

我国冷冻电镜平台建设现状及其发展

郭振玺^{1,2} 王 晋³ 张丽娜⁴ 王荣荣⁵ 黄春娟¹ 韩玉刚¹

(1. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101;
2. 北京大学生命学院, 北京 100871; 3. 国家科技基础条件平台中心, 北京 100862;
4. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; 5. 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘要: 立足冷冻电镜技术的发展历程, 从电镜平台分布、技术人才队伍建设和取得的成果等方面统计分析我国高端冷冻电镜平台的建设现状以及当前面临的主要问题, 结合国内外冷冻电镜技术及技术支撑平台的建设发展趋势, 分析探讨我国冷冻电镜平台未来的建设方向并提出发展建议。

关键词: 冷冻电镜; 电镜平台; 人才队伍; 技术支撑体系; 平台建设

中图分类号: T-19

文献标识码: A

DOI: 10.3772/j.issn.1674-1544.2020.06.008

Recent Development of Cryo-Electron Microscopy Core Facilities in China

GUO Zhenxi^{1,2}, WANG Jin³, ZHANG Lina⁴, WANG Rongrong⁵, HUANG Chunjuan¹, HAN Yugang¹

(1. Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101; 2. School of Life Science, Peking University, Beijing 100871; 3. National Science and Technology Infrastructure Center, Beijing 100862; 4. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; 5. Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101)

Abstract: Based on the recent development of cryo-Electron Microscopy (cryo-EM), this paper analyzes the rapid growth of high-end cryo-EM core facilities in China, discusses the current situation of distribution, technical personnel team and the achievements in China. Combined with the development of cryo-EM core facilities at home and abroad, this paper summarizes the development trend of core facilities and puts forward some suggestions on Chinese cryo-EM core facilities.

Keywords: cryo-Electron Microscopy, core facility, technical experts, technical support system, platform construction

0 引言

技术创新是科技创新的基础。技术创新可以

极大地提高科技创新效率, 促进技术创新方法的研发, 提升国家科技创新能力。我国当前正处于重要战略机遇期, 科技创新面临新的机遇和新的

作者简介: 郭振玺 (1986—), 男, 北京大学高级工程师, 主要研究方向: 冷冻电镜相关技术理论与应用、冷冻电镜平台运行维护; 王晋 (1982—), 男, 国家科技基础条件平台中心处长, 主要研究方向: 科技管理; 张丽娜 (1982—), 女, 中国农业科学院作物科学研究所副研究员, 主要研究方向: 大型仪器设备使用、维护与开放共享等; 王荣荣 (1979—), 女, 中国科学院动物研究所所级中心主任, 主要研究方向: 科技管理; 黄春娟 (1979—), 女, 中国科学院生物物理研究所蛋白质科学研究平台主管, 主要研究方向: 大型仪器设备建设与开放共享; 韩玉刚 (1975—), 男, 中国科学院生物物理研究所蛋白质科学研究平台主任, 中国电镜学会理事, 主要研究方向: 大型仪器设备建设与开放共享 (通信作者)。

收稿时间: 2020 年 4 月 4 日。

任务。面对一些关键核心技术依赖进口、容易被别人“卡脖子”的严峻挑战，科技创新应与时俱进，为我国高质量发展提供强大动力。冷冻电镜技术，全称是冷冻电子显微镜技术，是在低温下使用透射电子显微镜观察样品的显微技术，对结构生物学的发展具有重要的作用。冷冻电镜技术在我国广泛应用，有利于提高生命科学领域的技术创新水平，彰显了我国技术创新的重要性。

在我国，冷冻电镜技术主要应用于生命科学、软物质科学、化学、医学、药学、材料科学等学科，涌现了大量的科研成果，促进了相关领域及其交叉领域的蓬勃发展。目前，我国高端冷冻电镜技术需求已呈井喷式增长态势。20世纪90年代，美国是世界上进口电镜最多的国家，仅电镜进口就占了美国每年贸易赤字的0.2%，而现在我国进口电镜购置费已超过了20世纪90年代的美国^[1]。据统计，2018年我国仅采购冷冻电镜及其相关配套设备就达到8亿元。其中，南方科技大学为2.18亿元，西湖大学为1.67亿元，清华大学为8245万元，上海交通大学为7665万元，东北农业大学为6633万元，青岛海洋科学与技术国家实验室发展中心约9800万元，中国科学院约8000万元（中国政府采购网数据）。

目前，我国冷冻电镜主要依赖进口，冷冻电镜关键部件研制缓慢，在冷冻电镜仪器设备硬件制造、数据处理软件开发、数据库建设和人才队伍培训等方面处于劣势，冷冻电镜的设备和技术等存在“卡脖子”隐患，这极大地阻碍了冷冻电镜技术的创新，阻碍了结构生物学的发展。因此，被人“卡脖子”，既是挑战，也是机遇。加快建设发展冷冻电镜平台，加强平台管理、资源分配、协同工作，对提升技术创新能力，支撑生物医药、精准医疗、新能源、新材料的科学研究及产业升级具有了重要的作用。作为重要的科技基础设施，冷冻电镜平台以及与之配套的计算平台正在快速搭建。本文将在概述冷冻电镜发展历程的基础上，阐述我国冷冻电镜平台建设发展现状，分析我国冷冻电镜平台建设面临的问题，对冷冻电镜平台建设发展提出对策和建议。

1 冷冻电镜发展概况

1931年，德国科学家诺尔和鲁斯卡制造了历史上第一台透射电子显微镜^[2]，从此进一步拓展了人类对微观世界的观测认知能力。随着电镜分辨率和功能不断提高，电镜逐渐发展成为各个学科必须的高端科研仪器。但对于含水生物样品，由于样品内部含水量较多，且电子束对样品存在严重的辐照损伤等问题，往往需要经过特殊的固定、包埋、脱水、切片等一系列样品制备过程，无法直接获得生物样品自然状态的结构信息。冷冻电镜技术是通过将生物样品快速固定保护在无定形态的冰中，将含水样品保持在生理状态，实现冷冻电镜成像观察与高分辨率数据解析。该技术首次成功实现于1984年，由Adrian等^[3]使用液氮冷却的液态乙烷，将Semliki森林病毒固定保护在无定形态的冰中，使用冷冻电镜获得了样品超微结构的高分辨率信息。

