

isSPA 使用手册

版本：1.2

作者：程渊溟

日期：2025 年 11 月 30 日

cryoSPARC

1. 在 cryoSPARC 中导入照片，做完漂移修正、CTF 估计、照片筛选。
2. 启动 pyem 环境，将.cs 文件转换为.star 文件：

```
csparc2star.py      CS-test-data/J3/exposures_ctf_estimated.cs      CS-test-data  
/J3/J3_passthrough_exposures.cs      CS-test-  
data/J4/J4_passthrough_exposures_accepted.cs micrograph_ctf.star
```
3. 在 micrograph_ctf.star 文件中补上路径：`vim micrograph_ctf.star :1,$s/J3/CS-test-data\J3/g`
4. 启动图形界面 `isSPA.py &`
5. 自动读取参数：点击 Import parameters from RELION，选择 micrograph_ctf.star 文件。
6. 选择三维模板：点击 3D Template 对应的 select 按钮，选择合适的模板。
7. （可选）如果有模板的 FSC 文件（STAR 格式），点击 select 导入。
8. 选择模板分子量区间，输入模板直径。
9. 确认需要处理的照片编号。
10. 修改输出文件名称。
11. （可选）点击 Save Config，保存配置文件，便于后续计算。
12. 点击 Start Processing，开始自动化计算。
13. （可选）点击 Display Particles 查看挑选结果，选择文件名后缀为 merge_31.star 的输出文件。
14. 使用 RELION 从照片中提取颗粒（Particle extraction）
15. 三维分类（3D classification）
 - a) Reference: Initial low-pass filter (A): 30-60

b) Sampling: Perform image alignment? No!!!

RELION

1. 启动图形界面 isSPA.py &
2. 点击 Start RELION, 使用 RELION 进行 Import, Motion Correction, CTF estimation 任务。
3. (可选) 使用 mrc_picker.py 对照片进行筛选。
4. 自动读取参数: 在 isSPA 图形界面中点击 Import parameters from RELION, 选择 CtfFind 任务生成的 micrograph_ctf.star 文件。
5. 剩余步骤和 cryoSPARC 流程中第 6 步之后的步骤一样。