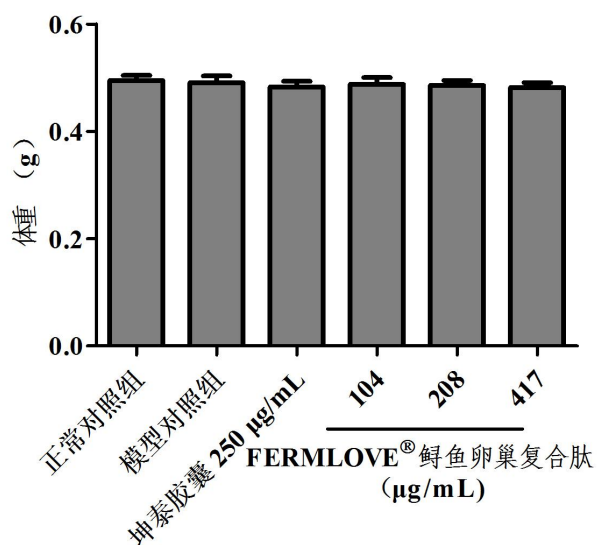


图 1-1. 样品处理后斑马鱼体重

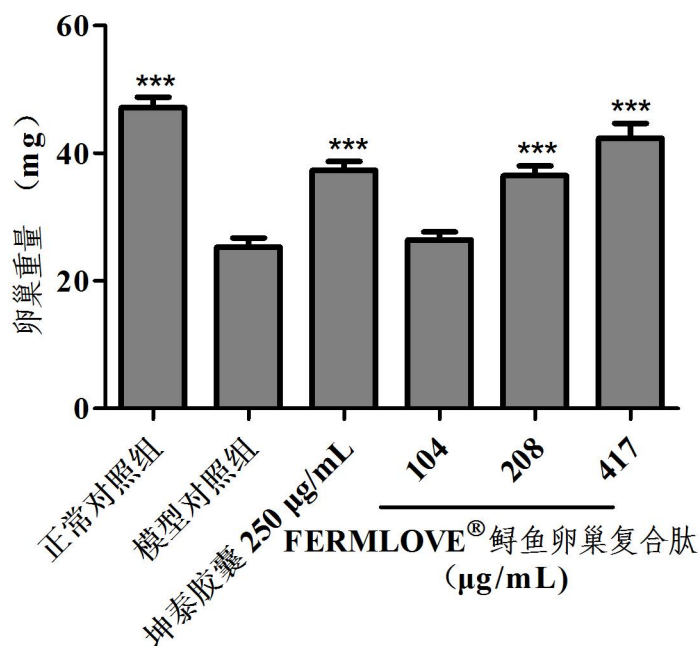


图 1-2. 样品处理后斑马鱼卵巢重量

与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

3.2. 防治卵巢早衰功效评价（卵巢组织结构）

在本实验条件下，6 月龄雌性斑马鱼正处于性成熟阶段，正常对照组卵巢内可见 a-d 各个发育阶段、形态正常的卵母细胞，说明卵巢储备功能正常，其中皮质滤泡期卵母细胞（b，黑色箭头）偏多，提示正在为卵黄和卵黄蛋白的形成做准备。模型对照组斑马鱼卵巢卵母细胞数量减少，大多为挤压变形的卵黄生长期卵母细胞（c，红色箭头），其卵泡变为空囊、内部卵黄物质大量减少、卵黄膜与透明带解体，提示卵巢储备功能下降、卵母细胞衰老，卵巢早衰模型建立成功。

阳性药物坤泰胶囊组卵巢内可见各个发育阶段的正常卵母细胞，皮质滤泡期卵母细胞数量多、卵黄生长期卵母细胞内卵黄物质饱满，细胞结构清晰，与正常对照组相似，提示坤泰胶囊具有防治卵巢早衰功效。

FERMLOVE® 鲟鱼卵巢复合肽 104 µg/mL 浓度组卵巢卵母细胞数量少，且大多为挤压变形的卵黄生长期卵母细胞，其内部卵黄物质减少，与模型对照组卵巢结果相似；208 和 417 µg/mL 浓度组卵巢内可见各个发育阶段的正常卵母细胞，皮质滤泡期卵母细胞数量多、卵黄生长期卵母细胞内卵黄物质饱满，细胞结构清晰，与正常对照组斑马鱼卵巢结果相似，提示 FERMLOVE® 鲟鱼卵巢复合肽具有防治卵巢早衰功效。

