



國立臺灣大學生物資源暨農學院生物科技研究所  
碩士論文

Institute of Biotechnology  
College of Bio-Resources & Agriculture  
National Taiwan University  
Master Thesis

NURECON：利用宏基因體資料建立新型營養攝取需求  
線上系統

NURECON：To Establish a Novel Online System for Determining  
Nutrition Requirement Based on Metagenomic Sequencing Data

胡兆榮

Zhao-Qi Hu

指導教授：蔡孟勳 博士

莊曜宇 博士

Advisor: Mong-Hsun Tsai, Ph.D

Eric Y. Chuang, Sc.D

中華民國 112 年 7 月

July, 2023



# 國立臺灣大學碩士學位論文

## 口試委員會審定書

MASTER'S THESIS ACCEPTANCE CERTIFICATE  
NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

NURECON：利用宏基因體資料建立新型營養攝取需求線上系統

NURECON：To Establish a Novel Online System for Determining  
Nutrition Requirement Based on Metagenomic Sequencing Data

本論文係胡兆榮君（學號 R09642003）在國立臺灣大學生物科技研究所及生醫電子與資訊學研究所完成之碩士學位論文，於民國 112 年 7 月 18 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The undersigned, appointed by the Graduate Institute of Biotechnology and Graduate Institute of Biomedical Electronics and Bioinformatics on 18 / 07 / 2023 have examined a Master's thesis entitled above presented by Zhao-Qi Hu (R09642003) candidate and hereby certify that it is worthy of acceptance.

口試委員 Oral examination committee:

蔡廷勳  
(指導教授 Advisor)

莊昭宇  
(指導教授 Advisor)

陳立涵

謝敏如

賴亮全

所長 Director:

楊勁品 林致廷





## 誌謝

終於輪到我寫這一頁了，跟大家介紹蔡孟勳老師，始終讓我放膽無後顧之憂去做的老師，我會懷念開車載我去酷酷的地方開計畫會議、放手讓我去修創創學程，雖然老師借調去美國圓夢了，我還是很感謝老師在我研究途中，以朋友方式與學生相處，學到很多可貴研究邏輯及許多軟實力技能。莊曜宇老師，儘管忙碌仍始終記得我研究主題與內容，慧眼點破研究報告時的 Bug，當報告完沒有被電飛，能真真實實地感受莊老師的溫暖，老師提供滿滿資源，讓我在伺服器中快樂寫 Code 練功，也很感謝蔡老師與莊老師願意讓我碩班選擇雙主修，使我在生物與資訊跨域學習很多扎實的技能。陳立涵老師，碩士最後一年讓我感受滿滿親切感，亦師亦友身分，在開會能直接點出研究過程的問題，給予我很多實質建議，還有吃蟹吃鍋玩桌遊吃大餐的美好時光。賴亮全老師，開會都會出席的超認真老師，在開會問我們報告提到的新穎年輕人用語，然後要我們解釋，超級「丐一尤」超讚，也很關心學生的近況與未來規劃，每次與賴老師對話都覺得內心正在被治癒。

源懋學長，沒有學長就沒現在的我，我是一個從 Wet Lab 轉 Dry Lab 的學生，記得碩一剛開始時我對於 Dry Lab 沒有熟悉的 Protocol 可以照做感到非常茫然，但學長無論是研究、程式設計，還是實用到不行的研究生生存學兼實驗室歷史課，都是學長一路上提點與拉拔，選擇最辛苦的教學方式，教我釣魚而不是直接給魚吃。源懋學長帶我做研究這三年，經歷無數次的個咪以及聽我每次焦躁與不安的碎念，讓我從研究小白變成大白(?)，我非常感謝學長一路上的幫忙，甚至讓我有機會從頭到尾參與撰寫與投稿期刊，學長畢業後甚至還持續帶著我直到我畢業，

誌謝

真心地希望源懋學長在美國可以成為自己喜歡的樣子！

星光、永華、政瑩、正陞、立儀、韻茹、資恆、盈喬及瀚淵，長興街實驗室的學長姊學弟妹們，陪伴我許多苦悶研究時光，更是感謝正陞與立儀學長更常常帶著我去各種好吃好玩地方，讓夜晚的實驗室總因有你們的出沒而不再孤單。

佳興、采蓉、翰儒、冠緯、家妤及乃勳，莊老師實驗室的學長姊學弟妹們，一同度過訂外送、打羽球、唱KTV、吃飯等，甚至是與學弟妹一起準備口試畢業，謝謝你們帶給我難忘的回憶。

益鴻、灝潤、兆謙及宜蓁，在我碩班尾聲的認識你們，讓我有機會燃起教育魂並將生物資訊教學與傳承，看著你們學會操作指令與應用在研究，覺得超級有成就感，也謝謝你們帶給我很多的點心與快樂聚餐回憶。

軒維、威廷及倍恩，洗了三年鼠籠洗出革命情感的倍恩，研究生孤單吃飯與消夜好夥伴軒維與威廷，在各個實驗室的你們，謝謝你們讓我的碩班生活增添各種樂趣。

還有，我的爸媽，我們都在異地工作與唸書，雖然彼此平常不太會表達情感，也不清楚碩班的我到底是在念什麼，總覺得好像很厲害似的。雖然家裡經濟拮据，但你們還是一無反顧的把錢砸到我的戶頭裡，減少了我在台北的生存壓力，我很感謝爸媽在背後不斷地付出與努力，不管是日常的關心還是經濟上付出，有你們才有今天的我，我愛你們。



## 摘要

飲食習慣影響著人類腸道微生物組成。在過去的數十年間，研究已發現腸道微生物可以利用食物消化後的營養素來產生代謝物，與人類生理有著密切關係，也因此腸道菌叢與營養素對人體健康的影響顯得相當重要。然而，至今鮮少有研究著重於利用腸道菌相預測出缺乏的營養素，想要透過文獻尋找基準群體菌相與手邊研究資料進行比較，其過程也相當困難與繁瑣。這份論文提出一款線上分析平台 - NURECON：藉由整合次世代定序微生物 16S 核糖體 RNA 分析流程 (QIIME2)、代謝途徑預測工具 (PICRUST2 與 KEGG) 以及食物與化合物資料庫 (FooDB)，預測個人缺乏的營養素並提供飲食建議。該平台從已發表的文獻中，收錄 287 位健康人的腸道菌相，用以建立基準微生物菌相與代謝物組成。NURECON 可以讓使用者上傳自己的 16S 序列資料進行分析，上傳的序列資料將會與平台中的基準群體進行分析及比較，預測缺乏的營養素。最終以視覺化圖表的方式呈現腸道菌相組成、相關的酵素及代謝物分析結果。NURECON 是一款使用者友善便捷的線上平台，其所提供的營養素建議能夠輔助營養師設計食譜或作為研究時的參考依據。本系統網址為：<https://nurecon.cgm.ntu.edu.tw/>。

**關鍵字：**宏基因體、16S 核糖體 RNA、線上系統、使用者友善設計、精準營養、資料庫

摘要







# Abstract

Dietary habits have been proven to have an impact on the microbial composition and health of the human gut. Over the past decade, researchers have discovered that gut microbiota can use nutrients to produce metabolites that have major implications for human physiology. However, there is no comprehensive system that specifically focuses on identifying nutrient deficiencies based on gut microbiota, making it difficult to interpret and compare gut microbiome data in the literature. This study proposes an analytical platform, NURECON, that can predict nutrient deficiency information in individuals by comparing their metagenomic information to a reference baseline. NURECON integrates a next-generation bacterial 16S rRNA analytical pipeline (QIIME2), metabolic pathway prediction tools (PICRUST2 and KEGG), and a food compound database (FoodB) to enable the identification of missing nutrients and provide personalized dietary suggestions. Metagenomic information from total number of 287 healthy subjects was used to establish baseline microbial composition and metabolic profiles. Users can upload their 16S sequence data to NURECON for analysis. The uploaded data is analyzed and compared to the baseline for nutrient deficiency assessment. Visualization results include gut microbial composition, related enzymes, and nutrient abundance. NURECON is a user-friendly online platform that provides nutritional advice to support dietitians' research or menu design. The system is freely available at <https://nurecon.cgm.ntu.edu.tw/>.

**Keywords:** Metagenomics, 16S rRNA, Web-based system, User-friendly Design, Precision nutrition, Database

*Abstract*





# 目錄

	頁次
誌謝	v
摘要	vii
Abstract	ix
目錄	xi
<b>第一章 緒論</b>	<b>1</b>
1.1 研究動機 .....	1
1.2 次世代定序與 16S 核糖體 RNA.....	1
1.3 微生物與疾病關係 .....	2
1.4 改善腸道菌相的組成.....	3
1.5 微生物與代謝物關係.....	3
1.6 微生物菌相分析.....	4
1.6.1 分析流程.....	4
1.6.2 分析工具與網站 .....	5
1.6.3 資料庫資源 .....	5
1.7 使用者中心設計導入生物資訊網站.....	7
1.8 具體目標 .....	10
<b>第二章 材料與方法</b>	<b>11</b>
2.1 NURECON 系統概述.....	11



2.2	前端開發與資料視覺化 .....	12
2.2.1	Bootstrap 網頁前端函式庫 .....	13
2.2.2	AJAX 非同步請求技術 .....	15
2.2.3	jQuery 與 Datatable 函式庫 .....	15
2.2.4	RAWGraphs 與 zEpid 資料視覺化函式庫 .....	16
2.3	後端開發 .....	19
2.3.1	系統開發套件 .....	19
2.3.2	生物資訊學軟體與資料庫 .....	20
2.3.3	菌相及營養評估的架構設計與資料比較 .....	26
2.3.4	系統流程 .....	32
2.4	驗證資料集 .....	34
<b>第三章 結果</b>		<b>35</b>
3.1	系統開發成果 .....	35
3.1.1	說明文件與範例分析資料 .....	35
3.1.2	管理與選擇欲分析的專案 .....	35
3.1.3	微生物菌相組成 .....	38
3.1.4	酵素與營養化合物 .....	38
3.1.5	食物評估推薦結果 .....	41
3.1.6	整合與延伸相關菌相分析工具 .....	46
3.2	驗證資料與分析結果 .....	48
3.2.1	大腸癌患者 .....	48
3.2.2	慢性腎臟病患者 .....	51

<b>第四章 討論</b>	<b>55</b>
4.1 驗證資料討論 .....	55
4.1.1 大腸癌患者 .....	55
4.1.2 慢性腎臟病患者 .....	56
4.2 系統限制 .....	57
4.2.1 菌相、營養素及食物關係 .....	57
4.2.2 忌口食物考量 .....	57
4.2.3 基準腸道菌相群體資料庫組成與驗證 .....	57
<b>第五章 總結</b>	<b>59</b>
<b>第六章 未來的研究方向</b>	<b>61</b>
<b>參考文獻</b>	<b>63</b>
<b>附錄 A  引用文獻之圖片</b>	<b>71</b>
<b>附錄 B  補充資料表格</b>	<b>75</b>
B.1 大腸癌患者實驗組與健康對照組的菌相分析 .....	75
B.2 慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組的菌相分析 .....	90
<b>附錄 C  程式碼</b>	<b>105</b>
C.1 Bootstrap RWD Breakpoint .....	105
C.2 Subprocess.run() .....	105
C.3 PuLP module .....	106
C.4 QIIME2 dada2 denoise-paired .....	107





# 圖目錄

頁次

1.1	微生物資料庫與分類器示意圖 . . . . .	6
2.1	NURECON 系統設計架構 . . . . .	12
2.2	Bootstrap 應用於前端切版設計 . . . . .	14
2.3	Datatable 於使用者介面的呈現 . . . . .	16
2.4	RAWGraphs 於使用者介面的呈現 . . . . .	17
2.5	zEpid 於使用者介面的呈現 . . . . .	18
2.6	PuLP 數學模型分析流程 . . . . .	20
2.7	自 EasyMAP 匯入欲分析檔案介面 . . . . .	21
2.8	外部資料庫 UML . . . . .	23
2.9	基準腸道菌相與酵素資料集 UML . . . . .	25
2.10	微生物菌相豐富度計算與比較流程 . . . . .	27
2.11	微生物物種豐富度的計算範例 . . . . .	28
2.12	整數線性規劃整合資料庫流程圖 . . . . .	30
2.13	後端系統設計流程圖 . . . . .	33
3.1	說明文件與範例資料介面 . . . . .	36
3.2	管理與選擇欲分析專案介面 . . . . .	37
3.3	微生物菌相組成結果介面 . . . . .	40
3.4	食物評估推薦結果介面 . . . . .	42

3.5	食物推薦頻率柱狀圖	43
3.6	群體食物推薦頻率圓堆砌圖	44
3.7	群體食物推薦頻率差異柱狀圖	45
3.8	大腸癌患者實驗組食物評估推薦結果	49
3.9	大腸癌患者實驗組與健康對照組食物推薦差異分析	50
3.10	慢性腎臟病患者實驗組食物推薦結果	52
3.11	慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組食物推薦差異分析	53
A.1	16S rRNA 引子圖譜	71
A.2	利用雙尾定序方式提高序列品質	71
A.3	健康腸道與發炎性腸道疾病之腸壁屏障	72
A.4	益生元的攝取對人體直接與間接影響示意圖	73
A.5	微生物菌相分析流程	73





# 表目錄



頁次

1.1 微生物資料庫的比較 . . . . .	7
2.1 基準資料集 . . . . .	24
3.1 NURECON 與相關菌相分析工具對照列表 . . . . .	47
B.1 大腸癌患者實驗組與健康對照組的菌相分析 . . . . .	75
B.2 慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組的菌相分析 . . . . .	90





# 一、緒論

## 1.1 研究動機

隨著個人化醫療與飲食逐漸備受重視，精準醫療與精準營養的研究領域逐漸發展。其中，腸道微生物與人體的共生關係更是個相當有趣的議題，近幾年的研究發現，疾病、情緒、運動與飲食習慣與腸道微生物密不可分 [1]–[4]。

然而，每個人對於相同的治療與飲食方案卻有著不同程度的反應與效果，原因之一可能是每個人的腸道菌不盡相同 [5]，進而造成免疫與攝取食物營養的代謝差異。此外，想透過食用益生菌定殖 (stable egraftment) 於腸道以此改善腸道菌相，其效果也往往因人而異 [6]。

預防勝於治療，近來人們開始嘗試透過飲食改善體態與健康狀態，負責消化的腸道也仰賴微生物的分解代謝，若能藉由個人腸道菌相分析出缺乏的營養素與適當的飲食組合，對於受疾病所苦的患者與欲保持健康的一般人將有所幫助。

本篇研究發展一套使用者友善的精準營養線上系統—NURECON，英文全名為 Determining NUtrition REquirements Based on Microbial CompositiON，提供研究人員與營養師在系統幫助下了解菌相與飲食間的關聯性連結，協助使用者制定個人化的飲食建議與改善方案。

## 1.2 次世代定序與 16S 核糖體 RNA

次世代定序 (Next-Generation Sequencing, NGS) 在過去幾年間蓬勃發展，並被應用在許多宏基因體學 (metagenomics) 研究領域，包含人類腸道、土壤、水

質及空氣檢測 [7]–[9]。透過定序樣本中微生物的序列，人們得以掌握環境中微生物的組成。

其中，原核生物 16S 核糖體 RNA (rRNA)，長度約為 1500 bp，序列片段中帶有 9 個高度變異區 (V1~V9) (附錄圖A.1)，在不同物種間呈現高度變異，成為分子生物鑑定分類的首選，使得原核生物 16S rRNA 序列相當適合作為分析微生物菌相的參考 [10]。而不同的變異區域也會影響著物種分類的解析度，對於 NGS 短片段的定序來說，V4 變異區能將物種分類至「門 (phylum)」的層級 [11]。然而，僅有一個變異區作為參考，其長度仍較短，很難達到「屬 (genus)」的分類解析度 [12]。也因此 V3~V4 或是 V3~V5 區域被廣泛採用，確保分類的解析度可以達到「屬 (genus) 層級 [13], [14]。

儘管次世代定序可達到高通量讀取 (high throughput)，但讀取的片段超過 300bp 序列品質會漸漸下降，目前菌相分析常見定序 V3~V4 區域 (約 468bp) 的方法中，Illumina 公司採用雙尾定序 (pair-end sequencing) 最為普遍，透過序列兩邊不同方向的讀取，剪切 (trimming) 原先單向讀取末端序列品質不佳的片段，再找出兩條序列間具有核苷酸重疊的區域，之後再將前向序列 (forward reads) 與反向序列 (reverse reads) 合併為一條完整的序列，以此提高序列的品質 (附錄圖A.2)。

### 1.3 微生物與疾病關係

微生物菌相與生活習慣、藥物使用、益生菌攝取以及運動緊密相連 [3], [4], [15]，腸道菌相失調 (dysbiosis) 也往往與疾病相關，包含發炎性腸道疾病 (Inflammatory Bowel Disease, IBD)、肥胖、第二型糖尿病與高血壓 [16]–[18]。先前研究指出高脂肪的飲食於糖尿病患者中，會使得脂多醣 (lipopolysaccharide,

LPS) 相關細菌比例增加，破壞腸壁屏障 (intestinal mucosal barrier) (附錄圖A.3) 以及阻礙宿主免疫反應的修復 [16]，可以發現疾病與微生物腸道菌相呈現密不可分的關係。



## 1.4 改善腸道菌相的組成

透過改善腸道菌相進行預防與治療是近年許多研究的發展主軸。其中益生元 (prebiotics)，能在腸道中扮演對人體有益的微生物菌相，例如降低肥胖患者的血糖與膽固醇 [1]。像是雙歧桿菌 (*Bifidobacterium*) 屬與乳酸類細菌利用可消化的益生元，如  $\beta$ -葡聚糖 ( $\beta$ -glucans)、果膠 (pectin) 與菊苣纖維 (inulin) 促進短鏈脂肪酸 (Short-chain fatty acids, SCFAs) 的生成 [19]–[21]。因此透過益生元與膳食纖維的攝取能夠改善腸道菌相 (附錄圖A.4) [20], [22]。而在精準營養領域中，透過個人化血糖與飲食攝取管理與控制，可以達到改善營養與血糖的目標 [23]–[25]。

## 1.5 微生物與代謝物關係

而日常飲食也會形塑我們腸道微生物的組成 [26]，經由微生物分解所產生的代謝物，對宿主的消化與內分泌系統產生影響 [27]，例如複合碳水化合物 (complex carbohydrates) 於腸道中經由微生物發酵作用，產生短鏈脂肪酸 (SCFAs)：醋酸鹽 (acetate)、丙酸鹽 (propionate)、丁酸鹽 (butyrate) 和甲烷 (acetate) [28], [29]，SCFAs 能夠促進上表皮細胞的分化、維持黏膜的完整性以及減輕發炎反應 [30], [31]。然過量的動物性蛋白攝取會增加擬桿菌屬 (*Bacteroides*) 及另枝菌屬 (*Alistipes*) 細菌的豐富度，此類細菌的增加使得氧化

三甲胺 (trimethylamine N-oxide, TMAO) 代謝產物提高 [1], [32]。有研究指出，TMAO 是造成動脈粥狀硬化 (proatherogenic) 的因素之一 [33]，且 TMAO 也會再促進硫酸鹽還原微生物 (sulfate-reducing microorganisms) 的增加，製造出更多的含硫胺基酸 (sulfated amino acid) 代謝物，可能誘導發炎性腸道疾病 (IBD) 的發生 [34]，也因此微生物所產生的代謝物影響著宿主本身乃至微生物的組成。

## 1.6 微生物菌相分析

### 1.6.1 分析流程

透過定序所獲得的微生物序列，需要經過一系列分析流程 (附錄圖A.5) 才能獲得菌相組成，其分析流程的輸入資料主要有三：經由定序儀所獲得的序列壓縮檔案 (fastq.gz)、描述序列壓縮檔案路徑及樣本名稱的清單表格 (manifest.tsv) 與帶有分組狀態與樣本名稱的註釋資料 (sample-metadata.tsv)。經由拆分 (demultiplex)、品質控管 (Quality Control, QC) 與物種分類 (taxonomy assignment) 等步驟，每一條序列就能獲得一個物種名稱，這些內容被記錄在輸出檔案中，供後續分析利用。

接著就可進行各項統計分析與視覺化資料處理：物種分布與比例、親緣關係樹 (phylogenetic tree) 的建立、物種豐富度熱圖 (heat map) 的繪製、組內及組間多樣性 (Alpha & Beta diversity) 統計分析、生物標記 (biomarker) 分析、基因功能預測 (function prediction)。



### 1.6.2 分析工具與網站

如今已有許多菌相分析軟體與使用者友善的網站，對於處理與分析菌相各有不同的特色，主流序列分析軟體 QIIME2 [35] 以命令行介面 (Command Line Interface, CLI) 方式提供序列拆分、品質控管、物種分配與多樣性統計分析流程 (附錄圖A.5)，透過不同指令的參數調整，快速產出視覺化結果，各步驟可調整度高，技術社群生態完整，大部分分析問題都在相關社群能找到解決方法。唯入門難度高，需要熟悉指令與閱讀龐大的說明文件，對於剛踏入菌相分析領域新手來說，容易感到困惑，以技術導向的設計邏輯，對使用者體驗的設計相對弱勢。

為解決新手入門困難的問題，EasyMAP [36] 以圖形使用者介面 (Graphical User Interface, GUI) 線上網站呈現，後端串接 QIIME2 軟體，提供基礎序列拆分、品質控管、物種分配、多樣性統計分析甚至是橫斷面研究，以便捷易用為原則，用網頁方式呈現各項基礎分類流程，相當適合新手入門，唯可調整功能相對較少，需要重新處理資料則需重新上傳。

除上述一般分析流程外，近期發展的高解析度分類器 (SPINGO [37])、生物標誌分析 (LEfSe [38])、基因功能預測 (PICRUSt2 [39]) 的軟體釋出，協助分析人員完成進階分析，此類軟體為求開發快速，以命令行介面形式釋出，為菌相分析提供更多不同角度的研究方向。

### 1.6.3 資料庫資源

菌相分析過程中時常應用到許多的資料庫，如微生物資料庫協助序列比對與物種分類、代謝途徑資料庫可協助預測微生物基因功能，化合物資料庫能幫助了解代謝產物與化合物結構特性、食物及營養資料庫可協助研究者了解化合物所含代謝產物，亦有公開序列資料庫提供下載已發表文獻中的序列以利比較與研究，

說明如下：

微生物資料庫提供原核與真核生物 rRNA 序列比對相對應的物種。經由品質控管後的序列，可接著以分類器進行物種分類，而分類器的訓練則仰賴微生物資料庫的幫助，以學生參與查字典競賽情境來作比喻（圖1.1）：分類器即學生，資料庫即字典，欲分析的序列資料即競賽試題。培訓時，學生須翻閱字典以熟練查詞方法，如同分類器需搭配資料庫訓練以記憶序列對應的物種，與人類不同的地方是訓練好的分類器不再需要資料庫協助，可直接根據序列分類出最相似的物種。

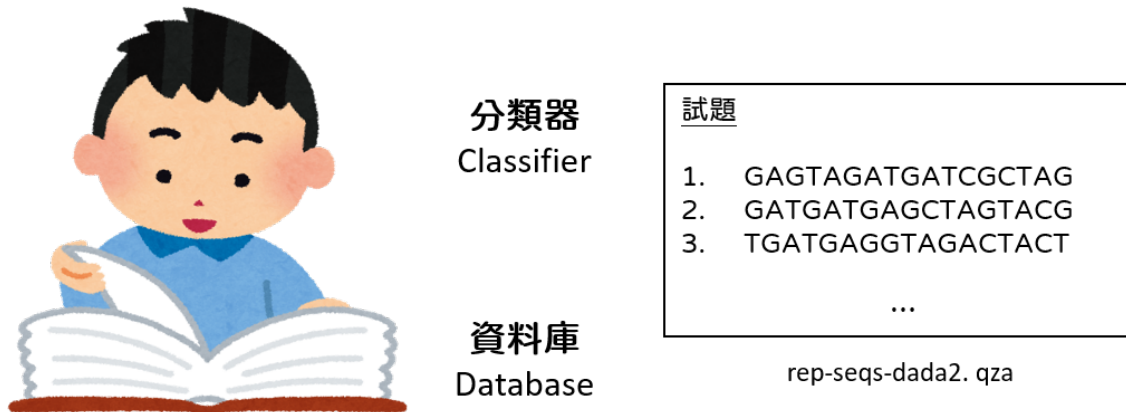


圖 1.1: 微生物資料庫與分類器示意圖。rep-seq-dada2.qza 為待分類的序列資料的檔案。

主流微生物資料庫包含 Greengenes [40]、SILVA [41], [42] 及 RDP [43]，分別有著不同特色，例如 Greengenes 以人類相關微生物為主，檔案最小；SILVA 則涵蓋人類、動物、土壤與海洋，檔案最大；RDP 較於 SILVA 則是增加了對真菌分類的支援，檔案次之，可以藉由受測樣本的 rRNA 種類、所屬的物種以及主機記憶體大小進行選擇以訓練分類器（表1.1）。

除微生物資料庫外，公開序列資料庫 SRA（Sequence Read Archive）[44] 含有眾多已發表文獻所釋出的原始序列資料，可根據研究者需求下載以進行實驗再現與統整分析。此外，基因體資料庫 KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and



表 1.1: 微生物資料庫的比較

	Greengenes	SILVA	RDP
分類	細菌域、古菌域	細菌域、古菌域、真核域	細菌域、古菌域、真核域之菌物界
rRNA	原核生物 16S	原核生物 16S/23S 真核生物 18S/28S	原核生物 16S 菌物界 28S
資料庫大小	最小	最大	次之
樣本所屬環境	人類	人類、動物、土壤、海洋	人類、動物、土壤、海洋、真菌
近期版本	2013 (v13_8)	2020 (v138)	2020 (v18)

Genomes) [45] 紀錄大量基因、酵素、代謝途徑與化合物相關資訊；化合物資料庫 PubChem [46] 含括各種化合物的物性、化性以及同義詞資料；食物及化合物資料庫 FooDB [47] 涵蓋常見食物所富含的化合物與營養類別。KEGG、PubChem 及 FooDB 資料庫皆提供應用程式開發介面 (Application Programming Interface, API)，方便使用者在開發自家軟體時，進行整合串接。

## 1.7 使用者中心設計導入生物資訊網站

開發網站時，設計對使用者友善的軟體介面能幫助使用者或研究者更快速了解軟體操作流程與邏輯，使用者中心設計 (User-Centred Design, UCD) 指的是在站在使用者的操作情境及需求開發與設計產品。如今大多數生物資訊網站由於缺乏 UCD 的應用，造成使用者首次進入頁面時容易不知如何開始，頁面充斥著文字，也缺乏明確的引導，可能使開發者所提供的資源未必能充分傳遞到使用者。有鑑於此，UCD 會希望開發者能先試著根據使用者的操作方式，定義使用需求，進行使用者研究，再著手設計介面、測試以及蒐集使用者回饋，並在執行開發過程中重複測試與再設計，以此讓介面能更貼近使用者友善 [48]。

歐洲生物資訊研究所 (EMBL-European Bioinformatics Institute, EMBL-EBI) 於 2013 年開發生物資訊網站 Enzyme Portal 時導入 UCD 概念，網站內容包含酵素與

化合物多樣性的資料集，資料類型錯綜複雜。為了開發與設計友善的介面，開發團隊透過訪談了解科學家平常的搜尋習慣，了解功能與數據的使用時機，以此建立介面上功能清單的優先順序，並招募參與者參與使用體驗測試，藉由回饋進行討論與迭代 (iteration)，確保軟體在兼具方便與實用性導向進行開發 [49]。

建立於 1993 年的 Expasy[50] 基因體與蛋白質資料庫網站於 2021 年進行改版，研究團隊將再設計流程分為「定義策略」、「初步設計」、「細節討論」、「迭代執行」以及「最終產品」，並引入響應式網頁，讓更多不同尺寸的設備可以順暢瀏覽網頁，觀察使用者行為，增加引導教學詞語於介面幫助中，幫助使用者學習相對陌生的功能，將不同類型搜尋欄位整合，搜尋結果統一顯示，新版網站發布後使用者數量較舊版增加 15%，行動版介面流量也自 6% 提高至 10% [51]。

良好的使用者介面與體驗 (User Interface & User Experience, UI/UX)，影響後續使用者的數量與重複造訪的意願，也影響整體網站資源的利用率，而根據文獻統整，UCD 應用在生物資訊網站需要考量 [48], [49], [51]：

1. 分析計算 (Dry Lab) 與實驗型 (Wet Lab) 實驗室使用者會因其背景與需求不同，對於操作上熟悉度差異。
2. 類似的分析工具網站其介面使用的特色與缺點。
3. 多種相互關聯的資料在呈現時，必須依照優先順序顯示與取捨。
4. 分析實用性功能與鮮少使用的功能使用頻率，決定網頁放置的位置。

為幫助開發團隊設計網頁，已有眾多針對開發前期中各個情境需求發展的工具：在設計一開始的定義問題與發散收斂的討論，FigJam [52]、Miro [53] 能協助團隊繪製流程圖與進行設計思考 (Design Thinking, D.T.)，幫助釐清團隊間想像、

描繪使用者的需求及介面所需要的功能。原型 (prototype) 設計時, Figma [54]、Adobe XD [55] 線上軟體可協助繪製介面的雛型。

進入開發環節時, 前端網頁設計更有多樣化的開源框架與函式庫提供選擇, 包含方便網頁程式語言 HTML/CSS/JavaScript 開發的 Bootstrap [56]、MUI [57] 函式庫, 能幫助開發者快速建立簡潔的圖樣與響應式 (Responsive Web Design, RWD) 的切版設計 (layout)。為了快速將生物資訊數據渲染 (render) 成各類圖表, 前端資料視覺化套件如 DataTables [58]、RAWGraphs [59]、D3 [60] 函式庫, 提供多樣化的統計圖與列表樣式模板, 使得後端僅需輸出 JSON (JavaScript Object Notation) 格式即可達到互動式的圖表渲染。



