

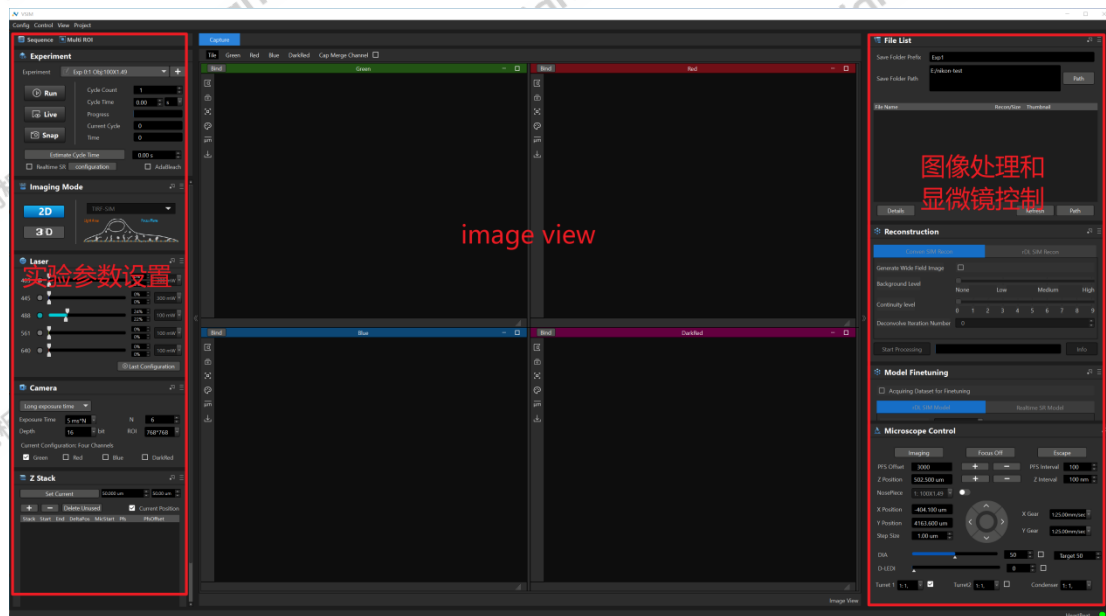
# VSIM 软件操作文档 (V2.1 版本)

## 目录

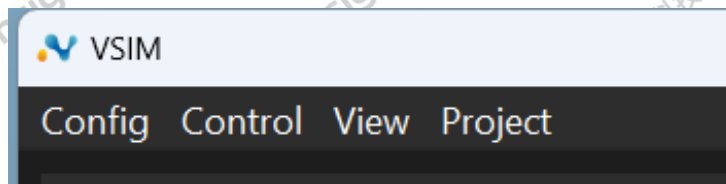
一、 软件功能介绍.....	1
1.1. 导航栏.....	1
1.2. 工具栏.....	2
1.3. 【Experiment】区域.....	3
1.4. 【Imaging Mode】区域.....	4
1.5. 【Laser】区域.....	5
1.6. 【Camera】区域.....	6
1.7. 【Z Stack】区域.....	7
1.8. 【Image View】区域.....	10
1.9. 【File List】区域.....	11
1.10. 【Reconstruction】区域（Conven SIM Recon）.....	12
1.11. 【Reconstruction】区域（rDL SIM Recon）.....	13
1.12. 【Model Finetuning】区域（rDL SIM Model）.....	14
1.13. 【Model Finetuning】区域（Realtime SR Model）.....	15
1.14. 【Microscope Control】区域（尼康）.....	16
二、 软件操作范例.....	17
2.1. 实验前准备.....	17
2.2. 2D SIM 操作步骤（以 TIRF-SIM 模态为例）.....	17
2.3. 3D SIM 操作步骤（以 3D-SIM 模态为例）.....	20
2.4. Sequence 功能（以 2D 模态为例）.....	22
2.5. Multi-ROI 功能（以 2D 模态为例）.....	24
2.6. Merge 功能.....	25
2.7. 传统 SIM 重建功能.....	28
2.8. rDL SIM 重建功能.....	30
2.9. Model Finetuning 功能.....	32

## 一、软件功能介绍

VSIM 软件主界面除了导航栏外可划分三大块：左侧实验参数设置；中间 Image View 模块；右侧图像处理和显微镜控制模块。左侧实验设置包括：sequence 和 Multi ROI 工具栏、【Experiment】区域、【Imaging Mode】区域、【Laser】区域、【Camera】区域、【Z Stack】区域。中间【Image View】区域默认展示 4 通道。右侧包括【File List】区域、【Reconstruction】区域、【Model Finetuning】区域、【Microscope Control】区域。



### 1.1. 导航栏



#### ➤ Config

LC Voltage Table: 感应电压配置表（工程师调试参数进行配置，不建议用户修改）。

Channel Alignment: 通道对齐参数配置，使用 Merge 功能前需要工程师或用户进行参数配置。

纳析 VSIM 软件 V2.1

### ➤ Control

Camera Control: 查看相机连接状态信息。

Laser Control: 激光连接状态信息查看和激光开关控制。

Login: 登录后可使用 Debug 功能、FPGA\_Command、Main Branch 等功能。

FPGA\_Command: FPGA 命令发送, 工程师用于设备调试, 一般情况下不建议用户操作, 需要 login 后才能使用。

Equipment Error: 查看设备错误信息。

### ➤ View

Debug: 设备各项参数设置和调试, 工程师专用, 一般情况下不建议用户操作, 需要 login 后才能使用。

Scan LargeImage: 用户可选择是否开启扫图拼图模块, 勾选后开启。

Information: 用户可选择是否开启信息中心模块, 勾选后开启。

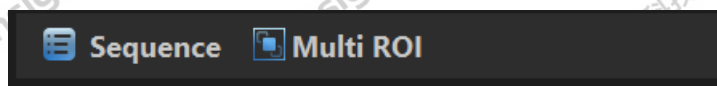
### ➤ Project

Save Project: 将当前实验信息保存为.niproj 文件。

Save All Project: 将 Experiment 列表内所有实验的实验信息保存为.niproj 文件。

Load Project: 导入.niproj 文件中的实验信息, 导入时会当前实验信息清空。

## 1.2. 工具栏



### ➤ Sequence:

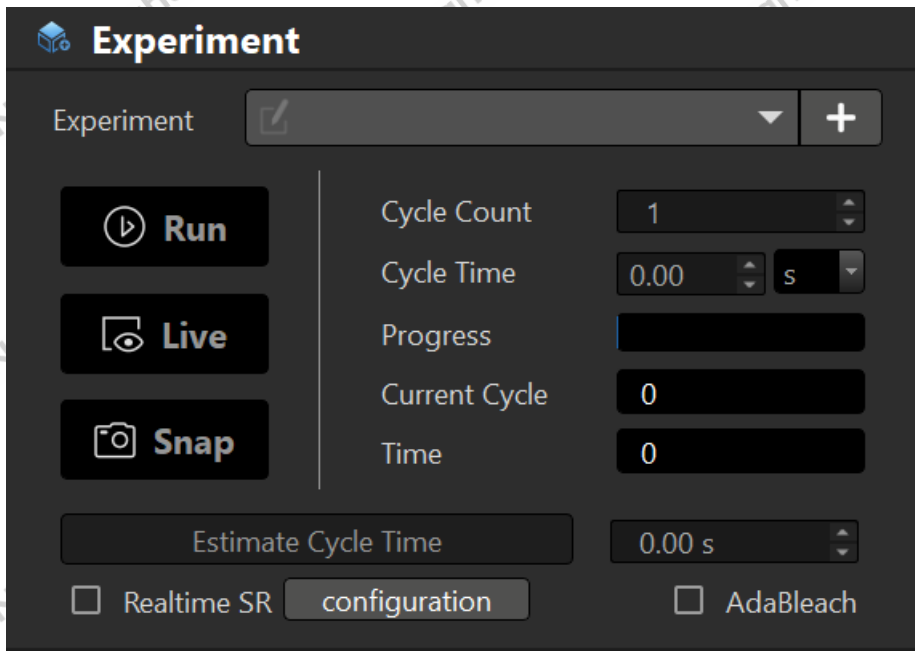
添加连续的实验序列, 同一实验下 2D 和 3D 的 sequence 不共存, 最多只能有 255 个 sequence 可以运行, sequence 可以设置不同实验参数, 运行时按顺序从 sequence1 开始执行。通过 sequence 列表的功能按钮对列表数据进行添加、删除、清空、更新。

### ➤ Multi ROI:

纳析 VSIM 软件 V2.1

多区域拍摄，上半部分为 Multi ROI 列表数据，下半部分为 sequence 列表数据，Point (ROI) 总数不能超过 60，所有 sequence 总数不能超过 256。第一个 Point 会关联当前添加的 sequence 参数，添加新的 Point 时会继承上一个 Point 的所有 sequence。同一实验下 2D 和 3D 的 sequence 不共存，运行时按顺序从 Point1\_sequence1 开始执行，当前 Point 的 sequence 执行完成后才去执行下一个 Point 的 sequence。通过 Multi ROI 列表的功能按钮可对 Point 进行添加、删除、快速定位 (GoTo)。

### 1.3. 【Experiment】区域

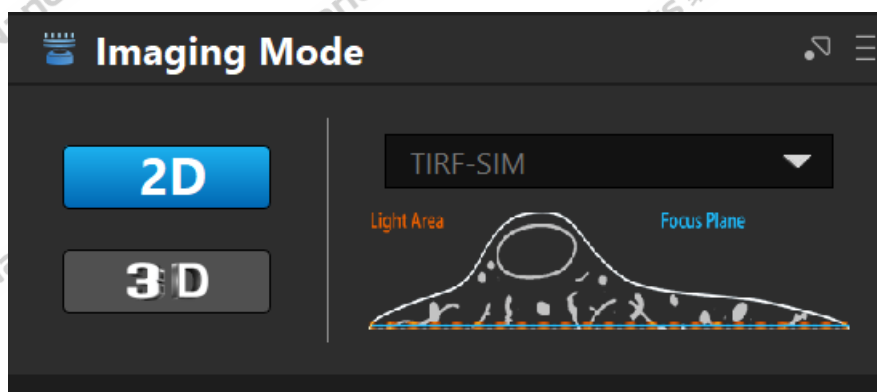


- Experiment: 新建实验 (用于软件识别显微镜物镜信息)，可下拉切换实验，可删除实验。
- Run、Live、Snap 拍摄模式：
  - Live 为实时预览模式，不保存数据，用于寻找样本；支持双激光预览 (488 和 561, 405 和 640, 445 和 640)，支持单激光 4Channel；
  - Snap 为试拍模式，按当前位置和实验参数拍摄一张图片，用于查看拍摄效果不保存数据，高级模式则按当前选中的 sequence 拍摄一张；
  - Run 为实验模式，按照设定的实验参数进行拍摄，可中途停止。默认为简易模式，开启 sequence 或 Multi ROI 则为高级模式，高级模式按设定的 sequence 或 Multi ROI 参数执行拍摄。

## 纳析 VSIM 软件 V2.1

- Cycle Count: 实验拍摄的循环次数。
- Cycle Time: 每两个循环之间的时间间隔, 当设定时间小于实际的拍摄时间, 拍摄会连续执行, 时间单位可选择 ms、s、min。
- Progress: 显示当前拍摄进度。
- Current Cycle: 当前实验拍摄到第几个循环。
- Time: 当前消耗的拍摄时长 (单位: 秒)。
- Estimate Cycle Time: 预估拍摄单个 cycle 所需时间 (不包含 Cycle Time), 需要开启 sequence 控件后点击计算。
- 3D Focus: Imaging Mode 选择 3D 模态时才会显示该按钮, 限制条件: 多 cycle 时启用; 添加 Z Stack 时 PFS 必须开启; Cycle Time 设置的时间要比 Estimate Cycle Time 大于 5s 以上 (或者设置 0s)。尼康设备运行逻辑: 每个 cycle 的运行间隔会保 PFS 打开, 拍摄下一个 cycle 前才会将 PFS 关闭。蔡司设备运行逻辑: 在马上要拍摄下一个 cycle 前, 做一次 definite focus。
- Realtime SR: Snap 重建和 Live 重建勾选项, 用户可选择是否开启, 勾选后 Snap 时进行实时重建, 一次重建一个 cycle, 若为 3D 模式, 转化为 Single Slice 模式, 只对当前层进行重建。带 SIM 的模态可显示重建效果图, 不带 SIM 的模态显示叠加图, WF、BF 模态为原图。勾选后进行 Live 时会实时重建当前 Live 捕获的图像, BF、BF 3D 模态不支持 Live 重建。
- Configuration: 设置 Live 重建时调用的 onnx 模型。不配置则调用预训练的通用 onnx 模型显示 Live 重建效果。

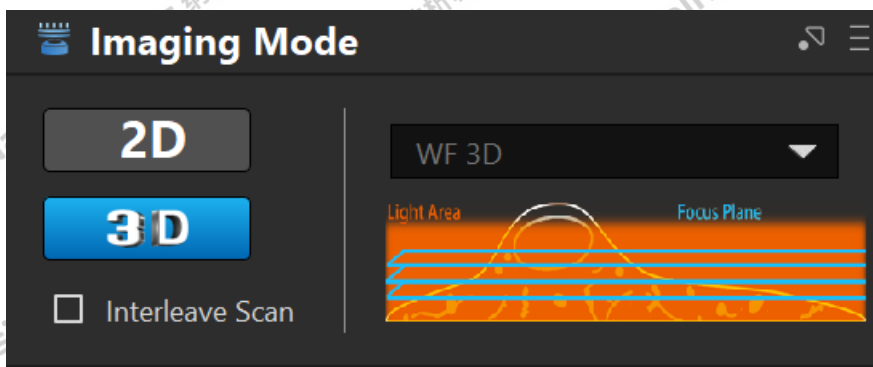
### 1.4. 【Imaging Mode】区域



- 2D

纳析 VSIM 软件 V2.1

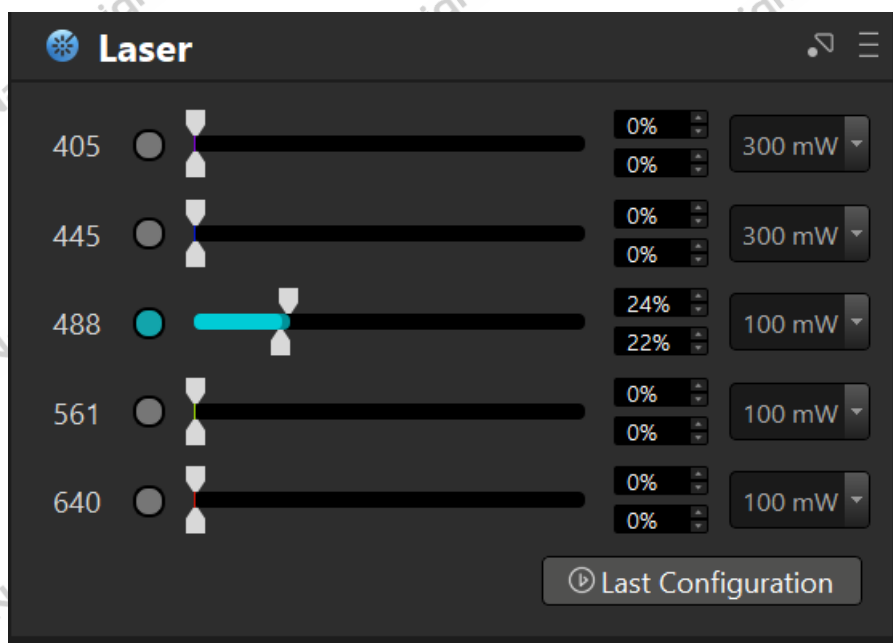
2D 模态列表 (Nikon100\*1.49NA) : TIRF-SIM、TIRF、Hight NA GI-SIM、Hight NA GI、Low NA GI-SIM、Low NA GI、Single Slice-SIM、Oblique、WF、BF。



