

得息镜使用说明

程渊溟

版本：1.0.0

2023 年 7 月 14 日

目录

1	简介	2
2	系统要求与安装	2
3	操作方法	2
3.1	参数调整	2
3.2	操作界面	3
3.2.1	注册与登录	3
3.2.2	文件转移	3
3.2.3	物理量展示	3
3.3	颗粒挑选与分类	4
3.4	异常数据监控与邮件提醒	4
3.5	未成功能	6

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, IMOD 和 RELION 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。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>

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 也有可能需要手动安装，在命令行中输入 `python3 -m pip install mrcfile`。安装完成后，MotionCor2, CTFFIND4 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
export PATH= 安装路径:$PATH
#add CTFFIND 4 path
export PATH= 安装路径:$PATH
#add 得息镜 path
export PATH= 安装路径:$PATH
```

例如：`export PATH=/home/cyh/MotionCor2_1.6.4_Mar31_2023:$PATH`

3 操作方法

3.1 参数调整

在第一次使用前，用户需要根据所用电镜调整相应的参数。由于冷冻电镜种类繁多，该调整暂时不能由软件较为便捷地实现，需要用户手动输入。首先，冷冻电镜自动保存的 gain 文件和照片文件的名称需要修改，对

应于脚本 `Auto_mv.pl` 中第 75-145 行。其次，加速电压、球面像差和幅度衬度等参数也需要修改。再次，为了对电镜自身产生的误差做进一步修正，电镜放大倍数和像素尺寸的一一对应关系、扭曲角度、冰层厚度计算方法等可能需要修改，在脚本 `Auto_ctf.pl` 的第 112-140 行。