## 1.8 具體目標

### 目標一：開發微生物與營養評估分析流程

主要分析流程可分為三大部分：微生物菌種分析、酵素與化合物串接以及飲食評估推薦，輸入資料採用經由品質控管後的 QIIME2 分析檔案 [35]，經由物種分類器以及酵素、化合物、食物與基準菌相多種資料集串接比較，再透過飲食評估及最佳化方法得出推薦的食物列表。

### 目標二：建置使用者友善網頁設計

隨著越來越多線上分析工具與資料庫上線，面對多樣化的選擇與競爭，凸顯網站實用性與良好使用體驗的重要性，如今傳統靜態網頁設計已無法滿足使用者不同尺寸的裝置條件，也無法即時更新資料運算狀態，因此動態響應式 (Responsive Web Design, RWD) 網頁設計已成為主流，以使用者中心 (User-Centred Design, UCD) 原則建置網頁，除提供線上分析外，更著重於開發方便使用者操作的介面，讓使用者能在最低時間成本中無痛上手分析。

### 目標三：以視覺化資料產出個人化報告

傳統的表格結果使研究者獲得資料後，需下載重新繪製，若樣本數大，其資料量與重複的分析動作，往往造成研究者的負擔與資料誤植的可能。本系統將產出個人化的菌相分析與推薦食物報告，並以視覺化圖表呈現，方便快速判斷結果，亦提供表格等原始資料下載，讓研究者得以自行延伸分析。



## 二、 材料與方法

### 2.1 NURECON 系統概述

NURECON 是一款藉由微生物菌相資料庫比對，進而預測個人化營養需求資訊的線上網站。系統後端採用 Python (version 3.7.12) 搭配 Django 框架，前端以 JavaScript 與 jQuery 函式庫建置圖形使用者介面。資料庫以 SQLite (version 3.33.0) 儲存基準腸道菌相豐富度及酵素預測資料庫、化合物、酵素編號與名稱 KEGG 資料庫 [45]、化合物、同義詞與食物資訊 FooDB 資料庫 [47]。系統相關套件與資料庫串接架構如圖2.1，使用者需要上傳兩種輸入檔案：BIOM (BIological Observation Matrix file) 與 FASTA (DNA sequence alignment file) 格式，BIOM 檔案內含序列操作分類單元 (Operational Taxonomic Units, OTU 或 Amplicon Sequence Variants, ASV) 與序列條數的表格資訊，FASTA 檔案內含代表性序列 (representative sequence) 資訊。檔案來源可以來自 EasyMAP[36] 或 QIIME2[35] 經品質控管後的輸出檔案取得。經由系統分析完成後，使用者可選擇線上檢視、下載分析結果抑或是刪除專案。

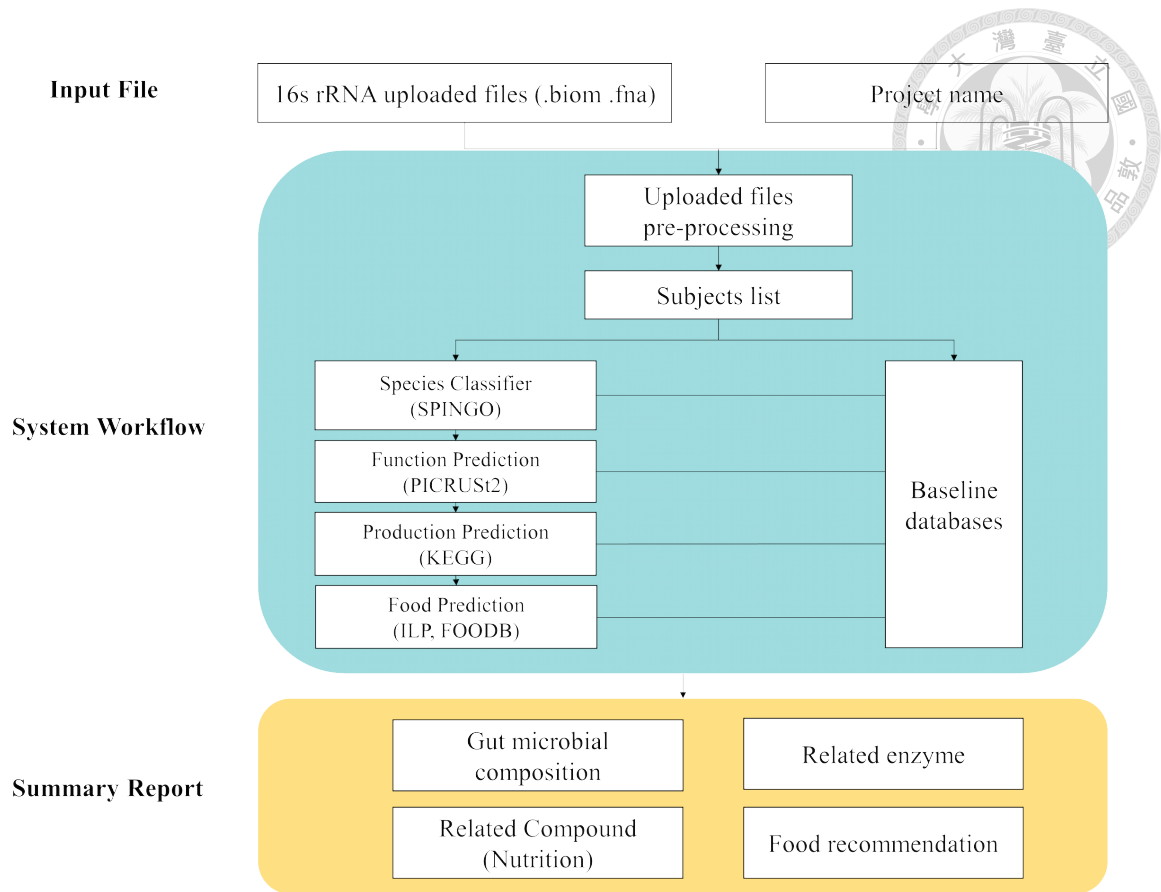


圖 2.1: NURECON 系統設計架構。NURECON 需要以 ASV 表格 (.biom) 與代表性序列檔案 (.fasta) 作為輸入檔案，藍綠色區塊代表分析流程，包含資料處理、物種分類 (SPINGO)、微生物基因功能預測 (PICRUSt2)、缺乏營養化合物差異分析 (KEGG)，以整數線性規劃 (Integer Linear Programming) 針對推薦食物進行最佳化，使其能以最少量的食物滿足所有缺乏之營養素，分析步驟中，每一步結果皆與系統內建之基準資料集 (健康族群) 作比較。黃色區塊代表輸出資料，包含物種層級 (species) 菌相組成、與基準資料集比較後的酵素差異，缺乏之營養化合物差異分析以及飲食推薦。

## 2.2 前端開發與資料視覺化

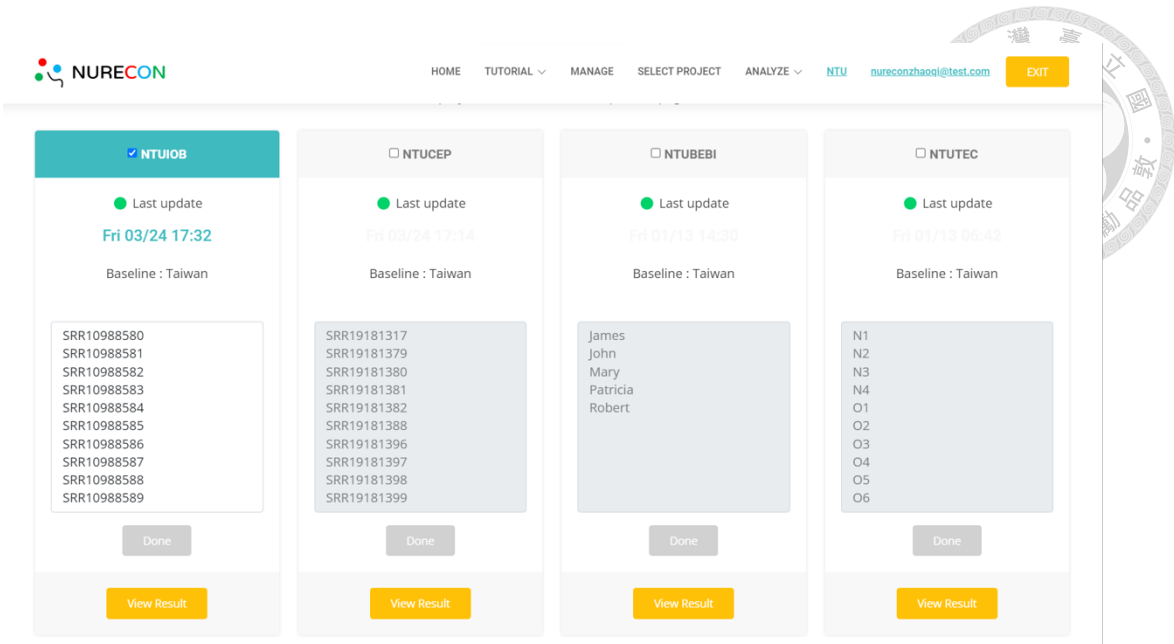
前端導入 UCD 概念設計，目的是提供使用者更容易適應與上手操作介面，系統採用 Bootstrap 網頁前端函式庫支援響應式網頁與簡潔樣式，模板使用 Bootstrapmade 提供免費授權於個人與商業網站用途 [61]，選擇 jQuery 與 Datatable 函式庫提供有效率的動態網頁編寫與互動式表格資料，RAWGraphs 與 zEpid 函式庫協助資料視覺化分析處理。



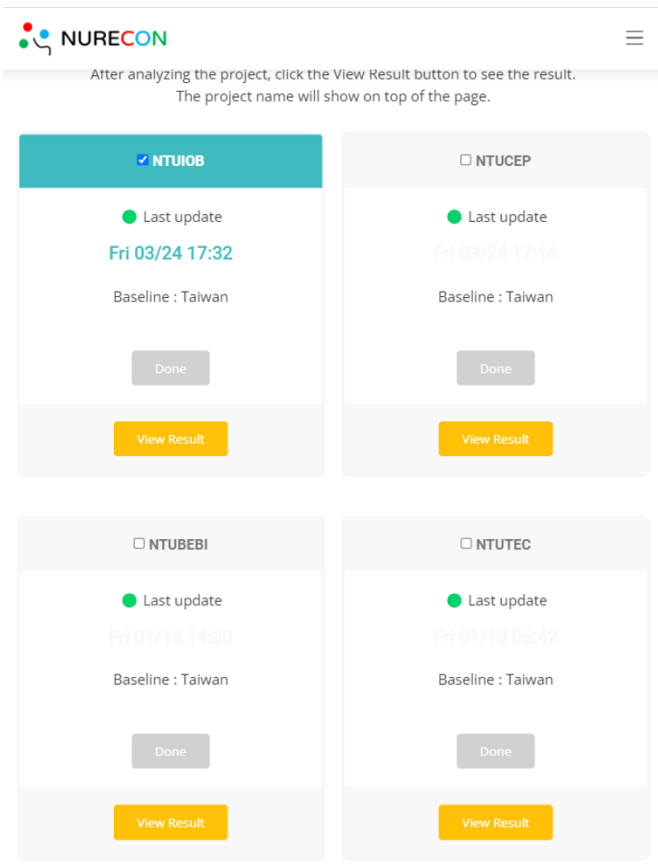
### 2.2.1 Bootstrap 網頁前端函式庫

Bootstrap 是一款前端網頁設計的函式庫 [56]，系統採用 Bootstrap 5.0.2 版本，多種 CSS 與 JavaScript 樣式與效果能快速建置與完成響應式互動網頁設計，例如為解決個人化分析結果會使得過多視窗分頁被開啟，引入 Modal 對話框模組提供在不開啟新視窗前提下，得以快速檢視菌相結果；為提供使用者預覽上傳檔案之樣本資訊，引入 Card 容器模組提供卡片式的專案內容預覽；食物資訊說明內容豐富，一次呈現容易造成閱讀負擔，引入 Popovers 模組讓游標移動至食物資訊 icon 才顯示說明內容，兼具頁面簡潔與資訊充足。

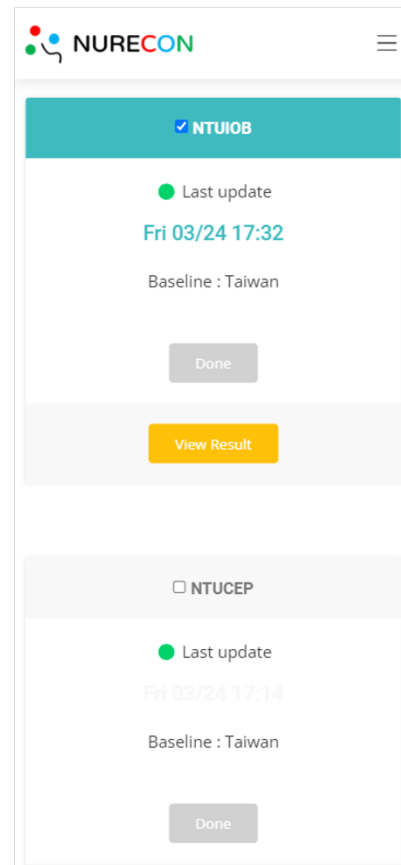
在切版設計 (layout) 方面，系統設計的目標族群為研究人員與營養師，預設瀏覽情境可能為研究分析用途的大尺寸螢幕、面對方便對個案解說結果使用的平板中尺寸裝置，及時了解資料上傳與分析狀態使用的手機小尺寸裝置。前端介面切為三版，意即在上述三種尺寸瀏覽能確保頁面能夠正常提供，以達到響應式頁面的效果，Layout 斷點 (breakpoint) 設定為  $<576\text{px}$ 、 $\geq 768\text{px}$  及  $\geq 992\text{px}$  (Class infix: None, md, lg)，程式碼範例可見附錄C.1。舉例來說，可以在選擇專案 (select project) 頁面中，分別以電腦螢幕、平板、手機裝置瀏覽，可見到各個專案顯示的列數分別為 4、2、1 (圖2.2)。此外，亦應用於結果表格與圖片使其符合裝置尺寸顯示，如表格較大則以卷軸橫向拖曳代替。



1536\*713px (Laptop, ASUS PRO-UX434FLC)



820\*1180px (Tablet, iPad Air)



390\*844px (Phone, iPhone 14)

圖 2.2: Bootstrap 應用於前端切版設計。由左至右、由上至下，分別模擬在桌上與筆記型電腦(螢幕顯示寬度 $\geq 992$ px)、平板(螢幕顯示寬度 $\geq 768$ px)及手機(螢幕顯示寬度 $< 576$ px)尺寸的裝置，根據裝置寬度自動縮放每列顯示 4、2、1 個專案卡片。





### 2.2.2 AJAX 非同步請求技術

非同步請求技術（Asynchronous JavaScript and XML, AJAX）為協助前端網頁與後端伺服器溝通的技術，網頁端能透過 API（Application Programming Interface）接口的幫助，在不需等待跳轉頁面的前提下，讀取伺服器後端資料並即時更新，帶來良好的使用者體驗。

如本系統的分析結果頁面因需要產生資料量較大，並須依照使用者所選取的樣本名稱即時更新表格與圖片，採用 AJAX 技術可避免頁面載入過久的問題，影響使用者體驗。

### 2.2.3 jQuery 與 Datatable 函式庫

JavaScript 所開發的 jQuery 函式庫提供簡潔的選擇器（selector）語法與動畫製作，動態網頁時常需要更動 HTML DOM（Document Object Model）結構達到效果，傳統 JavaScript 對 DOM 操作的選擇器呼叫方式冗長，回傳的資料型態不一致，編寫程式時使得可讀性降低，而 jQuery 改良選擇器的呼叫方式，亦擁有簡潔的 AJAX 函式，方便程式編寫與維護。另外，以 jQuery 延伸的 Datatable 外掛程式 [58]，目的是提供 HTML <table> 標籤的互動功能，如換頁、搜尋、排序、UI 介面與下載功能。

jQuery (version 3.6.0) [62] 於本系統應用涵蓋所有頁面，包含但不限於按鈕事件的觸發與處理、區塊的顯示與隱藏。Datatable 應用於微生物菌相結果（Gut microbiome report）、酵素比較與預測結果（EC number table）、化合物比較結果（Compound/Nutrition table）以及食物推薦（Food recommendation）的表格呈現（圖2.3）。

Species name	Mean±SD (%)	Median±SD (%)	Search: <input type="text"/>		
			Patricia	John	Robert
<i>Veillonella ratti</i>	13.32±0.0	13.32±0.0	--	--	--
<i>Bacteroides vulgatus</i>	7.109±7.057	4.351±7.057	3.119	7.505	5.758
<i>Pseudomonas mendocina</i>	3.57±0.0	3.57±0.0	--	--	--
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	3.329±2.434	3.08±2.434	5.072	--	--
<i>Prevotella stercorea</i>	3.52±4.186	2.273±4.186	--	--	--
<i>Providencia stuartii</i>	2.177±1.014	2.177±1.014	--	--	--
<i>Bacteroides uniformis</i>	3.736±4.045	2.062±4.045	10.858	0.555	1.981
<i>Phascolarctobacterium faecium</i>	2.952±3.302	2.011±3.302	--	10.855	5.251
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1.988±2.803	1.989±2.803	--	--	--
<i>Bacteroides plebeius</i>	3.867±4.695	1.909±4.695	--	2.567	31.009

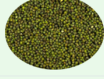




Search: <input type="text"/>				
Info	Food ID	Picture	Name	Group
↓ ⓘ	200		Mung bean	Pulses
↓ ⓘ	150		Guava	Fruits
↓ ⓘ	171		Garden tomato	Vegetables
↓ ⓘ	65		Cucumber	Gourds
↓ ⓘ	914		Yellow wax bean	Pulses

圖 2.3: Datatable 於使用者介面的呈現。左圖為微生物菌相結果，右圖為食物推薦結果。

## 2.2.4 RAWGraphs 與 zEpid 資料視覺化函式庫

在資料視覺化資料的處理上，可以選擇後端處理成圖後再送至前端，或是後端傳送資料再於前端處理成圖，兩種方式無好壞之分，取決於前後端分工狀態、前後端語言是否支援該套件與載入頁面的效率。

RAWGraphs (version 1.0.0-beta.27) [59] 為以 JavaScript 基礎的資料視覺化函式庫，具有多樣化的圖供開發人員依資料型態選擇，如柱狀圖、圓餅圖、熱圖及樹狀圖等，此套件採用後端傳送 JSON 資料再於前端解析後渲染，引入圓堆砌 (circlepacking)、柱狀圖 (bar chart) 功能，在食物推薦結果頁面中呈現食物類型與群體食物推薦的頻率 (圖2.4)。

zEpid (version 0.9.0) [63] 是為流行病學分析開發的 Python 視覺化資料套件，此套件採用後端處理成圖後再送至前端，引入森林圖 (effect measure plot/forest plot) 功能，在微生物結果中呈現個案菌種豐富度在基準健康群體的落點分布 (圖2.5)。

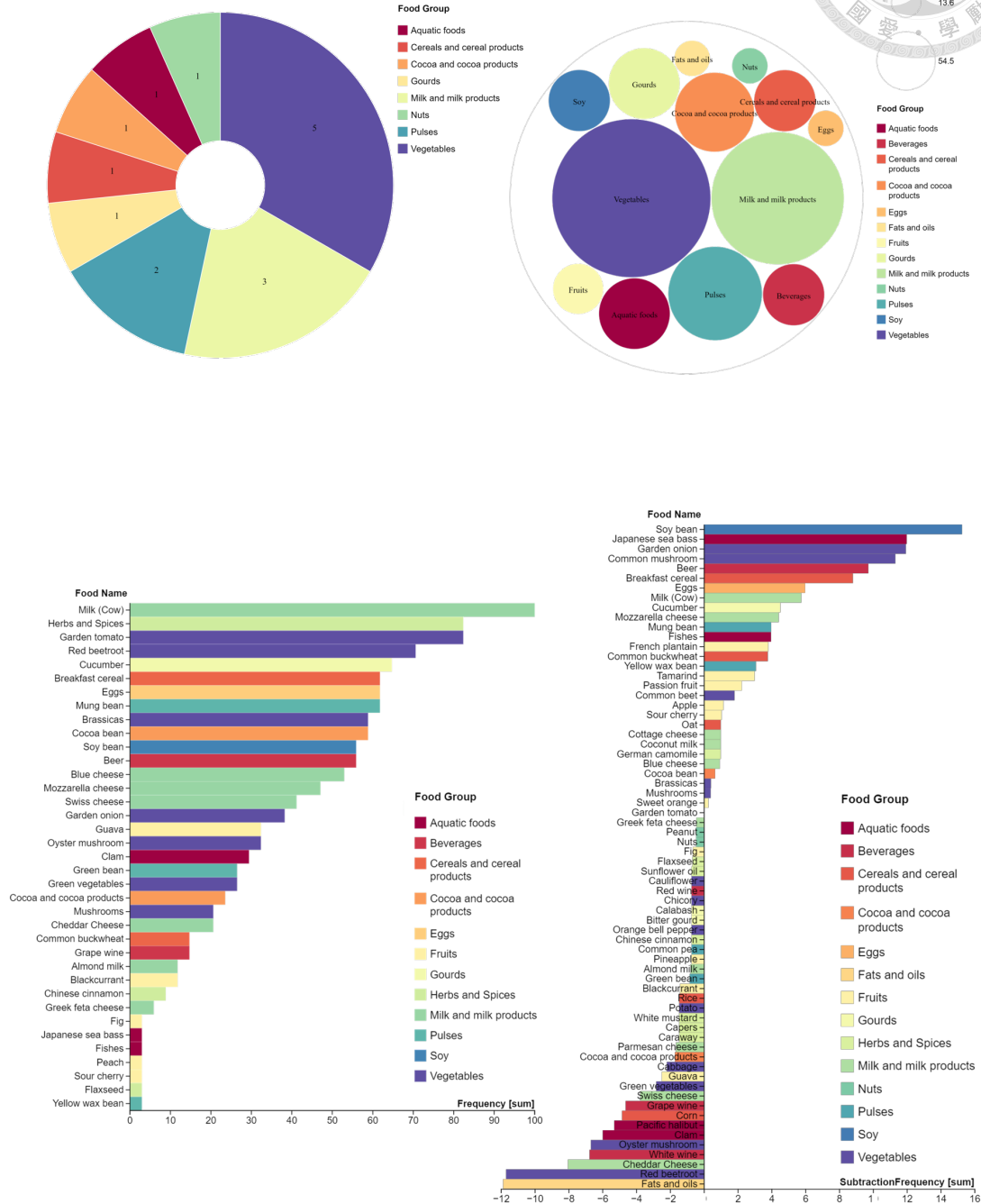


圖 2.4: RAWGraphs 於使用者介面的呈現。由左至右、由上至下依序為食物類型圓餅圖、群體食物推薦的頻率圓堆砌、群體食物推薦柱狀圖及群體食物推薦的差異分析柱狀圖。

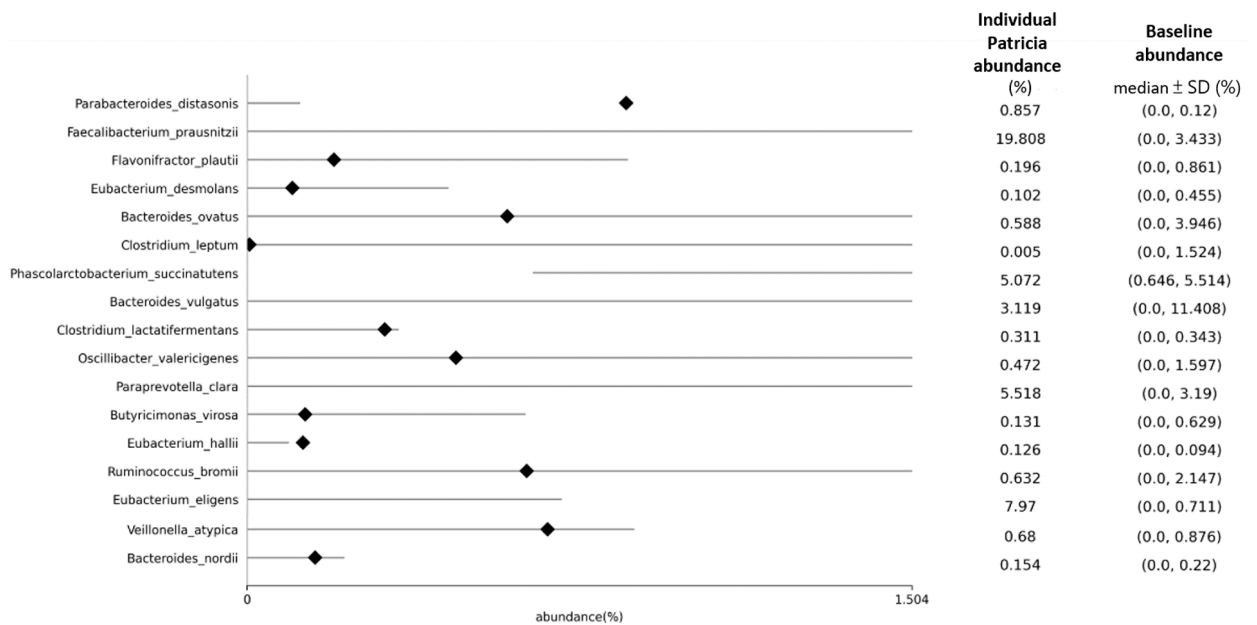


圖 2.5: zEpid 於使用者界面的呈現。



## 2.3 後端開發

系統後端串接多樣化的工具及資料庫，包含「系統開發套件」與「生物資訊學軟體」，分述如下：

### 2.3.1 系統開發套件

#### 2.3.1.1 Django 網頁應用程式框架

Django (version 3.2.16) [64] 是以 Python 為基礎開發的網頁應用程式框架，採用 MTV (Model-Template-View) 架構設計，Model 以類別方式處理資料庫的 CRUD (Create, Read, Update and Delete)；Template 含有 HTML/CSS/JavaScript，負責前端的輸出；View 負責網址與回呼 (callback) 函式的設定，連結 Template 與對應的邏輯關係。

此外，框架也提供後端開發者後臺資料庫與使用者權限管理，而前端開發者在接收後端傳遞的資料時，除利用 API 外，也能運用帶有條件句與迴圈功能的模板標籤 (template tags)，在載入頁面時同步渲染頁面。

#### 2.3.1.2 Subprocess 子進程套件

Subprocess [65] 是一款 Python 套件提供 Python 指令執行 Linux shell 指令操作。多數生物資訊工具由於輸入的檔案大、分析計算時間長加上考量軟體的可維護性，因此大多以 Linux 系統的命令行介面為主，如果想要將這些生物資訊工具加上方便易用的圖形化介面 (GUI)，就需要採用 Subprocess.run() (附錄C.2) 功能，執行這些在後端運算的生物資訊學工具。



### 2.3.1.3 PuLP 數學模型套件

線性規劃 (linear programming) 是本系統連結營養化合物與食物推薦的核心架構，將在2.3.3.3小節詳細介紹原理與應用。同為 Python 套件的 PuLP (version 2.6.0) [66] 十分善於處理數學最佳化的模型運算，PuLP 的分析流程為：「定義問題」(define the problem)、「變數宣告」(declare variables)、「建立目標函數」(objective function)、「定義限制式」(constraint)、建立大型矩陣解 (stamping) 與解決線性規劃問題 (圖2.6)，範例詳見附錄C.3。

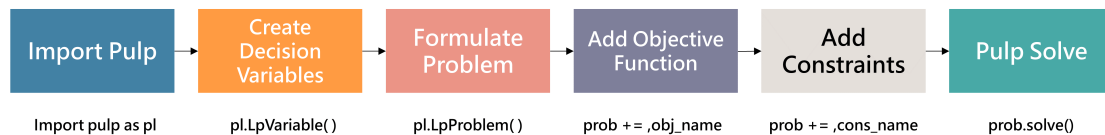


圖 2.6: PuLP 數學模型分析流程。下方文字為對應需引入的函式或類別的名稱 [67]。

## 2.3.2 生物資訊學軟體與資料庫

### 2.3.2.1 QIIME2 與 EasyMAP 次世代定序分析工具

QIIME2 是主流次世代定序微生物分析軟體 [35]，透過指令行介面，能將序列原始檔案經分析成視覺化結果。EasyMAP 則是以 QIIME2 為原型設計的微生物線上分析網站 [36]，透過 GUI 可以直覺地將原始檔案分析成視覺化結果。

NURECON 接受來自 QIIME2 格式或是由 EasyMAP 帳戶匯入的輸入檔 (圖2.1)，前者是經品質控管指令產出的兩個 QIIME2 壓縮檔案 (.qza)：FeatureTable[Frequency] 與 FeatureData[Sequence] 附錄C.4；後者則是經 EasyMAP 分析完成後的專案，在 NURECON 網站中輸入 EasyMAP 分析時所使用的電子信箱，就能自動匯入所需檔案，毋須下載再上傳 (圖2.7)。

