

出國報告（出國類別：實習）

赴美國再生能源國家實驗室之實習出國報告

服務機關：核能研究所
姓名職稱：陳佳欣 副研究員
派赴國家/地區：美國/丹佛
出國期間：107年7月6日~107年12月31日
報告日期：108年1月28日

摘要

本所執行永續能源技術與策略發展應用計畫之相關計畫，本次奉派赴美國再生能源國家實驗室(National Renewable Energy Laboratory, 以下簡稱 NREL)之目的，除了蒐集最新的綠能技術，亦在 Pin-Ching Maness 教授實驗室學習「前瞻性生物轉化生質燃料之技術」。利用微生物產生氫氣或是利用”氣體料源”轉化為碳氫燃料及生質化學品，並透過優化菌株的代謝途徑來提升其效能，強化溫室氣體的循環再利用，減少製造業產生大量廢氣的負擔。另外，菌株 *Clostridium* 具有特殊結構 cellulosome，可直接分解纖維素，應用於 Consolidated bioprocessing(CBP)製程，有效整合酵素水解及發酵兩個製程，並可生產多元化的產品，例如氫氣、甲酸、乙酸、乳酸等，具有一定的潛力。

筆者此次赴美移地研究過程中，實際參與 NREL 研究團隊的運作模式，並透過與 NREL 科學家的定期會議進行合作研究，對於生質能源技術及前瞻的研究發展有更進一步的認識，其高通量菌株即時監測、放大規模驗證和技術推廣部分可做為本所未來行銷生質能技術之參考經驗，建議可持續建立合作的項目，以利未來再生能源技術之推廣及發展。

目 次

(頁碼)

摘要.....	i
一、目 的	1
二、過 程	2
(一) 行前準備.....	2
(二)公差行程.....	3
(三)實習地點 NREL 簡介	5
三、心 得	17
(一) 實習研究主題.....	17
(二)實驗成果	23
(三)收穫	27
四、建議事項.....	29
五、文獻及參考資料	32
六、附錄	34

一、目的

為建立與美國再生能源實驗室(National Renewable Energy Laboratory,以下簡稱 NREL)之媒合管道，促進未來國際合作之機會，指派陳佳欣助理研究員前往科羅拉多州 NREL 實驗室，進行為期半年(2018 年 7 月 6 日至 2018 年 12 月 31 日止)之實習。本次實習主要在指導教授 Pin-Ching Maness 的實驗室進行生質能源研究，Pin-Ching Maness 是微生物產氫的專家，此次的研究主題也是跟微生物有關，利用菌株 *Clostridium ljungdahlii* 將合成氣(H_2 和 CO)轉化為碳氫燃料及化學品，而此菌株的優勢就是可以利用「氣體」當料源，將鋼鐵製造業的廢氣-氫氣(H_2)和一氧化碳(CO)，還原 CO_2 產生有機產物，並透過優化菌株的代謝途徑來提升其效能，強化對溫室氣體的循環再利用，減少製造業產生大量廢氣的負擔。由於 NREL 人才輩出，匯集了微生物藻類、厭氧發酵、放大製程等領域專家，透過每兩個禮拜的定期會議、午餐會議、電話會議等方式進行學術交流，有效加速生質精煉的研發速度。有鑑於此，本次出國公差實習之目的與執行策略包括：

(一)學習厭氧發酵菌株培養之關鍵技術：鑒於溫室氣體造成全球暖化效應加劇，美國科學家積極微生物利用氣體料源的特性，透過基因改良、序列優化、發酵調整等技術來提升厭氧菌株對氣體料源應用的潛力。學習 *Clostridium* 梭菌芽孢桿菌培養的關鍵技術，不僅強化人才的培育，亦可作為未來合作研究之基礎。

(二)建立未來合作交流之管道：藉由定期會議與微生物專家之交流討論，觀察團隊運作的模式，未來可透過技術轉移或合作研發之模式，建立合作管道並共同發表學術文章，有效促進國際合作的機會，並提升我國生質精煉技術之深度及廣度。

(三)開啟台灣在世界的能見度：藉由會議的溝通交流，有效推廣本所非糧生質技術及驗證平台，開啟台灣生質精煉技術在世界舞台的能見度。

二、過程

(一)行前準備

本次出國公差係以前瞻生質能源技術為主題，利用微生物將兩氧化碳直接轉化為燃料或生質化學品，並藉由參訪實習了解國際技術及趨勢，由於 NREL 是隸屬於美國能源部(Department of Energy, DOE)的實驗室，申請交換學者的期間至少要半年(半年到五年)，且流程較嚴謹繁複，需提前半年或一年的時間準備申請，辦理內容如表一所述。Pin-Ching Maness(如圖一)為國際知名之生質能源專家，過去就讀台灣大學植物系，在美國印度安納大學攻讀微生物碩士，畢業後就在 NREL 持續工作到現在。筆者約出國半年前以 email 方式和 Pin-Ching Maness 取得聯絡討論實習機會，Pin-Ching Maness 回信支持，陸續進行面試及文件審查。由於美國政府機關將台灣列為敏感性國家(Sensitive country)，按照美方行政程序，須召開委員會進行評估，我們也盡力回復委員會質疑的問題，最後對方同意筆者本次出國公差實習，並協助辦理 J1 簽證。NREL 及本單位共同簽訂的合作協議如附錄。



➤ **Group research manager**-molecular biology

➤ **Research interest:**

- (1) **Biological H₂ production** from renewable resources
- (2) **Syngas fermentation** to hydrocarbon biofuels
- (3) **Pathway engineering, regulation** and system biology
- (4) **Bioreactor development**

圖一、Pin-Ching Maness [1]

表一、行前準備時程表

項次	日期	辦理內容
1	2017/12/9	Contact with Pin-ching & send CV
2	2017/12/18	Phone interview
3	2017/12/27-30	Confirm my qualification
4	2018/1/2-1/17	Complete the Collaborative Appointment Approval form. (1) CV (2) Letter of support (3) Proof of insurance (4) Collaborative Appointment Form with signatures (5) ID card and copy of passport
4	2018/2/2	Pin-ching: Taiwan is a sensitive country. The application must go to a committee for evaluation.
5	2018/3/5-3/19	Reply the questions of committee: 1. The benefits to NREL, DOE and congress 2. What expertise this person can bring to NREL
6	2018/5/9	The application has been approved
7	2018/5/10-5/30	NREL assignment (HR, Insurance policy, J-1 Visa)
8	2018/6/4	DOE's J-1 program for review & Get DS2019 for J-1 Visa (6/11)

(二)公差行程

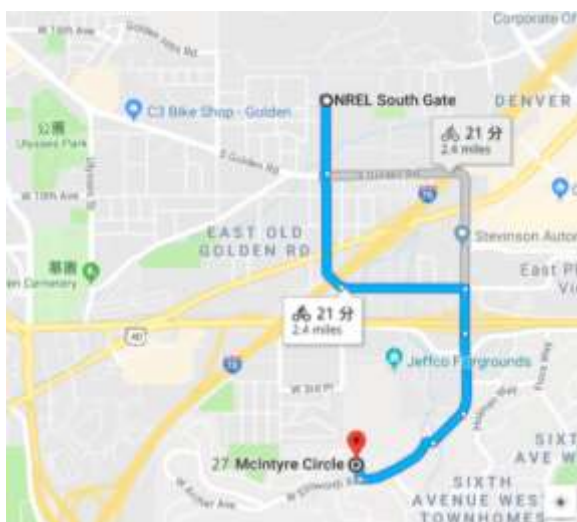
本次赴美國實習時間自 107 年 7 月 6 日至 107 年 12 月 31 日止，共計 179 天。NREL 沒有提供宿舍，故筆者在 Pin-Ching Maness 的協助下，於台灣事先找好美國住宿的套房(shared house)，並在 7 月 6 日自桃園機場搭乘長榮航空，中途在舊金山轉機後直接抵達美國科羅拉多州的丹佛機場，Pin-Ching Maness 親自去接我，並送我到住宿地點。實習地點在 NREL Golden 分部 Pin-Ching Maness 實驗室，進行實驗研究之前，都必須先進行職前訓練及實驗室安全教育，避免危害

的發生。實驗室每兩周會舉辦進度會議，並會邀請各地不同的學者來進行不定期的研討會，以激發研究人員的創造力，實習過程中必須撰寫實驗紀錄簿。實習結束前一個月須繳回實驗紀錄簿。公差行程如表二：

表二、公差行程表

項次	日期	行程		工作重點
		出發	抵達	
1	107年7月6-7日	桃園	丹佛	搭機前往美國科羅拉多州，途中在舊金山轉機
2	107年7月7日至12月30日	Golden NREL		<ul style="list-style-type: none"> ➢ 職前訓練(Orientation) ➢ 在 Pin-Ching Maness 共同實驗室進行研究 ➢ 參與每兩週舉辦一次的進度會議 ➢ 不定期 seminar
3	107年12月30-31日	丹佛	桃園	從美國科羅拉多州返台，中途在舊金山轉機

租屋處(27 McIntyre circle)距離 NREL 大約 3.8 公里，騎腳踏車大約 21-30 分鐘



(三) 實習地點 NREL 簡介

1. NREL 任務

NREL 是美國能源部國家實驗室之一，為政府擁有的部門，並委外來經營維運。根據 NREL 官方網站相關資料(<https://www.nrel.gov/>)顯示，NREL 主要任務為結合科學、工程和技術等領域，致力於再生電力、永續運輸、提升能源效率及整合能源系統四大面向(如圖二)。在再生電力部分，主要有地熱、風力、太陽能及水力發電。在永續運輸部分，透過生質燃料、氫電池、燃料電池的研究，使運輸工具的能源系統更加潔淨環保。在提升能源效率的部分，利用智慧建築，數據導向來調整能源的使用，並結合創新和先進工業，讓產品更貼近市場及在地的需求。在能源系統整合部分，透過高效率電腦 (high-performance computing , HPC)，計算能源產生和消耗，使太陽能板的使用效率達到最高，並將住家的太陽能系統連接到電網，達到即時調控及監測的目的。創新研究過程中，串連著材料科學、化學、奈米科學及能源分析等基礎研究，精進能源系統效率並達到最佳化。



圖二、NREL 之任務及相關計畫 [2]

