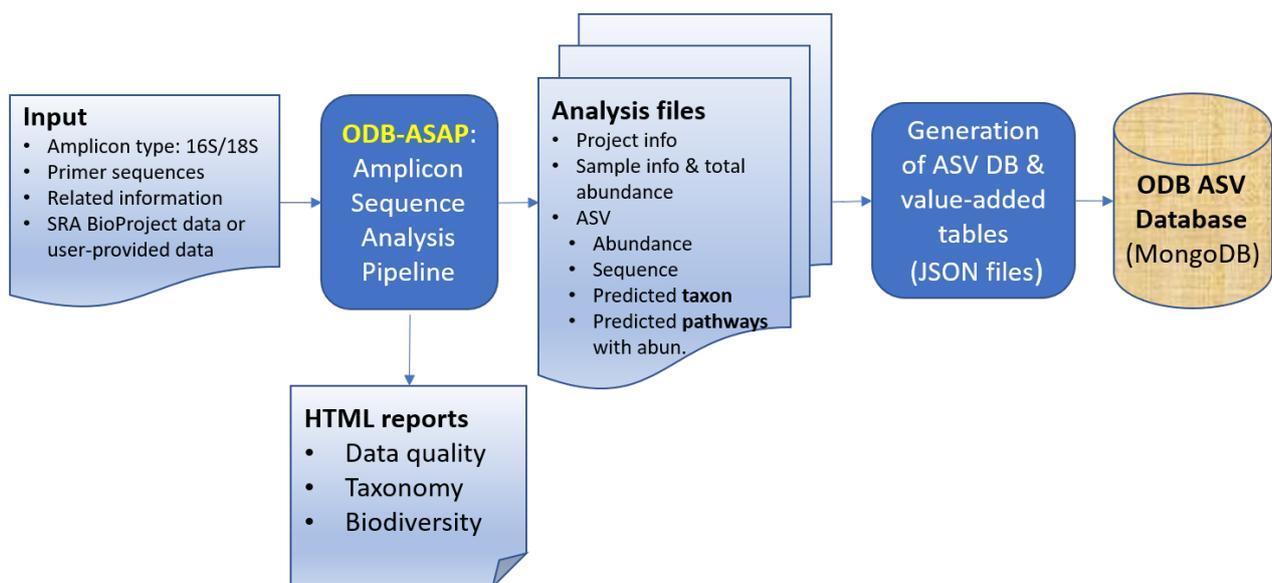




海洋微生物基因資料庫 / 張育榮

透過總體基因體學 (metagenomics) 探索海洋微生物是近二十年來國際上最熱門的海洋研究項目之一，其中著名的全球性海洋採樣(Global Ocean Sampling) 研究計畫包括了美國的Socerer II GOS [1]、歐盟的Tara Oceans [2]、多國參與的bioGEO TRACES [3] 以及 BIO-GO-SHIP [4] 等。這些計畫所產出的海洋微生物資料，成為各國深化精準海洋生態系研究的基礎資訊，並可應用於海洋生技產品開發。環境DNA(environmental DNA, eDNA)，泛指存在環境如沉積物、空氣和水中的遺傳物質，其來源包含整個微生物的個體或多細胞生物因代謝、損傷、脫落而遺留在環境內的細胞以及散落在細胞外的DNA。隨著物種類群生命條碼 (barcode) 資料庫逐漸建立，以及基因高通量定序技術快速普及化，運用高通量定序eDNA 生命條碼 (eDNA metabarcoding) 分析[5] 成為技術所趨。而eDNA 兼具對環境變化敏感，易於監測生物群聚之特性，且涵蓋海洋微生物生物資訊，將可成為研究海洋生物多樣性不可或缺的資料來源。

