

## 돼지 소장 오가노이드(미니장기) 개발, 영양분 흡수 실험 쉬워질 듯

- 돼지 소장과 유사한 3차원 형태 오가노이드(미니장기) 개발 성공
  - 2차원 전환 방법 잇달아 개발, 정밀 실험 쉬워질 듯
  - 사료 안전성 평가, 질병 연구 등 가축 실험 대체 효과 기대

농촌진흥청(청장 권재한)은 돼지 소장에서 추출한 성체줄기세포를 증식해 실제 돼지 소장 조직과 유사한 3차원 형태의 오가노이드(미니장기)를 만드는 데 성공하고, 이를 2차원으로 전환하는 방법을 개발했다고 밝혔다.

오가노이드 기술은 동물실험에 대한 윤리 의식과 규제 강화가 확산함에 따라 동물시험법을 대체할 대안으로 떠오르고 있다. 국립축산과학원에서는 가축 생산성 향상을 위한 사료 효율 및 안전성 평가, 질병 연구 등에 오가노이드를 활용할 수 있도록 가축 실험 대체기술을 연구·개발하고 있다.

이번에 개발한 3차원 형태의 돼지 소장 오가노이드는 생체 조직과 매우 유사하고, 소장에서 발현하는 줄기세포 및 상피세포 표지인자가 강하게 나타났다. 또한, 비교적 크기가 작은 탄수화물도 오가노이드 세포를 투과하는 성질이 있음을 확인했다.

연구진은 3차원 형태의 돼지 소장 오가노이드의 생체 조직 구조상 정밀 실험이 어려운 한계를 극복하기 위해 생체 조직과 구조적·기능적으로 유사한 2차원 장 상피세포 모형(모델)을 확립했다.

이번 연구 성과는 올해 초 국내 동물생명공학 분야에서 저명한 학술지 ‘한국동물생명공학회지’ 1호에 게재됐으며, 국내 특허\*도 출원했다.

\*돼지 3D 소장 오가노이드로부터 2D 장 상피세포를 제조하는 방법(특허출원 2024년 1월, 출원번호 10-2024-0014521)

2차원 장 상피세포 모형(모델)은 3차원에 비해 소장 점막에 접근하기 쉽고, 실험 간 변이가 적다는 장점 덕분에 영양분 흡수 능력이나 독성 평가 등 다양한 실험에 활용할 수 있다.

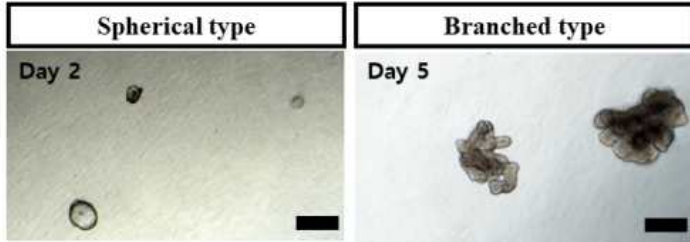
농촌진흥청 국립축산과학원 동물바이오공학과 류재규 과장은 “돼지 3차원 소장 오가노이드로부터 확립한 2차원 장 상피세포 모형은 동물실험 대체제로 실제 활용할 수 있다.”라며 “가축의 사료 효율 향상 연구, 유용 미생물 선발, 사료 안전성 평가 및 첨가제 개발 등 가축 생산성 향상 연구에 유용하게 활용되길 바란다.”라고 밝혔다.

붙임. 체외에서 돼지 영양분 흡수 실험 모델 개발 과정

담당 부서	국립축산과학원 동물바이오공학과	책임자	과 장	류재규 (063-238-7250)
		담당자	연구사	이보람 (063-238-7259)

농촌진흥청에서 연구·개발한 **농사의 모든 것**  **농사모**

1. 돼지의 장 성체줄기세포 추출 및 3차원 배양을 통한 소장 오가노이드 형성

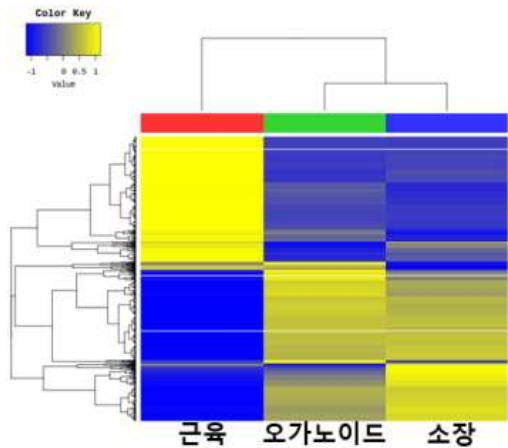


< 배양기간에 따른 3차원 세포 집합체 형태의 돼지 소장 오가노이드 >

- 돼지 소장 조직에서 장 성체줄기세포를 포함하는 장선(Intestinal crypt, 창자액을 분비하는 샘)를 분리해 3차원 체외 배양을 통해 소장 오가노이드를 구현했다.

