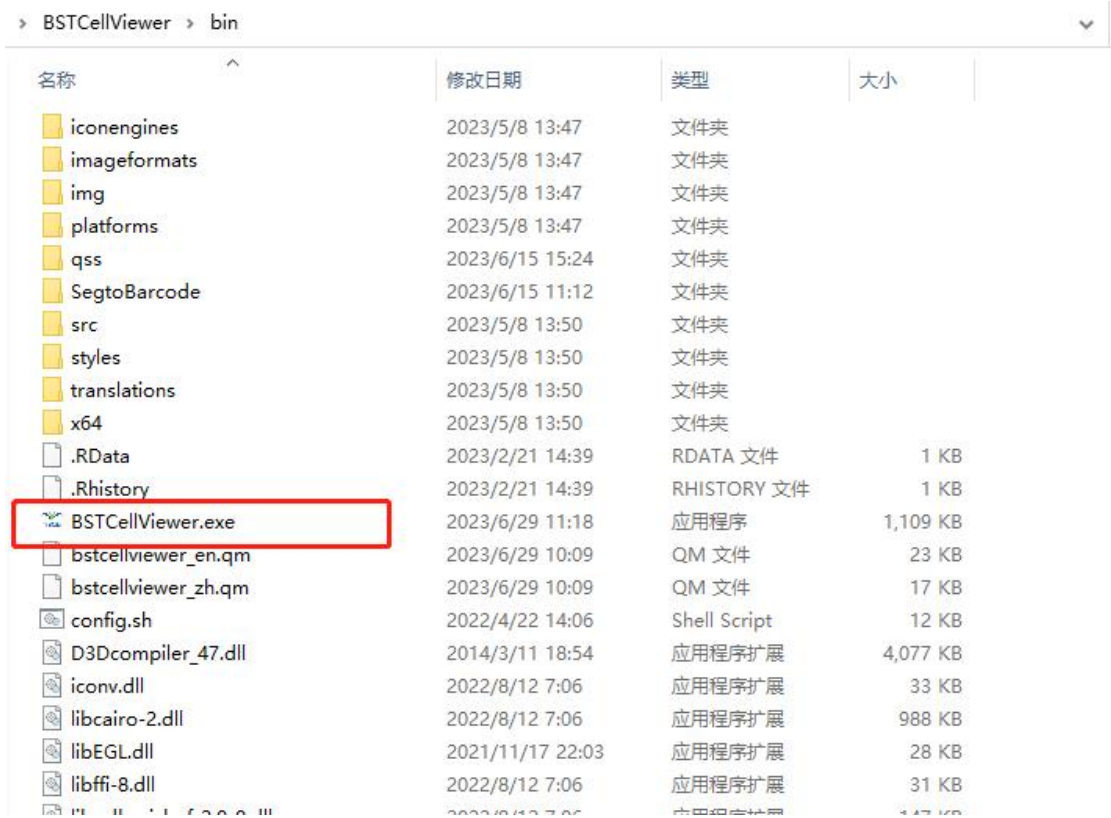


操作说明

一、软件概括

软件可执行文件 BSTCellViewer.exe 在 ./BSTCellViewer/bin 目录下，双击打开后使用。如下图所示：



名称	修改日期	类型	大小
iconengines	2023/5/8 13:47	文件夹	
imageformats	2023/5/8 13:47	文件夹	
img	2023/5/8 13:47	文件夹	
platforms	2023/5/8 13:47	文件夹	
qss	2023/6/15 15:24	文件夹	
SegtoBarcode	2023/6/15 11:12	文件夹	
src	2023/5/8 13:50	文件夹	
styles	2023/5/8 13:50	文件夹	
translations	2023/5/8 13:50	文件夹	
x64	2023/5/8 13:50	文件夹	
.RData	2023/2/21 14:39	RDATA 文件	1 KB
.Rhistory	2023/2/21 14:39	RHISTORY 文件	1 KB
BSTCellViewer.exe	2023/6/29 11:18	应用程序	1,109 KB
bstcellviewer_en.qm	2023/6/29 10:09	QM 文件	23 KB
bstcellviewer_zh.qm	2023/6/29 10:09	QM 文件	17 KB
config.sh	2022/4/22 14:06	Shell Script	12 KB
D3Dcompiler_47.dll	2014/3/11 18:54	应用程序扩展	4,077 KB
iconv.dll	2022/8/12 7:06	应用程序扩展	33 KB
libcairo-2.dll	2022/8/12 7:06	应用程序扩展	988 KB
libEGL.dll	2021/11/17 22:03	应用程序扩展	28 KB
libffi-8.dll	2022/8/12 7:06	应用程序扩展	31 KB
libfontconfig-1.dll	2022/8/12 7:06	应用程序扩展	147 KB

软件可以通过自动分割、手动分割两种方式进行细胞分割，并可以对细胞区域进行全局聚类，局部聚类。左侧 FILE、ROI、CELL、CLUSTER、TOOLS 为功能区，右侧为图像显示区域。

硬件要求：

Windows 10 (64-bit)

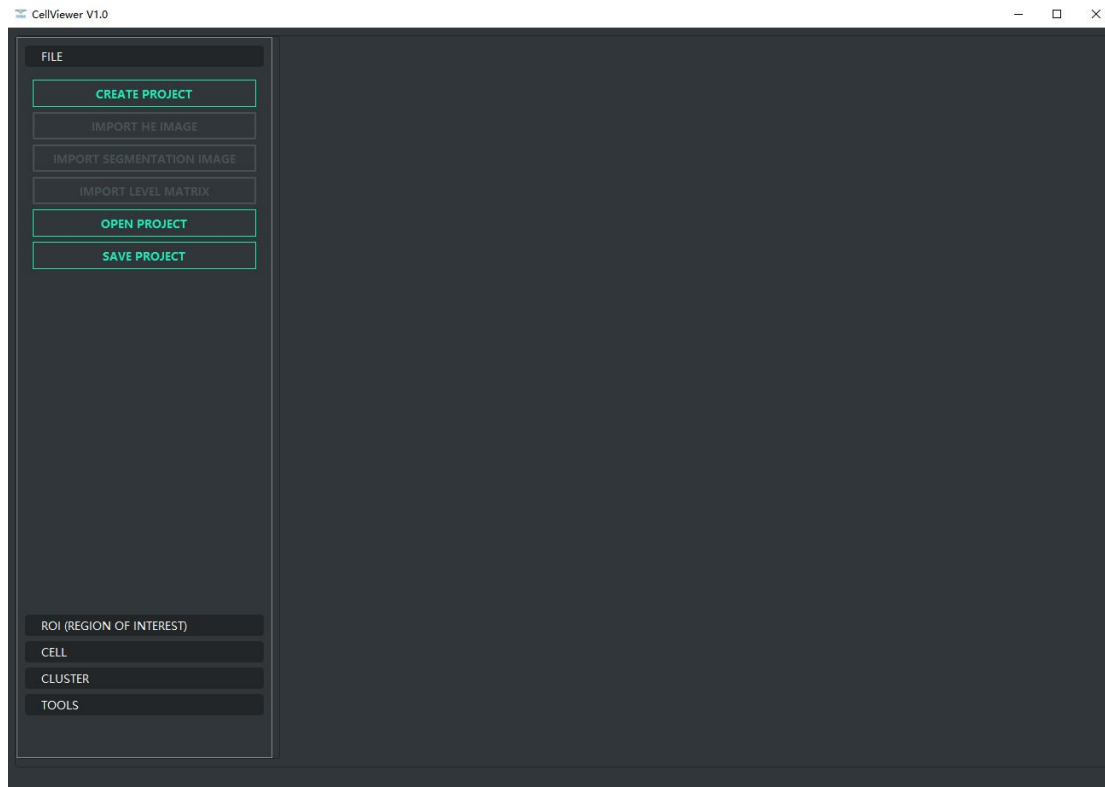
32G RAM

强烈推荐 SSD

强烈推荐 NVIDIA 独立显卡

二、具体功能和操作介绍

1、FILE 功能区



该功能区可以创建新项目或打开已有项目。按钮功能如下：

CREATE PROJECT 按钮：创建新项目。

IMPORT HE IMAGE 按钮：导入 HE 图像。

IMPORT SEGMENTATION IMAGE 按钮：导入细胞分割图像。

IMPORT LEVEL MATRIX 按钮：导入矩阵文件。

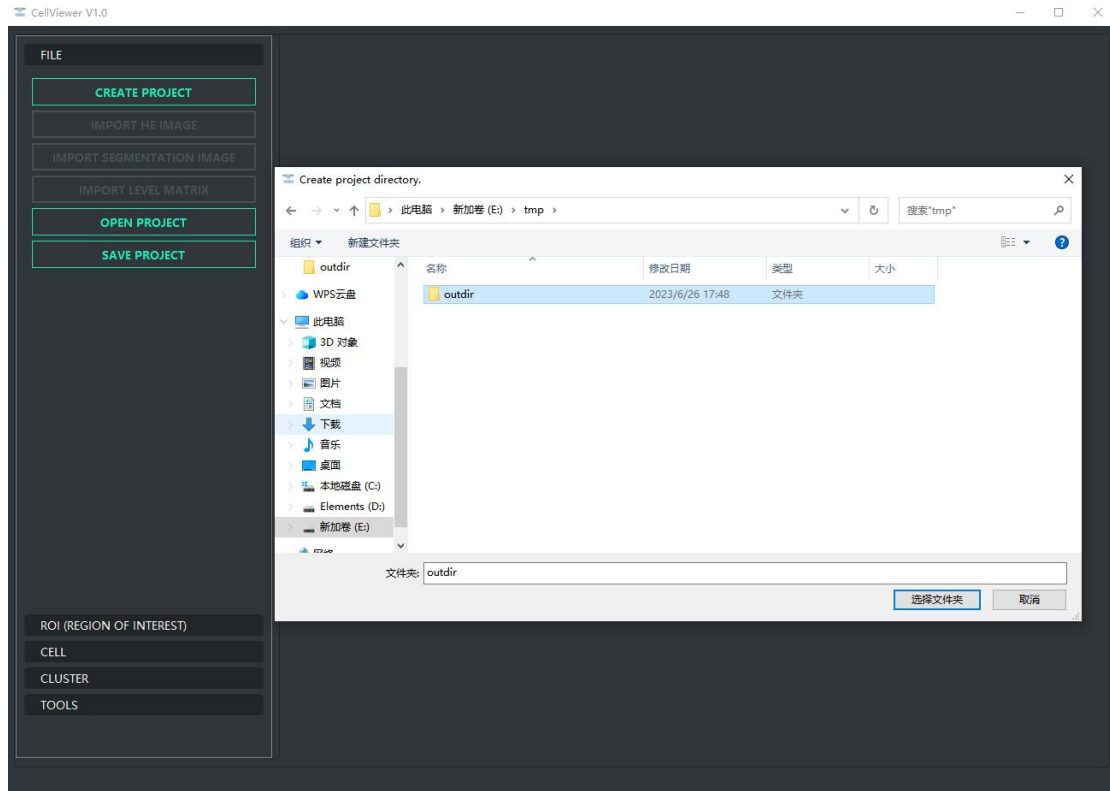
OPEN PROJECT 按钮：打开项目。

SAVE PROJECT 按钮：保存项目。

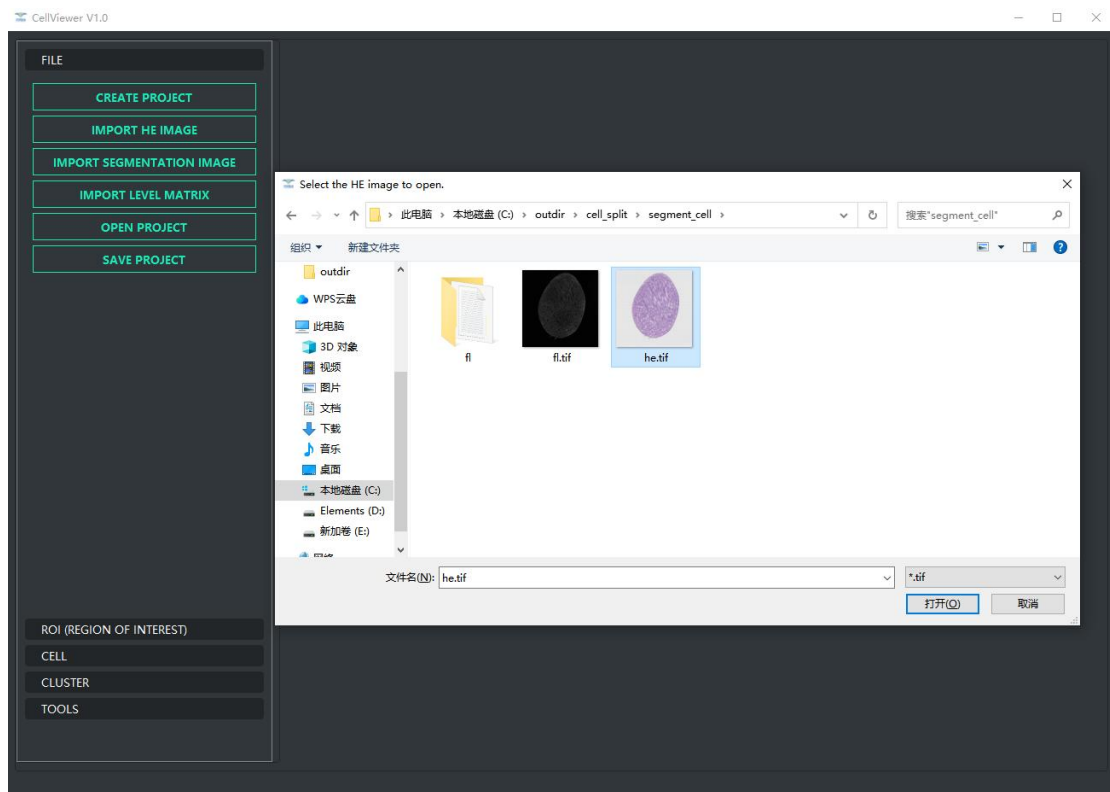
常用操作流程主要有下面的 1.1 和 1.2 两种，一种是创建一个新项目，另一种就是打开一个已经创建好的项目。