➤ 3D

3D 模态列表 (Nikon100\*1.49NA) : 3D-SIM、Oblique 3D、BF 3D、Stacked Slices-SIM、WF 3D。

## 1.5. 【Laser】区域

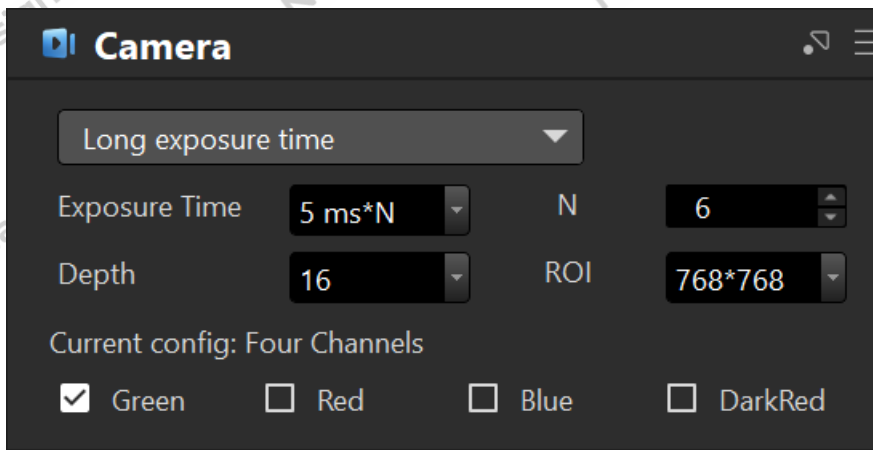


- 包括 405nm、445nm、488nm、561nm、640nm 激光（以实际硬件配置为准）。405 和 445 共用 Blue Channel，488 为 Green Channel，561 为 Red Channel，640 为 DarkRed Channel。
- 选中左侧的圆点则开启对应波长激光。
- 上面滑动条代表“Snap”、“Run”（实际拍摄过程）中 AOTF 功率百分比，滑动条右侧的百分比值同步滑动条。

纳析 VSIM 软件 V2.1

- 下面滑动条代表“Live”（预览模式）中 AOTF 功率百分比，滑动条右侧的百分比值同步滑动条。
- 最右侧功率下拉框代表对应波长激光器的功率（默认为 100mW，50~500mW 可选）。
- Last Configuration: 读取上一次采集时保存的 laser 设置参数。

## 1.6. 【Camera】区域

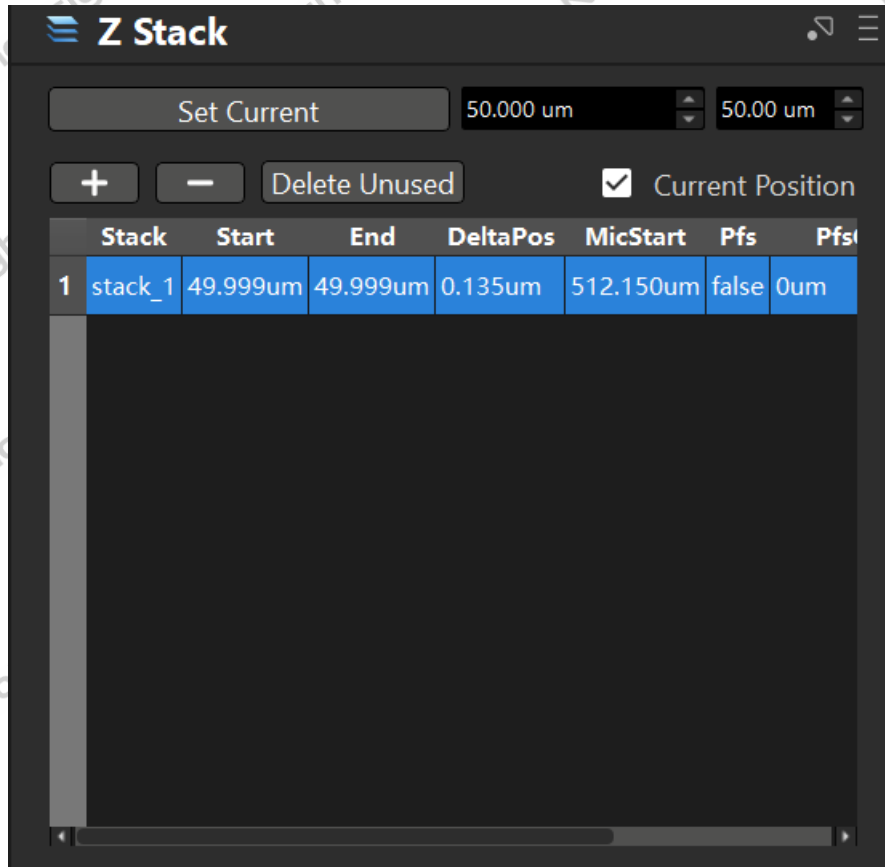


- Long exposure time: 曝光时间包含 1ms、2ms、5ms、5ms\*N 四种选项，通过 5ms\*N 配合 N 值的设置可以得到 10ms、20ms、30ms 等，默认使用 5ms\*6 曝光。
- Short exposure time: 曝光时间包含 0.1ms、0.2ms、0.4ms、0.4ms\*N 四种选项。
- Depth: 相机拍摄位深度，16bit 动态范围为 65535，噪声较高，适合亮度差别大样本（推荐）；12bit 动态范围为 4096，噪声很低，适合大部分荧光样本；8bit 动态范围为 255，噪声高，但速度很快，适合连续高速拍摄。
- ROI: 图像分辨率（1536\*1536、1024\*1024、768\*768、512\*512、256\*256），其中 1536\*1536 对应 94\*94  $\mu\text{m}$  视野 (pixel size 61.2 nm/pixel)，视野越小成像速度越快。
- Current Configuration: Four Channels: 当前通道配置，单激光时会自动选择对应的 Channel，也可以配置单激光多 Channel。



## 1.7. 【Z Stack】区域

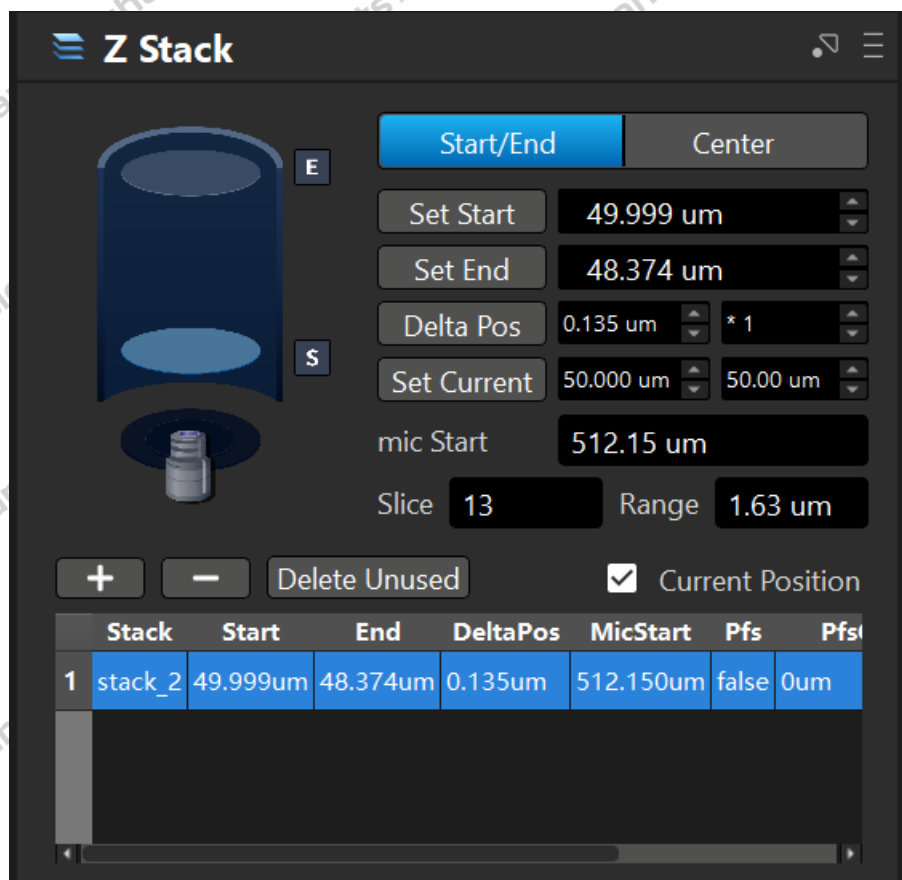
### ➤ 2D 【Z Stack】



- Z Stack 列表: 显示添加的 stack 信息, 包括 Start 信息、End 信息、DeltaPos 信息、MicStart 信息、PFS 信息。
- Set Current: 设置当前 PZT 位置, 点击 Set Current 生效。
- **+** **-**: 用于添加或者删减列表中的 stack 信息。
- Delete Unused: 一键删除所有没被 sequence 使用的 stack。
- Current Position: 用于开启或者关闭 Current Position 功能。Run 启动时:
  - 当前为 2D 模式且 Current Position 选中, 物镜不移动, 所有 sequence 以当前位置进行拍摄。
  - 其它情况: 物镜移至第一个 sequence 的 micStartPos, 以该 sequence 为基准, 重新计算其余 sequence 的 Z Stack 值, 判断是否有超界并提示。最终成图 MicStartPosition, HomePosition, EndPosition 值可能和用户操作时不一样, 但物镜到平台的距离、Slice、Range 和操作时一致。

纳析 VSIM 软件 V2.1

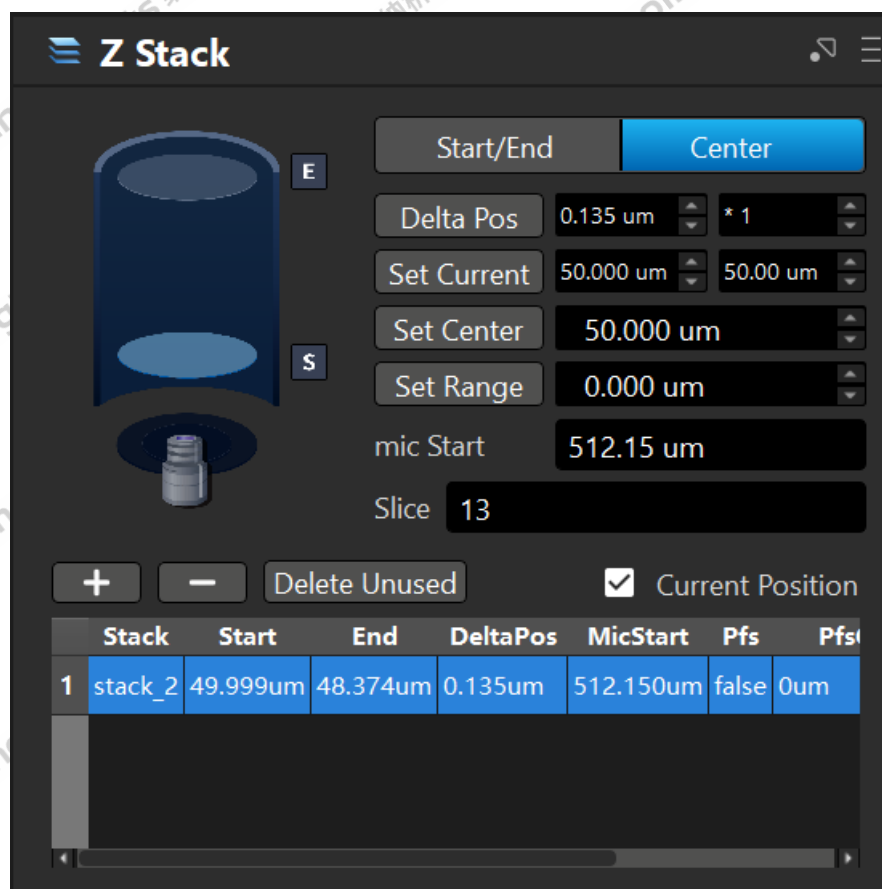
- 3D 【Z Stack】
- Start/End 模式



- Set Start: 按钮设置扫描开始焦面。
- Set End: 按钮设置扫描结束焦面。
- Delta Pos: 扫层时, 每层厚度 (在 Stacked Slices SIM 模式下可以设置每层厚度为  $0.135 \mu\text{m}$  的  $N$  倍)。
- Set Current: 设置当前 PZT 位置, 点击 Set Current 生效。
- Mic Start: 当前物镜的位置坐标。
- Slice: 扫描层数。
- Range: 扫描厚度。
- Z Stack 列表: 显示添加的 stack 信息, 包括 Start 信息、End 信息、DeltaPos 信息、MicStart 信息、PFS 信息。
- **+** **-**: 添加或者删减列表中的 stack 信息。
- Delete Unused: 一键删除所有没被 sequence 使用的 stack。

纳析 VSIM 软件 V2.1

- Current Position: 3D 模式下, 该功能不适用。
- Center 模式



- Delta Pos: 扫层时, 每层厚度 (在 Stacked Slices SIM 模式下可以设置每层厚度为 0.135  $\mu\text{m}$  的 N 倍)。
- Set Current: 设置当前 PZT 位置, 点击 Set Current 生效。
- Set Center: 设置中心焦面。
- Set Range: 输入需要扫描样本厚度。
- Mic Start: 当前物镜的位置坐标。
- Slice: 扫描层数。
- Z Stack 列表: 显示添加的 stack 信息, 包括 Start 信息、End 信息、DeltaPos 信息、MicStart 信息、PFS 信息。
- **+** **-**: 添加或者删减列表中的 stack 信息。
- Delete Unused: 一键删除所有没被 sequence 使用的 stack。
- Current Position: 3D 模式下, 该功能不适用。

