**生物成像中心技术支撑服务管理办法**

**中国科学院生物物理研究所**

**科学研究平台生物成像中心**

**2016年3月**

**生物成像中心技术支撑服务管理办法**

生物成像中心的职责是为科学研究提供高效率高质量的技术支撑服务；针对科研需求进行技术方法创新；为广大用户介绍、培训、使其掌握生物成像相关技术及仪器的使用方法。

目前生物成像中心拥有透射电子显微镜四台（FEI Titan Krios 300kV场发射低温透射电镜、FEI Talos F200C 200kV 场发射低温透射电镜、FEI Tecnai 20 200kV 透射电镜、FEI Tecnai Spirit 120kV透射电镜），双束扫描电镜一台（FEI Helios Nanolab 600i、配备了Quaroum PP3000T低温样品载台），原子力显微镜一台，结构照明超分辨率光学显微镜（Delta Vision OMX）一台，光激活定位（PALM）超分辨率显微镜一台，全内反射荧光（TIRF）显微镜一台，激光扫描共聚焦显微镜两台（FV1000，FV1200），转盘共聚焦显微镜两台（Andor SDC, 3I Marianas XL），双光子显微镜一台（FV1000MPE）。围绕这些显微成像设备的样品制备仪器，包括高压冷冻固定仪、快速冷冻仪、冷冻替代仪、临界点干燥仪、低温/常温超薄切片机、真空镀膜仪、表面等离子清洗仪、离子溅射仪、低温样品杆以及自主研制的连续切片自动化收集装置。此外，生物成像中心还建成了完整的显微图像数据采集、存储和处理计算机网络系统。浪潮倚天GPU图形工作站四台，浪潮天梭高性能计算机集群一套（100个计算节点，1200个计算核心）以及具有22台计算机终端的多媒体教室（用于图像处理软件教学）。

**生物成像中心成员：**

主 任：孙飞

副主任：季刚

电子显微成像小组：季刚（兼组长）、黄小俊、张建国、陈永圣、

郭振玺、范得印

样品制备小组：孙磊（组长）、王莉、贾艳侠（兼原子力）、彭灿

荧光显微成像小组：滕岩（组长）、李硕果、蒋春丽

网络及高性能计算：凌伦奖（组长）、丁玮

生物成像中心学术带头人：孙飞研究员、徐涛研究员、徐伟研究员、朱平研究员、苗龙研究员、徐平勇研究员、章新政研究员、李栋研究员

生物成像中心专家委员会：徐伟研究员、朱平研究员、苗龙研究员、徐平勇研究员、张宏研究员、邓红雨研究员、李国红研究员、朱岩研究员、章新政研究员

**第一章 生物成像中心工作人员日常工作守则**

第一条 各司其职，分工协作。在自己负责范围内要尽职尽责、积极主动地完成工作。

第二条 个人仪容仪表要整洁干净，谈吐举止大方得体。

第三条 早晚例行门窗、水电暖及设备安全检查。随时保持实验室常用耗材充足，物品摆放整洁有序。

第四条 工作有计划，按时按计划完成当日的工作任务。

第五条 早中晚三次网上预约审核，提前一天完成实验登记和预约网上日志。

第六条 做好用户的技术培训、考核工作，有序合理地安排实验，协助用户进行实验，耐心解答用户问题，及时纠正用户不规范实验操作，随时发现和改进工作中的不足，确保工作质量和效率。

第七条 仪器设备如有故障、更新、升级（硬件变动、软件升级、增加新的附件或功能）、培训等情况，应及时通知用户。

第八条 实验结束后，协助用户拷贝数据并提醒用户登记。

第九条 及时清理和规范公共数据存储空间，确保公共软件可正常使用。

第十条 检查当天晚上（或非工作时间）是否有人实验，实验人是否符合非工作时间实验规定，实验用品等是否齐备，并做好交代。

第十一条 中心工作人员应严格遵照中心规定，不对用户做超出规定之外的承诺。组长协调监督组内人员工作。如有用户提出超出本规定范围的要求或违反本规定的情况，需立即请示组长和主任。