國科會海洋學門資料庫(ODB) 正在建構海洋微生物基因資料庫，目前已經從NCBI SRA 蒐集臺灣研究團隊已發表的海洋環境微生物16S/18S rRNA 基因定序資料(eDNA 生命條碼定序資料)，逐步建立臺灣周邊海洋微生物基因資料庫與分析工具。包括：1) 生命條碼定序資料的自動化生物資訊分析工具；2) 建立海洋微生物基因資料庫；3) 海洋微生物基因資料整合網站。敘述如下。

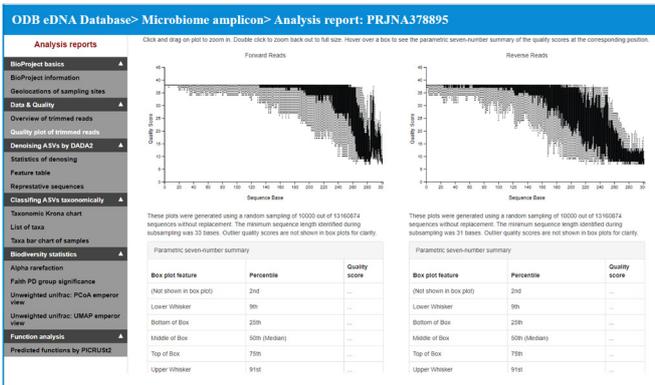


圖一、海洋微生物生命條碼定序資料之生物資訊分析流程圖

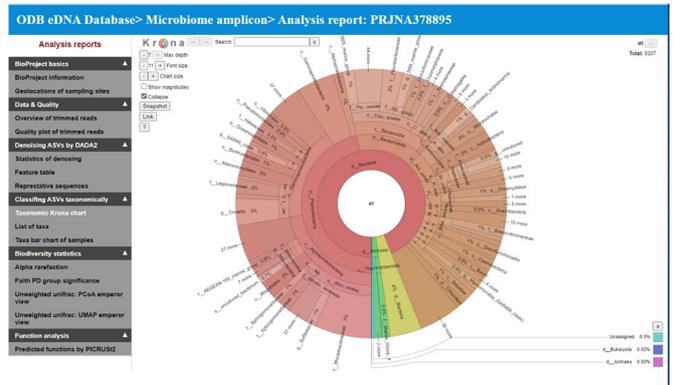
海洋微生物生命條碼定序資料之自動化生物資訊分析工具和基因資料庫

ODB 目前已從 NCBI SRA 資料庫之中，蒐集了臺灣研究團隊在 2017 年到 2021 年間發表於五篇論文中的海洋環境微生物 16S/18S rRNA 基因序列資料 (16S / 18S rRNA amplicon)，這些資料分屬於 7 筆 BioProjects 之中。除資料蒐集外，ODB 也開發了 16S/18S rRNA 序列資料自動化分析流程 (如圖一)，整合了常用的微生物資訊分析軟體，包含 QIIME2[6]、Krona[7]、PICRUSt2[8] 等將多面向的分析資訊 (如：序列資料與品質、分類學、生物多樣性等)，以一致性的網頁圖形化報表呈現 (如圖二)，方便使用者從多面向解讀資料。同時，分析結果會轉換成 JSON 格式，匯入至 MongoDB 資料庫 (如圖一)。

