

出國報告(出國類別：研習)

「病毒基因體學及分子流行病學研習」

服務機關：行政院 農業委員會 家畜衛生試驗所

姓名職稱：林育如副研究員、陳麗璇助理研究員

派赴國家：美國

出國期間：108年05月18日至民國108年05月26日

報告日期：108年08月19日

目次

壹、	摘要.....	3
貳、	目的.....	3
叁、	過程.....	3
(一)	計畫行程.....	3
(二)	內容重點.....	4
I	2019 年病毒基因體學與分子流行病學 (2019 Viral Genomics and Molecular Epidemiology)研討會	4
II	參訪康乃狄克大學基因體創新中心(Center for Genome Innovation, CGI)	10
III	防疫經驗的交流.....	11
肆、	心得及建議.....	12

壹、摘要

本次研習由林育如副研究員及陳麗璇助理研究員赴美國康乃狄克大學獸醫及病理學系之李東勳博士實驗室參與「2019年病毒基因體學與分子流行病學 (2019 Viral Genomics and Molecular Epidemiology)」研討會，研習關於禽流感基因序列分析網路平台介面操作，強化分子流行病學軟體分析的能力。此外，本次研習過程中，亦有韓國動植物檢疫局專家及美國東南家禽實驗室研究人員與會，美國與韓國為成功防治2.3.4.4分支H5型禽流感的國家，美國與韓國防治禽流感成功的經驗中有許多政策規劃仍值得我們借鏡。

貳、目的

本所雖已建立應用次世代定序進行禽流感病毒全基因體定序之基本技術，惟因為基因體定序後，有關序列組裝、分析及分子流行病學的研究涉及生物資訊學之專業領域，必須透過電腦實務操作與討論，以了解大量資訊處理過程中的相關技巧，減少我國研究人員獨立摸索的時間，加速相關研究的進行。本次派員前往美國康乃狄克大學獸醫及病理學系之李東勳博士實驗室參與「2019年病毒基因體學與分子流行病學 (2019 Viral Genomics and Molecular Epidemiology)」研討會，研習關於禽流感基因序列分析網路平台介面操作，強化分子流行病學軟體分析的能力。

參、過程

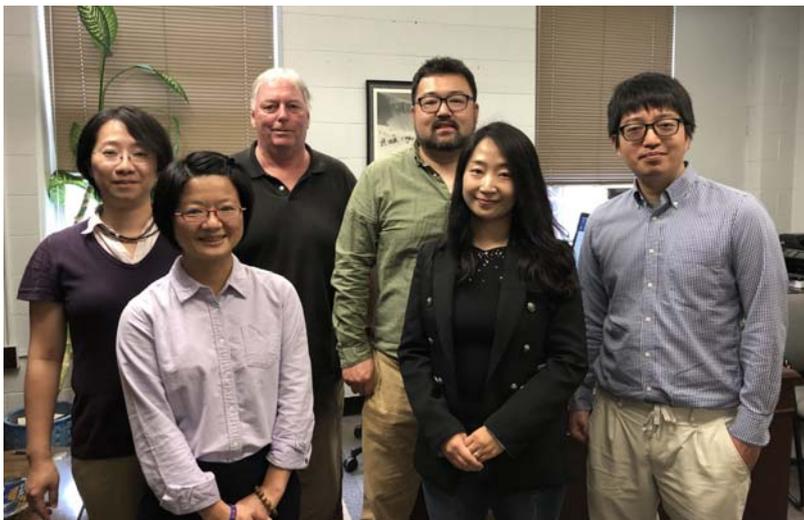
(一)計畫行程

日期	行程內容
108年5月18-19日	起程，抵達美國康乃狄克大學
108年5月20日~	於康乃狄克大學獸醫及病理學系之李東勳博士實驗室參與「2019年病毒基因體學與分子流行病學 (2019 Viral

108 年 5 月 24 日	Genomics and Molecular Epidemiology)」研討會暨參訪康乃狄克大學基因體創新中心 (Center for Genome Innovation)
108 年 5 月 25 日 108 年 5 月 26 日	搭機返回臺灣

