

得息镜使用说明

程渊溟

版本：1.0.0

2023 年 9 月 6 日

目录

1 简介	2
2 系统要求与安装	2
3 操作方法	3
3.1 操作界面和功能	3
3.1.1 注册与登录	3
3.1.2 文件转移	3
3.1.3 物理量展示	4
3.1.4 颗粒挑选与分类	4
3.1.5 分类打分和三维初始模型生成	4
3.1.6 异常数据监控与邮件提醒	5
3.2 未成功能	5

1 简介

得息镜，其名取自《孔雀东南飞》“鸡鸣入机织，夜夜不得息”，是一个在冷冻电镜数据收集过程中，实现自动化文件转移、漂移修正、CTF 计算、照片展示、异常数据监控、颗粒挑选与分类的软件。通过特定的参数设置，文件转移、数据处理和监控就能自动地与数据收集同步进行。在这个过程中，它不需要人为干预或看管，故成其名“得息”。一旦出现异常数据，它会立即给用户发送邮件以作提醒。此外，它为用户提供了一个易于操作的可视化界面，以便实时地观测数据结果。

2 系统要求与安装

得息镜是一个基于 Linux 系统，用 PyQt6, Python3 和 Perl 语言编写的，包含了一些冷冻电镜常用程序，例如 MotionCor2, CTFFIND4, UCSF ChimeraX, IMOD 和 RELION-4.0 的部分程序。因此，PyQt6, Python3 和 MotionCor2 等语言和程序必须提前下载并安装，它们的系统和软件要求也要相应地满足。AutoEMage 可以在虚拟环境下使用，可以先用 virtualenv 构造一个虚拟环境。其他软件的下载方式可见如下网址：

- PyQt6: <https://pypi.org/project/PyQt6/>。注意，目前 PyQt6 在非 conda 环境的兼容性比较好，且下载方便。可以在虚拟环境下，在命令行中输入 `python3 -m pip install PyQt6` 来安装。
- Python3: <https://www.python.org/>
- Perl: <https://www.perl.org/>
- MotionCor2: <https://hpc.nih.gov/apps/MotionCor2.html>
- CTFFIND4: <https://grigoriefflab.umassmed.edu/ctffind4>
- RELION: <https://relion.readthedocs.io/en/latest/Installation.html>
- IMOD: <https://bio3d.colorado.edu/imod/download.html>
- UCSF ChimeraX: <https://www.cgl.ucsf.edu/chimerax/>

注意：MotionCor2 支持 cuda 的不同版本，而 RELION 目前不支持 cuda 12.1。

另外，还有一些库例如 PyQt6-WebEngine, matplotlib, mrcfile, tiffle, scipy, scikit-image 也有可能需要手动安装，在命令行中输入 `python3 -m pip install mrcfile PyQt6-WebEngine matplotlib mrcfile tiffle scipy scikit-image`。安装完成后，MotionCor2, CTFFIND4, RELION, IMOD 和得息镜文件夹的路径需要被添加到路径变量中，方法为：在主目录的 .bashrc 文件中加入

```
#add MotionCor2 path
PATH=$PATH:/work/Softwares/MotionCor2_1.6.4_Mar31_2023
#add CTFFIND 4 path
PATH=$PATH:/work/Softwares/ctffind-4.1.14-linux64/bin
#add 得息镜 path
PATH=$PATH:/work/Softwares/autoemage_2023
# add IMOD
export IMOD_DIR=/usr/local/imod_4.11.24
if [ -e $IMOD_DIR/IMOD-linux.sh ] ; then source $IMOD_DIR/IMOD-linux.sh ; fi
# Setup |RELION| if not already done so
if [ "" == "echo $PATH | grep /work/Documents/relion/build/bin" ] ; then
```

```

PATH=$PATH:/work/Documents/relion/build/bin
fi
if [ "" != "echo $LD_LIBRARY_PATH" ]; then
if [ "" == "echo $LD_LIBRARY_PATH | grep /work/Documents/relion/build/lib" ]; then
LD_LIBRARY_PATH=$LD_LIBRARY_PATH:/work/Documents/relion/build/lib
fi
else
export LD_LIBRARY_PATH=$LD_LIBRARY_PATH:/work/Documents/relion/build/lib
fi