从1984年至2013年，冷冻电镜解析大分子样品结构的分辨率集中在6~15 Å之间^[4]，技术的发展严重受到分辨率的限制。2013年，加利福尼亚大学洛杉矶分校程亦凡等实现直接电子探测相机漂移矫正算法^[5]，并利用直接电子探测相机获得了膜蛋白TRPV1离子通道的3.4 Å近原子分辨率结构^[6]；2016年，美国国立卫生研究院Subramaniam等解析谷氨酸脱氢酶的1.8 Å高分辨率原子结构^[7]，目前冷冻电镜解析生物大分子结构最高分辨率已达到1.55 Å^[8]。未来3~5年，利用冷冻电镜技术解析蛋白质结构实现2 Å分辨率成为常态。

经过几十年的快速发展，随着生物样品快速冷冻固定的日渐成熟、探测器量子探测效率不断提高以及数据处理算法的改进，冷冻电镜解析生物大分子样品的分辨率取得了质的飞跃。由于在发展冷冻电镜成像技术用于解析溶液中生物大分子高分辨率结构所做的开创性工作，瑞士的杜波切特、美国的弗兰克和英国的亨德森三位科学家分享了2017年诺贝尔化学奖，图1是冷冻电镜技术发展进程中获得诺贝尔奖的情况^[9]。

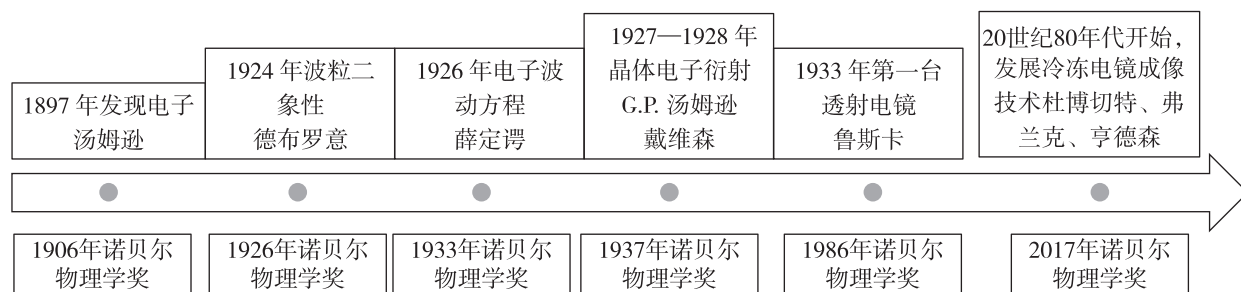


图1 冷冻电镜技术发展的诺奖之路

除了在生物学领域取得的重要成果以外，冷冻电镜的应用也已在材料科学领域崭露头角。2012年科学家们成功在液氮温度下实现了对金属有机骨架配合物结构完整成像^[10]。更具意义的是2017年崔等利用冷冻电镜研究具有化学反应性电池材料，在液氮温度下，不仅很好地解决了锂的氧化和电子束损伤问题，而且使材料保持在天然态，从原子尺度解决了锂金属/固态电解质界面反应机制问题^[11]。紧接着，Michael等系统研究了锂金属电池内的枝晶和电池液固界面^[12]。利用冷冻电镜解决了很多困扰人们已久的电池材料的关键问题。冷冻电镜逐渐成为生命科学、软物质科学、化学、医学、药学、材料科学等学科必不可少的研究手段。

2 我国冷冻电镜平台建设现状

2.1 冷冻电镜平台分布

300 kV冷冻电镜是冷冻电镜中心的核心设备，也是评价冷冻电镜平台的主要指标。Themo Fisher Scientific公司在2008年推出的加速电压300 kV Titan Krios系列冷冻电镜和JEOL公司在2017年推出的加速电压300 kV JEM-Z300FSC冷冻电镜是最主要的商业化产品。我国第一台高端冷冻电镜Tecnai F30落户北京大学医学部；2009年6月，亚洲第一台300 kV冷冻场发射电镜Titan Krios落户清华大学^[13]；同年12月，中国科学院生物物理研究所正式运行另一台Titan Krios电镜，开启了我国冷冻电镜平台的建设之路。

2018年，我国很多高校和科研院所规划和购置了冷冻电镜，掀起一股电镜购置热潮。截至2018年年底，全国11个省份21个单位开始或陆

续建成一流的高端冷冻电镜平台。正在使用或已订购超过4000万元的300 kV高端冷冻透射设备35台（表1）。南方科技大学官方网站显示，目前全球大约有100个冷冻电镜研究机构^[14]，而我国目前正在运行的冷冻电镜中心有9个，约占世界总量的10%。正在使用的300 kV高端冷冻电镜全球总量约为200台，我国约有20台，占10%。

但是，我国300 kV高端冷冻电镜分布不均。截至2018年年底，北京、上海、广东、浙江、吉林具有高端冷冻电镜平台，且能够开展冷冻电镜研究工作，而黑龙江、山西、山东、四川、湖北、安徽正在建设高端冷冻电镜平台，除此之外的其他省份尚无高端冷冻电镜平台。其中，北京、上海、广东、浙江、山西等5个省份共拥有28台，占总数的80%。从建设单位分析，高校占到总数的50%，中国科学院占到总数的20%。从学科分布来看，学科分布广泛，如材料科学和化学领域（中国科学院化学研究所和长春应用化学研究所）、药物研发设计筛选领域（中国科学院上海药物研究所）、精准医学领域（上海精准医学研究院和北京大学医学部）、病毒研究领域（中国科学院武汉病毒研究所）、海洋科学领域（青岛海洋科学与技术国家实验发展中心）和相关企业（深圳市龙岗区产业投资服务集团有限公司）都在谋划建设冷冻电镜平台。

2.2 冷冻电镜技术人才队伍情况

2015年，我国使用冷冻电镜技术从事研究工作的独立研究组约有20个^[13]，到2018年已经超过50个，仅北京、上海的研究组占总研究组数约80%。但高水平的专业技术工程师，特别是冷冻电镜平台管理人员奇缺，冷冻电镜实验室平台