1.1 创建新项目流程

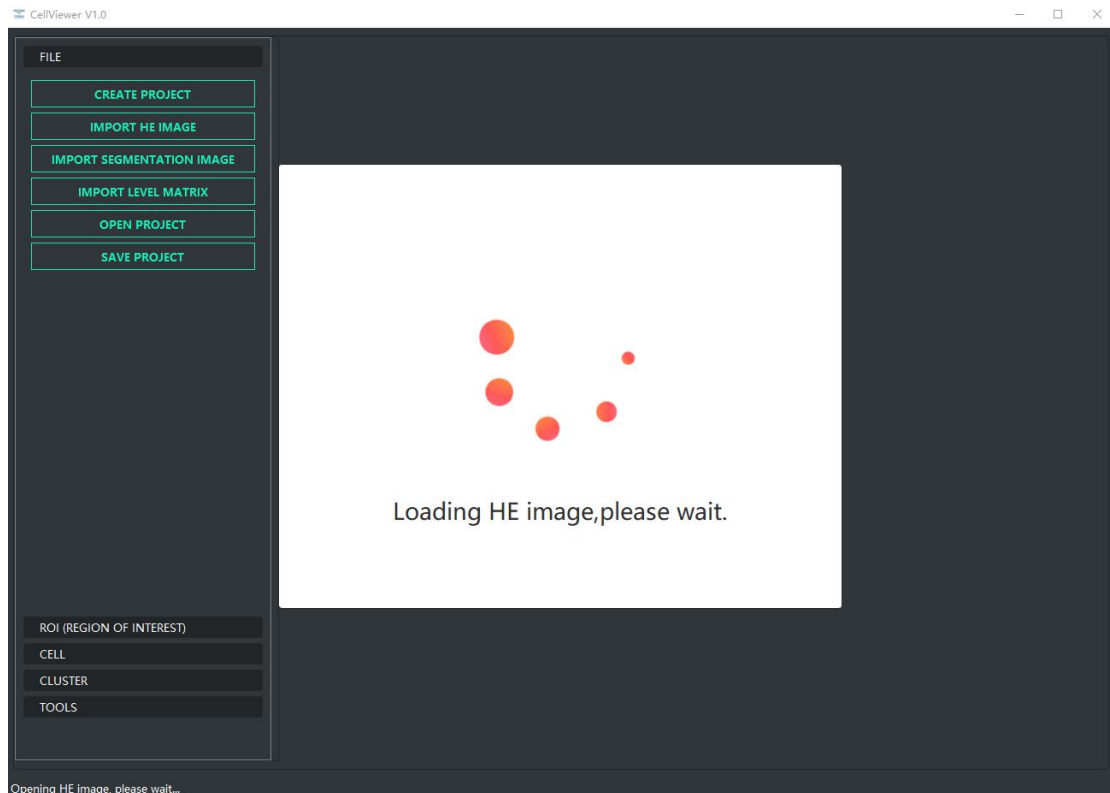
第一步：首先鼠标左键单击 CREATE PROJECT 按钮，然后在弹出的对话框中创建文件夹（此处示例是 outdir），接着选中 outdir 文件夹，最后单击对话框右下角的选择文件夹按钮。



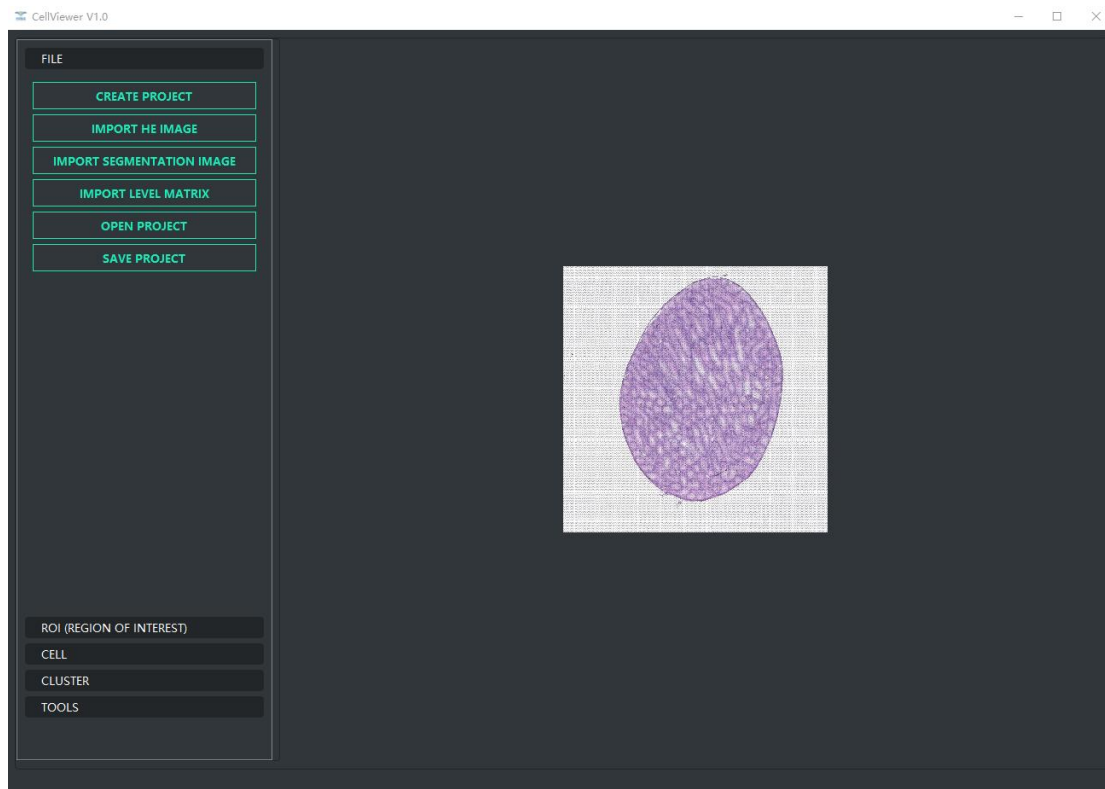
第二步：鼠标左键单击 **IMPORT HE IMAGE** 按钮，在弹出的对话框中找到并选中要导入的 HE 图像，然后点击对话框右下角的打开按钮。



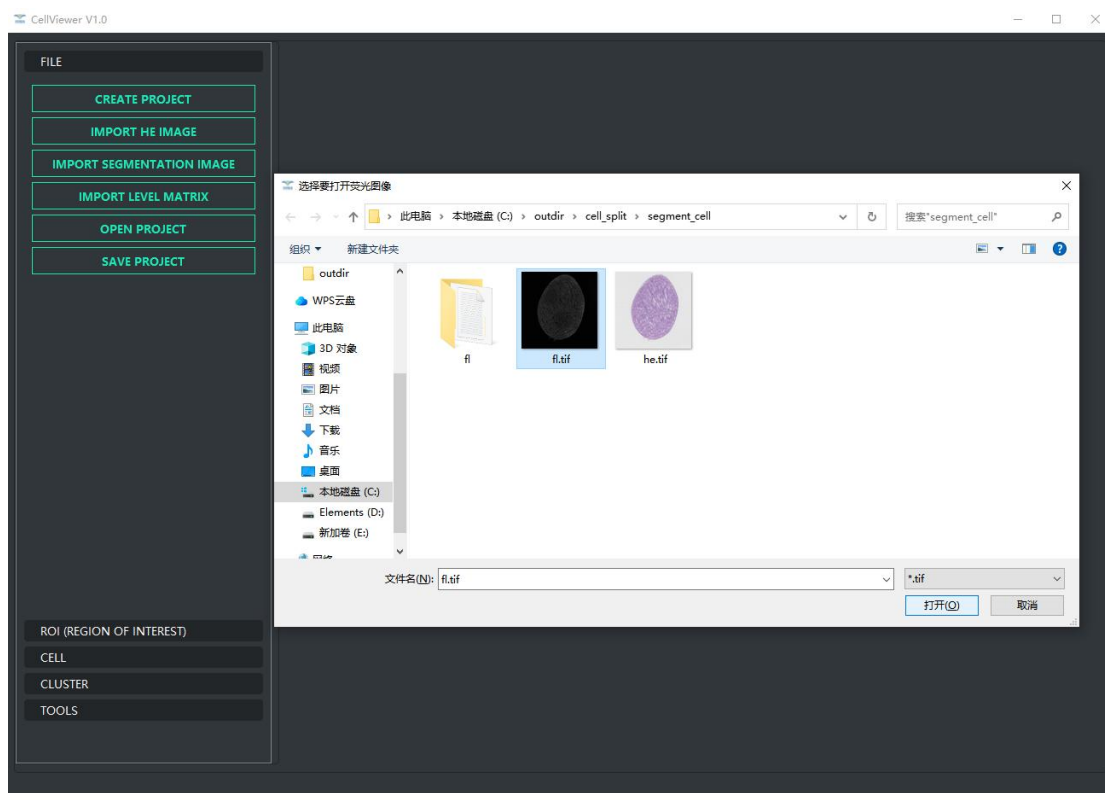
读取图片过程中会显示下图：



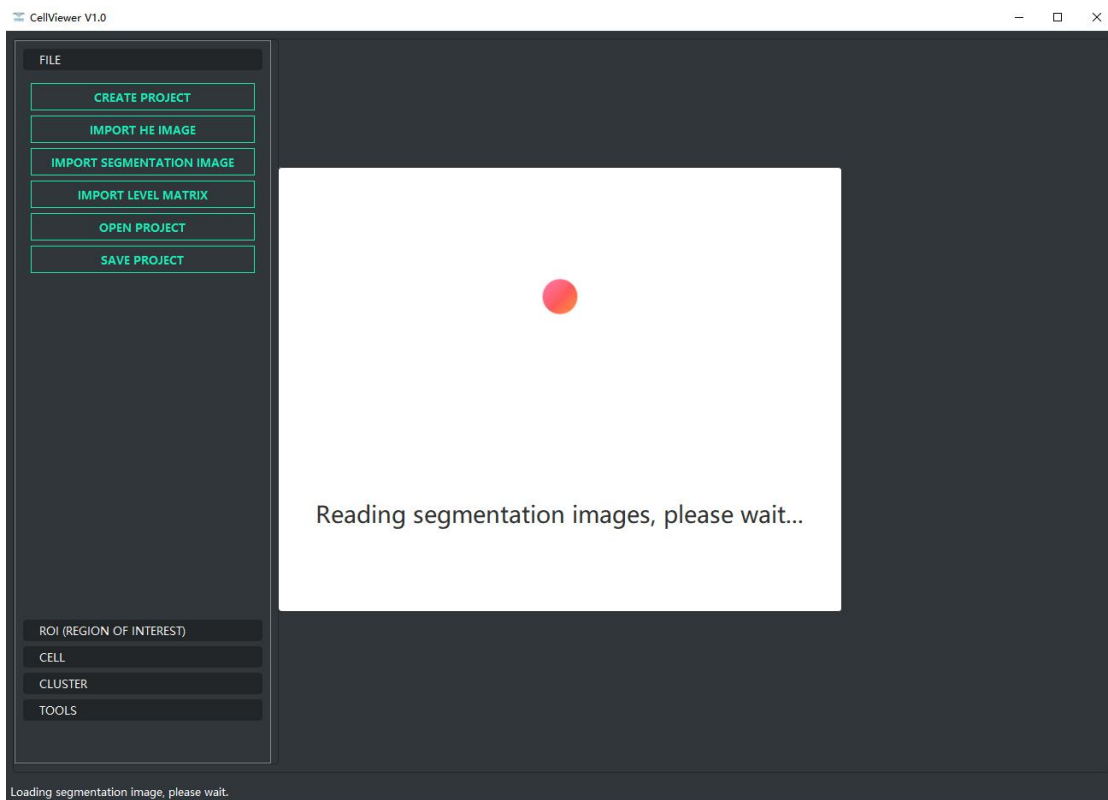
打开后显示如下图：



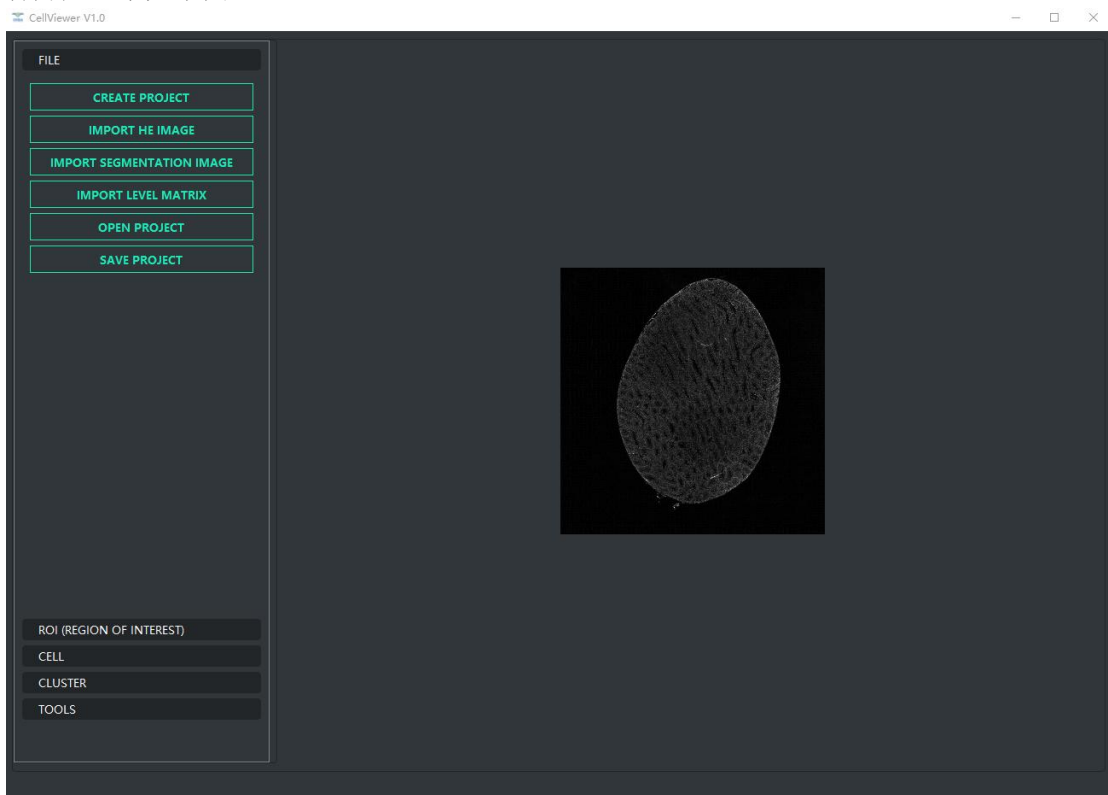
第三步：鼠标左键单击 **IMPORT SEGMENTATION IMAGE** 按钮，然后在弹出的对话框中找到并选中要导入的细胞分割图像，最后点击对话框右下角的打开按钮。