```

3 操作方法

3.1 操作界面和功能

3.1.1 注册与登录

参数设置完毕后，用户就可以在命令行中执行 `autoemage.py`，打开可视化界面了，如 Figure 1 所示。目前，注册界面仅用于记录用户邮箱和名称，以便得息镜发送提醒邮件与存储数据。能够及时地发送提醒邮件是得息镜的特色功能之一，其所用邮箱为 `cryo_EM_2022@163.com`。为了使用此功能，用户在注册时最好使用常用的邮箱地址以便接收邮件。



图 1: AutoEMage 登录界面

登录成功后，主界面就会显示，其中左侧将展示物理量随（测量）时间的变化，右侧将展示照片-功率谱-漂移轨迹-CTF 拟合曲线四格图，如 Figure 2 所示。

3.1.2 文件转移

在主界面中，用户可以点击左上角工具栏中的“转移文件”按钮打开数据输入窗口，如 Figure 3 所示。其中电镜文件夹表示电镜输出照片的文件夹，目标文件夹代表用户的移动硬盘文件夹或储存数据的文件夹。新建文件名称最好为英文，且没有空格。命名规则为 EPU/SerialEM 保存照片的命名规则。第一次输入参数配置后可以点击保存，下次使用相同的参数配置就可以直接加载，无需再次手动输入。在输入其它必须的实验数据后，

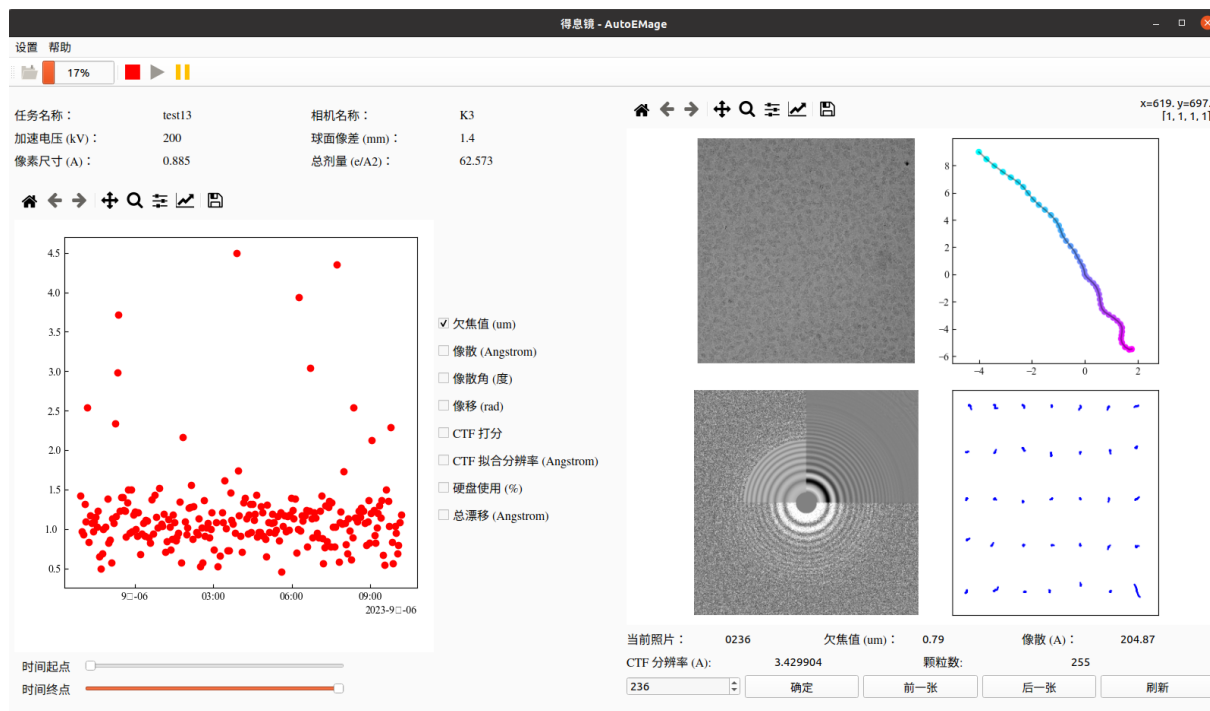


图 2: AutoEMage 主界面

点击“确定”即可开始文件转移，其中转移进度会在工具栏中的进度条中显示。随着转移的进行，gain 修正、漂移修正、CTF 计算也会同时进行，所得结果将会在主界面中呈现出来。