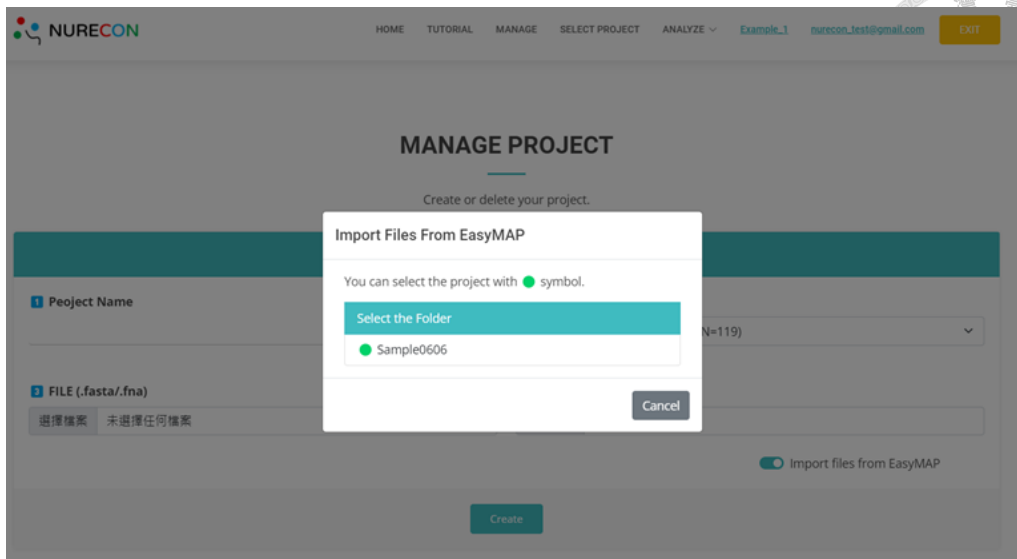


圖 2.7: 自 EasyMAP 匯入欲分析檔案介面。已在 EasyMAP 分析完成的專案將以綠燈顯示，點擊專案即可直接匯入 NURECON。

### 2.3.2.2 SPINGO 微生物菌相物種分類器

SPINGO (version 1.2) [37] 在系統中扮演分析微生物菌相的分類器，SPINGO 的一大特色是能準確將 16S rRNA 序列分類至種 (species) 層級 [68]。其參數調整如下：kmer size ( $-kmer\ size$ ) 為 8，The number of bootstrap samples ( $-bootstrap$ ) 為 10、The number of kmer used for each bootstrap subsample ( $-subsample$ ) 為 8，微生物資料庫為 RDP\_11.2。

### 2.3.2.3 PICRUST2 微生物基因功能預測工具

PICRUST2 (2.5.1) 是以標誌基因 (marker gene) 序列預測出微生物潛在酵素豐富度的軟體 [39]，主要分析流程為：sequence placement ( $place\_seqs.py$ )、hidden-state prediction ( $hsp.py$ )、metagenome prediction ( $metagenome\_pipeline.py$ )、inferring pathway abundance ( $pathway\_pipeline.py$ )、pathway feature descriptions ( $add\_descriptions.py$ )，在每一步驟中，所有參數皆為預設值，輸出的檔案將與基準資料集比對，找出對應的 KEGG 化合物。

#### 2.3.2.4 KEGG 基因體資料庫

KEGG 基因體資料庫涵蓋基因、代謝途徑、酵素、化合物等多種資料 [45]，系統自 KEGG API 獲得 5,621 筆 EC (Enzyme Commission) number、18,905 筆化合物編號及名稱資料庫，UML (Unified Modeling Language) 架構如圖 2.8。

#### 2.3.2.5 FooDB 食物及化合物資料庫

FooDB 食物及化合物資料庫涵蓋食品成分、化學組成與營養化合物資訊 [47]，網站分為「食物搜尋」與「化合物搜尋」兩大區塊，本研究自網頁下載取得食物資料庫、營養化合物與食物關係資料庫、營養化合物同義詞、營養化合物編號，及建立 53 筆食物蔬果類植化素資料集（感謝台大食品安全與健康研究所魏嘉徵老師提供）（圖 2.8）。

此外，在檢視所有食物資料時，發現有重複名稱與定義過於廣泛的食物，如：野牛、野豬、水牛、長耳鹿、野鴨、麋鹿、鴝鵒、灰鵝、珍珠雞、馬、駝鳥、絨鴨、野雞、歐洲兔和乳鴿，上述食物幾乎涵蓋所有營養化合物，系統推薦攝取整隻動物較為不切實際，因此予以剔除。經篩選後，最終留下 962 種食物資料及 23,000 種營養化合物進行後續的最佳化分析。



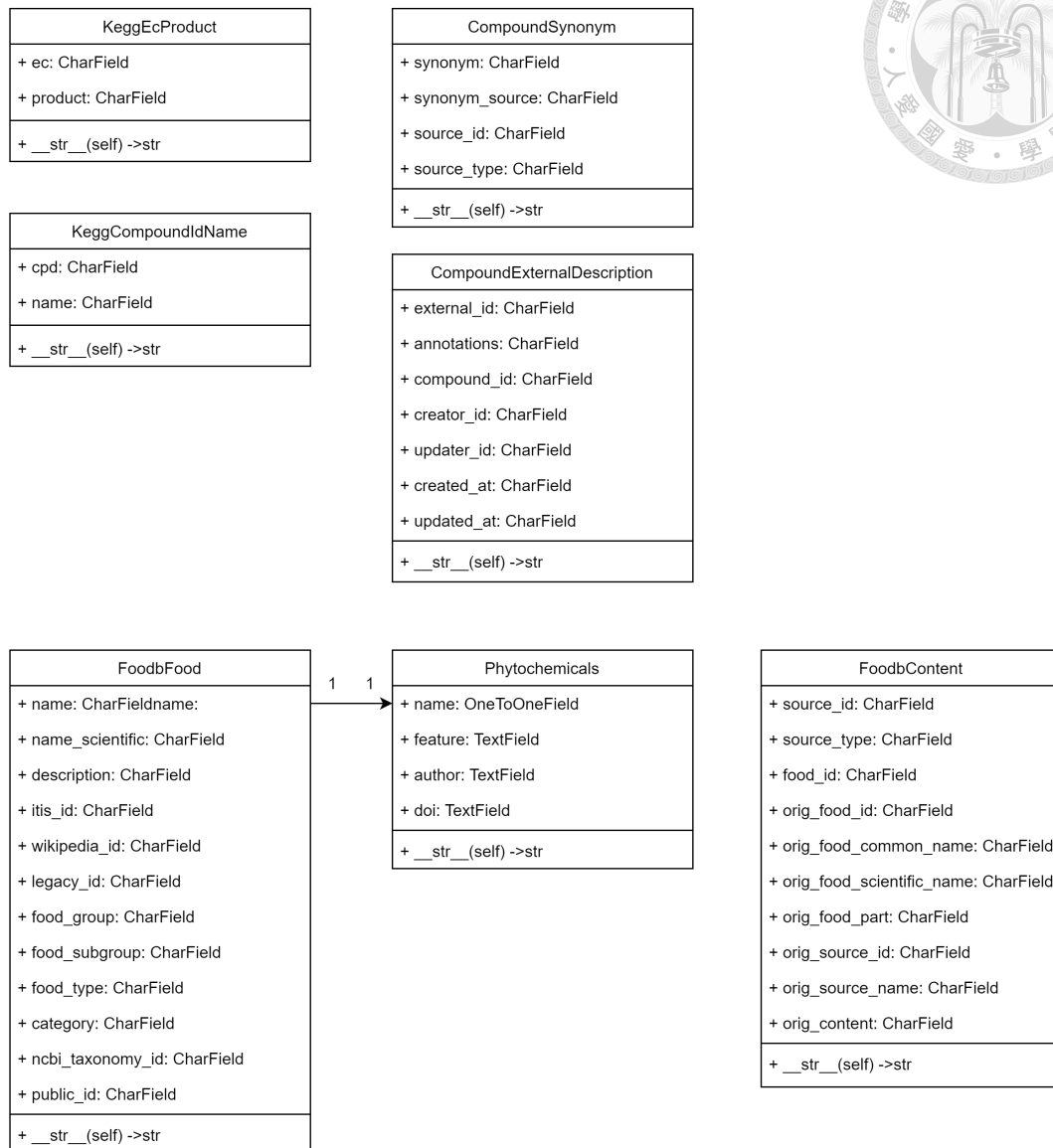


圖 2.8: 外部資料庫 UML。分別建立 KEGG 酵素化合物資料集 (KeggEcProduct、KeggCompoundIdName)、FoodB 食物與同義詞資料集 (CompoundSynonym、CompoundExternalDescription、FoodbFood、FoodbContent) 及以一對一關聯 (one-to-one relationship) 資料形式連結植化素文獻資料集 (Phytochemicals)。

### 2.3.2.6 基準腸道菌相與酵素群體資料集

系統內含有三種來自臺灣不同群體的基準菌相資料，使用者可根據上傳的資料特性選擇適當的基準群體進行比較，總計共有 287 位健康臺灣人基準群體，其

年齡分布在 18 至 80 歲，其中 119 筆來自臺灣人微生物菌相資料庫 [69]；118 筆來自文獻中臺灣大腸癌腸道菌相研究的對照組 [70]；50 名來自尚未發表的臺灣健康中老年人腸道菌相（感謝台大食品科技研究所潘敏雄老師提供）（表 2.1），所有樣本皆以 Illumina 平台定序並夾取 V3~V4 區域片段。

表 2.1: 基準資料集

#	Datasets	Number	Male:Female	Age	Reference
1		119	81:38	20-80	
2		81	0:38 (Female)	22-75	
3		38	81:0 (Male)	20-80	
4		55	18:37	20-44 (Adult)	
5	Taiwanese Microbiome Database	43	10:33	45-64 (Middle Age)	[69]
6		21	10:11	65-80 (Old Age)	
7		61	18:43	30-50	
8		73	23:50	<50	
9		46	15:31	>50	
10	Taiwanese CRC Control Group	118	60:58	Avg. 60.71 ± 10.44	[70]
11	Taiwanese Elder Subjects	50	23:27	>60	unpublished data

定序檔案經由 QIIME2 拆分 (demultiplex)、品質控管後，使用 SPINGO 分類器進行物種分類，再以 PICRUSt2 預測相關酵素豐富度，最後經資料處理，就能獲得物種豐富度與酵素豐富度比例的資料，這些分析後的資料被儲存於資料庫中，作為基準資料，UML 架構如圖 2.9。

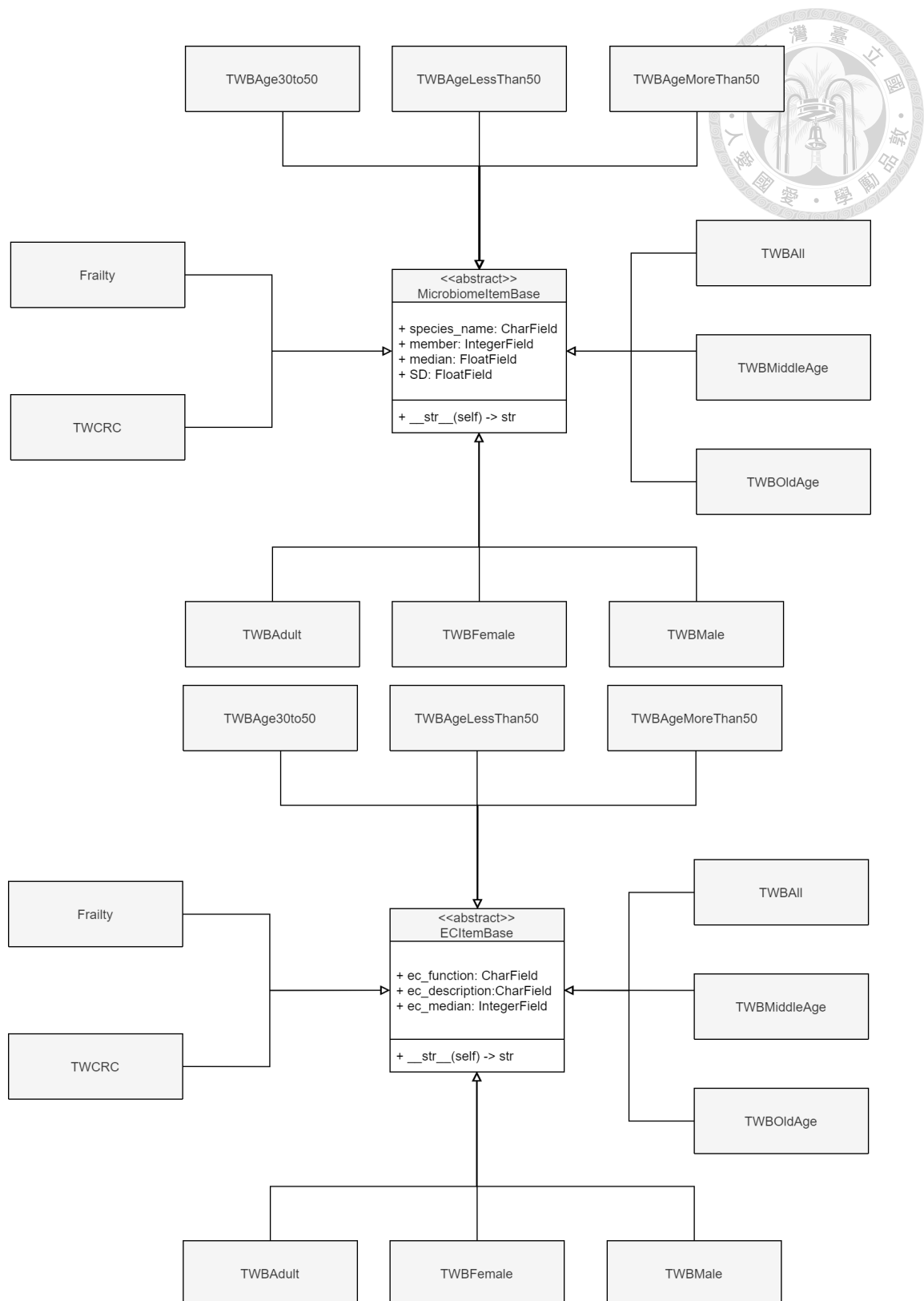


圖 2.9: 基準腸道菌相與酵素資料集 UML。分別建立腸道菌相 (`MicrobiomeItemBase`) 與酵素資料 (`ECItemBase`) 抽象模型 (abstract model)，各有 11 個子類模型繼承 (inheritance)：9 個根據年齡分層的臺灣微生物菌相資料集 (TWB 開頭)、1 個大腸癌對照組資料集 (TWCRC)、1 個臺灣健康中老年人資料集 (Frailty)。



### 2.3.3 菌相及營養評估的架構設計與資料比較

#### 2.3.3.1 微生物菌相豐富度

使用者上傳的序列資料經分類器處理後，會根據建立專案時所選擇欲比較的基準資料集進行差異分析，分析結果將呈現在微生物菌相豐富度表格 (ASV table)，流程如圖2.10所示。

高解析度分類器 SPINGO 分類物種的結果中，會輸出兩個檔名為「results.out」以及「level\_count.out」的檔案。其中，results.out 含有特徵序列編號 (feature ID) 及各序列所對應的菌種；level\_count.out 則包含各菌種的豐富度。然而，在 level\_count.out 檔案中，其「物種序列數量」僅能說明「共有幾條代表性序列屬於該物種」，而非原來各代表性序列擁有的序列數，因此不能直接使用 level\_count.out 中的代表性序列總量來估算豐富度 (圖2.11)。

圖2.11所示為正確計算物種豐富度百分比的方法，首先，將 level\_count.out 裡的物種名分別對應到 result.out 中相同的物種名 (可能同時對應到複數個相同的物種名稱)，如圖2.11中的 A 步驟所示，之後可獲得至少一個物種名對應的特徵序列 ID (圖2.11 - 步驟 B)，再將使用者上傳經轉檔後的 BIOM 檔案 (.tsv) 用來尋找對應的特徵序列 ID (圖2.11 - 步驟 C) 即可獲得該特徵序列 ID 的原始序列數量 (圖2.11 - 步驟 D)，之後就可計算出每一菌種所對應的物種豐富度比例 (圖2.11 - 步驟 E)。

得到的各菌種在樣本中的豐富度後，將基準資料集經由中位數及標準差計算之後，排序基準資料集豐富度前 1 至前 30 名的菌種，並與使用者資料合併呈現，之後即可輸出菌種豐富度表格與視覺化森林圖資料。

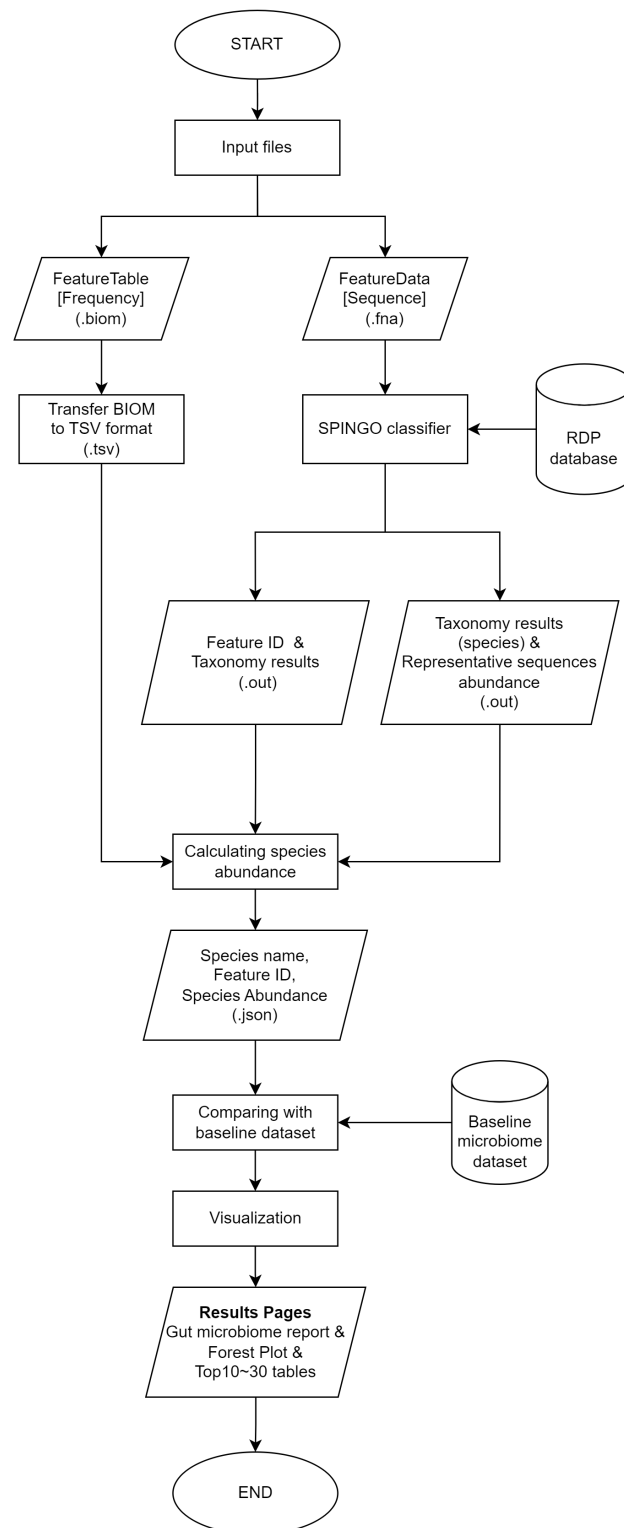


圖 2.10: 微生物菌相豐富度計算與比較流程。輸入資料來自使用者上傳的 BIOM 及 FASTA/FNA 檔案 (.fna)，經分析與還原後輸出 JSON 格式檔案渲染成表格與森林圖。

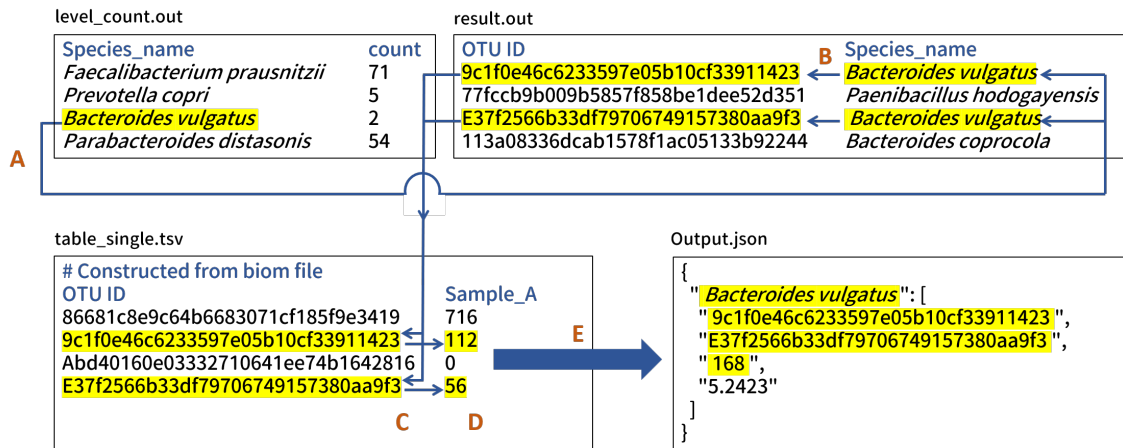


圖 2.11: 微生物物種豐富度的計算範例。Output.json 為最終輸出之檔案，168 為 *Bacteroides vulgatus* 兩種 OTU ID 之序列數總和 (112+56)，5.2423 為物種序列數除以總序列數得出豐富度百分比。本圖為模擬計算流程，並不代表真實數字比例。



### 2.3.3.2 酵素豐富度預測與營養化合物整合

使用者上傳的序列資料經 PICRUSt2 預測基因功能後，會將預測結果與選定的基準資料集進行差異分析，主要是將使用者資料的酵素（EC）豐富度減去基準資料集的酵素豐富度，若其值為負數，則可推論使用者上傳分析的資料缺乏該項酵素，在後續的分析中會將這些缺乏的酵素納入計算；若相減的結果為正數或零，則代表使用者分析的資料中，並不缺乏該酵素，因此該酵素在後續分析中，不會納入考慮。經運算後，最終可建立出一份紀錄使用者資料中所有欠缺酵素的表格，之後再透過 KEGG 基因體資料庫獲得與這些缺乏酵素有所關聯的化合物，如此就能進一步建立缺乏的營養化合物表格。另一方面，也自 FooDB 資料庫取得各種食物所包含的營養化合物，觀察哪些食物所包含的化合物可改善缺乏的營養素，之後作為最佳化分析時的輸入資料。

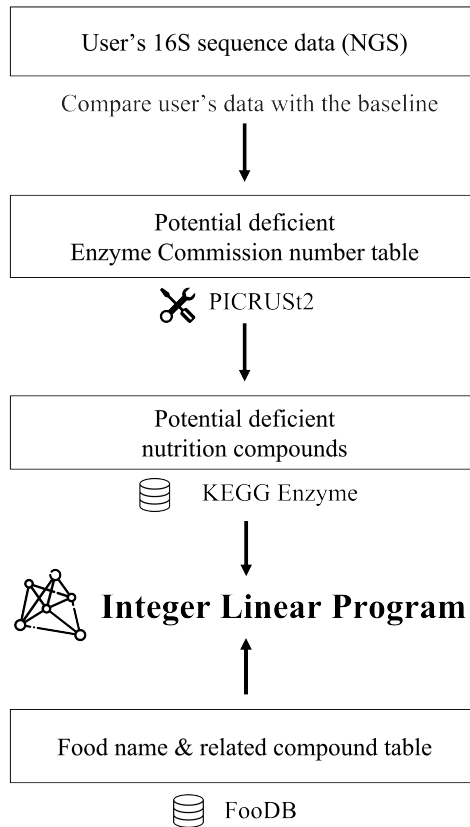


圖 2.12: 整數線性規劃整合資料庫流程圖。利用整數線性規劃 (ILP) 串聯缺乏酵素有所關聯的化合物與 FooDB 資料庫。

### 2.3.3.3 最佳化營養需求 - 整數線性規劃

經由上述分析後，會得到缺乏的營養化合物表格，通常每一種食物都能供應許多不同的營養素，是屬於一對多的關係，因此在改善營養缺乏的過程中，如果所有可能的食物都攝取的話，可能造成飲食過量的問題而顯得不切實際。如果想要以「最少量的食物來滿足所有欠缺營養素的需求」，最佳化方法將是解決問題的關鍵。這裡以「整數線性規劃 (Integer Linear Programming, ILP)」演算法將可供營養的食物與患者缺乏的營養化合物建構一個矩陣來表示，如 (2.1) 式，之後就能以 PuLP 數學模型套件進行最佳化計算。





$$A = \begin{matrix} & F_1 & F_2 & F_3 & F_4 & F_5 \\ \begin{matrix} C_1 \\ C_2 \\ C_3 \\ C_4 \\ C_5 \\ C_6 \end{matrix} & \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix} & \begin{matrix} F_1 + F_3 \geq 1 \\ F_1 + F_2 \geq 1 \\ F_2 + F_3 + F_4 \geq 1 \\ F_5 \geq 1 \\ F_2 + F_3 \geq 1 \\ F_4 \geq 1 \end{matrix} \end{matrix} \quad (2.1)$$

如前所述，每一種食物可涵蓋多種缺乏的營養化合物。缺乏的營養化合物若可由食物攝取則以「1」表示於矩陣中；反之則以「0」填充，表示欠缺的營養化合物無法由該食物攝取。以 (2.1) 式為例，食物  $F_2$  提供缺乏的營養化合物  $C_2$ 、 $C_3$  與  $C_5$ ，對應的  $C_2$ 、 $C_3$  與  $C_5$  以「1」進行標記，而  $C_1$ 、 $C_4$  與  $C_6$  則標示為「0」，解決問題的最終目標使用最少量的食物種類來照顧到所有缺乏的營養素。因此，每一種營養化合物必須涵蓋至少一種食物才有可能照顧到需求，上述條件可用 (2.2) 式及 (2.3) 式表示。

$$\min \sum_i F_i, F_i \in \{0, 1\} \quad (2.2)$$

$$s.t. \quad A \cdot F \geq 1 \quad (2.3)$$

其中， $F_i$  是一個二進制向量 (binary vector) 代表能夠用來補充營養的候選食物。在限制式中  $A$  是一個  $M \times N$  矩陣描述候選食物與缺乏的營養化合物間關係

(參考 (2.1) 式的矩陣)。  $M$  為營養化合物的數量，  $N$  為食物的數量。  $F$  是一個二進制向量表示該食物是否被選來滿足營養化合物。矩陣  $A$  中，每一列 (row) 的總和必須至少大於 1，這也是該最佳化問題中的限制式 (constraint function)，亦即每一個缺乏的營養化合物至少能被一種食物所涵蓋，得以補充該營養。

### 2.3.4 系統流程

系統的分析流程，可分為六大步驟，整理如下 (圖2.13)：

1. 物種分類、基因功能酵素預測及菌種豐度差異分析，最後輸出「種 (species)」層級菌相差異數值。
2. 酵素差異分析，與選定的基準資料集相減後得出使用者分析資料中的缺乏酵素，最後輸出詳細的酵素缺乏表格。
3. 將計算得出的缺乏酵素根據 KEGG 資料庫連結並查找出相對應的營養化合物，進一步整理輸出缺乏之營養化合物表格。
4. 根據 FooDB 資料庫找出每一種食物所包含的營養化合物，以此找出能夠補充營養素的潛在食物作為候選。
5. 將候選食物與缺乏的營養素構築成大型矩陣，並以 ILP 最佳化，輸出個人化及群體食物推薦列表。
6. 提供使用者在不同專案間進行差異分析，輸出食物推薦結果與推薦食物的頻率比較。

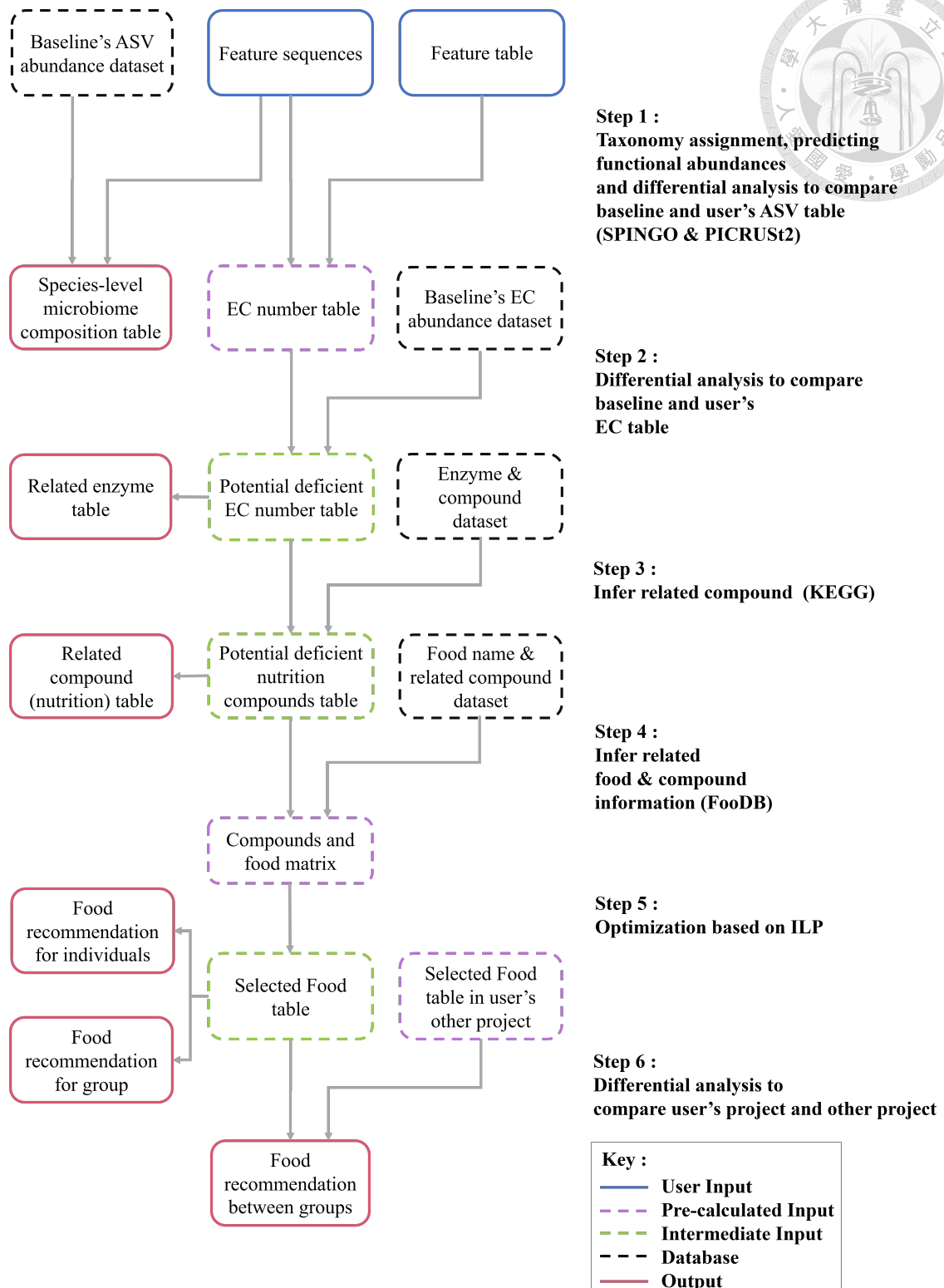


圖 2.13: 後端系統設計流程圖。



## 2.4 驗證資料集

從已發表文獻中自公開序列資料庫 SRA (Sequence Read Archive) 下載 16S V3~V4 區域序列，共兩份已發表的資料進行系統驗證，分別取得臺灣大腸癌 (Colorectal cancer, CRC, accession number: SRP131074) [70] 與 中國慢性腎臟病 (Chronic Kidney Disease, CKD, accession number: SRP279052) [71] 患者微生物菌相資料。在 CRC 資料集中，對照組與實驗組分別有 118 及 34 位個案，其年齡分布在  $60.71 \pm 10.44$  歲及  $60.71 \pm 10.44$  歲，該研究中，資料被用來分析患者不同的腸型 (enterotype-based gut microbiome) 及與健康人的差異。在 CKD 資料集中，對照組與實驗組分別有 137 及 100 位個案，其年齡分布在  $60.64 \pm 16.51$  歲及  $56.64 \pm 17.25$  歲，該研究中，資料被用來研究菌相失調與血清中游離輕鏈 (serum-free immunoglobulin light chains, FLCs) 間的關係。兩份資料集皆選擇 50 位臺灣健康中老年人資料集進行比較。