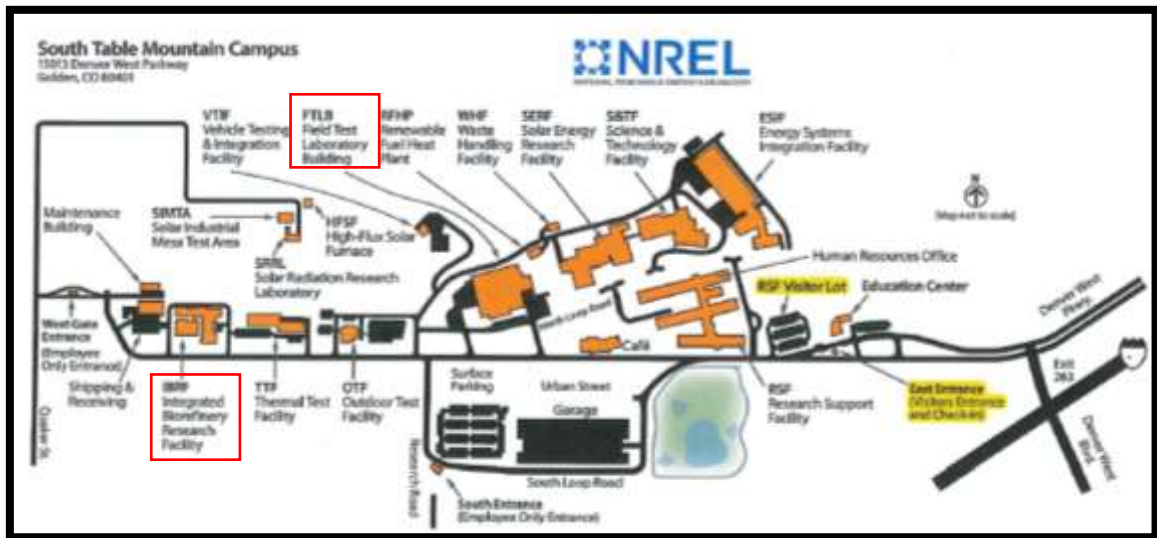
2.位置場址

NREL 位在科羅拉多州，有兩個分部，一個在 Golden，佔地 327 英畝(如圖三)，有多棟建築落實太陽能等再生能源使用，並榮獲美國綠建築協會能源及環境先導設計 (Leadership of Energy and Environmental Design,LEED)白金級認證。另一個分部在 boulder，佔地 305 英畝，為國家風能科技中心，主要進行 1.5MW GE 和 3MW Alstom 風機的結構、性能和控制介面的測試。

而我的實習內容主要針對生質能源的部分，位於 Golden 分部，裡面有 14 棟建築物，平面配製圖如圖四。而我主要在 FTLB(Field Test Laboratory Building)或 IBRF(Integrated Biorefinery Research Facility)進行實驗及研究，各建築物皆有 NREL bus shuttle 協助人員的移動。FTLB 是以工廠為設計標準，所以所有管線都是外露，與台灣的實驗室不太一樣。而另一棟 IBRF 則是生質精煉放大的場域，規模是日進料一噸生質料源之廠房。



圖三、NREL Golden 全景[3]



圖四、NREL 各建築物平面配製圖 [3]

3. 研究方向

NREL 主要的研究有三個，分別是風能、生質能和太陽能，皆具有各自的實驗室和示範場域。

(1) 風能：

風能研究主要包括地上型、離岸及分散式風機。地上型風力電廠的控制系統(如圖五)進行整體設計、研究和驗證，評估離岸風機的需求，另外針對分散式及小型風機開發電腦輔助系統。

美國風力科技中心除了發展風力發電，另結合水力發電進行電網整合(如圖六)，提供附近居民可靠、彈性、安全且永續的電網系統。



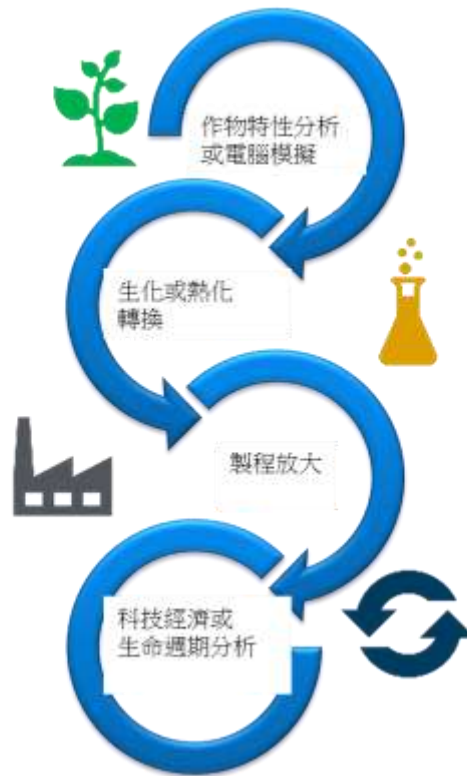
圖五、NREL Boulder 風機測試場 [4]



圖六、風力與水力之整合發電 [4]

(2)生質能：

在生質能部分又區分為四個分項研究，包含生質物特性分析、生化製程、生質能源及熱化學轉換製程等四個研究項目。特別的是，在生質能技術推廣部分，有針對客戶進行特殊作物的特性分析，並針對作物選擇適合的生化或熱化學之轉換製程，下一個階段則是在 NREL 就地進行製程放大，最後針對整體技術製程進行經濟或生命週期分析(如圖七)。



圖七、生質能研究方向 [3]

在生質物特性分析中，透過電腦模擬、科技經濟分析等工具去評估生質料源是否具有潛力應用於永續能源之市場。在生化製程中，NREL 發展水解程序，將生質物轉換為糖或進一步將糖轉換為生質燃料及生質產品，精進酵素、微生物及催化劑，在微生物的部分，利用大腸桿菌 *E.coli* 發現及強化 EFE(Ethylene Forming Enzyme)來增加乙烯的表現，另外也透過藍綠菌(Cyanobacteria)直接將二氧化碳轉化為乙烯。並於整合型的生質精煉工廠(Integrated Biorefinery Research Facility, IBRF)進行放大驗證(如圖八)，合作進行商業化的推廣。

在生質能源部分，利用厭氧菌 *Clostridium thermocellum*、藍綠菌(Cyanoacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803)及微藻 (Green algae *Chlamydomonas reinhardtii*)產生氫氣。厭氧菌 *Clostridium thermocellum* 可直接利用纖維素/半纖維素轉換成氫氣而不需要酵素水解步驟，並開發了遺傳學的工具，可有效調控 *C. thermocellum* 的

代謝途徑，讓 acetate, lactate, formate, ethanol 等途徑轉移到產氫的路徑，藉此提升氫氣莫耳產量(hydrogen molar yield, mol H₂/mol hexose)，目前氫氣莫耳產量是 10，為文獻上報導的產量中最高[5]，圖九為厭氧菌發酵產生氫氣作業之一隅。而在綠藻部分，轉入 Clostridium acetobutylicum 的 FeFe-hydrogenase 或是移除硫化物之營養源，降低氧的影響，使綠藻可在白天持續的產生氫氣。綠藻除了用於氫氣的產生外，另外還發展了 CAP (Combined Algal Processing)製程，有別於傳統的稀酸前處理及固液分離(SLS, Solid-Liquid Separation)，CAP 可以增加整體能量產率，酸處理後的綠藻漿直接用於酒精發酵，酒精和藻油透過熱處理及溶劑萃取從發酵液中分離，且溶液中幾乎所有單糖都可用來生產酒精，經科技-經濟分析(techno-economic analysis ,TEA)在每加侖汽油當量(GGE, gallon gasoline equivalent)可降低 0.95 塊的成本[6]，圖十為綠藻利用光合作用產製生質燃料及化學品。

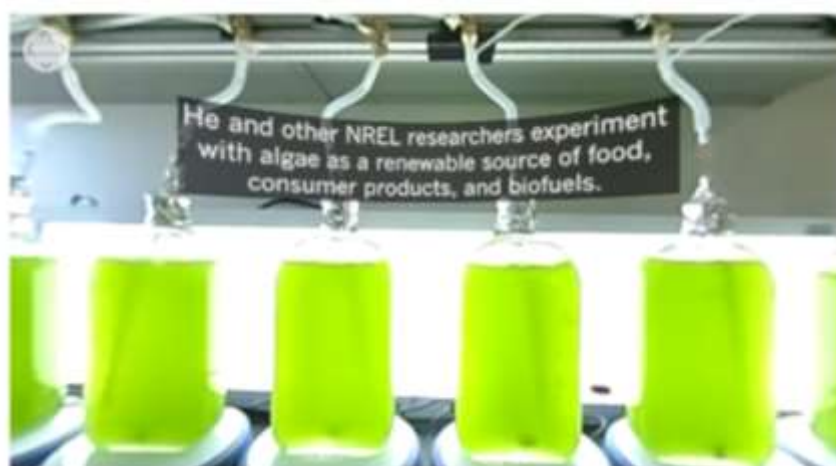
在熱化學轉換製程中，NREL 發展氣化(gasification)及裂解(pyrolysis)製程，利用多種料源進行 pilot-scale 測試，氣化產生合成氣，接著氣體淨化產生甲醇、DME(dimethyl ester)及高辛烷值油品等。另外，生質物也可透過快速裂解、催化裂解等製程，產生裂解油，並進一步透過升級成為消費者使用之油品（如圖十一）。



圖八、整合型生質精煉工廠 [7]



圖九、厭氧菌發酵產生氫氣 [7]



圖十、綠藻利用光合作用產製生質燃料及化學品 [7]

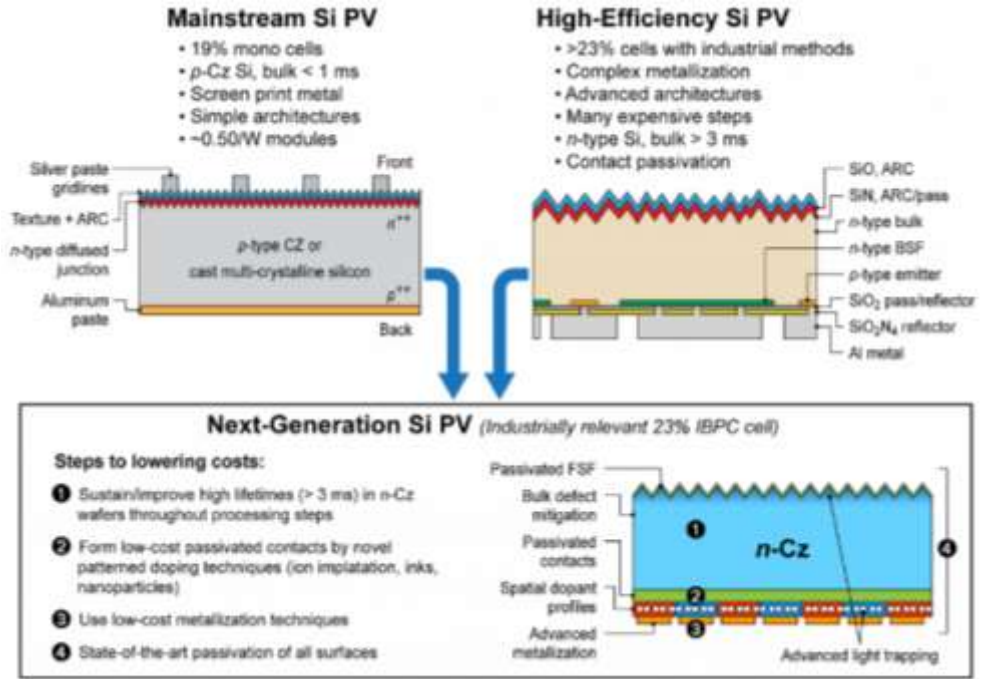


圖十一、熱化學製程結合氣化和裂解產生油品 [7]