3.1.3 物理量展示

主界面的左侧用于物理量的展示，目前可展示的物理量在其中一目了然。其下方的时间进度条是用于分段展示数据。由于每次实验一般要收集几千张照片，那么就有几千个数据点。如果把它们画在一张图上，就会显得十分拥挤以至于看不清细微的变化趋势。因此，分段展示十分有必要。通过拖动时间进度条，用户可以比较自由地分段展示数据，其中第一根进度条控制 (展示) 时间起点，第二根决定时间终点。

3.1.4 颗粒挑选与分类

颗粒挑选与分类功能使用的是 RELION 软件的程序 `relion_autopick`, `relion_preprocess` 和 `relion_refine`。每张照片会进行两次颗粒挑选：第一次使用 Laplacian of Gaussian 算法，挑出的颗粒数会显示在主界面右下角。当多张照片的颗粒数累积超过一定数值后 (例如 20,000 个颗粒，该数值可调)，会进行一次二维分类，分类的结果打分后作为模板。之后对每 20,000 个颗粒对应的所有照片使用模板进行第二次颗粒挑选，随后再进行二维分类。如果用户对 RELION 比较熟悉，那么可以根据需要修改相应的参数，以更好地实现颗粒挑选与分类的功能。对应的代码在脚本 [autoemage_threads.py](#)。

3.1.5 分类打分和三维初始模型生成

除了最初的 20,000 个颗粒，之后每 20,000 个颗粒都会进行一次三维模型构建，结果会用 UCSF ChimeraX 自动显示出来。对二维分类打分和三维初始模型生成使用的是 RELION 软件的程序 `relion_class_ranker` 和 `relion_refine`。用户也可以根据需要修改相应的默认参数，对应的代码在脚本 [autoemage_threads.py](#)。

实验设置 - Experiment Settings

照片

收集软件

☐ EPU

☐ SerialEM

电镜文件夹

select

Gain 文件

select

USB 文件夹

select

任务名称

照片总数

参数

加载配置

保存配置

命名规则

EM mode

☐ counting

☐ super resolution

总剂量 (e/A²)

像素尺寸 (Å)

加速电压

球面像差

幅度衬度

颗粒最小直径

颗粒最大直径

确定

取消

图 3: 参数输入界面

3.1.6 异常数据监控与邮件提醒

一次数据收集通常保存成千上万张照片，异常数据不可避免。当异常数据在短时间内频繁出现时，例如 50 张照片中出现 10 张，得息镜会发送邮件给用户，提醒他们检查电镜和样品，如 Figure 4 所示。

目前得息镜可以监控两类异常照片，漂移过大的照片和 CTF 得分过低的照片，如 Figure 5 所示。这两类照片都不太可能有助于高分辨率的三维重构，因此被标记为异常数据。

当数据处理任务完成时或者硬盘容量不够时，得息镜也会发送提醒邮件给用户。

3.2 未完成功能

得息镜是一个开源软件，因此它的最大优势就是：用户可以根据自身需要修改、添加各种各样的功能。由于该软件曾被不同课题组在不同的实验室使用过，他们留下了独特的印记，这些印记记录着该软件的发展历程，也表明冷冻电镜软件需要满足与日俱增的需求。这里将这些独特之处明确指出，便于用户斟酌使用，例如脚本 [Auto_ctf_find.pl](#) 的第 242-340 行和脚本 [Stigma_check_hxj_v1.pl](#)，这些在主界面的菜单栏中的“电镜设置”也有体现。