## 三、 結果

### 3.1 系統開發成果

#### 3.1.1 說明文件與範例分析資料

對首次使用 NURECON 網站的使用者來說，查閱說明文件與練習是必要的過程，網站在首頁即提供中文與英文說明文件連結，文件包含上傳檔案、管理專案、查看分析結果、報告解說以及下載結果等步驟（圖3.1a）。

除文件外，網站亦提供範例資料集供使用者一邊查閱手冊一邊操作，分為快速範例資料以及普通範例資料，前者檔案小且分析速度快，適合快速了解系統操作流程，後者模擬真實定序資料，有較完整的分析結果。亦提供不須上傳範例資料即可直接預覽範例分析結果的頁面，包含微生物菌相分析、酵素差異分析、營養化合物差異分析，以及食物推薦結果（圖3.1b）。

#### 3.1.2 管理與選擇欲分析的專案

專案管理頁面中提供建立及刪除專案的功能，在建立專案部分，使用者僅需提供專案名稱、經品質控管之定序檔案即可。系統亦與 EasyMAP 網站整合，僅需鍵入 EasyMAP 分析完成之專案所屬信箱，就可直接匯入定序檔案（圖3.2a、2.7）。

創建專案後系統將跳轉至專案選擇頁面，使用者可直接預覽個案（樣本）名稱，確認無誤後即可開始分析，分析完成後將呈現綠色燈號提示，點擊「View Result」按鈕可檢視分析報告（圖3.2b）。

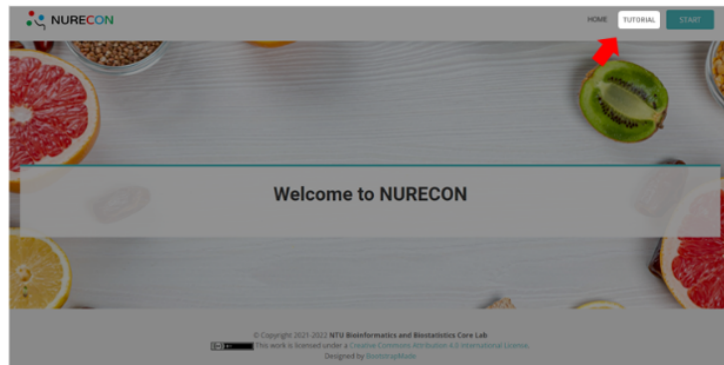


## NURECON documentation

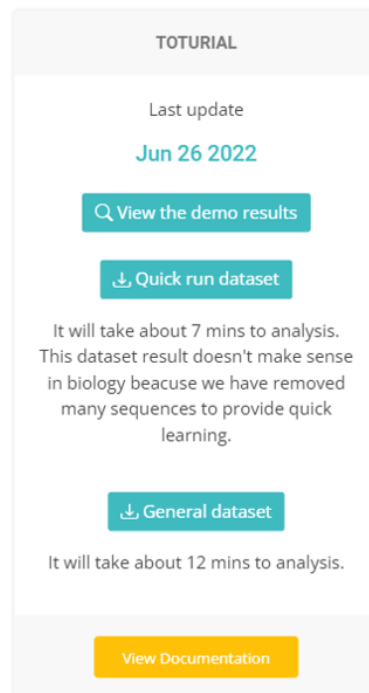
NURECON is an online analysis platform based on the NGS (Next Generation Sequencing) data. This system will compare the user uploaded data with internal database. Generate the poor nutrients and food recommendation according to the subject. Provided the reference for researcher and the dietitian.

### 1 Start NURECON

1. Enter the NURECON website.
2. Click the **TUTORIAL** to enter the tutorial page.

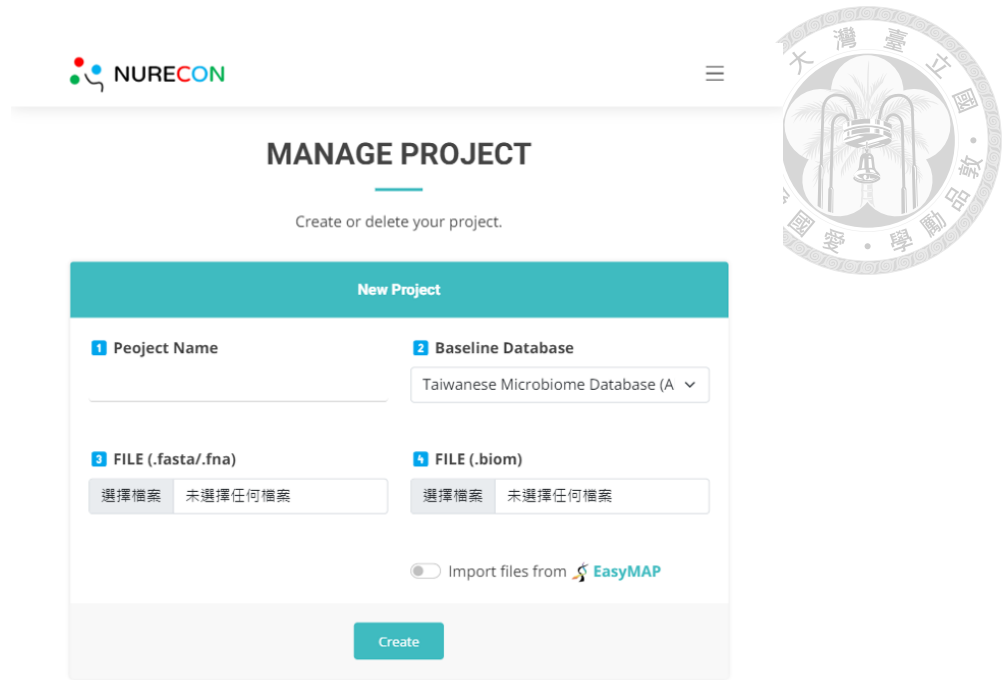


(a) 說明文件頁面提供從上傳檔案到分析結果說明與教學。

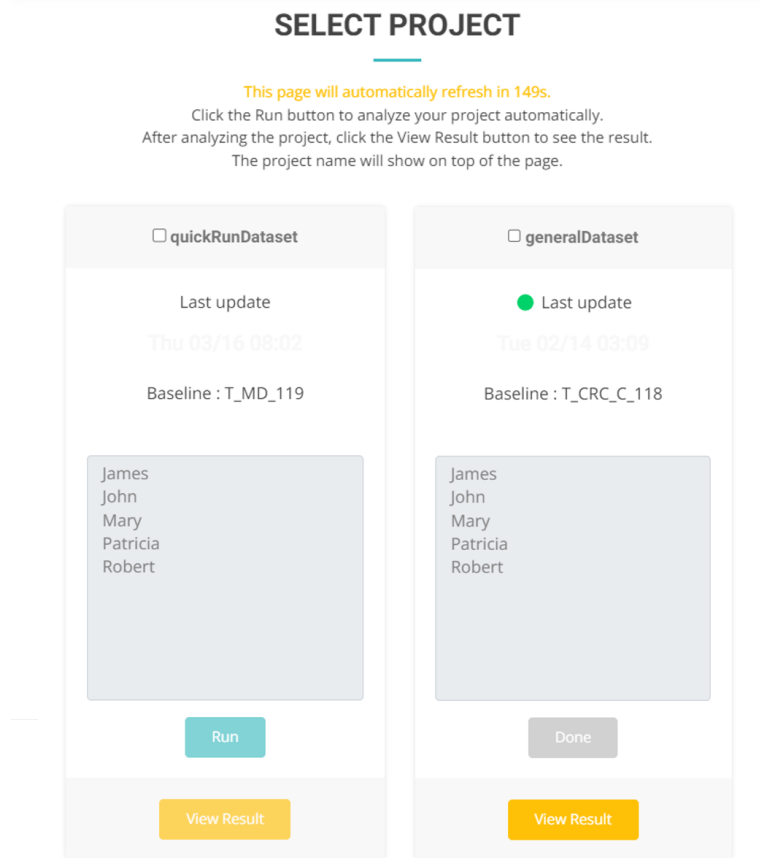


(b) 範例資料頁面提供兩種測試範例定序資料集供使用者學習，亦附有毋須建立專案即可瀏覽報告結果的演示頁面。

圖 3.1: 說明文件與範例資料介面



(a) 管理專案頁面提供創建分析專案與刪除。



(b) 選擇欲分析專案頁面提供樣本名稱預覽，以及開始分析與查看結果按鈕，「quickRunDataset」專案為尚未分析狀態（左），可點擊「Run」開始自動分析；「generalDataset」專案為完成分析狀態（右），可點擊「View Result」檢視分析報告。

圖 3.2: 管理與選擇欲分析專案介面



### 3.1.3 微生物菌相組成

分析菌相組成是微生物宏基因體學 (metagenomics) 的基礎，在此這項功能可以幫助研究者探討個案腸道內各菌種的分布，益生菌的含量也是許多研究者關注的重點。NURECON 將分類結果繪製成三種視覺化圖表：

#### 菌種豐富度列表

個案與所選定的基準腸道菌相資料集菌種豐富度差異表格，能幫助釐清個案腸道菌種相比於基準資料集的菌種哪些較為缺乏或充足，以紅色數字表示缺乏，藍色數字表示充足 (圖3.3a)。

#### 菌種豐富度森林圖

將個案大量的菌種列表視覺化成森林圖，利用基準資料集各菌種的分布區間，加上個案各菌種的豐富度落點繪製，使用者能夠快速瀏覽菌種相較於基準腸道菌的分布 (圖3.3b)。

#### 優勢菌種豐富度列表

優勢菌種 (dominant species) 的豐富度往往受研究者重視，因此系統會將前十至前三十名於基準腸道菌相資料集豐富度較高的菌種，標示於子視窗的表格中，輔助研究者了解個案腸道內哪些優勢菌種為缺乏或是較為充足 (圖3.3c)。

### 3.1.4 酵素與營養化合物

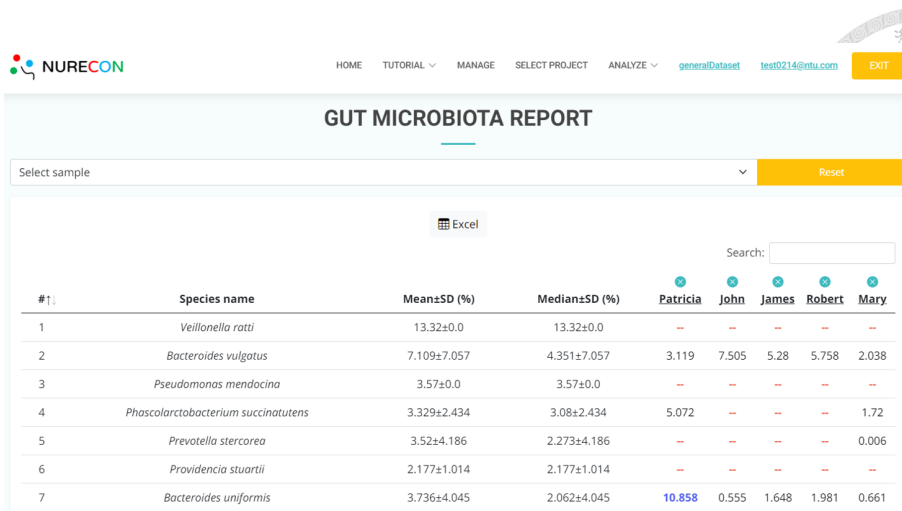
個案與基準資料集相減後，會產生缺乏的酵素列表，連結 KEGG 資料庫後，就能進一步推出營養化合物缺乏列表。此頁面主要提供研究者瀏覽與下載個案酵



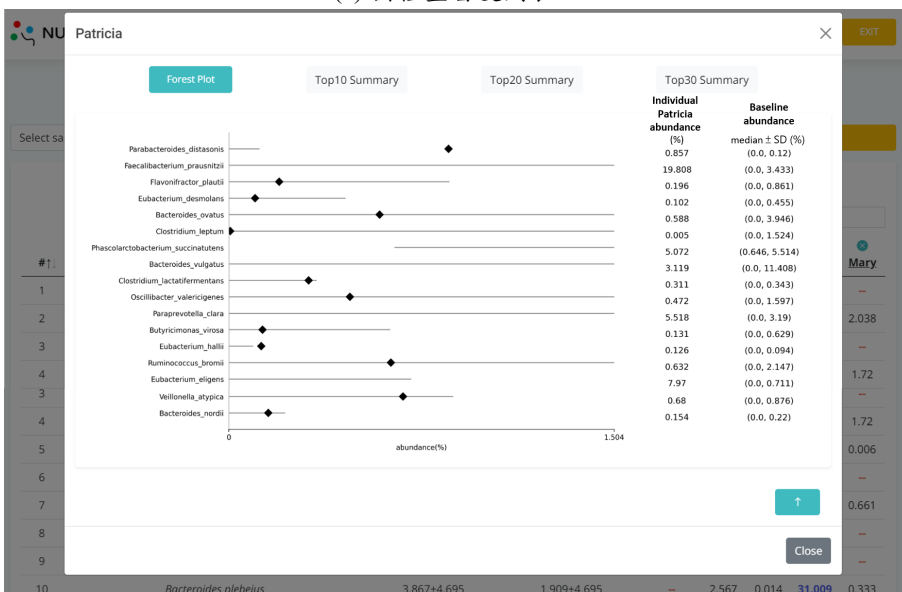
### 3.1 系統開發成果

素與營養化合物的差異比較結果，以利使用者深入研究。

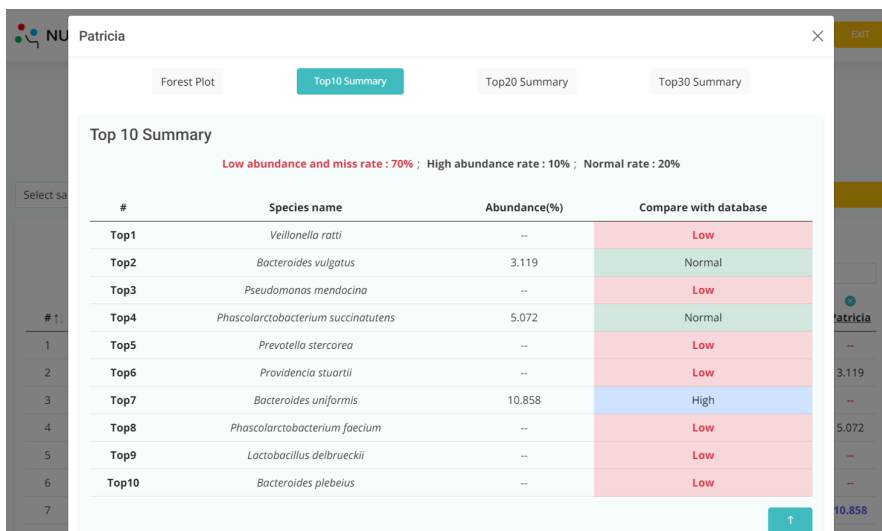




(a) 菌種豐富度列表。



(b) 菌種豐富度森林圖。



(c) 優勢菌種豐富度列表。

圖 3.3: 微生物菌相組成結果介面



### 3.1.5 食物評估推薦結果

經最佳化運算後所得出的食物推薦結果，資料視覺化可分為以下幾種：

#### 個案食物推薦列表及圓餅圖

針對每位個案所運算得到的食物推薦結果以列表呈現，除文字外輔以圖片、說明描述、植化素標示，因食物種類繁多，圖文能輔助使用者清楚了解食物資訊。此外，推薦給個案的結果將根據食物類別繪製成圓餅圖，使各項食物類別的比例一目了然（如水果、脂肪、海鮮）（圖3.4a、3.4b）。

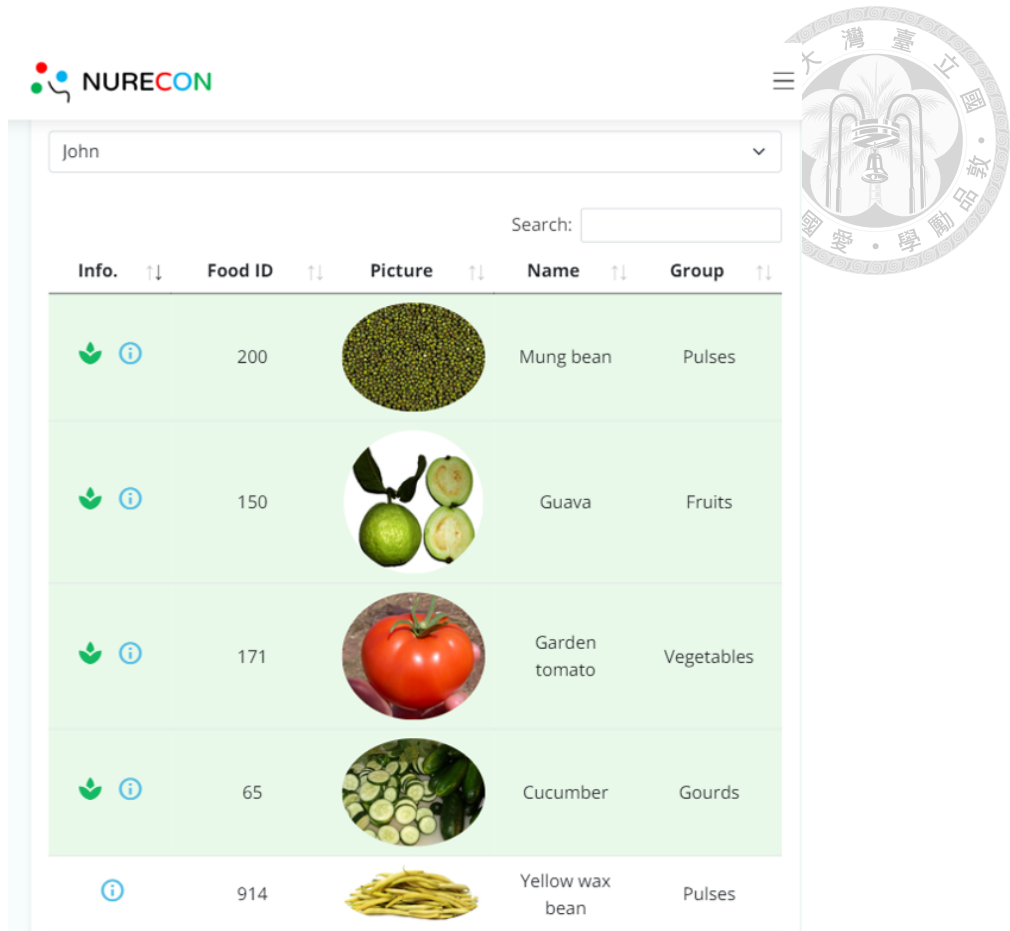
#### 群體食物推薦頻率柱狀圖及圓堆砌

研究者習慣上傳多位個案資料進行綜合分析，系統亦提供將該專案中的所有個案視為一個群體，分析食物推薦的頻率，並以不同顏色區分各食物所屬的類別。其中，柱狀圖用來表達食物與類別推薦的頻率（圖3.5），

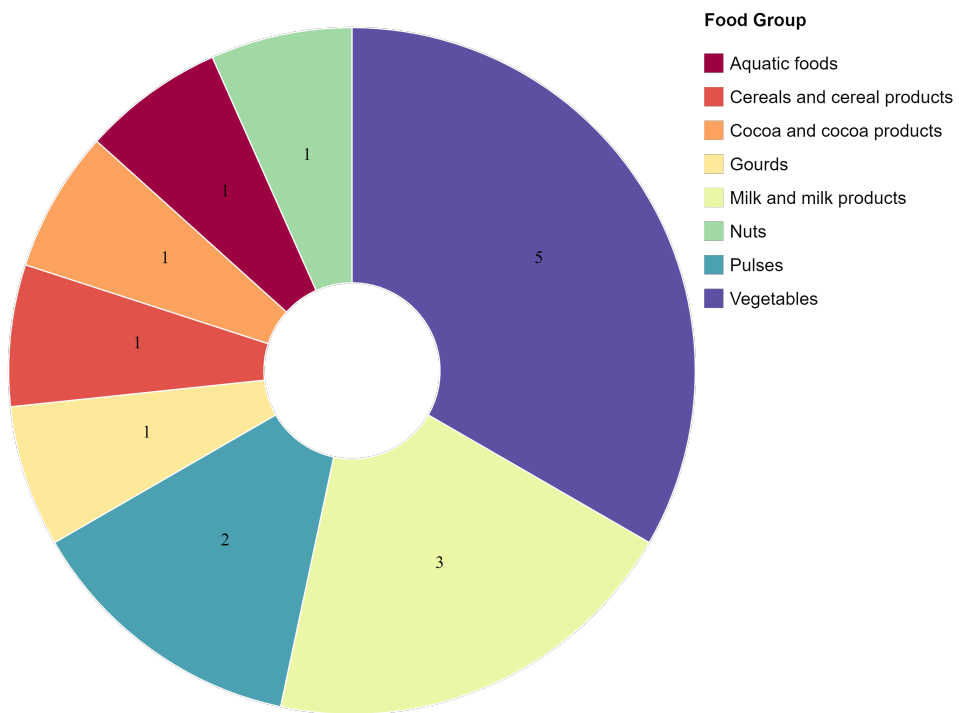
圓堆砌圖則是能夠補足柱狀圖無法呈現食物類別比例的缺點，不同的圓面積大小代表不同食物的類別比例，這些視覺化的效果能讓使用者快速掌握專案群體適合的飲食型態（圖3.6）。

#### 專案間群體食物推薦頻率差異柱狀圖

專案間的群體比較讓研究者觀察不同組別的差異，如圖3.7，藉由實驗組與對照組食物推薦頻率數值相減，可以消除系統與對照組共有食物的推薦頻率，凸顯兩組食物推薦的差異，了解組間經治療、飲食控制與不同處置後的效果。