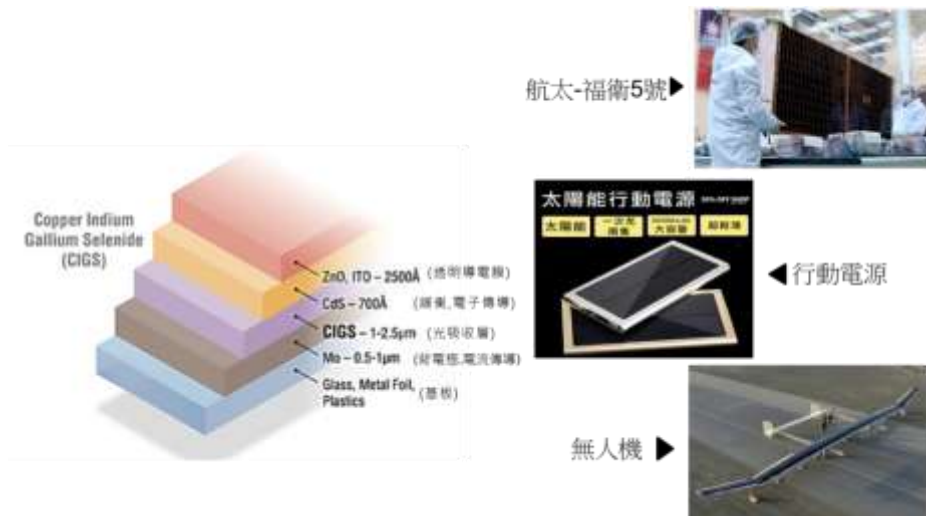
(3)太陽能：

包含太陽能光電板、集中型太陽電力、太陽電網系統整合、太陽能之市場研究分析之四大領域。而太陽能產業瓶頸有兩個，一是效率，二是價格，NREL 也致力於解決這兩個問題，透過結合主流矽晶和高效率太陽能板，開發出次世代太陽能板(如圖十二)。將表面製作成金字塔型結構，加入抗反射層(Passivated FSF)，減少反射量，且使用 n-Cz(Cz：柴氏長晶法)矽晶強化電池壽命。另外，為避免金屬和矽的接合處產生缺陷，造成逆向飽和電流降低效率，利用奈米粒子、離子混摻等技術形成 Passivated contact，避免效率降低，同時可降低成本。

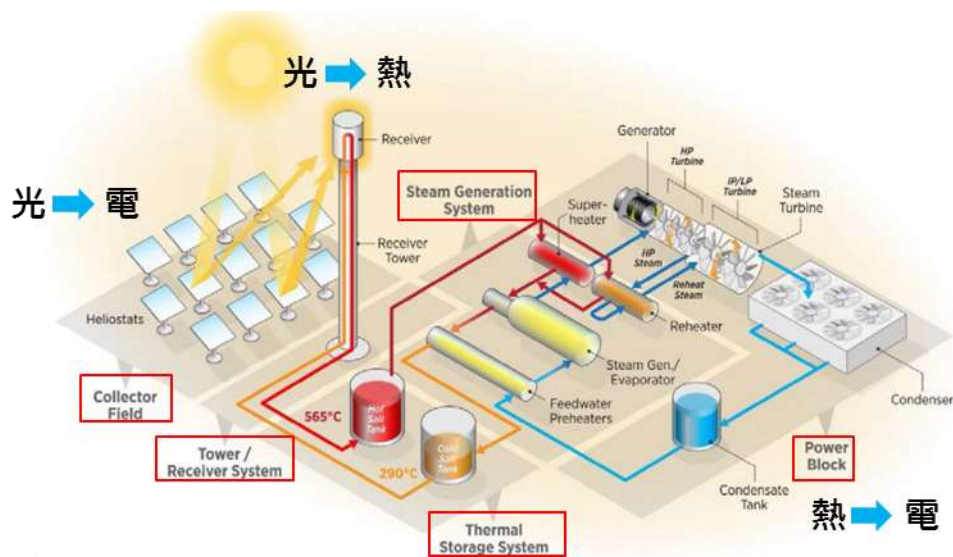
在多晶薄膜太陽能電池主要聚焦於碲化鎘(CdTe)和硒化銅銦鎵(Copper Indium Gallium Diselenide, CIGS)，碲化鎘可在較便宜的玻璃與金屬基板上製作多晶薄膜，並可形成多接面，目前轉換效率約 22%。CIGS 在大規模商業化的薄膜電池模組中被認為轉換效率最高，在小面積單接面的轉換效率可超過 22%，整體模組效率超過 16%。其結構如圖十三，共有五層，最下層為基板，通常使用的材質有玻璃(Glass)或是具有可撓性的金屬(如鋁合金箔、銅箔等)或 Polymer，基板上會濺鍍一層 0.5-1 微米的鉬元素 Mo 作為背電極，主要是利於電流傳導，往上一層為 CIGS 光吸收層，再上一層為半導體 CdS，功能具有緩衝作用之外，也可幫助電子能有效的傳導，氧化鋅 ZnO-銦錫氧化物 ITO 透明導電膜，可讓光線通過，具有低電阻、導電均勻性佳、蝕刻性能佳等優勢。綜上所述，除了精進太陽能板的研究外，另透過聚光型電塔，保溫傳導，熱點轉換模式等模式的結合(如圖十四)，讓整體太陽能電力裝置容量達 110 MW，有效提升太陽能電力系統的效能及效率。



圖十二、次世代矽晶太陽能電池 [8]



圖十三、CIGS 薄膜太陽能電池結構及應用[8]



圖十四、太陽能電力裝置容量 110 MW [8]

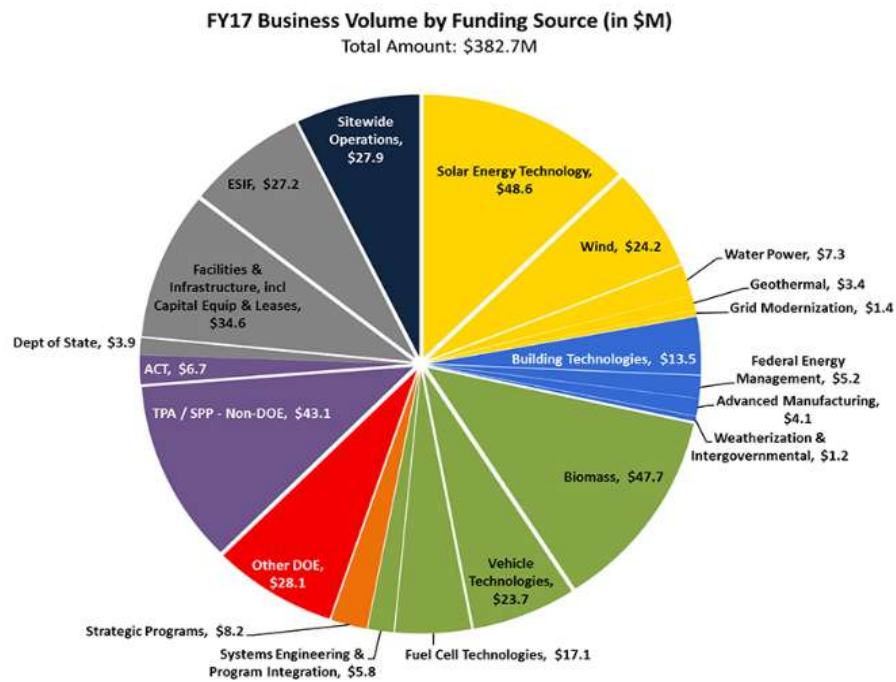
4. 人事資源

NREL 大約有 2200 名員工，組成包含博士後研究者、科學家、工程師、技術員、實習生、訪問學者和承包商等，人員來自多達 70 個不同的國家。在人員培訓部分為導師制，每個新進人員都會指定特定的導師來幫助你解決實驗或生活面臨的困難。

5. 財務預算

NREL 為政府所有，委由外界民間團體經營管理，由國會或美國能源部提供資金支持研究或開發新項目，2018 年總經費約三億八千兩百七十萬 (\$382.7 Million) 美元 (如圖十五)。其中，研究項目為太陽能科技經費佔最大宗，有四千八百六十萬 (\$48.6 Million) 美元的預算

支持，佔總經費的 12.7%。其次為生質能，經費約四千七百七十萬 (\$47.7 Million)美元，佔 12.5%。其他則是投資在風力發電、機械動力(電動車、氫能車)、能源系統整合等。在計畫中，人事成本的投資占的比例最大，常有 overhead 的現象，編列人事費用時，需人員年薪的 2-3 倍才足夠。而實驗室整體是聯合實驗室，所有的研究人員可以共用實驗空間和儀器設備，儀器的使用需透過協調輪流使用。一旦公用設備壞了，通知機械修繕人員來維修，效率蠻高的，而儀器的燈泡或氣體鋼瓶等簡單更換，就必須自己親自動手。耗材的購買則根據需求及經費來源，透過行政助理直接購買即可。



圖十五、2018 年預算來源與經費分配 [2]

6. 科技夥伴關係

NREL 擁有多元策略提供業界進行合作，包含技術合作、策略合作及商業合作。根據過去的統計數值來看，2015 年共達成 231 新的夥伴合作契約，53% 是與大小企業進行合作(如圖十六)，協助成熟技術進行技術轉移，並將產品商業化。



圖十六、技術夥伴關係之統計 [9]

7. 機構差異分析

項目 \ 機關	美國再生能源實驗室(NREL)	原子能委員會核能研究所(INER)
組織架構	為政府所有，委由外界民間團體經營管理。	為政府所擁有的研究機關，未來可能會改制為行政法人
人事資源	2200 名員工*	792 名員工**
財務預算	2018 年 3 億 827 萬 (\$382.7 Million)美元*	經費來源包含中央、台電、政府及民間委託
生質能研究方向	利用微生物將陽光或氣體料源轉化為氫能或生質化學品。	利用微生物將台灣農業廢棄物轉化為燃料或高值化學品。