## 1.8. 【Image View】区域

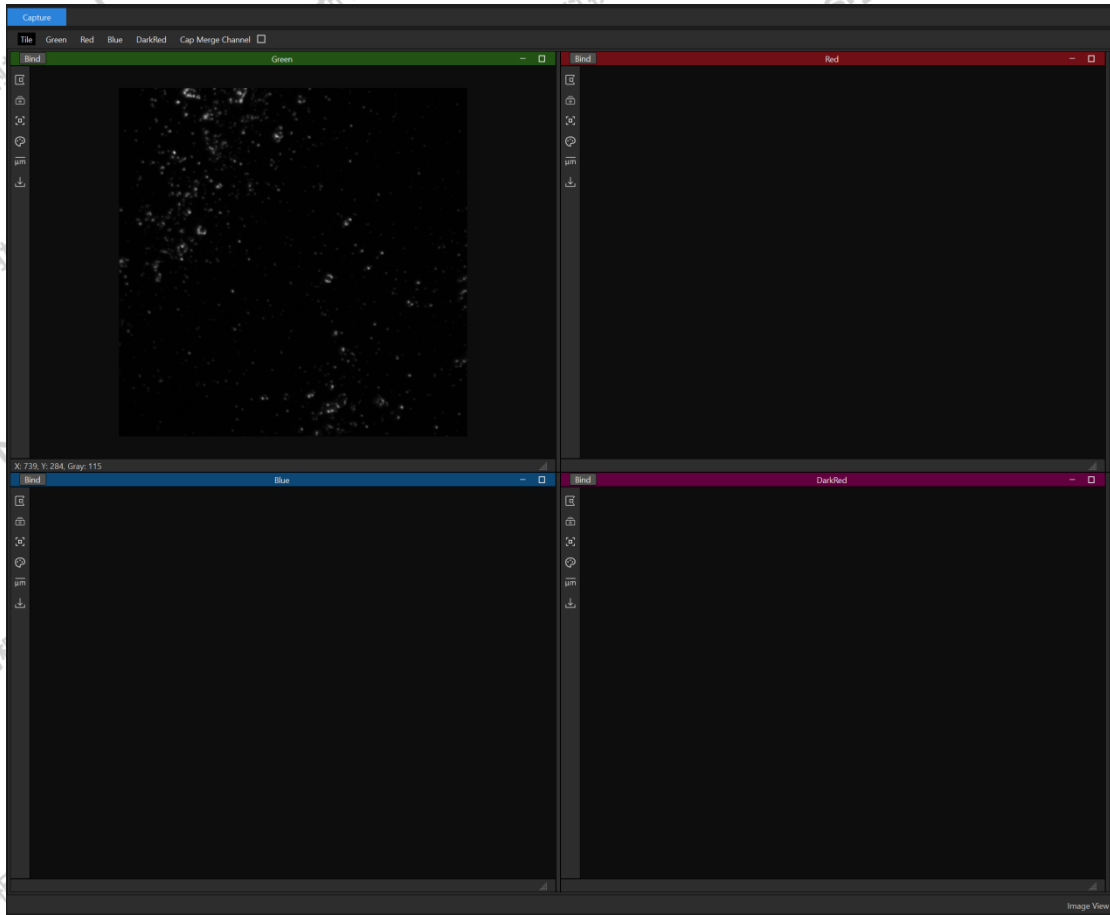








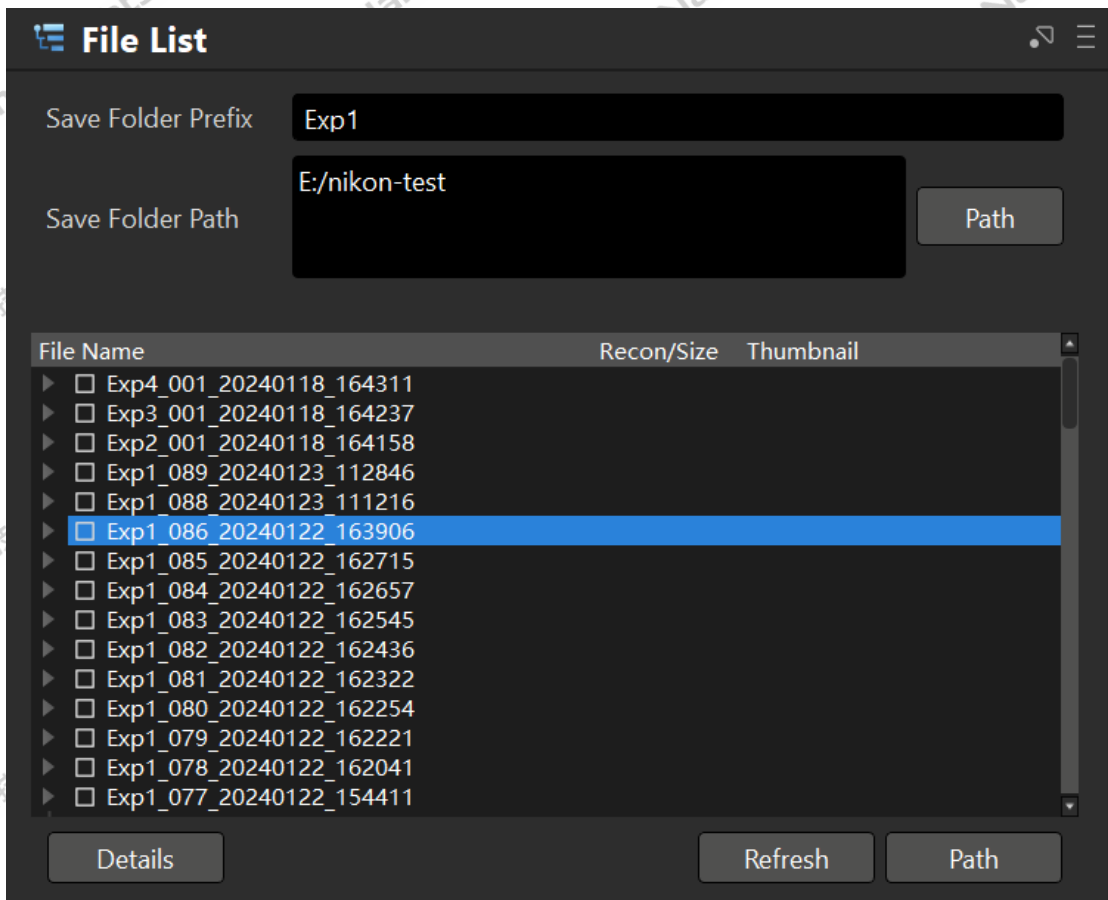
Image View 默认展示 Capture 的内容，File list 打开的文件则以对应实验文件夹名称新建标签页显示。勾选 Cap Merge Channel 即可进行 Merge 操作（需要先配置 Channel Alignment 参数）。可切换标签页查看不同实验的图像，Image View 中可对 Channel 布局进行调整，点击标签页工具栏 Channel 的标题可放大该 Channel，点击 Tile 即恢复为默认的四通道显示（File List 打开的则是平铺显示）。每个 Channel 左侧有一列工具栏。

-  hide/show Navigator: 图像放大后通过导航器的方框快速定位感兴趣区域。
-  hide/show ImageControlPanel: 查看或修改当前图像的亮度、对比度、添加伪彩和标尺。
- Hand tool: 鼠标滚轮放大或缩小图像，按住鼠标左键拖动图像。
-  reset transform: 图像缩放后单击该按钮，图像尺寸和位置恢复初始状态。

纳析 VSIM 软件 V2.1

-  PseudoColor: 选择启用/关闭伪彩。
-  scaleBar: 选择启用/关闭标尺。
-  save image: 图像保存, 可设置文件名、保存类型、保存路径, 保存为视频格式时可设置视频帧率。

## 1.9. 【File List】区域



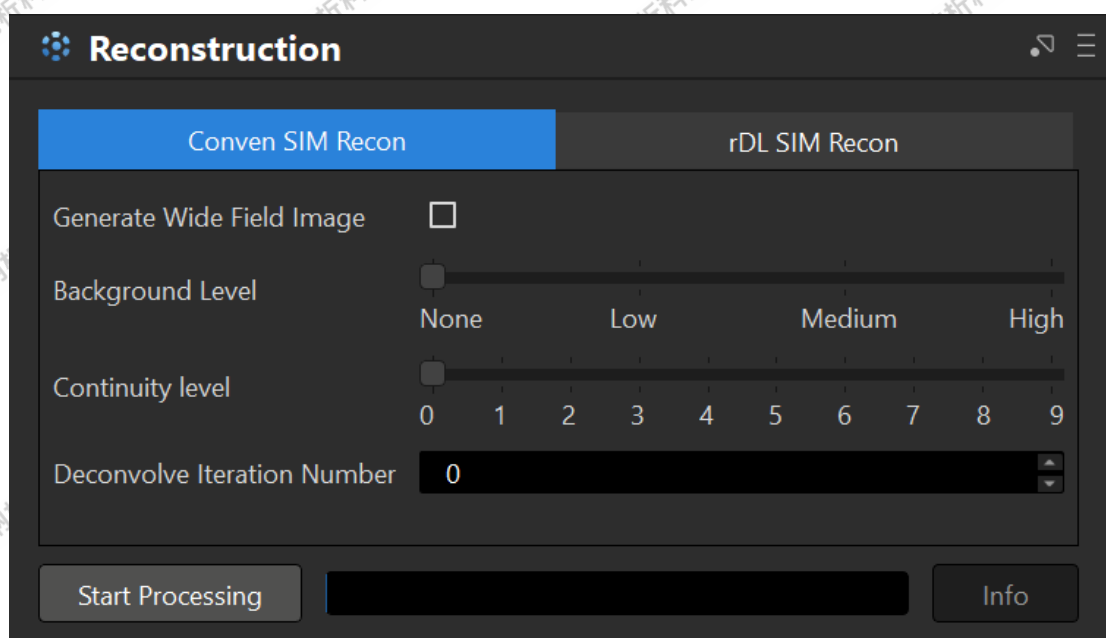
- Save Folder Prefix 可设置实验文件夹前缀, 前缀后接自动计数 (例: Exp1\_001, 计数最大为 999), Save Folder Path 为设置文件保存路径, 在设定的保存路径下会生成实验文件夹, 该文件夹内会保存当前实验的拍摄数据, 需要点击右侧的 Path 进行保存路径的选择。
- 在【File List】区域点击右下方的 Path, 选择保存实验图像数据文件夹的目录 (可设置与 Save Folder Path 一致, 或设置其他包含实验数据文件夹的目录), 点击选择文件夹即可读取当前文件夹内的实验文件列表信息。当设置文件夹有实验文件新增的时候, 可以点击 Refresh 可刷新当前 File list,

纳析 VSIM 软件 V2.1

刷新后可查看当前路径下最新的实验文件。

- 勾选 File Name 列的勾选框后可在 Image View 中查看选择文件的预览图，一个实验（文件夹）作为一个新的标签，最多勾选 8 个图像文件查看。
- 勾选 Recon/Size 列的勾选框后该文件会在 Reconstruction 进行重建时调用。同一个实验文件夹支持多选，选择不同实验文件夹则会取消选择之前实验选择的文件。
- Copy Path: 在对应文件中右键选择 Copy Path，可复制当前文件的绝对路径信息。
- Open Path: 在对应文件中右键选择 Open Path，在文件资源管理器中打开当前实验的文件夹。
- Details: 可选择在 File List 中显示的详细信息，可选 Create Time、File Path、Thumbnail。

## 1.10. 【Reconstruction】区域（Conven SIM Recon）



- Generate Wide-Field Image: 勾选则生成相应的宽场图，不勾选则执行重建。
- Background Level: 去背景处理程度，包含 None、Low、Medium、High 级别。
- Continuity Level: 连续性参数，包含 0~9 个级别，参数越高图像越连续（即

纳析 VSIM 软件 V2.1

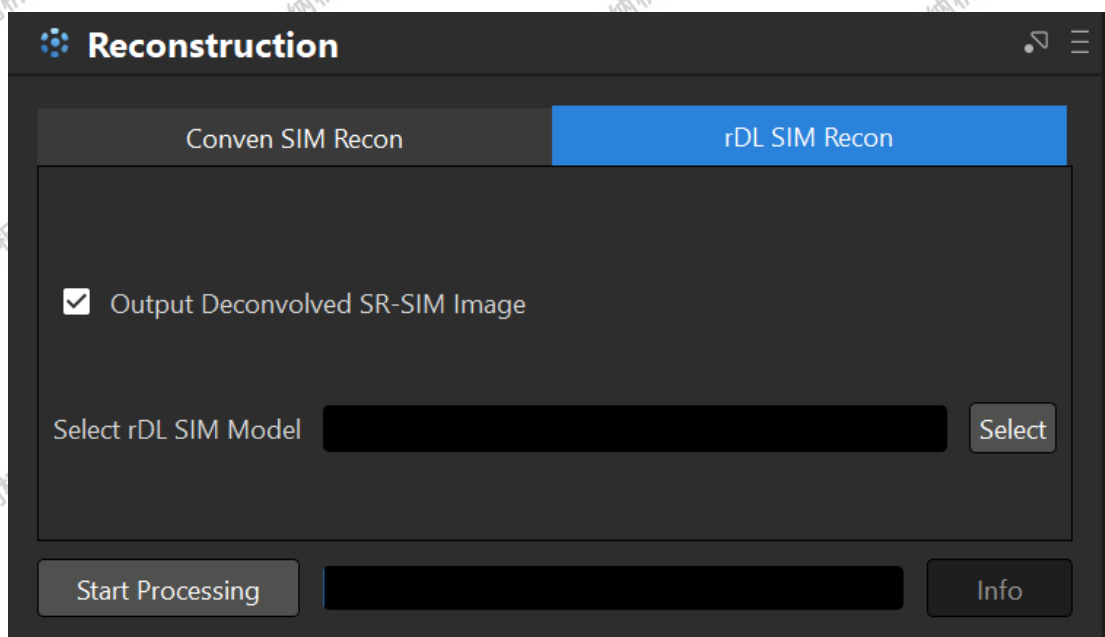
越平滑)。

- Deconvolve Iteration Number: 解卷积算法的迭代次数, 通常设置 1~5 次。
- Start Processing: 点击按钮后程序开始执行重建或生成宽场任务。
- Info: 若 File list 选择原始文件, 点击 Info 按钮则显示实验的详细设置信息; 若选择重建后的文件, 点击 info 按钮则显示重建过程的详细日志信息。

备注: 默认输入文件名添加相应后缀来提示重建模块参数设置信息, 其中宽场: `_WF`; 重建: `_RC`; 去背景: `_BgX`, 其中 `X` 为 `L | M | H`; 降噪: `_DnX`, 其中 `X` 为 `1~9`; 去卷积: `_DcX`, 其中 `X` 为 `1~20`; 后缀名: `.out.mrc`。

例: `roi1_seq1_3D-SIM488_GreenCh_RC_BgL_Dn1_Dc4.out.mrc`

## 1.11. 【Reconstruction】区域 (rDL SIM Recon)

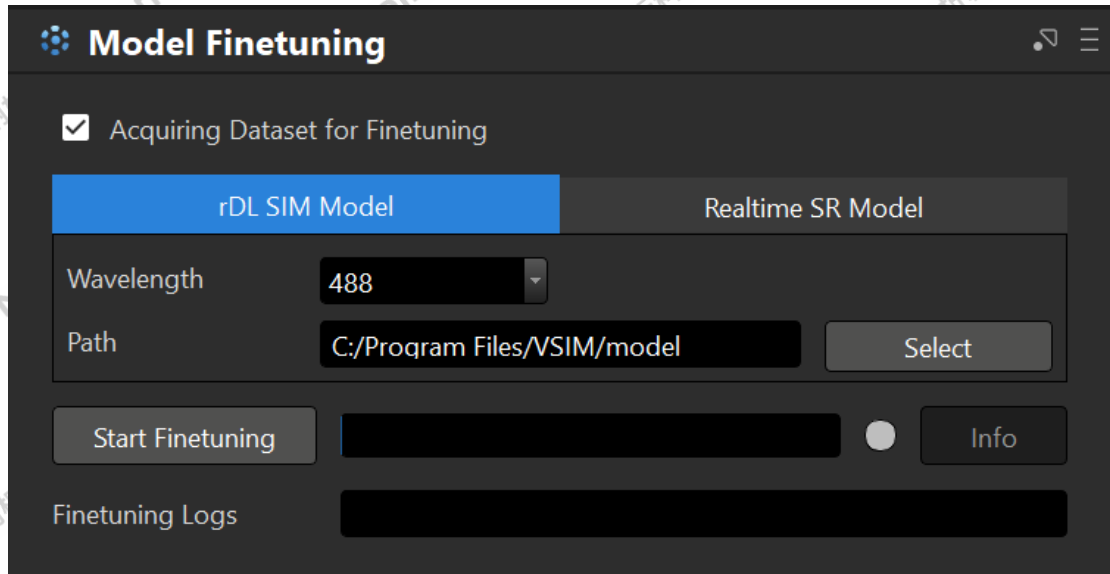


- Output Deconvolved SR-SIM Image: 勾选是否需要输出反卷积图像 (限制 Select rDL SIM Model 时可查看到的 onnx 文件)。
- Select rDL SIM Model: 选择需要加载的深度学习模型, 可以是实验室训练好的预训练模型, 也可以是用户之前在预训练模型基础上微调后保存的模型。
- Start Processing: 点击按钮后程序开始执行重建任务, 完成后自动显示图像。
- Info: 若 File list 选择原始文件, 点击 Info 按钮则显示实验的详细设置