表 1 我国 300 kV 高端冷冻透射电镜的分布及使用状态

省份/数量	单位	300kV 冷冻电镜数量	型号	状态
北京/10 台	清华大学	3	Titan Krios	使用中
		1	Titan Krios	等待到货
	生物物理研究所	2	Titan Krios	使用中
	北京大学	2	Titan Krios	使用中
	北京大学医学部	1	Tecnai F30	使用中
	化学研究所	1	Titan Themis	正在调试
上海/7 台	上海蛋白质中心	1	Titan Krios	使用中
	复旦大学	1	Titan Krios	等待安装
	上海药物研究所	1	Titan Krios	使用中
	上海科技大学	2	Titan Krios	使用中
	上海交通大学	1	Titan Krios	等待到货
	上海交通大学第九人民医院	1	Titan Krios	使用中
广东/7 台	南方科技大学	2	Titan Krios	使用中
		4	Titan Krios	等待到货
	深圳市龙岗区产业投资服务集团有限公司	1	Titan Krios	等待到货
浙江/3 台	浙江大学	1	Titan Krios	使用中
	西湖大学	2	Titan Krios	等待到货
山西/2 台	山西高等研究院	2	Titan Krios	拟购置
山东/1 台	青岛海洋科学与技术国家实验发展中心	1	Titan Krios	等待到货
黑龙江/1 台	东北农业大学	1	Titan Krios	等待到货
吉林/1 台	长春应用化学研究所	1	JEM-3200FSC	使用中
安徽/1 台	中国科学技术大学	1	Titan Krios	等待到货
四川/1 台	四川大学	1	Titan Krios	等待到货
湖北/1 台	武汉病毒研究所	1	JEM-Z300FSC	等待到货
合计		35 台		

培养的学生还很少，远不能满足我国高端冷冻电镜技术呈井喷式增长态势的人才需求。冷冻平台的建设还需配套建设专业的专家委员会以指导平台的运行与维护，而我国电镜技术应用专家还非常短缺。

2.3 取得的成果与国际影响力

电子显微镜数据库（EMDB）于 2002 年在欧洲分子生物学实验室生物信息研究所（EMBL-EBI）成立，是全球专门用于汇总生物大分子和亚细胞结构的电子密度图的公共数据库^[15]。从 2002 年开始，截至 2018 年年底，EMDB 共发布 7314 幅电子密度图。我国科学家发布电子密度图 502 幅，占 6.86%；CNS 电子密度图共发布 1715 幅，我国科学家发布 145 幅，占 8.45%。EMDB 收藏研究论文 2709 篇，我国科学家发表 189 篇，占 6.98%（图 2）。其中，189 篇研究论文中，高水

平 CNS 论文 53 篇，占 28.01%，502 幅电子密度图，高水平 CNS 密度图 145 幅，占 28.83%（图 3）。目前，我国在冷冻电镜技术应用和学术研究成果方面，已稳居继美国、德国、英国之后的第四位^[16]，取得的成果与我国近几年大力建设冷冻电镜设施是分不开的。

从 2014 年开始，我国在《Cell》《Nature》和《Science》等期刊上共发表 53 篇论文，解析了现在分子生物学领域困扰人们 30 多年的 30 nm 染色质纤维高级结构^[17]。2015 年发表论文 7 篇，2016 年发表论文 8 篇，2017 年发表论文 17 篇。2018 年发表论文 19 篇，占全世界发表 CNS 论文数 31%。这些重要的科技成果中，除了 30nm 染色质外，还包括剪切体^[18]、疱疹病毒衣壳^[19]、人源 γ 分泌酶^[20]、线粒体呼吸体^[21]、人源 26S 蛋白酶体^[22]、核糖核酸 P 全酶^[23]、捕光复合体^[24]、胰腺

ATP敏感性钾通道^[25]、分子伴侣^[26]等。其中由中国科学院生物物理研究所科研团队通过单颗粒冷冻电镜技术,在3.2埃分辨率下解析了高等植物(菠菜)光系统Ⅱ-捕光复合物Ⅱ超级膜蛋白复合体的三维结构^[24],破解了光合作用超分子结构之谜,获得了其与外周捕光天线之间相互装配原理和能量传递过程相关的重要结构信息,为实现光能向清洁能源氢气转换提供具有启示性的方案。该项成果荣获了“2016年中国十大科技进展”。

除在电镜设施建设和具有国际影响力的学术成果外,使用冷冻电镜进行原位结构生物学研究方法也已建立起来^[27]。通过发展冷冻聚焦离子束加工技术,克服了电子衍射微晶蛋白样品制备瓶颈,制备蛋白晶体厚度达到150~250 nm,从而