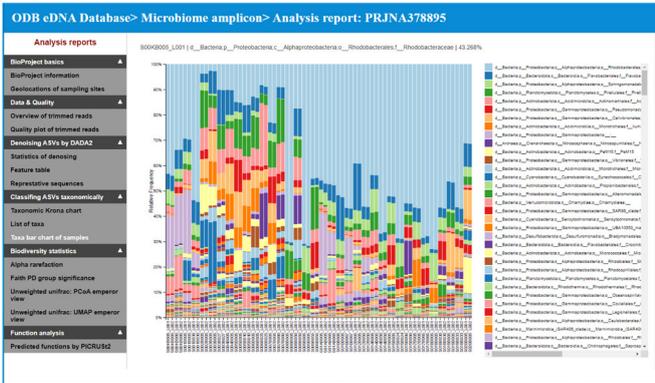
(a) 序列品質呈現



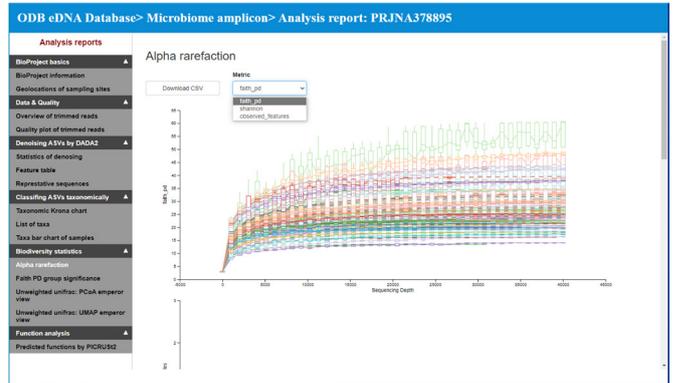
(b) Krona 互動式分類樹瀏覽



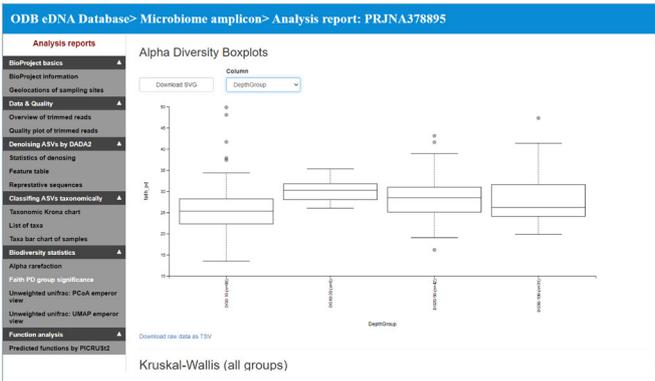
(c) 比較不同採樣資料的分類單元群



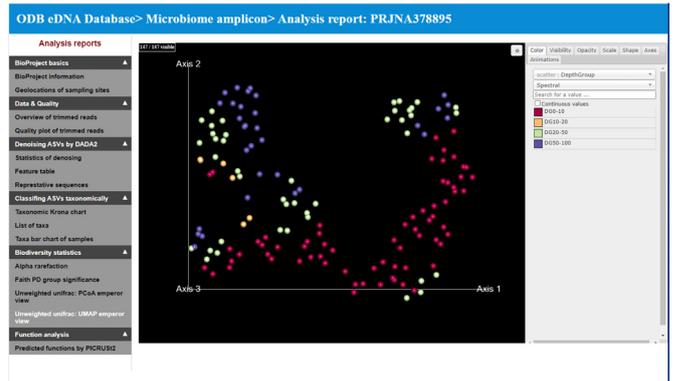
(d) Alpha rarefaction



(e) Faith PD group significance



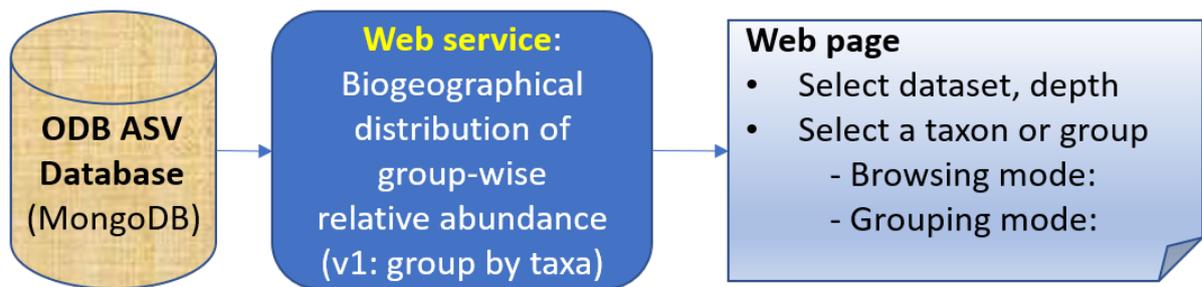
(f) Beta diversity: UMAP



圖二、生物資訊分析網頁報告摘錄

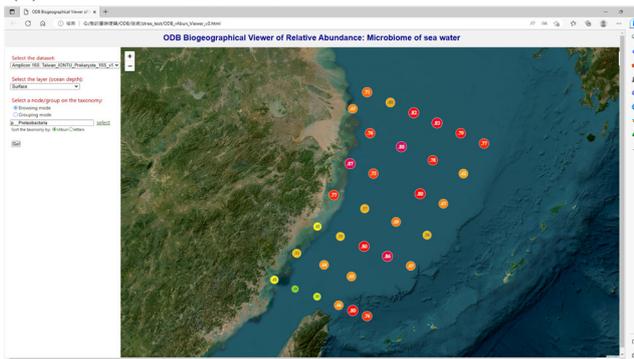
海洋微生物基因資料整合網站

經上述基因資料蒐集、生物資訊分析和建立資料庫後，下一步的重要課題就是如何整合不同專案的基因資料，提供一致化的介面，以利瀏覽、比較與後續分析。因此，ODB 提出植基於生物分類樹 (taxonomy) 各階層分類單元之新型海水微生物基因資料整合方式，以階層分類 (taxonomy) 為主軸，提供海水微生物相對豐度 (relative abundance) 的生物地理分布與統計呈現，並可進行互動式比較。圖三顯示流程圖。我們提供單類別與多類別圓餅圖這兩種方式來進行相對豐度的呈現與比較。圖四左側呈現了單類別瀏覽模式介面，以色階、圖形大小與數字標示相對豐度。圖四右側是多類別圓餅圖模式介面，可用來同時比較多個類別在地理上的相對豐度變化，也有顯示各類別的相對豐度頻率分布。上述方式可用以統合目前既有生命條碼資料，也能用於統合下階段的霰彈槍總體基因體定序 (shotgun metagenomic sequencing) 資料，我們會逐步建構易用的海洋微生物基因資料網站資料庫。目前該網站還在建構與測試中，預計今年底會上線。