(二)內容重點

- I. 「2019 年病毒基因體學與分子流行病學 (2019 Viral Genomics and Molecular Epidemiology)」研討會(圖一)。

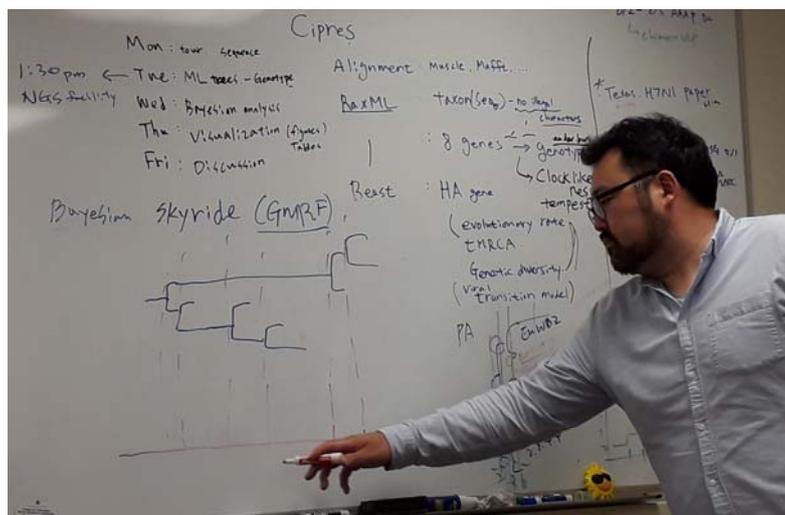


圖一、本此研討會參與人員與康乃狄克大學獸醫及病理學系主任及同仁合影

1.基因序列前端處理的重要性：

實際進行序列分析的作業中，花費最多時間的部分是病毒序列及名稱的編排，因為後續的許多演算與此一步驟的格式正確與否有關。部分軟體不適合某些名稱格式，病毒名稱的大小寫也會與排序有關，諸多細節均影響軟體能否正確匯入資訊進行運算。因此這些步驟看似瑣碎且基本，卻是進行相關演化分析非常關鍵的步驟。善加利用筆記本、EXCEL 及 Bioedit 等軟體，快速批次編輯病毒序列及名稱，有助於後續分析。例如：可以利用 EXCEL 將兩個或多個儲存格內的文字合併至一

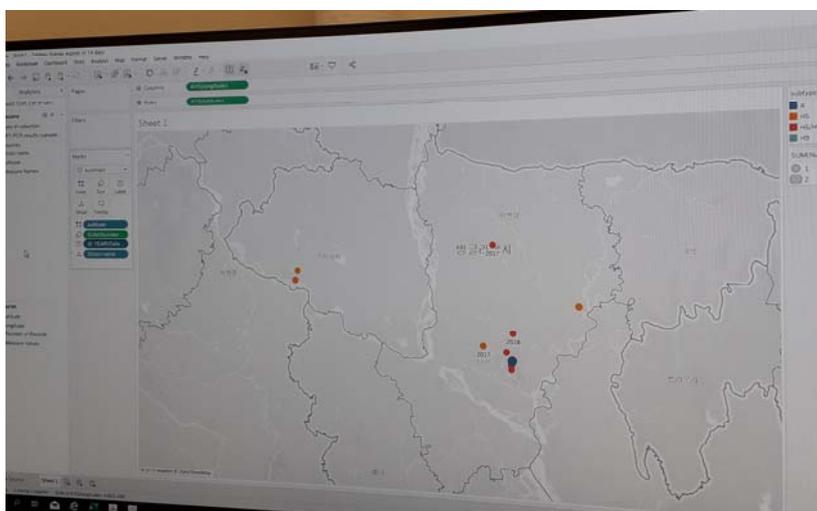
個儲存格，可以把病毒分離的基本資料(禽種、地點、分離時間及病毒亞型等)加入，也可以將已經合併的資料進行拆解，以利於病毒資料的進一步分析應用。