纳析 VSIM 软件 V2.1

信息；若选择重建后的文件，点击 Info 按钮则显示重建过程的详细日志信息。

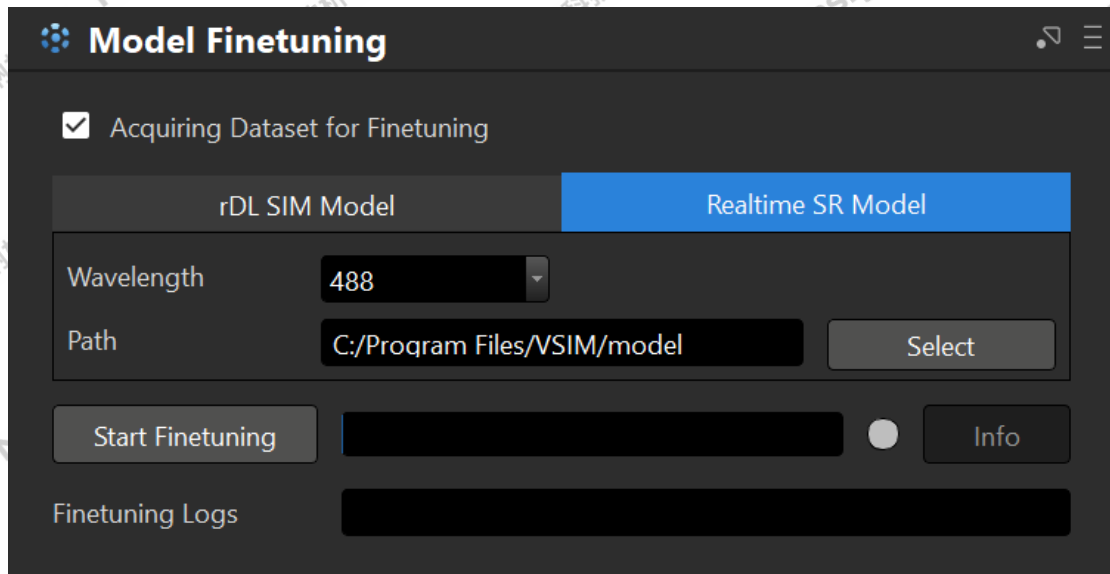
## 1.12. 【Model Finetuning】区域（rDL SIM Model）



- Acquiring Dataset for Finetuning: 勾选后启用采集微调数据，弹出 Tips 和 Multi ROI，按 Tips 要求进行数据采集即可。
- Wavelength: 选择需要训练模型的波长，Multi ROI 采集微调数据时与当前选择波长要一致。
- Path: 采集数据和模型的保存路径。
- Start Finetuning: 采集数据完成后点击该按钮可进行数据微调，输出的 onnx 模型可在 **rDL SIM Recon** 时调用。
- Info: 可查看 finetune information。
- Finetuning Logs: 展示微调进程中相关的日志信息。

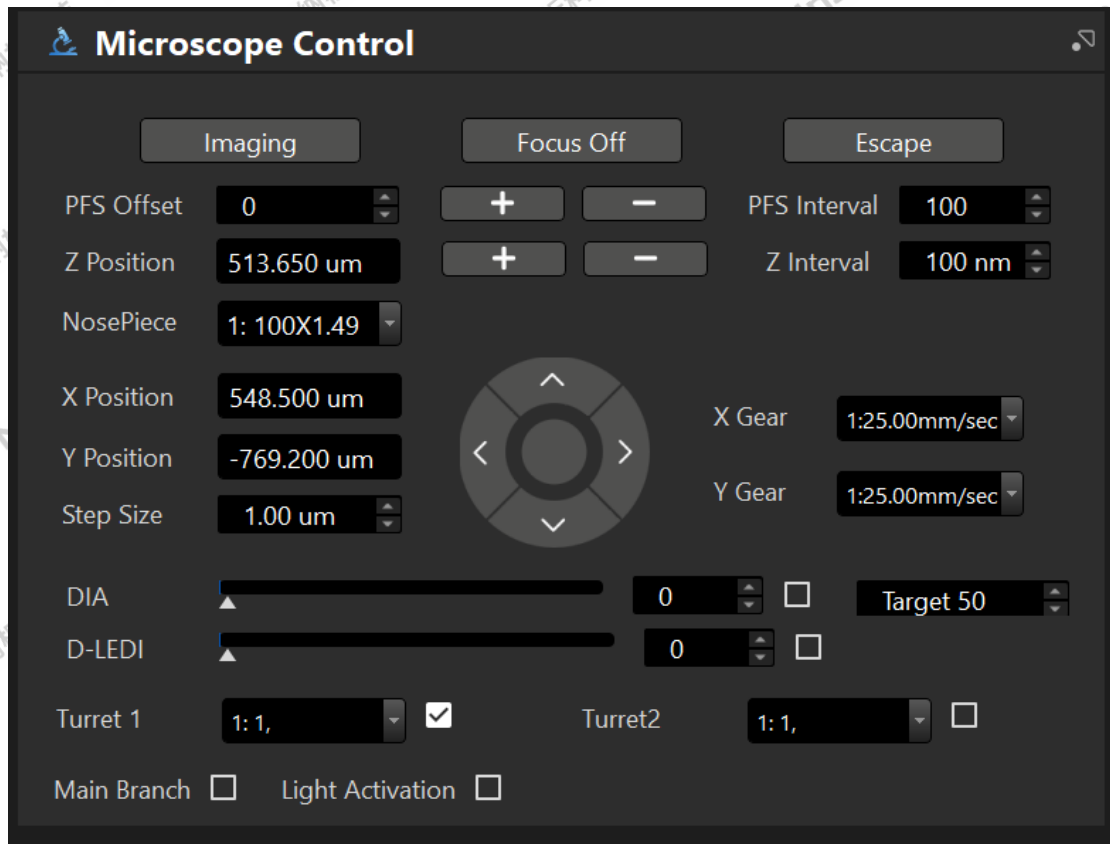


### 1.13. 【Model Finetuning】区域（Realtime SR Model）



- Acquiring Dataset for Finetuning: 勾选需要采集微调数据，弹出 Tips 和 Multi ROI，按 Tips 要求进行数据采集即可。
- Wavelength: 选择需要训练模型的波长，Multi ROI 采集微调数据时与当前选择波长要一致。
- Path: 采集数据和模型的保存路径。
- Start Finetuning: 采集数据完成后点击该按钮可进行数据微调，输出的 onnx 模型可在 **Live 重建时调用**。
- Info: 可查看 finetune information。
- Finetuning Logs: 展示微调进程中相关的日志信息。

## 1.14. 【Microscope Control】区域（尼康）



- **Imaging/Eyepiece:** 切换拍照模式与目镜观察模式，目镜观察模式 FITC。
- **Focus On/Off:** 打开/关闭进行焦面锁定。
- **Escape:** 物镜降到最底部，再次点击可恢复到之前位置。
- **PFS Offset 与 PFS Interval:** 锁焦状态下焦面的偏移量，可通过 PFS Interval 与加减号进行 PFS Offset 的调节。
- **Z Position:** 物镜当前的高度。
- **NosePiece:** 当前物镜参数。
- **X、Y Gear:** 电控载物台运动速度。
- **X、Y Position 与 Step Size:** 电控载物台当前位置，通过上下左右按钮与 Step Size 控制载物台的位移。
- **DIA:** 明场照明亮度调节，后面勾选为打开明场照明，进行 BF 的 Live、Snap 或 Run 自动勾选并应用 Target 值。
- **D-LEDI:** 目镜下宽场荧光照明强度调节，后面勾选为打开荧光照明。
- **Turret 1 与 Turret 2:** 荧光转盘 1 与荧光转盘 2 的位置选择。

纳析 VSIM 软件 V2.1

- **Condenser:** 电动聚光镜控制（需要硬件支持）。
- **Light Activation:** 光激活模块，将视野内的样本使用指定颜色的光进行照射，激活样本。

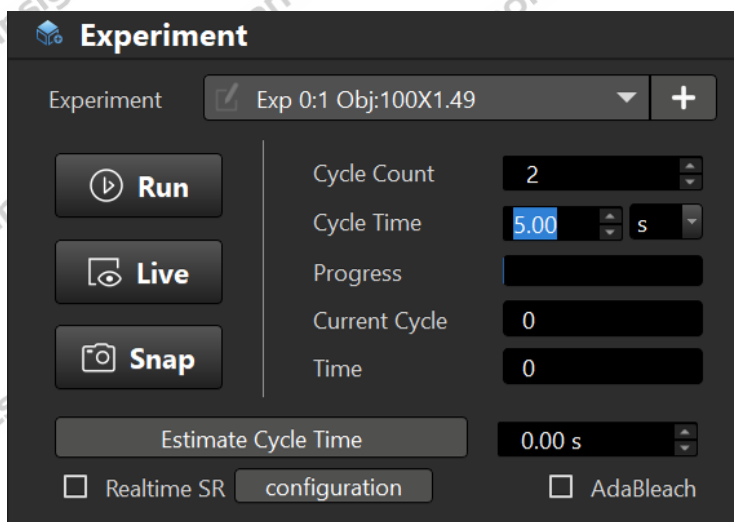
## 二、软件操作范例

### 2.1. 实验前准备

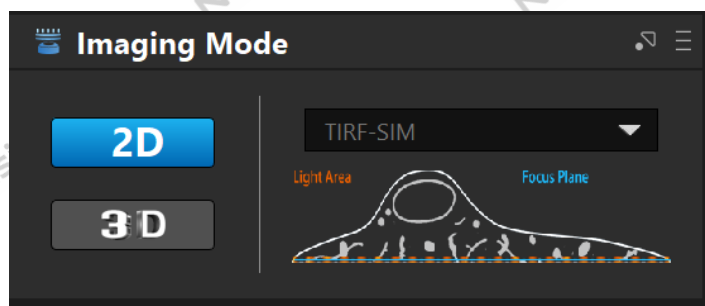
- a) 电脑主机先开机，电脑进入系统后按设备开机操作流程开启设备的各个部件。
- b) 打开 VSIM 软件（SIM 和 SIMX 软件安装后桌面图标不一致，按实际安装版本打开即可），打开软件后查看软件右下角界面显示 HeartBeat 状态，绿色圆型图标表示连接成功，连接失败则显示红色，连接失败则需要去硬件通讯是否正常。
- c) 软件连接成功后可按实验需求在显微镜滴加镜油或水（具体看物镜的 NA 值）、放置样品、调焦等一系列操作。

### 2.2. 2D SIM 操作步骤（以 TIRF-SIM 模态为例）

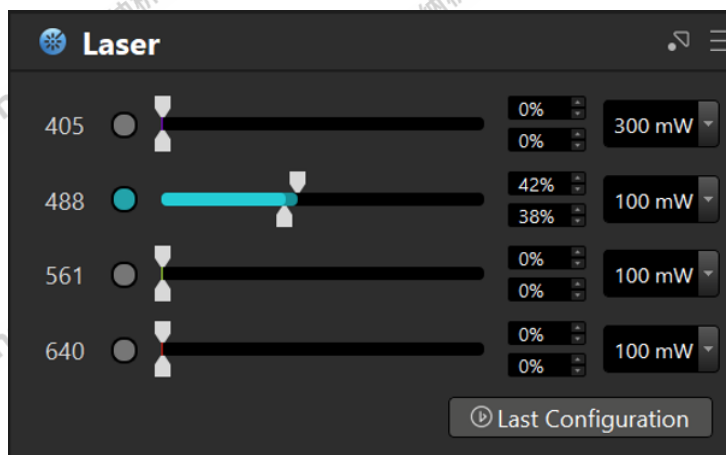
- a) 打开桌面 VSIM 软件。
- b) 添加实验并设置拍摄循环数和每个循环间隔时间。在【Experiment】区域，点击 Experiment 右侧“+”输入命名并添加实验，然后设置 Cycle Count 为 2，Cycle Time 为 5.00s（Cycle Count 和 Cycle Time 可按实验需求进行调整）。



- c) 根据实验需求选择模态。在【Imaging Mode】区域，先点击“2D”再选择“TIRF-SIM”模态。

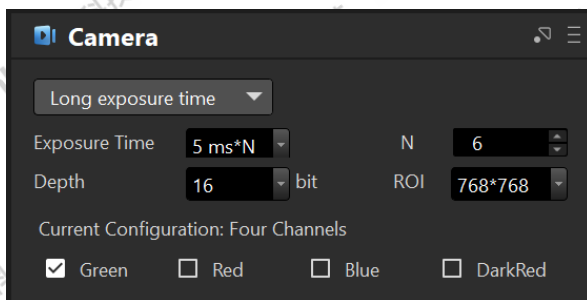


- d) 根据实验需求设置激光的参数。在【Laser】区域，选择 488 激光（点击 488 旁边的圆点），上面蓝色进度条代表“Snap”、“Run”（实际拍摄过程）中 AOTF 功率 50%，下面蓝色进度条代表“Live”（预览模式）中 AOTF 功率 50%，可以调节右边激光器的功率 100mW。

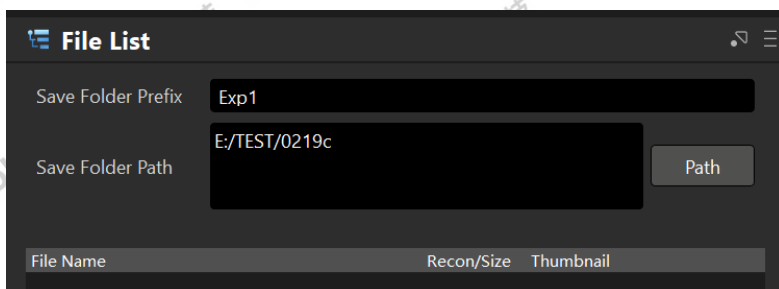


- e) 设置相机参数。在【Camera】区域，设置 Exposure Time 为 30ms、Depth 为 16 和 ROI 为 1536\*1536，软件会自动选中 Green 通道探测（备注：根据选择