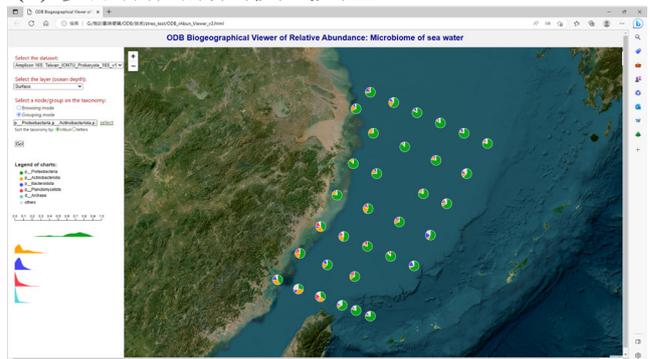


圖三、海洋微生物基因資料整合網站流程圖

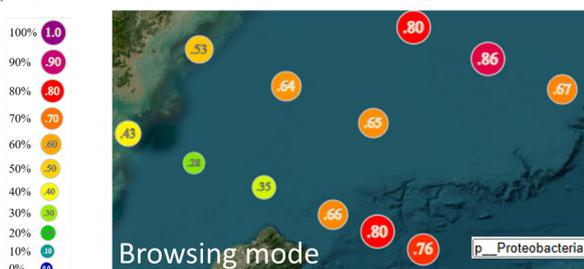
(a) 單類別瀏覽模式頁面



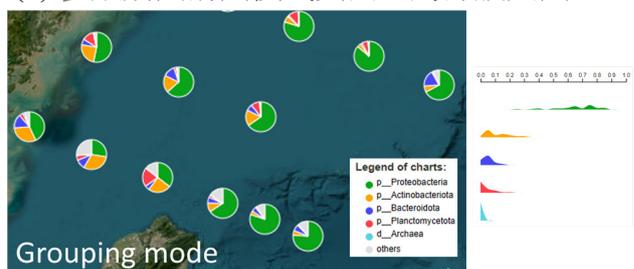
(b) 多類別圓餅圖模式頁面



(c) 單類別瀏覽模式頁面之局部放大圖



(d) 多類別圓餅圖模式頁面之局部放大圖



圖四、海洋微生物基因資料整合網站之頁面呈現

References

1. Rusch, D. B. et al. The Sorcerer II Global Ocean Sampling expedition: north-west Atlantic through eastern tropical Pacific. PLoS Biol 5, e77–431 (2007).
2. Pesant, S. et al. Open science resources for the discovery and analysis of Tara Oceans data. Scientific Data 2, 150023–16 (2015).
3. Anderson, R., Mawji, E., Cutter, G., Measures, C. & Jeandel, C. GE-OTRACES: Changing the Way We Explore Ocean Chemistry. Oceanography 27, 50–61 (2014)
4. Larkin, A.A., Garcia, C.A., Garcia, N. et al. High spatial resolution global ocean metagenomes from Bio-GO-SHIP repeat hydrography transects. Sci Da-ta 8, 107 (2021).
5. aberlet, P., Bonin, A., Coissac, E. and Zinger, L. (2018). Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. Oxford University Press, Oxford, UK.
6. Bolyen, E., et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbi-ome data science using QIIME 2. Nat Biotechnol. 2019 Aug; 37(8): 852–857.
7. Ondov, B.D., Bergman, N.H. & Phillippy, A.M. Interactive metagenomic vis-ualization in a Web browser. BMC Bioinformatics 12, 385 (2011).
8. Douglas, G.M., Maffei, V.J., Zaneveld, J.R. et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. Nat Biotechnol 38, 685–688 (2020).

活動紀實 - 國際地球科學奧林匹亞競賽國家代表隊輔導營授課

每年暑假是地球科學奧林匹亞選手們如火如荼上課、培訓的時節。去年 ODB 首次收到臺灣師範大學科學教育中心的授課邀請，然而因疫情影響，僅能透過線上視訊和選手們分享國內外海洋資料庫和相關應用。今年很榮幸地再度受邀，8 月 2 日由四位技術員呂孟璋、翁其羽、葉庭禎、黃玉萱化身講師，帶著升級版的教案前往師大公館分部，為代表隊選手們進行實體授課。

這次的課程內容包含地理圖資處理、海洋探測技術、國內外海洋資料庫簡介等，並且以不同主題的教案（生物地理遷徙、海洋酸化、黑潮特性）為包裝，引導選手們操作各式海洋資料庫（Hidy、ODB Chemistry Viewer、SeaTube...等等）查詢並判讀資料，深入認識這些海洋研究議題。其中，更將今年 ODB 最新上線的海洋熱浪資料庫融入教案，帶選手們使用 QGIS 繪製 WMS 圖層、觀察熱浪時空分布。另外，根據去年的授課回饋，今年也加碼開放 ODB BIIGLE 伺服器試用，讓選手們能體驗海底影像標註、將影像資料量化。

非常感謝師大的邀請，授課過程中可以感受到選手們都非常活潑、積極發問，且對於資料庫操作展現熱烈的興趣！透過這樣難得的實體互動，除了能直接獲得未來優化教案的方向，同時也收到選手們使用 ODB 資訊服務的使用回饋。希望這些課程能夠開拓選手們的視野，讓他們更深入認識海洋研究領域。



圖五、四位技術員分別為選手帶來不同課程（按授課順序，上排左至右依序為：呂孟璋、翁其羽、葉庭禎、黃玉萱）；課程內容結合海洋研究議題，帶領選手們操作海洋資料庫、搜尋並判讀資料。