

行政院所屬各機關因公出國人員出國報告書  
(出國類別:考察)

赴香港考察海洋無脊椎動物族群遺  
傳研究之現況與發展

服務機關：行政院農業委員會水產試驗所

姓名職稱：宋嘉軒助理研究員

派赴國家：香港

出國期間：105年8月22日至8月27日

報告日期：105年11月10日

## 摘要

本(105)年 8 月 22 日至 8 月 27 日赴香港進行「赴香港考察海洋無脊椎動物族群遺傳研究之現況與發展」考察。期間前往香港中文大學及香港科技大學拜訪朱嘉濠博士、覃靜博士及張偉鵬博士，討論及瞭解在海洋無脊椎生物上，目前的研究趨勢及發展，及在次世代定序發展之後，如何交互利用轉錄體學、蛋白體學及基因體學的方式進行研究，並依目前本所所執行的種原庫保種生物遺傳資料庫之建立計畫為範疇，討論後續可以延伸發展的研究方向。另也延伸討論有關在水體中細菌相改變之下，利用次世代定序的方式，可以進行的分析方法，有助於後續執行養殖池附蓋太陽能設施後，養殖池水微生態監測的計畫的規劃。雙方也討論到未來若有適當的研究題目，可以共同進行相關合作事宜。

## 目次表

摘要-----	2
一、目的-----	4
二、考察行程-----	8
三、心得及建議-----	12
四、附件資料-----	15

## 一、目的

海洋無脊椎動物是海洋中種類最多的生物，具有悠久的演化歷史及高度的生物多樣性，可以適應所有種類的海洋環境，許多種類也是重要的海洋經濟物種，如甲殼類(蝦、蟹)、貝類、頭足類等。其中甲殼類動物在體型及體色具有高度的多樣性，絕大多數在淡水或海水環境中，在生活上接觸到或是食用的甲殼類，以端足目(Decapoda)是最常見的種類，目前發現超過 15,000 種，也包含許多具有高經濟價值的品種。在鄰近的香港，約 680 萬人口每年消耗約 300,000 噸海產，平均每人每年消耗約 45 公斤的海產。在各類海產中，對蝦、蟹等甲殼類動物的需求量大，船隊每年捕獲的甲殼類海產約佔總產量的 3%，及總價值的 10%。臺灣平均每人每年消耗約 40 公斤的海產，最主要消費的甲殼類水產品以蝦類為主，曾經民國 76 年在養殖草蝦年產量高達 8 萬多公噸的高峰，但受到草蝦桿狀病毒及白點病毒為主的病毒造成的疫情之後，年產量迄今無法回復，在相關科研發展上集中在養殖蝦類免疫及病毒的領域，在環境資源與生態及生物多樣性的部分較少。香港科技大學及香港中文大學在《QS 亞洲大學排名》(2016) 分別為第 4 位及第 8 位，在學術及整體表現屬於亞洲的頂尖大學，在海洋無脊椎動物發育、多樣性及系統生物學的領域有長期的研究，近年也搭配分子生物技術及序列大數據的方式進行相關的科研工作，並且逐步的應用到養殖的科研發展。而預計拜訪的張偉鵬博士，隸屬錢培元教授領導的研究團隊，該團隊學術發表累計超過 500 篇，且擔任許多期刊的編輯，另擁有數十項相關專利，在學術研究及應用都有優異的成績，在亞洲海無脊椎動物領域備受推崇。

### 考察計畫目標

考察香港如何利用分子及大數據之方式，進行海無脊椎動物的科研發展，應用至演化發育、生態多樣性、系統分類與資源管理。

## 二、考察行程

### (一)考察行程表

日期	地點	考察活動
8月22日(一)	臺北-香港	13:55 抵達香港，下榻住宿飯店，整理考察拜會資料、本所文宣品。
8月23日(二)	香港科技大學	拜會張偉鵬博士及蘭奕博士生，交流如何交互利用轉錄體學進行海洋無脊椎動物的研究，參觀香港科技大學。
8月24日(三)	香港島	至魚港仔批發市場瞭解香港漁獲批發現況；參觀香港海洋公園水族館。
8月25日(四)	香港中文大學	拜會朱嘉濠教授，討論有關甲殼類生態多樣性調查及遺傳結構研究發展趨勢，及拜會覃靜助理教授，討論有關甲殼類轉錄組學研究發展，及未來合作事宜。
8月26日(五)	香港科技大學	拜會張偉鵬博士及蘭奕技術助理，討論如何利用基因體學應用至養殖池水微生態監測之研究，並洽談雙方未來合作研究事宜。
8月27日(六)	香港-臺北	整理討論資料，搭乘 15:15 班機返抵臺灣。