圖二、李東勳博士授課

2. 資料視覺化的重要：

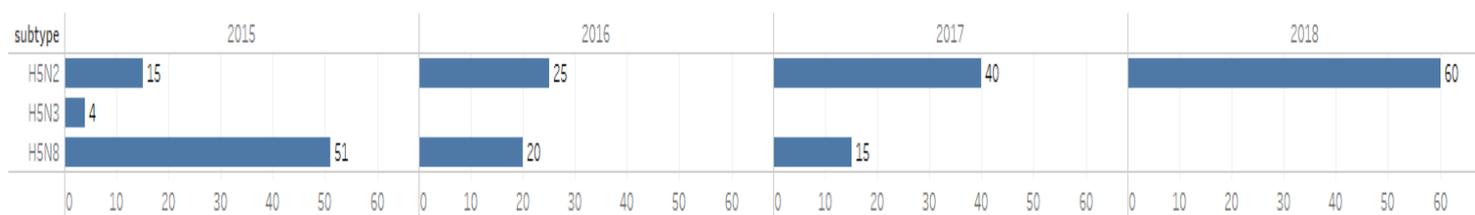
- (1). 本次研習中，介紹了結合資料探勘和資料視覺化長處的 Tableau 軟體(圖三)。此一軟體系統可搭配地理資訊系統的資料，讓使用者在電腦、平板等多種行動裝置上，透過最簡單的拖拉資料完成原先複雜的分析程序，提供強大的視覺化互動介面，客製化使用者想要的圖表呈現方式。應用於期刊投稿時，這套軟體有助於審稿者與未來的讀者了解研究內容中流行病學發生的概要。實際應用的結果，呈現的數據分析結果的確比現行的 EXCEL 軟體更加簡易，且善用視覺化呈現方式，的確有助於讀者對資料的瞭解。



圖三、Tableau 軟體使用示範

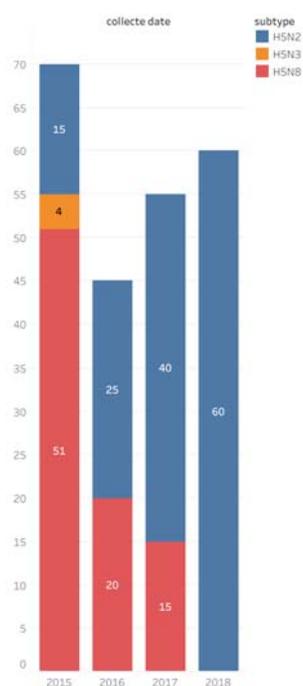
(2). 實際演練結果，我們亦應用臺灣 104 年至 107 年 2.3.4.4 分支的 H5Nx 亞型禽流感病毒株資料，嘗試以 Tableau 軟體呈現：