\* 3차원 배양은 줄기세포 배양에 최적화된 구조물에서 세포가 주변 환경과 상호작용하며 증식할 수 있게 유도하는 방법이다.

2. 3차원 돼지 소장 오가노이드의 특성을 실제 소장과 비교를 통한 유사도 확인

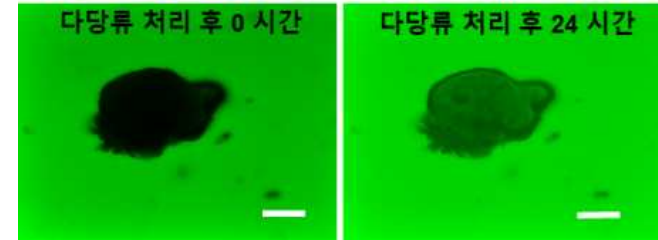


- 돼지 소장 오가노이드는 실제 소장은 비슷한 유전자 발현 패턴을 나타냈고 생

체 유사도를 확인할 수 있었다.

\* 유전자 발현 패턴이 약할수록 파랗게, 강할수록 노랗게 표현된다.

3. 3차원 돼지 소장 오가노이드의 구조적 안전성 및 영양분 흡수 능력 확인



<형광 현미경으로 바라본 소장 오가노이드에서 다당류의 세포 투과>

- 돼지 소장 오가노이드는 다당류에 대한 물리적 세포투과성을 지니며, 영양분 흡수 기능을 확인했다.

\* 시간이 지남에 따라 다당류(탄수화물)가 세포 내로 들어가면서 검은 세포막 안쪽이 검은색에서 초록색으로 변했다.

## Establishing porcine jejunum-derived intestinal organoids to study the function of intestinal epithelium as an alternative for animal testing

Bo Ram Lee<sup>1,\*</sup>, Sun A Ock<sup>1</sup>, Mi Ryung Park<sup>2</sup>, Min Gook Lee<sup>1</sup> and Sung June Byun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Animal Biotechnology Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

<sup>2</sup>Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Hamyang 50000, Korea

<sup>3</sup>Poultry Research Institute, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Pyeongchang 25342, Korea

Received February 22, 2024  
Revised March 12, 2024  
Accepted March 12, 2024

\*Correspondence

Bo Ram Lee  
E-mail: mir88@korea.kr

**Author's Position and Orcid no.**  
Lee BR, Agriculture researcher,  
<https://orcid.org/0000-0002-0537-6205>  
Ock SA, Agriculture researcher,  
<https://orcid.org/0000-0002-0887-8200>  
Park MR, Agriculture researcher,  
<https://orcid.org/0000-0001-5452-5281>  
Lee MG, Agriculture researcher,  
<https://orcid.org/0000-0001-8237-6447>  
Byun SJ, Senior researcher,  
<https://orcid.org/0000-0001-6909-1025>

**ABSTRACT**

**Background:** The small intestine plays a crucial role in animals in maintaining homeostasis as well as a series of physiological events such as nutrient uptake and immune function to improve productivity. Research on intestinal organoids has recently garnered interest, aiming to study various functions of the intestinal epithelium as a potential alternative to an *in vivo* system. These technologies have created new possibilities and opportunities for substituting animals for testing with an *in vitro* model.

**Methods:** Here, we report the establishment and characterisation of intestinal organoids derived from jejunum tissues of adult pigs. Intestinal crypts, including intestinal stem cells from the jejunum tissue of adult pigs (10 months old), were sequentially isolated and cultivated over several passages without losing their proliferation and differentiation using the scaffold-based and three-dimensional method, which indicated the recapitulating capacity.

**Results:** Porcine jejunum-derived intestinal organoids showed the specific expression of several genes related to intestinal stem cells and the epithelium. Furthermore, they showed high permeability when exposed to FITC-dextran 4 kDa, representing a barrier function similar to that of *in vivo* tissues. Collectively, these results demonstrate the efficient cultivation and characteristics of porcine jejunum-derived intestinal organoids.

**Conclusions:** In this study, using a 3D culture system, we successfully established porcine jejunum-derived intestinal organoids. They show potential for various applications, such as for nutrient absorption as an *in vitro* model of the intestinal epithelium fused with organ-on-a-chip technology to improve productivity in animal biotechnology in future studies.

**Keywords:** characterisation, gene expression, jejunum, intestinal organoid, porcine