## (二)考察過程

此行主要拜訪的學者為：

1. Chu, Ka-hou (朱嘉濠教授), Professor, School of Life Sciences, The Chinese University of Hong Kong.
2. Qin, Jin(覃靜 助理教授), Research Assistant Professor, School of Life Sciences, The Chinese University of Hong Kong.
3. Zhang, Wei-peng (張偉鵬博士), postdoctoral scholar, Division of Life Science, Hong Kong University of Science and Technology.

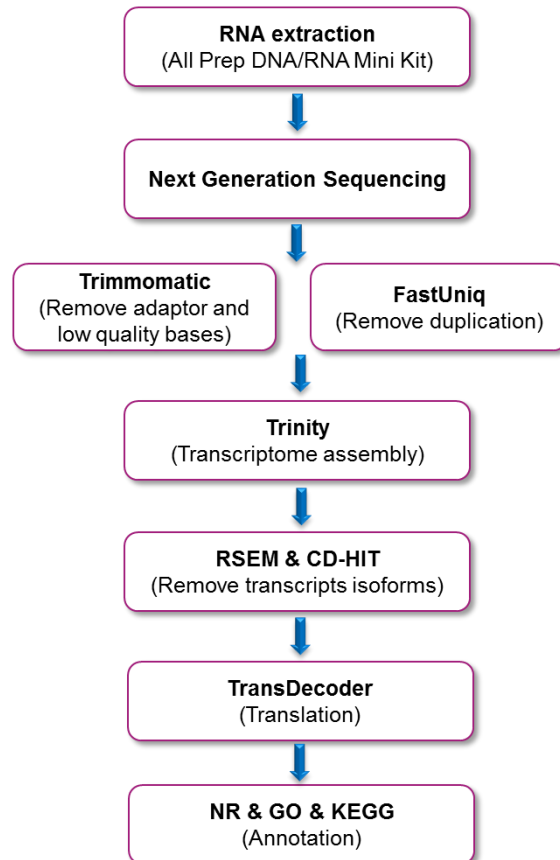
### 香港科技大學 (Hong Kong University of Science and Technology)

原本預計拜訪錢培元教授，因臨時前往中國進行會議及相關研究項目的研提，所以改請實驗室的博士後研究員張偉鵬博士及蘭奕博士生進行接待，並討論有關實驗室利用次世代定序應用在甲殼類的研究，可以分為 2 項主軸：甲殼類腸道中微生物宏基因組的組成集分析及甲殼類轉錄組學的研究，目前與美國的團隊合作，針對馬里亞納海溝下的端足目進行研究，馬里亞納海溝的水壓超過海面大氣壓力的 1 千倍，海溝內的生物在演化上如何能夠抵抗如此大的壓力。而因為巨大壓力變化的關係，採樣後的生物勢必無法生存，但在適當的保存條件下，可將 DNA 及 RNA 分子有效保存，再透過次世代定序及生物資訊的分析，瞭解相關生物在海溝下的重要生理及基因調控等資訊。在甲殼類腸道中微生物宏基因體 (metagenome) 的組成集分析中，結果顯示海溝中與一般海洋中端足目腸道中的菌相組成，並沒有明顯的差異，而進一步分析細菌基因體序列的結構，發現海溝中的細菌基因體較小，大約是 2MB 左右，一般海洋中的細菌基因體約 5MB，推測海溝中的細菌演化是逐漸縮小本身的基因體，只保留維生所必要的相關基因，減少能量的消耗，因應在海溝極端且營養資源缺乏的環境，這與一般高等生物的演