第十二条 对违反中心规定、工作拖沓、推诿搪塞用户、态度不好、等影响正常技术服务工作秩序、损害中心形象和名誉的行为，做约谈、批评教育、警告、再培训等处理措施。

**第二章 生物成像中心用户守则**

第一条 新用户须接受培训考核方可使用仪器（培训内容包括预约、仪器操作、注意事项、实验室规定等，细则详见附件1）。

第二条 每台仪器的使用及预约规定不尽相同（细则详见附件2），不清楚之处请及时与该仪器管理员联系。

第三条 实验结束将实验用具及时归位，清洁实验台并做好记录和登记。

第四条 实验中遇到异常情况须及时通报仪器管理员，切勿擅自处理。在公共实验区域或仪器（样品制备实验台、通风处、摇床、烘箱等）内放置物品必须注明单位或研究组、使用人姓名、联系方式，以便在仪器发生故障等紧急情况时通知本人。

第五条 实验数据应放在指定的存储空间内，实验用本地硬盘只做暂存数据之用，数据转移后需及时清理。

第六条 对于用户放置在生物成像中心的物品和数据，如：实验橱、冰箱、液氮罐、实验数据等，由用户自行确保物品和数据的安全。

第七条 使用设备须经考核，只有具有独立使用仪器资格的用户方可在非工作时间使用相应仪器。

第八条 因特殊情况需要中心工作人员加班协助实验的用户，需要提前提出申请，并经主任审核同意，方视为有效。

第九条 用户在生物成像中心完成科研工作、获取研究数据并据此发表相关成果（论文、著作等），应在成果中对生物成像中心予以致谢（具体规定见附件3）。

第十条 对违反实验室规定的用户，将给予相应处罚（具体规定详见附件4）。

第十一条 中心对高值工具、用品、耗材、试剂采用领用的方式：

**工具：**以Vitrobot工具为例，中心准备了两套完整的Vitrobot工具和耗材。（冷冻镊子、液氮泡沫容器、保温杯、竹镊子、滤纸等）放置在两个抽屉中。工作时间，需要使用的用户找管理人员领取钥匙，清点检查好用品。用完后将钥匙归还工作人员，并登记，工作人员检查用品是否完好。用户需非工作时间使用，请提前领取钥匙并保管好，等工作日归还工作人员。工作人员必须保证实验用品的完好。用户也可自行购置冷冻样品的用品。其他高值用品也可照此管理。

**试剂：**以样品制备试剂为例，如用户经工作人员认可进行实验，需要用到的普通试剂（酒精、丙酮、树脂等）可向工作人员领用，用毕归还，亦可自行购买使用；特殊试剂（锇酸、醋酸铀等）需向工作人员领用并在工作人员监督下一次性使用，用多少领多少，不可多领。

**第三章 生物成像中心服务类别及服务流程**

针对不同的用户需求，不同技术方法特点，生物成像中心提供不同层次的技术服务，包括合作研究服务、技术咨询服务、日常技术服务、以及仪器使用服务。详细规定请参照附件5《生物成像中心对外技术服务类别》。

**第一类 合作研究服务**

**第二类 日常技术服务**

**第一条 技术服务流程**：

电镜：机时预约—申请书登记接收—审核结果—通知送样—用户送样—制样完成—电镜成像—实验结果交付用户。

样品制备：申请书登记接收—审核结果—通知送样—用户送样—制样完成—电镜成像—实验结果交付用户

**第二条 电镜技术服务规定：**

1. 区域中心内课题组电镜预约优先级大于区域中心外用户，区域中心内课题组可预约不超过第三个自然周的机时，而区域中心外课题组用户只能预约不超过第二个自然周的机时。同样，区域中心内课题组样品制备优先级大于区域中心外用户，根据实验繁忙程度决定是否接受区域中心外课题组申请。

2. 申请书每周五送审，**一周返回评审结果**。

3. 电镜技术服务时间承诺：对区域中心外用户从申请书审核通过到实际电镜实验**最长不超过14天**。

4. 样品制备技术服务时间承诺：从实际接收合格样品到制备完成（获得切片）**最长不超过21天**。特殊实验流程或特殊样品情况协商决定，报主任签字确认。

5. 建立委托技术服务存档：技术服务申请书/专家意见/实验技术流程/各环节完成时间/实验结果及组长认可及下一步实验建议/委托人课题组PI意见及签字。

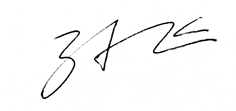
6. 用户如对实验结果不满意或有异议，应及时告知组长、主任和首席专家，以便采取相应措施。

7. 对于用户有特殊需求，如急于得到结果、执意要做被否定的样品、预先预料到很难达到用户实验预期等情况，需请示主任或经专家讨论后再行决定，并在申请书上注明实验风险及预计实验结果。