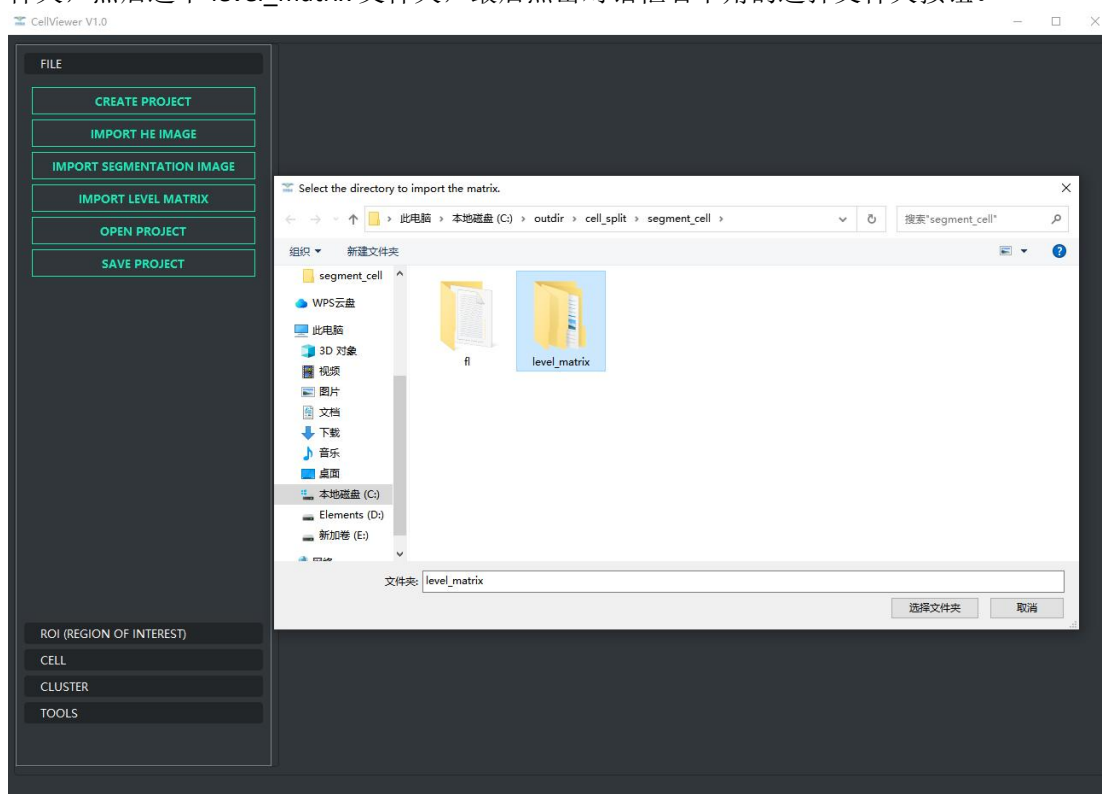
读取图片过程中会显示下图：



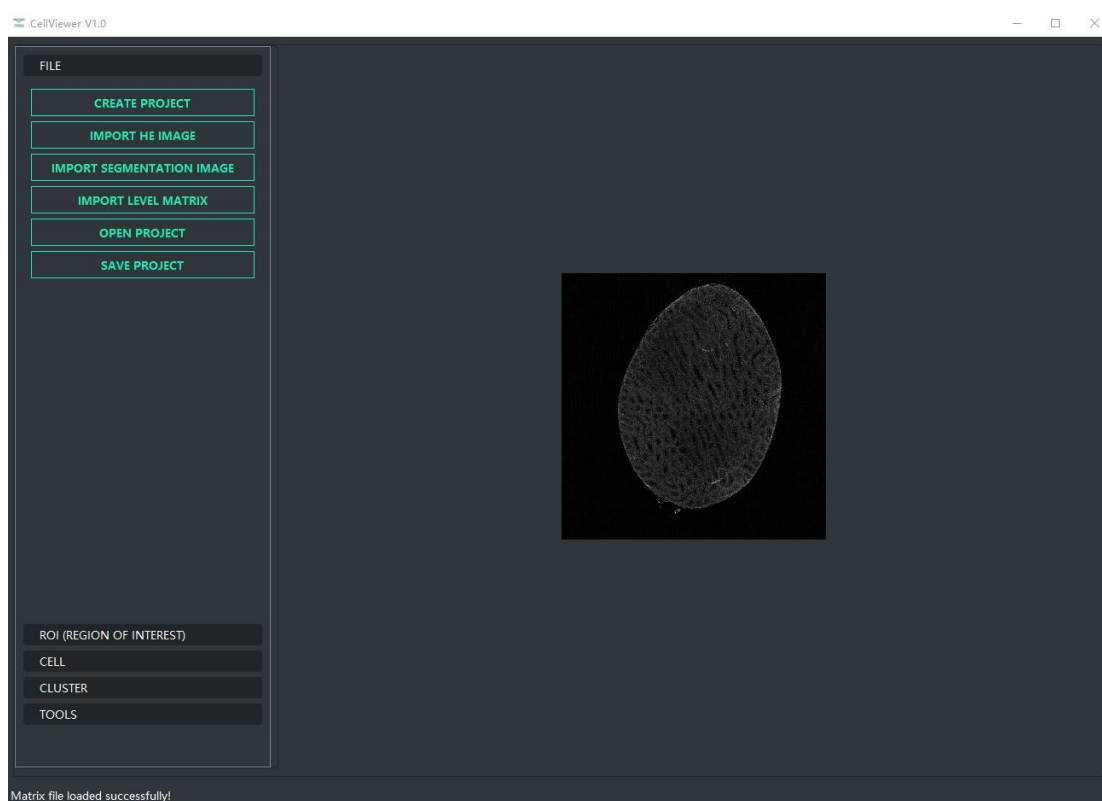
打开后显示如下图：



第四步：鼠标左键单击 **IMPORT LEVEL MATRIX** 按钮，在弹出的对话框中找到 **level_matrix** 文件夹，然后选中 **level_matrix** 文件夹，最后点击对话框右下角的选择文件夹按钮。



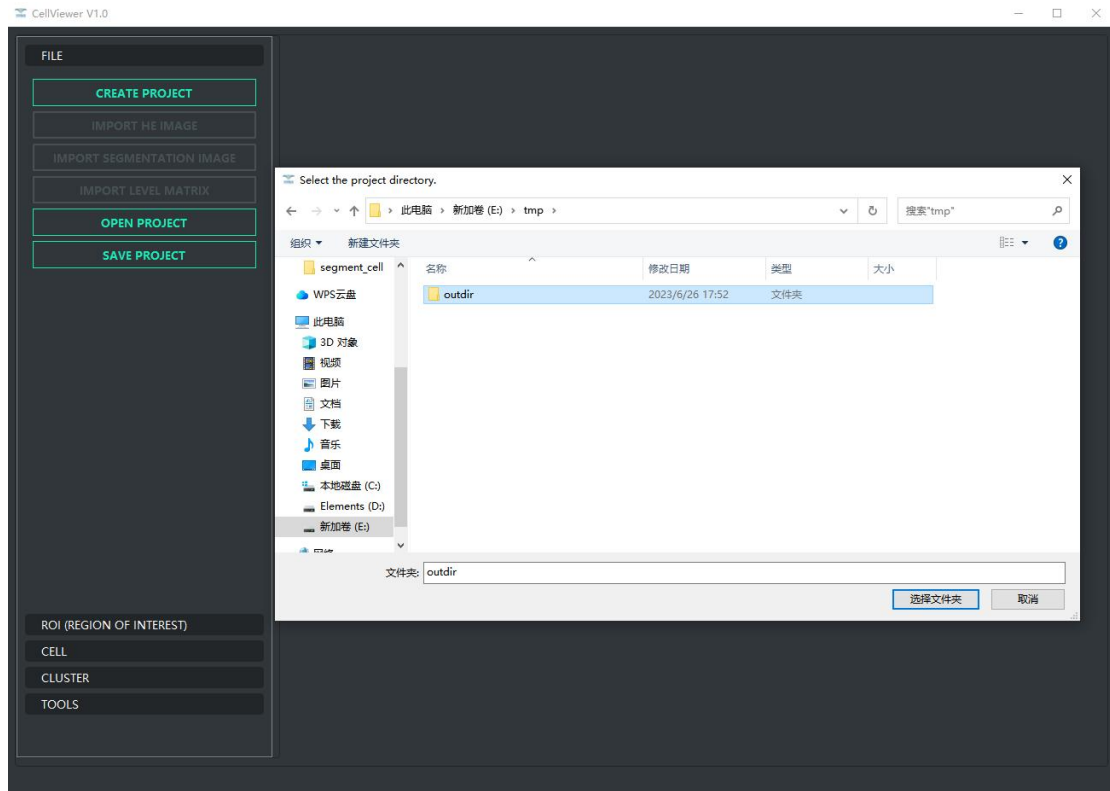
导入成功后在左下角状态栏显示 **Matrix file loaded successfully!** 如下图所示：



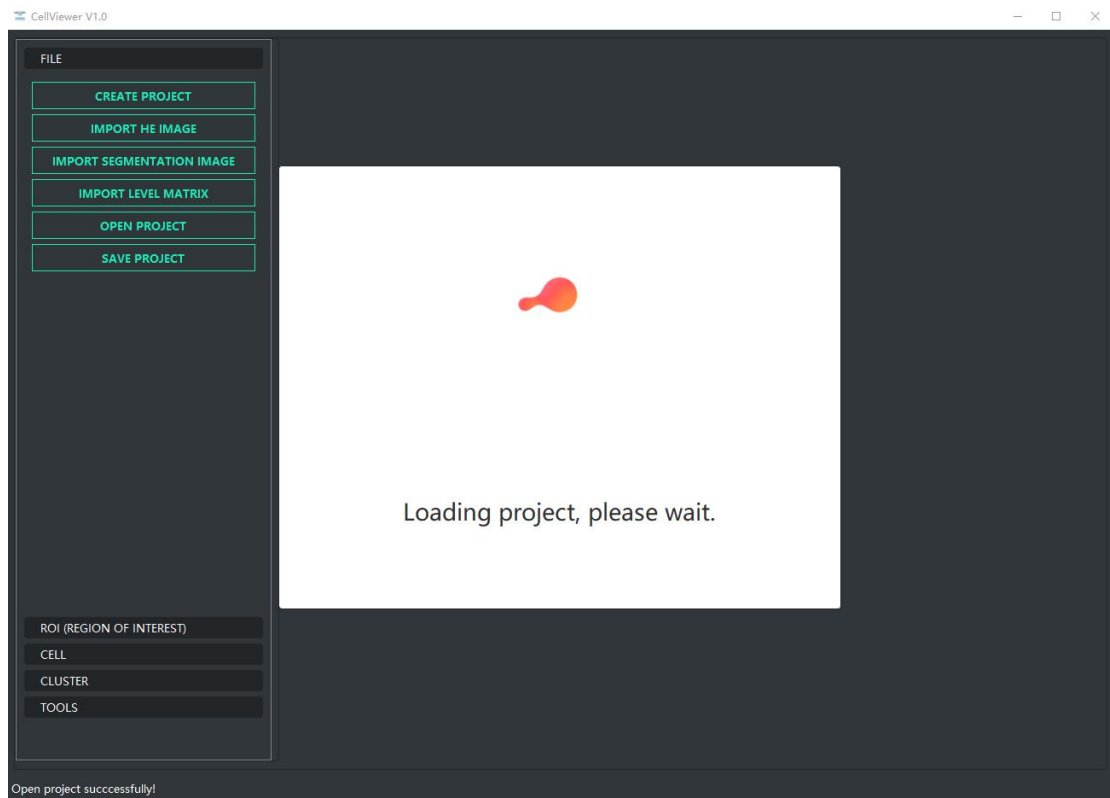
完成上述四步之后，已创建项目完成，可进行其他功能区的操作。

1.2 打开已有项目

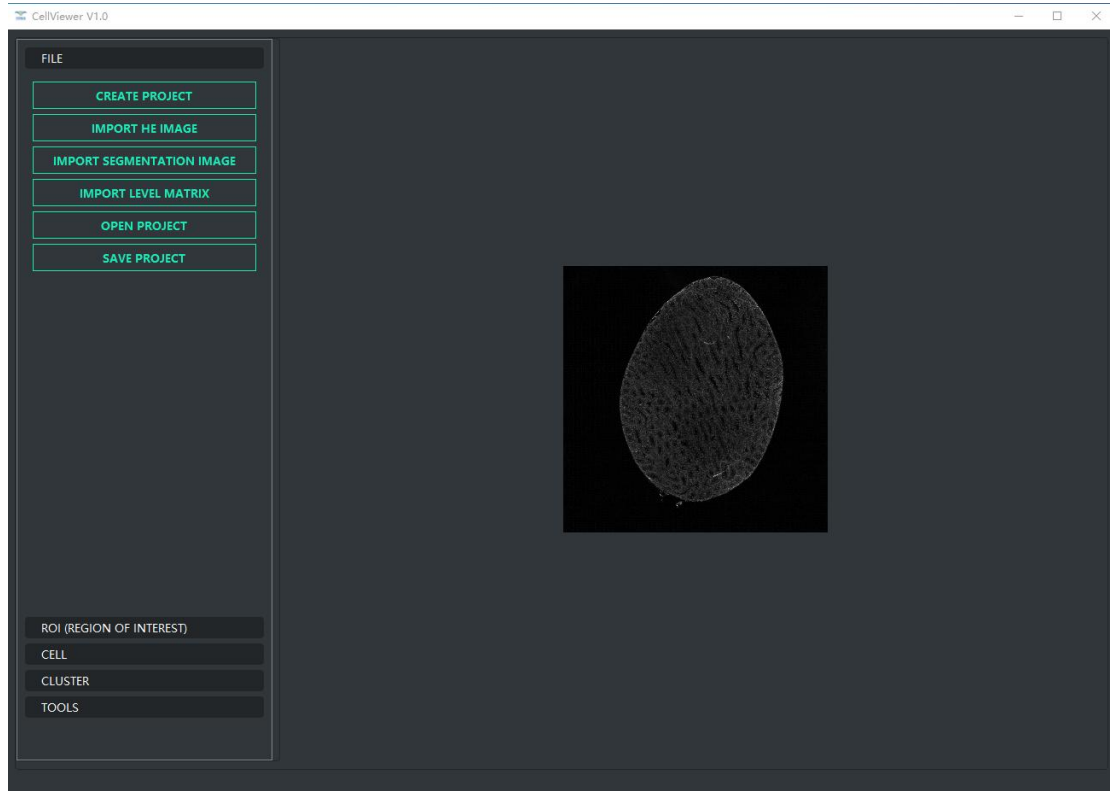
第一步：鼠标左键点击 **OPEN PROJECT** 按钮，然后在弹出的对话框中找到并选中要打开的项目（此处为 **outdir**），最后点击对话框右下角的选择文件夹按钮。如下图所示：