化呈現不同的模式。而如果不是透過次世代定序技術的發展，搭配生物資訊學的分析，傳統的研究方式是很難獲得其中的資訊。

進一步討論到與養殖池池水中，在不同光照度下池水中細菌等微生態的狀況，是否也可以利用宏基因體學進行分析，職提出想法是當光照改變或缺少，可能對微細藻、光合菌或消化菌等造成影響，相對也會對整體的微生態組成產生改變；張偉鵬博士認為在技術上是可行的，如果原本這些微生物生長環境都是有光的，移除光之下，也應該會對其造成影響，透過宏基因體學的分析也有機會找出之中的差異。但也有可能是在生理的表現上產生改變，透過不同基因的調控機制，來應付缺乏光線的環境，這部分就必須透過轉錄組學的比較分析才能得知。轉錄組學是次世代定序發展迄今，應用最廣泛的分析方式，用來分析整體基因表現網絡的差異，已瞭解對應的生理現象。然而，進行轉錄體學的研究中，主流的分析是利用 Linux 進行操作，從 reads QC、trimming、組裝、註釋及基因表現量分析，需透過不同的軟體，在操作流程上有固定的順序模式，而因為生物特性的不同，在數據分析上使用的策略也會不同，在細項的調整往往是耗時且需要時間累積經驗的。

張偉鵬博士也表示，錢培元教授很鼓勵與外界進行交流的，後續很樂意與本所來進行相關的合作。



轉錄組分析流程 (錢培元教授實驗室提供)

## 香港中文大學 (The Chinese University of Hong Kong)

拜訪當日由朱嘉濠教授接待，邀請該中心覃靜助理教授及臺灣海洋大學曾令銘助理教授一同參與討論，表示想要瞭解目前職所執行的研究方向，這樣後續較能討論該如協助或是進行合作，職就所執行的種原庫保種生物遺傳資料庫之建立計畫，先說明研究方向，隨後進行意見的交換及討論。朱教授表示，在香港，觀賞水族有一定的規模，但是海水物種的市佔比例不高，在金魚街上販賣海水觀賞水族的商家數就可以窺知，這與養海水物種所需花的費用較高有直接的關係，海水物種來源也是透過貿易為主，在觀賞蝦類部分沒有自行繁殖的產業，像臺灣有專責的單位來進行，其實是很好的。海水的觀賞蝦類，都是沿海礁區生長的蝦類為主，在實驗室有持續進行相關的研究，後續如果在多樣性或是族群方面的議題，可以進行合作或提供協助。如果是要分析基因窄化，可能在野生樣品上需要



儘量的多蒐集，才能夠盡可能的反應出活額蝦等自然狀況下的基因歧異度，進而評估在人工飼養下是否有基因窄化的現象發生。

另就常見的海水觀賞蝦種類進行討論，依照本所的研究經驗，蝦類的幼苗會經 4 個蝦苗變態階段：無節幼體、蚤狀幼體、糠蝦誘體及後期蝦苗，形態上才會與成蝦比較相似，目前可以成功人工繁殖的種類如德斑氏活額蝦、亨氏活額蝦、安波多蝦、花斑掃帚蝦等，在浮游性的蚤狀幼體的時間相對比較短，能夠較快進入穩定的後期蝦苗階段。在香港，櫻花蝦(臺灣稱美人蝦，學名 *Stenopus hispidus*) 比較常見的種類，而在繁殖過程中，美人蝦所需的浮游期就比較常，所以量產的成功率就比較低。這樣的狀況如同在龍蝦和蟹類的繁養殖上面臨到問題是相類似的。

覃靜博士提出，脫殼或是變態對甲殼類而言會是重要的生理階段，可能不只單一基因參與調控，很適合利用轉錄體的方式來進行研究分析，可以對整體的基因調控網絡進行定序分析，可先就一般浮游期較短的活額蝦等進行各變態階段的轉錄組分析，找出在變態階段參與的重要基因群，針對促進變態的基因群先進行研究，另一方面，也要針對美人蝦這種浮游期長的各變態階段進行分析，參與調控的基因群應該是同源及相似的，就可以找出影響變態階段的關鍵基因，進而促進或抑制基因的表現，達到縮短變態時間，能夠提升繁殖量產的成功率。也許像是其他的龍蝦或是蟹類，也可以利用這樣的模式，進行技術的突破，不同變態週期的轉錄組研究，覃靜博士表示很有興趣進行後續的研究合作。