**第三类 仪器使用服务**

参照用户守则及生物成像中心相关规定实验即可。

本《办法》的最终解释权归生物成像中心所有。

主任（签章）

中国科学院生物物理研究所

蛋白质科学研究平台生物成像中心

2016年3月18日

**附件1：**

**生物成像中心培训考核说明**

1. 首次来本中心进行实验的人员要主动联系中心工作人员，并接受实验室管理规定、实验操作、仪器使用、实验安全等的培训。用户不得随意带领人员来成像中心做实验或参观，如有需要请提前联系告知中心管理人员，征得同意后方可进行，并有义务对其所带领人员在成像中心的行为负责。

2. 各仪器均有相应的培训规定。以Spirit、Tecnai 20 透射电镜为例，培训和考核分为三个等级：初级培训、中级培训和低温电镜培训：

（1）初级电镜技术培训及考核

对于没有使用经验的电镜用户，生物成像中心负责进行培训。初级培训主要内容为寻找样品、倍数放大、物镜光阑对中、图像聚焦、拍照及存储等基本电镜操作。培训可随时安排，需提前预约机时并和电镜管理员约好。建议初级电镜培训在Spirit和Tecnai 20上进行。初级培训也可由本课题组已取得独立使用电镜资格（中级考核）的人员进行。当用户经过了初级培训并且有一段时间的电镜使用经验积累，可熟练进行电镜的常规操作后可预约机时并联系电镜管理员进行电镜初级考核。各电镜的考核独立进行。

（2）中级电镜技术培训及考核

通过初级考核的用户可联系电镜管理员进行中级电镜培训。中级培训主要内容为升降高压、升降电流、合轴、上样、消象散、做cryo cycle等操作，目的是可独立操作电镜。中级培训必须由电镜管理员负责完成。培训可随时安排，需提前预约机时并和电镜管理员约好。当用户经过了中级培训并且有一段时间的电镜使用经验积累，可独立进行电镜操作后可预约机时并联系电镜管理员进行电镜中级考核。各电镜的考核独立进行。

（3）低温电镜技术培训及考核

对于做低温电镜的用户可联系电镜管理员进行低温电镜的培训及考核。进行低温电镜培训的用户必须通过中级电镜考核。低温电镜技术包括样品快速冷冻技术、低剂量成像技术、低温样品杆上样、SerialEM软件的使用等。接受培训后经过一段时间的联系可预约机时并联系电镜管理员进行低温电镜技术考核。

如有其他问题，欢迎联系生物成像中心相关工作人员。

**平台生物成像中心透射电镜用户培训考核表（正式版）(一)**

编号：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **用户姓名**  **（被考核人）** | | **所在研究单元** | | | **研究单元**  **负责人** | | **联 系 方 式** | | | |
|  | |  | | |  | | **电话** | |  | |
| **Email** | |  | |
| 初级（基本透射电镜操作技术） | | | | | | | | | | |
| **考 核 项 目** | | | | **考 核 结 果（Spirit）** | | | **考 核 结 果（T20）** | | | |
| 找样品 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| Eucentric height调整 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 聚焦 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| CCD 拍照 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 物镜光阑对中 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 安全及紧急情况处理规定 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | | | | |
| **考核日期** | 年 月 日 | | | | **考核人签字** | |  | | | |
| 中级（独立使用电镜的常规功能） | | | | | | | | | | |
| **考 核 项 目** | | | | **考 核 结 果（Spirit）** | | | **考 核 结 果（T20）** | | | |
| 常规合轴操作 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 换样品（常温） | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 加高压，升降电流 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| Cryo cycle | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| 图像格式转换，数据拷贝 | | | | 合格 □ 不合格 □ | | | 合格 □ 不合格 □ | | | |
| **考核日期** | 年 月 日 | | | | **考核人签字** | |  | | | |
| **考核**  **结果** | 1. **可以独立操作FEI Tecnai 20 200kV 透射电镜 □** | | | | | | | | | |
| 2. **可以独立操作FEI Tecnai Spirit 120kV 透射电镜 □** | | | | | | | | | |
| **被考核人**  **签字确认** |  | | **实验室**  **负责人**  **签字确认** | | |  | | **研究单元负责人**  **签字确认** | |  |