建立了从样品制备、数据收集、数据处理整套的微晶电子衍射技术,解析蛋白晶体分辨率为1.5 Å^[28]。

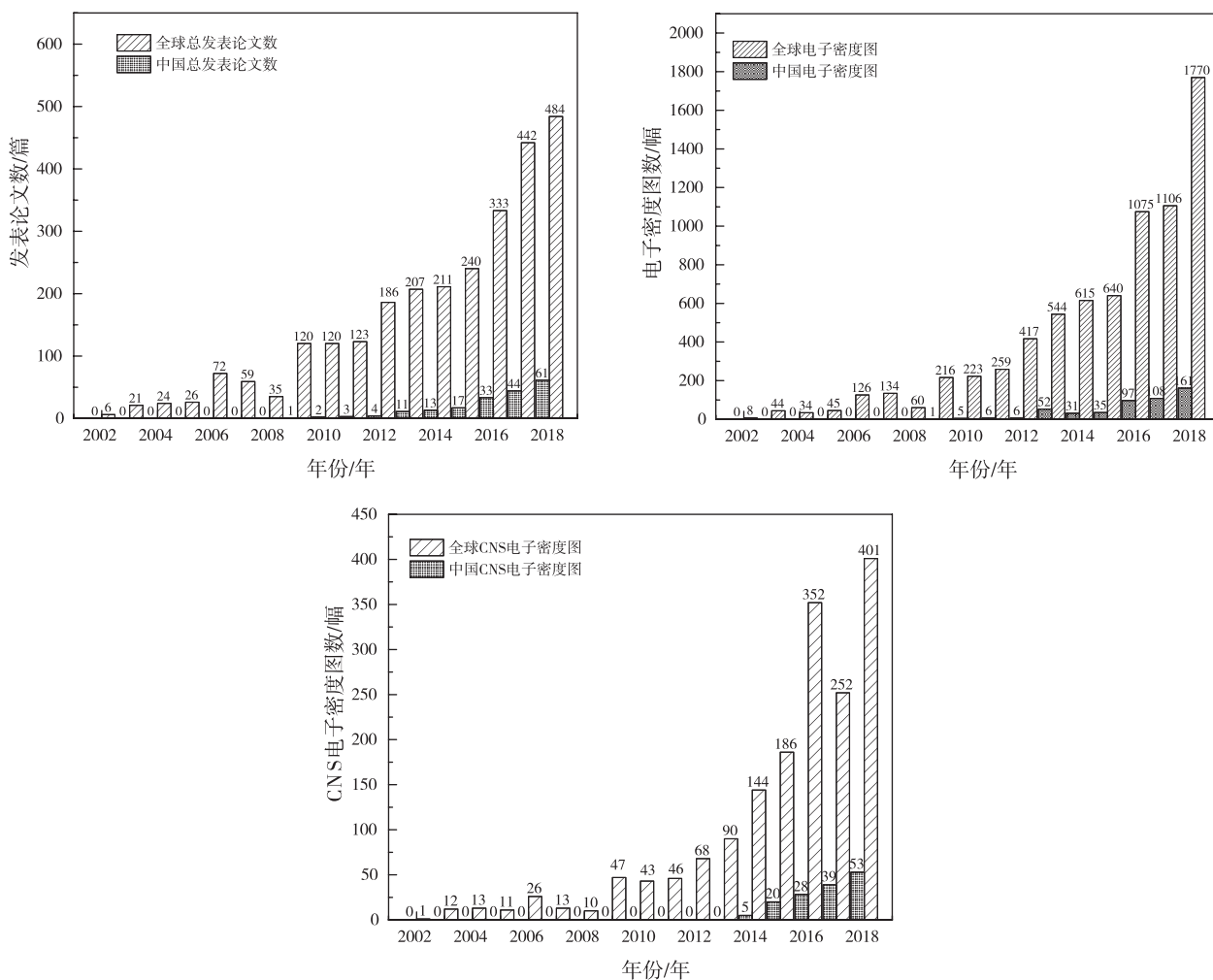
在材料研究方面,通过冷冻固定,克服电子束辐照损伤,获取了非金属卟啉分子组装,得到了其立方相、十四面相有机纳米晶体催化剂,并获取了有机晶体高分辨像,揭示了其镜面依赖光催化性能,助力研发新型高效催化剂^[29]。

3 我国冷冻电镜平台建设面临的问题

3.1 冷冻电镜及相关配套设备主要依赖进口

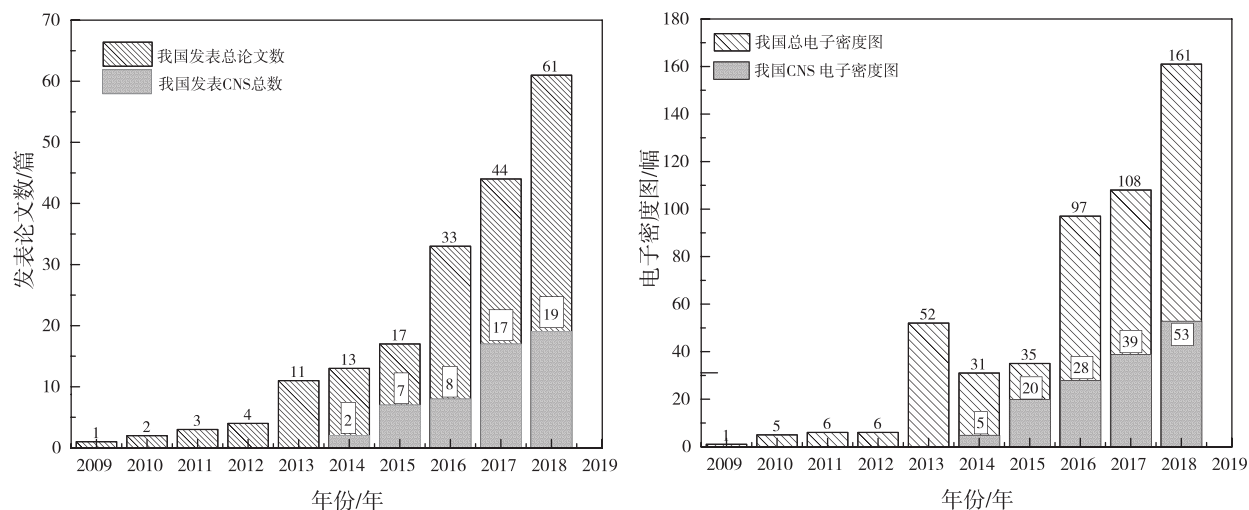
3.1.1 冷冻电镜主体设备

目前,从120kV到300kV不同型号的冷冻电镜全部依赖进口,垄断的现状十分不利于我国的



数据来源:数据来自EMDB。

图2 我国与全球发表的CNS电子密度图比较



数据来源：数据来自EMDB。

图3 我国每年总发表论文、总发表CNS论文以及电镜密度图、CNS密度图

电镜平台发展。

3.1.2 冷冻制样设备

含水冷冻样品制备是目前冷冻电镜发展瓶颈问题之一^[30-31]。1980年，Dubochet等设计发明了第一台手动快速投入式冷冻制样设备。目前商品化代表性冷冻制样设备主要有德国Leica公司的EM GP、美国Thermo Fisher Scientific公司的Vitrobot Mark IV和美国Gatan公司的Model 930 Cryoplunge™。荷兰Crysol公司最新推出了新型Vitrojet全自动样品制样设备，更是可结合现有的Titan Krios系列电镜每次处理12个样品的存储盒直接处理样品，节省了大量的人力，提高了冷冻样品制备的可重复性。另外，还有专门用于原位生物化学反应动态结构研究的冷冻制样设备^[32-34]，尚处于实验室研发阶段。目前，国内唯一的相关国产设备厂商是由中镜科仪技术有限公司研发，其手动快速冷冻装置ZC-2008（图4）售价远低于进口产品，因温湿度控制和自动化方面的不足，仅有浙江大学等少数几个用户。