的激光颜色，软件自动匹配对应颜色的通道探测）。

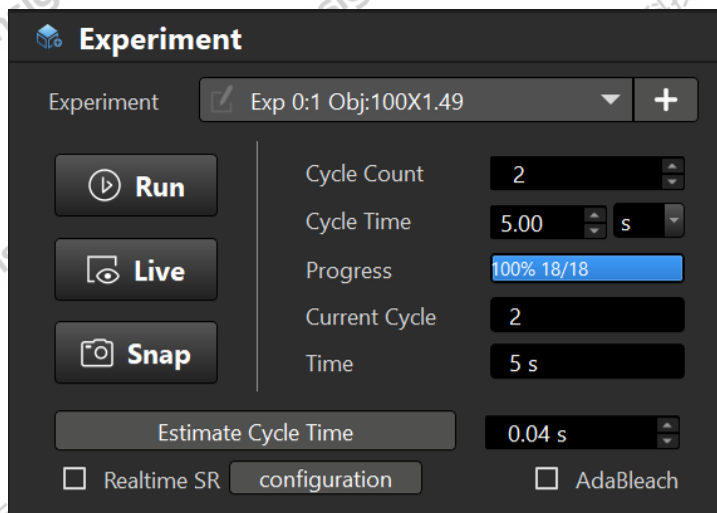


f) 在 File List 处设置实验文件夹前缀和保存路径。



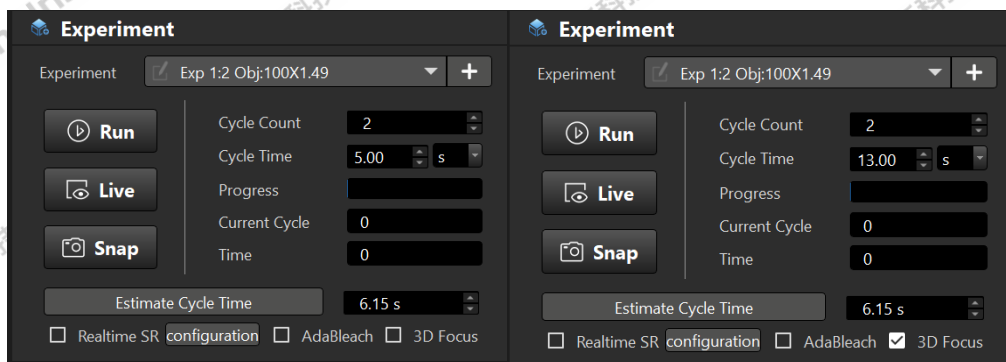
g) 样品预览。【Experiment】区域点击“Live”预览样品，当前显微镜观察到的图像会在 SIM Capture 中对应的 Channel 中显示，通过控制杆旋钮调节焦面，把显示图像调节清晰，也可对激光参数和相机参数进行调整。在【Microscope Control】区域也可通过“PFS Offset”功能进行微调焦面，确认焦面调试完毕后，点击“Stop”停止预览，此时 Z stack 会自动生成 stack，Run 的时候会默认调用该 stack 参数。

h) 点击“Run”运行实验，设备会按照当前实验信息进行图像采集，运行完毕后，在之前设置的实验文件保存路径找到数据文件，将原始数据重建后在 Image J 中分析。

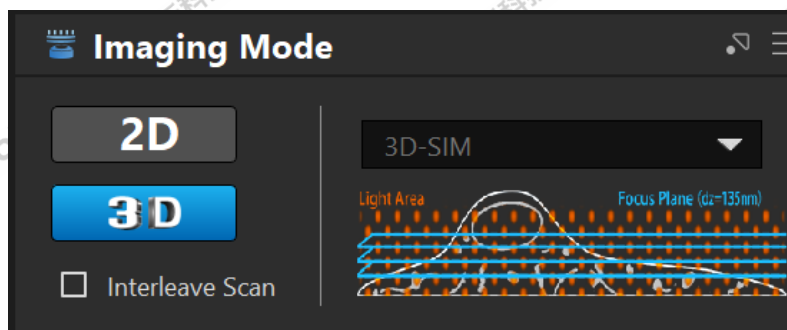


## 2.3. 3D SIM 操作步骤（以 3D-SIM 模式为例）

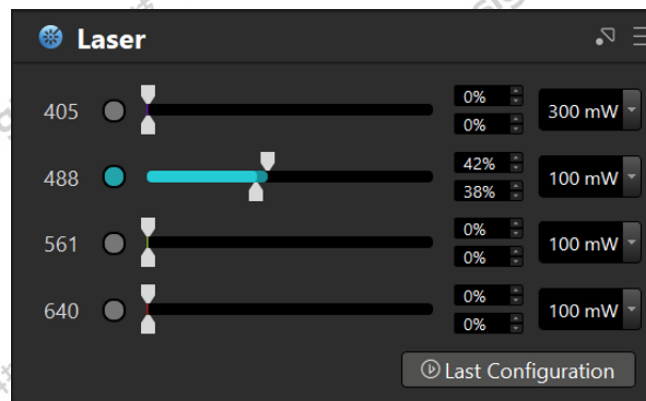
- 打开桌面 VSIM 软件。
- 添加实验并设置拍摄循环数和每个循环间隔时间。在【Experiment】区域，点击 Experiment 右侧“+”输入命名并添加实验，然后设置 Cycle Count 为 2，Cycle Time 为 5.00s（Cycle Count 和 Cycle Time 可按实验需求进行调整），勾选 3D Focus（可选项，勾选后则需要注意 3D Focus 生效必须满足 1.3 中描述的限制条件）。



- 根据实验需求选择模式。在【Imaging Mode】区域，先点击“3D”再选择“3D-SIM”模式。

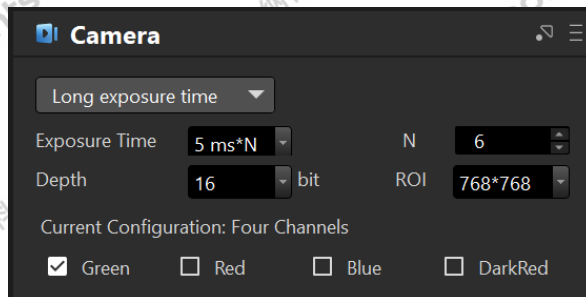


- 设置激光的参数。在【Laser】区域，选择 488 通道，并设置激光功率和 AOTF 百分比。

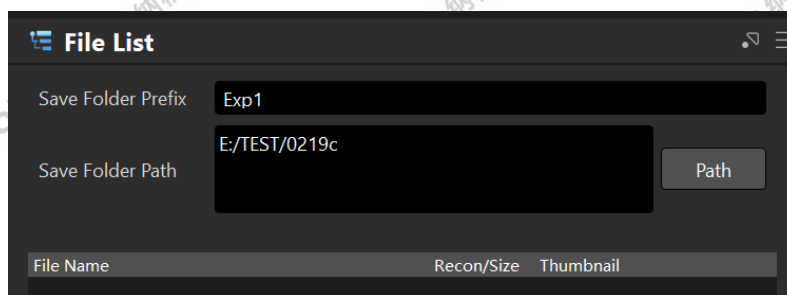


纳析 VSIM 软件 V2.1

- e) 设置相机参数。在【Camera】区域，设置 Long Exposure Time 为 30ms、Depth 为 16 和 ROI 为 1536\*1536。

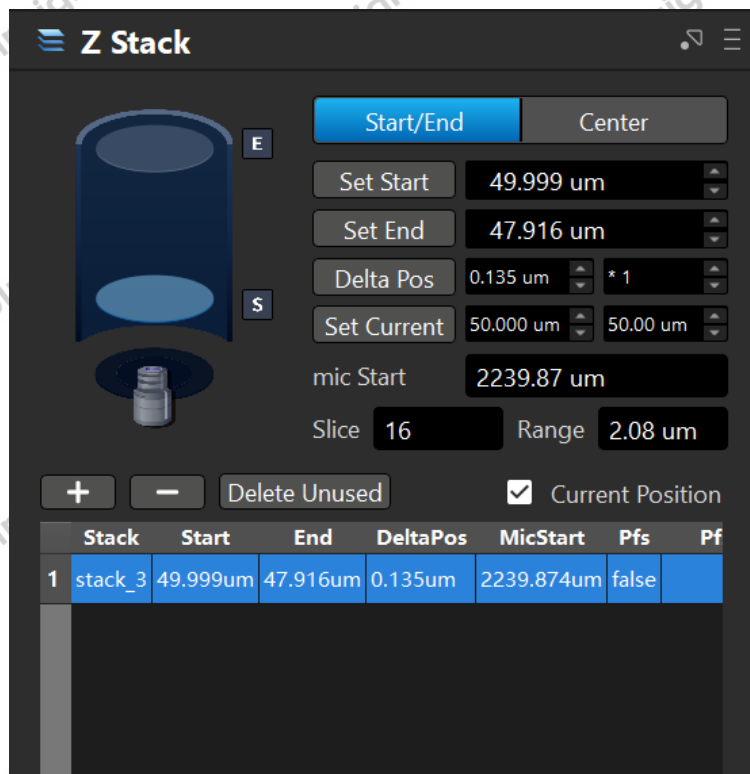


- f) 在 File List 处设置实验文件夹前缀和保存路径。

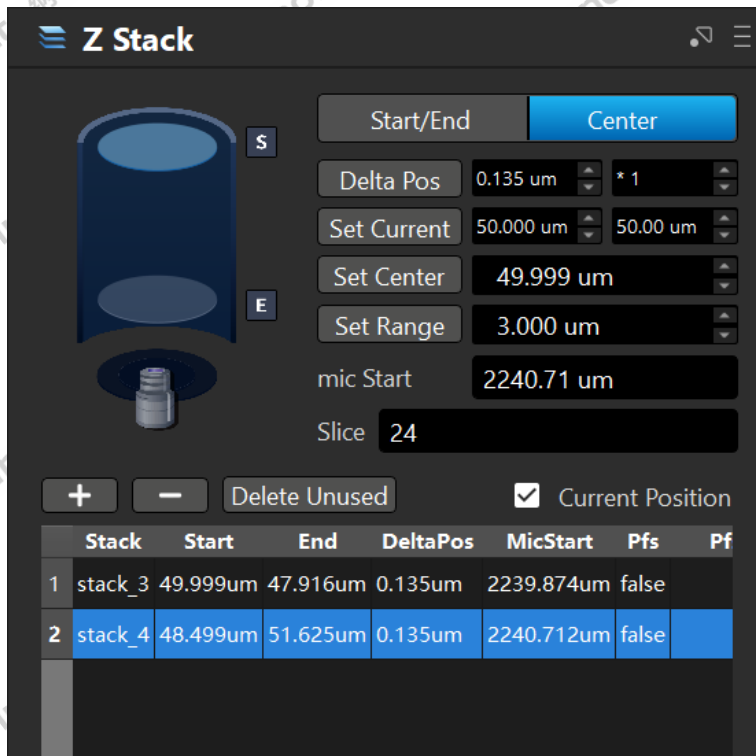


- g) 设置扫层厚度方法一（Start/End 模式，与 Center 模式二选一即可）。

【Experiment】点击 Live 预览，通过控制杆调整 Z 轴坐标为拍摄起始位置后在【Z Stack】区域，点击“Set Start”，然后调整 Z 轴坐标为需要的结束位置，再点击“Set End”，在 Z Stack 列表中点击“+”添加 stack\_1。



- h) 设置扫层厚度方法二（Center 模式）。【Experiment】点击 Live 预览，在【Z Stack】区域，通过控制杆对 Z 轴坐标进行调焦。当调节为最佳拍摄位置后在【Z Stack】区域选择 Center 页面，依次点击 Set Current、Set Center 按钮，在 Set Range 的输入框输入需要拍摄的样本厚度。（备注：以 Set Center 位置为中间点，上下偏移 Set Range/2 的值为拍摄的起始和终止），点击 Set Range，在 Z Stack 列表中点击“+”添加 stack\_2。

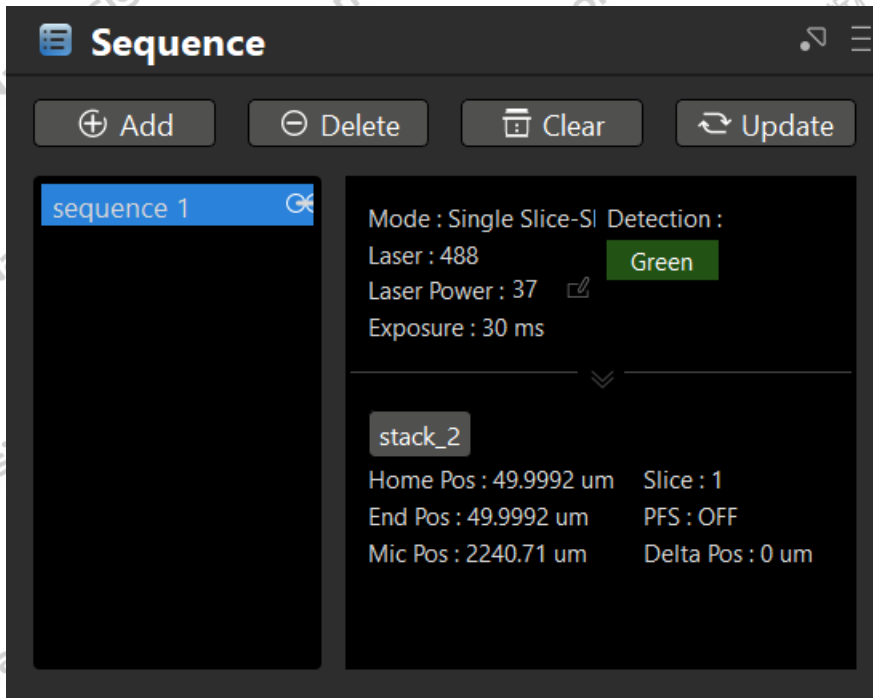


- i) 在【Experiment】区域点击“Run”运行实验，运行时默认会调用当前设置的 stack 参数进行实验，运行完毕后，在之前设置的实验文件保存路径找到数据文件，将原始数据重建后在 Image J 中分析。

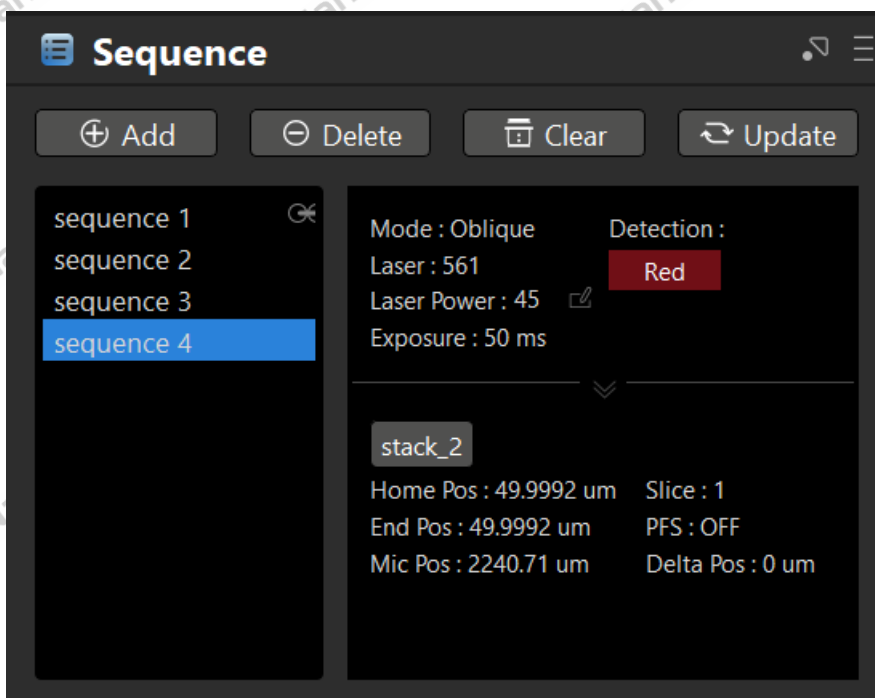
## 2.4. Sequence 功能（以 2D 模态为例）

- a) 点击工具栏 Sequence 选项，展示 Sequence 操作框（在左侧实验参数设置中，一般在 Camera 区域下方）。
- b) 按 2D 模态的采集步骤进行 2D 模态选择、配置激光参数、相机参数、Z Stack 参数设置。
- c) 调节完成后在 Sequence 操作框点击 Add，可将当前【Imaging Mode】、【Laser】、【Camera】、【Z Stack】参数组合并保存为“sequence1”。





- d) 选中 sequence1 可修改【Imaging Mode】、【Laser】、【Camera】或【Z Stack】为其它参数，点击 Add，可将修改后 Imaging Mode、Laser、Camera、Z stack 参数保存为 sequence2。以此类推，可添加 sequence3、sequence4...