(a) 個案食物推薦列表。



(b) 個案食物推薦圓餅圖。數字表示該類別所出現的食物推薦數。

圖 3.4: 食物評估推薦結果介面

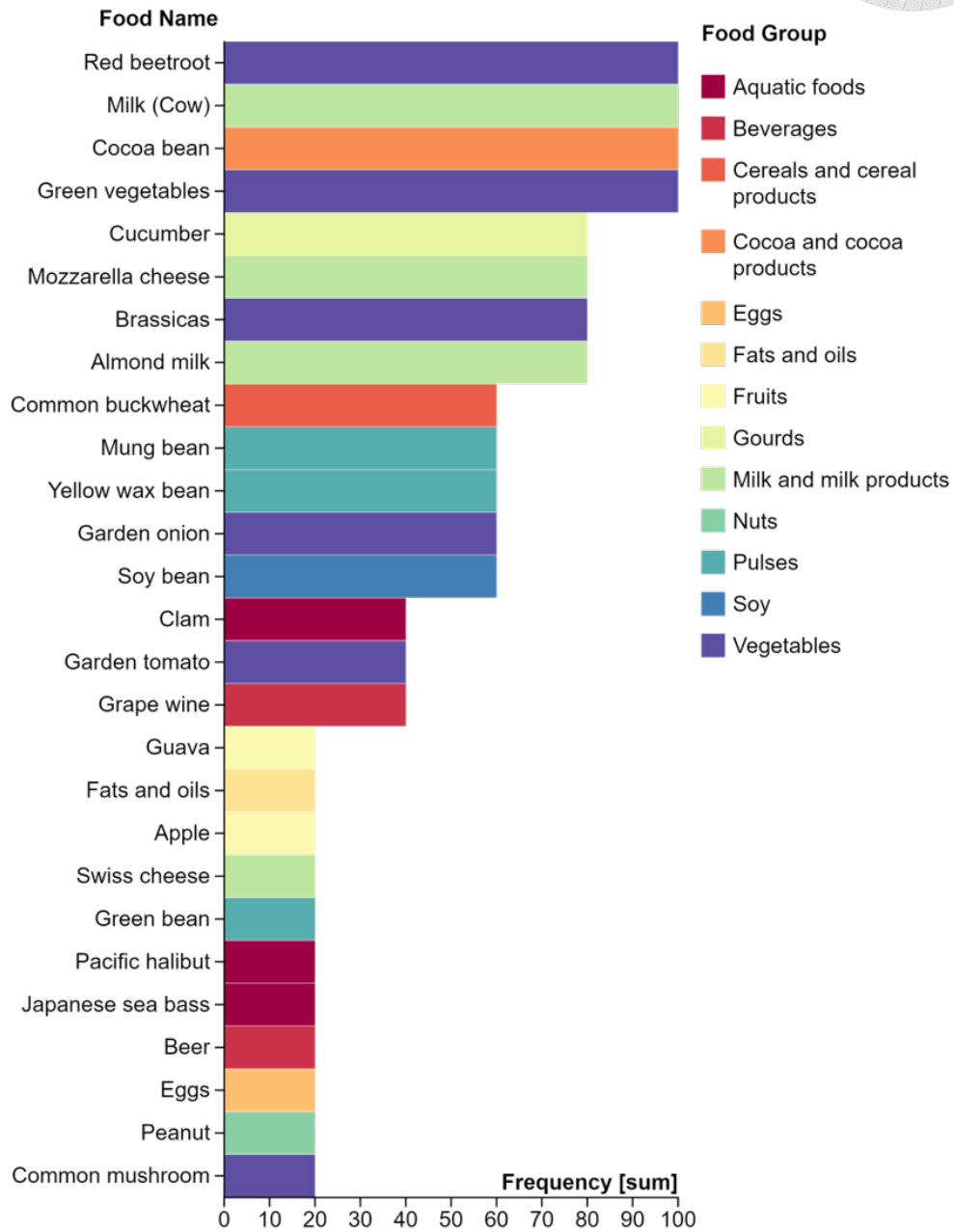


圖 3.5: 食物推薦頻率柱狀圖。

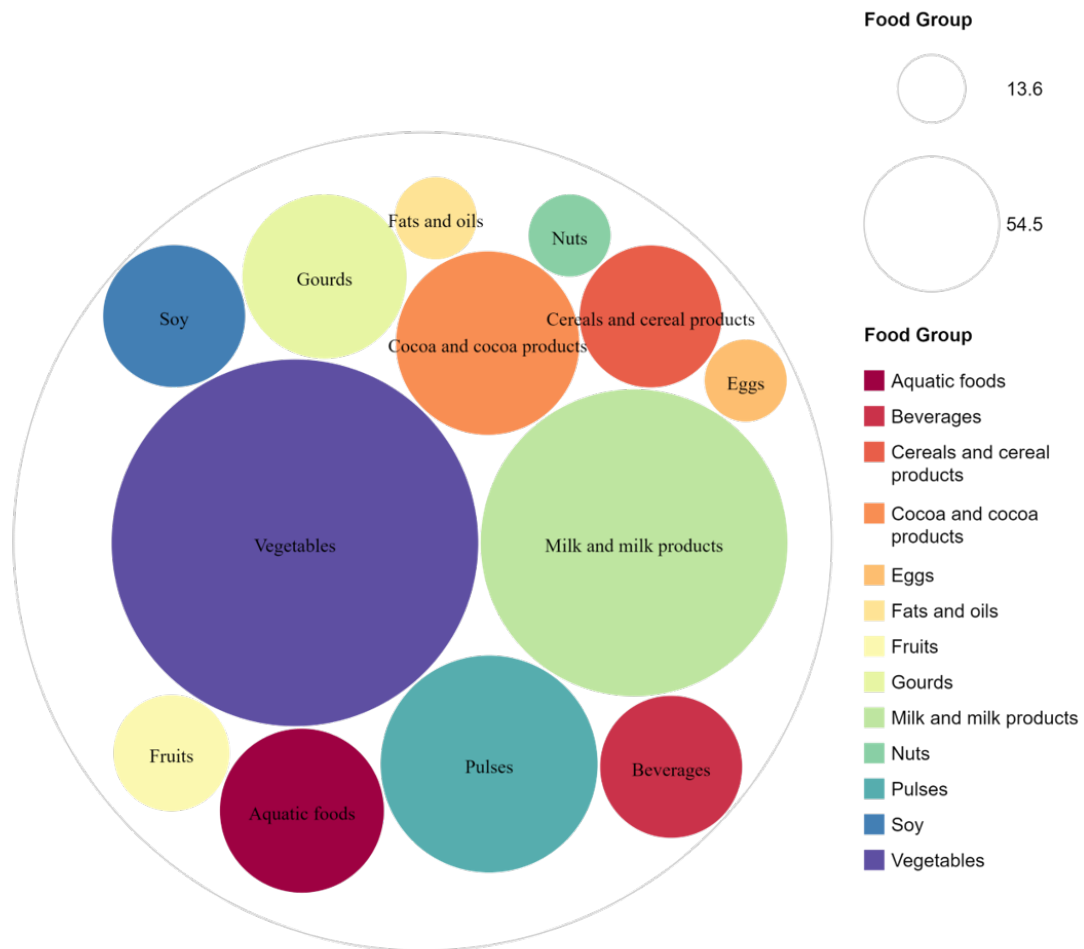


圖 3.6: 群體食物推薦頻率圓堆砌圖。

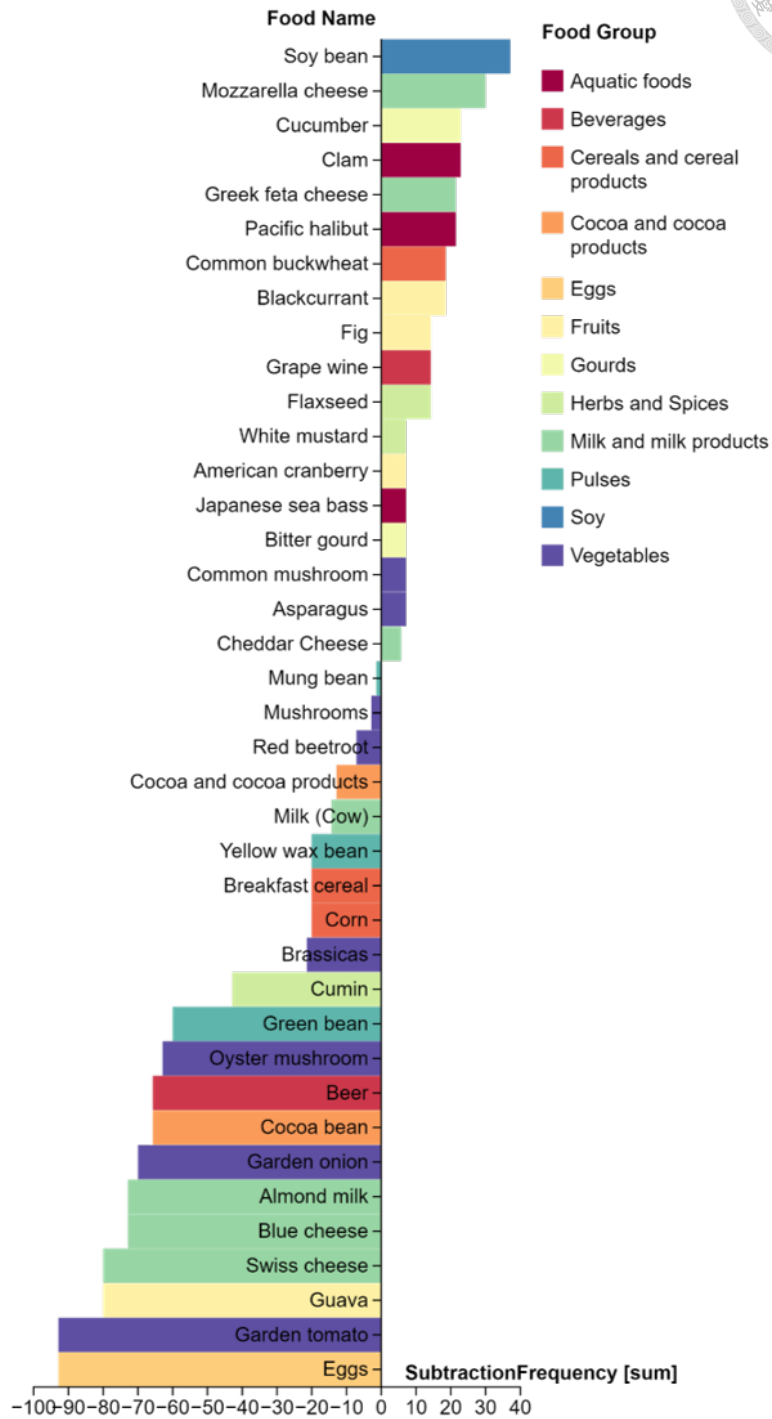


圖 3.7: 群體食物推薦頻率差異柱狀圖。

### 3.1.6 整合與延伸相關菌相分析工具

NURECON 係將現有多款生物資訊工具進行整合與延伸，並以網頁介面形式呈現，主要包含菌相分析工具 EasyMAP [36]、QIIME2 [35] 及 PICRUST2 [39] 基因功能預測工具，上述工具的功能與特色對照如表3.1所示。







表 3.1: NURECON 與相關菌相分析工具對照列表

Categories	Features	NURECON		EasyMAP		QIME2	PICRUSt2
		Web	Python, JavaScript Chinese, English	Web	Python, JavaScript English	CLI, API Python English	CLI Python English
<b>Basic information</b>	Interface						
	Backend Language						
<b>Preprocessing</b>	Tutorial Language						
	Input sequence data format						
	Input sequence data from other tool						
	One-step button/command	✓					✓
	Built-in baseline database	✓					
	Demultiplex			✓	✓	✓	
	Quality control			✓	✓	✓	
	Taxonomic assignment		✓	✓	✓	✓	
	Alpha/Beta diversity			✓	✓	✓	
	Pathway prediction			✓		✓	✓
<b>Analysis</b>	Metabolite and nutrition analysis	✓					
	Food recommendation analysis	✓					
	Differential analysis between projects	✓					
<b>Visualization and results</b>	Taxonomic composition table	✓		✓		✓	
	Taxonomic bar plot			✓		✓	
	Taxonomic forest plot	✓					
	Taxonomic Top 10/20/30 table	✓					
	Enzyme Commission number table	✓				✓	✓
	Pathway table					✓	
	Metabolite and nutrition table	✓					
	Food recommendation table	✓					
	Food recommendation pie chart	✓					
	Food recommendation bar plot	✓					
	Food recommendation circle packing	✓					
	Subtraction frequency bar chart	✓					

CLI, Command-Line Interface; API, Application Programming Interface.



## 3.2 驗證資料與分析結果

### 3.2.1 大腸癌患者

#### 3.2.1.1 微生物菌相組成

從已發表的 2019 年文獻中取得 34 位大腸癌患者實驗組與 118 位健康對照組的大腸癌資料集 [70]，經由系統微生物菌相組成分析，發現大腸癌相關菌種豐富度包含 *Fusobacterium*：*Fusobacterium mortiferum* 實驗組 4.08%，對照組 3.13%；*Fusobacterium nucleatum* 實驗組 0.73%，對照組 0.10%，以及 *Morganella morganii* 實驗組 10.88%，對照組 0.31%，*Fusobacterium* 與 *Morganella morganii* 菌種在大腸癌患者中都具有較高的豐富度，其中 *Morganella morganii* 無論在對照組或是 50 位臺灣健康中老年人資料集（章節 2.4）的菌種比例都較高（0.637%），詳細菌相分析結果列於附錄表 B.1。

#### 3.2.1.2 食物評估推薦結果

系統於食物評估報告中過半數實驗組患者皆推薦 13 種食物：牛奶、香草與香料、花園番茄、紅甜菜根、黃瓜、麥片、雞蛋、綠豆、蕁苔屬植物、可可豆、大豆、啤酒、藍紋起司，經分類以乳製品與蔬菜為最多（圖 3.8）。

比較大腸癌患者實驗組與健康對照組的差異，系統對於患者實驗組傾向推薦蕁苔屬植物、大豆、紅甜菜根、綠色蔬菜、麥片、花園番茄、香草和香料、藍紋起司、杏仁奶、馬蘇里拉起司、蕎麥、四季豆、中國肉桂、黃瓜、牛奶、無花果、桃子、牡蠣、蘑菇、香菇、黑醋栗、瑞士奶酪、魚、葡萄酒、啤酒和日本鱸魚。

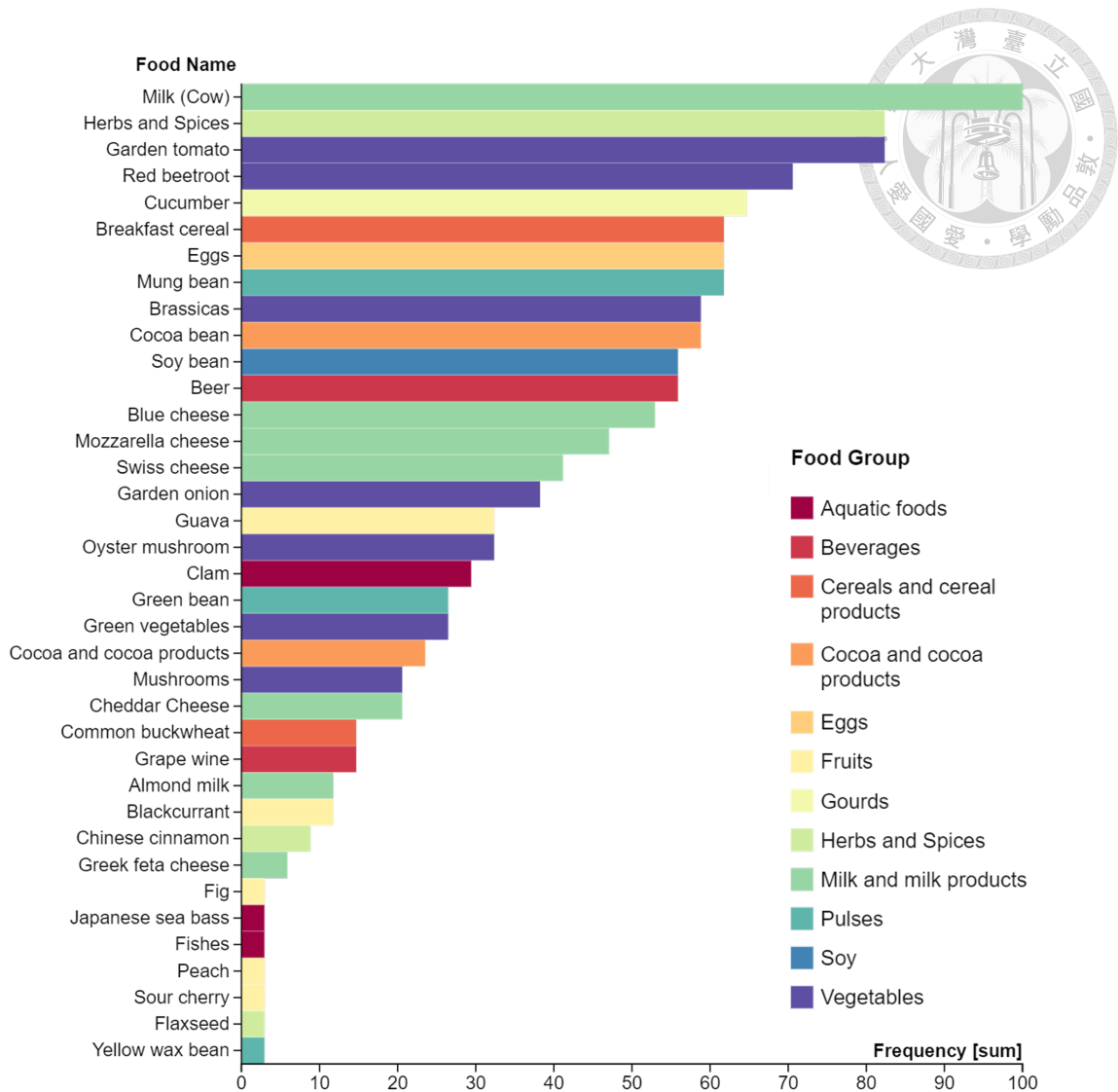


圖 3.8: 大腸癌患者實驗組食物評估推薦結果。橫軸為該項推薦食物出現的頻率，縱軸為食物，不同顏色代表食物所屬的類別，柱狀圖分析結果是將實驗組視為群體進行食物推薦頻率分析。此分析採 50 位臺灣健康中老年人資料集作為比較基準。

健康對照組傾向推薦切達起司、蛤蜊、綠豆、番石榴、黃蠟豆、雞蛋、花園洋蔥、可可和可可製品、可可豆、亞麻籽、葛縷子、胡蘿蔔、大米、紅酒、乾酪、錫蘭肉桂、普通蜜蜂、花生、椰子牛奶、沼澤越橘、百香果、太平洋比目魚、玉米、油脂、普通蘑菇、捲心菜、堅果和酸櫻桃（圖3.9）。

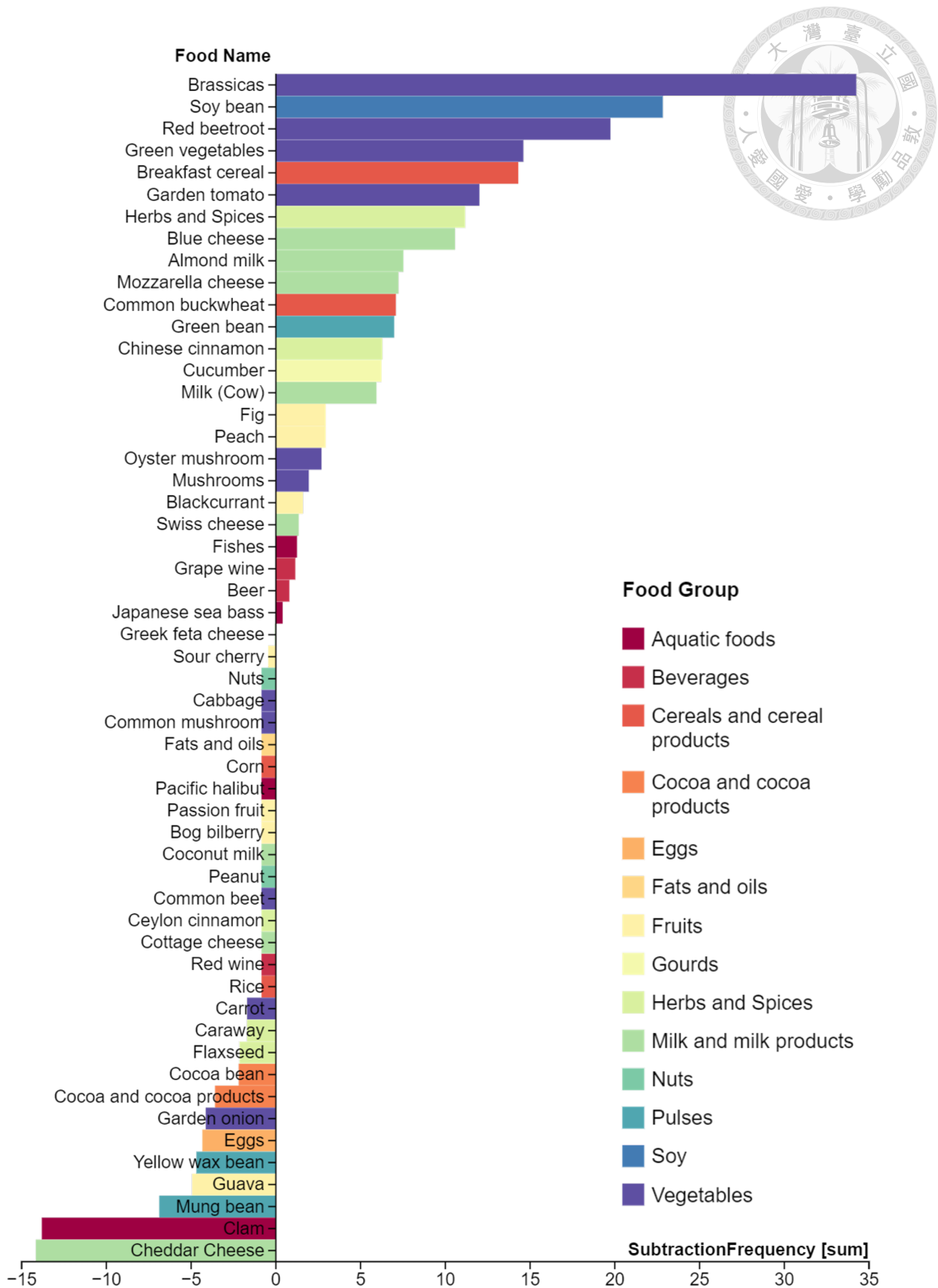


圖 3.9: 大腸癌患者實驗組與健康對照組食物推薦差異分析。橫軸為該項推薦食物出現的頻率（實驗組減去對照組之值），縱軸為食物，顏色代表食物所屬的類別，柱狀圖差異分析結果為正值代表患者實驗組比起健康對照組更需要該項食物，反之負值代表實驗組比起對照組較不需要該項食物，0 則表示兩組對該項食物的推薦頻率相等。此分析採 50 位臺灣健康中老年人資料集作為比較基準。



### 3.2.2 慢性腎臟病患者

#### 3.2.2.1 微生物菌相組成

自己發表的 2021 年文獻取得 100 位慢性腎臟病患者實驗組與 137 位健康對照組的慢性腎臟病資料集 [71]，經由系統微生物菌相組成分析，發現慢性腎臟病相關菌種豐富度包含 *Bifidobacterium* : *Bifidobacterium bifidum* 實驗組 0.99%，對照組 0.96%；*Bifidobacterium longum* 實驗組 5.49%，對照組 1.98%；*Bifidobacterium dentium* 實驗組 1.43%，對照組 0.41%；*Bifidobacterium breve* 實驗組 3.35%，對照組 0.02%；上述菌種在慢性腎臟病患者實驗組中都具有較高的豐富度，詳細菌相分析結果列於附錄表 B.2。

#### 3.2.2.2 食物評估推薦結果

食物評估推薦結果中過半數實驗組患者皆推薦 5 種食物：牛奶、綠豆、蕓苔屬植物、雞蛋和黃瓜，經分類以乳製品與蔬菜為最多（圖 3.10）。

在同樣以 50 位臺灣健康中老年人資料集為基準的條件下，比較慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組的結果差異，系統於患者實驗組傾向推薦大豆、日本鱸魚、花園洋蔥、普通蘑菇、啤酒、麥片、雞蛋、牛奶、黃瓜、馬蘇里拉起司、綠豆、魚、法國車前草、蕎麥、黃蠟豆、羅望子、百香果、普通甜菜、蘋果、酸櫻桃、燕麥、乾酪、椰奶、德國洋甘菊、藍紋起司、可可豆、蕓苔屬植物、蘑菇和甜橙。

健康對照組傾向推薦希臘羊起司、花生、堅果、無花果、亞麻籽、葵花籽油、花椰菜、紅酒、菊苣、葫蘆、苦瓜、橙椒、中國肉桂、豌豆、菠蘿、杏仁奶、綠豆、黑醋栗、大米、馬鈴薯、白芥末、刺山柑、葛縷子、帕瑪森芝士、

可可和可可製品、捲心菜、番石榴、綠色蔬菜、瑞士奶酪、葡萄酒、玉米、太平洋比目魚、蛤蜊、平菇、白葡萄酒、切達起司、奶酪、紅甜菜根、脂肪和油脂 (圖3.11)。

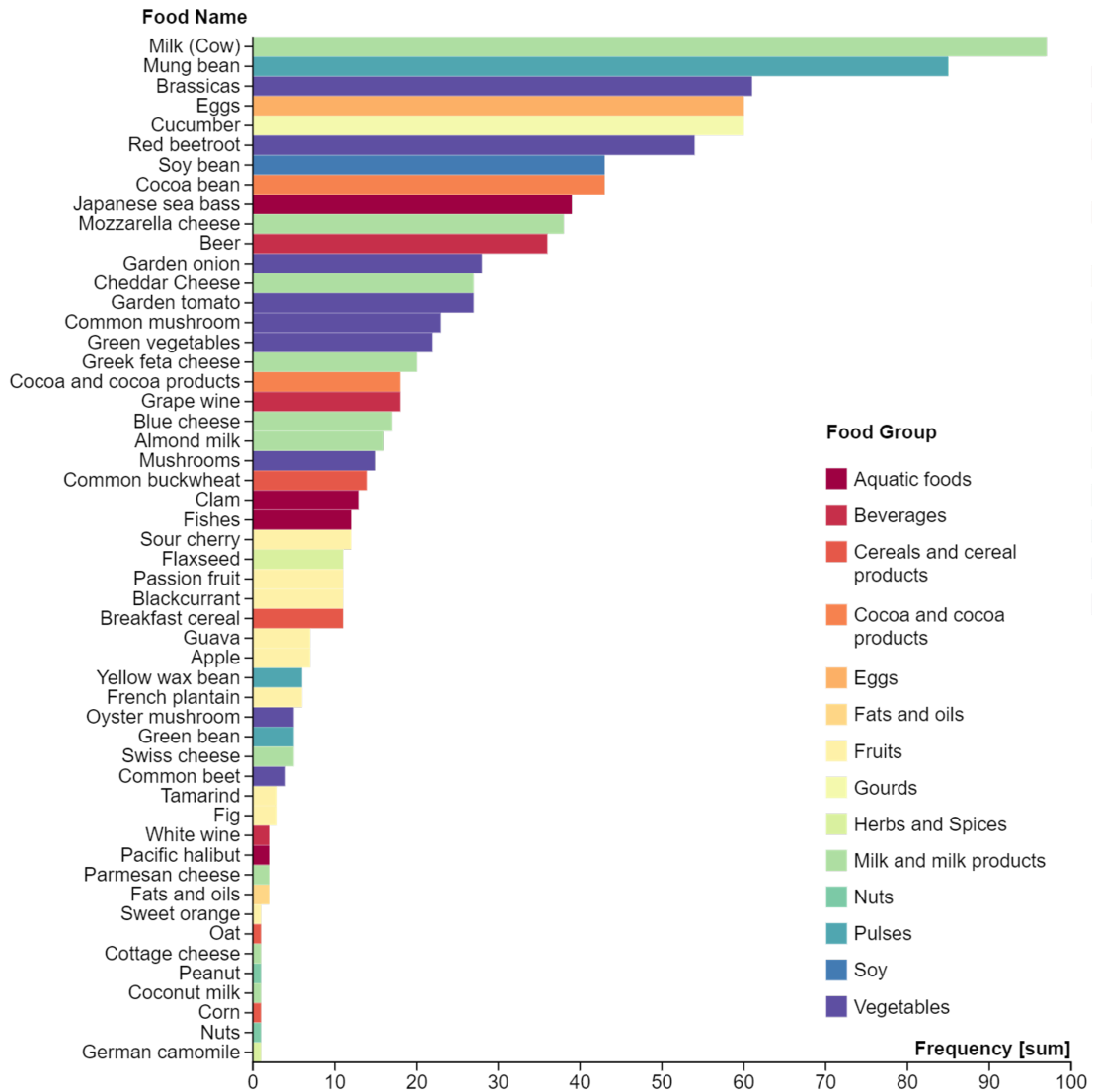


圖 3.10: 慢性腎臟病患者實驗組食物推薦結果。橫軸為該項推薦食物出現的頻率，縱軸為食物，不同顏色代表不同食物所屬的類別，柱狀圖分析結果是將實驗組視為群體進行食物推薦頻率分析。此分析採 50 位臺灣健康中老年人資料集作為比較基準。

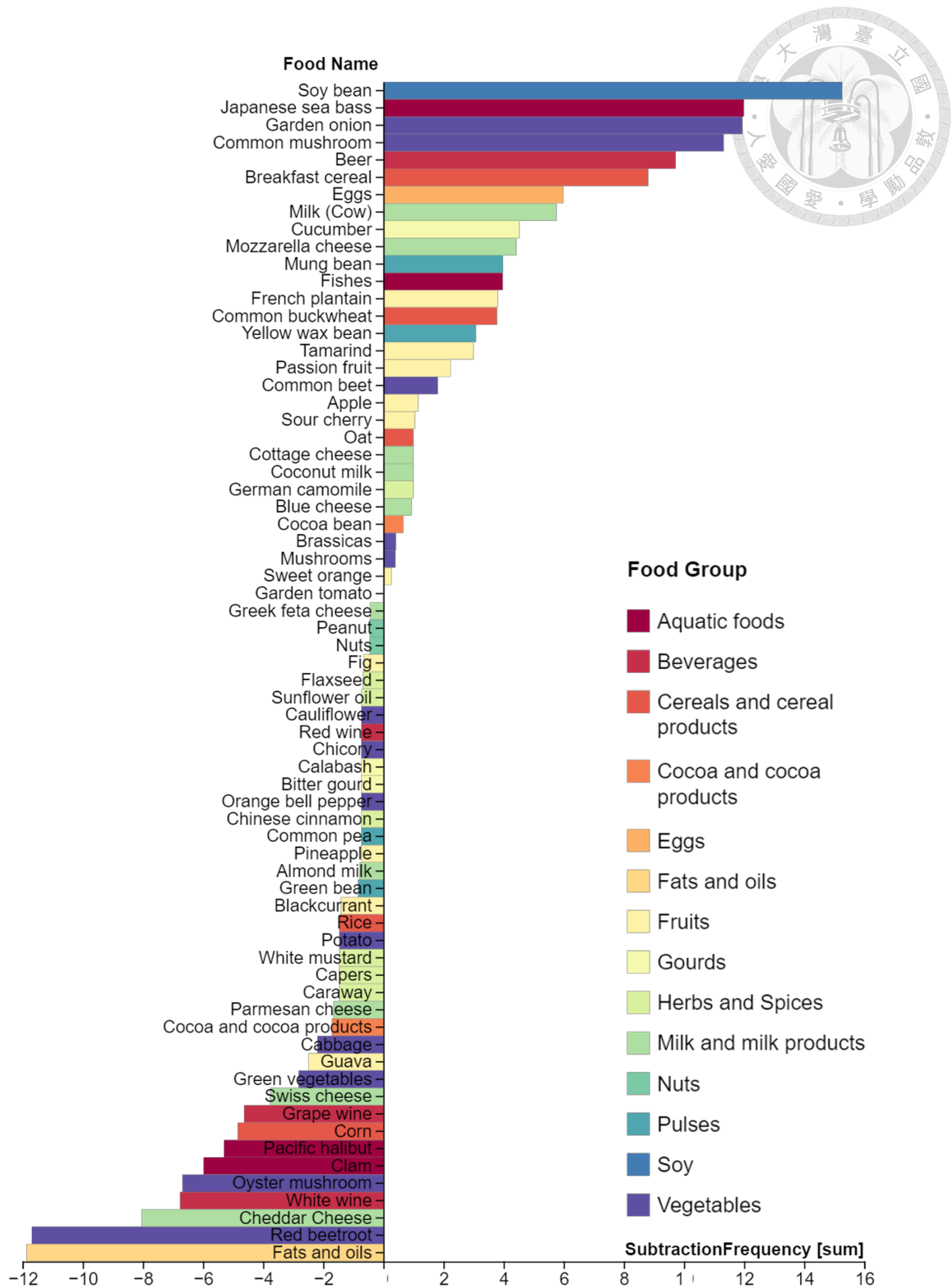


圖 3.11: 慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組食物推薦差異分析。橫軸為該項推薦食物出現的頻率實驗組減去對照組之值，縱軸為食物，顏色代表食物所屬的類別，柱狀圖差異分析結果為正值代表患者實驗組比起健康對照組更需要該項食物，反之負值代表實驗組比起對照組較不需要該項食物，0 則表示兩組對該項食物的推薦頻率相等。此分析採 50 位臺灣健康中老年人資料集作為比較基準。







## 四、 討論

### 4.1 驗證資料討論

#### 4.1.1 大腸癌患者

從大腸癌患者的驗證資料結果中，*Fusobacterium* 與 *Morganella* 屬細菌在有菌相失衡的患者中有較高的豐富度 [70]。同時，也有研究指出高豐富度的 *Morganella morganii* 會產生具有遺傳毒性 (genotoxic) 的化合物 indolamines [72]，NURECON 的分析結果與原文獻研究結果十分吻合 [70]。

食物評估推薦結果中，患者組別被推薦應多攝取蔬菜類食物，包含蕓薹屬植物、紅甜菜根、綠色蔬菜、花園番茄與麥片，其推薦頻率相較健康對照組高出 10%，蕓薹屬植物甚至高於對照組 34%，而大豆類也達到 23% (圖3.9)。蕓薹屬 (brassica) 植物包含油菜花和青花菜或綠花椰菜，其含有豐富硫代葡萄糖苷 (glucosinolates, GLS) 抗發炎效果 [73]，先前研究亦發現人類腸道微生物可以利用 GLS 產生預防大腸癌之蘿蔔硫素 (sulforaphane, SFN) [73], [74]。而穀物類 (早餐麥片 14% 與一般蕎麥 8%) 及大豆，如紅燕麥 (*Avena sativa L.*) 與臺灣野生大豆 (*Glycine max L.*) 都具有豐富的多元不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs)。多元不飽和脂肪酸於腸道中扮演調節與改善腸道微生物失調，包含調節腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 與 COX-2 酶 (cyclooxygenase) 的功能。TNF 與 COX-2 酶在大腸癌細胞中具有高度表現，攝取多元不飽和脂肪酸可降低罹患大腸癌風險 [75]。此外，大豆富含雌馬酚 (equol) 也能降低發生結腸黏膜增生性病灶 (colonic mucosa proliferative lesions) 的風險 [76]。



### 4.1.2 慢性腎臟病患者

慢性腎臟病患者的驗證結果中，*Bifidobacterium* 屬於患者中具有較高豐富度。高豐富度的 *Bifidobacterium* 屬細菌已被發現能為腎臟病患者提供保護性反應 (protective response) [71]。

在食物推薦結果中，發現相當高比例的大豆 (15%)、日本鱸魚 (12%)、洋蔥 (12%) 與蘑菇 (11%) 於患者組別 (圖3.11)。由於腎臟病患者在飲食上受到嚴格限制，其營養素包含多元不飽和脂肪酸、EPA (eicosatetraenoic acid)、DHA (docosahexaenoic acid) 可以延緩腎臟損傷，因此被認為是對患者有益的營養素，而鱸魚含有 DHA 與 EPA，較少的結締組織方便食用與咀嚼的特性適合老年患者，提供患者另一種食物選擇。大豆類亦富含多元不飽和脂肪酸與大豆異黃酮 (soy isoflavones)，具有延緩腎小管擴張 (renal tubule expansion) 與減少間質性發炎 (interstitial inflammation) 的功能 [77]。