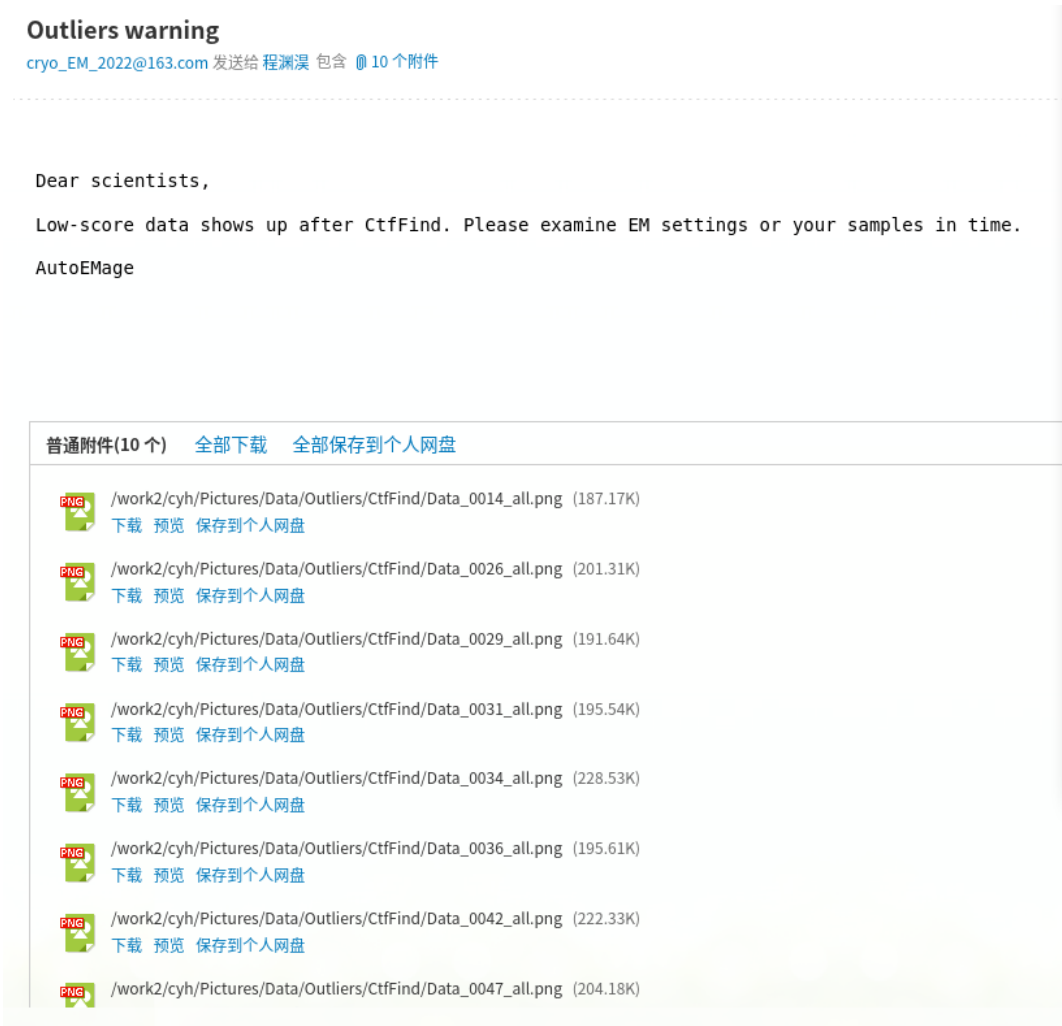


图 4: 异常数据邮件

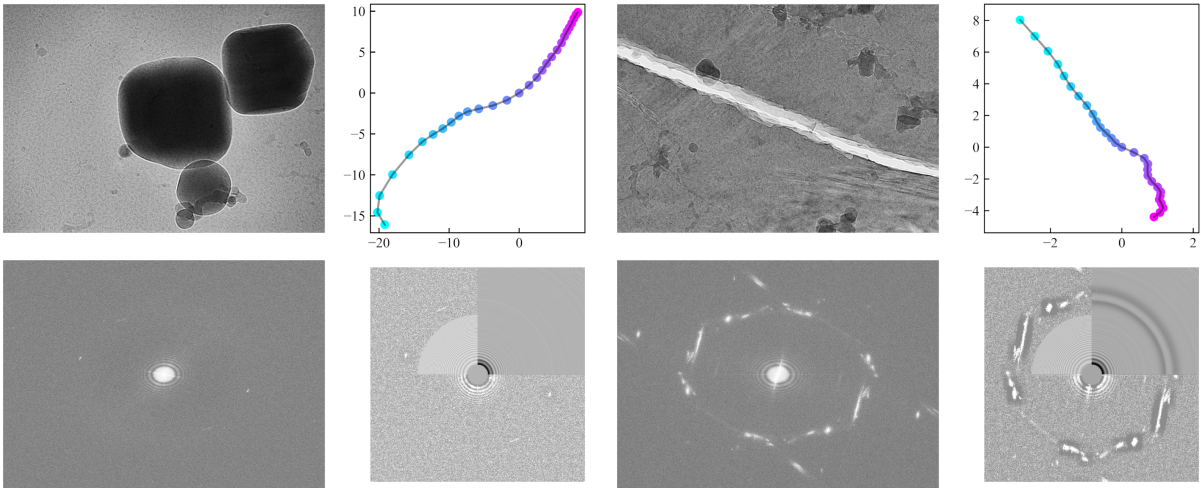


图 5: 两类异常数据。左边的为漂移过大的照片，右边的为 CTF 得分过低的照片