*資料來源：NREL 官方網站：<https://www.nrel.gov/about/> (2018 年)

**資料來源：來自核研所之行政資料(2018 年)

三、心得

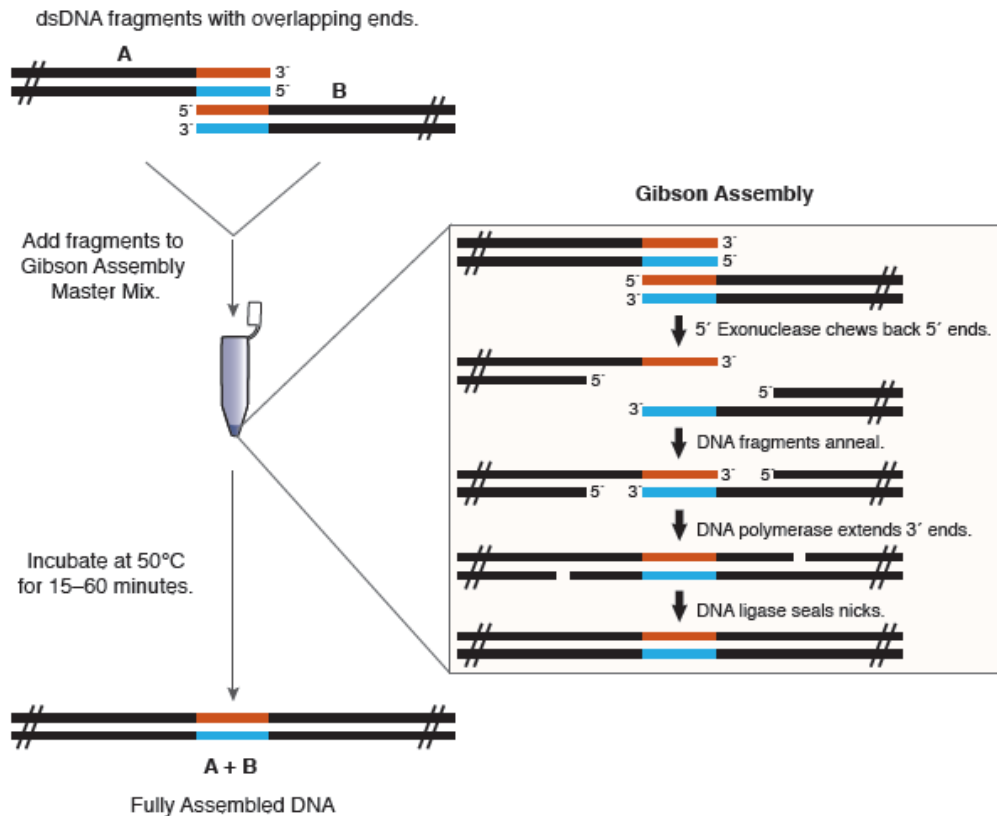
(一) 實習研究主題

1. 微生物基因工程

利用微生物快速建構多片段及大分子量的重組 DNA。創新方法有以下幾種：

(1) Gibson assembly method

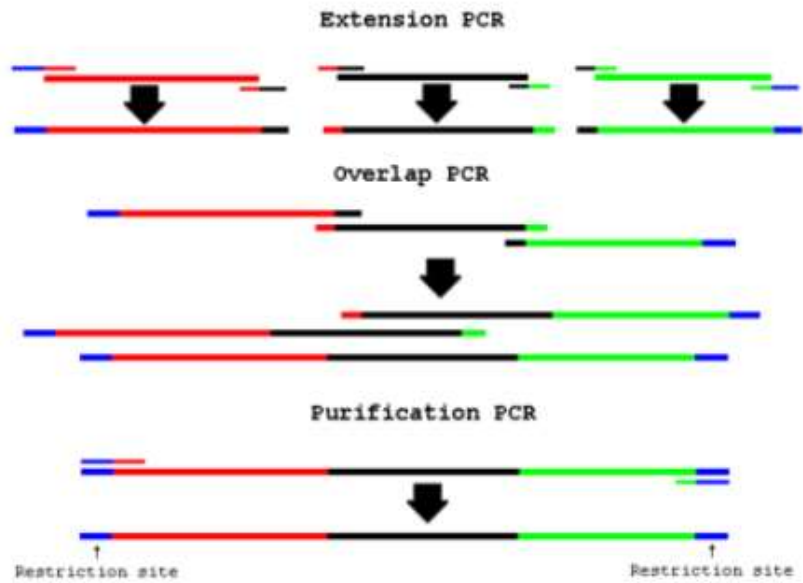
原理:將多個片段的 DNA 進行黏合，以圖十七為例，A 片段和 B 片段先利用 NEBuilder assembly tool 設計引子，使之具有重疊的部分，接著使用 Gibson assembly master mix kit，此 kit 具有 5' exonuclease、DNA polymerase、DNA ligase 等酵素活性，可分別作用在一個 50°C 反應，5' exonuclease 會先吃掉 A、B 片段的 5 端序列，使之重疊的部分可以利用氫鍵進行黏合，接著利用 DNA polymerase 將核酸補齊，最後在利用 DNA ligase 進行黏合，將 A、B 片段的 DNA 黏合在一起形成一個長片段的重組基因。最多可用於 4-6 個片段之組合。



圖十七、Gibson assembly method 之原理 [10]

(2) SOE (Splicing by Overlap Extension)

原理:此方法又可稱為 overlap extension polymerase chain reaction (OE-PCR),可以用來創造或修正序列中突變的部分,亦或是將小片段的 DNA 利用 primer 黏合成大片段。此時, primer 重疊的長度約為 20-25bp。另外, primer 的 melting point (Tm)在 PCR 反應時需考慮進去。在長片段 PCR 反應時,一開始 5 個循環可先不加 primer,先讓模板延長,後續再加入 primer 放大我們想要的片段(如圖十八)。



圖十八、 SOE 之原理過程示意圖 [11]

2. 厭氧菌的培養 - Clostridium 梭菌芽孢桿菌

梭菌芽孢桿菌為厭氧性的革蘭氏陽性菌，形狀為長條狀桿菌(如圖十九)，廣泛分布於自然界中，常存在土壤裡，種類多元，包含 *Clostridium acetobutylicum*、*Clostridium thermocellum*、*Clostridium ljungdahlii* 等。各具有不同的應用。



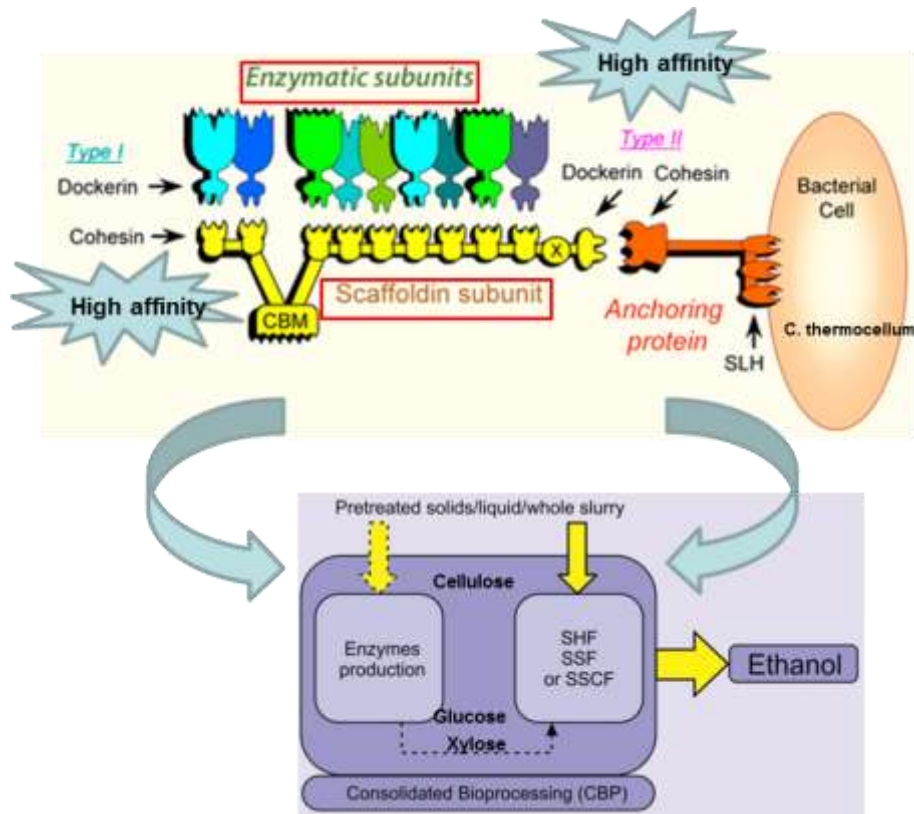
圖十九、梭狀芽孢桿菌 [12]

(1) *C. acetobutylicum*

1916年被英國科學家 Chaim Weizmann 拿來當作生化或基因改良的工具，故此菌株又叫”Weizmann organism”。常用的野生型為 ATCC 824，由於酵母菌主要是代謝糖產生酒精，而和酵母菌不同的是，*acetobutylicum* 可利用多元的料源，包含纖維素、澱粉、五碳糖(木糖、阿拉伯糖)等料源，在澱粉中透過 ABE 發酵製程 (A:acetone, B:butanol, E:ethanol)，可產生 3 莫耳的丙酮、6 莫耳的丁醇和 1 莫耳的乙醇。應用於生質能源部分，此菌株的優勢可直接多元的料源，經由生物轉換成多元的產品，具有廣泛的應用價值。但目前木糖的代謝途徑或碳源的流動尚未明朗，仍待科學家進一步的研究。

(2) *C. thermocellum*

為嗜熱的厭氧菌，常應用於生質酒精的製程。主要的原因在於此菌株可以應用於 **consolidated bioprocessing(CBP)**，CBP 整合了酵素水解及發酵步驟(如圖二十)，直接利用前處理後的纖維素，轉變成酒精，此菌株具有一個特殊結構，叫 **cellulosome**，擁有 20 個具催化活性的次單位，為胞外 **cellulase** 系統，此系統和真菌的 **cellulase** 不同，**cellulosome** 對結晶態纖維素具有高度活性，可將其分解。但此菌株還有其他發酵副產品，例如 **acetate**、**formate**、**lactate** 和 **hydrogen**。近年來，科學家利用抑制其他代謝途徑的調控來有效產製酒精。而在 NREL，也利用此菌株來產製氫氣，用於氫能車的使用。