i. 不同年度、不同 2.3.4.4 分支的 H5Nx 亞型禽流感病毒統計圖(四 A)、柱狀圖(四

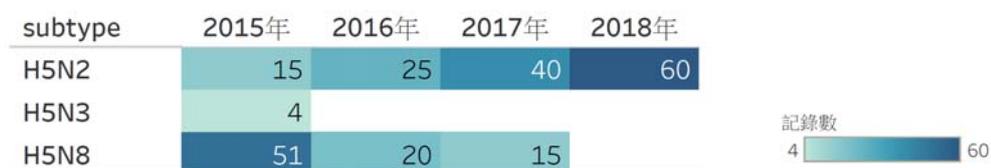


B)或是密度漸層表格(四 C)表示。

圖四 A、時序圖

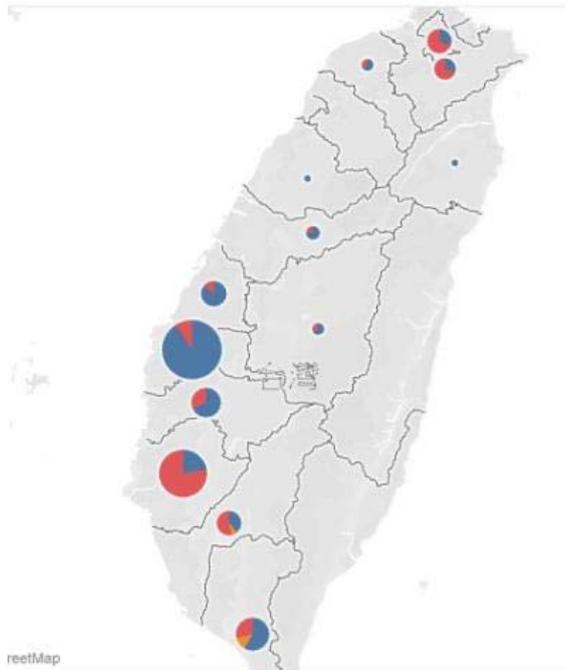


圖四 B、柱狀圖



圖四 C、密度漸層表格

- ii. 以地圖及圓餅圖表示 104 年至 107 年期間不同亞型禽流感病毒株在臺灣各縣市的分布圖(圖五)。

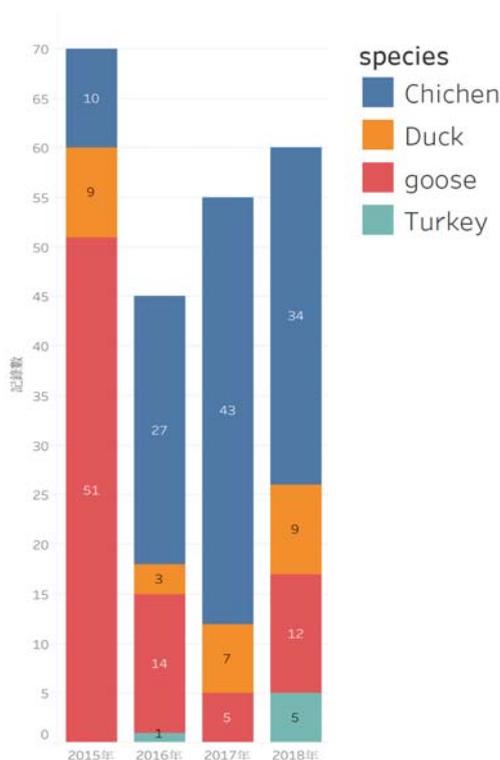


圖五、不同亞型禽流感病毒株在臺灣各縣市的分布圖

- iii. 製作表格(表一)或柱狀圖(圖六)說明 104 年至 107 年期間不同年份及不同禽種的禽流感分離數。

表一、104 至 107 年不同年份及不同禽種的禽流感分離數

品種	104 年	105 年	106 年	107 年	合計
雞	10	27	43	34	114
鴨	9	3	7	9	28
鵝	51	14	5	12	82
火雞	0	1	0	5	6
	70	45	55	60	230



圖六、104 年至 107 年不同禽種的禽流感分離數

3. 硬體需搭配演算軟體提升：

本次研習雖然借重免費服務的超級電腦進行分析，但因為演算所需的相關電腦資源，例如演算速度、儲存容量等，仍需要實驗室內相關的硬體配套才能事半功倍。例如，為有效利用時間，分析的資料多半利用下班前將資料上傳到超級電腦，隔天下載分析結果。但由於分析後的資料量依然非常龐大，僅是下載結果便需花費相當時間。如能提升實驗室電腦功能與網路頻寬，可以減少資料傳輸的時間。