综上所述，FERMLOVE® 鲟鱼卵巢复合肽具有防治卵巢早衰功效，具体表现为改善卵巢病

理组织结构。详见图 1-3。

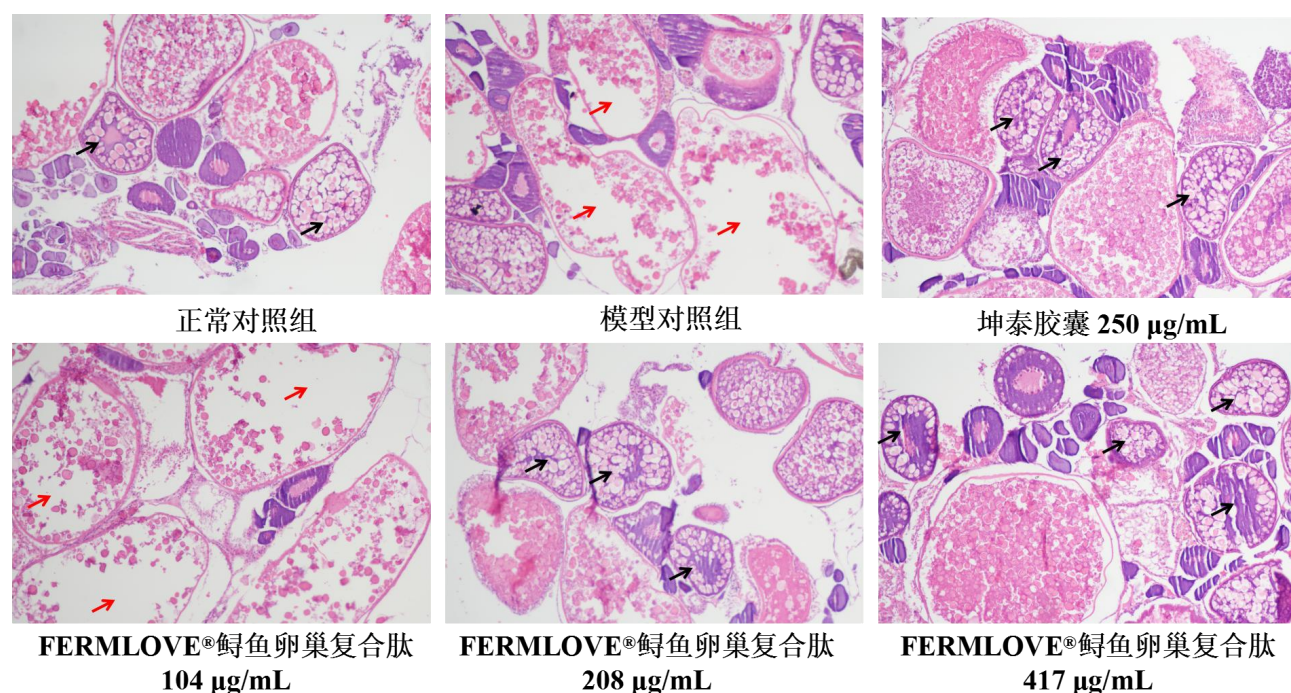


图 1-3. 样品处理后斑马鱼卵巢病理切片典型图

注：黑色箭头指向皮质滤泡期卵母细胞，红色箭头指向卵黄生成期卵母细胞

3.3. 防治卵巢早衰功效评价（试剂盒）

在本实验条件下，FERMLOVE® 鲟鱼卵巢复合肽具有防治卵巢早衰功效，具体表现为降低促黄体激素活力、提高雌二醇含量、降低促卵泡素活力和提高抗穆勒试管激素含量。详见表 1-2、图 1-4、图 1-5、图 1-6 和图 1-7。

表 1-2. 样品防治卵巢早衰功效评价（试剂盒）实验结果（n = 8）

组别	浓度 (µg/mL)	促黄体激素活力 (mIU/mgprot, mean ± SE)	雌二醇含量 (ng/gprot, mean ± SE)	促卵泡素活力 (mIU/mgprot, mean ± SE)	抗穆勒试管激素 含量 (ng/mgprot, mean ± SE)
正常对照组	-	3.19 ± 0.097***	15.2 ± 0.364***	0.902 ± 0.060***	2.10 ± 0.070***
模型对照组	-	5.64 ± 0.335	9.63 ± 0.502	2.08 ± 0.173	1.04 ± 0.050
坤泰胶囊	250	3.27 ± 0.165***	13.2 ± 0.606***	1.26 ± 0.074***	1.98 ± 0.071***
FERMLOVE® 鲟鱼卵巢复合肽	104	4.03 ± 0.240**	11.7 ± 0.849	1.89 ± 0.155	1.13 ± 0.067
	208	3.35 ± 0.129***	11.6 ± 0.477*	1.22 ± 0.084***	1.40 ± 0.049***
	417	3.25 ± 0.093***	14.1 ± 0.399***	1.01 ± 0.066***	1.63 ± 0.038***

