取得高质显微镜图像的关键 - 惠更斯 Huygens 去卷积入门



采图前,注意采像频率,像素的大小要符合显微镜系统的采像频率,请参考 https://svi.nl/NyquistCalculator 求出最理想的像素大小!付合这个条件图像是成功去卷积 的关键,去卷积才能充分地提高图像的分辨率与信噪比,把显微镜硬件的分辨率发挥至最高!

Results

This is the parameter list used in this calculation:

Parameter	Value
Microscope type	Confocal
Numerical aperture	1.3
Excitation wavelength	488
Emission wavelength	520
Number of excitation photons	1
Lens immersion refractive index	1.515

The optical axis lays along z. Your Nyquist sampling is:

- x: 46 nm
- y: 46 nm
- z: 165 nm



 Calibrate and set your z-stepper so that it takes steps of 165 nm when acquiring a 3D stack (or smaller) 把 XY 像素大小跟据您系统算 出来的 Nyquist sampling 而作 出最接近的调整;三维图像的 Z 距离亦是同理作调整。



采图时,优先调整显微镜系统的采像频率,再考虑信噪比!

采像后,使用惠更斯 Huygens 去卷积

- **打开图像**,徕卡的用户可以由 Leica LAS X 输出到 Huygens 或直接在 Huygens 打开 图像 File - Open 或 Drag&Drop 拖放 (2017) 或使用 Huygens Image Feeder
- **检查参数**,右击图像,选择参数编辑器 **Parameter editor**,参数必须是正确的, 击 Set all verified,击 Accept
- 右击图像选择 Deconvolution Wizard 进入向导 Enter wizard 或右击图像使用惠更斯一键快速去卷积 Deconvolution express NEW!
- 使用 **Deconvolution Wizard** 用右箭头使用 Huygens 理论点扩散函数 Point Spread Function (PSF) 作去卷积
- 用户可选择对图像作剪裁与否;如果选择剪裁,可选 Launch the Cropper 用户主动裁剪,或用 Auto crop 自动裁剪图像中空白部分,把图像的空白体积减到最低,加快去卷积速度
- 可选择通道 Select channel, 例如明埸通道不必进行去卷积处理可跳过
- **测量信号 Inspecting the image histogram**,击 Compute ,注意过度暴光的像素 clipped voxels
- 背景的测量 Background estimation, 可选自动 Auto 或主动 Manual 测量并输入背景的参数,击 Accept
- 进行去卷积 Deconvolving the image, 建议先使用默认参数
- 检查结果与原始图像的分别,如果原图信噪比偏低,这个视窗的 signal to noise ratio SNR 可主动由用户调低 (例如:由默认 SNR 40 大幅减低到 SNR 30 或更低)。原则上, 信噪比调得越高,图像越清晰,但条件是原始图像的信噪比需与这个设定配合,用户 透过这个微调整,寻找最佳去卷积条件,完成一个通道后,新通道重复以上步骤
- 当去卷积完成后,用户可以选择把图像导回徕卡 LAS X 或利用惠更斯的 Twin Slicer 作原图与去卷积结果的比较





惠更斯亦提供自动批量处理器 Batch Processor、一键式快速去卷积 Deconvolution express 与可视化、渲染功能,客户亦享有免费在线培训与长期技术支持服务,欢迎联系我们 sales@svi.nl ,我们乐意为您安排以上客户专有服务