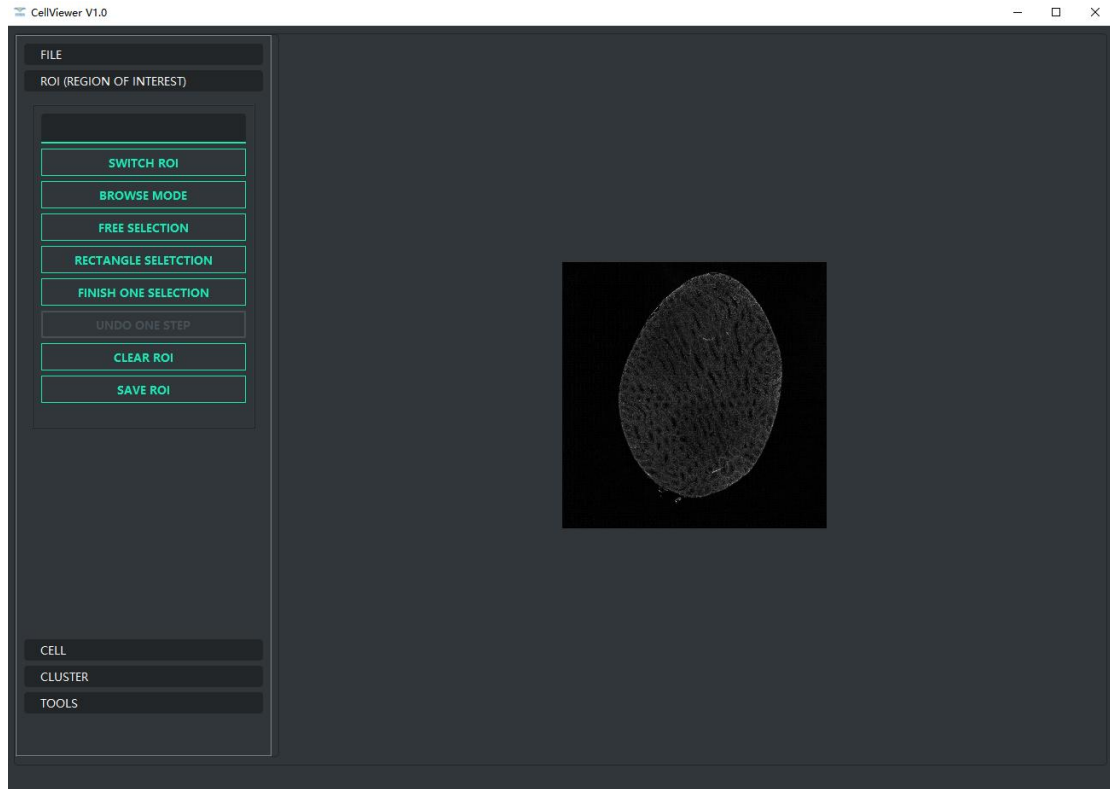
打开过程中如图：



项目打开成功后显示细胞分割图像，如下图所示：



2、ROI 功能区



该功能区用来进行选择细胞分割的区域。按钮功能如下：

SWITCH ROI 按钮：切换 roi 显示。

BROWSE MODE 按钮：设置为浏览模式。单击后退出绘制模式（自由选择模式和矩形选择模式），之后不能继续绘制 roi。

FREE SELECTION 按钮：设置为自由选择模式。之后可以按住鼠标左键在图像上拖动来绘制 roi 区域。

RECTANGLE SELECTION 按钮：设置为矩形选择模式。之后可以按住鼠标左键在图像上拖动来绘制矩形 roi 区域。

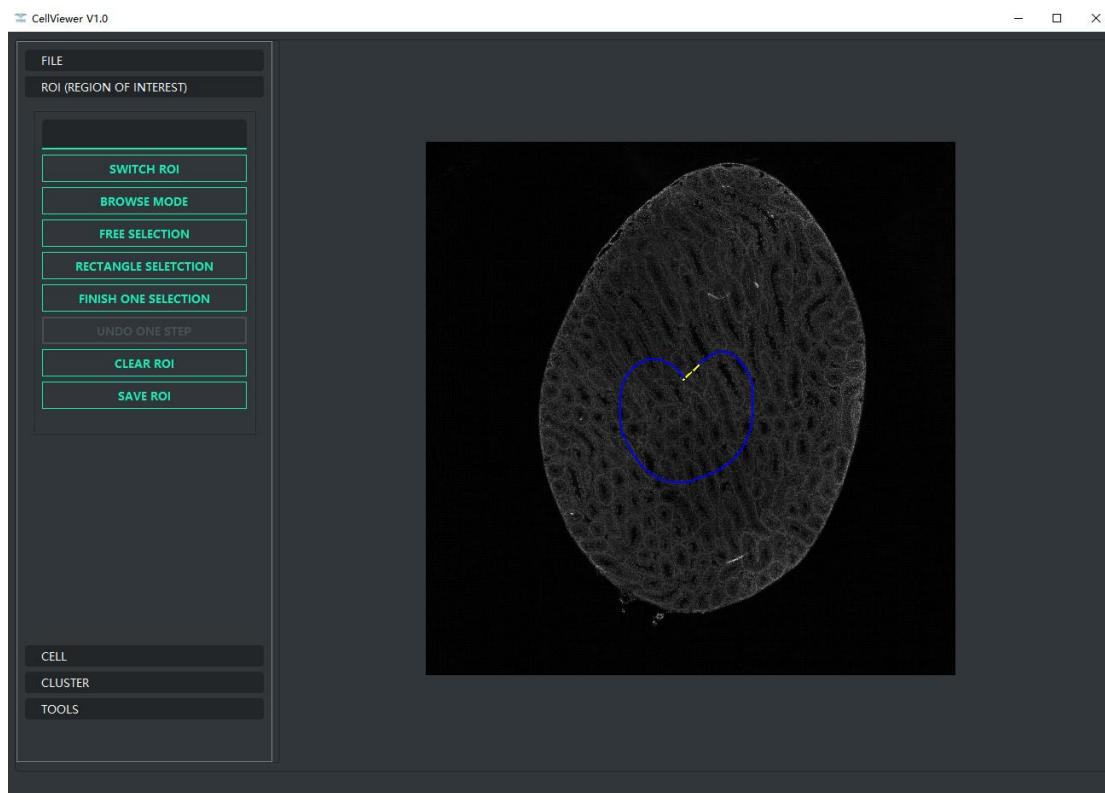
FINISH ONE SELECTION 按钮：结束一次选择。会将本次绘制的线条首尾相连，不能继续修改本次绘制的线条。

CLEAR ROI 按钮：清空图像上显示的 roi。

SAVE ROI 按钮：保存当前图像中显示的 roi。

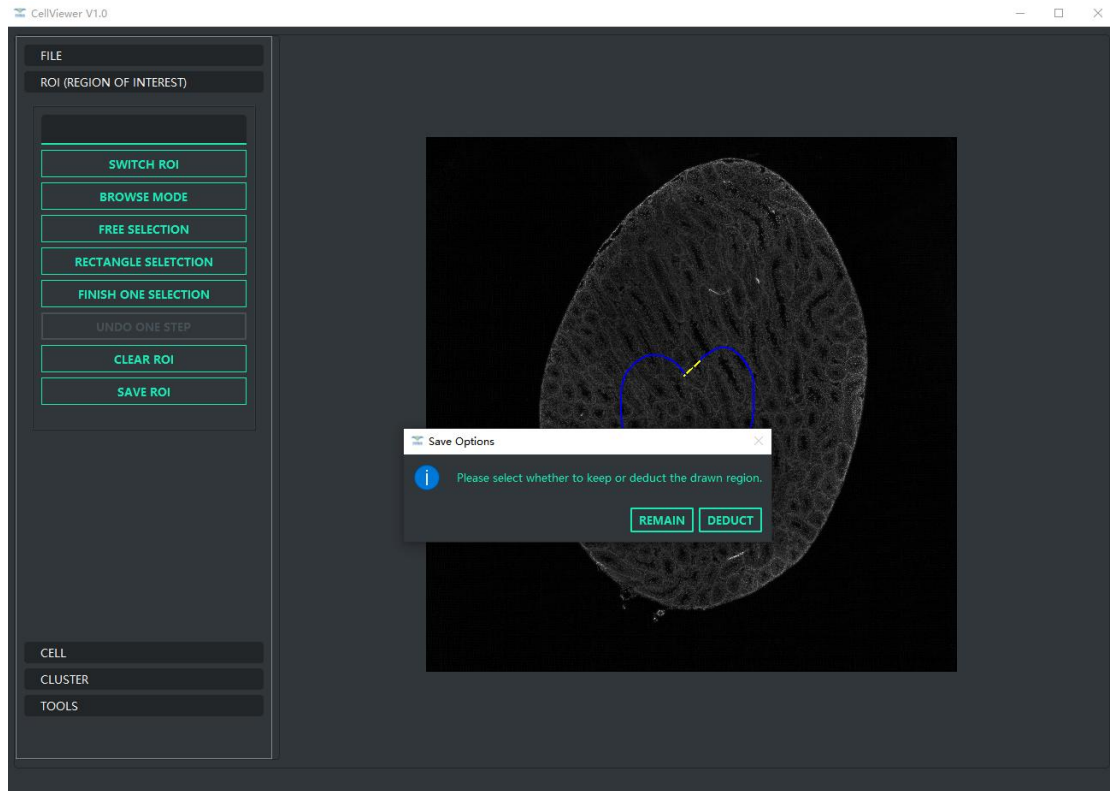
示例：

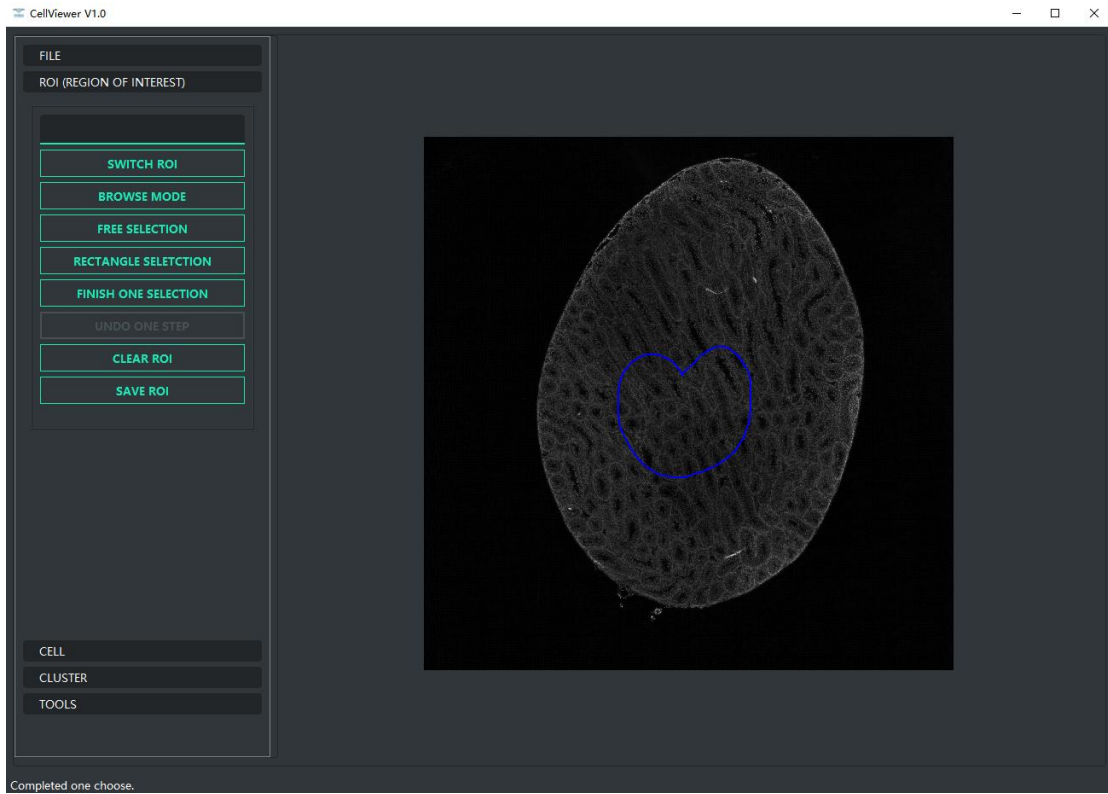
鼠标左键单击 **FREE SELECTION** 按钮后，在图像中按下鼠标左键拖动，直到把要选择区域全部包含在内为止，如下图所示，拖动出一个心形区域。



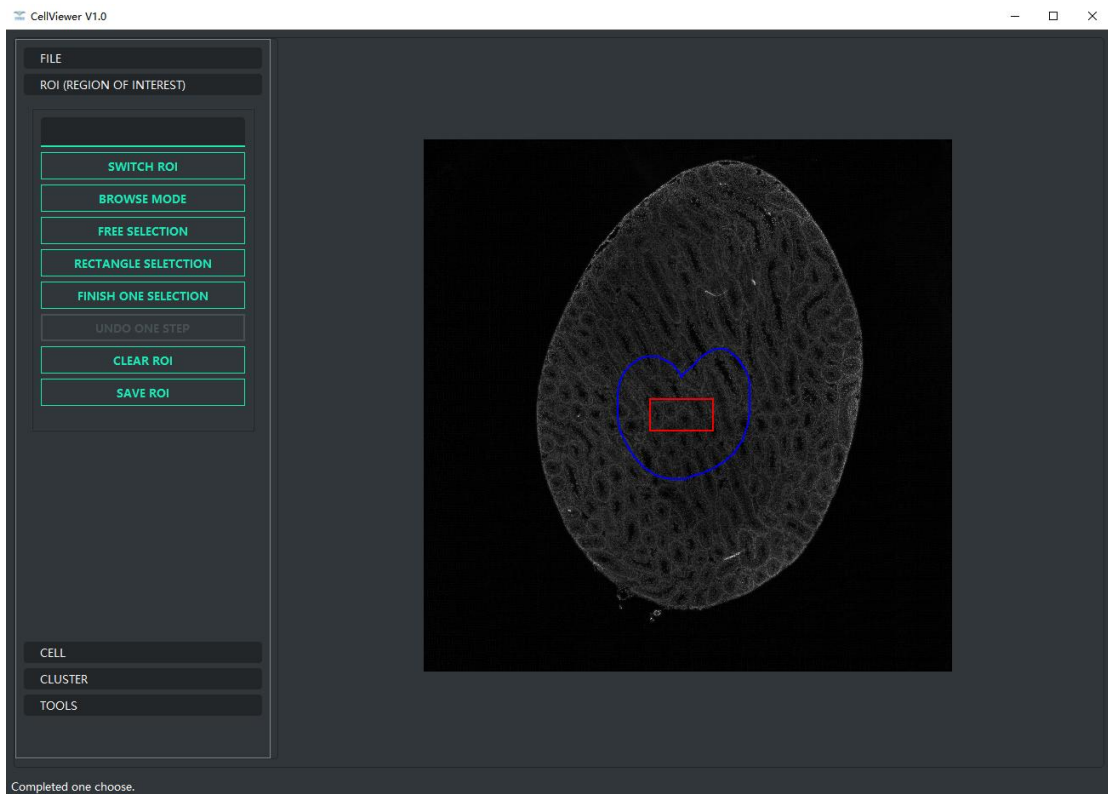
如果绘制区域有误，可以单击鼠标右键即可消除本次绘制区域；如果本次绘制有效，则鼠标左键单击 **FINISH ONE SELECTION** 按钮，然后弹出 **Save Options** 对话框，如果该绘制区域是作为保留区域，则左键单击 **REMAIN** 按钮，线条末尾会自动连接，显示为蓝色线条；如果该绘制区域是作为扣除区域，则左键单击 **DEDUCT** 按钮，线条末尾会自动链接，显示为红色线条。