中科院生物物理研究所蛋白质科学研究平台生物成像中心2012年制

**平台生物成像中心透射电镜用户培训考核表(试用版)（二）**

编号：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **用户姓名**  **（被考核人）** | | **所在研究单元** | | **研究单元**  **负责人** | | | **联 系 方 式** | | | | |
|  | |  | |  | | | **电话** | |  | | |
| **Email** | |  | | |
| 高级（低温电镜操作技术） | | | | | | | | | | | |
| **考 核 项 目** | | | **考核结果（T20）** | | | **考核结果（Talos）** | | | | **考核结果（Titan）** | |
| 合轴操作（包括消象散） | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 成像剂量计算与测量 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 成像条件的确定 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| Low Dose 成像技术 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 冰层、样品质量的判断 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| **考 核 日 期** | | | 年 月 日 | | | 年 月 日 | | | | 年 月 日 | |
| **考 核 人 签 字** | | |  | | |  | | | |  | |
| 超级（独立使用低温电镜） | | | | | | | | | | | |
| **考 核 项 目** | | | **考核结果（T20）** | | | **考核结果（Talos）** | | | | **考核结果（Titan）** | |
| Single particle自动化成像软件设置 | | | 合格 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| Tomography 自动化成像软件设置 | | | 合格 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 合轴操作（包括coma free） | | | 合格 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 低温样品杆上样 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| 数据传输设置 | | | 合格 □ 否 □ | | | 合格 □ 否 □ | | | | 合格 □ 否 □ | |
| **考 核 日 期** | | | 年 月 日 | | | 年 月 日 | | | | 年 月 日 | |
| **考 核 人 签 字** | | |  | | |  | | | |  | |
| **被考核人**  **签字确认** |  | | **实验室**  **负责人**  **签字确认** | |  | | | **研究单元负责人**  **签字确认** | | |  |

中科院生物物理研究所蛋白质科学研究平台生物成像中心2015年制

**附件2：**

**生物成像中心仪器预约规定**

1. **网上委托单填写要求：**

每个连续时间段需单独预约一个委托单，委托单信息要填写详尽，实验人和联系方式应为实际实验人，预约时间要符合各仪器的规定（见下文）。违反上述规定的均视为无效委托单予以否决。不允许不预约而使用设备。预约的机时如因实验变动需取消的需及时在网上申请撤销。预约的机时不能按时使用的，或提前完成而空余较多机时的，需通知仪器管理员，以便另行安排协调别的用户使用，避免浪费机时。由此而造成的机时浪费，除承担相应的机时费外，作为违反规定处理。屡次浪费机时者减少其机时的预约时间。

1. **Spirit、Tecnai 20 透射电镜预约要求：**

区域中心内课题组电镜预约优先级大于区域中心外用户，区域中心内课题组可预约不超过第三个自然周的机时，区域中心外课题组用户只能预约不超过第二个自然周的机时。

经过中级考核的用户可无限制预约机时；未经过中级考核的用户只能预约工作时间电镜机时，如有紧急实验需预约非工作时间机时，必须有一名经过中级考核可独立使用电镜的用户全程陪同实验。

低温电镜用户需在网上委托单上注明，或提前一天给管理员说明，以准备好低温样品杆。

用户如对已约机时有变更或取消，须实验前在预约网上变更或告知仪器管理员。未使用机时不在网上提前撤销的，使用机时远少于预约机时且未告知仪器管理员的，均视为违规对待，且按照预约机时收取机时费。

1. **Talos透射电镜预约要求：**

用户使用Talos电镜前，必须填写《[高端低温电镜（Titan Krios Talos）用户申请书](http://cbi.ibp.ac.cn/cbiweb/uploadfile/2015/1129/20151129025119484.doc)》（可在生物成像中心网站http://cbi.ibp.ac.cn下载）。用户请按照申请书中的“填写说明”规范填写。填好申请表发给管理人员，由专家委员会评审后批准机时。

Talos机时预约以每个月最后一周为时间节点开始预约下个月的机时。

Talos电镜机时每天分为两个时段，分别是8:30am至5:00pm和18：00pm至第二天8:00am；预约时必须注明是哪个时段或是全天。

需要长时间进行数据收集工作或通过了Talos电镜中级技术考核的用户可预约全天机时。未通过Talos中级技术考核且仅需要检查样品或短时间数据收集的用户只允许预约工作日第一时段机时。

需要进行数据收集且不能进行自主电镜使用和程序设置的用户，需提前筛选好样品。由于数据收集的准备工作（电镜合轴、参数调整、程序设置、地图拍摄等）需要2~4小时，请您在数据收集当天最晚午后时间即确定合适样品。我们的电镜工程师会协助您进行数据收集的准备等相关工作。

