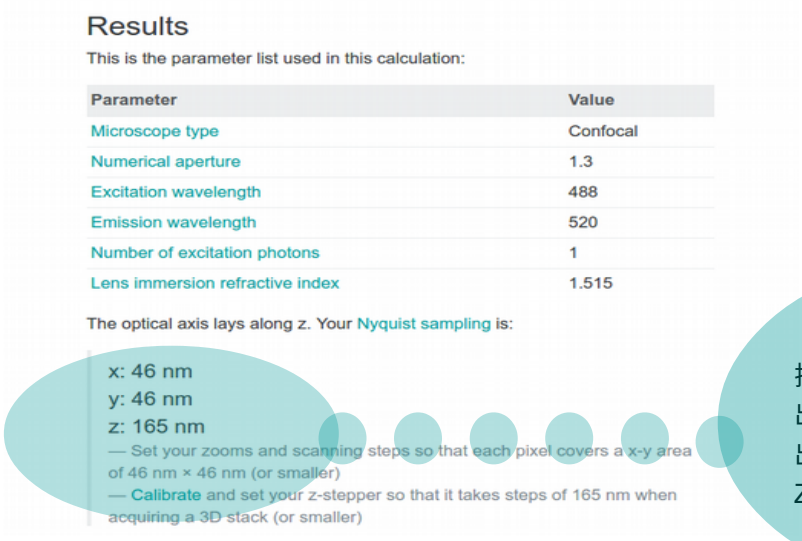
# 取得高质显微镜图像的关键与步骤 – 惠更斯 Huygens 去卷积
# 共聚焦、多光子共聚焦或宽場成像

**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，把显微镜硬件的分辨率发挥至最高！ 如果是**多光子系统**，Microscope type 请选择 Confocal, Number of excitation photons 填写 2

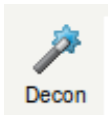



把 XY 像素大小跟据您系统算出来的 Nyquist sampling 而作出最接近的调整；三维图像的 Z 距离亦是同理作调整。

**采图时**，优先调整显微镜系统的采像频率，再考虑信噪比与采像速度！

**采像后，使用惠更斯 1. Deconvolution Wizard 去卷积步骤**

- **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，或 Save 保存参数成 Parameter template (自动批量处理器 Batch Processor[2] 中的 Microscopic template = Parameter template), 击 Accept
- **去卷积**，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[3]




- 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**，例如明場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** 善用 Deconvolution preview 对信噪比作出适用调整，点 Deconvolve，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：由宽場成像图像默认 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

Scientific Volume Imaging SVI bv
Laapersveld 63
1213 VB Hilversum
The Netherlands

sales@svi.nl
www.svi.nl

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

- 以上的去卷积设定可以保存成模板，在点 **All done** 与**右箭头**之后，善用中间 **Save template** 把去卷积设定保存成模扳 Deconvolution template ，方便在批量处理时重复使用
- 点 **Done**，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

Deconvolution wizard 提供最详细的去卷积参数调校，调校后的设定能保存并重复在 Deconvolution wizard 一开始 Use template 与自动批量处理器使用，对多图或有系统地处理实验结果提供有效率、有弹性的处理。

## 2. 自动批量处理器 Batch Processor 步骤, 支持多显卡 GPU 加速




- **Deconvolution** → 选择 **Batch processor**
- 新视窗中，指定结果将要保存的地点 **Destination location for results**
- **打开图像**，选 **Add task**，点 **Select files** 或 **Select folder** 选择需要批量处理的图像, 以右箭头往下一步
- **选择模板 1 Microscopic template** 也就是 Parameter template 。注意模板必须与所有图像有关系的，也就是来自图像的
- **选择模板 2 Deconvolution template** ，之前用 Deconvolution wizard 产生的模板可以在这里重复使用, 点 **Done**
- **Task** 中出现选择了的**图像，模板 1** 与**模板 2** 。
- 当您点 其中一个模板，可以对该模板作出修改
- **设定执行处理的日期与时间 Days.. At..**
- 点 **Run** 让惠更斯自动执行。

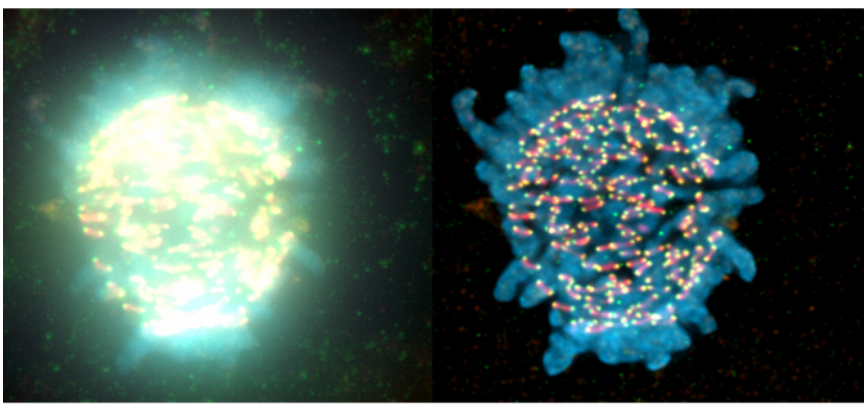
批理处理器亦对位移、色差、串色、Hot Pixel 作用校正，容许使用实验测量 PSF 作去卷积，同时支持显卡与多显卡的加速处理。

## 3. Deconvolution Express 步骤




- **打开图像**，17.10 版本或以上 Huygens Image Feeder 中自动执行
- **检查参数**，善用 Parameter Editor
- **执行去卷积**, 点 **Deconvolve**, 17.10 版本或以上点 **Express Deconvolution** , 有即时区域 **ROI Deconvolution** 预览功能

Deconvolution Express 以智能估计图像应该使用的参数，快速、可靠，提供最快速的结果预览，对自动批量处理细节上的调整比不上 Deconvolution wizard 详细。是对单图的快速处理，方便采图时先预览结果用的



**惠更斯 Huygens 宽場成像图像去卷积例子 :**
**左，原始图像;**
**右，惠更斯去卷积校正后图像**

图像来源 :
Dr. Livio Kleij, Medical Oncology, Utrecht University
Medical Center, The Netherlands