示例中本次绘制有效，点击 **REMAIN** 按钮后如下图：

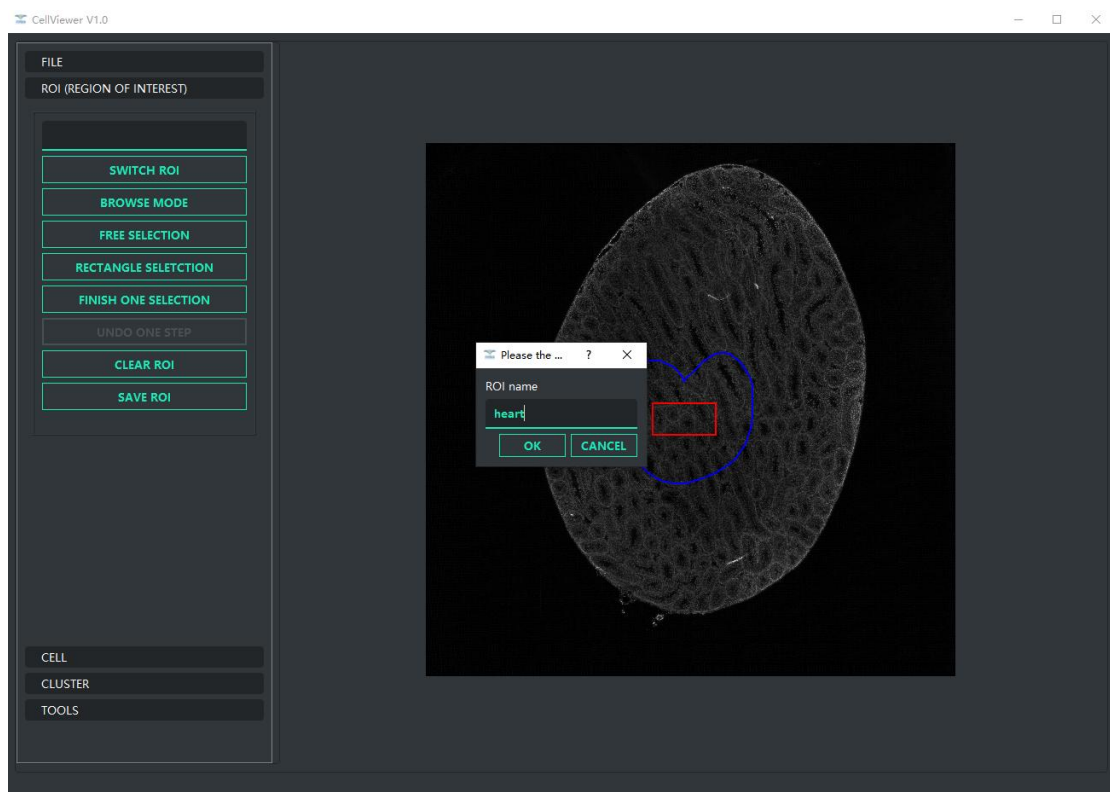
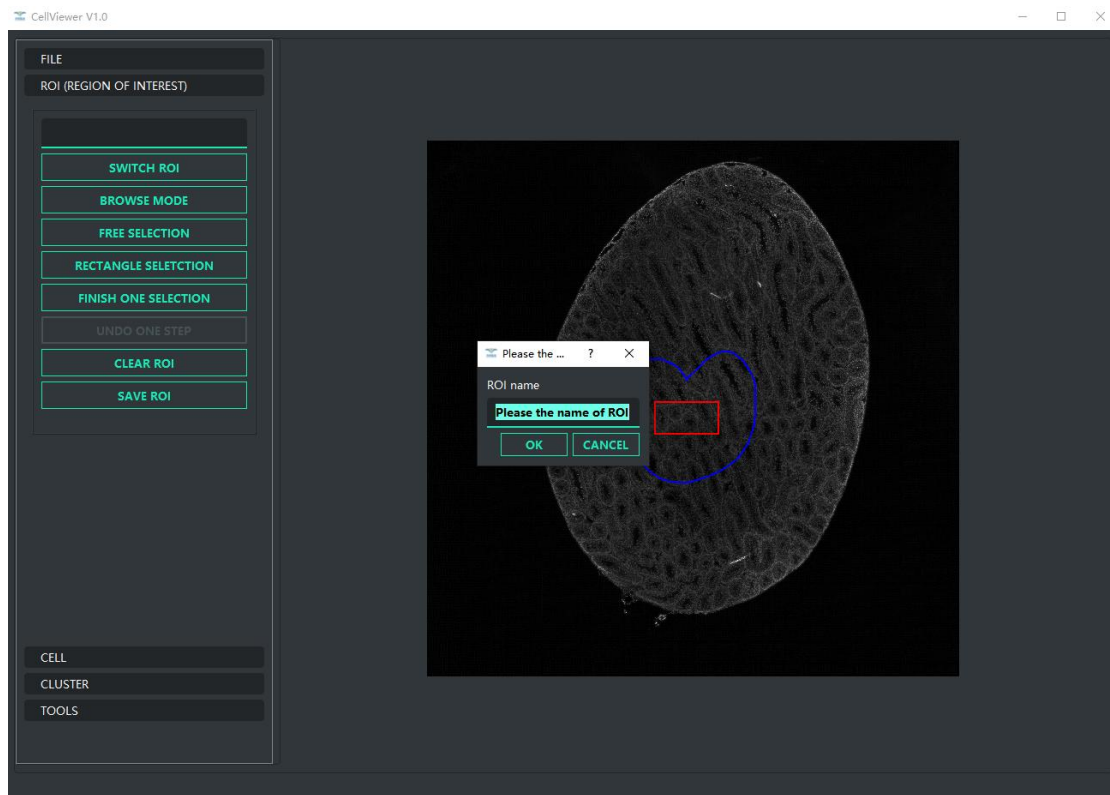


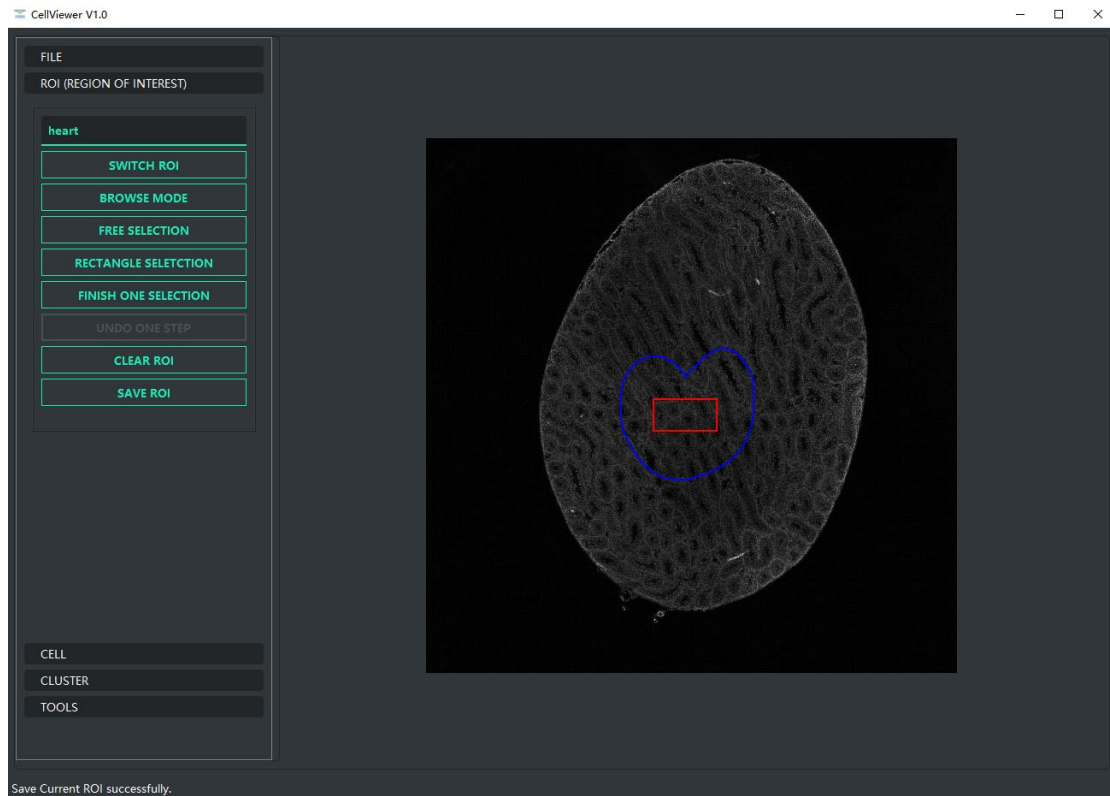


在心形区域内扣除一个矩形区域：左键单击 **RECTANGLE SELECTION** 按钮，之后按住左键在心形内部拖动出一个矩形，然后左键单击 **FINISH ONE SELECTION** 按钮，在弹出 **Save Options** 对话框中左键单击 **DEDUCT** 按钮。完成后显示如下图所示：

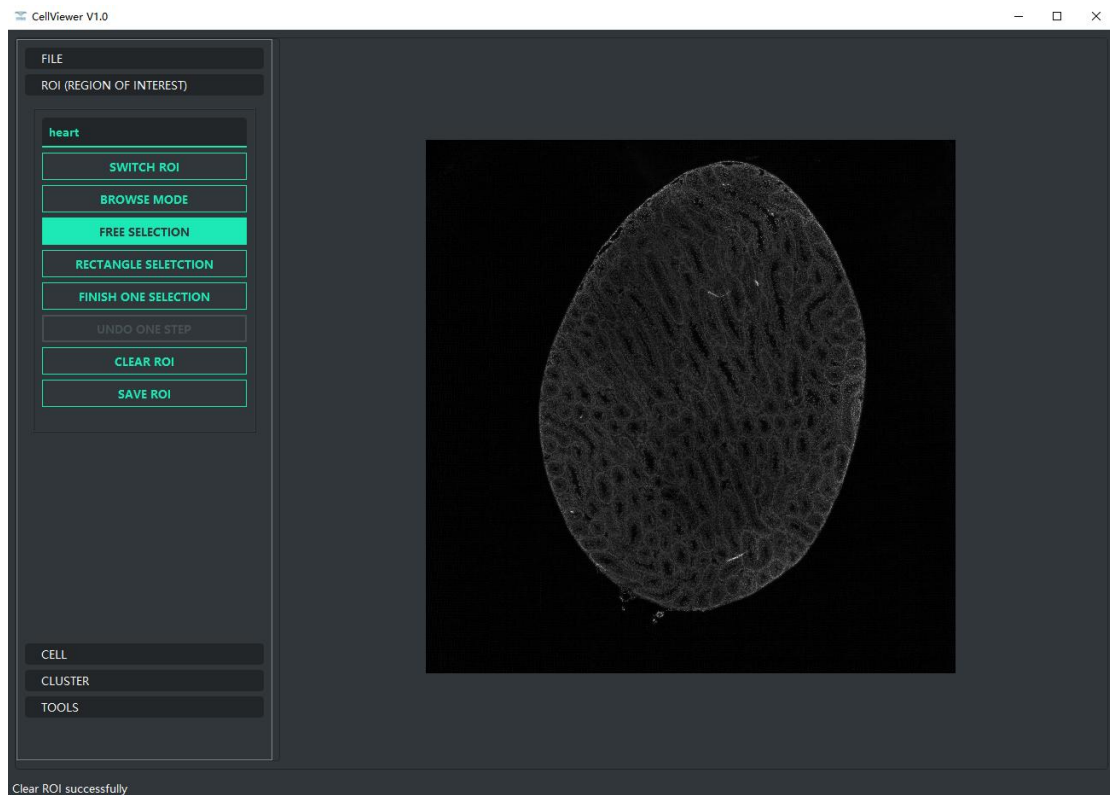


绘制完成后保存整个区域：左键单击 **SAVE ROI** 按钮，然后输入 **roi** 名称，示例输入为 **heart**，然后左键单击 **OK**，则保存成功，并在 **roi** 列表中显示改 **roi** 的名称。过程显示如下所示：