当月机时分配通知收到后，请尽快在预约网进行预约。截止当月1日未在网上预约的机时视为自动放弃，会作为二次预约调整给其他课题组。

1. **Titan透射电镜预约要求：**

用户使用Titan电镜前，必须填写《[高端低温电镜（Titan Krios Talos）用户申请书](http://cbi.ibp.ac.cn/cbiweb/uploadfile/2015/1129/20151129025119484.doc)》（可在生物成像中心网站http://cbi.ibp.ac.cn下载）。用户请按照申请书中的“填写说明”规范填写。填好申请表发给管理人员，由专家委员会评审后批准机时。Titan年度机时中的30%为院先导项目专用机时。区域中心外用户的机时总数不得超过15%。

Titan电镜机时每天分为两个时段（第一时段8:30am－6:00pm，第二时段6:00pm至第二天8:30am）；预约时默认预约全天，特殊情况请注明预约哪个时段。

由于Titan电镜机时紧张，如果用户准备的样品质量不理想，请及时向管理员提出，以通知下一个用户使用。

当月机时分配通知收到后，请尽快在预约网进行预约。截止当月1日未在网上预约的机时视为自动放弃，会作为二次预约调整给其他课题组。

1. **Helios双束扫描电镜预约要求：**

用户使用Helios电镜前，必须填写申请书。预约填好申请书发给管理员，由专家委员会评审后批准机时。

Helios电镜机时可以每天分小时预约，需要长时间进行数据收集工作的用户可预约全天机时。每个用户最多预约5个工作日/月（如可以独立操作机器的用户可以增加相邻的周末的时间），其余时间为其他用户预约，每组最多预约5个工作日/月。管理员每月保留4-5天作为机器调试和维修时间。

当月机时分配通知收到后，请尽快在预约网进行预约。当月1日未在网上预约的机时视为自动放弃，会作为二次预约调整给其他课题组。

正式上机前用户应按照需求完成前期修块（粗修和精修）和TEM检查，然后提前1-3天对样品喷碳，以便节省正式使用的时间。

初次实验者，实验前应与管理人员研究制定实验方案。

1. **电镜制样设备预约要求：**

电镜制样设备包括：

1. 需要网上预约的设备包括：高压冷冻仪HPM100、高压冷冻仪Pact2、冷冻替代仪AFS2（A、B、C三台）、超薄切片机UC6（两台）、低温超薄切片机FC7。
2. 无需网上预约的设备包括：修块机、制刀机

无论（1）或（2），使用后均需在登记本上登记。

用户如委托工作人员进行制样的，需先和样品制备组联系，按要求填写申请书，待审核通过后安排实验，再按要求预约相应仪器机时，由工作人员独立使用或带领用户使用。

经过考核可独立实验的用户可网上自行预约机时；原则上只能预约不超过第三个自然周的机时。

未经考核认可独立实验资质的用户不可自行预约机时。如有合作课题，要求实际使用人必须是经过考核可独立实验的用户，预约时必须在联系人处备注。

应按实际需要时间预约机时。不得多占抢占或少约不约。冷冻替代仪一个流程内时间需连贯（一天为0:00-23:59）, 高压冷冻仪和冷冻超薄切片机需包括预冷时间。

1. **光镜预约要求：**

登陆仪器预约网http://samp.cas.cn，详实填写预约单。

1. 提前一周（7天）预约（每年收费结点后一周的预约推迟至5月16日和11月16日开始预约)。
2. 取消预约或更改使用时间，必须提前至少2小时通知管理员，否则将收取已经预约的机时费。
3. 当某仪器使用高峰时，会限制每个课题组的预约次数和使用机时（通常最多8小时/周/组），尽量实现公平、合理使用；当仪器需要维护或维修时，管理员会尽早通知预约使用人。

**附件3：**

**关于用户在发表研究成果时进行致谢的说明**

中国科学院生物物理研究所蛋白质科学研究平台生物成像中心（以下简称生物成像中心）定位于生命科学研究前沿，致力于实现生物学对象从纳观尺度到介观尺度的高分辨率三维成像技术（包括超分辨率光学显微技术、低温电子显微技术、三维重构技术、低温扫描微加工技术、单分子荧光成像技术、原子力显微技术、光电关联显微成像技术以及一系列生物显微成像样品技术），并承担着北京及周边地区生物显微成像技术服务工作，我们追求高质量的技术服务，我们坚持技术服务仅仅收取仪器设备运行成本费用。

用户在生物成像中心完成科研工作、获取研究数据并据此发表相关成果（论文、著作等），应在发表的文章对生物成像中心予以致谢，建议这部分文字格式规范如下：

一、用户使用生物成像中心仪器设备，在中心相关技术人员协助下完成相应研究工作，在生物成像中心获取了研究数据、图片或是技术方法等，并据此发表成果（如论文，著作等）时，致谢格式为：

