

## 오가노이드 활용 곰팡이 분석... 유산균 배양액 처리로 독성 저감 확인

- 농촌진흥청, 소 소장 오가노이드 개발

- 사료 속 곰팡이 독소, 유산균 배양액 처리로 독성 저감 효과 확인

농촌진흥청(청장 권재한)은 소의 소장과 비슷한 기능과 구조를 가진 오가노이드를 성공적으로 구현하고, 이를 활용해 곰팡이 독소가 소장 기능에 미치는 영향을 분석했다고 밝혔다. 또한, 유산균 배양액을 활용해 독성 저감 효과를 확인하는 데도 성공했다고 덧붙였다.

사료를 제대로 보관하지 않으면 곰팡이가 번식하면서 독소가 생성될 수 있다. 이 독소는 가축의 장 기능을 손상시키고, 사료 섭취량 감소·성장 저하·생식 기능 저하 등을 유발해 생산성을 떨어뜨리며 축산 농가에 큰 경제적 피해를 준다.

연구진은 이번 연구에서 소의 소장 오가노이드가 곰팡이 독소에 실제 소장 과 같은 반응을 보이는지 확인했다. 곰팡이 독소에 노출된 소 소장 오가노이드는 장벽 기능이 무너졌다. 하지만, 유산균 배양액을 처리 하자 소장 오가노이드의 독성 효과가 감소했다. 이번 연구 결과는 국제학술지에 게재\*됐다.

\* 「Apical-out intestinal organoids as an alternative model for evaluating deoxynivalenol toxicity and Lactobacillus detoxification in bovine」, Scientific reports(2024년 12월)

농촌진흥청 국립축산과학원 동물바이오횡학과 류재규 과장은“소 소장 오

가노이드를 활용한 이번 연구로 동물실험 대체 가능성과 유산균 배양액의 독소 저감 효과를 확인했다.”라며 “앞으로 돼지 폐 등 다양한 가축의 장기 오가노이드가 개발되면, 축산 연구 분야가 넓어지고 인간 질병·신약 개발을 위한 대체시험법 모델로도 활용될 가능성이 높다.”라고 말했다.

한편, 동물실험에 대한 사회적 관심 증가 및 법적 규제 강화 등으로 대체 시험법의 필요성이 강조되고 있다. 실제 장기 구조와 기능을 모사할 수 있는 오가노이드를 활용한 대체시험법이 주목받고 있다. 국립축산과학원은 소, 돼지와 같은 가축 오가노이드 개발을 통해 가축의 질병, 사료효율 개선 등 가축 실험을 대체할 수 있는 기술을 연구·개발하고 있다.

- 붙임 1. 소 소장 오가노이드를 활용한 사료 독성 평가 체계 구축
- 2. 관련 논문 게재

담당 부서	국립축산과학원 동물바이오횡학과	책임자	과 장	류재규 (063-238-7250)
		담당자	연구사	이민국 (063-238-7265)

농촌진흥청에서 연구·개발한 농업의 모든 것 농사로

**붙임 1**

**소 소장 오가노이드를 활용한 사료 독성 평가 체계 구축**

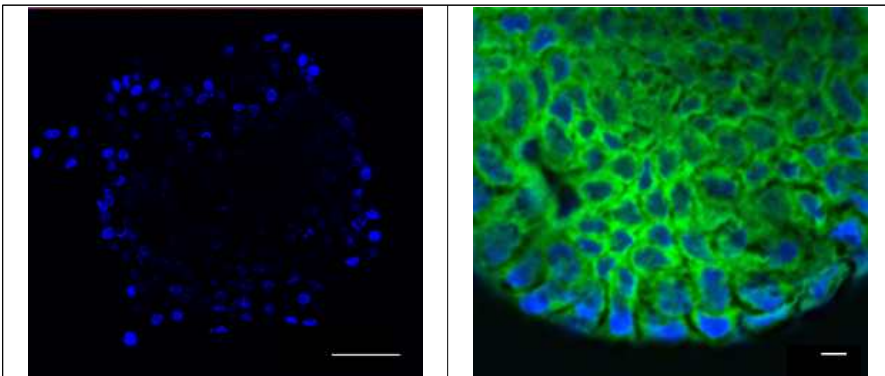
□ 소장 오가노이드 구조·기능적 특성 검증

- 전자현미경을 통해 소장 오가노이드에서 실제 소장의 구조적 특징을 확인. 그림 1은 구형의 소장 오가노이드 모양과 소장 표면의 융모와 유사한 미세융모(micro villi)를 확인함.