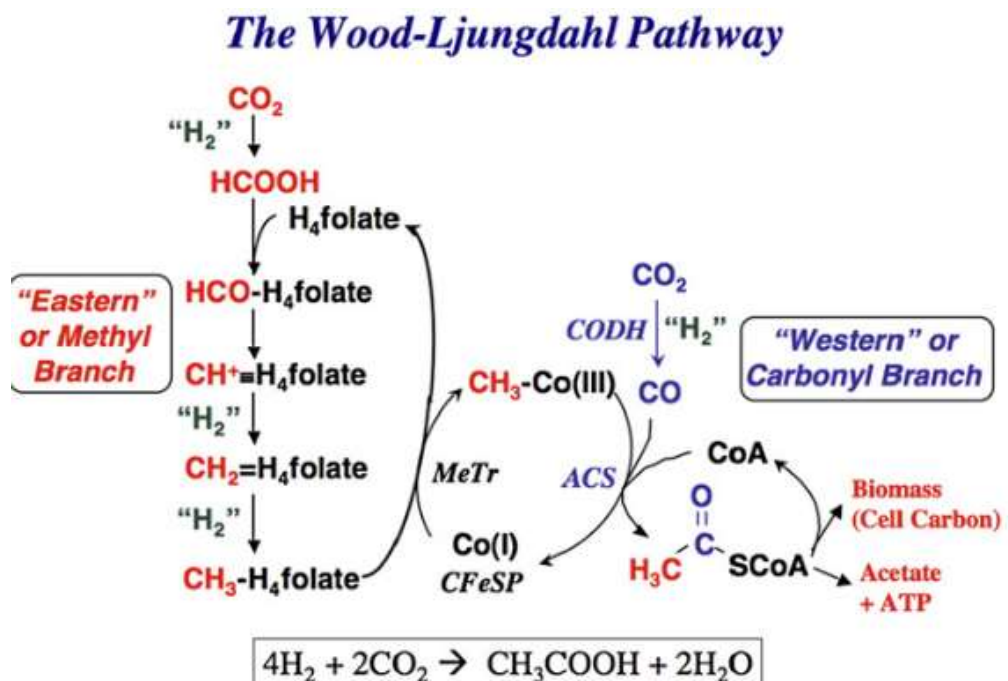
圖二十、*C. thermocellum* 進行 CBP 製程[13,14]

(3) *C. ljungdahlii*

為桿狀的厭氧菌，跟其他梭狀芽孢桿菌一樣，可以利用糖產生醋酸，但不一樣的是代謝途徑不同。在產生醋酸過程中，主要有兩個代謝途徑。一是 Embden-Meyerhof- Parnas pathway (EMP pathway)，二是 Wood-Ljungdahl pathway。EMP 主要發生在厭氧菌中進行無氧發酵，也就是葡萄糖經糖解作用後產生 pyruvate，pyruvate 變成 acetyl-CoA 並轉成 acetate 和 CO₂，其方程式為 $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 8H^+ + 8e^-$ 。

而在有氧狀況下，acetyl-CoA 會進入 TCA 循環產生能量 (3NADH、1FADH₂、1GTP)。而此菌株特殊的是，就是可以將 EMP pathway 之 CO₂ 再進一步透過 Wood-Ljungdahl pathway 轉變成醋酸和水，其方程式為 $2CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O$ (如圖二十一)。當然，

根據生長狀況不同，除了產生醋酸外，也會產生其他的有機酸醇，例如 ethanol 或 2,3-butanediol 等。所以 *C. ljungdahlii* 跟其他菌株不同的是，它的優勢就是可以利用氣體當料源，有研究指出它可以利用氫氣(H₂)和一氧化碳(CO)還原 CO₂ 產生有機產物。而 CO CO₂ 正是鋼鐵製造業或是生質物/都市廢棄物氣化時會產生的廢氣，利用這些廢棄的氣體來產製具經濟效益的化學品，是未來的趨勢，對環境也更加友善及兼具永續性。



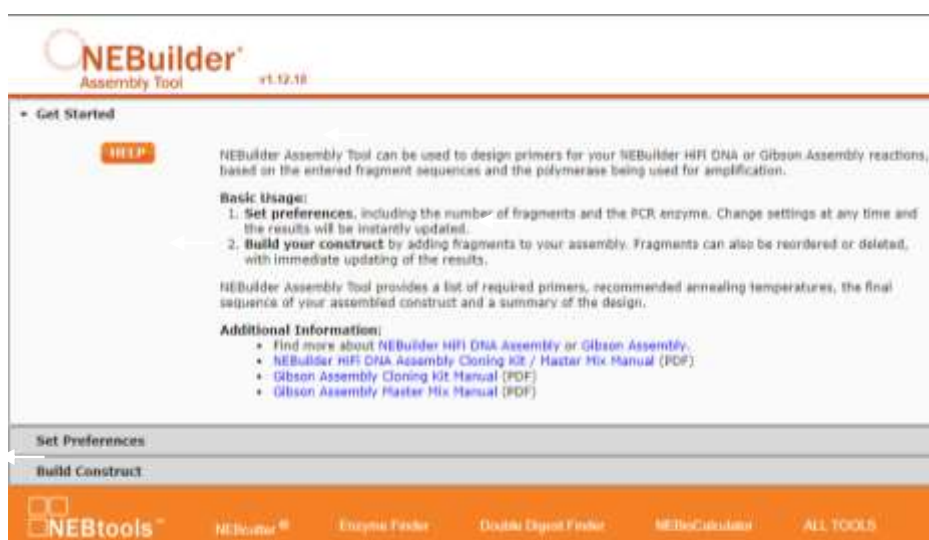
圖二十一、Wood-Ljungdahl pathway 示意圖 [15]

(二)實驗成果

(1)微生物基因工程

由於 *C. ljungdahlii* 基因改良不易，故研究人員發展了多種基因工具及策略來幫助了解 *C. ljungdahlii* 的代謝途徑，本實驗內容主要在 *C. ljungdahlii* 的表現載體上新增紅黴素 erythromycin 基因來幫助篩選。步驟如下：

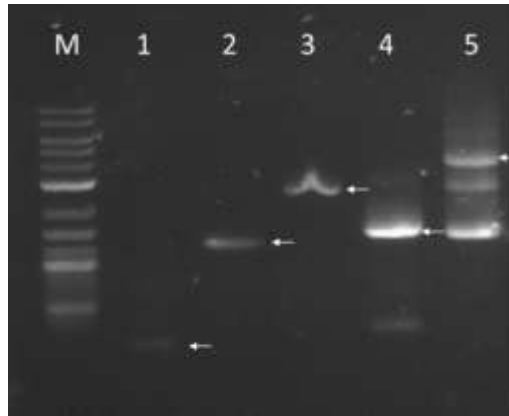
A.利用 NEBuilder Assembly tool 軟體工具設計 primer(如圖二十二)



圖二十二、NEBuilder 之介面圖示 [16]

B.利用 PCR 進行 SOE (Splicing by Overlap Extension)反應

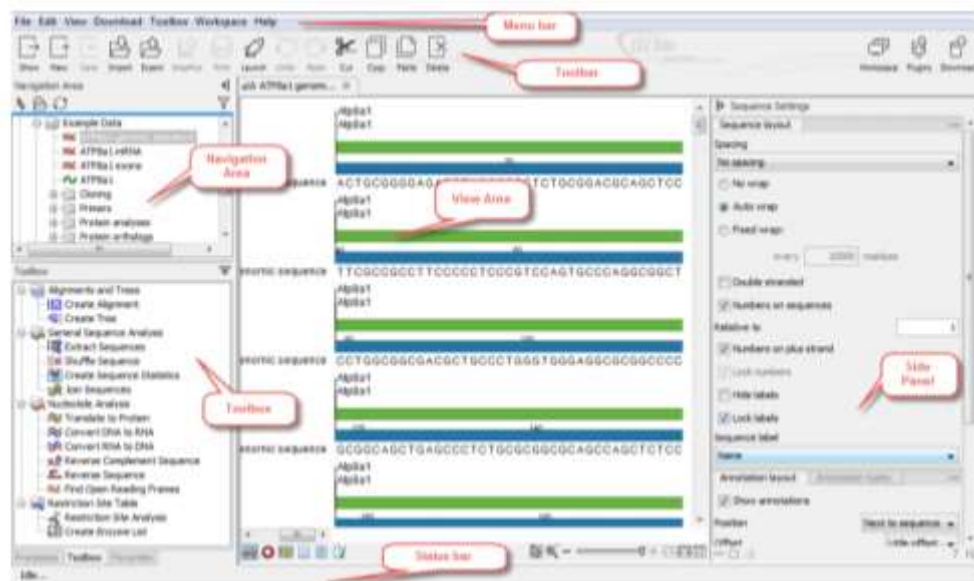
有 3 個基因片段，大小分別為 100bp、1.5kb 和 2.8kb，分別位在電泳膠的 lane1,2,3，而 lane 4 就是利用 1 和 2 的基因片段進行 PCR 延長反應，lane 5 則是片段 2 和 3 利用中間重疊片段進行 PCR 延長，利用電泳跑膠得知序列大小及長短之差異(如圖二十三)，將想要的片段利用切膠純化，並透過限制酶切割後，即可和表現載體進行黏接。



圖二十三、實驗過程中之電泳膠圖

C. 基因定序

將完成的重組 DNA 送 Genscript 公司定序，可使用 plasmid DNA 或是 unpurified PCR product 檢測基因序列是否正確。接著利用 Qiagen bioinformatics 之 CLC Main Workbench 進行序列的建構和分析，包含限制酶切割的位置、基因序列的重疊比對、定序結果的分析等，都可以利用此軟體進行研究(如圖二十四)。



圖二十四、CLC 序列分析軟體之界面 [17]

(2) 厭氧菌培養

A. 培養方式

除了 *C. thermocellum* 在 55°C 培養外，其餘菌種在 37°C 培養。可全程在厭氧箱操作(如圖二十五)，在這裡使用的是 COY anaerobic chamber，摻雜著混合氣體，包含 85% N₂、10% H₂、5% CO₂，並有氣體監測系統監測氧氣和氫氣的含量，確保箱內維持厭氧狀態。另外，也可在培養瓶內通入氫氣把氧氣趕走，再利用針頭把菌種注入厭氧瓶中，維持恆溫培養。



圖二十五、厭氧箱 [18]

B. 培養液

梭狀芽孢桿菌培養時使用 CTFUD Rich medium，但由於 Yeast extract 成份複雜分析不易，故進行代謝物分析時，使用 CTFUD Defined medium，不加 Yeast extract。配方如圖二十六所示。