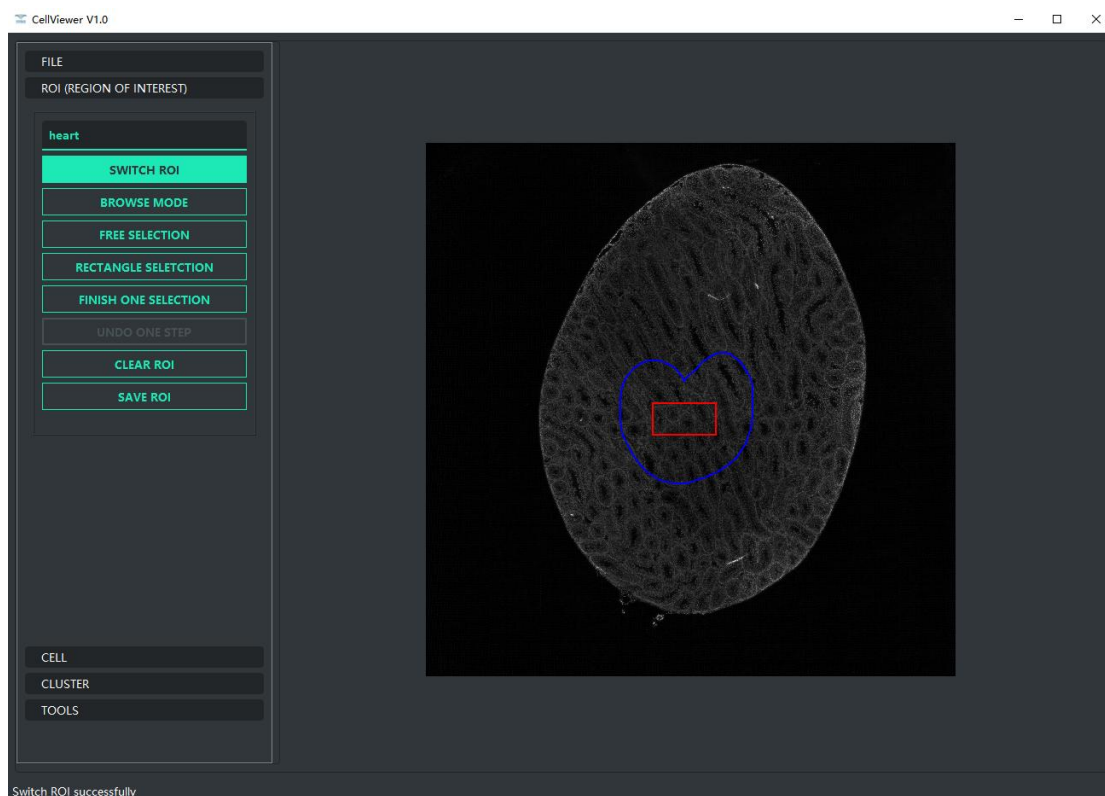




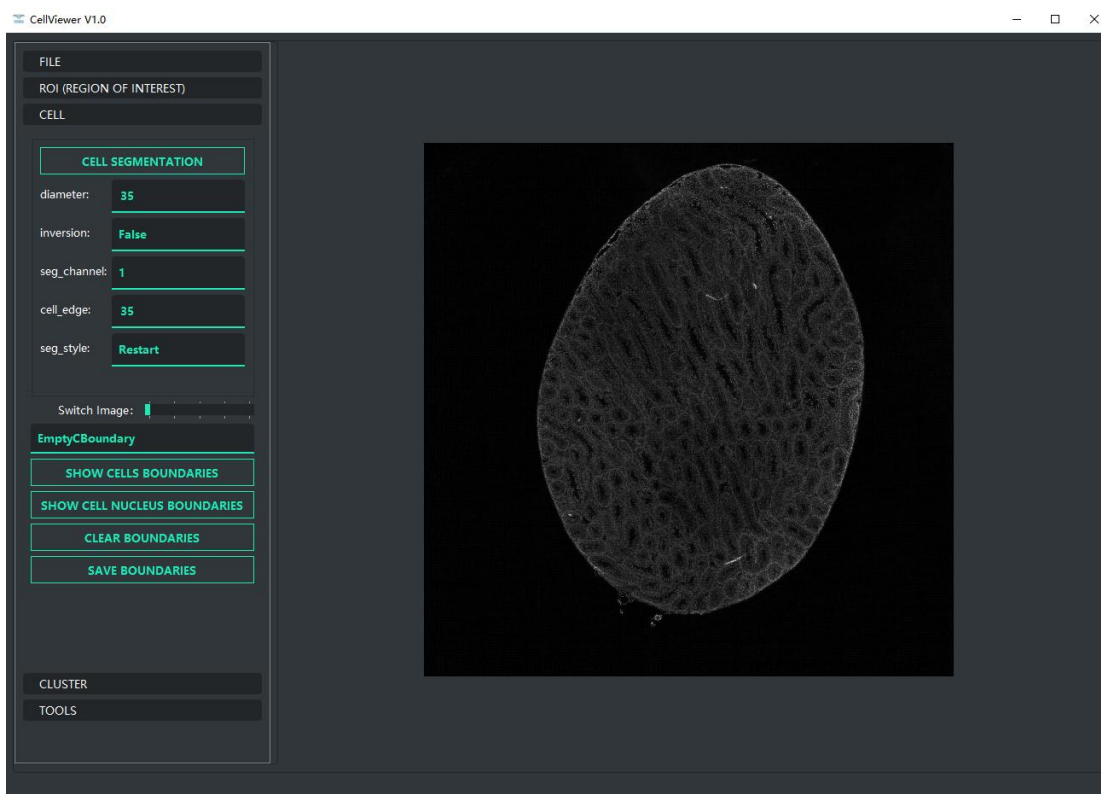
清空图像中 roi: 左键单击 CLEAR ROI 按钮即可。单击后显示如下图:



如果需要再显示名称为 **heart** 的 roi，则需要找到该名称选中，然后左键单击 **SWITCH ROI** 按钮。之后显示如下图（之前绘制的 **heart roi** 显示在图像中）：



3、CELL 功能区



该功能区可以设定细胞分割的参数进行细胞分割和显示分割结果

CELL SEGMENTATION 按钮：左键单击后开始进行自动细胞分割。

细胞分割参数：

diameter: 表示细胞分割直径，如图中的 35

inversion:表示是否反转色彩，如图中 False

seg_channel:表示颜色通道，如图中的 1

cell_edge:表示细胞边界外扩像素值，如图中的 35

seg_style:表示分割类型，Restart 表示从 0 边界开始分割；Continue 表示从当前边界列表中显示的边界基础上进行分割。

Switch Image: 左右拖动可以切换 HE 图和细胞分割图。

边界列表中 EmptyCBoundary 是 0 细胞边界，如果需要从 0 开始进行手动分割，则需要选择 EmptyCBoundary 边界，然后点击 SHOW CELLS BOUNDARIES 按钮后进行手动绘制细胞边界操作。

SHOW CELLS BOUNDARIES 按钮：左键单击后会在图像上显示细胞分割边界。

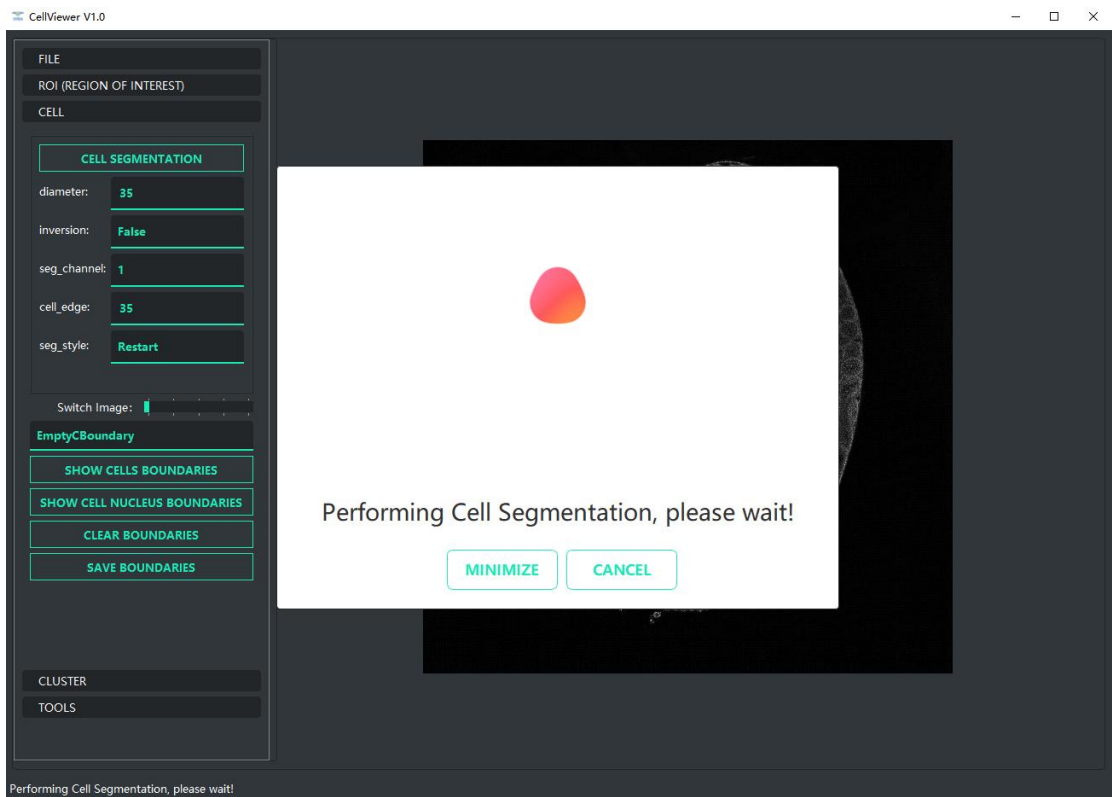
SHOW CELL NUCLEUS BOUNDARIES 按钮：左键单击后会在图像上显示细胞核边界，注意：只有进行自动细胞分割后的边界才能显示细胞核边界，手动绘制保存和合并保存的边界不能显示细胞核边界。

CLEAR BOUNDARIES 按钮：左键单击后会清空图像上显示的细胞分割边界。

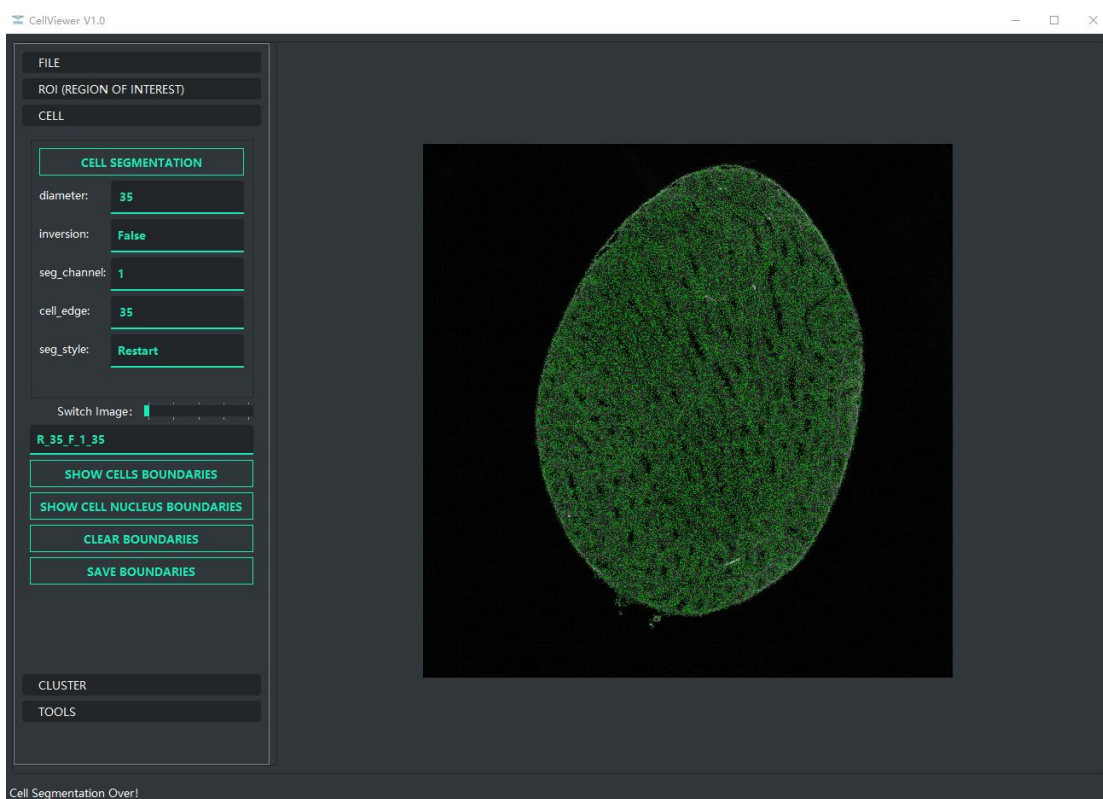
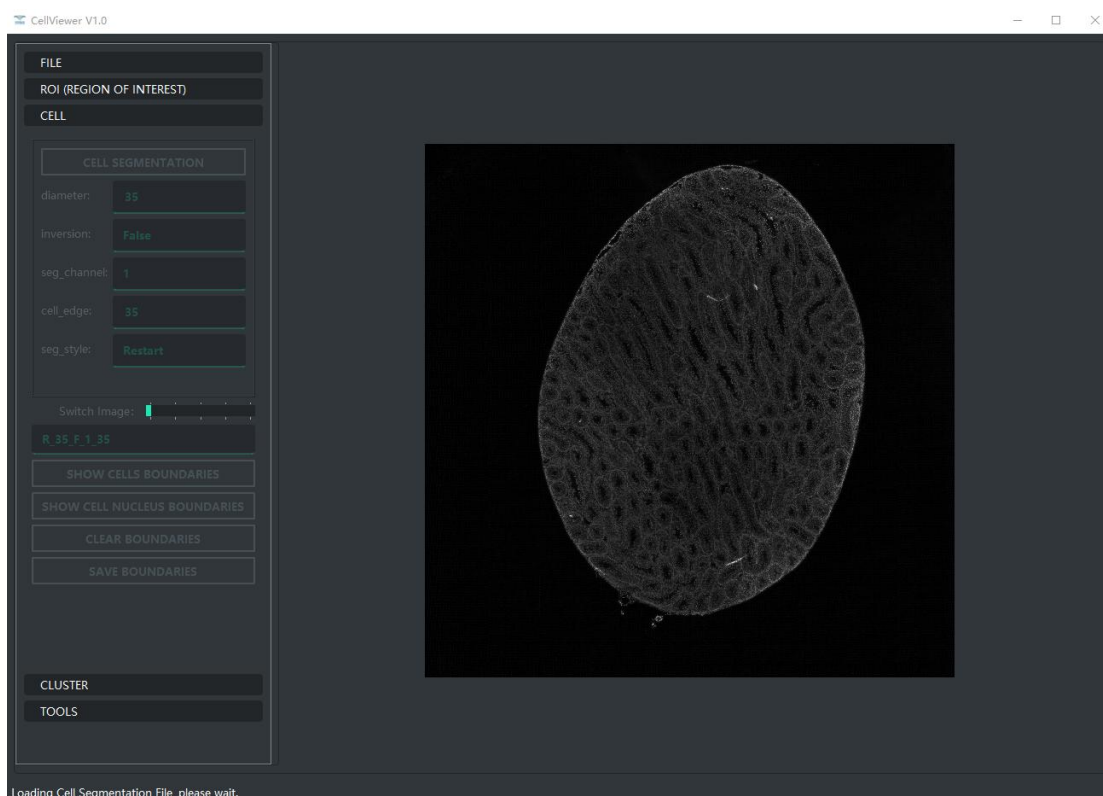
SAVE BOUNDARIES 按钮：保存当前图像上显示的细胞分割边界。

示例一（全局自动分割）：

seg_style 设置为 restart，将 diameter、inversion、seg_channel、cell_edge 调整为合适参数后左键单击 CELL SEGMENTATION 按钮。然后出现下图（表示正在进行细胞分割操作，弹出的等待窗口中有两个按钮，一个 MINIMIZE 表示最小化，一个 CANCEL 表示取消分割）：