进口设备一般都在50万元以上，特别是新推出的Vitrojet售价更是高达几百万元。事实上，我国已经具备了研制新型快速冷冻制样设备的技术实力。研发成功后，可以节约大量科研经费。然而，这些节约国家采购经费的工作目前并没有

被列入技术人员的考核指标，而且这种生产制造只能算是创新高原，达不到创新高峰。在冷冻电镜技术应用如火如荼的情况下，没有研究人员愿意投入太多精力进行研制。类似这些研制工作，适合一线工程师承担，可以带来很大的直接经济效益。因此，必须要认真考虑如何从评价机制上出发调动研发人员的积极性。



图4 我国中镜科仪公司自主设计制造的手动式快速投入式冷冻制样设备（中镜科仪，ZC-2008）

3.1.3 图像探测设备

直接电子探测相机是提升冷冻电镜分辨率的另一个重要技术突破^[35]。与传统的CCD相机相比,直接电子探测器(Direct Detection Devices, DDD)具有电子计数功能,使得探测器具有更高的量子探测效率,大大提升图像的信噪比和采集照片帧率(目前最快K3相机每秒采集1500帧^[36]),从而消除因漂移造成的图像模糊。目前可以提供直接电子探测相机的厂商有Direct Electron公司、Gatan公司和Thermo Fisher Scientific公司。EMDB数据库统计结果显示,使用Gatan公司DDD解析的电子密度图占总量的70%,Thermo Fisher Scientific公司占27%,Direct Electron公司仅占3%。以2018年为例,利用Gatan公司K2相机发表的结果占74%,利用Falcon III相机发表的结果占9%,利用Falcon II相机发表的结果占12%,Thermo Fisher Scientific公司发表的结果占21%,而DE公司占5%。表2是Gatan的K2系列和刚刚发布的K3与Thermo Fisher Scientific公司Falcon系列和Direct Electron公司的DE-64相机的DDD指标对比。然而遗憾的是,我国目前在直接电子探测器方面几乎没有相关研究。

3.2 冷冻电镜分析软件主要依赖国外开发者

3.2.1 数据处理相关软件及算法

如图5所示,发布在EMDB上的数据,冷冻电镜数据处理使用的软件主要有Relion^[37]、Spider^[38]、Eman^[39]、Imod^[40]、FREALIGN^[41]和IMAGIC^[42]等,其开发者全部来自国外。但值得肯定的是,在冷冻电镜技术数据处理相关软件及算

法开发方面,我国已取得了一些世界领先的成果。中国科学院生物物理研究所章新政课题组提出了突破埃瓦尔德球效应分辨率极限的分块重构方法^[43],并使用该方法将尺寸约120 nm的HSV-2病毒核衣壳重构分辨率从4 Å提升到3.1 Å^[44]。2017年,中国科学院生物物理研究所孙飞课题组开发了可以很好地弥补缺失的信息生物电子三维断层重构的软件算法ICON^[45-46]。2018年,清华大学李雪明等开发了新型单颗粒三维重构软件THUNDER^[47],并将电子工程领域的粒子滤波算法引入到THUNDER中,对数据解析分辨率有显著提高。但总的来说,目前我国在冷冻电镜数据处理软件及算法的开发上还处于初级阶段,与国际水平还有很大的差距。

3.2.2 自动化数据收集软件

SeriaEM^[48]、Leginon^[49]、UCSFImage4^[50]和EPU(只兼容Thermo Fisher Scientific相机)^[51]是目前使用最为广泛的自动化数据收集软件。清华大学雷建林教授领衔开发了AutoEMation^[52],并获得了一系列重要结果,比如物镜球差矫正技术结合相位板数据收集^[53]。但总体而言,我国自动化数据收集软件仍处于研发起步阶段。

3.3 欧洲主导电子显微镜数据库

电镜数据库的发展在一定程度上反映了本国电镜技术的水平。电子显微镜数据库EMDB的服务器在欧洲。2016年,中国科学院生物物理研究所与欧洲分子生物学实验室生物信息研究所(EMBL-EBI)合作,由中国科学院计算机网络信息中心、中国科学院计算技术研究所在中国共同承建EMDB镜像站点(EMDB-china, <http://>

表2 三家商业公司最新DDD指标对比

指标	Direct Electron公司	Thermo Fisher Scientific公司	Gatan公司	
型号	DE-64	Falcon III	K2	K3
像素尺寸/μm	6.5	14	5	5
像素数	8K × 8K 67万	4K × 4K 16万	3838 × 3710 14万	5760 × 4092 24万
全幅处理帧数/秒	42	40	400	1500
转移至计算机速度帧数/秒	42	40	40	75
电子计数	可以	可以	可以	可以
解析的电子密度图占比/%	3	27	70	—