致谢：……（冷冻电镜成像、超分辨率荧光成像等）相关工作在生物物理研究所蛋白质科学研究平台生物成像中心完成，感谢XX在（样品制备、数据采集与分析等）工作中的帮助……

Acknowledgement: …we would like to thank the Center for Biological Imaging (CBI), Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science for our XXX (Electron Microscopy/ Cryo-EM/ Atomic Force Microscopy/ Structured Illumination Microscopy work) and we would be grateful to XX for his /her help of [making EM sample, taking/analyzing EM images]…

二、用户使用生物成像中心仪器设备，在生物成像中心自行从事相关科研工作，在生物成像中心获取的研究数据、图片或是技术方法等，并据此发表相应成果，致谢格式为：

致谢：……（冷冻电镜成像、超分辨率荧光成像等）相关工作在生物物理研究所蛋白质科学研究平台生物成像中心完成……

Acknowledgement: …Our XXX (Electron Microscopy/ Cryo-EM/ Atomic Force Microscopy/ Structured Illumination Microscopy work was performed at the Center for Biological Imaging (CBI), Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science.

三、生物成像中心浪潮集群于2013年12月起正式更名为中国科学院生物物理研究所生物成像中心高性能计算服务站（HPC-Service Station in Center for Biological Imaging, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences），致谢格式请一并参照上文格式说明。

四、为鼓励和支持科研创新与发展，利用生物成像中心相关仪器设备或技术手段获取高质量研究成果的用户，将在以后的仪器预约使用中获得一定的优先权。

五、如有用户使用生物成像中心相关仪器设备或技术服务获得实验数据，且相关实验数据、照片等被引用到发表文章中，而文章致谢中未提及生物成像中心相关贡献，生物成像中心将视情况拒绝该用户所在单位或者课题组半年~两年在生物成像中心的仪器使用权。对于出现两次及以上恶意忽略生物成像中心所提供技术服务贡献的用户，生物成像中心将把该课题组列入服务黑名单。

最后，用户的认可与支持是生物成像中心前进的动力，感谢大家对生物成像中心的信任，生物成像中心也将继续完善管理规章制度，不断提升技术服务水平，为科研工作发展贡献一份力量！

**附件4：**

**生物成像中心违规处理办法**

对违反中心管理规定未造成不良后果的用户，每次违反规定，会通知劝告；以课题组为单位年度累计3次者，中心约谈相关责任人；年度累计6次者，约谈并正式通知课题组PI，课题组实验人员再培训；累计10次以上者，该课题组实验限制使用机时一周~一月不等。

对违反中心规定，造成不良后果但不严重的用户1次者通知课题组PI，再培训，2次者视情节暂停其使用权1周~1月不等，加强培训；对违反中心规定，造成不良后果但不严重的用户3次者，或造成严重后果的用户1次者，通知课题组PI，加强培训，暂停其使用权（时间视其认识态度和培训结果，最少为1个半月）。

对课题组建立诚信记录档案，诚信度差（屡次违反中心规定、不按规定致谢、拖欠机时费等）的课题组或单位采取降低优先级、暂停技术服务、直至拒绝技术服务的措施。

如违反文章致谢规定，生物成像中心将视情况拒绝该用户所在单位或者课题组在未来一年到两年时间内的技术服务申请。对于出现两次及以上恶意用户，生物成像中心将把该用户所在单位列为诚信度差用户，该单位其他课题组或个人在生物成像中心的技术服务也将受到一定影响。

用户在实验完成后无故不缴纳或恶意拖欠机时费的课题组将视情况降低使用优先级、暂停技术服务、拒绝技术服务等惩罚。

注：上述情况将使用分数扣减的方式进行记录。年度末根据剩余分数和违规情况，确定当年的诚信等级（优、良、中、差）。

**诚 信 记 录 表**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **时间** | **课题组** | **人员** | **违规事项** | **措施** | **累计**  **次数** | **本次扣分** | **剩余分数** |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |

|  |
| --- |
| **减分标准（满分50分，每一年度为一周期）：** |
| **1.未造成不良后果或影响，每人次减1分。** |
| **2.造成一定影响和后果，但未造成损失，每人次减3分。** |
| **3.造成严重后果，造成损失，单不严重，每人次减10分。** |
| **4.屡次或故意违规，造成严重后果和损失，每人次减25分。** |