与模型对照组比较，*p < 0.05，**p < 0.01，***p < 0.001

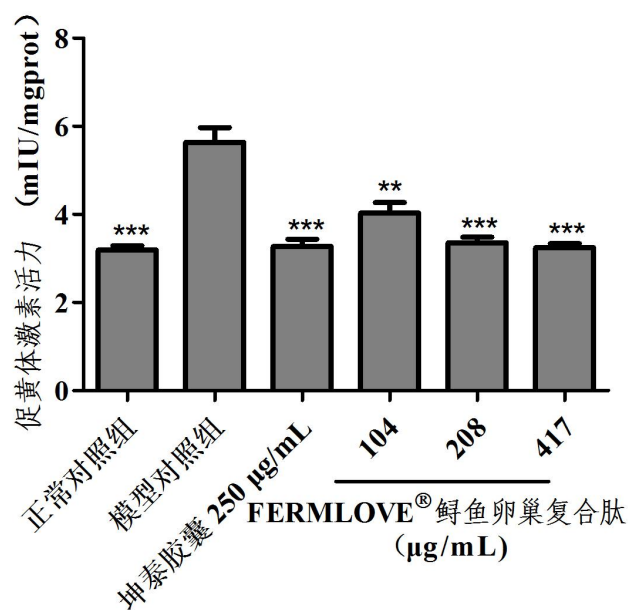


图 1-4. 样品处理后斑马鱼促黄体激素活力
 与模型对照组比较, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

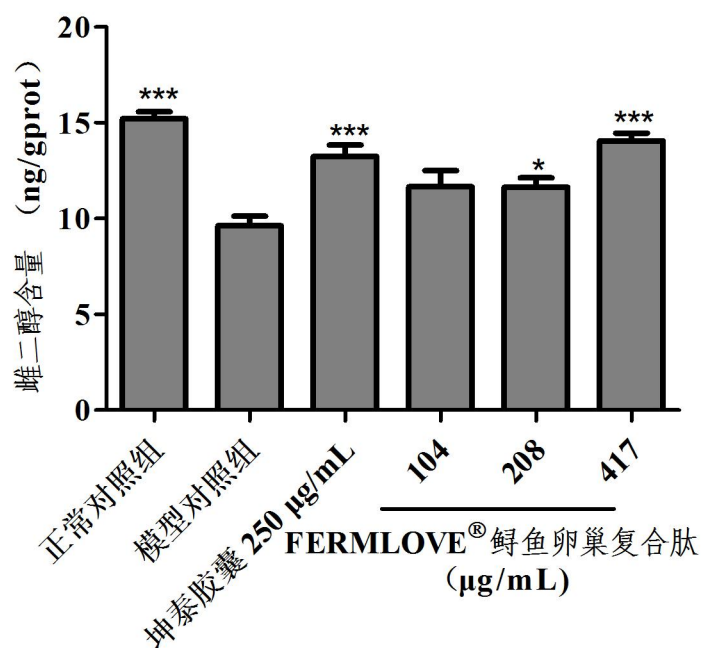


图 1-5. 样品处理后斑马鱼雌二醇含量
 与模型对照组比较, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