除此之外，發現有 7 種水果類出現在結果中，包含黃瓜、法國大蕉 (French plantain)、羅望子 (tamarind)、百香果、蘋果、酸櫻桃與甜橙 (圖3.11)。這些水果屬於鹼性食物 (alkaline-forming foods) 能平衡血液中酸鹼值 [78]。

慢性腎臟病患者在鉀與磷的攝取受到限制，有許多忌口的食物，是間接造成菌相失衡的原因之一，也因此發現部分菌相失衡的患者食物評估推薦結果中，出現患者的禁忌食物，例如啤酒。啤酒屬於發酵性飲料，在 FoodDB 食物與營養素資料庫中列出 279 種化合物，這也代表受飲食限制的患者於系統評估後仍需要專業人士的進一步確認，以剔除不適合罕病或慢性病患者的食物選項。



## 4.2 系統限制

儘管 NURECON 已具備許多功能，但仍有一些限制，如下所述：

### 4.2.1 菌相、營養素及食物關係

首先，從微生物基因功能預測缺乏之酵素至營養化合物的差異分析是以定性呈現，換言之僅能獲得缺乏的化合物與食物，無法透過運算量化缺乏的營養素。原因是攝入食物、消化分解、腸道微生物菌群作用以及吸收營養素的過程中，其相互作用與生化機制相當地複雜，難以建立準確的模型 [23]。

### 4.2.2 忌口食物考量

推薦的食物是根據微生物分解之營養化合物運算，若個案因疾病、過敏和遺傳因素，需要避免食用某些食物，會使得個案腸道中缺乏某些特定的菌種，這也導致系統推算出該患者缺乏某些特定的營養化合物（與前述缺乏特定的菌種有關）。因此，營養師在應用 NURECON 設計個人化食譜時需要針對個案整體條件，確認食物推薦結果的可行性。

### 4.2.3 基準腸道菌相群體資料庫組成與驗證

比起蒐集患者實驗組資料集，於文獻中蒐集「健康」資料集相對困難，目前仍以臺灣人腸道菌相資料集為主，而基礎數據庫的數量仍有增加的空間，未來可以藉由納入更多樣本提高更多樣年齡層的分析面向，在本研究中，選擇大腸癌和慢性腎臟者患者作為驗證資料，主因為兩者在年齡（中老年受試者）與種族（亞洲人）上與基準資料集組成相似。

#### 第四章 討論





## 五、 總結

隨著個人健康管理與營養知識逐漸普及，個人化飲食管理與營養需求增加，目前文獻皆未有任何以細菌 16S rRNA 序列資料為基礎，進行營養素與食物分析的軟體與平台，本研究嘗試以個人化精準營養的方向建立原型，設計出符合研究與應用需求的線上系統。

NURECON 是第一款以營養攝取需求為目標的線上序列分析系統，以 16S rRNA 腸道微生物序列資料為基礎進行分析，提供個人化營養需求報告。系統產出的結果包含：微生物組成分析、微生物基因功能預測、缺乏的營養化合物與飲食建議。搭配視覺化呈現，所有結果於網站中皆提供線上瀏覽與下載。

研究之新穎性在於建立從序列資料至微生物、酵素、營養化合物及食物的分析流程，並以便捷友善的網頁介面供使用者操作。研究人員能透過系統了解受試者腸道菌相與營養素的變化或是與對照組之差異，營養師能藉由系統初步了解個案所缺乏的營養素作為參考資料，再進行深入判斷與規劃食譜。期盼本系統的誕生對未來微生物菌相定序技術的應用，能更進一步貼近使用者日常生活需求。

第五章 總結





## 六、 未來的研究方向

這份論文探討以微生物菌相為基礎，建立個人化營養攝取需求之線上序列分析系統，希望透過評估菌相報告與營養需求給予精準的個人化健康管理。現階段系統資料庫以 16S rRNA V3~V4 序列片段為主，隨著第三代定序技術 (Third Generation Sequencing) 檢驗成本降低與發展成熟，未來系統能擴充以第三代定序技術為基礎，提供更佳的物種分類解析度。應用方面，若研究人員能蒐集同一個案進行「前測」及接受飲食建議數周或數月後的「後測」資料，進行專案間的比較，更能降低實驗偏差，給予更精準的營養攝取與食物建議。此外，在本系統的营养評估流程設計中，個案營養素缺乏結果是經由與系統基準資料庫比較後，得出該營養素為「缺乏」、「充足」的二分法，藉由提供「定性」結果，若未來能蒐集更多菌相資料，並結合 AI (Artificial Intelligence) 模型預測與個案生理數據等方式，透過「定量」提供個案營養素建議攝取量，進一步幫助研究人員與營養師精準評估個案狀況。

第六章 未來的研究方向

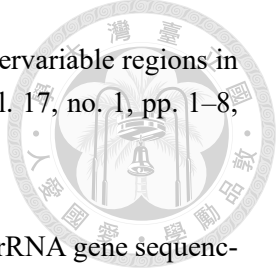


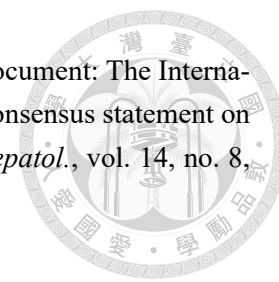




## 參考文獻

- [1] L. A. David, C. F. Maurice, R. N. Carmody, *et al.*, “Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome,” *Nature*, vol. 505, no. 7484, pp. 559–563, 2014,  
doi: <https://doi.org/10.1038/nature12820>.
- [2] A. Panduro, I. Rivera-Iñiguez, M. Sepulveda-Villegas, and S. Roman, “Genes, emotions and gut microbiota: The next frontier for the gastroenterologist,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 23, no. 17, p. 3030, 2017,  
doi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i17.3030>.
- [3] S. R. Konstantinov, “Diet, microbiome, and colorectal cancer,” *Best Pract. & Research Clin. Gastroenterol.*, vol. 31, no. 6, pp. 675–681, 2017,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.09.007>.
- [4] A. E. Mohr, R. Jäger, K. C. Carpenter, *et al.*, “The athletic gut microbiota,” *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, vol. 17, no. 1, p. 24, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.1186/s12970-020-00353-w>.
- [5] B. Ramakrishna, “Probiotic bacteria and their effect on human health and well-being,” *Indian J. Med. Research*, vol. 140, no. 1, pp. 155–155, 2014.
- [6] M. X. Maldonado-Gómez, I. Martínez, F. Bottacini, *et al.*, “Stable engraftment of *Bifidobacterium longum* AH1206 in the human gut depends on individualized features of the resident microbiome,” *Cell host & microbe*, vol. 20, no. 4, pp. 515–526, 2016,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.09.001>.
- [7] I. Allali, R. E. Abotsi, L. A. Tow, *et al.*, “Human microbiota research in africa: A systematic review reveals gaps and priorities for future research,” *Microbiome*, vol. 9, no. 1, p. 241, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01195-7>.
- [8] S. L. McLellan, J. C. Fisher, and R. J. Newton, “The microbiome of urban waters,” *Int. Microbiol.*, vol. 18, no. 3, p. 141, 2015,  
doi: <https://doi.org/10.2436%2F20.1501.01.244>.
- [9] X. Ding, W. Lan, and J.-D. Gu, “A review on sampling techniques and analytical methods for microbiota of cultural properties and historical architecture,” *Appl. Sci.*, vol. 10, no. 22, p. 8099, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.3390/app10228099>.
- [10] Y. S. Bukin, Y. P. Galachyants, I. Morozov, S. Bukin, A. Zakharenko, and T. Zemskaya, “The effect of 16S rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results,” *Sci. Data*, vol. 6, no. 1, pp. 1–14, 2019,  
doi: <https://doi.org/10.1038/sdata.2019.7>.

- 
- [11] B. Yang, Y. Wang, and P.-Y. Qian, “Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis,” *BMC bioinformatics*, vol. 17, no. 1, pp. 1–8, 2016,  
doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-016-0992-y>.
- [12] J. S. Johnson, D. J. Spakowicz, B.-Y. Hong, *et al.*, “Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis,” *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 1, p. 5029, 2019,  
doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>.
- [13] M.-A. Osman, H.-m. Neoh, N.-S. Ab Mutalib, S.-F. Chin, and R. Jamal, “16S rRNA gene sequencing for deciphering the colorectal cancer gut microbiome: Current protocols and workflows,” *Front. Microbiol.*, vol. 9, p. 767, 2018,  
doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00767>.
- [14] F. de Melo, F. C. Milanesi, P. D. M. Angst, and R. V. Oppermann, “A systematic review of the microbiota composition in various peri-implant conditions: Data from 16S rRNA gene sequencing,” *Arch. Oral Biol.*, vol. 117, p. 104776, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104776>.
- [15] A. E. Lindell, M. Zimmermann-Kogadeeva, and K. R. Patil, “Multimodal interactions of drugs, natural compounds and pollutants with the gut microbiota,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 20, no. 7, pp. 431–443, 2022,  
doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00681-5>.
- [16] J. Li, F. Zhao, Y. Wang, *et al.*, “Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension,” *Microbiome*, vol. 5, pp. 1–19, 2017,  
doi: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0222-x>.
- [17] D. C. Baumgart and S. R. Carding, “Inflammatory bowel disease: Cause and immunobiology,” *The Lancet*, vol. 369, no. 9573, pp. 1627–1640, 2007,  
doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60750-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60750-8).
- [18] E. Amabebe, F. O. Robert, T. Agbalalah, and E. S. Orubu, “Microbial dysbiosis-induced obesity: Role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism,” *Br. J. Nutr.*, vol. 123, no. 10, pp. 1127–1137, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.1017/S0007114520000380>.
- [19] L. B. Bindels, N. M. Delzenne, P. D. Cani, and J. Walter, “Towards a more comprehensive concept for prebiotics,” *Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.*, vol. 12, no. 5, pp. 303–310, 2015,  
doi: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.47>.
- [20] D. Mohanty, S. Misra, S. Mohapatra, and P. S. Sahu, “Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition,” *Food bioscience*, vol. 26, pp. 152–160, 2018,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.008>.



[21] G. R. Gibson, R. Hutkins, M. E. Sanders, *et al.*, “Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics,” *Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.*, vol. 14, no. 8, pp. 491–502, 2017,  
doi: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.

[22] H. D. Holscher, “Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota,” *Gut microbes*, vol. 8, no. 2, pp. 172–184, 2017,  
doi: <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>.

[23] D. Zeevi, T. Korem, N. Zmora, *et al.*, “Personalized nutrition by prediction of glycemic responses,” *Cell*, vol. 163, no. 5, pp. 1079–1094, 2015,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.001>.

[24] J. Suez, T. Korem, D. Zeevi, *et al.*, “Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota,” *Nature*, vol. 514, no. 7521, pp. 181–186, 2014,  
doi: <https://doi.org/10.1038/nature13793>.

[25] J. Qin, Y. Li, Z. Cai, *et al.*, “A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes,” *Nature*, vol. 490, no. 7418, pp. 55–60, 2012,  
doi: <https://doi.org/10.1038/nature11450>.

[26] L. A. Frame, E. Costa, and S. A. Jackson, “Current explorations of nutrition and the gut microbiome: A comprehensive evaluation of the review literature,” *Nutr. Rev.*, vol. 78, no. 10, pp. 798–812, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz106>.

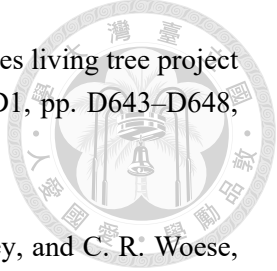
[27] J. K. Nicholson, E. Holmes, J. Kinross, *et al.*, “Host-gut microbiota metabolic interactions,” *Science*, vol. 336, no. 6086, pp. 1262–1267, 2012,  
doi: <https://doi.org/10.1126/science.1223813>.

[28] N. T. Baxter, A. W. Schmidt, A. Venkataraman, K. S. Kim, C. Waldron, and T. M. Schmidt, “Dynamics of human gut microbiota and short-chain fatty acids in response to dietary interventions with three fermentable fibers,” *MBio*, vol. 10, no. 1, pp. e02566–18, 2019,  
doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.02566-18>.

[29] S. Deleu, K. Machiels, J. Raes, K. Verbeke, and S. Vermeire, “Short chain fatty acids and its producing organisms: An overlooked therapy for IBD?” *EBioMedicine*, vol. 66, p. 103293, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103293>.

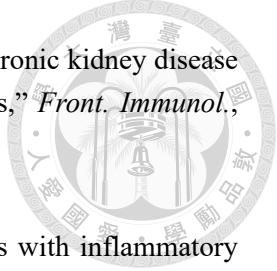
[30] T. Tsukahara, Y. Iwasaki, K. Nakayama, and K. Ushida, “Stimulation of butyrate production in the large intestine of weaning piglets by dietary fructooligosaccharides and its influence on the histological variables of the large intestinal mucosa,” *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, vol. 49, no. 6, pp. 414–421, 2003,  
doi: <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.414>.

- [31] L. Klampfer, J. Huang, T. Sasazuki, S. Shirasawa, and L. Augenlicht, “Inhibition of interferon  $\gamma$  signaling by the short chain fatty acid butyrate,” *Mol. Cancer Res.*, vol. 1, no. 11, pp. 855–862, 2003.
- [32] A. M. Sheflin, C. L. Melby, F. Carbonero, and T. L. Weir, “Linking dietary patterns with gut microbial composition and function,” *Gut microbes*, vol. 8, no. 2, pp. 113–129, 2017, doi: <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1270809>.
- [33] L. Barrea, G. Annunziata, G. Muscogiuri, *et al.*, “Trimethylamine N-oxide, mediterranean diet, and nutrition in healthy, normal-weight adults: Also a matter of sex?” *Nutrition*, vol. 62, pp. 7–17, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.11.015>.
- [34] P. Jantchou, S. Morois, F. Clavel-Chapelon, M.-C. Boutron-Ruault, and F. Carbonnel, “Animal protein intake and risk of inflammatory bowel disease: The E3N prospective study,” *Off. journal Am. College Gastroenterol. ACG*, vol. 105, no. 10, pp. 2195–2201, 2010, doi: <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.192>.
- [35] M. Hall and R. G. Beiko, “16S rRNA gene analysis with QIIME2,” *Microbiome analysis: methods protocols*, pp. 113–129, 2018, doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8728-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8728-3_8).
- [36] Y.-M. Hung, T.-P. Lu, M.-H. Tsai, L.-C. Lai, and E. Y. Chuang, “EasyMAP: A user-friendly online platform for analyzing 16S ribosomal DNA sequencing data,” *New Biotechnol.*, vol. 63, pp. 37–44, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2021.03.001>.
- [37] G. Allard, F. J. Ryan, I. B. Jeffery, and M. J. Claesson, “SPINGO: A rapid species-classifier for microbial amplicon sequences,” *BMC bioinformatics*, vol. 16, no. 1, pp. 1–8, 2015, doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0747-1>.
- [38] N. Segata, J. Izard, L. Waldron, *et al.*, “Metagenomic biomarker discovery and explanation,” *Genome Biol.*, vol. 12, pp. 1–18, 2011, doi: <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>.
- [39] G. M. Douglas, V. J. Maffei, J. R. Zaneveld, *et al.*, “PICRUSt2 for prediction of metagenome functions,” *Nat. Biotechnol.*, vol. 38, no. 6, pp. 685–688, 2020, doi: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>.
- [40] T. Z. DeSantis, P. Hugenholtz, N. Larsen, *et al.*, “Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72, no. 7, pp. 5069–5072, 2006, doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.03006-05>.
- [41] C. Quast, E. Pruesse, P. Yilmaz, *et al.*, “The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, no. D1, pp. D590–D596, 2012, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.

- 
- [42] P. Yilmaz, L. W. Parfrey, P. Yarza, *et al.*, “The SILVA and “all-species living tree project (LTP)” taxonomic frameworks,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, no. D1, pp. D643–D648, 2014,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>.
- [43] B. L. Maidak, G. J. Olsen, N. Larsen, R. Overbeek, M. J. McCaughey, and C. R. Woese, “The RDP (ribosomal database project),” *Nucleic Acids Res.*, vol. 25, no. 1, pp. 109–110, 1997,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/25.1.109>.
- [44] R. Leinonen, H. Sugawara, M. Shumway, and I. N. S. D. Collaboration, “The sequence read archive,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 39, no. suppl\_1, pp. D19–D21, 2010,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1019>.
- [45] M. Kanehisa and S. Goto, “KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, no. 1, pp. 27–30, 2000,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>.
- [46] S. Kim, P. A. Thiessen, E. E. Bolton, *et al.*, “PubChem substance and compound databases,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 44, no. D1, pp. D1202–D1213, 2016,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>.
- [47] D. Wishart, “FooDB: The food database,” *FooDB version*, vol. 1, 2014.
- [48] K. Pavelin, J. A. Cham, P. de Matos, C. Brooksbank, G. Cameron, and C. Steinbeck, “Bioinformatics meets user-centred design: a perspective,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 8, no. 7, p. e1002554, 2012,  
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002554>.
- [49] P. De Matos, J. A. Cham, H. Cao, *et al.*, “The enzyme portal: A case study in applying user-centred design methods in bioinformatics,” *BMC bioinformatics*, vol. 14, pp. 1–15, 2013,  
doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-103>.
- [50] *Expasy*, [Online].  
Available: <https://www.expasy.org/>.
- [51] S. Duvaud, C. Gabella, F. Lisacek, H. Stockinger, V. Ioannidis, and C. Durinx, “Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 49, no. W1, pp. W216–W227, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab225>.
- [52] *The online collaborative whiteboard for teams*, [Online].  
Available: <https://www.figma.com/figjam/>.
- [53] *The visual collaboration platform for every team: Miro*, [Online].  
Available: <https://miro.com/>.
- [54] *The collaborative interface design tool*. [Online].  
Available: <https://www.figma.com/>.



- [55] *Adobe XD*, [Online].  
Available: <https://helpx.adobe.com/tw/xd/get-started.html>.
- [56] J. T. Mark Otto, *Bootstrap*, [Online].  
Available: <https://getbootstrap.com/>.
- [57] *The react component library you always wanted*, [Online].  
Available: <https://mui.com/>.
- [58] *Datatables table plug-in for jquery*, [Online].  
Available: <https://datatables.net/>.
- [59] *Rawgraphs*, [Online].  
Available: <https://www.rawgraphs.io/>.
- [60] M. Bostock, *Data-driven documents*, [Online].  
Available: <https://d3js.org/>.
- [61] *Free bootstrap templates*, [Online].  
Available: <https://bootstrapmade.com/>.
- [62] *Jquery*, [Online].  
Available: <https://jquery.com/>.
- [63] *Zepid*, [Online].  
Available: <https://zepid.readthedocs.io/en/latest/>.
- [64] *Django: The web framework for perfectionists with deadlines*, [Online].  
Available: <https://www.djangoproject.com/>.
- [65] *Subprocess*, [Online].  
Available: <https://docs.python.org/zh-tw/3/library/subprocess.html>.
- [66] *Pulp*, [Online].  
Available: <https://pypi.org/project/PuLP/>.
- [67] 李家岩, *Python-pulp 成功大學資訊系作業研究課程教材*, [Online].  
Available: <https://github.com/jasonyoyo/python-pulp>.
- [68] Y.-M. Hung, W.-N. Lyu, M.-L. Tsai, *et al.*, "To compare the performance of prokaryotic taxonomy classifiers using curated 16S full-length rRNA sequences," *Comput. Biol. Med.*, vol. 145, p. 105416, 2022,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2022.105416>.
- [69] *Twnbiome*, [Online].  
Available: <http://twnbiome.cgm.ntu.edu.tw/>.
- [70] T.-W. Yang, W.-H. Lee, S.-J. Tu, *et al.*, "Enterotype-based analysis of gut microbiota along the conventional adenoma-carcinoma colorectal cancer pathway," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, 2019,  
doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45588-z>.

- 
- [71] F. Liu, X. Xu, L. Chao, *et al.*, “Alteration of the gut microbiome in chronic kidney disease patients and its association with serum free immunoglobulin light chains,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 609700, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.609700>.
- [72] Y. Cao, J. Oh, M. Xue, *et al.*, “Commensal microbiota from patients with inflammatory bowel disease produce genotoxic metabolites,” *Science*, vol. 378, no. 6618, p. eabm3233, 2022,  
doi: <https://doi.org/10.1126/science.abm3233>.
- [73] K. Sikorska-Zimny and L. Beneduce, “The metabolism of glucosinolates by gut microbiota,” *Nutrients*, vol. 13, no. 8, p. 2750, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.3390/nu13082750>.
- [74] J. M. Macharia, R. W. Mwangi, N. Rozmann, *et al.*, “Medicinal plants with anti-colorectal cancer bioactive compounds: Potential game-changers in colorectal cancer management,” *Biomed. & Pharmacother.*, vol. 153, p. 113383, 2022,  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113383>.
- [75] L. A. Mendonça, R. dos Santos Ferreira, R. de Cássia Avellaneda Guimarães, *et al.*, “The complex puzzle of interactions among functional food, gut microbiota, and colorectal cancer,” *Front. Oncol.*, vol. 8, p. 325, 2018,  
doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00325>.
- [76] L. Polimeno, M. Barone, A. Mosca, *et al.*, “Soy metabolism by gut microbiota from patients with precancerous intestinal lesions,” *Microorganisms*, vol. 8, no. 4, p. 469, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040469>.
- [77] I.-S. Kim, W.-S. Yang, and C.-H. Kim, “Beneficial effects of soybean-derived bioactive peptides,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 16, p. 8570, 2021,  
doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22168570>.
- [78] C.-Y. Yang and D.-C. Tarng, “Diet, gut microbiome and indoxyl sulphate in chronic kidney disease patients,” *Nephrology*, vol. 23, pp. 16–20, 2018,  
doi: <https://doi.org/10.1111/nep.13452>.
- [79] P.-Y. Liu, W.-K. Wu, C.-C. Chen, S. Panyod, L.-Y. Sheen, and M.-S. Wu, “Evaluation of compatibility of 16s rRNA V3V4 and V4 amplicon libraries for clinical microbiome profiling,” *BioRxiv*, pp. 2020–08, 2020,  
doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.18.256818>.
- [80] A. Michielan and R. D’Inca, “Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: Pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut,” *Mediat. Inflamm.*, vol. 2015, 2015,  
doi: <https://doi.org/10.1155/2015/628157>.
- [81] S. Wang, *Mixed-integer programming: A guide to computational decision-making*, [Online]. Available: <https://www.toptal.com/algorithms/mixed-integer-programming>.

參考文獻

- [82] MDChain, *16S rRNA* 從次世代到三代定序-生資 *QIIME2* 資料分析趣, [Online].  
Available: <https://ithelp.ithome.com.tw/users/20151510/ironman/5598>.







## 附錄 A 引用文獻之圖片

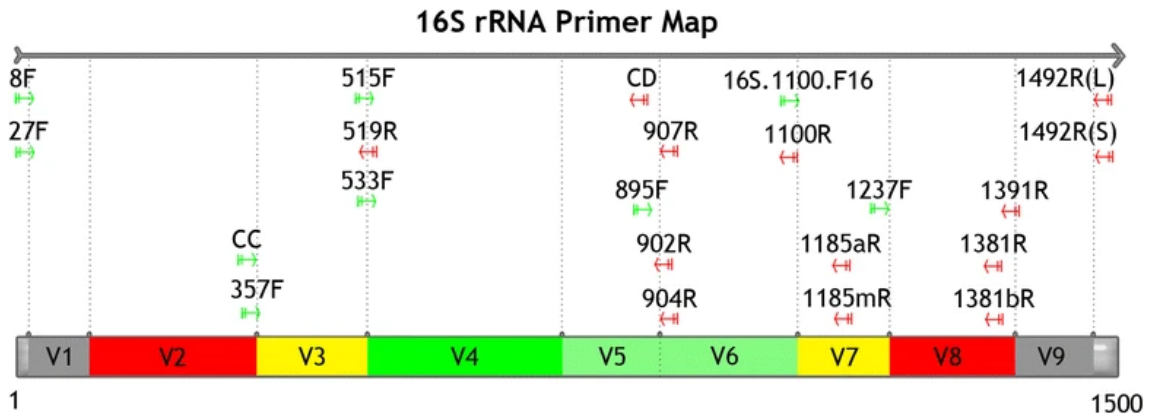


圖 A.1: 16S rRNA 引子圖譜。16S rRNA 9 個高度變異區，可根據實驗設計選擇不同片段的引子，放大特定片段的 DNA 進行定序。圖片引用自文獻 [11]。

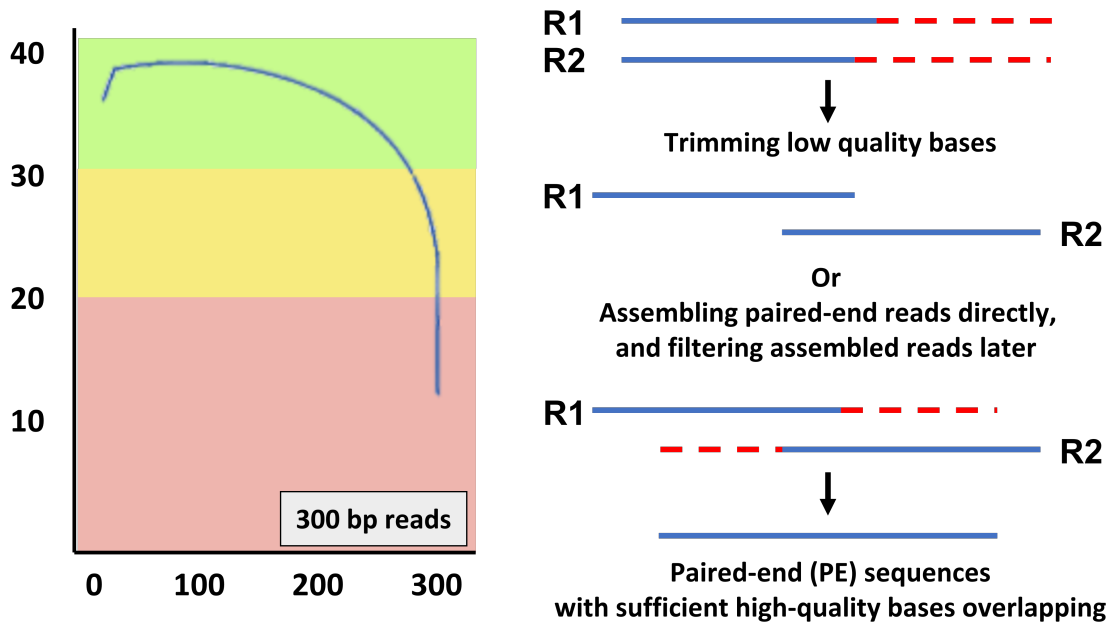


圖 A.2: 利用雙尾定序方式提高序列品質。左圖描述序列品質 (quality score) 隨長度增加而降低，右圖 R1 與 R2 分別為不同方向讀取的序列片段，圖片引用自文獻 [79]。

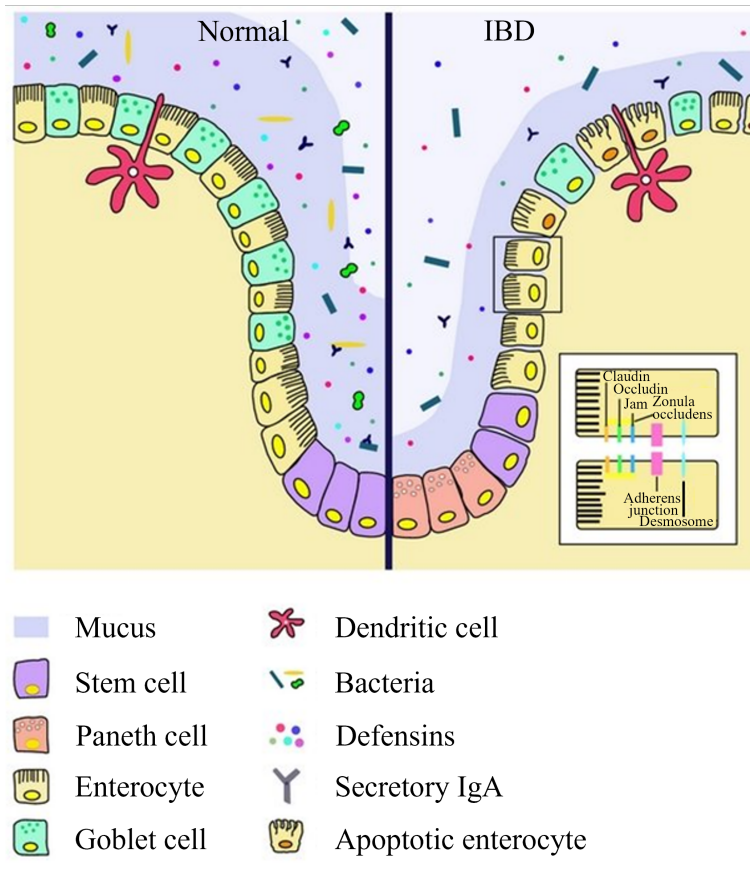


圖 A.3: 健康腸道與發炎性腸道疾病之腸壁屏障。腸壁屏障由腸細胞 (enterocytes)、杯狀細胞 (goblet)、班尼斯細胞 (Paneth)、腸內分泌細胞 (enteroendocrine) 及免疫細胞 (如樹突細胞 dendritic cell) 組成，具有調節離子與小分子通透性功能。發炎性腸道疾病 (IBD) 患者由於其屏障通透性提高，進而引起免疫反應。圖片引用自文獻 [80]。