Reagent	FW (g/mol)	Amount (g/l)
Water (to 1L final volume)		
Sodium citrate tribasic dihydrate, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	294.10	3.000
Ammonium sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132.14	1.300
Potassium phosphate monobasic, KH_2PO_4	136.09	1.500
Calcium chloride dihydrate, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	147.01	0.130
L-Cysteine-HCl	175.60	0.500
MOPS sodium salt ^a	231.20	11.560
Magnesium chloride hexahydrate, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	203.30	2.600
Ferrous sulfate heptahydrate, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278.01	0.001
Cellobiose	342.30	5.000
Yeast extract		4.500
Resazurin 0.2% (w/v)		0.5 ml/l

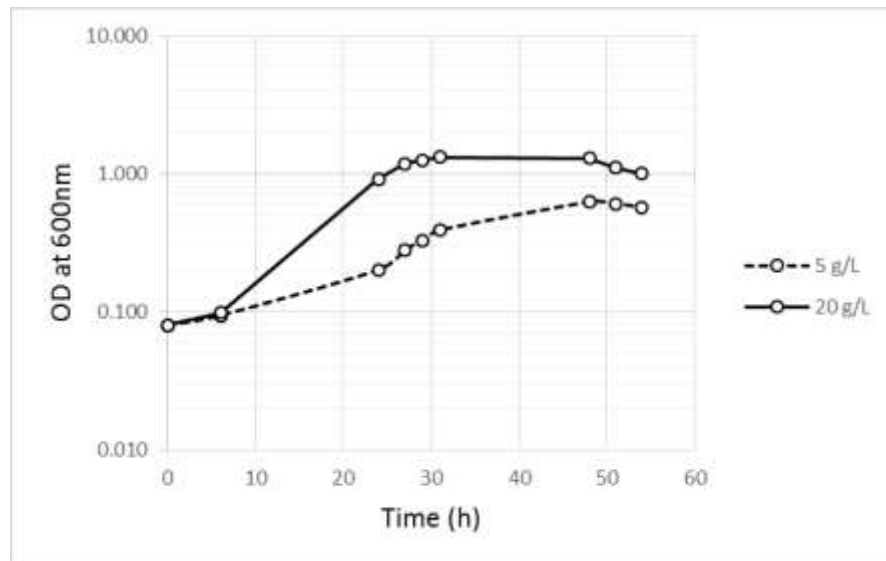
^a Adjust pH to 7.0 after addition of MOPS.

25 ml 1000 × vitamin solution recipe	
Component	Amount
Water (final volume) (ml)	25
Pyridoxamine HCl (mg)	50
Biotin (mg)	5
<i>p</i> -Aminobenzoic acid (PABA) (mg)	10
Vitamin B ₁₂ (mg)	5

圖二十六、CTFUD media 和維他命之配方 [19]

C. 生長狀況

培養 *C. acetobutylicum* 觀察其生長狀況，在 CTFUD defined medium 進行培養，分別加入 5 g/L 及 20 g/L 的木糖，觀察其生長曲線，並在指數期收取上清液進行代謝分析。在碳源濃度愈高情況下，生長的速度及數量較多，OD₆₀₀ 可達 1.2 (如二十七)。



圖二十七、*C. acetobutylicum* 生長狀況(本研究繪製)

(三) 收穫

A. 共同發表海報及期刊

利用軟體模擬加上在厭氧菌中進行實體驗證，來分析菌株體內的代謝途徑，以利未來代謝途徑之最佳化。將相關實驗結果整理發表成海報，目前正在期刊投稿中。

B. 微生物基因工程技術精進

來美國後，絕大部分的時間都在實驗室學習，彷彿回到以前學生時代碩士班的生活，專注於研究的課題。由於本身具有相關基因工程背景，對基因操作及分析技巧具有一定的基礎，唯一比較特別的是，導入多元的軟體運用工具，例如 NEBuild tool 及 CLC software 等，讓基因的建構設計、分析比對更加輕鬆容易。正所謂：「工欲善其事，必先利其器」，在良好工具協助下，做起事來事半功倍。

C. 熟稔厭氧菌操作培養技巧

指導教授 Pin-Ching 除了協助我日常生活及研究的問題外，另指派了一位 mentor: Jonathan Lo 教導我厭氧菌的操作，Jonathan Lo 畢業於

Dartmouth 大學的博士，現為 NREL 的科學家，其老師 Lee R. Lynd 是研究 Clostridium 梭狀芽孢桿菌的巨擘，並致力於 Consolidated bioprocessing (CBP) 製程的研究，建立基因改良的策略及工具，利用多種基因缺陷菌株去探討基因在代謝途徑扮演的角色。

D. 建立正向雙贏的思考邏輯

在實驗室常常會遇到失敗，失敗是正常，但不要放棄希望，重新檢討問題或換個方法再前進，我想在這裡的科學家都有這種正向積極的態度，對生命及科學具有相當大的熱情。在自由彈性的工作氛圍下，可以兼顧個人生活、家庭及事業。在人與人相處或團隊之間，由於分工很細，互相幫忙且建立雙贏的模式很重要。雙贏強調雙方的利益兼顧，彼此透過不同形式的方式獲得好處。正所謂：「贏者不全贏，輸者不全輸」，在競爭關係下，如何透過分工協作的關係，讓利益及好處共享。

四、建議事項

本次奉派赴美國再生能源國家實驗室實習，對於 Pin-Ching Maness 教授研究團隊研發之厭氧菌操作技術、能源部之計畫執行過程，皆有豐富收穫。實習期間多次參與會議進行討論交流，經驗寶貴，對本所未來的技術開發或經營管理具有實質應用。針對本次實習提出建議如下：

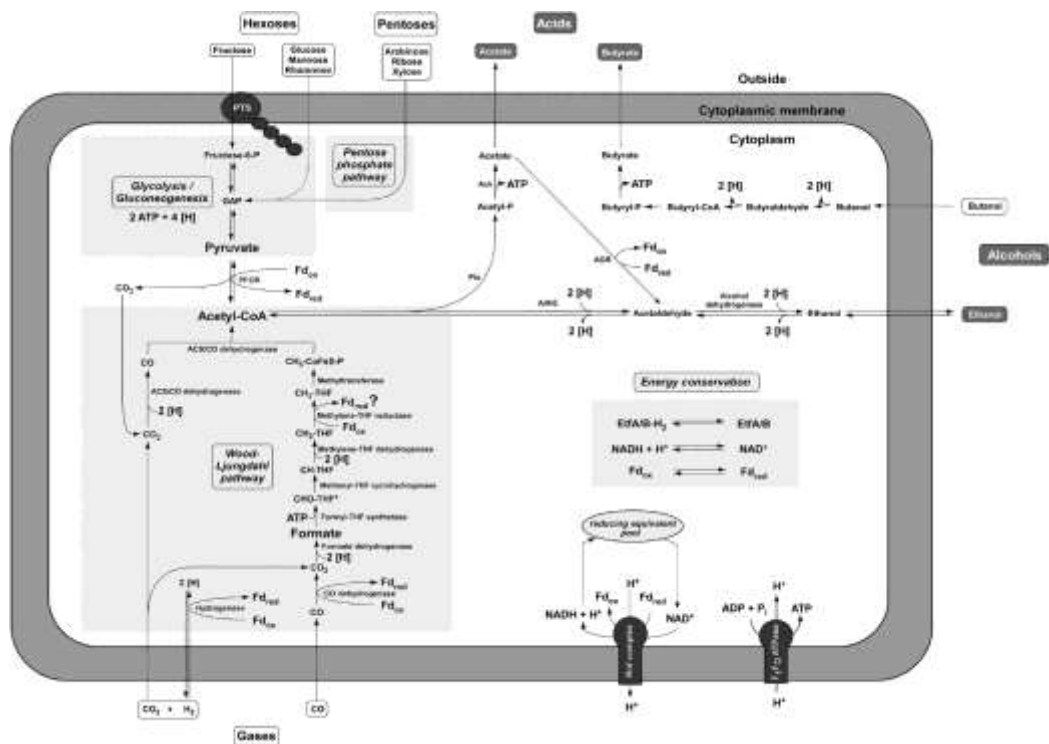
(一) Pin-Ching Maness 教授開發的微生物產氫或是厭氧菌的操作技術，

其核心係利用 *C. thermocellum* 天生具有產生氫氣的特性，另外，其特殊結構 *cellulosome* 可自然利用纖維素及其他多元的糖源，可應用於

Consolidated bioprocessing (CBP)製程，為降低生質能源成本的潛力選項。我國生質能源在商業化發展一直面臨成本過高的問題，建議可嘗試 CBP 製程，整合水解酵素、水解糖化、微生物發酵等製程，以利商業化推廣，並具降低成本之效益。

(二)利用微生物進行氣體料源的轉換，是目前較前瞻新穎的研究。主角是 *C.*

ljungdahlii，可利用糖類(五碳糖或六碳糖)、丁醇或氣體(CO 和 H₂,合成氣)轉換成生質燃料或生質化學品，其代謝路徑圖如圖二十八所示，在糖類部分，可利用六碳糖(Fructose、Glucose)及五碳糖(Arabinose、Xylose)等，而氣體料源可使用 CO 或 CO 和 H₂ 經由 Wood-Ljungdahl pathway 轉變成酸(乙酸、丁酸)和醇(乙醇)。是未來具有潛力的發展項目，但由於是厭氧菌，在工業化製程操作不易，所以目前尚屬於前瞻性的研究，操作規模是實驗室及公斤級運轉，尚未進行商業化的測試。建議針對此技術進行科技經濟或生命週期分析，評估在台灣的發展性。



圖二十八、*C. ljungdahlia* 利用合成氣之代謝路徑圖 [20]

(三)目前研究方向都朝大數據方向前進，菌株開發也不例外，大量菌株培養檢測之儀器(如圖二十九)除了可加速研發的時程，更可讓減少實驗的誤差。此台儀器可長時間且大量偵測不同菌株生長，並分析不同種類及代謝突變株之厭氧菌在葡萄糖、木糖或纖維雙糖等培養條件下，了解菌株的生長情況、代謝產物 acetate、acetone、ethanol、butyrate、butanol 產生狀況及元素碳分配之平衡。其高通量及大數據的概念值得本所同仁借鏡及參考，設計更完整的實驗，通盤去探討菌株體內的代謝情形。