**附件5：**

**生物成像中心对外技术服务类别**

中国科学院生物物理研究所生物成像中心针对不同的用户，不同的技术方法需求，提供不同层次的技术服务。包括：合作研究服务、日常技术服务、以及仪器使用服务。

**第一层次：合作研究服务**

合作研究服务的宗旨是基于用户的科研需求和成像中心自身方法学创新研究，成像中心与用户合作致力于开发和利用新技术来解决某些重大的科学问题。

**一、合作研究的方式**

目前主要有两种合作研究的方式：第一种方式，用户基于成像中心现有的方法学研究项目与成像中心共同合作在发展新方法的同时用于解决一些重大课题；第二种方式，创新型合作研究——用户可以针对自身的课题需要提出一些具有前瞻性、挑战性的技术需求，成像中心可以组织人员与课题组共同开发这项新技术用于解决重大的科学问题。

**（一）基于成像中心现有方法学研究项目开展的合作研究服务**

生物成像中心开展了多种先进的显微成像相关技术的方法学研究，用户可参与到感兴趣的项目中，与成像中心共同在发展技术的同时解决自己的课题需求。目前正在开展的项目包括：

1. **透射电镜相位衬度增强技术——相位板系统研究**

低温电镜图像衬度差、信噪比低对后期数据处理三维重构带来很大影响。对图像对齐、求取向等操作产生较大误差。相位板技术可有效提高正焦成像条件的衬度。

目前，项目研制了具有三维纳米精度定位相位板系统，得到的薄膜型相位板衬度成像的初步结果表明，相位板成像可以获得正焦条件下很高的图像衬度，可实现低温电镜的电子断层数据收集。

1. **连续超薄切片扫描电镜成像方法研究**

基于连续超薄切片扫描电镜成像方法可以对制备的连续超薄切片按照感兴趣的对象进行多次扫描成像，并且可以实现并行成像；同时在研究尺度上，可以达到1mm以上的尺度。

目前小型化改进版连续超薄切片自动化收集装置可实现稳定收集连续切片12000 片，切片厚度 60nm，切片面积约1\*2 mm2，并且切片基本没有褶皱问题。该项目正在利用该方法建立一套针对线虫的完整三维重构数据库。该方法可以用于脑组织等其他样品的大尺度三维重构。

1. **基于高真空光学冷台的光电关联成像方法**

光电关联显微成像技术（Correlative Light and Electron Microscopy CLEM）通过荧光显微成像对目标进行标记定位，然后再用电镜三维重构技术获取目标区域的更高分辨率的三维结构，最后，将定位信息和结构信息进行整合和处理，从而获得大量关于分子机器在细胞原位的三维结构信息，并由此统计归纳出目标分子机器原位动态变化规律。

目前，项目已经完成了高真空光学冷台的搭建，样品温度可以维持在液氮温度。同时，项目还设计了一款基于低温透射电镜(Tecnai 20)和倒置荧光显微镜(Olympus IX73)硬件坐标系统的光电关联定位软件，可以实现光镜坐标与电镜坐标的精确匹配。

1. **聚焦离子束法制备冷冻含水切片**

低温电子断层成像三维重构（cryo-ET）技术可以得到接近天然状态的细胞内部高分辨率三维结构、蛋白质等大分子在细胞原位的定位和相互作用信息。细胞cryo-ET的传统样品制备方法为含水冷冻超薄切片，该技术存在严重的压缩、振颤、皱缩、断裂以及载网附着能力差等缺点，并且技术难度大、成功率低。聚焦离子束可以加工冷冻至玻璃态的生物样品，并且没有重结晶现象出现，是一种更好地制备生物样品含水冷冻超薄切片的方法。

目前，项目更新设计和制作了冷冻样品转移和支持装置，并建立了一套较成熟的，从样品快速冷冻、冷冻样品转移至双束SEM腔室、FIB 减薄加工、冷冻含水超薄切片转移至低温电镜到低温电子断层三维成像的技术流程，成功完成了基于聚焦离子束技术的生物样品含水冷冻超薄切片的制备和成像，可观察到细胞内部的亚细胞结构。

1. **低温透射电镜高分辨率成像用支持膜的研发**

低温透射电镜单颗粒三维重构技术随着相差矫正电镜的实现、直接电子探测相机的普及，其分辨率提升的限制因素集中在样品制备方面。要制作一个适合获得高分辨三维重构数据的低温电镜样品，除了样品颗粒自身的性质（如全同性、分散性、大小尺寸等）以外，最重要的是承载样品的载网以及铺设在载网上的支持膜。作为承载样品的载网支持膜要求机械强度高、亲水性好、导电性能优良、表面平整、厚度适中、带有微阵列孔洞。现市售的常用微阵列支持膜（Quantifoil和C-flat）在亲水性能、支持膜厚度及导电性能方面都已固定，无法根据样品的具体需要而调整。