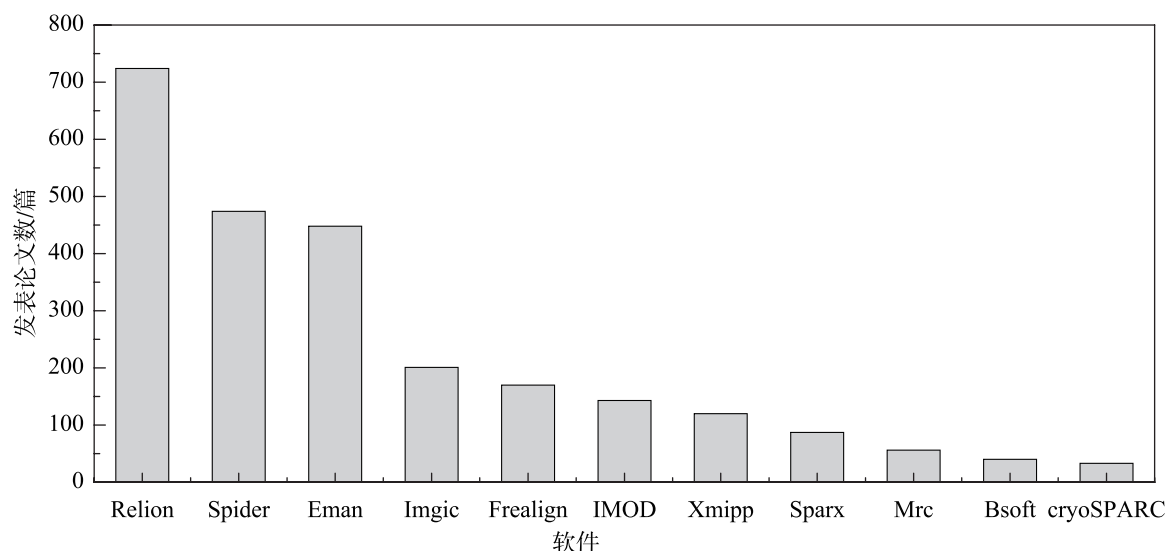


图5 冷冻电镜数据处理采用的软件及发表的学术论文

www.emdb-china.org.cn/)。EMDB-china的建成为我国乃至亚洲地区科研人员提供了电镜数据上传下载的便捷通道，有效推动了我国冷冻电镜相关研究工作。

3.4 冷冻电镜技术支撑人才短缺

2017年，冷冻电镜技术获得诺贝尔奖之后，全国各地纷纷掀起了建设冷冻电镜平台的热潮。然而，购置冷冻电镜等硬件设施相对容易，但是培养冷冻电镜相关的专业技术人才却并不是一朝一夕的事情。因此，为了保证本单位冷冻电镜平台的正常运作，已经出现了技术人才严重短缺的局面。希望在未来3~5年内，我国可以将冷冻电镜平台建设、运行维护、技术培训等形成一整套流程化的技术，同时加快配套专业工程师队伍的建设，降低进入该领域的技术门槛，真正将冷冻电镜技术在全国推广。

3.5 创新技术研究力度有待加强

2013年以来，冷冻电镜技术在解析样品分辨率方面有了很大的提升，但是目前主要集中在3~4 Å，更好的图像采集设备、样品制备设备技术和重构算法都可能是进一步提升电镜分辨率的关键技术突破点，我国在这方面的技术创新乏善可陈。在原位结构生物学研究方面，2016年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研究团队在冷冻样品制备上开发了D-

CryoFIB聚焦离子束冷冻减薄技术；2017年该团队研制了冷冻光电关联成像系统（High-vacuum Optical Platform for cryo-CLEM, HOPE）^[54]。与目前FEI iCorr、Leica Cryo-CLEM、CorrSight等进口的设备相比，HOPE可以根据科研需求配合不同的商业化荧光显微镜使用，操作简单快捷，对于开展研究细胞生物学具有重要的助推作用。

4 冷冻电镜平台建设发展建议

4.1 加强人才队伍建设，完善评价考核机制

冷冻电镜技术是结构生物研究领域前沿的实验手段。发展冷冻电镜平台，关键是要加强人才队伍的建设。一要建立一支高水平的技术支撑队伍，通过切实提高技术支撑人员的工资待遇增加获得感吸引高素质、高水平的青年科技人才加入技术支撑服务系统，逐渐夯实技术支撑系统的综合能力；二要将科研人员和技术支撑人员分类考核，把技术支撑服务工作量、支撑重大科研产出和新技术新方法创新等独特指标作为考核技术支撑人员的条件，明确技术支撑人员职级晋升条件和路径，提高技术支撑人员的工作积极性；三要设置完善工程师技术创新项目，从国家科技创新高度重视技术支撑人才，鼓励技术创新。

4.2 建立综合区域性平台，完善共享管理机制

目前，我国高端冷冻电镜技术工程师的培养

和高端冷冻电镜开放共享管理机制严重滞后,不能满足我国高端冷冻电镜技术的需求。如何解决日益增长的高端冷冻电镜技术需求和技术服务工程师缺乏的矛盾,已经成为了冷冻电镜平台建设发展的首要考虑的问题。建立综合区域性国家冷冻电镜平台,在优化科技资源配置的同时,可以集中现有高水平专业技术人才,吸引海内外优秀技术人才加入,通过“边运行边培养”的方式逐步解决技术工程师缺乏的核心问题。以冷冻电镜单颗粒分析技术为例,高端冷冻电镜只是用于数据收集,但是数据收集前的样品筛选,需要的机时是数据收集机时的几倍甚至几十倍,而我国冷冻电镜用于数据收集的 300 kV 冷冻电镜数量远远多于用于数据筛选的 200 kV 电镜,甚至造成用户使用 300 kV 电镜进行样品筛选,造成浪费高端电镜资源的现状。另外,缺乏基本技术维护能力的单位购置高端冷冻电镜,难以有效运行,造成设备闲置或使用低端化。区域性国家冷冻电镜平台在运行管理方面,还要参考国家重大科研基础设施管理办法,成立专业技术委员会,公开公平、科学合理地评审用户需求,不断完善开放共享管理机制。

4.3 加强运维费用管理,完善运维体制机制

根据仪器信息网《中国电子显微镜市场研究报告(2018版)》显示,我国2018年实际采购电镜设备费用为30亿~40亿元。目前,300 kV 高端冷冻电镜成交价在4000万元左右,设备正常使用运行维护成本每年为100万~200万元。另外,申请单位申请国家财政资金购置高端冷冻电镜,一般没有运行维护经费预算,因此在申请设备购置经费时,都会考虑包含5~10年维护保障的费用,甚至更长,导致冷冻电镜购置成本越来越高。因此,要加强统筹运行维护成本,建立技术创新机制,避免技术垄断。

4.4 制定切实可行的冷冻电镜研发计划

据统计,20世纪50年代末到20世纪60年代初,我国电镜制造单位达14家之多^[10]。特别是1958年国庆节前夕,在物资非常匮乏、基础科研和平台条件极度落后的情况下,我国成功研