圖二十九、大量菌株培養檢測儀器

(四)根據 NREL 財務預算分配情形可知道研究的比重，由於 NREL 所位在的廠址是在科羅拉多州丹佛，此地方夏天日照很長，夏天早上 5 點天亮，晚上 9 點才天黑，而且歷年天氣有 300 天是晴天，所以非常適合發展太陽能發電。其次是由於這邊很多森林，故生質能也是發展的一大重點。除了發展第四代生質料源外之前瞻性基礎研究，亦有噸級廠商轉化的製程及設備。並根據廠商需求進行客製化的行銷，並具有多元彈性行銷策略，發展策略值得本所參考。

(五)目前這裡的能源使用以天然氣為主、太陽能為輔，NREL 結合產官學研的合作，並透過政府補助措施、新聞媒體的宣傳、非政府組織(NGO)帶領民眾的綠能示範建築參觀等活動，推廣相關綠能產品進入民眾生活，並提升大眾知能。由於此次為第一次與 NREL 合作，建議未來持續建立合作交流的管道，汲取最新再生能源之技術，強化國際交流，亦可增加本所在國際上的能見度。

(六) NREL 資訊流動相當快速透明，每年藉由執行長公開演講的方式來檢討今年成果，並給予員工未來 10 年的願景，會議以會議廳或網路直播的方式進行，會議中透過問答方式解決員工問題或以留言的方式來討論。NREL 在未來有 3 大策略方向，分別是經濟電力、電子轉換物質以及循環經濟，其能源策略如下：

(1)經濟電力：加速電網的安全及電力調度的彈性，確保經濟成長,需克服的挑戰在於再生能源穩定的產生及儲存，另需考量整體系統是否具有 **cost-effective**。

(2)電子轉換物質：利用多餘的電力或廢氣(CO₂)去進行化學能的轉換及儲存。

(3)循環經濟：利用創新觀念、方法或理解物質的組成，循環再利用，利用材料、聚合物及終端產品(end of life products)創造新價值。

五、文獻及參考資料

1. 美國再生能源實驗室網站: <https://www.nrel.gov/research>
2. 網站資料: <https://www.nrel.gov/about/mission-programs>
3. 實習參觀及訓練資料
4. 風力發電網路資料: <https://www.nrel.gov/wind/index.html>
5. Pin-Ching Maness, Shiv Thammannagowda, Bruce Logan. Integrated System Dramatically Improves Hydrogen Molar Yield from Biomass via Fermentation, Hydrogen and Fuel Cell Technical Highlights, 2010
6. James E.Coons, Daniel M.Kalb, Taraka Dale, Babetta L.Marrone. Getting to low-cost algal biofuels: A monograph on conventional and cutting-edge harvesting and extraction technologies. Algal Research, 2014, Vol 6, Pages 250-270
7. 生質能網路資料:<https://www.nrel.gov/bioenergy/>
8. 太陽能網路資料: <https://www.nrel.gov/pv/>
9. Transforming Energy through Science, 2015, National Renewable Energy Research News.
10. Gibson Assembly Master Mix Instruction Manual, New England Biolabs Inc. NEB#E2611S/L version 4 10/17
11. SOE 網路資料: http://openwetware.org/wiki/PCR_Overlap_Extension
12. Systems Biology of Clostridium acetobutylicum (COSMIC), Systems Biology Bioinformatics rostock/Research
13. Bayer et al.The Cellulosomes: Multienzyme Machines for Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides, Annual Review of Microbiology , 2004,Volume 58,pp 521-554
14. Lynd et al, A simplified schematic of CBP system, 2001

15. Stephen W. Ragsdale, Elizabeth Pierce, Acetogenesis and the Wood–Ljungdahl pathway of CO₂ fixation, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2008, Vol 1784, Pages 1873-1898
16. New England Biolabs/NEBuilder Assembly Tool version 1.12.18
17. CLC Genomics Workbench/Qiagen bioinformatics
18. Coy-laboratory-products/vinyl-anaerobic-chambers
19. Daniel G. Olson, Lee R. Lynd, Transformation of *Clostridium Thermocellum* by Electroporation chapter 17, *Methods in Enzymology*, 2012 ,Volume 510,ISSN 0076-6879
20. Michael Köpke, Claudia Held, Sandra Hujer, Heiko Liesegang, Arnim Wiezer, Antje Wollherr, Armin Ehrenreich, Wolfgang Liebl, Gerhard Gottschalk, and Peter Dürre, *Clostridium ljungdahlii* represents a microbial production platform based on syngas, *PNAS*, July 20, 2010, 107 (29) 13087-13092

六、附錄

(一) NREL 和核研所簽訂之合作協議

Alliance for Sustainable Energy, LLC
National Renewable Energy Laboratory

Collaborative Appointment – Approval Form

Complete this form for a new Collaborative Appointment or an extension of a current Collaborative Appointment.

Request type: New Appointment Extension

PART ONE
(TO BE COMPLETED BY THE GUEST RESEARCHER)

All of the following must be attached to this Approval Form:

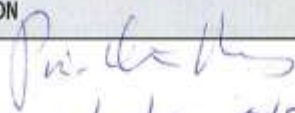
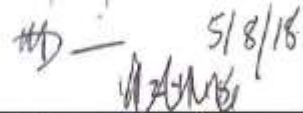
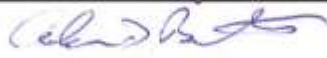

- 1) Guest Researcher's current resume
- 2) Letter of Support on the letterhead of the Guest Researcher's home organization, specifying the following:
 - a) The Guest Researcher's name and the title of the Guest Researcher's Research Project
 - b) The start and end dates of the appointment
 - c) The home organization's support amounts for:
 - i) Guest Researcher's salary and benefits
 - ii) Travel allotment
 - iii) Housing allotment
 - iv) And/or any other compensation/funding provided to the Guest Researcher
 - v) Support amounts must equate to at least \$2,000 USD/month
 - d) Signature of an official duly authorized to commit the home organization's support amount to the Guest Researcher
- 3) For Foreign National Guest Researchers Only: Proof of insurance in the following USD amounts:
 - a) Medical insurance of at least \$100,000 per accident or illness
 - b) Repatriation of mortal remains in the amount of \$25,000
 - c) Expenses associated with the medical evacuation of the exchange visitor to his or her home country in the amount of \$50,000
 - d) A deductible not to exceed \$500 per accident or illness
 - e) A policy underwritten by an insurance carrier with an A.M. Best rating of "A-" or above

GUEST RESEARCHER'S INFORMATION	
Guest Researcher's Name: Chia-Hsin Chen	Home Organization Name and Location: Institute of Nuclear Energy Research (INER), Taiwan
Guest Researcher's Phone #: 886 3 4711400 #5106	Appointee's Address: 1000 Wenhua Rd. Jiaan Village, Longtan District, Taoyuan City 32546, Taiwan (ROC)
Guest Researcher's Email: wis7435@iner.gov.tw	City/State/Country/Zip: Taoyuan/Taiwan/32546

PROPOSED RESEARCH PROJECT	
Research Project Title	Biological Upgrade of Syngas to High-value Products
Brief Description	This project aims to upgrade syngas (CO and H ₂) derived from waste gasification to high-value hydrocarbon fuels and chemicals by optimizing the metabolic pathways in the syngas fermenting microbe <i>Clostridium ljungdahlii</i> .

SIGNATURES FROM GUEST RESEARCHER'S HOME INSTITUTION – REQUIRED FOR NEW APPOINTMENT AND EXTENSION	
Name of Guest Researcher: Chia Hsin Chen	Signature: <i>Chia-Hsin Chen</i> Date Signed: 2018.1.5
Name of Guest Researcher's Supervisor: Wen-Song Hwang	Signature: <i>Wen-Song Hwang</i> Date Signed: 2018.1.5
Name of an official duly authorized to commit the home institution's support amount: Yin-Pang Ma	Signature: <i>Yin-Pang Ma</i> Date Signed: 2018.1.5

August 23, 2016 Page 1 of 2

PART TWO (TO BE COMPLETED BY THE NREL HOST)	
NREL INFORMATION	
NREL Research Point of Contact (POC): Pin-Ching Maness	NREL Research POC Title:
NREL Research POC Phone #: 303-384-6114	NREL Research POC Bldg & Office #: FTLB 181
Center/Office Name: Biosciences	Center/Office Number: 2700
PROPOSED DURATION OF APPOINTMENT	
From (start date): 04/18 ^{July 2018} To (end date): 09/18 ^{December 2018} <i>or 5/14/18</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Full-time - 40 hours/week <input type="checkbox"/> Part-time - # of hours/week:
Will the research project fall under the category of "fundamental research" (all results can be published freely)? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No	
IMPORTANT: Guest Researchers may not engage in any DOE funded research that directly contributes to AOPs or other deliverables and milestones. The U.S. Department of Energy (DOE) does not have authority to accept volunteer work in furtherance of its science and technology mission, which means that Alliance/NREL may not permit outside researchers to perform annual operating plan and funding opportunity announcement work unless they are compensated as employees.	
SIGNATURES FROM NREL – REQUIRED FOR NEW APPOINTMENT AND EXTENSION	
Name of Line Manager: Pin-Ching Maness	Signature:  Date Signed: 1/23/18 5/8/18
Name of Center/Office Director: Mark Davis	Signature:  Date Signed: 5/8/18
Name of Associate Lab Director: Adam Bratis	Signature:  Date Signed: 5/8/18
Name of Human Resources Collaborative Appointment Administrator: Stephanie Padgett	Signature:  Date Signed: 5/14/18

U.S. Department of Energy Exchange Visitor Program G-3-00348

Welcome to the Department of Energy Exchange Visitor Program!!!

Purpose of the Exchange Visitor Program

The Department of Energy (DOE) applied to the U.S. DOS to become a Designated Sponsor of J-1 Exchange Visitors' Program (Exchange Program). The broad purpose of the Exchange Visitor Program is to promote international education and cultural exchange in order to develop mutual understanding between the people of the United States and other countries. The Exchange Program exists in a variety of formats and permits visitors to come to this country to participate in a wide range of activities. The DOE is able to sponsor individuals on assignments as Research Scholars, Short-term Scholars, Government Visitors, and Specialists to provide opportunities for study and scientific research. Exchange Visitors (EVs) come to this country for a specific objective, such as a program of study, or research project with time frames that vary from **six months to five years**, as determined by the EV Category and the requirements of the sponsoring organization. More information on the Exchange Visitor is available on the U.S. DOS's website: <https://travel.state.gov/content/travel/en/us-visas/study/exchange.html>

Pre-Arrival Information Chia-hsin Chen

July 7, 2018 through December 31, 2018

National Renewable Energy Laboratory
15013 Denver West Parkway, Golden, CO 80401

You will reside in the Greater Denver Area and fulfill your exchange visitor program assignment at the South Table Mountain Campus at the National Renewable Energy Laboratory. Each Exchange Visitor at DOE is assigned a host who will provide guidance and information to enable a productive exchange visit.