4. 序列的代表性影響對結果的解讀：

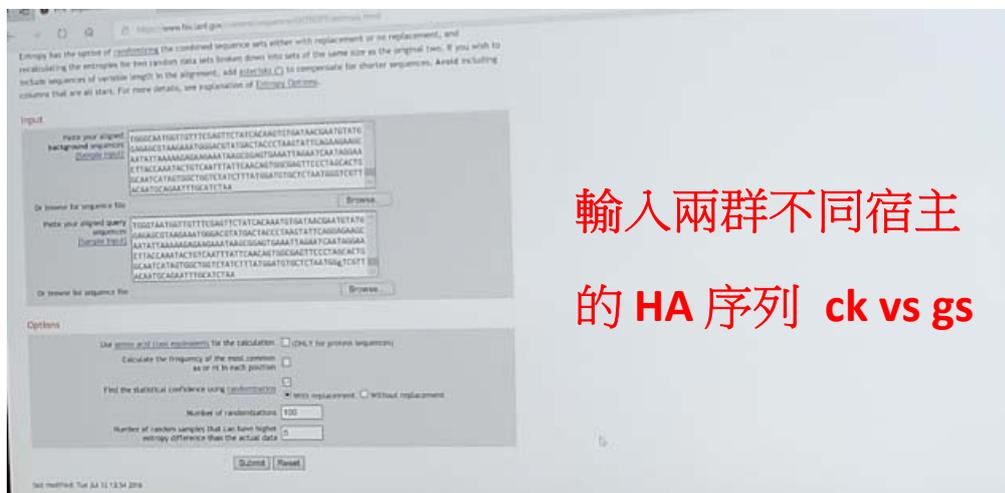
本次研習中，本所研習人員以 104 年 1 月份至 107 年 12 月止臺灣爆發之 2.3.4.4 分支的 H5Nx 亞型家禽流行性感冒病毒之序列做為分析材料，進行分子生物分析及操作，包括基因庫序列擷取並運用常見編輯軟體進行序列名稱編輯、運用線上免費超級電腦協助運算、演化樹之建立、推算演化分化時間(Time to the Most Recent Common Ancestor, TMRCA)及回溯病毒株可能的祖先來源。但回溯的祖先是利用現有的基因序列重建的，因此用於分析的序列資料庫是否具有代表性，將

影響演算結果後的解讀方向，該演算結果尚需與其他資料綜合判斷，故仍有商榷之處。

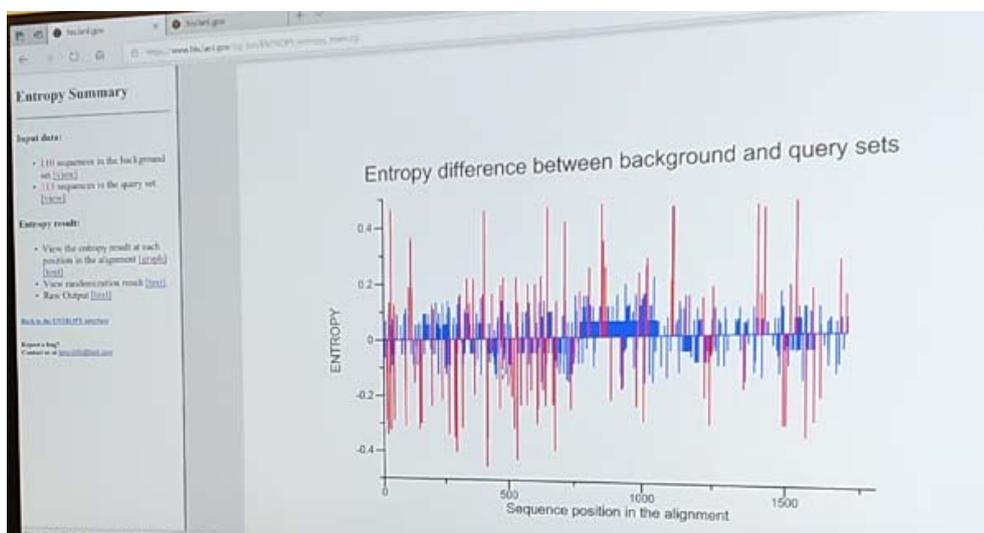
5.關於病毒族群的消長演化部分，則必須結合流行病學或重大事件政策改變的時間點，方有幫助解讀與闡釋。

6.線上分析軟體介紹：

本次課程中介紹 **Datamonkey** 線上分析軟體，這套軟體主要是用於分析並計算每一個位點是否具有選擇的壓力(selective pressure)。我們嘗試將禽流感基因序列分成雞隻來源及鵝來源(圖七 A)並進行比較，分析結果如圖七 B。



圖七 A、依建議格式分別輸入不同宿主的 HA 序列



圖七 B、顯示每個位點之間的差異

II. 參訪康乃狄克大學基因體創新中心(Center for Genome Innovation, CGI)

康乃狄克大學基因體創新中心是在 2014 年，於系統基因體學研究所(The Institute for Systems Genomics)下建立。本次參訪是由 CGI 的高級研究員 Dr. Bo Reese 協助介紹。Dr. Bo Reese 向我們簡介中心目標、設施及運作模式。