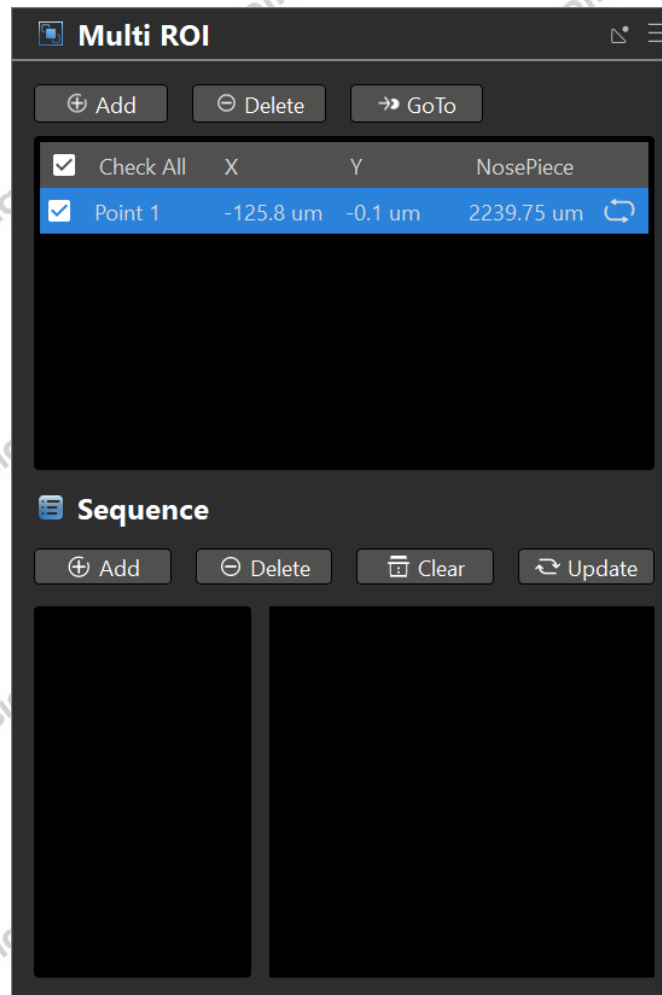
- e) 【Experiment】区域点击 Run，会按照 sequence 列表的参数逐个 sequence 执行，运行完毕后，在之前设置的实验文件保存路径找到数据文件，将原始数据重建后在 imageJ 中分析。
- f) 选中列表中的 sequence 点击“Delete”可删除选中的 sequence；“Clear”

纳析 VSIM 软件 V2.1

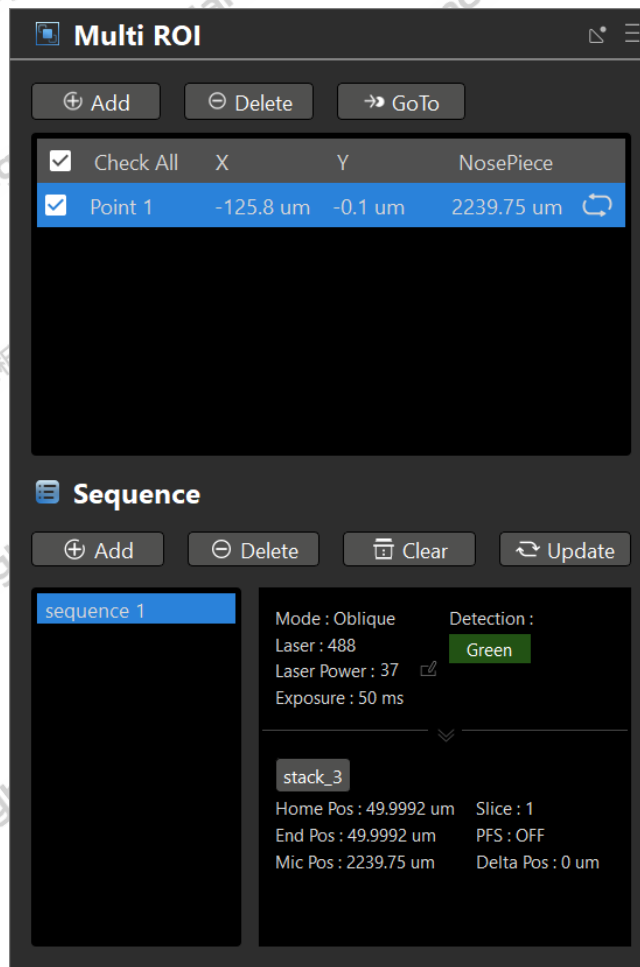
可清空列表内的所有 sequence；先选中列表中的 sequence，对当前实验参数进行修改，点击“Update”按钮更新当前 sequence 的参数。

## 2.5. Multi-ROI 功能（以 2D 模态为例）

- a) 点击工具栏的 Multi ROI 选项，展示 Multi ROI 操作框（在左侧实验参数设置中，一般在 Camera 区域下方）。按 2D 模态的采集步骤进行 2D 模态选择、配置激光参数、相机参数、Z Stack 参数设置。
- b) 在【Experiment】区域点击 Live 先预览样品并找到感兴趣的区域，在 Multi ROI 中点击 Add，获取当前坐标信息添加 Point1 并显示位移平台 X、Y、Z 坐标信息。



- c) 在 Sequence 中点击 Add，可将当前实验参数添加为 sequence1，此时也可以停止 Live 后继续添加不同的 sequence，具体操作方法同 2.4。添加的 sequence 均会关联到 Point1。

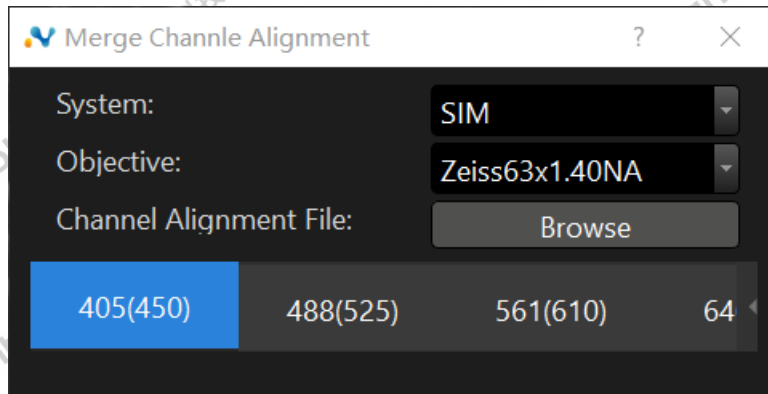


- d) 在 Live 状态下通过控制杆调节 XY 轴坐标进行位移，找到样本不同的拍摄区域，在 Multi ROI 中点击 Add 添加 Point2。此时 Point2 会继承上一个 Point 的 sequence 参数，也可对 Point2 的 sequence 参数进行修改。
- e) 重复以上步骤可添加多个 Point 和 sequence，添加完成后可点击 Stop 停止预览。
- f) 【Experiment】区域点击 Run，先从 Point1 位置开始按顺序执行 Point1 下的 sequence，然后执行 Point2 下的 sequence 直到完成所有的 Point 和 cycle，运行完毕后，在之前设置的实验文件保存路径找到数据文件，将原始数据重建后在 ImageJ 中分析。

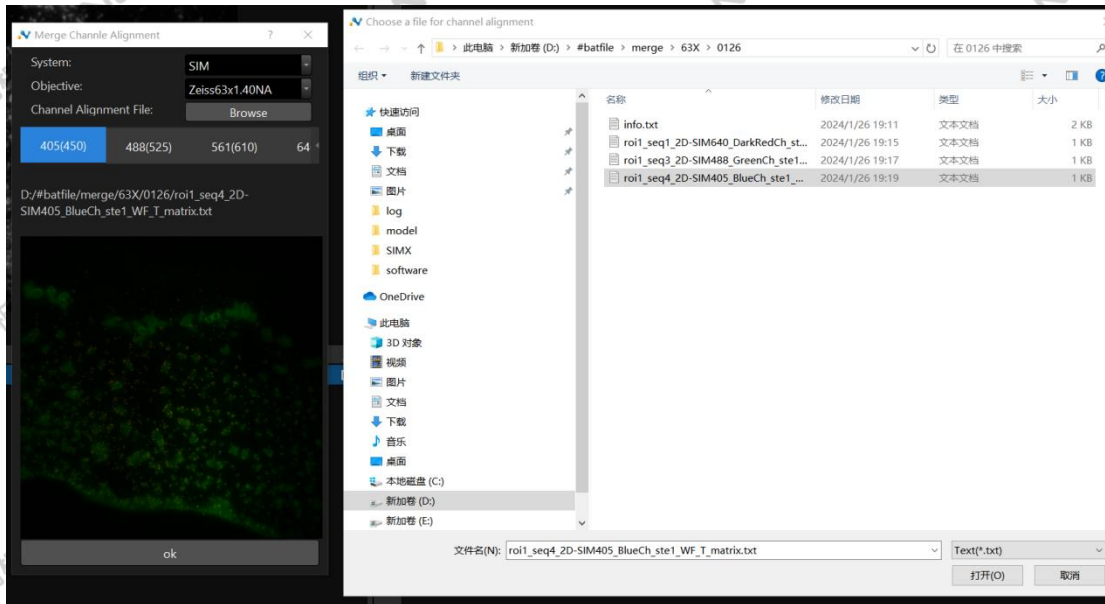
## 2.6. Merge 功能

- a) Merge 相关参数配置需要提前准备当前物镜拍摄图像的 T 矩阵参数（参考附录的《获取 T 矩阵文件.docx》），VSIM 软件导航栏点击 Config 选择 Channel Alignment，在 Merge Channel Alignment 操作框中选择对应的 System 参数，

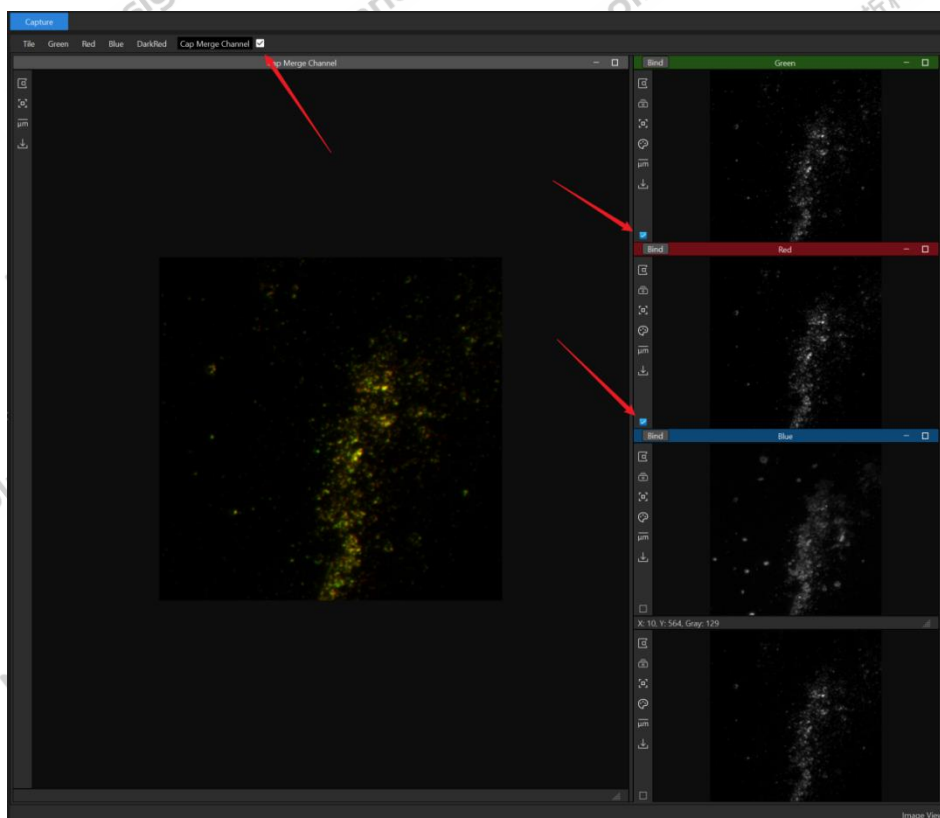
Objective 选择当前设备对应的物镜。



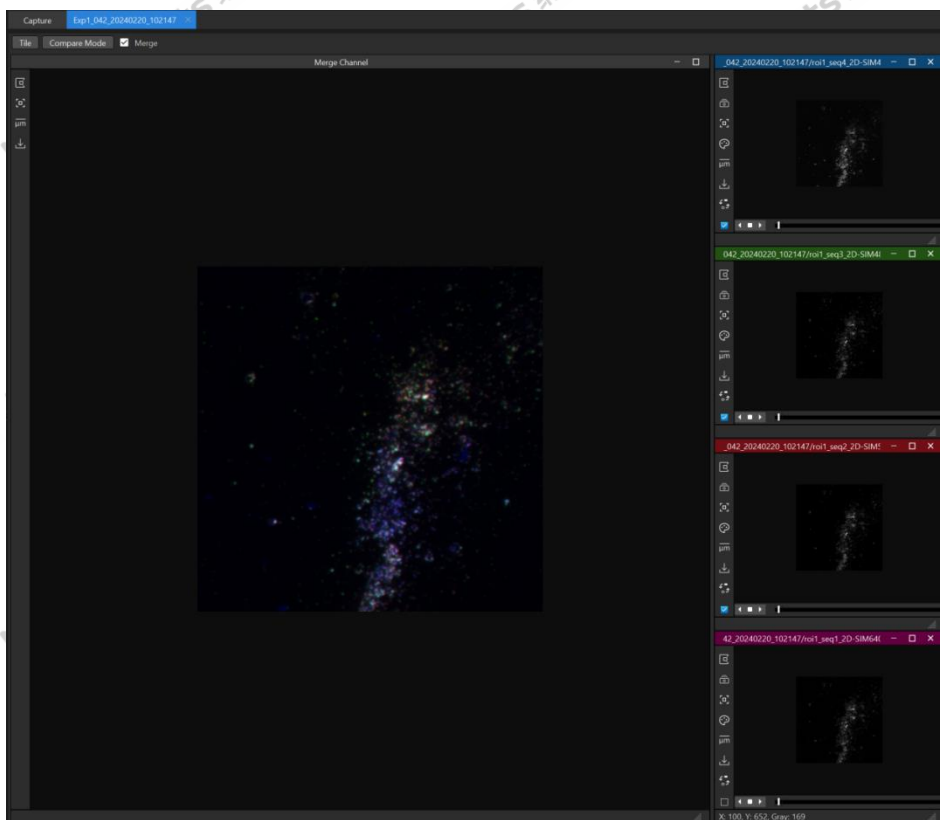
b) Merge Channel Alignment 选择 405 (450) 标签页，点击 Browse，找到存放 T 矩阵参数的文件夹，选中对应激光的 T 矩阵文件，点击打开。使用相同的方法配置其他激光的 T 矩阵参数（561 不需要配置），点击 ok。



c) Capture 中勾选 Cap Merge Channel，以 TIRF-SIM 图像采集为例，勾选 488 和 561 激光，点击 Snap，勾选 Green、Red Channel 左下角的勾选框，即可将当前 Snap 的图像进行 Merge 并显示在 Cap Merge Channel 中。