Your **host** for this assignment is: Pin-Ching Maness, Group Research Manager III

She can be contacted at the following: 303-384-6114 or PinChing.Maness@nrel.gov

In addition, the following individual(s) at the site are available to assist you with any concerns regarding your stay.

(三)簽證辦理要求文件

Request for J-1 Sponsorship

Part II:

To Be Completed by Scholar or Specialist

PLEASE TYPE OR PRINT Items #1-16, and sign Item #17. The information provided on this form will be used to generate the J-1 or J-2 Form DS 2019(s).	
1.	Name as it appears in passport: Last Name: <u>Chen</u> First Name: <u>Chia-hsin</u> Middle Name (if applicable): _____
2.	Preferred Name: Last Name: <u>Chen</u> First Name: <u>Sigrid</u> Middle Name (if applicable): _____
3.	Home address, including a contact phone number. No.3, Aly. 50, Lunding 2nd St., Guiren Dist., Tainan City 711, Taiwan (R.O.C.) Street Address 1000 Wenhua Rd. Jiaan Village, Longtan District, Taoyuan City 32546, Taiwan (R.O.C.) Street Address 2 <u>Taoyuan</u> <u>Taiwan</u> <u>Taiwan</u> <u>32546</u> City State/Province Country Zip Code 886-958-777481 Phone number
4.	Sex: <u>Female</u>
5.	Email Address: <u>wis7435@iner.gov.tw</u>
6.	Date of Birth [DD/MM/YYYY]: <u>05 March 1985</u>
7.	Town or City and Country of Birth: <u>Tainan City, Taiwan</u> [e.g. Shanghai, China]
8.	Country of Citizenship: <u>Taiwan</u>
9.	Country of Lawful Permanent Residency (LPR)*: <u>Taiwan</u> *If country of LPR is different than country of citizenship, please include evidence of lawful permanent residency
10.	Affiliation/Employer in Country of Residence: <u>Institute of Nuclear Energy Research (INER)</u>

Request for Sponsorship Part II

11.	Position in Country of Residence: <u>Assistant Researcher</u>	
12.	Affiliation/Employer's Address: Street Address: <u>15013 Denver W Pkwy, Golden, CO 80401</u> Street Address 2: _____ City: <u>Denver</u> State/Province: <u>Colorado</u> Zip: <u>15013</u> Country: <u>the United States of America (USA)</u> Phone Number: <u>+1 303-275-3000</u>	
13.	University/College	Date(s) conferred
	<u>National Dong Hwa University</u>	<u>Bachelor degree</u> <u>2003-2007</u>
	<u>National Taiwan University</u>	<u>Master degree</u> <u>2008-2011</u>
	_____	_____
14.	Accompanying Dependents. Only a spouse and/or children under the age of 21 may accompany the J-1 EV as a J-2 Dependent. If no Dependent is Accompanying, please skip to question 15: <u>SPOUSE</u> Last Name: _____ First Name: _____ Date of Birth [DD/MM/YYYY]: _____ City/Town of Birth: _____ Sex: _____ Country of Birth: _____ Country of Lawful Permanent Residency*: _____ Country of Citizenship: _____ Email Address of Spouse: _____ <u>CHILD #1:</u> Last Name: _____ First Name: _____ Date of Birth [DD/MM/YYYY]: _____ City/Town of Birth: _____	

Request for Sponsorship Part II

Sex: _____
Country of Birth: _____
Country of Lawful Permanent Residency*: _____
Country of Citizenship: _____
CHILD #2
Last Name: _____
First Name: _____
Date of Birth [DD/MM/YYYY]: _____
City/Town of Birth: _____ Sex: _____
Country of Birth: _____
Country of Lawful Permanent Residency*: _____
Country of Citizenship: _____
CHILD #3:
Last Name: _____
First Name: _____
Date of Birth [DD/MM/YYYY]: _____
City/Town of Birth: _____ Sex: _____
Country of Birth: _____
Country of Lawful Permanent Residency*: _____
Country of Citizenship: _____
<small>(If the country of lawful permanent residency is different from your dependent's country of citizenship, please include evidence of lawful permanent residency. If additional space is needed, please include an attachment with the above information for each child.)</small>

Request for Sponsorship Part II

15.	<p>If Prior U.S. Immigration History includes Previous J-1 Program Participation within the last 24 months, please complete this section. If you have not entered the United States on a J-1 program during the past 24 months, please skip to #16.</p> <p>A. J-1 Category (i.e., Research Scholar, Short Term Scholar): _____</p> <p>B. U.S. Sponsor: _____</p> <p>C. Dates of Visit: _____</p> <p>[Please include copies of previous DS 2019s only if you have participated in a non-DOE Exchange Visitor Program. This enables DOE to determine whether you are eligible to return on a new J-1 program]</p>
16.	<p>Complete street address where DS 2019(s) are to be mailed (check one):</p> <p>1. Please use my home address: <input type="checkbox"/></p> <p>2. Please use my work address: <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>3. Please use the following address: <input type="checkbox"/></p> <p>Street Address _____</p> <p>Street Address 2 _____</p> <p>City: _____ State/Province: _____ Zip Code: _____</p> <p>Country: _____ Phone Number: _____</p>
17.	<p>Please print page #5, sign it, and return it to your J-1 Point of Contact.</p>

Request for Sponsorship Part II

TO BE SIGNED BY EXCHANGE VISITOR:

All individuals sponsored on the Department of Energy's J-1 Exchange Visitor Program are subject to 212(e) which is otherwise known as the two-year home-country physical presence requirement. Conditions pertaining to this requirement are outlined in your Pre-Arrival Information for Exchange Visitors and on the back of your Form DS-2019. All Department of Energy-sponsored J-1 Exchange Visitors and their J-2 Dependents are subject regardless of funding source.

J-1 Exchange Visitors sponsored under the category of *J-1 Research Scholar* are further barred from returning to the United States on a new J-1 Research Scholar program for 24 months from date of completion. J-2 dependents are subject to the 24 month bar; therefore, if your J-2 spouse enters the United States as a J-2 Research Scholar, he/she will not be able to return on his/her own J-1 Research Scholar program. It will become possible, however, for your spouse to apply for an Employment Authorization Document (EAD) upon arrival in the United States as your J-2 Dependent.

Please sign below attesting that you understand and agree to these conditions. Please refer to the Pre-Arrival Information for whom to contact should you have questions.

Chia-hsin CHEN
[Signature]

25/05/2018
[Date]

(四)職前訓練

Contingent/Non-Payroll Worker Orientation Checklist			
Checklist Section	Task	Purpose or information regarding this task	Need by date
Non payroll Workers with NREL computer	Set up user Network ID and Token	Allows access to all network systems (this information is received during orientation and needs to be completed at the new Employees desk)	First Day
	Set up Learning Gateway account https://nrel.plataste.com/learning/user/login.asp Complete online training through the Learning Gateway https://nrel.plataste.com/learning/user/login.asp	Use "learning" as access password and set up account Once account is set up, complete required online training assigned to you	First Day Complete within 14 days of start date
	Sign up for required HR compliance training (NREL non-payrolled employees with a contract more than 90 days) 1. Sexual Harassment Awareness 2. Diversity 3. Drug & Alcohol Awareness	Ensures your compliance with NREL policies 3-6, 3-3, 3-1, and 3-2. All compliance training should be completed as soon as possible after your start date. Check the Learning Gateway at https://nrel.plataste.com/learning/user/login.asp for class availability and registration	Complete within: 1. 90 days 2. 90 days 3. 90 days
	Complete Required Training Plan (RTP)	Fill this plan out with your line manager's assistance. Sign the form and obtain your line manager's signature. Return the form to Human Resources at MS 024	Within 10 work days of start date
	Determine Y-Drive access and SharePoint	Ask Manager or Admin what access you will have in respect to the Y drive and SharePoint if it is used in the center.	Second Day
	Complete Site Specific Environment, Health and Safety Orientation for New Workers and Office Relocations Register for Advanced EHS Orientation class	Review with Line Manager or Admin If working in a laboratory you will need to check with your POC for Advanced EHS Orientation schedule to attend	Within 10 work days of start date Completes within 15 days
Non payroll Worker without computer	Complete Required Training Plan (RTP)	Fill this plan out with your line manager's assistance. Sign the form and obtain your line manager's signature. Return the form to Human Resources at MS 024	Within 10 work days of start date
	Complete Site Specific Environment, Health and Safety Orientation for New Workers and Office Relocations	Review with Line Manager or Admin	Within 10 work days of start date

職前訓練內容 Orientation (learning gateway):

- Safety
- Security
- Sexual harassment awareness
- Diversity
- Drug & alcohol awareness
- RTP(Required Training Plan)
- Information security
- Environment , health and safety

(五)NREL 工作夥伴



前排左到右:Angela,Katherine,Yat-chen Jou,李安,Pin-ching,佳欣,董克景之姊,Amy
後排左到右:Jimmy,一修,Yi-Hsiang,董克景(東華大學教授),董克景之姊夫,Van(Pin-Ching 老公)



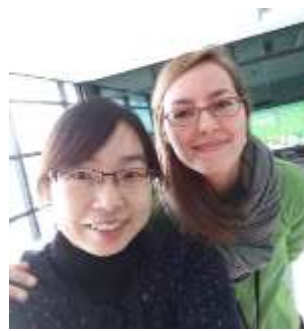
前排左到右: Angela(顯微鏡), Pin-ching,Katherine,Yat-chen Jou,佳欣(其餘皆生質能)
後排左到右: 一修(機械),Harry(電網),Yi-Hsiang(潮汐發電),John Pern(太陽能)



Mentor: Jonathan Lo



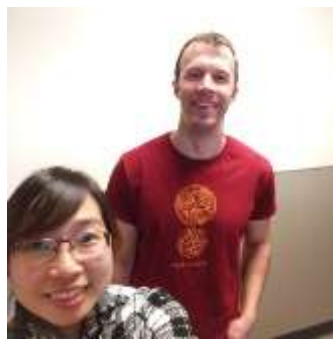
Scientist : Wei Xiong



Postdoc : Bonny



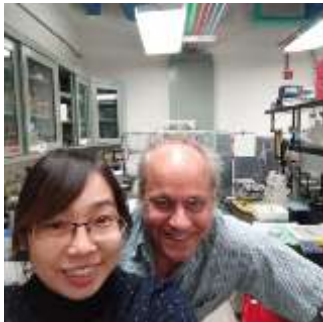
Postdoc : Jonna



Technician : Chris



Administrator : Tracy



Scientist : Matt



Intern : Sunny



Postdoc : Bo Wang



Technician : Nick