주사 전자 현미경으로 본 구형의 소장 오가노이드 및 미세융모

- 소장의 주요 기능인 영양소 흡수 능력을 확인하기 위해 소장 오가노이드에 파란색 형광물질이 부착된 아미노산과 녹색 형광물질이 부착된 지방산을 처리하며 형광현미경을 통해 흡수되는 것을 확인함.



오가노이드 내 아미노산(파란색, 왼쪽) 및 지방산(초록색, 오른쪽) 흡수

□ 소장 오가노이드 활용 곰팡이 독소 및 저감제 효과 확인

- 소장 오가노이드를 활용해 곰팡이 독소와 저감제의 효과를 확인한 결과, 정상 상태에서는 4kDa 덱스트란이 통과하지 못했으나, 곰팡이 독소 처리 시 장벽이 무너져 내부로 통과됨. 반면, 곰팡이 독소와 저감제를 함께 처리하면 덱스트란의 일부만 통과함. 결론적으로 저감제가 장벽 보호에 효과가 있음을 확인함.

비처리구	
곰팡이 독소 처리구	
곰팡이 독소 및 저감제 동시 처리구	

「Apical-out intestinal organoids as an alternative model for evaluating deoxynivalenol toxicity and *Lactobacillus* detoxification in bovine」, Scientific reports(2024년 12월)

## scientific reports

Check for updates

# OPEN Apical-out intestinal organoids as an alternative model for evaluating deoxynivalenol toxicity and *Lactobacillus* detoxification in bovine

Min Gook Lee<sup>1</sup>, Bo Ram Lee<sup>1</sup>, Poongyeon Lee<sup>2</sup>, Soyoung Choi<sup>2</sup>, Jong-Hui Kim<sup>3</sup>, Mi-Hwa Oh<sup>1</sup> & Jae Gyu Yoo<sup>1\*</sup>

Small intestinal organoids are similar to actual small intestines in structure and function and can be used in various fields, such as nutrition, disease, and toxicity research. However, the basal-out type is difficult to homogenize because of the diversity of cell sizes and types, and the Matrigel-based culture conditions. Contrastingly, the apical-out form of small intestinal organoids is relatively uniform and easy to manipulate without Matrigel. Therefore, we sought to investigate the possibility of replacing animal testing with bovine apical-out small intestinal organoids (Apo-IOs) by confirming the toxicity of mycotoxins and effectiveness of *L. plantarum* as mycotoxin-reducing agents. The characteristics and functions of Apo-IOs were first confirmed. The gene and protein expression of stem cell, proliferation, mucous, and adherence markers were detected, and the absorption capacity of amino and fatty acids was also confirmed. FITC-4 kDa dextran, a marker of intestinal barrier function, did not penetrate the Apo-IOs, confirming the role of the organoids as a barrier. However, when co-treated with deoxynivalenol (DON), FITC-4 kDa dextran was detected deep within the organoids. Moreover, qPCR and immunofluorescence staining confirmed a decrease in the expression of key markers, such as LGR5, Ki67, Mucin2, Villin2, and E-cadherin. In addition, when Apo-IOs were treated with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917 culture supernatant (LCS) and DON together, cell death was reduced compared to when treated with DON alone, and FITC-4 kDa dextran was confirmed to flow only to the peripheral part of the organoid. The qPCR and immunofluorescence staining results of LCS and DON co-treatment group showed that LGR5, Ki67, Mucin2, Villin2, and E-cadherin were expressed at significant higher levels than those in the DON treatment group alone. In this study, we found that the characteristics and functions of bovine Apo-IOs were similar to those of the intestinal structure in vivo. Additionally, the effects of mycotoxins and effectiveness of *L. plantarum* as mycotoxin-reducing agents were confirmed using bovine Apo-IOs. Therefore, bovine Apo-IOs could be applied in toxicity studies of mycotoxins and could also be used as in vitro models to replace animal testing and improve animal welfare.

**Keywords** Deoxynivalenol, Mycotoxin, Intestinal organoid, Bovine

### Abbreviations

Apo-IOs Apical-out small intestinal organoids  
 Bo-IOs Basal-out small intestinal organoids  
 DAPI 4',6'-diamidino-2-phenylindole  
 DON Deoxynivalenol  
 ISC Intestinal stem cell

<sup>1</sup>Animal Biotechnology Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju, Republic of Korea. <sup>2</sup>Animal Genomics and Bioinformatics Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju, Republic of Korea. <sup>3</sup>Animal Products Research and Development Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju, Republic of Korea. \*email: vetjack@korea.kr