### 香港仔魚類批發市場 (Aberdeen Wholesale Fish Market)

香港魚類統營處分別在香港仔、筲箕灣、觀塘、長沙灣、青山、大埔及西貢經營 7 個魚類批發市場，為漁民、魚類批發商及買家提供有效率及有秩序之統銷服務。香港仔魚類批發市場位於香港島的最南端，營業的時間是凌晨 2 點至下午 4 點，一般只對批發商進行交易，考察當日也鮮少見到一般民眾前往購買。現場

的活魚幾乎 9 成是石斑(龍虎斑、龍膽及點帶石斑)，其他是零星的蝦、蟹及貝類，而豹鱸則沒有在該市場中發現。

### 三、心得與建議

透過本次的考察，得知錢培元教授及朱嘉濠教授實驗室都已經將次世代定序及生物資訊分析納入重要且持續的發展方向，並且認為在生物資訊學上的投入是後續研究發展所必須的一個部分，而研究發展的方向避免過度聚焦在應用性的主題上，因為應用性的主題往往會有預設的立場及目標，可能會忽視了其他重要的發現，建議應用性的研究應該建立在完整的基礎研究之上。

宏基因體學(Metagenomics)是主要透過研究分析環境基因體，來描繪環境的代謝特性，與其生物體之間的相互關係，是近十年來發展出來的新學門。在一個環境體系的單位中，肉眼所無法看到的為生物族群的數量，遠超過了可見的動植物，然而，這些微生物絕大部分是無法被人工培養的，想要瞭解一個真實環境體系的微生物組成，最有效的方式就是直接從環境中的 DNA 或 RNA 進行分析，瞭解環境基因體的高多樣性及複雜性，如 Craig Venter 從一桶海水中萃取細菌 DNA，經過次世代定序及分析後，發現有 120 萬個沒有註釋過的基因、1,800 個基因型，因此，需要大量的序列數據資料，才能盡可能的描繪出真實且完整的環境基因體特性。早期的實驗流程，必須將環境的基因體 DNA 或 cDNA 透過遺傳工程的方式送入大腸桿菌中的載體，再進行定序分析，步驟繁瑣且耗時，得到的資訊也是有限。或是利用核醣體 DNA 在不同物種間，保留程度相對較高的序列的特性，常被科學家用來作為分辨物種的依據。在 16S 核醣體 DNA 序列中有 V1-V9 九個序列變異性較大、可以用來分辨不同物種的區間，而 V3-V4 區域則是常使用的區域，但是 16S 核醣體分析的鑑別效果在科到屬之間，而屬到種的階層，鑑別的效果就相當有限。目前在宏基因體的研究，不需要再進行繁瑣的前處理操作，直接將環境的 DNA 或 RNA 萃取後，直接進行次世代定序，而隨著定序所產出的序

列數據越高，也就能呈現越趨近環境基因體真實的樣貌。養殖池的池水就是一個複雜的環境系統，許多微生物共同的交互作用，使水質的條件達到平衡，讓養殖生物可以順利的成長及減少疾病的發生，然而減少光照之下應該會對整體的微生態平衡產生影響，微生態系的組成發生改變，環境基因體的代謝特性也會跟著改變，利用宏基因體學來進行整體養殖池水微生態的監測研究是很適合的，當然也須要考慮是微生物本身的生理特性發生改變，宏轉錄體學(metatranscriptomics)的分析也是須要加入考慮，進行各種基因表現的分析，瞭解減少或失去光照之下，對養殖池水微生態體系造成的影響。