制生产出自己的第一台透射电镜。随着国际形势的变化和中美贸易争端的屡屡发生,作为“卡脖子”的关键设备,研制高端冷冻电镜是国家科技创新必须要跨越的障碍之一。目前我国还不具备完全自主制造冷冻透射电镜的技术能力,因此要组织国内外相关专家提前规划制定切实可行的研发计划。建议在研制高端电镜的过程中,重点部署关键部件的研制,学习借鉴中国高铁的研制模式,发挥集成创新的优势,争取弯道超车,早日研制出中国自主品牌的高端冷冻电镜。

参考文献

- [1] 章效锋.显微传清晰的纳米世界[M].北京:清华大学出版社,2015:146.
- [2] RUSKA E. The development of the electron microscope and of electron microscopy[J]. Reviews of Modern Physics, 1987, 59(3): 627-638.
- [3] ADRIAN M, DUBOCHET J, LEPAULT J, et al. Cryo-electron microscopy of viruses[J]. Nature, 1984(308): 32-36.
- [4] NOGALES E. The development of cryo-EM into a mainstream structural biology technique[J]. Nature methods, 2016(13): 24-27.
- [5] LI X M, MOONEY P, ZHENG SW, et al. Electron counting and beam-induced motion correction enable near-atomic-resolution single-particle cryo-EM[J]. Nature Methods, 2013, 10(6): 584-593.
- [6] LIAO M, CAO E, JULIUS D, et al. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy[J]. Nature, 2013(504): 107-114.
- [7] MERK A, BARTESAGHI A, BANERJEE S, et al. Breaking cryo-EM resolution barriers to facilitate drug discovery[J]. Cell, 2016(165): 1698-1707.
- [8] JEOL 冷冻电镜获得新的世界纪录1.55埃[EB/OL]. [2019-02-11]. https://www.instrument.com.cn/net-show/SH100507/news_479866.htm.
- [9] The Nobel Prize[EB/OL].[2018-12-11]. <https://www.nobelprize.org/>.
- [10] WANG Y. Cryo-electron microscopy finds place in materials science[J]. Sci China Mater, 2018, 61(1): 129-130.
- [11] LI YZH, LI YB, PEI A, et al. Atomic structure of sensitive battery materials and interfaces revealed by cryo-electron microscopy[J]. Science, 2017(358): 506-510.

- [12] ZACHMAN M J, TU Z Y, CHOUDHURY S, et al. Cryo-STEM mapping of solid-liquid interfaces and dendrites in lithium-metal batteries[J]. *Nature*, 2018, 560(7718):345-349.
- [13] WANG H W, LEI J L, SHI Y G. Biological cryo-electron microscopy in China[J]. *Protein Science*, 2017(26): 16-31.
- [14] 南科大冷冻电镜中心正式揭牌将成为中国规模最大的冷冻电镜设施中心[EB/OL].[2018-11-19].<https://bio.sustc.edu.cn/?p=8171>.
- [15] Protein Data Bank in Europe[EB/OL].[2019-03-01].<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/emdb/>.
- [16] PATWARDHAN A. Trends in the Electron Microscopy Data Bank (EMDB)[J]. *Acta Cryst*, 2017(D73): 503-508.
- [17] SONG F, CHEN P, SUN D, et al. Cryo-EM study of the chromatin fiber reveals a double helix twisted by tetranucleosomal units[J]. *Science*, 2014(344): 376-380.
- [18] BAI R, WAN R, YAN C, et al. Structures of the fully assembled *saccharomyces cerevisiae* spliceosome before activation[J]. *Science*, 2018(360): 1423-1429.
- [19] YUAN S, WANG J L, ZHU D J, et al. Cryo-EM structure of a herpesvirus capsid at 3.1 angstrom[J]. *Science*, 2018(360): 1552-1552.
- [20] LU P L, BAI X C, MA D, et al. Three-dimensional structure of human gamma-secretase[J]. *Nature*, 2014(215): 166-170.
- [21] GUO R, ZONG S, WU M, et al. Architecture of human mitochondrial respiratory mega complex I2III2IV2[J]. *Cell*, 2017(170): 1247-1257.
- [22] DONG Y C, ZHANG S W, WU Z L, et al. Cryo-EM structures and dynamics of substrate-engaged human 26S proteasome[J]. *Nature*, 2019(565): 49 - 55.
- [23] WU J, NIU S, TAN M, et al. Cryo-EM structure of the human ribonuclease P holoenzyme[J]. *Cell*, 2018(175): 1393-1404.
- [24] SU X, MA J, WEI X, et al. Structure and assembly mechanism of plant C2S2M2-type PSII-LHCII super complex[J]. *Science*, 2017(357): 815-820.
- [25] LI N, WU J X, DING D, et al. Structure of a pancreatic ATP-Sensitive potassium channel[J]. *Cell*, 2017(168): 101-110.
- [26] ZHANG Y X, MA C Y, YUAN Y, et al. Structural basis for interaction of a cotranslational chaperone with the eukaryotic ribosome[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014(21): 1042-1046.
- [27] ZHANG J, JI G, HUANG X, et al. An improved Cryo-FIB method for fabrication of frozen hydrated lamella[J]. *J Struct Biol*, 2016, 194(2): 218-223.
- [28] ZHOU H, LUO Z P, LI X M. Using focus ion beam to prepare crystal lamella for electron diffraction[J]. *Journal of Structural Biology*, 2019, 205(3): 59-64.
- [29] GENG G W, CHEN P L, GUAN B, et al. Shape-controlled metal-free catalysts: Facet-sensitive catalytic activity induced by the arrangement pattern of noncovalent supramolecular chains[J]. *ACS Nano*, 2017(11): 4866-4876.
- [30] SUN F. Orienting the future of bio-macromolecular electron microscopy[J]. *Chinese Phys B*, 2018, 27(6):15-24.
- [31] GLAESER R M. Proteins, interfaces, and cryo-EM grids[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2018(34): 1-8.
- [32] WHITE H D, THIRUMURUGAN K, WALKER M L, et al. A second generation apparatus for time-resolved electron cryo-microscopy using stepper motors and electrospray[J]. *Journal of Structural Biology*, 2003(144): 246 - 252.
- [33] UNWIN N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state[J]. *Nature*, 1995, 373(5): 37 - 43.
- [34] CHEN B, KALEDHONKAR S, SUN M, et al. Structural dynamics of ribosome subunit association studied by mixing-spraying time-resolved cryogenic electron microscopy[J]. *Structure*, 2015(23): 1097 - 1105.
- [35] MCMULLAN G, FARUQI A R, HENDERSON R. Direct electron detectors[J]. *Methods Enzymol*, 2016(579): 1-17.
- [36] GATAN. K3 camera the new imaging performance benchmark for direct detection cameras[EB/OL].[2019-03-12]. <https://www.gatan.com/K3>.
- [37] SCHERES S H W. RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination [J]. *J Struct Biol*, 2012, 180(3): 519-530.
- [38] FRANK J, RADERMACHER M, PENCZEK P, et al. SPIDER and Web: Processing and visualization of images in 3D electron microscopy and related fields[J]. *J Struct Biol*, 1996(116): 190-199.
- [39] TANG G, PENG L, BALDWIN P R, et al. EMAN2: An extensible image processing suite for electron microscopy[J]. *J Struct Biol*, 2007(157): 38-46.
- [40] KREMER J R, MASTRONARDE D N, MCINTOSH J