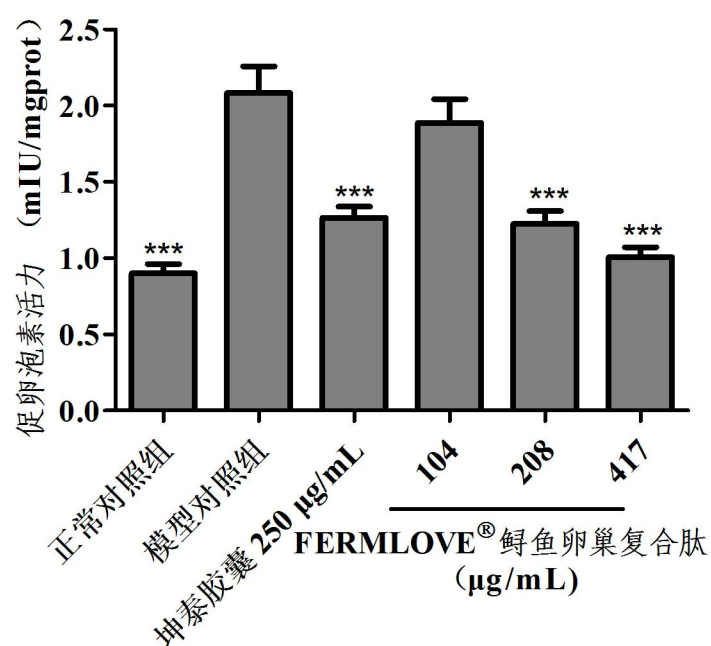


图 1-6. 样品处理后斑马鱼促卵泡素活力

与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

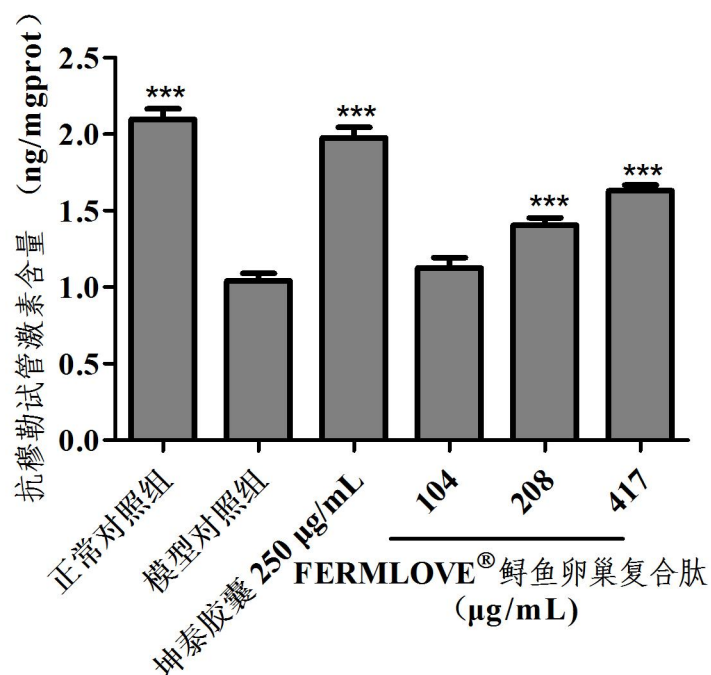


图 1-7. 样品处理后斑马鱼抗穆勒试管激素含量

与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

检测人员及分工

项目负责人：周佳丽（实验设计）

项目参与人员：夏波（实验操作、数据分析和报告撰写）、陈怡璇（实验操作）

质量管理人员：夏雨洁

检测单位信息

单位名称：杭州环特生物科技股份有限公司

单位地址：浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 5 幢 A 区 1-2 楼

联系人：叶榕

电话：13799378331

E-mail: yerong@zhunter.com

委托单位信息

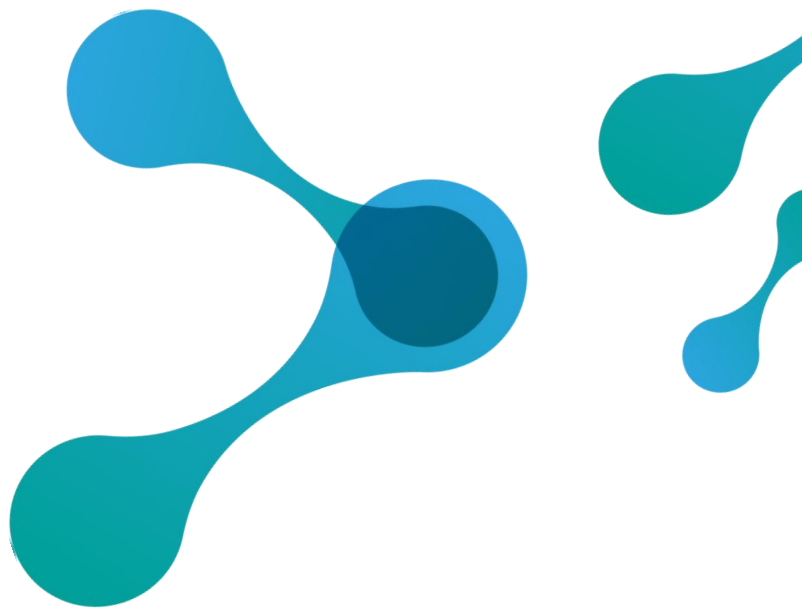
单位名称：厦门元之道生物科技有限公司

单位地址：厦门市同安区同集北路 570 号

联系人：鲁杏茹

电话：15893269642

E-mail: /



健康美丽产业 CRO 服务开拓者与引领者



Web: www.zhunter.com

Email: info@zhunter.com

六大创新实验中心

杭 州：浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 5 幢 2 楼

南 京：江苏省南京市江宁区生命科技小镇

广 州：广州市白云区嘉禾街广云路 408 号 410 室

北 京：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

上 海：上海市奉贤区临港南桥科技绿洲 35 号楼一楼

Boston: 16192 Coastal Highway, Lewes, Delaware 19958, County of Sussex.