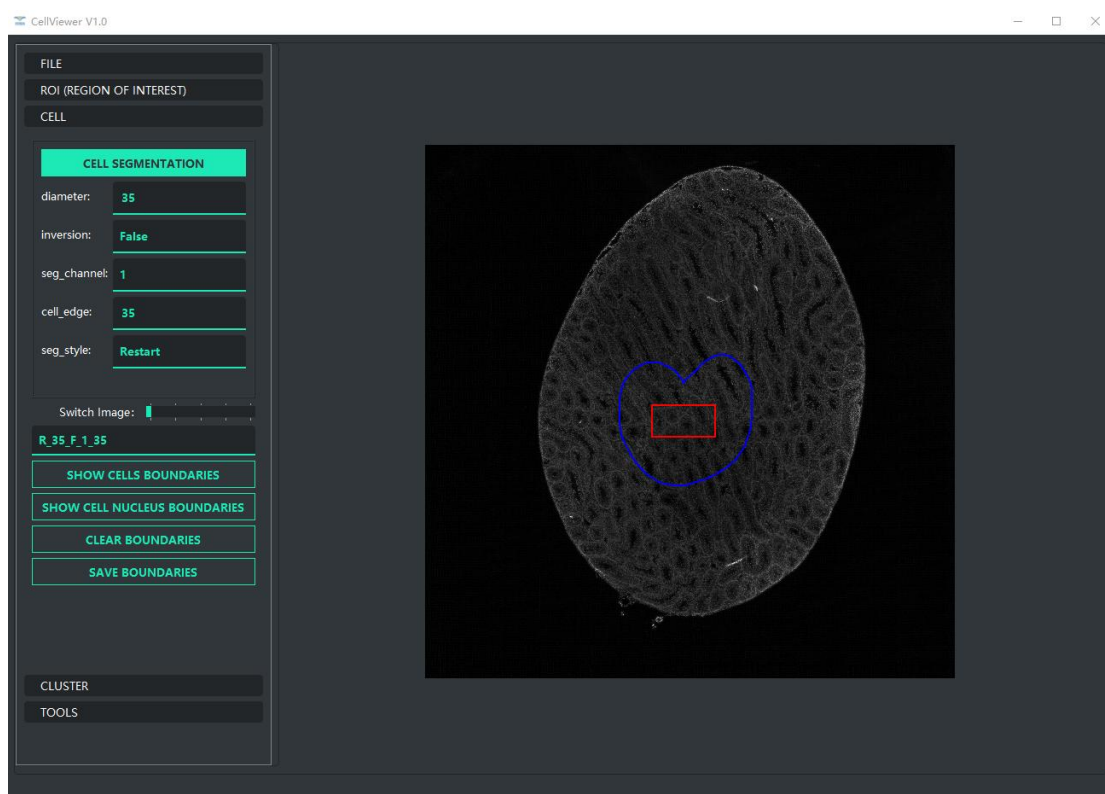
等待分割完成后陆续出现下面两个图（第一张图是正在读取细胞分割边界中，第二张为显示的全局自动分割结果）：



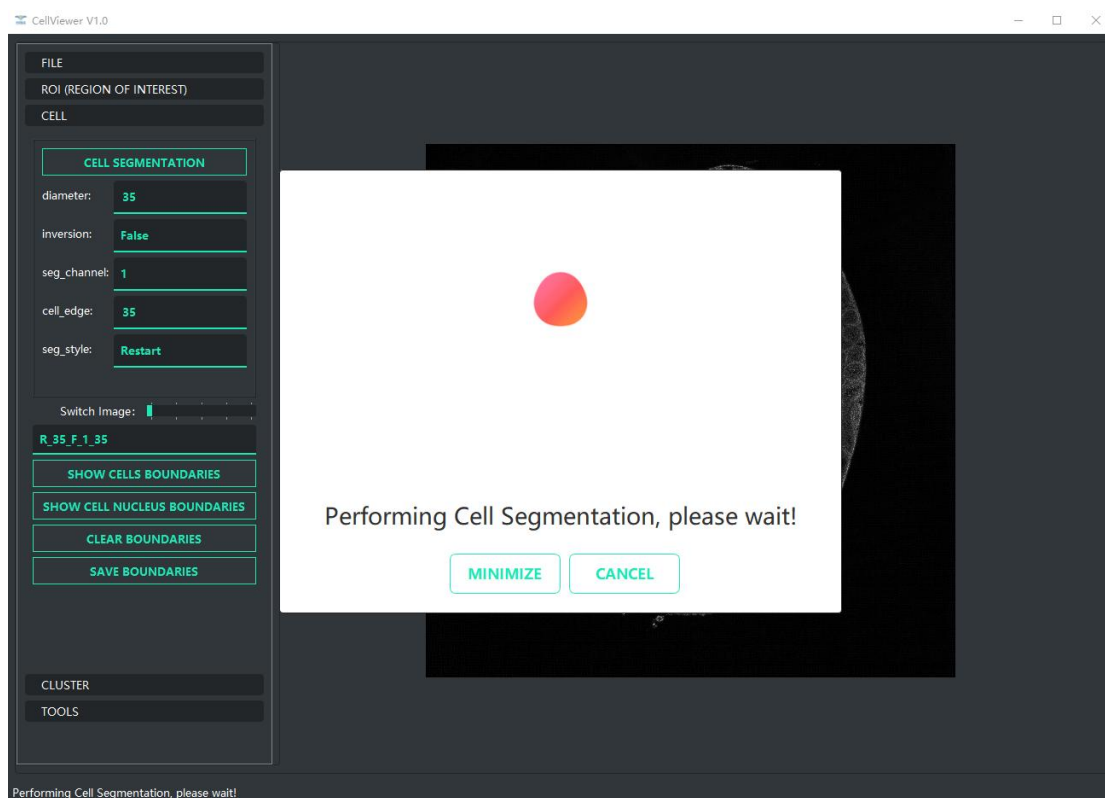
此时全局自动分割已经完成，边界列表中显示当前细胞分割边界的名称，示例中为 R_35_F_1_35。

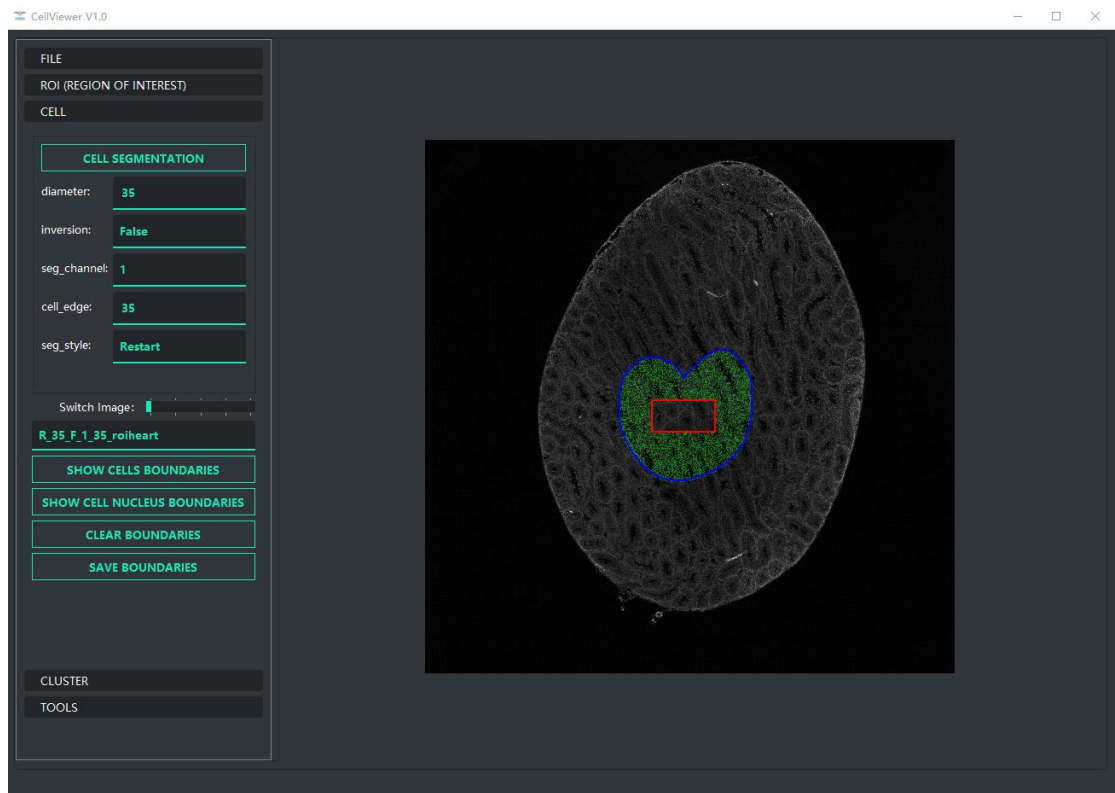
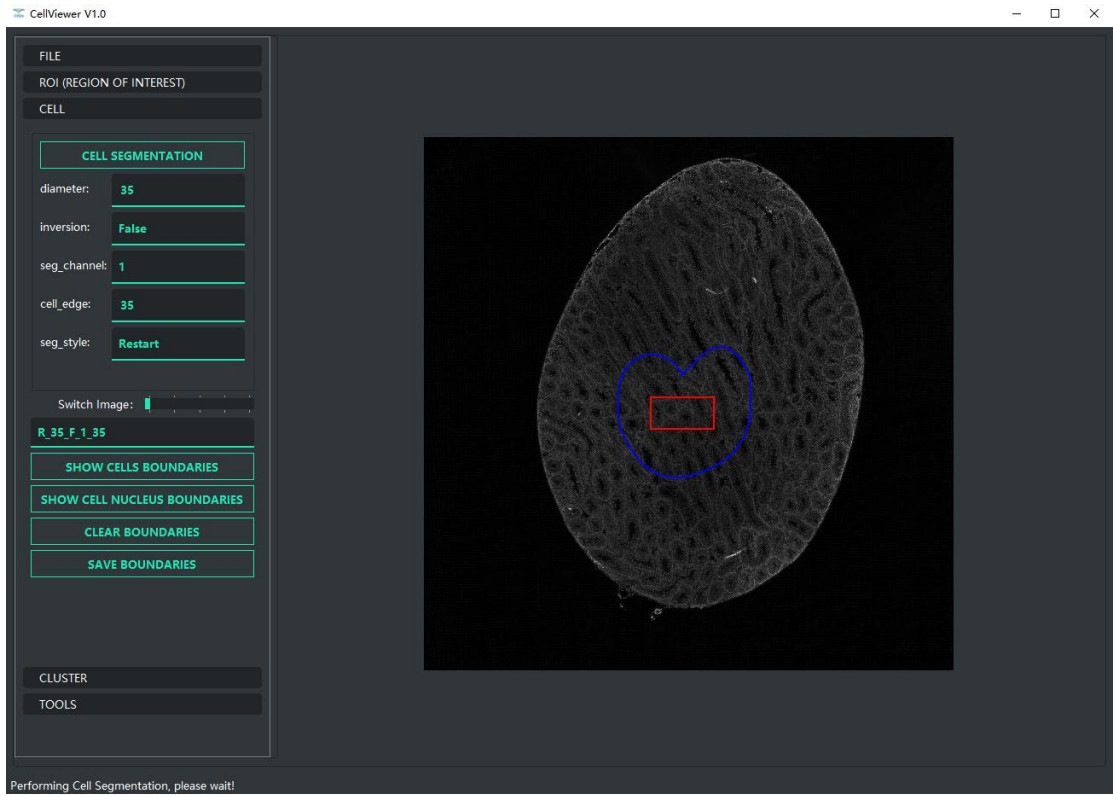
示例二（局部分割，注意：需要用到 roi）：

首先切换 roi，在图像中显示要分割局部区域的 roi。如下图（显示的为 heart）：



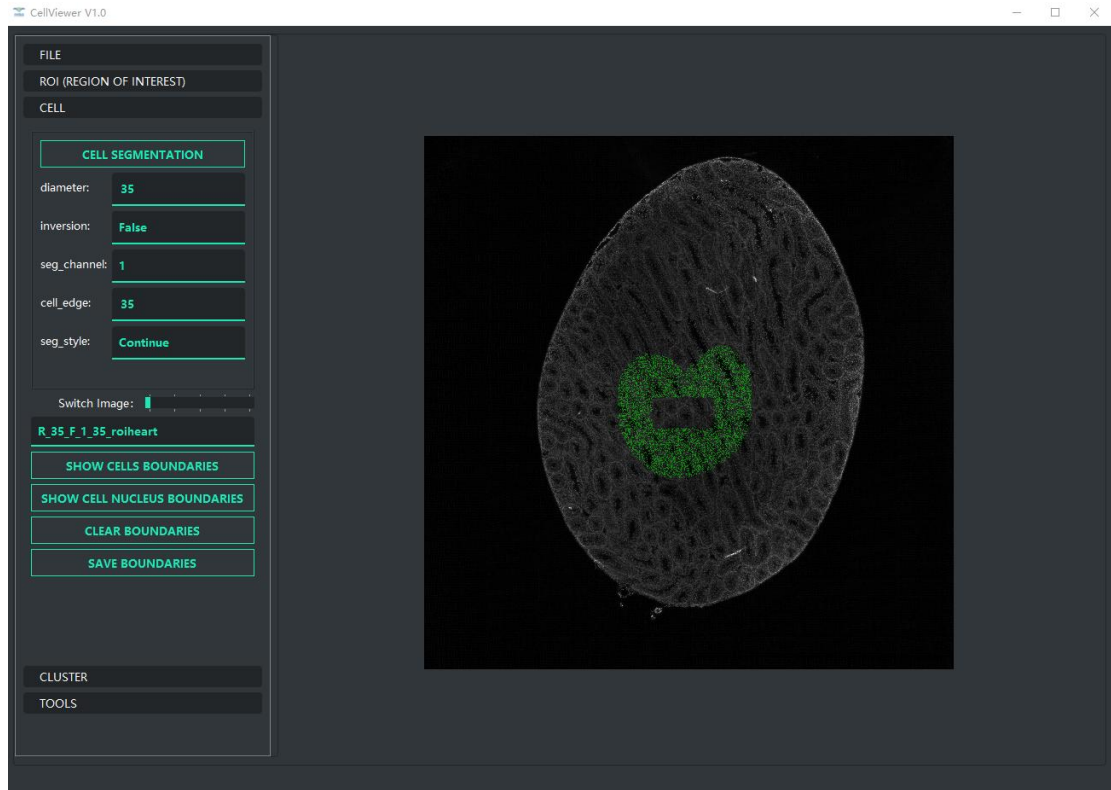
然后将 seg_style 设置为 restart，调整 diameter、inversion、seg_channel、cell_edge 为合适参数后左键单击 CELL SEGMENTATION 按钮后，开始进行局部分割。过程如下图：