- R. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD[J]. J Struct Biol, 1996(116): 71-76.
- [41] GRIGORIEFF N. FREALIGN: An exploratory tool for single-particle Cryo-EM[J]. Methods in Enzymology, 2016(579): 191-226.
- [42] Image Science-advanced image processing & image analysis[EB/OL].[2019-12-31]. <https://imagescience.de/imagic.html>.
- [43] ZHU D J, WANG X X, FANG Q L, et al. Pushing the resolution limit by correcting the Ewald sphere effect in single-particle cryo-EM reconstructions[J]. Nature Communications, 2018(9): 1552.
- [44] YUAN S A, WANG J L, ZHU D J, et al. Cryo-EM structure of a herpesvirus capsid at 3.1 Å[J]. Science, 2018, 360(48): 1-11.
- [45] DENG Y, CHEN Y, ZHANG Y, et al. ICON: 3D reconstruction with missing-information' restoration in biological electron tomography[J]. Journal of Structural Biology, 2016, 195(1): 100-112.
- [46] CHEN Y, WANG Z, ZHANG J, et al. Accelerating electron tomography reconstruction algorithm ICON with GPU[J]. Biophysics Reports, 2017(3): 36-42.
- [47] HU M X, YU H K, GU K, et al. A particle-filter framework for robust cryo-EM 3D reconstruction[J]. Nature Methods, 2018(15): 1083-1089.
- [48] MASTRONARDE D N. Automated electron microscope tomography using robust prediction of specimen movements[J]. J Struct Biol, 2015(152): 36-51.
- [49] SULOWAY C, PULOKAS J, FELLMANN D, et al. Automated molecular microscopy: The new legion system[J]. J Struct Biol, 2005(151): 41-60.
- [50] LI X M, ZHENG S W, AGARD D A, et al. Asynchronous data acquisition and on-the-fly analysis of dose fractionated cryo-EM images by UCSFImage[J]. Journal of Structural Biology, 2015, 192(2): 174-178.
- [51] Thermo Fisher Scientific. 用于生命科学的 EPU 2 软件[EB/OL].[2020-02-01]. <https://www.fei.com/software/epu/>.
- [52] LEI J, FRANK J. Automated acquisition of cryo-electron micrographs for single particle reconstruction on an FEI Tecnai electron microscope[J]. J Struct Biol, 2005(150): 69-80.
- [53] FAN X, ZHAO L Y, LIU C, et al. Near-atomic resolution structure determination in over-focus with Volta phase plate by Cs-corrected cryo-EM[J]. Structure, 2017(25): 1623-1630.
- [54] LI S, JI G, SHI Y, et al. High-vacuum optical platform for cryo-CLEM (HOPE): A new solution for non-integrated multiscale correlative light and electron microscopy[J]. Journal of Structural Biology, 2018(201): 63-75.

(上接第46页)

“耳目、尖兵和参谋”作用, 灵活掌握情报研究不同环节的研究方法及研究工具, 运用大数据、云服务现代技术加强信息资源发现、获取和分析能力, 集成专家、政府或科技智库的创造性智慧, 升级优化自身知识结构, 以创新、前瞻的观念引领科技管理决策服务。

参考文献

- [1] 黄东流. 面向政府科技管理决策的信息分类研究[D]. 北京: 中国科学技术信息研究所, 2011.
- [2] 高岩, 苏东艳. “互联网+”大数据时代地市级科技情报机构的发展战略探索[J]. 江苏科技信息, 2019, 36(9): 5-9.
- [3] 王越险. 基层科技情报机构服务政府决策的实践[J]. 技术与市场, 2020, 27(1): 60-61, 63.
- [4] 张晓, 邓凡. 科技情报机构辅助政府决策支持系统建设的思考[J]. 软件导刊, 2011, 10(1): 3-5.
- [5] 邓丹, 邵武杰. 公益类科技情报研究机构服务创新创业主体的研究: 基于辽宁省科学技术情报研究所的实践[J]. 中国科技资源导刊, 2017, 49(2): 102-106.
- [6] 朱小溪. 有关企业情报快报编制与质量提升的思考: 以《中国中铁科技情报》为例[J]. 情报探索, 2019(1): 67-72.
- [7] 苏绍玉. 面向智库建设需要的科技情报人员能力发展研究[J]. 中国科技资源导刊, 2019, 51(6): 102-107.
- [8] 丁波涛. 推进情报机构转型, 加强战略情报服务: 创新战略视角下的科技情报机构发展思考[J]. 情报理论与实践, 2017, 40(5): 15-18.
- [9] 李国强. 回归情报服务初心 谋新时代发展出路: 浅谈情报所向智库转型的几点思考[J]. 科技创新导报, 2018, 15(3): 198-199.