3.2 操作界面

3.2.1 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。

3.2.2 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。在输入其它必须的实验数据后，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。

3.2.3 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。

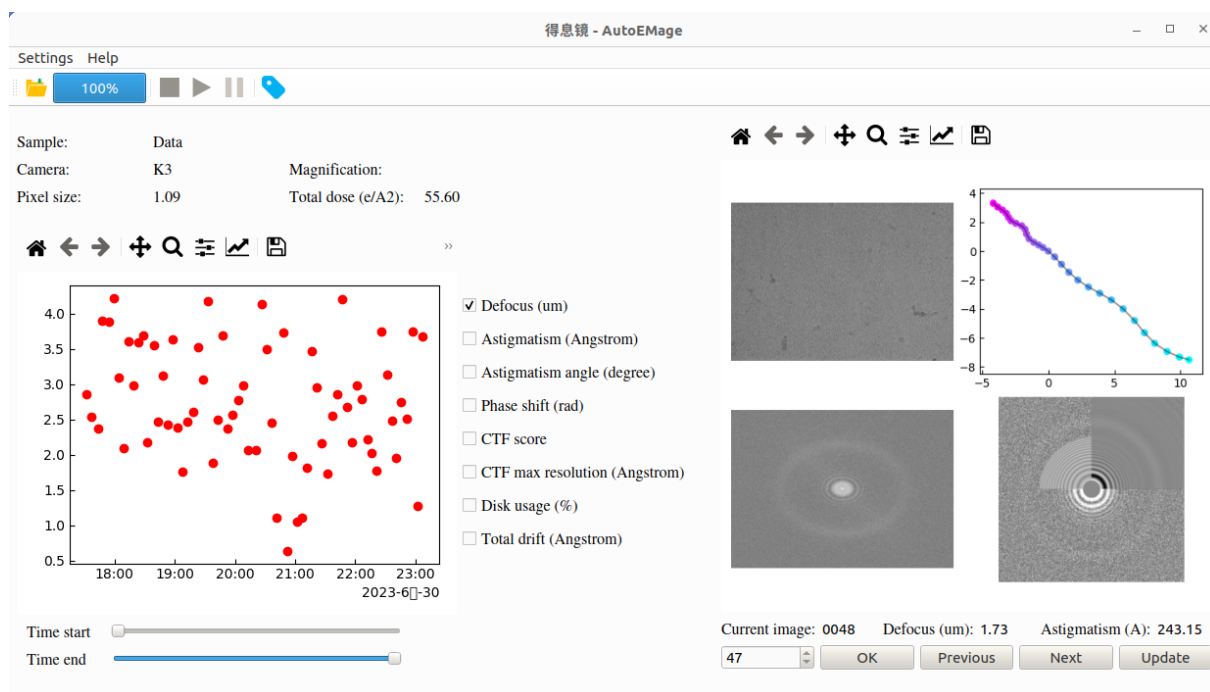


图 2: AutoEMage 主界面

图 3: 参数输入界面

3.3 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`。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` 的第 192-242 行。

3.4 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

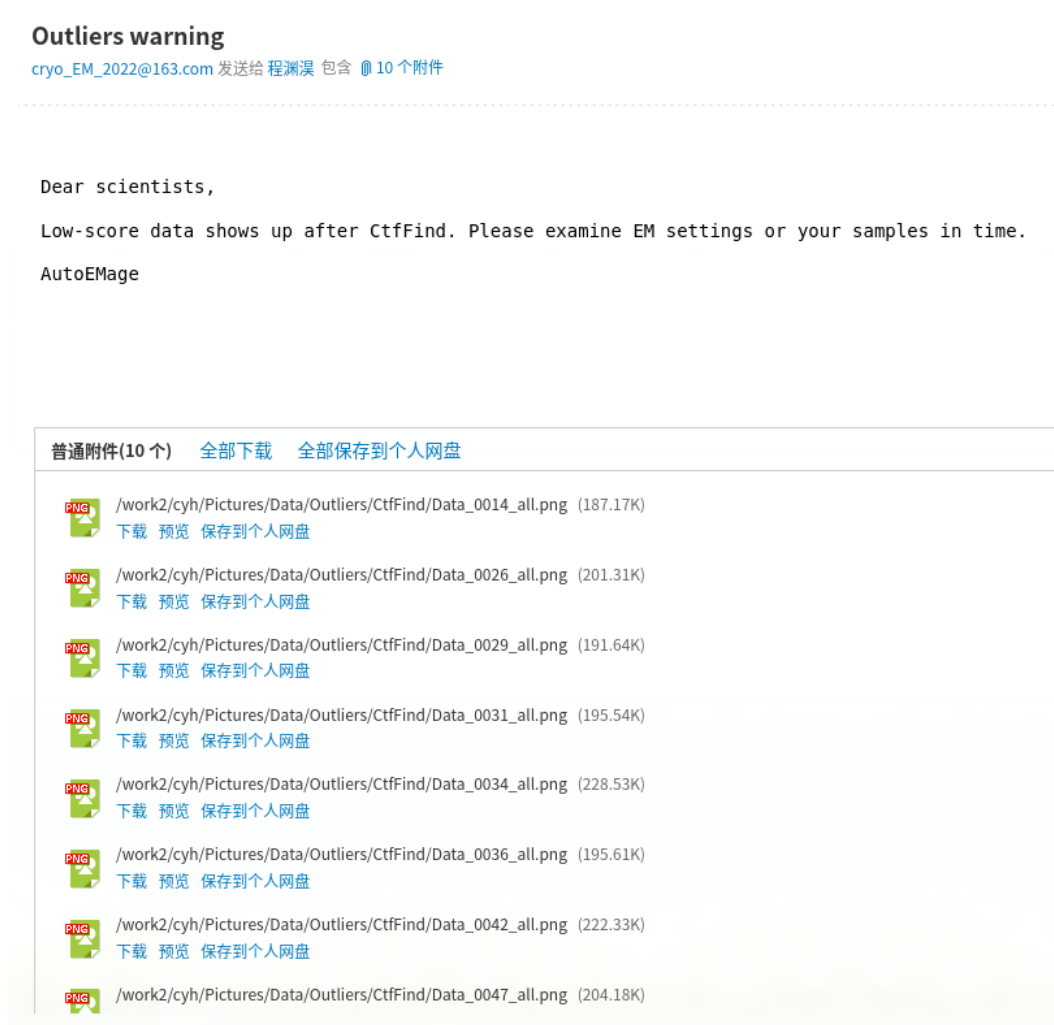


图 4: 异常数据邮件

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。

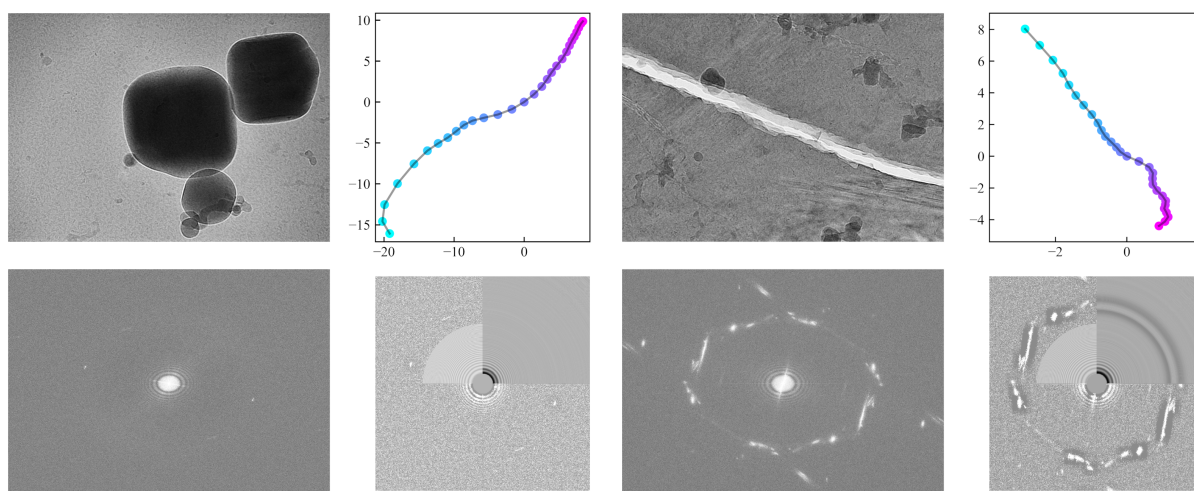


图 5: 两类异常数据。左边的为漂移过大的照片, 右边的为 CTF 得分过低的照片

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。

3.5 未成功能

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。