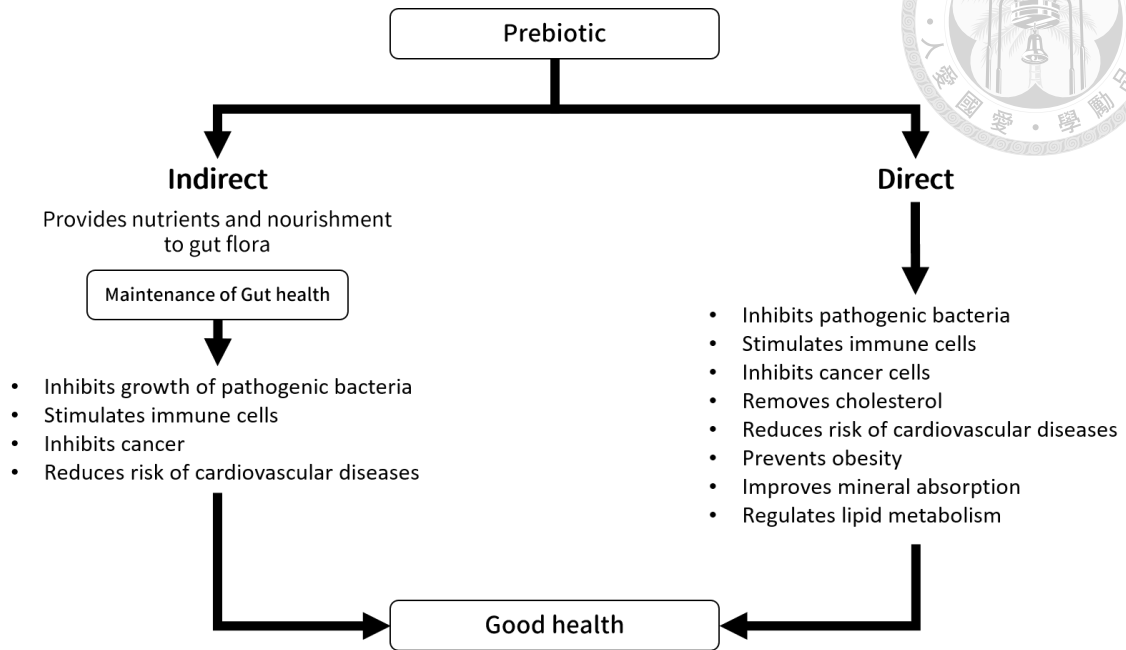
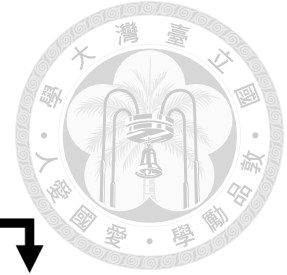


圖 A.4: 益生元的攝取對人體直接與間接影響示意圖。圖片引用自文獻 [20]。

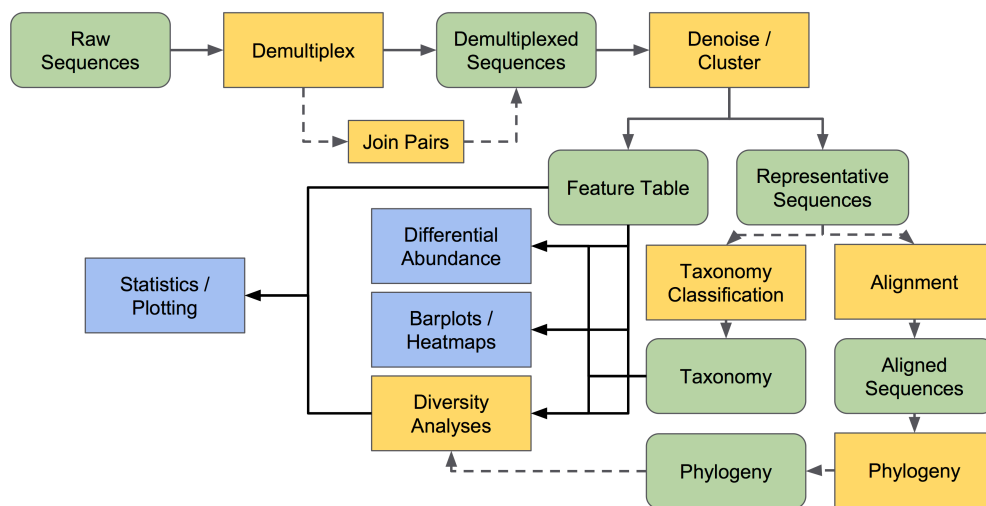


圖 A.5: 微生物菌相分析流程。黃色表示內建的分析功能，綠色表示輸入資料，藍色表示輸出資料。圖片引用自文獻 [35]。





## 附錄 B 補充資料表格

### B.1 大腸癌患者實驗組與健康對照組的菌相分析

以系統內 50 位臺灣健康中老年人資料集為基準，Mean±SD 表示平均數正負一個標準差，Median±SD 表示中位數正負一個標準差，CT、EXP 分別代表健康對照組與大腸癌患者實驗組，Avg. 表示平均數，NaN 表示該菌種只出現於基準資料庫，未出現在驗證資料集，統計方式比較 CT、EXP 同一菌種之差異，採 t 檢定 (Independent Samples t test)：兩個母體平均數差的檢定，假設變異數相等。

表 B.1: 大腸癌患者實驗組與健康對照組的菌相分析

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Morganella morganii</i>	0.637±0.591	0.704±0.591	0.312	10.882	0.076
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	1.767±1.205	2.07±1.205	3.126	4.085	0.712
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	0.013±0.013	0.009±0.013	0.097	0.727	0.184
<i>Prevotella stercorea</i>	11.095±9.61	13.72±9.61	2.815	4.246	0.416
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	8.994±5.723	8.298±5.723	2.359	2.279	0.868
<i>Alloprevotella rava</i>	6.791±5.859	7.512±5.859	4.964	3.475	0.671
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10.39±9.77	6.516±9.77	6.510	5.571	0.503
<i>Bacteroides plebeius</i>	6.708±8.295	3.582±8.295	3.278	4.518	0.402
<i>Phascolarctobacterium faecium</i>	3.459±2.935	2.9±2.935	2.935	2.857	0.931



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Sutterella stercoricanis</i>	3.316±1.772	2.708±1.772	0.694	2.150	0.012
<i>Bacteroides coprocola</i>	4.204±4.861	2.315±4.861	4.787	3.939	0.675
<i>Bacteroides massiliensis</i>	2.975±2.736	1.963±2.736	2.031	2.245	0.794
<i>Bacteroides uniformis</i>	2.793±2.473	1.961±2.473	3.361	1.962	0.058
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	2.292±1.506	1.476±1.506	1.547	2.825	NaN
<i>Dialister succinatiphilus</i>	1.724±1.547	1.471±1.547	2.922	3.477	0.733
<i>Bacteroides dorei</i>	5.094±8.336	1.439±8.336	2.476	11.373	0.000
<i>Sutterella parvirubra</i>	1.432±2.014	1.432±2.014	0.055	0.340	0.175
<i>Megamonas funiformis</i>	2.268±2.19	1.417±2.19	5.088	0.771	0.330
<i>Prevotella copri</i>	14.399±17.634	1.392±17.634	9.388	8.356	0.762
<i>Desulfovibrio piger</i>	1.247±0.679	1.338±0.679	1.691	0.238	0.179
<i>Paraprevotella clara</i>	1.943±1.971	1.244±1.971	1.749	1.036	0.349
<i>Alistipes putredinis</i>	1.302±1.008	1.212±1.008	1.527	1.884	0.400
<i>Bacteroides stercoris</i>	3.804±5.336	1.159±5.336	2.738	1.104	0.058
<i>Parabacteroides merdae</i>	1.402±1.593	1.089±1.593	1.247	1.875	0.051
<i>Oscillibacter valericigenes</i>	1.133±0.763	1.049±0.763	1.028	1.530	0.071
<i>Bacteroides rodentium</i>	1.513±0.945	0.999±0.945	1.343	NaN	NaN
<i>Paraprevotella xylaniphila</i>	2.348±3.26	0.993±3.26	1.405	1.025	NaN

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Lactobacillus ruminis</i>	0.917±1.102	0.917±1.102	NaN	NaN	NaN
<i>Dialister invisus</i>	1.033±1.257	0.898±1.257	1.125	0.038	0.613
<i>Oscillospira guilliermondii</i>	1.385±1.131	0.897±1.131	1.086	1.179	0.791
<i>Eubacterium ruminantium</i>	1.077±1.203	0.854±1.203	1.331	0.673	0.548
<i>Bacteroides eggerthii</i>	0.995±0.932	0.733±0.932	1.240	1.853	0.545
<i>Bacteroides ovatus</i>	1.462±2.144	0.678±2.144	1.820	1.345	0.505
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1.195±1.419	0.66±1.419	1.255	1.279	0.955
<i>Mitsuokella multacida</i>	1.025±1.27	0.607±1.27	0.851	0.027	NaN
<i>Eubacterium eligens</i>	1.438±1.953	0.595±1.953	0.467	1.982	0.000
<i>Sutterella wadsworthensis</i>	1.252±1.421	0.571±1.421	0.671	0.423	0.708
<i>Bacteroides caccae</i>	1.193±2.177	0.53±2.177	1.085	1.009	0.819
<i>Barnesiella intestinihominis</i>	0.756±1.014	0.525±1.014	0.733	1.046	0.288
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1.25±2.335	0.458±2.335	0.070	0.090	0.711
<i>Parasutterella excrementihominis</i>	1.368±2.114	0.435±2.114	0.883	0.371	0.486
<i>Bacteroides fingoldii</i>	0.664±0.677	0.416±0.677	0.527	0.135	0.601
<i>Roseburia intestinalis</i>	0.477±0.413	0.415±0.413	0.791	0.418	0.700
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0.415±0.559	0.415±0.559	NaN	NaN	NaN
<i>Bacteroides coprophilus</i>	1.3±1.664	0.388±1.664	1.863	NaN	NaN



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Eubacterium rectale</i>	0.549±0.477	0.388±0.477	0.684	0.377	0.421
<i>Bacteroides xyloxylosum</i>	1.083±1.531	0.361±1.531	1.518	0.725	0.178
<i>Roseburia faecis</i>	0.55±0.581	0.357±0.581	0.662	3.400	0.002
<i>Coprococcus eutactus</i>	0.847±1.061	0.347±1.061	0.632	0.264	0.538
<i>Alistipes shahii</i>	0.342±0.246	0.323±0.246	0.604	0.813	0.343
<i>Flavonifractor plautii</i>	0.483±0.482	0.313±0.482	0.605	0.824	0.235
<i>Bilophila wadsworthia</i>	0.413±0.376	0.303±0.376	0.629	0.487	0.423
<i>Roseburia inulinivorans</i>	0.406±0.385	0.279±0.385	0.487	0.910	0.102
<i>Fusobacterium varium</i>	1.088±1.961	0.275±1.961	1.630	0.539	0.434
<i>Gemmiger formicilis</i>	0.359±0.34	0.262±0.34	0.404	0.575	0.255
<i>Parasutterella secunda</i>	0.45±0.445	0.256±0.445	0.149	NaN	NaN
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	2.267±4.128	0.254±4.128	0.481	0.122	0.649
<i>Bacteroides fragilis</i>	1.32±3.808	0.246±3.808	2.121	4.567	0.109
<i>Butyricimonas virosa</i>	0.289±0.235	0.239±0.235	0.400	0.606	0.122
<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	0.239±0.332	0.239±0.332	0.093	NaN	NaN
<i>Ruminococcus bromii</i>	0.422±0.52	0.237±0.52	1.045	0.981	0.877
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	0.439±0.441	0.235±0.441	0.583	1.007	0.278
<i>Ruminococcus albus</i>	0.486±1.055	0.234±1.055	0.655	0.611	0.916



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Bacteroides chinchillae</i>	0.444±0.566	0.226±0.566	NaN	NaN	NaN
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	0.22	0.22	0.080	0.008	NaN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.213±0.269	0.213±0.269	0.293	1.051	0.007
<i>Succinatimonas hippei</i>	0.185±0.099	0.21±0.099	0.142	NaN	NaN
<i>Clostridium paraputrificum</i>	0.21±0.287	0.21±0.287	0.157	NaN	NaN
<i>Bacteroides clarus</i>	1.318±2.233	0.199±2.233	0.684	0.662	0.978
<i>Odoribacter splanchnicus</i>	0.308±0.274	0.199±0.274	0.358	0.531	0.049
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0.298±0.381	0.192±0.381	0.110	NaN	NaN
<i>Bacteroides stercorisoris</i>	0.188	0.188	0.591	NaN	NaN
<i>Clostridium nexile</i>	0.309±0.489	0.184±0.489	0.189	0.783	0.000
<i>Veillonella dispar</i>	0.534±0.848	0.177±0.848	1.477	0.416	0.160
<i>Bacteroides salyersiae</i>	0.395±0.492	0.172±0.492	0.387	2.658	0.000
<i>Bacteroides intestinalis</i>	1.314±3.25	0.163±3.25	0.385	0.424	0.862
<i>Eubacterium desmolans</i>	0.21±0.243	0.162±0.243	0.266	0.135	0.177
<i>Eubacterium bifforme</i>	0.307±0.562	0.159±0.562	0.243	0.806	0.014
<i>Veillonella parvula</i>	0.372±0.583	0.156±0.583	0.613	0.690	NaN
<i>Coprobacter fastidiosus</i>	0.387±0.584	0.15±0.584	0.271	2.885	0.000
<i>Eubacterium coprostanoligenes</i>	0.457±0.61	0.149±0.61	0.749	1.121	0.237



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Anaerostipes hadrus</i>	0.213±0.235	0.148±0.235	0.295	0.242	0.729
<i>Cloacibacillus porcorum</i>	0.146±0.11	0.147±0.11	0.281	2.841	0.000
<i>Veillonella atypica</i>	0.624±1.056	0.144±1.056	0.451	0.536	0.831
<i>Parabacteroides johnsonii</i>	0.523±0.728	0.143±0.728	0.311	0.641	0.299
<i>Sporobacter termitidis</i>	0.448±0.703	0.142±0.703	0.348	NaN	NaN
<i>Clostridium lactatifermentans</i>	0.319±0.497	0.138±0.497	0.187	0.643	0.000
<i>Roseburia hominis</i>	0.201±0.167	0.138±0.167	0.376	0.612	0.167
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0.397±0.68	0.137±0.68	0.526	0.818	0.433
<i>Intestinimonas butyriciproducens</i>	0.318±0.472	0.136±0.472	0.243	0.561	0.016
<i>Alistipes finegoldii</i>	0.307±0.505	0.127±0.505	0.339	1.315	0.000
<i>Veillonella rogosae</i>	0.577±0.976	0.126±0.976	0.213	2.289	NaN
<i>Blautia glucerasea</i>	0.128±0.115	0.125±0.115	0.171	NaN	NaN
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	0.12	0.12	0.487	0.856	0.392
<i>Ruminococcus champanellensis</i>	0.484±0.785	0.12±0.785	0.830	NaN	NaN
<i>Eubacterium xylanophilum</i>	0.189±0.187	0.12±0.187	NaN	NaN	NaN
<i>Blautia luti</i>	0.163±0.157	0.117±0.157	0.129	NaN	NaN
<i>Akkermansia muciniphila</i>	3.841±7.436	0.115±7.436	4.009	3.395	0.763
<i>Fusobacterium equinum</i>	0.113	0.113	NaN	0.009	NaN

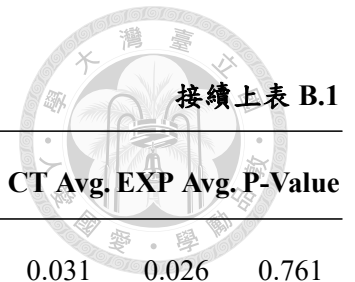
接續上表 B.1

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Clostridium aldenense</i>	0.422±0.743	0.111±0.743	0.193	0.229	0.663
<i>Clostridium disporicum</i>	0.359±0.843	0.111±0.843	0.272	1.416	0.012
<i>Eubacterium hallii</i>	0.217±0.346	0.102±0.346	0.070	0.095	0.539
<i>Victivallis vadensis</i>	0.183±0.267	0.099±0.267	0.094	0.464	0.013
<i>Ruminococcus torques</i>	0.172±0.203	0.094±0.203	0.475	0.915	0.097
<i>Ruminococcus gnavus</i>	0.14±0.194	0.094±0.194	0.797	0.661	0.776
<i>Eubacterium siraeum</i>	0.614±1.135	0.093±1.135	0.657	0.375	0.552
<i>Ruminococcus obeum</i>	0.197±0.248	0.093±0.248	0.127	0.174	0.561
<i>Clostridium tertium</i>	0.093±0.053	0.093±0.053	0.056	NaN	NaN
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	0.12±0.11	0.09±0.11	0.027	NaN	NaN
<i>Dorea longicatena</i>	0.159±0.266	0.09±0.266	0.229	0.301	0.349
<i>Megasphaera micronuciformis</i>	0.5±0.83	0.089±0.83	0.734	0.383	0.585
<i>Catenibacterium mitsuokai</i>	0.122±0.118	0.085±0.118	1.082	0.416	0.757
<i>Clostridium ruminantium</i>	0.147±0.183	0.083±0.183	0.247	0.681	0.055
<i>Anaerotruncus colihominis</i>	0.117±0.094	0.082±0.094	0.112	0.069	0.549
<i>Ruminococcus callidus</i>	0.21±0.312	0.081±0.312	0.133	0.521	0.008
<i>Coprobacillus cateniformis</i>	0.141±0.161	0.079±0.161	0.039	0.060	0.549
<i>Butyricicoccus pullicaecorum</i>	0.144±0.212	0.079±0.212	0.065	NaN	NaN



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Ruminococcus lactaris</i>	0.158±0.191	0.078±0.191	0.488	0.477	0.981
<i>Alistipes senegalensis</i>	0.146±0.18	0.078±0.18	0.131	0.163	0.642
<i>Citrobacter freundii</i>	0.152±0.169	0.076±0.169	0.828	0.119	0.331
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	0.076	0.076	0.008	NaN	NaN
<i>Bifidobacterium longum</i>	0.229±0.463	0.072±0.463	0.217	0.303	0.652
<i>Blautia faecis</i>	0.097±0.085	0.069±0.085	0.120	0.082	0.757
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0.097±0.082	0.068±0.082	0.123	NaN	NaN
<i>Collinsella aerofaciens</i>	0.086±0.082	0.068±0.082	0.240	0.501	0.041
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0.538±0.87	0.066±0.87	5.097	1.216	0.372
<i>Eubacterium ramulus</i>	0.073±0.062	0.065±0.062	0.150	0.108	0.683
<i>Alistipes indistinctus</i>	0.146±0.214	0.064±0.214	0.381	0.246	0.321
<i>Clostridium ramosum</i>	0.116±0.151	0.063±0.151	0.207	0.176	0.785
<i>Bacteroides nordii</i>	0.13±0.19	0.063±0.19	0.174	0.314	0.199
<i>Parabacteroides gordonii</i>	0.197±0.302	0.062±0.302	0.227	0.353	0.476
<i>Asteroleplasma anaerobium</i>	0.062	0.062	NaN	NaN	NaN
<i>Eubacterium ventriosum</i>	0.133±0.203	0.062±0.203	0.312	0.193	0.426
<i>Parabacteroides goldsteinii</i>	0.186±0.31	0.061±0.31	0.365	1.739	0.005
<i>Clostridium methylpentosum</i>	0.105±0.119	0.06±0.119	0.067	NaN	NaN

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Bacteroides pectinophilus</i>	0.06	0.06	NaN	NaN	NaN
<i>Coprococcus comes</i>	0.103±0.112	0.057±0.112	0.233	0.731	0.011
<i>Eggerthella sinensis</i>	0.057	0.057	0.097	NaN	NaN
<i>Prevotella buccalis</i>	0.054±0.061	0.054±0.061	0.036	NaN	NaN
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.048±0.016	0.052±0.016	NaN	NaN	NaN
<i>Clostridium hylemonae</i>	0.256±0.607	0.051±0.607	0.106	0.374	NaN
<i>Allisonella histaminiformans</i>	0.055±0.05	0.051±0.05	0.252	0.211	NaN
<i>Clostridium hathewayi</i>	0.25±0.654	0.048±0.654	0.151	0.086	0.218
<i>Desulfovibrio legallii</i>	0.236±0.353	0.046±0.353	0.156	NaN	NaN
<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>	0.165±0.231	0.046±0.231	0.320	0.310	0.959
<i>Butyricimonas synergistica</i>	0.147±0.198	0.046±0.198	0.088	NaN	NaN
<i>Peptococcus niger</i>	0.063±0.067	0.043±0.067	0.060	NaN	NaN
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	0.041±0.019	0.041±0.019	NaN	NaN	NaN
<i>Oxalobacter formigenes</i>	0.046±0.03	0.04±0.03	0.130	0.104	0.787
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	0.04±0.034	0.04±0.034	NaN	NaN	NaN
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.04±0.042	0.04±0.042	0.122	NaN	NaN
<i>Clostridium bartlettii</i>	0.071±0.107	0.039±0.107	0.085	0.218	0.023
<i>Gemella morbillorum</i>	0.039±0.048	0.039±0.048	0.026	0.587	0.310



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Anaeroglobus geminatus</i>	0.754±1.448	0.039±1.448	0.031	0.026	0.761
<i>Clostridium citroniae</i>	0.063±0.059	0.039±0.059	0.099	NaN	NaN
<i>Parabacteroides chinchillae</i>	0.066±0.079	0.039±0.079	0.087	NaN	NaN
<i>Howardella ureilytica</i>	0.04±0.017	0.038±0.017	0.069	NaN	NaN
<i>Enterobacter kobei</i>	0.038	0.038	NaN	NaN	NaN
<i>Cloacibacillus evryensis</i>	0.125±0.168	0.038±0.168	0.154	1.112	0.003
<i>Blautia stercoris</i>	0.103±0.116	0.037±0.116	0.103	NaN	NaN
<i>Pseudoflavonifractor capillosus</i>	0.077±0.183	0.037±0.183	0.112	NaN	NaN
<i>Lactonifactor longoviformis</i>	0.036±0.015	0.036±0.015	0.050	NaN	NaN
<i>Collinsella tanakaei</i>	0.027±0.014	0.035±0.014	0.200	0.366	0.390
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.034	0.034	0.011	NaN	NaN
<i>Turcibacter sanguinis</i>	0.041±0.036	0.033±0.036	0.213	0.096	0.734
<i>Clostridium lavalense</i>	0.041±0.029	0.032±0.029	0.114	0.044	0.230
<i>Coprococcus catus</i>	0.071±0.094	0.032±0.094	0.058	0.075	0.587
<i>Clostridium symbiosum</i>	0.08±0.119	0.031±0.119	0.261	0.870	0.118
<i>Dorea formicigenerans</i>	0.041±0.038	0.03±0.038	0.075	0.237	0.001
<i>Bifidobacterium dentium</i>	0.03	0.03	0.044	0.093	NaN
<i>Clostridium aminobutyricum</i>	0.044±0.037	0.03±0.037	0.116	0.241	0.170

接續上表 B.1

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Lactobacillus iners</i>	0.029	0.029	NaN	NaN	NaN
<i>Clostridium butyricum</i>	0.028	0.028	0.116	NaN	NaN
<i>Slackia faecicanis</i>	0.027±0.005	0.027±0.005	NaN	0.314	NaN
<i>Lautropia mirabilis</i>	0.027	0.027	0.035	NaN	NaN
<i>Bacteroides faecichinchillae</i>	0.027±0.018	0.027±0.018	NaN	NaN	NaN
<i>Bifidobacterium breve</i>	0.027	0.027	NaN	NaN	NaN
<i>Eubacterium cylindroides</i>	0.118±0.175	0.026±0.175	0.090	NaN	NaN
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.026±0.027	0.026±0.027	NaN	0.074	NaN
<i>Dehalobacterium formicoaceticum</i>	0.038±0.035	0.026±0.035	0.040	0.017	NaN
<i>Clostridium glycyrrhizinilyticum</i>	0.048±0.043	0.025±0.043	0.099	0.082	NaN
<i>Clostridium leptum</i>	0.113±0.201	0.024±0.201	0.445	0.213	0.463
<i>Clostridium baratii</i>	0.024	0.024	NaN	NaN	NaN
<i>Haemophilus pittmaniae</i>	0.024	0.024	0.023	NaN	NaN
<i>Christensenella minuta</i>	0.067±0.129	0.024±0.129	0.061	NaN	NaN
<i>Prevotella melaninogenica</i>	0.023	0.023	NaN	NaN	NaN
<i>Gordonibacter pamelaee</i>	0.023	0.023	0.036	NaN	NaN
<i>Enterococcus faecium</i>	0.022	0.022	NaN	NaN	NaN
<i>Eggerthella lenta</i>	0.035±0.035	0.021±0.035	0.037	0.015	NaN



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Leptotrichia goodfellowii</i>	0.02	0.02	NaN	NaN	NaN
<i>Holdemania filiformis</i>	0.027±0.023	0.017±0.023	0.085	0.057	0.641
<i>Lactobacillus ingluviei</i>	0.017	0.017	NaN	NaN	NaN
<i>Parvimonas micra</i>	0.017±0.013	0.017±0.013	0.047	1.604	0.376
<i>Bacillus coagulans</i>	0.017	0.017	NaN	NaN	NaN
<i>Pyramidobacter piscolens</i>	0.044±0.054	0.017±0.054	0.058	2.134	0.000
<i>Clostridium spiroforme</i>	0.017	0.017	0.016	NaN	NaN
<i>Alistipes massiliensis</i>	0.019±0.015	0.016±0.015	0.071	NaN	NaN
<i>Streptococcus mutans</i>	0.015±0.005	0.016±0.005	0.031	0.047	NaN
<i>Campylobacter concisus</i>	0.027±0.025	0.015±0.025	0.011	0.016	NaN
<i>Eubacterium limosum</i>	0.015	0.015	0.012	0.017	NaN
<i>Propionibacterium acnes</i>	0.015	0.015	NaN	NaN	NaN
<i>Blautia producta</i>	0.015	0.015	NaN	NaN	NaN
<i>Fingoldia magna</i>	0.015	0.015	0.015	NaN	NaN
<i>Dialister pneumosintes</i>	0.015±0.004	0.015±0.004	0.278	0.256	0.939
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	0.048±0.061	0.014±0.061	NaN	NaN	NaN
<i>Prevotella disiens</i>	0.014±0.014	0.014±0.014	0.006	NaN	NaN
<i>Rothia mucilaginosa</i>	0.015±0.009	0.014±0.009	0.010	NaN	NaN

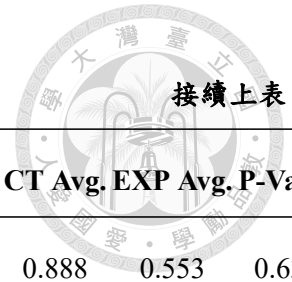


接續上表 B.1

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Clostridium sporosphaeroides</i>	0.013±0.008	0.014±0.008	0.055	0.049	0.863
<i>Hydrogenoanaerobacterium saccharovorans</i>	0.018±0.015	0.014±0.015	NaN	NaN	NaN
<i>Selenomonas artemidis</i>	0.014	0.014	0.007	NaN	NaN
<i>Blautia hydrogenotrophica</i>	0.021±0.019	0.014±0.019	0.038	0.034	NaN
<i>Clostridium innocuum</i>	0.016±0.009	0.014±0.009	0.083	0.061	0.599
<i>Clostridium neonatale</i>	0.014	0.014	0.404	NaN	NaN
<i>Comamonas kerstersii</i>	0.013	0.013	0.264	0.144	NaN
<i>Lactobacillus reuteri</i>	0.013	0.013	0.021	NaN	NaN
<i>Peptoniphilus duerdenii</i>	0.013	0.013	NaN	NaN	NaN
<i>Solobacterium moorei</i>	0.012	0.012	NaN	1.436	NaN
<i>Anaerofilum pentosovorans</i>	0.017±0.013	0.011±0.013	0.060	NaN	NaN
<i>Prevotella buccae</i>	0.011	0.011	0.343	NaN	NaN
<i>Prevotella bivia</i>	0.023±0.029	0.011±0.029	0.024	0.244	NaN
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.011±0.009	0.011±0.009	0.008	0.405	0.237
<i>Dialister propionicifaciens</i>	0.011	0.011	0.033	NaN	NaN
<i>Slackia piriformis</i>	0.01	0.01	0.012	0.024	NaN
<i>Selenomonas noxia</i>	0.01	0.01	0.017	NaN	NaN
<i>Eubacterium dolichum</i>	0.01±0.005	0.009±0.005	0.112	0.083	0.627



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Prevotella timonensis</i>	0.009	0.009	0.019	NaN	NaN
<i>Ignatzschineria larvae</i>	0.008	0.008	NaN	NaN	NaN
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	0.008	0.008	0.096	0.353	NaN
<i>Clostridium scindens</i>	0.011±0.008	0.008±0.008	0.075	0.050	NaN
<i>Lactobacillus aviarius</i>	0.008±0.001	0.008±0.001	NaN	NaN	NaN
<i>Streptococcus sobrinus</i>	0.008	0.008	0.215	0.020	NaN
<i>Streptococcus pleomorphus</i>	0.007	0.007	NaN	0.027	NaN
<i>Campylobacter gracilis</i>	0.007	0.007	0.022	NaN	NaN
<i>Leptotrichia wadei</i>	0.006	0.006	0.020	NaN	NaN
<i>Clostridium saccharogumia</i>	0.006	0.006	0.029	NaN	NaN
<i>Slackia isoflavoniconvertens</i>	0.006	0.006	0.033	NaN	NaN
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0.005±0.002	0.005±0.002	NaN	NaN	NaN
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.005	0.005	NaN	1.499	NaN
<i>Campylobacter hominis</i>	0.005±0.001	0.005±0.001	0.032	NaN	NaN
<i>Prevotella corporis</i>	0.004	0.004	0.042	NaN	NaN
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	0.004	0.004	NaN	NaN	NaN
<i>Gemella haemolysans</i>	0.003	0.003	0.017	0.083	0.004
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	4.599±2.309	0.0±2.309	1.983	4.049	0.159