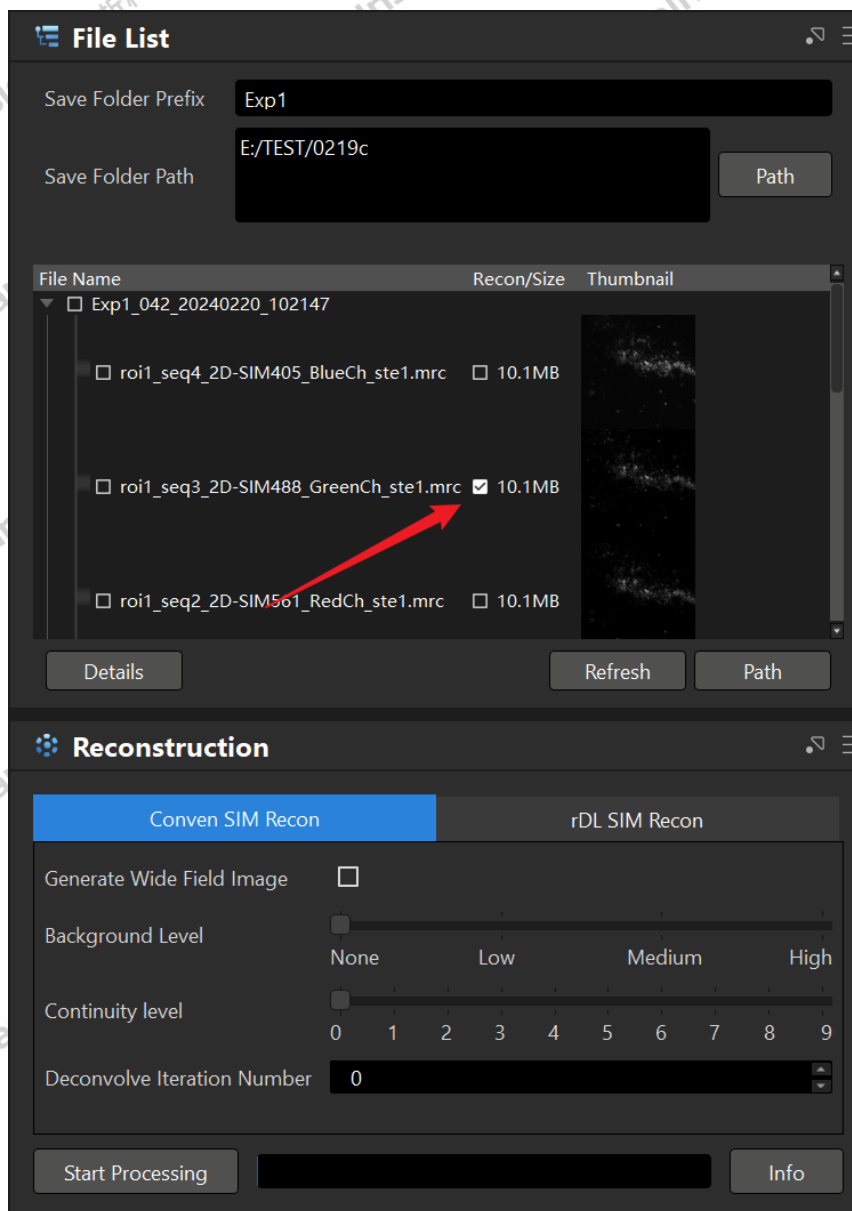


- d) 从 File list 打开 Exp 进行 Merge 的操作与 Snap 进行 Merge 操作类似，在实验文件夹标签页只需要勾选 Merge Channel，再勾选对应的 Channel 左下角的勾选框即可完成 Merge。

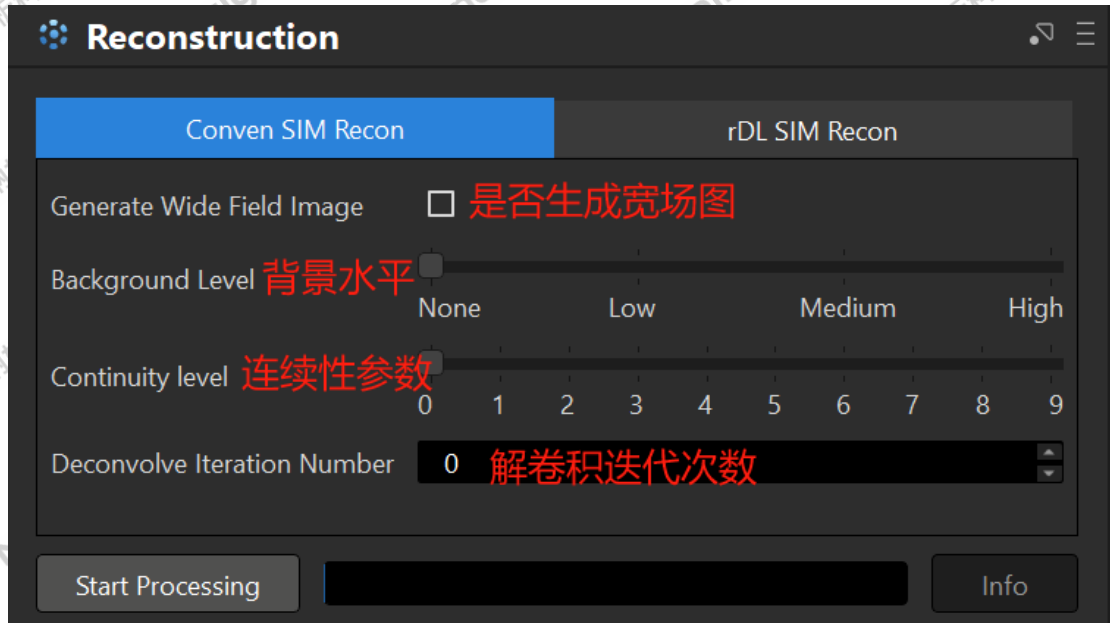


## 2.7. 传统 SIM 重建功能

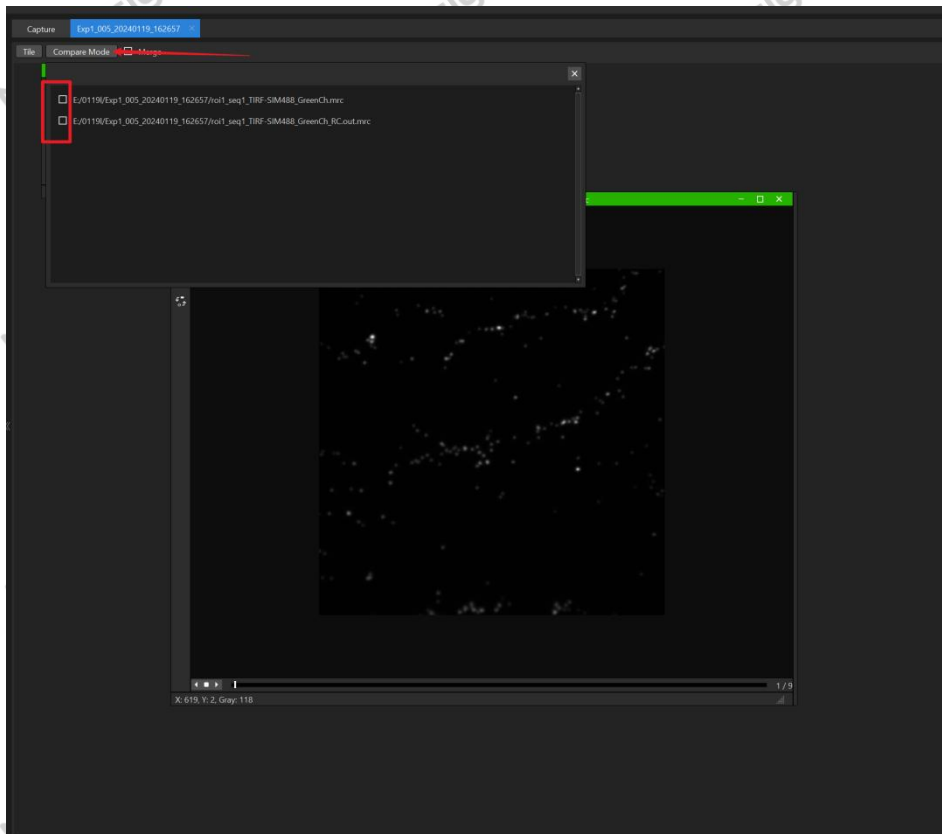
- a) 重建功能使用前需要配置 Python 环境（一般安装的时候会配置），打开 VSIM 软件，File List 点击下方的 Path 配置图像路径，选中实验中的图像文件，在想要重建的文件的右侧勾选框（Recon/Size）进行勾选，同一个实验文件夹下支持多选，多选后一次 process 输出选中图像的重建结果。

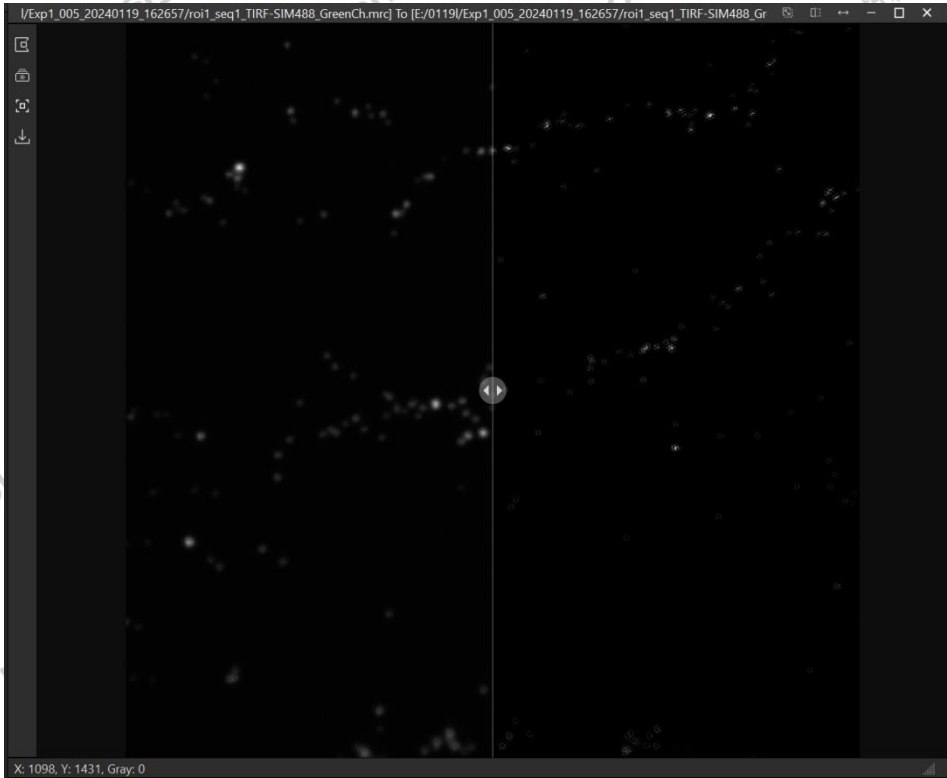


- b) 可依据当前图像的实际情况进行参数调整，点击 Start Processing 按钮后程序开始执行重建或生成宽场任务。



- c) 重建完成后可以在 Image View 中使用 Compare Mode 勾选原始图与重建后的图像查看重建前后的图像，拖动中间对比线可仔细观察原始图像与重建图像的差别。