生物成像中心自2008年起开始自行制备微阵列支持膜。2012年制备技术已摸索成熟并命名为GiG载网。目前，GiG载网上覆盖的碳微阵列支持膜有孔径为2μm，孔间距2μm（2/2）；孔径为2μm，孔间距1μm（2/1）；孔径为1μm，孔间距1μm （1/1）等多种规格，并继续针对其微阵列孔径/孔间距尺寸，支持膜厚度、制材（增强导电能力）、表面修饰基团以及亲水性能继续进行优化。目标是针对不同尺寸/性质的样品制备出适合其制作冷冻样品的载网，提高制作适合高分辨数据收集的冷冻样品的成功率。

1. **新型生物电镜染色剂的开发与研制**

电子染色(electron stain)是绝大多数生物电镜中不可或缺的重要步骤，一般来说，生物样品都是由碳、氢、氧、氮等轻元素组成，不具有很好的电子散射能力，在电镜下很难有良好的反差，不利于超微结构的辨识和成像。一些特定的组织结构也依赖于良好的固定和染色才能凸显。因此，在进行生物电镜观察时，通常用醋酸双氧铀进行染色。然而铀盐具有一定的放射性，不利于环境和健康，我国目前也已对其进行了进口控制，因此我们开发研制无放射性、价钱低廉、使用方便的新型生物电镜染色剂，来取代醋酸双氧铀，应用于超薄切片染色观察、扫描电镜观察和透射电镜的负染色观察。

目前已经开发和合成了几种新型染色剂，在超薄切片染色、扫描电镜染色（块染色）和负染色方面取得良好效果。

1. **快速冷冻替代**

现在的冷冻替代周期比较长。此项目旨在研制一种能够适用于Leica EM AFS2冷冻替代仪的快速冷冻替代装置，建立起适应于多种样品快速冷冻替代的实验方法。此快速冷冻替代装置，利用冷冻替代仪精确控制条件，并通过微型“摇床”加速冷冻替代过程，节约了资源，提高了效率，大大促进相关科研工作的快速开展。

目前，项目已经初步设计并完成了快速冷冻替代装置，经测试，该装置在Leica EM AFS2的低温样品室内运行良好。

**（二）创新型合作研究服务**

用户针对自身的课题需要提出比较具有前瞻性、挑战性的创新型技术需求，成像中心可以利用资源和技术人员优势，组织相关人员与课题组共同开发此项新技术，用于解决重大的科学问题。

**二、合作研究服务的流程**

合作研究服务需要用户提前准备好申请书（详见成像中心网站管理规定http://cbi.ibp.ac.cn），详细列明课题的研究背景、进展阶段、要解决的科学问题、以及预期目标等方面。申请书将会提交到生物成像中心专家咨询委员会进行审批。每年合作研究服务的名额有限。如果审批通过，课题组和生物成像中心会进一步洽谈具体的合作细节等问题，并签订正式的合作协议，以及根据需要签订相应的保密协议。协议签订后将立刻组织人员开展合作。

**第二层次：日常技术服务**

生物成像中心集成了超分辨率光学显微技术、低温电子显微技术、三维重构技术、低温扫描微加工技术、单分子荧光成像技术、原子力显微技术、光电关联显微成像技术以及一系列生物显微成像样品制备技术。其中样品制备具体开展的技术服务项目包括：化学固定方法、高压冷冻冷冻替代方法、低温包埋免疫标记方法、包埋前免疫标记方法、冷冻切片免疫标记（Tokuyasu）方法、冷冻含水切片方法（CEMOVIS）、临界点干燥方法，以及光电关联的样品制备等等。

此服务项目同样需要用户提前递交各类相关技术服务的申请书（详见成像中心网站管理规定http://cbi.ibp.ac.cn）。申请书中需详细列明样品来源，需要的技术服务种类，预期达到的目标，以及期望的实验周期等内容。成像中心将针对用户的申请，安排特定的工程师根据用户的需求完成从样品制备到后期图像的采集及处理整个实验过程。

**第三层次：仪器使用服务**

这一层次的服务对象主要针对的是可以独立操作仪器（诸如spirit透射电镜、T20透射电镜、超薄切片机、高压冷冻仪等）的用户。实验前用户无需填写申请书，只需自己在网上预约机时即可。成像中心负责保证每台仪器正常运转，实时解决难题。