接續上表 B.1

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Acidaminococcus intestini</i>	0.865±1.215	0.0±1.215	0.888	0.553	0.630



## B.2 慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組的菌相分析

以系統內 50 位臺灣健康中老年人資料集為基準，Mean±SD 表示平均數正負一個標準差，Median±SD 表示中位數正負一個標準差，CT、EXP 分別代表健康對照組與慢性腎臟病患者實驗組，Avg. 表示平均數，NaN 表示該菌種只出現於基準資料庫，未出現在驗證資料集，統計方式比較 CT、EXP 同一菌種之差異，採 t 檢定 (Independent Samples t test)：兩個母體平均數差的檢定，假設變異數相等。

表 B.2: 慢性腎臟病患者實驗組與健康對照組的菌相分析

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	P-Value
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0.298±0.381	0.192±0.381	0.963	0.992	0.934
<i>Bifidobacterium longum</i>	0.229±0.463	0.072±0.463	1.987	5.495	0.009
<i>Bifidobacterium dentium</i>	0.03	0.03	0.418	1.432	0.082
<i>Bifidobacterium breve</i>	0.027	0.027	0.02	3.354	0.592
<i>Alistipes putredinis</i>	1.302±1.008	1.212±1.008	0.829	0.886	0.758
<i>Alistipes shahii</i>	0.342±0.246	0.323±0.246	0.543	0.238	0.003
<i>Alistipes finegoldii</i>	0.307±0.505	0.127±0.505	0.184	0.326	0.120
<i>Alistipes senegalensis</i>	0.146±0.18	0.078±0.18	0.15	0.071	0.176
<i>Alistipes indistinctus</i>	0.146±0.214	0.064±0.214	0.292	0.253	0.537
<i>Alistipes massiliensis</i>	0.019±0.015	0.016±0.015	0.095	0.074	0.826
<i>Prevotella stercorea</i>	11.095±9.61	13.72±9.61	1.135	0.772	0.614
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	8.994±5.723	8.298±5.723	6.249	5.513	0.415


 接續上表 B.2

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Alloprevotella rava</i>	6.791±5.859	7.512±5.859	1.094	1.013	0.906
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10.39±9.77	6.516±9.77	2.659	2.171	0.310
<i>Bacteroides plebeius</i>	6.708±8.295	3.582±8.295	3.553	1.223	0.010
<i>Phascolarctobacterium faecium</i>	3.459±2.935	2.9±2.935	1.374	1.141	0.540
<i>Sutterella stercoricanis</i>	3.316±1.772	2.708±1.772	0.454	0.326	0.659
<i>Bacteroides coprocola</i>	4.204±4.861	2.315±4.861	2.09	1.781	0.772
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	1.767±1.205	2.07±1.205	1.939	0.227	0.421
<i>Bacteroides massiliensis</i>	2.975±2.736	1.963±2.736	0.994	0.921	0.844
<i>Bacteroides uniformis</i>	2.793±2.473	1.961±2.473	2.676	2.399	0.580
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	2.292±1.506	1.476±1.506	0.162	0.003	NaN
<i>Dialister succinatiphilus</i>	1.724±1.547	1.471±1.547	1.74	2.23	0.669
<i>Bacteroides dorei</i>	5.094±8.336	1.439±8.336	1.372	1.065	0.618
<i>Sutterella parvirubra</i>	1.432±2.014	1.432±2.014	0.034	0.014	0.247
<i>Megamonas funiformis</i>	2.268±2.19	1.417±2.19	2.998	2.429	0.768
<i>Prevotella copri</i>	14.399±17.634	1.392±17.634	2.943	1.846	0.245
<i>Desulfovibrio piger</i>	1.247±0.679	1.338±0.679	0.312	0.161	0.381
<i>Paraprevotella clara</i>	1.943±1.971	1.244±1.971	0.51	0.565	0.807
<i>Bacteroides stercoris</i>	3.804±5.336	1.159±5.336	1.588	1.022	0.273



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Parabacteroides merdae</i>	1.402±1.593	1.089±1.593	1.05	0.966	0.704
<i>Oscillibacter valericigenes</i>	1.133±0.763	1.049±0.763	1.174	0.936	0.368
<i>Bacteroides rodentium</i>	1.513±0.945	0.999±0.945	1.171	0.015	0.399
<i>Paraprevotella xylaniphila</i>	2.348±3.26	0.993±3.26	0.111	NaN	NaN
<i>Lactobacillus ruminis</i>	0.917±1.102	0.917±1.102	0.15	0.63	NaN
<i>Dialister invisus</i>	1.033±1.257	0.898±1.257	1.51	0.564	0.316
<i>Oscillospira guilliermondii</i>	1.385±1.131	0.897±1.131	0.797	0.531	0.130
<i>Eubacterium ruminantium</i>	1.077±1.203	0.854±1.203	0.68	0.558	0.692
<i>Bacteroides eggerthii</i>	0.995±0.932	0.733±0.932	0.557	0.25	0.217
<i>Morganella morganii</i>	0.637±0.591	0.704±0.591	0.347	0.452	0.850
<i>Bacteroides ovatus</i>	1.462±2.144	0.678±2.144	1.299	1.744	0.422
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1.195±1.419	0.66±1.419	0.828	1.504	0.180
<i>Mitsuokella multacida</i>	1.025±1.27	0.607±1.27	0.212	0.007	NaN
<i>Eubacterium eligens</i>	1.438±1.953	0.595±1.953	0.315	0.223	0.184
<i>Sutterella wadsworthensis</i>	1.252±1.421	0.571±1.421	0.062	0.1	0.197
<i>Bacteroides caccae</i>	1.193±2.177	0.53±2.177	1.048	0.786	0.449
<i>Barnesiella intestinihominis</i>	0.756±1.014	0.525±1.014	0.871	0.656	0.482
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1.25±2.335	0.458±2.335	0.708	1.345	0.107

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Parasutterella excrementihominis</i>	1.368±2.114	0.435±2.114	0.729	0.242	0.164
<i>Bacteroides finegoldii</i>	0.664±0.677	0.416±0.677	0.788	0.348	0.386
<i>Roseburia intestinalis</i>	0.477±0.413	0.415±0.413	0.651	0.307	0.084
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0.415±0.559	0.415±0.559	0.055	0.377	0.037
<i>Bacteroides coprophilus</i>	1.3±1.664	0.388±1.664	1.129	0.91	0.815
<i>Eubacterium rectale</i>	0.549±0.477	0.388±0.477	2.13	2.309	0.763
<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	1.083±1.531	0.361±1.531	0.932	0.625	0.255
<i>Roseburia faecis</i>	0.55±0.581	0.357±0.581	1.737	1.312	0.723
<i>Coprococcus eutactus</i>	0.847±1.061	0.347±1.061	0.586	0.391	0.364
<i>Flavonifractor plautii</i>	0.483±0.482	0.313±0.482	0.386	0.579	0.090
<i>Bilophila wadsworthia</i>	0.413±0.376	0.303±0.376	0.098	0.068	0.327
<i>Roseburia inulinivorans</i>	0.406±0.385	0.279±0.385	1.321	0.709	0.067
<i>Fusobacterium varium</i>	1.088±1.961	0.275±1.961	1.995	0.341	0.463
<i>Gemmiger formicilis</i>	0.359±0.34	0.262±0.34	1.918	1.685	0.590
<i>Parasutterella secunda</i>	0.45±0.445	0.256±0.445	0.047	0.011	0.350
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	2.267±4.128	0.254±4.128	0.038	0.13	0.205
<i>Bacteroides fragilis</i>	1.32±3.808	0.246±3.808	1.365	2.333	0.152
<i>Butyricimonas virosa</i>	0.289±0.235	0.239±0.235	0.315	0.214	0.206



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	0.239±0.332	0.239±0.332	NaN	NaN	NaN
<i>Ruminococcus bromii</i>	0.422±0.52	0.237±0.52	1.496	2.102	0.117
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	0.439±0.441	0.235±0.441	0.434	0.261	0.243
<i>Ruminococcus albus</i>	0.486±1.055	0.234±1.055	0.927	0.872	0.908
<i>Bacteroides chinchillae</i>	0.444±0.566	0.226±0.566	NaN	NaN	NaN
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	0.22	0.22	0.027	0.059	0.364
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.213±0.269	0.213±0.269	0.28	0.129	0.269
<i>Succinatimonas hippei</i>	0.185±0.099	0.21±0.099	NaN	NaN	NaN
<i>Clostridium paraputrificum</i>	0.21±0.287	0.21±0.287	0.382	0.498	0.757
<i>Bacteroides clarus</i>	1.318±2.233	0.199±2.233	0.089	0.552	0.024
<i>Odoribacter splanchnicus</i>	0.308±0.274	0.199±0.274	0.25	0.175	0.139
<i>Bacteroides stercorisoris</i>	0.188	0.188	0.072	0.08	0.908
<i>Clostridium nexile</i>	0.309±0.489	0.184±0.489	2.299	2.337	0.968
<i>Veillonella dispar</i>	0.534±0.848	0.177±0.848	0.407	0.312	0.722
<i>Bacteroides salyersiae</i>	0.395±0.492	0.172±0.492	0.198	0.309	0.322
<i>Bacteroides intestinalis</i>	1.314±3.25	0.163±3.25	0.215	0.62	0.217
<i>Eubacterium desmolans</i>	0.21±0.243	0.162±0.243	0.304	0.238	0.199
<i>Eubacterium bifforme</i>	0.307±0.562	0.159±0.562	0.855	0.847	0.978



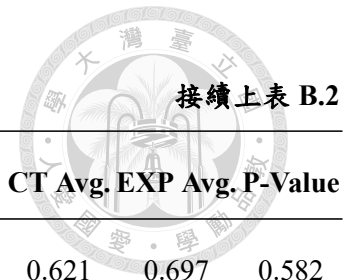
Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Veillonella parvula</i>	0.372±0.583	0.156±0.583	0.068	0.053	0.630
<i>Coprobacter fastidiosus</i>	0.387±0.584	0.15±0.584	0.089	0.133	0.628
<i>Eubacterium coprostanoligenes</i>	0.457±0.61	0.149±0.61	1.801	1.456	0.269
<i>Anaerostipes hadrus</i>	0.213±0.235	0.148±0.235	1.078	1.644	0.068
<i>Cloacibacillus porcorum</i>	0.146±0.11	0.147±0.11	0.046	0.023	0.272
<i>Veillonella atypica</i>	0.624±1.056	0.144±1.056	0.262	0.043	0.333
<i>Parabacteroides johnsonii</i>	0.523±0.728	0.143±0.728	0.148	0.158	0.912
<i>Sporobacter termitidis</i>	0.448±0.703	0.142±0.703	NaN	0.543	NaN
<i>Clostridium lactatifermentans</i>	0.319±0.497	0.138±0.497	0.198	0.16	0.595
<i>Roseburia hominis</i>	0.201±0.167	0.138±0.167	0.608	0.323	0.138
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0.397±0.68	0.137±0.68	0.584	0.568	0.966
<i>Intestinimonas butyriciproducens</i>	0.318±0.472	0.136±0.472	0.523	0.683	0.529
<i>Veillonella rogosae</i>	0.577±0.976	0.126±0.976	0.054	0.012	0.081
<i>Blautia glucerasea</i>	0.128±0.115	0.125±0.115	1.594	2.03	0.582
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	0.12	0.12	0.284	4.202	0.067
<i>Ruminococcus champanellensis</i>	0.484±0.785	0.12±0.785	0.209	0.11	0.430
<i>Eubacterium xylanophilum</i>	0.189±0.187	0.12±0.187	NaN	NaN	NaN
<i>Blautia luti</i>	0.163±0.157	0.117±0.157	1.113	1.672	0.019



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Akkermansia muciniphila</i>	3.841±7.436	0.115±7.436	1.483	3.919	0.060
<i>Fusobacterium equinum</i>	0.113	0.113	NaN	0.153	NaN
<i>Clostridium aldenense</i>	0.422±0.743	0.111±0.743	0.235	0.132	0.394
<i>Clostridium disporicum</i>	0.359±0.843	0.111±0.843	0.909	1.644	0.230
<i>Eubacterium hallii</i>	0.217±0.346	0.102±0.346	2.084	2.404	0.370
<i>Victivallis vadensis</i>	0.183±0.267	0.099±0.267	0.011	0.009	0.697
<i>Ruminococcus torques</i>	0.172±0.203	0.094±0.203	2.685	3.801	0.057
<i>Ruminococcus gnavus</i>	0.14±0.194	0.094±0.194	2.258	3.196	0.212
<i>Eubacterium siraeum</i>	0.614±1.135	0.093±1.135	0.453	0.19	0.123
<i>Ruminococcus obeum</i>	0.197±0.248	0.093±0.248	1.133	1.208	0.686
<i>Clostridium tertium</i>	0.093±0.053	0.093±0.053	0.177	0.098	0.487
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	0.12±0.11	0.09±0.11	0.047	0.226	0.203
<i>Dorea longicatena</i>	0.159±0.266	0.09±0.266	1.249	1.571	0.126
<i>Megasphaera micronuciformis</i>	0.5±0.83	0.089±0.83	0.561	0.021	0.366
<i>Catenibacterium mitsuokai</i>	0.122±0.118	0.085±0.118	1.849	0.459	0.125
<i>Clostridium ruminantium</i>	0.147±0.183	0.083±0.183	1.855	2.245	0.493
<i>Anaerotruncus colihominis</i>	0.117±0.094	0.082±0.094	0.097	0.096	0.981
<i>Ruminococcus callidus</i>	0.21±0.312	0.081±0.312	0.297	0.234	0.566

接續上表 B.2

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Coprobacillus cateniformis</i>	0.141±0.161	0.079±0.161	0.119	0.208	0.345
<i>Butyricicoccus pullicaecorum</i>	0.144±0.212	0.079±0.212	0.19	0.071	0.392
<i>Ruminococcus lactaris</i>	0.158±0.191	0.078±0.191	0.907	0.875	0.845
<i>Citrobacter freundii</i>	0.152±0.169	0.076±0.169	0.539	0.619	0.896
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	0.076	0.076	NaN	NaN	NaN
<i>Blautia faecis</i>	0.097±0.085	0.069±0.085	1.259	1.029	0.410
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0.097±0.082	0.068±0.082	0.239	0.19	0.592
<i>Collinsella aerofaciens</i>	0.086±0.082	0.068±0.082	2.112	2.759	0.157
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0.538±0.87	0.066±0.87	0.076	1.233	0.013
<i>Eubacterium ramulus</i>	0.073±0.062	0.065±0.062	0.301	0.48	0.004
<i>Clostridium ramosum</i>	0.116±0.151	0.063±0.151	1.37	3.3	0.000
<i>Bacteroides nordii</i>	0.13±0.19	0.063±0.19	0.103	0.116	0.746
<i>Parabacteroides gordonii</i>	0.197±0.302	0.062±0.302	0.145	0.212	0.358
<i>Asteroleplasma anaerobium</i>	0.062	0.062	NaN	NaN	NaN
<i>Eubacterium ventriosum</i>	0.133±0.203	0.062±0.203	0.344	0.539	0.190
<i>Parabacteroides goldsteinii</i>	0.186±0.31	0.061±0.31	0.204	0.275	0.455
<i>Clostridium methylpentosum</i>	0.105±0.119	0.06±0.119	0.111	0.139	0.549
<i>Bacteroides pectinophilus</i>	0.06	0.06	NaN	NaN	NaN



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Coprococcus comes</i>	0.103±0.112	0.057±0.112	0.621	0.697	0.582
<i>Eggerthella sinensis</i>	0.057	0.057	0.209	0.239	0.813
<i>Prevotella buccalis</i>	0.054±0.061	0.054±0.061	0.013	0.028	0.294
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.048±0.016	0.052±0.016	2.589	0.022	0.721
<i>Clostridium hylemonae</i>	0.256±0.607	0.051±0.607	0.673	1.126	0.155
<i>Allisonella histaminiformans</i>	0.055±0.05	0.051±0.05	0.096	0.076	0.685
<i>Clostridium hathewayi</i>	0.25±0.654	0.048±0.654	0.205	0.427	0.187
<i>Desulfovibrio legallii</i>	0.236±0.353	0.046±0.353	0.473	NaN	NaN
<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>	0.165±0.231	0.046±0.231	0.016	0.09	0.034
<i>Butyricimonas synergistica</i>	0.147±0.198	0.046±0.198	0.07	0.064	0.889
<i>Peptococcus niger</i>	0.063±0.067	0.043±0.067	0.025	0.021	0.855
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	0.041±0.019	0.041±0.019	NaN	NaN	NaN
<i>Oxalobacter formigenes</i>	0.046±0.03	0.04±0.03	0.028	0.057	0.025
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	0.04±0.034	0.04±0.034	0.022	0.172	0.000
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.04±0.042	0.04±0.042	0.015	NaN	NaN
<i>Clostridium bartlettii</i>	0.071±0.107	0.039±0.107	0.621	0.953	0.253
<i>Gemella morbillorum</i>	0.039±0.048	0.039±0.048	NaN	0.019	NaN
<i>Anaeroglobus geminatus</i>	0.754±1.448	0.039±1.448	0.011	0.03	0.248


 接續上表 B.2

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Clostridium citroniae</i>	0.063±0.059	0.039±0.059	0.135	0.01	0.277
<i>Parabacteroides chinchillae</i>	0.066±0.079	0.039±0.079	0.259	0.169	0.771
<i>Howardella ureilytica</i>	0.04±0.017	0.038±0.017	0.095	0.068	0.640
<i>Enterobacter kobei</i>	0.038	0.038	NaN	NaN	NaN
<i>Cloacibacillus evryensis</i>	0.125±0.168	0.038±0.168	0.03	0.036	0.670
<i>Blautia stercoris</i>	0.103±0.116	0.037±0.116	0.613	0.99	0.099
<i>Pseudoflavonifractor capillosus</i>	0.077±0.183	0.037±0.183	0.043	0.038	0.800
<i>Lactonifactor longoviformis</i>	0.036±0.015	0.036±0.015	0.214	0.658	0.264
<i>Collinsella tanakaei</i>	0.027±0.014	0.035±0.014	0.216	0.237	0.900
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.034	0.034	0.006	NaN	NaN
<i>Turicibacter sanguinis</i>	0.041±0.036	0.033±0.036	0.266	0.148	0.188
<i>Clostridium lavalense</i>	0.041±0.029	0.032±0.029	0.024	0.071	0.195
<i>Coprococcus catus</i>	0.071±0.094	0.032±0.094	0.182	0.195	0.659
<i>Clostridium symbiosum</i>	0.08±0.119	0.031±0.119	0.108	0.182	0.324
<i>Dorea formicigenerans</i>	0.041±0.038	0.03±0.038	0.546	0.975	0.000
<i>Clostridium aminobutyricum</i>	0.044±0.037	0.03±0.037	0.042	0.066	0.063
<i>Lactobacillus iners</i>	0.029	0.029	0.05	0.072	0.714
<i>Clostridium butyricum</i>	0.028	0.028	NaN	0.037	NaN



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Slackia faecicanis</i>	0.027±0.005	0.027±0.005	0.569	0.625	NaN
<i>Lautropia mirabilis</i>	0.027	0.027	0.007	0.028	NaN
<i>Bacteroides faecichinchillae</i>	0.027±0.018	0.027±0.018	0.038	0.111	0.169
<i>Eubacterium cylindroides</i>	0.118±0.175	0.026±0.175	0.058	0.106	0.163
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.026±0.027	0.026±0.027	NaN	NaN	NaN
<i>Dehalobacterium formicoaceticum</i>	0.038±0.035	0.026±0.035	0.015	0.018	0.648
<i>Clostridium glycyrrhizinilyticum</i>	0.048±0.043	0.025±0.043	0.127	0.262	0.099
<i>Clostridium leptum</i>	0.113±0.201	0.024±0.201	0.294	0.245	0.287
<i>Clostridium baratii</i>	0.024	0.024	0.009	0.154	NaN
<i>Haemophilus pittmaniae</i>	0.024	0.024	0.004	NaN	NaN
<i>Christensenella minuta</i>	0.067±0.129	0.024±0.129	0.293	0.303	0.953
<i>Prevotella melaninogenica</i>	0.023	0.023	0.004	0.005	0.592
<i>Gordonibacter pamelaee</i>	0.023	0.023	0.061	0.123	0.090
<i>Enterococcus faecium</i>	0.022	0.022	NaN	NaN	NaN
<i>Eggerthella lenta</i>	0.035±0.035	0.021±0.035	0.179	0.6	0.005
<i>Leptotrichia goodfellowii</i>	0.02	0.02	NaN	NaN	NaN
<i>Holdemania filiformis</i>	0.027±0.023	0.017±0.023	0.024	0.054	0.042
<i>Lactobacillus ingluviei</i>	0.017	0.017	NaN	NaN	NaN


 接續上表 B.2

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Parvimonas micra</i>	0.017±0.013	0.017±0.013	0.025	0.029	0.813
<i>Bacillus coagulans</i>	0.017	0.017	0.007	NaN	NaN
<i>Pyramidobacter piscolens</i>	0.044±0.054	0.017±0.054	0.058	0.024	0.464
<i>Clostridium spiroforme</i>	0.017	0.017	0.217	0.266	0.670
<i>Streptococcus mutans</i>	0.015±0.005	0.016±0.005	0.059	0.086	0.583
<i>Campylobacter concisus</i>	0.027±0.025	0.015±0.025	0.015	NaN	NaN
<i>Eubacterium limosum</i>	0.015	0.015	0.067	0.193	0.285
<i>Propionibacterium acnes</i>	0.015	0.015	0.004	0.021	NaN
<i>Blautia producta</i>	0.015	0.015	NaN	NaN	NaN
<i>Fingoldia magna</i>	0.015	0.015	0.029	0.008	0.190
<i>Dialister pneumosintes</i>	0.015±0.004	0.015±0.004	0.011	0.039	NaN
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	0.048±0.061	0.014±0.061	0.238	0.125	0.386
<i>Prevotella disiens</i>	0.014±0.014	0.014±0.014	0.027	NaN	NaN
<i>Rothia mucilaginosa</i>	0.015±0.009	0.014±0.009	0.036	0.043	0.529
<i>Clostridium sporosphaeroides</i>	0.013±0.008	0.014±0.008	0.039	0.036	0.812
<i>Hydrogenoanaerobacterium saccharovorans</i>	0.018±0.015	0.014±0.015	0.035	0.051	0.295
<i>Selenomonas artemidis</i>	0.014	0.014	0.003	NaN	NaN
<i>Blautia hydrogenotrophica</i>	0.021±0.019	0.014±0.019	0.065	0.084	0.554



Species name	Mean±SD	Median±SD	CT Avg.	EXP Avg.	P-Value
<i>Clostridium innocuum</i>	0.016±0.009	0.014±0.009	0.073	0.324	0.009
<i>Clostridium neonatale</i>	0.014	0.014	0.01	0.301	NaN
<i>Comamonas kerstersii</i>	0.013	0.013	0.072	0.321	0.001
<i>Lactobacillus reuteri</i>	0.013	0.013	0.092	0.393	0.106
<i>Peptoniphilus duerdenii</i>	0.013	0.013	NaN	0.008	NaN
<i>Solobacterium moorei</i>	0.012	0.012	0.014	0.023	0.124
<i>Anaerofilum pentosovorans</i>	0.017±0.013	0.011±0.013	0.051	0.145	0.081
<i>Prevotella buccae</i>	0.011	0.011	0.031	0.021	0.635
<i>Prevotella bivia</i>	0.023±0.029	0.011±0.029	0.018	0.038	0.340
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.011±0.009	0.011±0.009	0.067	0.161	0.016
<i>Dialister propionificiens</i>	0.011	0.011	0.018	0.008	0.175
<i>Slackia piriformis</i>	0.01	0.01	0.173	0.331	0.279
<i>Selenomonas noxia</i>	0.01	0.01	0.004	0.009	NaN
<i>Eubacterium dolichum</i>	0.01±0.005	0.009±0.005	0.098	0.166	0.223
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	0.013±0.013	0.009±0.013	0.022	0.095	0.174
<i>Prevotella timonensis</i>	0.009	0.009	0.036	0.037	0.989
<i>Ignatzschineria larvae</i>	0.008	0.008	NaN	NaN	NaN
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	0.008	0.008	0.017	0.018	0.929




 接續上表 B.2

Species name	Mean±SD	Median±SD	CT	Avg. EXP	Avg. P-Value
<i>Clostridium scindens</i>	0.011±0.008	0.008±0.008	0.201	0.435	0.129
<i>Lactobacillus aviarius</i>	0.008±0.001	0.008±0.001	NaN	NaN	NaN
<i>Streptococcus sobrinus</i>	0.008	0.008	0.123	0.107	0.904
<i>Streptococcus pleomorphus</i>	0.007	0.007	0.019	0.059	0.067
<i>Campylobacter gracilis</i>	0.007	0.007	0.006	0.026	NaN
<i>Leptotrichia wadei</i>	0.006	0.006	0.019	NaN	NaN
<i>Clostridium saccharogumia</i>	0.006	0.006	0.024	0.008	NaN
<i>Slackia isoflavoniconvertens</i>	0.006	0.006	0.234	0.207	0.876
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0.005±0.002	0.005±0.002	NaN	NaN	NaN
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.005	0.005	NaN	NaN	NaN
<i>Campylobacter hominis</i>	0.005±0.001	0.005±0.001	0.006	0.004	0.268
<i>Prevotella corporis</i>	0.004	0.004	0.021	0.017	0.615
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	0.004	0.004	0.022	NaN	NaN
<i>Gemella haemolysans</i>	0.003	0.003	0.013	0.015	0.791
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	4.599±2.309	0.0±2.309	0.738	0.103	0.013
<i>Acidaminococcus intestini</i>	0.865±1.215	0.0±1.215	NaN	0.143	NaN





## 附錄 C 程式碼

### C.1 Bootstrap RWD Breakpoint

Code C.1: 系統中管理 (manage) 頁面為例，此處為勾選是否由 EasyMAP 匯入輸入檔案經簡化後的區塊程式碼，第一行 `<div>` 區塊 class 屬性含有 `col-12 col-md-6 col-lg-3`，即依序表示在 `<576px`、`≥768px` 及 `≥992px` 寬度尺寸的裝置，分別佔用網格系統 (Grid System) 12、6、3 格。

```
1 <div class="col-12 col-md-6 col-lg-3" >
2   <div class="form-check form-switch ">
3     <input class="form-check-input" type="checkbox"
4       role="switch" id="easymap_sw">
5     <label class="form-check-label" for="easymap_sw">
6       Import files from
7     <a target="_blank"
8       href = "http://easymap.cgm.ntu.edu.tw/">
9       <b>EasyMAP</b>
10    </a>
11    </label>
12  </div>
13 </div>
```

### C.2 Subprocess.run()

Code C.2: 以後端執行微生物基因功能預測為例，此處為執行 PICRUST2 `hsp.py` 程式，代入 `-i`、`-t`、`-p`、`-o` 參數，調用 `Subprocess.run()` 執行。

```
1 picrust = subprocess.run(
2     "hsp.py"
3     + " -i " + "16S"
4     + " -t " + os.path.join(OUTPUT_PATH, "out.tre")
5     + " -p 24"
6     + " -o " + os.path.join(OUTPUT_PATH, "predicted",
7     "output.tsv.gz"),
8     shell=True
9 )
```



## C.3 PuLP module

Code C.3: 取  $3 \times 3$  矩陣的整數線性規劃 (Integer linear programs) 為例，目標函數為  $F1+F2+F3$  最小值，限制式分別為  $F1+F3 \geq 1$ ,  $F2 \geq 1$ ,  $F1+F3 \geq 1$ ，註解說明取自 [81]。

```

1 import pulp as pl
2 """
3     F1 F2 F3
4 C1 1  0  1
5 C2 0  1  0
6 C3 1  0  1
7 Min: F1 + F2 + F3
8 s.t F1 + F3 >=1
9     F2 >=1
10    F1 + F3 >=1
11 """
12 # declare some variables
13 # each variable is a binary variable that is either 0 or 1
14 # 1 means the cpd exists in this food
15 a = pl.LpVariable("a", 0, 1, pl.LpInteger)
16 b = pl.LpVariable("b", 0, 1, pl.LpInteger)
17 c = pl.LpVariable("c", 0, 1, pl.LpInteger)
18
19 # define the problem
20 prob = pl.LpProblem("cpd-food", pl.LpMinimize)
21
22 # objective function
23 prob += 1 * a + 1 * b + 1 * c
24
25 # constraint
26 prob += 1 * a + 0 * b + 1 * c >= 1
27 prob += 1 * a + 0 * b + 1 * c >= 1
28 prob += 0 * a + 1 * b + 0 * c >= 1
29
30 status = prob.solve()
31
32 # print the human-readable status
33 print(pl.LpStatus[status])
34
35 # print the values
36 print("a", pl.value(a))
37 print("b", pl.value(b))
38 print("c", pl.value(c))

```



## C.4 QIIME2 dada2 denoise-paired

Code C.4: 以品質控管 *qiime dada2 denoise-paired* 指令為例，將輸出三種檔案，系統只需其中 *table-dada2.qza* 與 *rep-seqs-dada2.qza* 壓縮檔中的 *table.biom* 與 *dna-sequences.fasta* [82]。

```
1 qiime dada2 denoise-paired \  
2 --i-demultiplexed-seqs demux.qza \  
3 --p-trim-left-f 30 \  
4 --p-trim-left-r 30 \  
5 --p-trunc-len-f 250 \  
6 --p-trunc-len-r 250 \  
7 \  
8 #FeatureTable[Frequency]  
9 --o-table table-dada2.qza \  
10 #FeatureData[Sequence]  
11 --o-representative-sequences rep-seqs-dada2.qza \  
12 #SampleData[DADA2Stats]  
13 --o-denoising-stats stats.qza
```