在生物體中，不同的部位、不同發育階段、或是處於不同環境下基因表現的狀態均不相同。轉錄體分析是透過次世代定序的方式，快速的獲得在物種特定細胞或組織中，特定狀態下的幾乎所有的轉錄體(transcriptome)及序列，反應出當下所有的基因表現狀態，可以用於研究物種基因結構和基因功能、選擇性剪接和新的轉錄序列 (transcript)預測等，是目前使用最廣泛的次世代定序技術。根據分析的方式，可以分為兩種類型：一種是 resequencing，已具有參考序列的物種轉錄體定序(例如：吳郭魚、斑馬魚、河魴及鮭魚等)，另一種是 de novo，無已知可考序列(No Reference Genome)的物種轉錄體定序，如大多數的海洋或是水產生物目前都無完整可參考的基因體序列。依照實驗的設計，進行對應的生物資訊分析，可計算出在不同樣品中的各基因表現量，與之間的基因差異表現量 (differential expression)分析、不同條件下的選擇性剪接 (alternative splicing)轉錄分析、以及基因註釋 Gene Ontology (GO)與生物調控路徑 (pathway analysis)，並亦可進行 SSR(simple sequence repeat)或 SNP(single-nucleotide polymorphism)的預測。若是利用轉錄體學進行蝦類變態的研究，期待可以找出在不同發育階段下，促進或抑制變態發生的相關基因群，可能不同的階段有不同的基因參與，一旦能夠聚焦至關鍵的基因部分，就可以透過營養基因體學等方式，來促使蝦類內源性的基因改變，

進而造成變態的發生或加速，縮短在蝦苗發育期中浮游性的階段，進入較穩定的後期幼蟲底棲性階段。

不論是宏基因體學或轉錄體學，有很重要的一部分就是在後續的生物資訊分析，目前是以 Linux 為主要的分析平台，要以程式語言直接進行操作，與一般 Window 系統相當不同。從 reads QC、trimming、組裝、註釋及基因表現分析都有不止一種軟體可以進行分析，如何選擇合適的軟體及分析策略，須要一定時間的經驗累積，爰此，投入相關研究時應把生物資訊分析的部份一併納入，或是要與合適的夥伴建立長久的合作關係。

## 四、附件資料

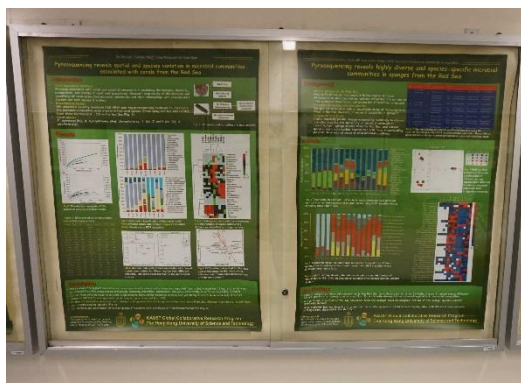
### 1. 香港科技大學



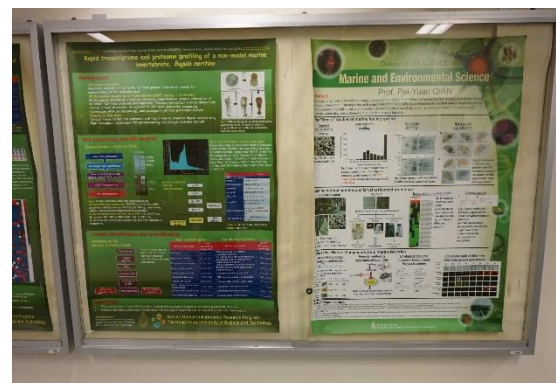
國家及學校指定重點實驗室



國際合作專案實驗室



細菌宏基因體學研究成果



轉錄體及蛋白體學研究成果



海洋化學物質分析實驗設備



海洋化學物質及微生物實驗設備



HPLC 等物質分析儀器設備



高性能 TOF-MS 質譜系統



小型珊瑚礁區飼養系統



小型海洋氣候模擬系統(I)



小型海洋氣候模擬系統(II)



餌料生物培育槽

## 2. 香港中文大學



香港中文大學 李福善海洋科學研究中心



與朱嘉濠教授合影



多樣性及分子生物實驗室(I)



多樣性及分子生物實驗室(II)



轉錄組分析使用之伺服器



戶外海水試驗池(I)



戶外海水試驗池(II)



戶外海水控溫試驗池



圓形水母培育槽



隸屬中心之試驗小艇