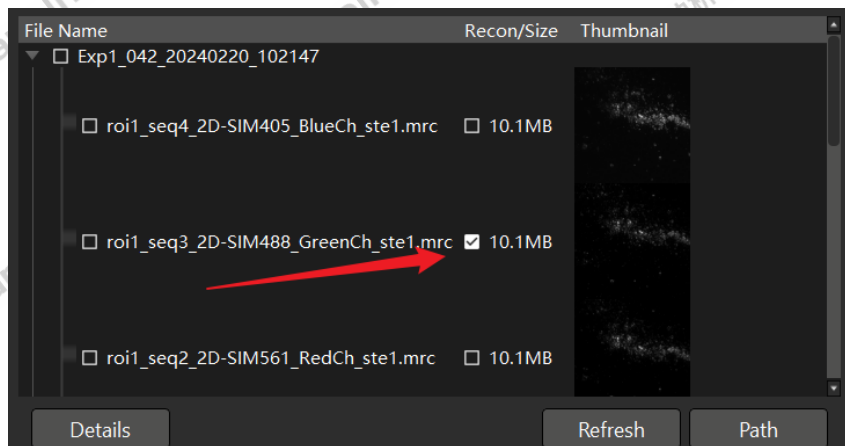




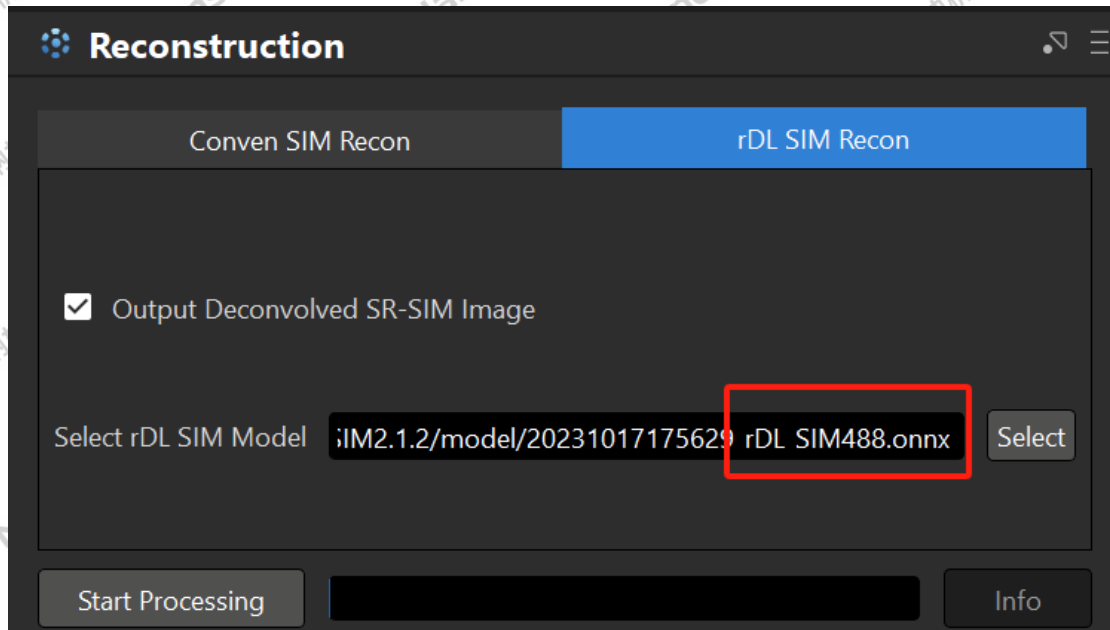
d) 带 SIM 的图像均可进行重建，不带 SIM 的图像无法重建。

## 2.8. rDL SIM 重建功能

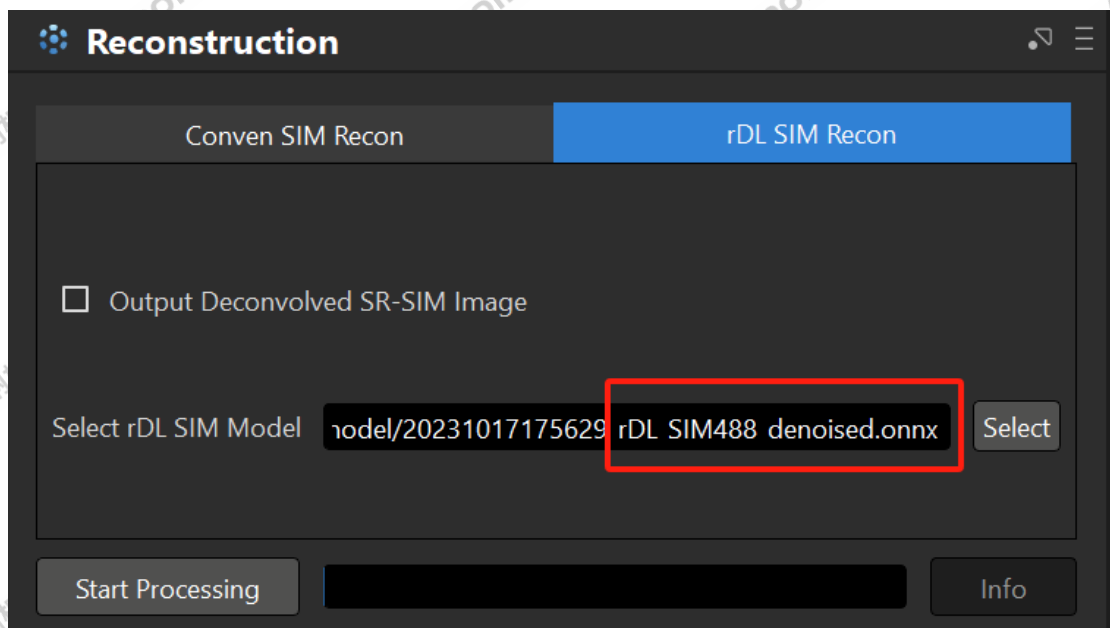
a) 重建功能使用前需要配置 Python 环境（一般安装的时候会配置）和进行 rDL 模型训练（详见 2.9）。File List 点击 Path 配置图像路径，选中实验中的图像文件，在想要重建的文件的右侧勾选框（Recon/Size）进行勾选，然后在 Select rDL SIM Model 选择一个对应的模型，一次只能选一个 onnx 模型，建议在 File List 勾选的文件和 onnx 模型的波长一致（选择不同波长的 onnx 模型会弹出提示，但也可以执行重建）。该模式**无法重建 3D 模态**的数据。







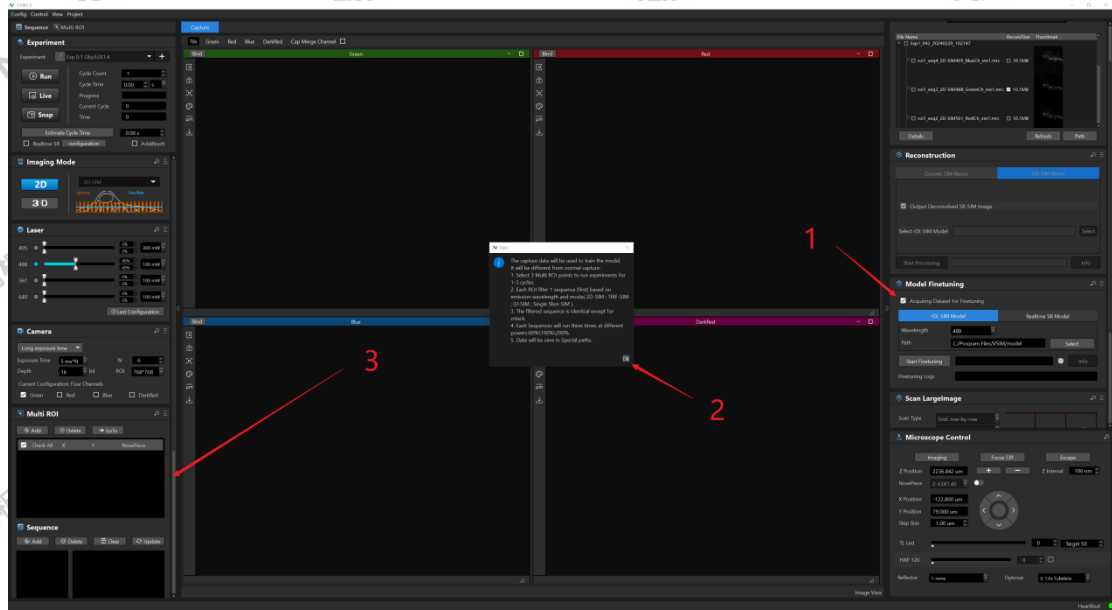
- b) 点击 Start Processing 按钮后程序开始执行重建，先执行传统 SIM 重建然后做去噪和解卷积，输出 SIM 重建图、Denoised 图和 Deconvolved 图各一张，如果已经做了 SIM 重建，那直接做去噪解卷积，输出 Denoised 图和 Deconvolved 图。
- c) 不勾选 Output Deconvolved SR-SIM Image 时，Select rDL SIM Model 只能选择带 denoised 后缀的 onnx 模型，此时执行去噪处理，输出 SIM 重建图和 Denoised 图。



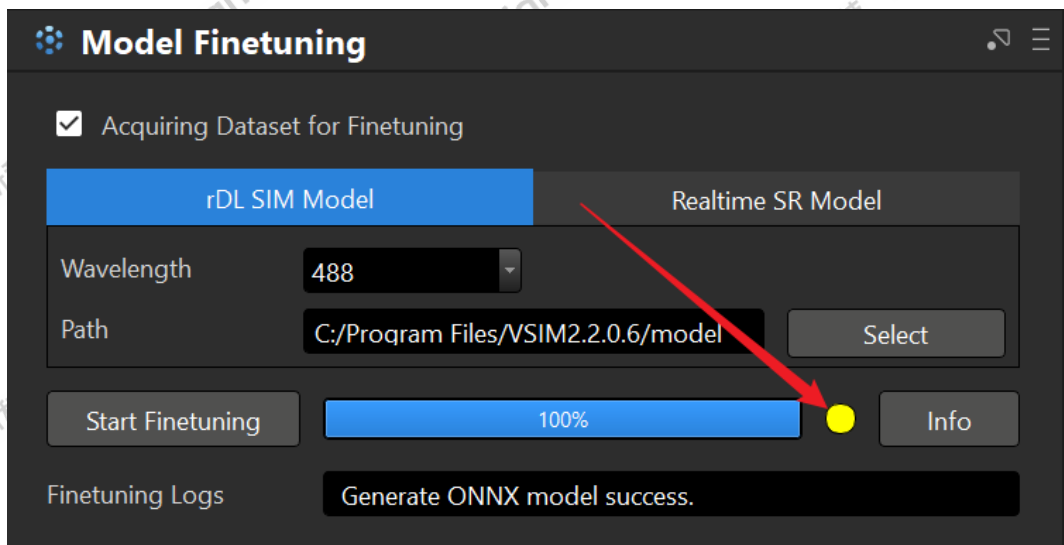
- d) 用户可依据自身需求选择不同的 onnx 模型进行调用。

## 2.9. Model Finetuning 功能

a) 勾选 Acquiring Dataset for Finetuning 后弹出 Tips 和 Multi ROI (需要新建 Experiment)，按 Tips 要求进行 Multi ROI 的添加，点击 Run 进行数据采集。(finetune 采集可以是 1~3 个 cycle，必须是 3 个 ROI，每个 ROI 下 1 个 sequence；每个 ROI 下采集使用的 sequence 参数需要除 Z stack 以外保持一致；sequence 的发射波长与 Wavelength 设置一致；限制的模态：2D-SIM、Single Slice-SIM、TIRF-SIM、High NA GI-SIM、Low NA GI-SIM)。

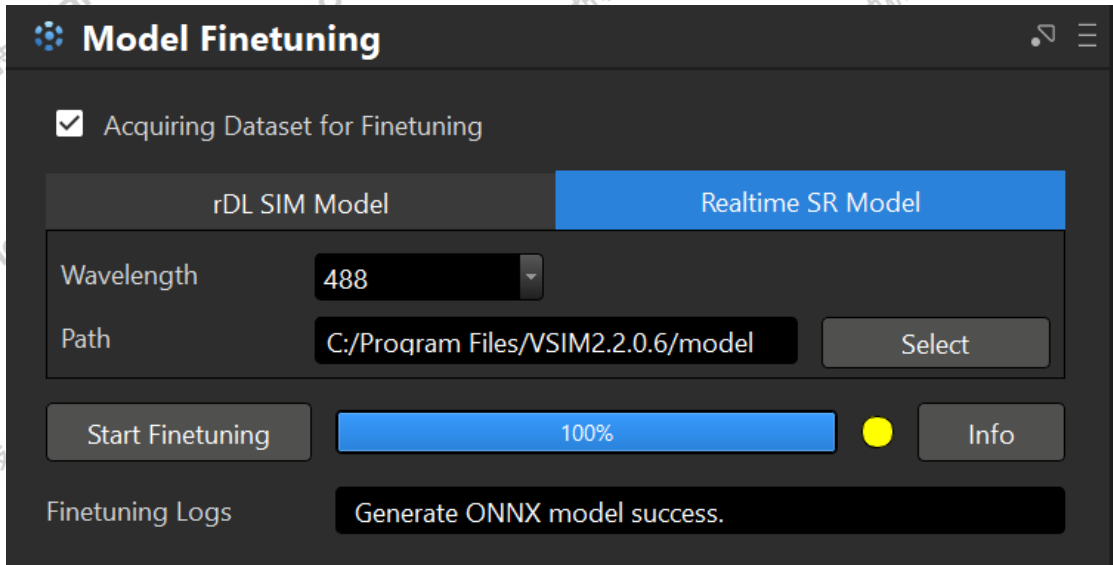


b) 采集的图像默认保存在 Path 设置的路径下，点击 Start Finetuning 执行微调。进度条右边的彩色点在每次 Finetune 结束之后示意本次 finetune 的质量，共有红、黄、绿三种，绿色表示足够好，黄色表示一般，红色表示不行。

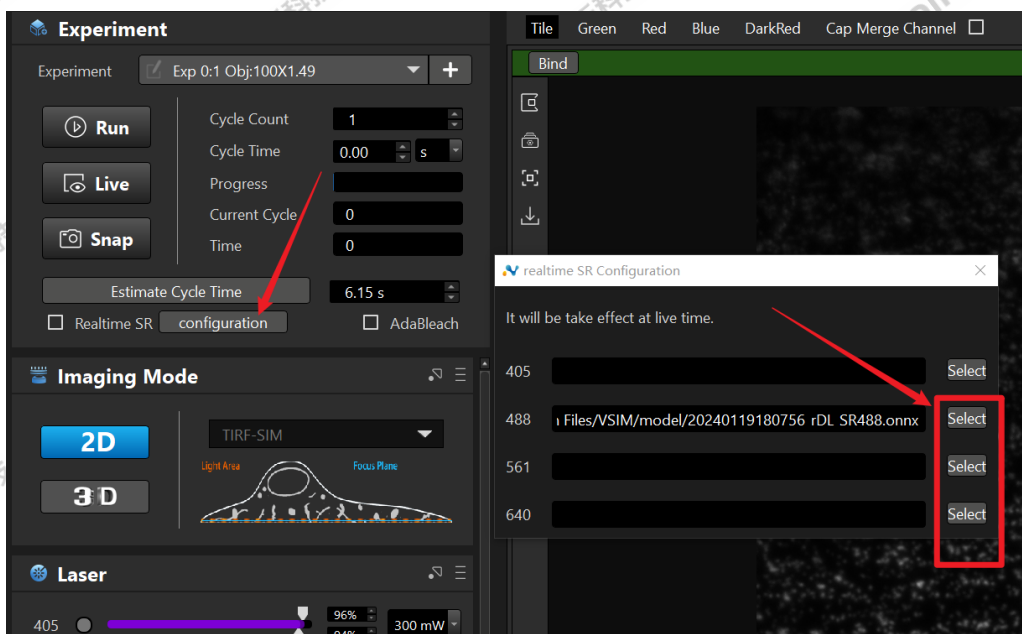


纳析 VSIM 软件 V2.1

- c) rDL SIM Model 和 Realtime SR Model 操作方式基本一致,在采集后点击 Start Finetuning 即可执行微调并生成对应的 onnx 模型。两者可共用一组采集的数据 (先采集一次数据, 然后分别执行 rDL SIM Model 和 Realtime SR Model 的 Start Finetuning)。



- d) 一次只能训练一个波长的 onnx 模型, 按需要改变 Wavelength 和 Multi ROI 参数, 选择不同激光波长进行数据采集, 然后执行 Start Finetuning。
- e) rDL SIM Recon 调用 rDL SIM Model 的模型 (详见 2.8)。
- f) 【Experiment】区域勾选 Realtime SR, 在 Live 时会进行 Live 重建, 调用 Realtime SR Model 的模型, 可以在【Experiment】区域的 Configuration 进行调用模型的设置。



纳析 VSIM 软件 V2.1

g) 用户依据自身需求选择不同的细胞进行训练并生成不同的 onnx 模型，按需要进行调用，onnx 模型可依据自己的需求修改文件名称，但修改名称时必须保留一定长度的后缀，**红框内的文字不能修改**，可修改前面的时间字段。

Exp1_458_20231106_165829	2023/12/1 11:09	文件夹	
Exp1_573_20231113_091347	2023/12/1 11:09	文件夹	
20231106165836_rDL_SIM488.onnx	2023/11/6 17:05	ONNX 文件	10,586 KB
20231106165836_rDL_SIM488_denoised.onnx	2023/11/6 17:05	ONNX 文件	5,293 KB
20231106170548_rDL_SR488.onnx	2023/11/6 17:07	ONNX 文件	5,572 KB
20231113091357_rDL_SIM488.onnx	2023/11/13 9:21	ONNX 文件	10,586 KB
20231113091357_rDL_SIM488_denoised.onnx	2023/11/13 9:21	ONNX 文件	5,293 KB
20231113092118_rDL_SR488.onnx	2023/11/13 9:23	ONNX 文件	5,572 KB
20231106165836_rDL_SIM488_finetune_info.txt	2023/11/6 17:05	文本文档	20 KB
20231106165836_rDL_SIM488_finetune_log.txt	2023/11/6 17:11	文本文档	3 KB