1. CGI 的目標是提供康乃狄克大學全體學員有關基因體技術的最先進專業知識，如次世代定序和用於單細胞基因組分析的微流體平台，以促進基因體學研究。
2. CGI 的基礎設施位於 Storrs 和 Farmington 校區，中心的儀器除包含有不同廠牌之次世代定序儀外，亦包含有配合大量檢體處理的機械手臂及自動電泳膠體系統。中心的設施有 ABI 3500 遺傳分析儀，BioRad CFX96 real time PCR 機，Affymatrix 基因圖譜和基因晶片系統，4 台次世代定序儀器（2 台 Illumina NextSeq 550 和 2 台 Illumina MiSeq 定序儀）(圖八)。
3. 關於 CGI 的運作模式，雖然該中心提供研究人員次世代定序的服務，包括檢體基因庫建置及次世代定序上機等，但該中心更著重於辦理教育訓練及研習營等，教育研究員及學生學習如何製備基因庫及上機操作。



圖八 A、基因體創新中心實驗室入口



圖八 B、基因體創新中心實驗室入口處



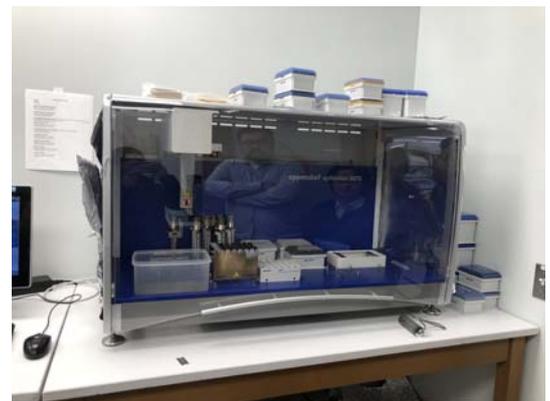
圖八 C、Illumina NextSeq 500



圖八 D、Oxford NanoPore MinION



圖八 E、Bionano Irys



圖八 F、機械手臂

- III. 防疫經驗的交流：本次研習過程中，有韓國動植物檢疫局專家及美國東南家禽實驗室研究人員與會。訓練期間，我們曾與這些與會學員討論家禽及疾病防疫的相關議題，以下觀點可以提供我國做為禽流感防疫的借鏡：
1. 韓國專家提及該國禽流感發生場後續處理原則，確認為高病原性家禽流行性感冒的案例場，其半徑周邊 500 公尺場一律採樣後撲殺。換言之周邊場的確診則於撲殺後進行。因為韓國針對案例場周邊是採取預防性撲殺政策，並不需要等到實驗室確診。因此可以在第一時間控制疾病擴散，並且診斷實驗室並沒有時間上的壓力。
 2. 案例陽性場的撲殺補償費，參照抗原及抗體檢測結果給予不同比例的補償措施。
 3. 韓國現階段鴨子目前於上市前仍需要進行禽流感監測。

肆、心得及建議

1. 由於生物資訊學的新月異，許多新的軟體陸續開發。但是受限於本所研究人員的專業背景是以獸醫為主，在生物資訊學領域的接觸與學習機會較少。因此由實驗室資深人員帶領，實地展示部份操作流程，並詳細解釋各流程裡可能面臨的問題，確實讓研習更有效率。大幅地減少研究人員自行摸索的時間。
2. 生物資訊的計算需要倚賴強大的電腦資源，因此未來在規劃研究資源時，必須在電腦規格或相關資源，例如儲存容量等再加強。
3. 本次研習過程中，亦有美國與韓國人員與會，美國與韓國防治2.3.4.4分支H5亞型禽流感成功的經驗中有許多政策規劃仍值得我們借鏡。
4. 建議事項
 - i. 若國外專家時間許可，未來應該邀請相關專家來臺講解及授課。
 - ii. 病毒演化的結果如何與現場實際結合是很重要的一環，因為錯誤或偏頗的資料輸入可能導致偏差的結果，需要更加注意。
 - iii. 應該與其他成功撲滅2.3.4.4分支的H5Nx亞型家禽流行性感冒病毒的國家共同研習，以探討田間病毒持續在國內存在的癥結所在。