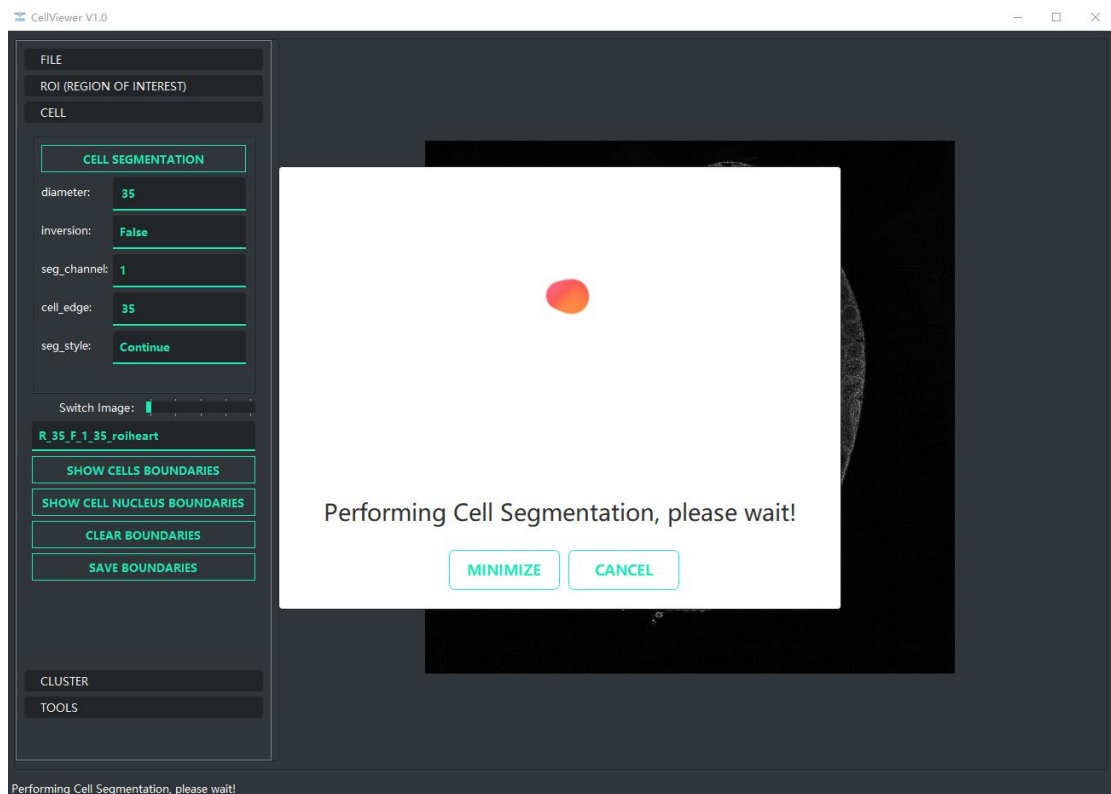


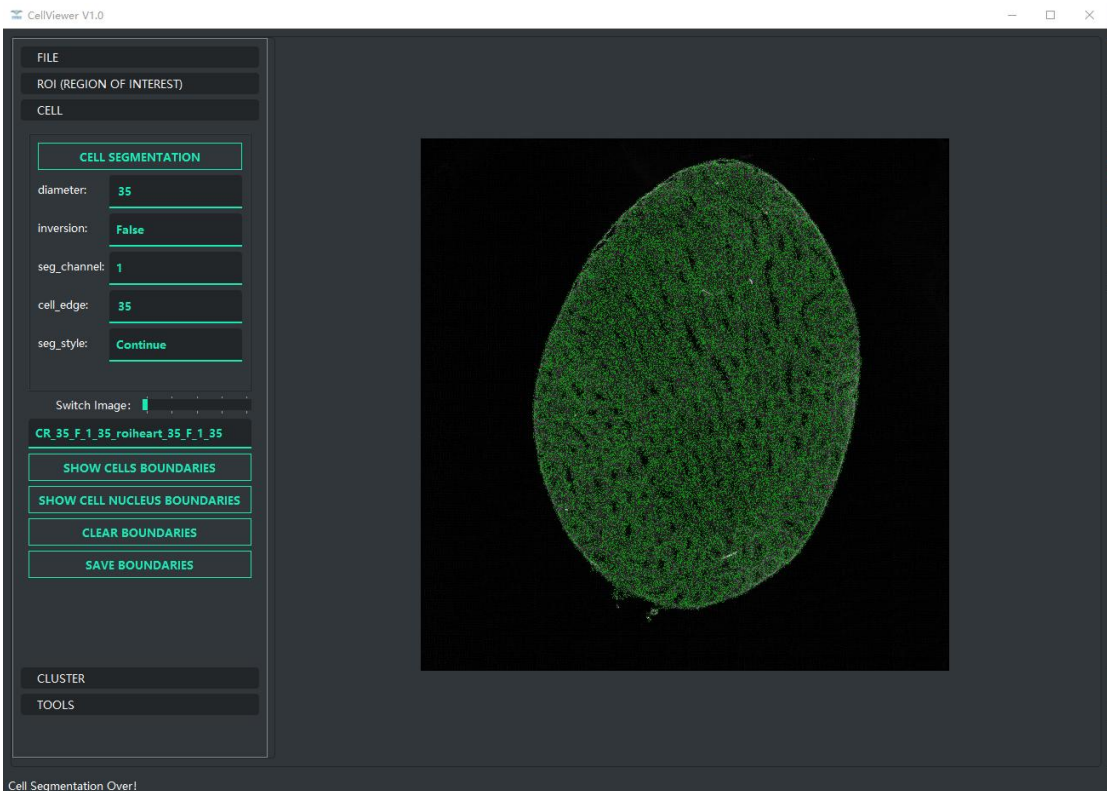
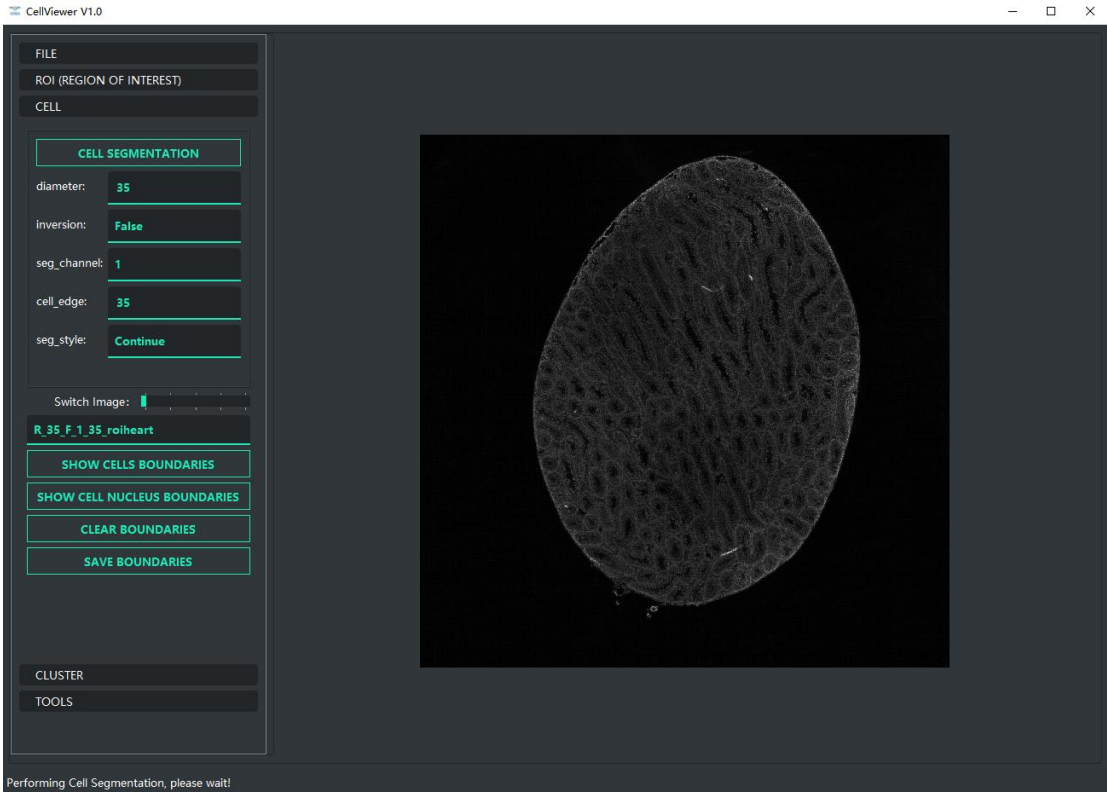
示例三（继续分割：在当前分割的基础上继续分割）：

选中继续分割的基础分割边界，此处为 R_35_F_1_35_roiheart，然后左键单击 SHOW CELLS BOUNDARIES 按钮，等待图像中显示出 R_35_F_1_35_roiheart 分割边界。然后将 seg_style 设置为 Continus，调整 diameter、inversion、seg_channel、cell_edge 为合适参数。如下图：

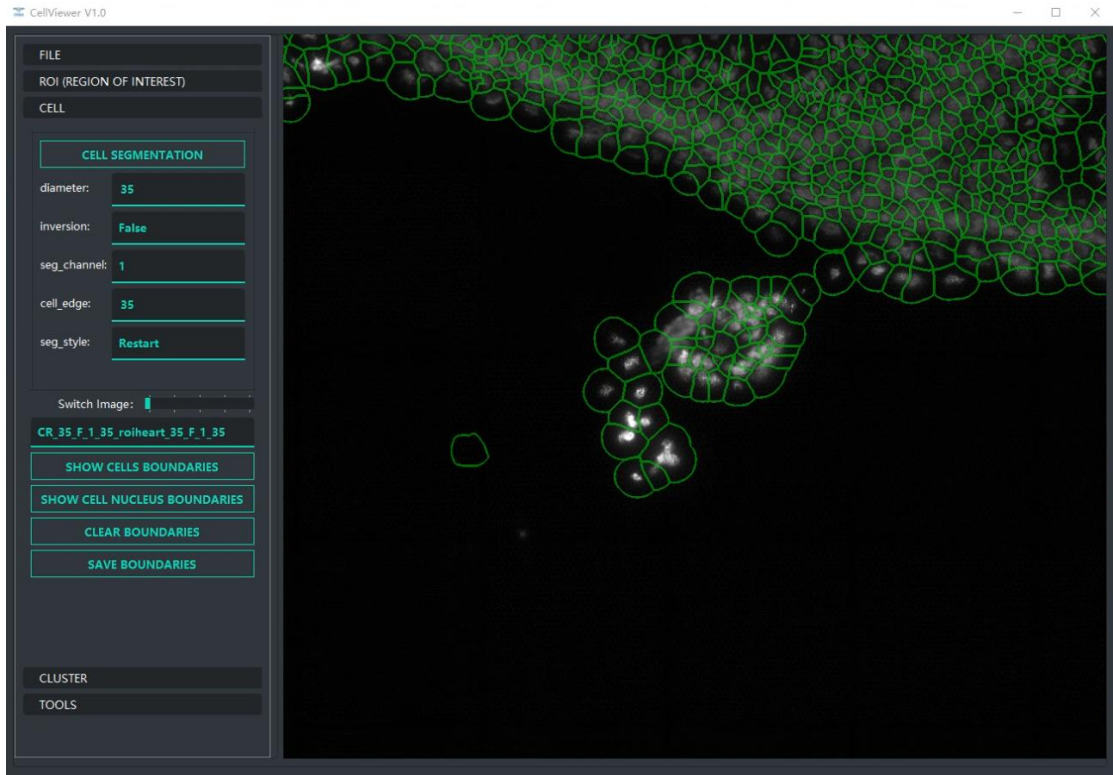


然后左键单击 CELL SEGMENTATION 按钮，开始进行继续分割。过程如下图：

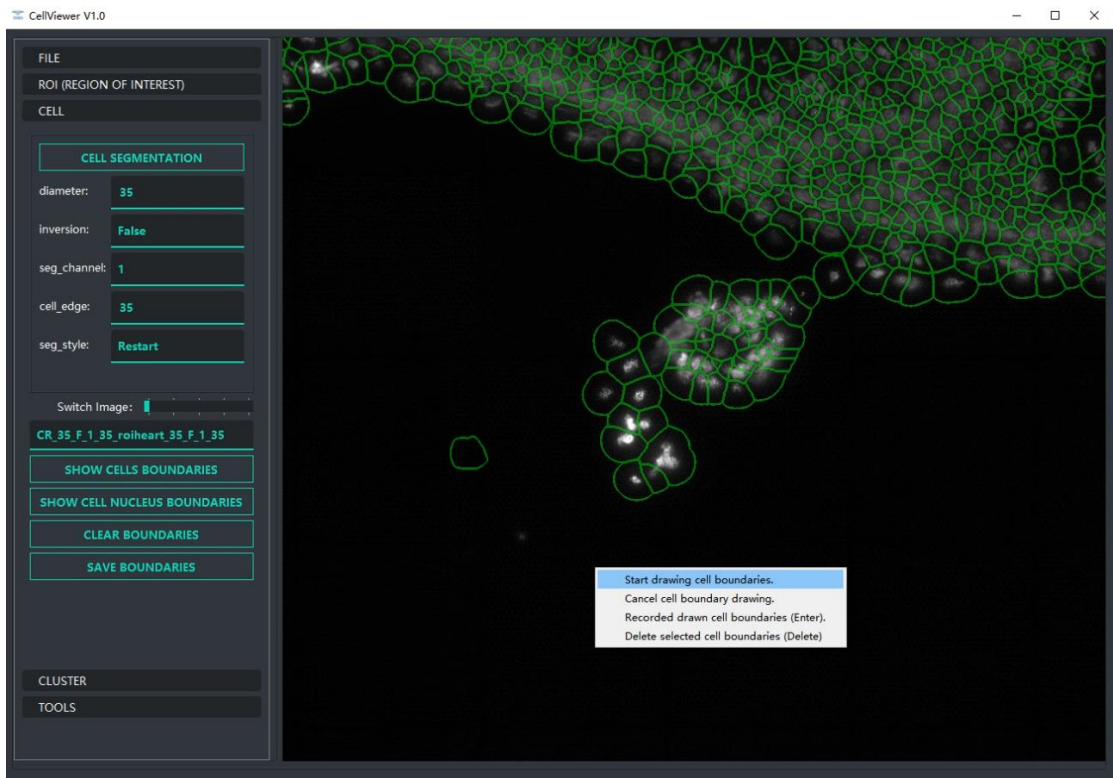




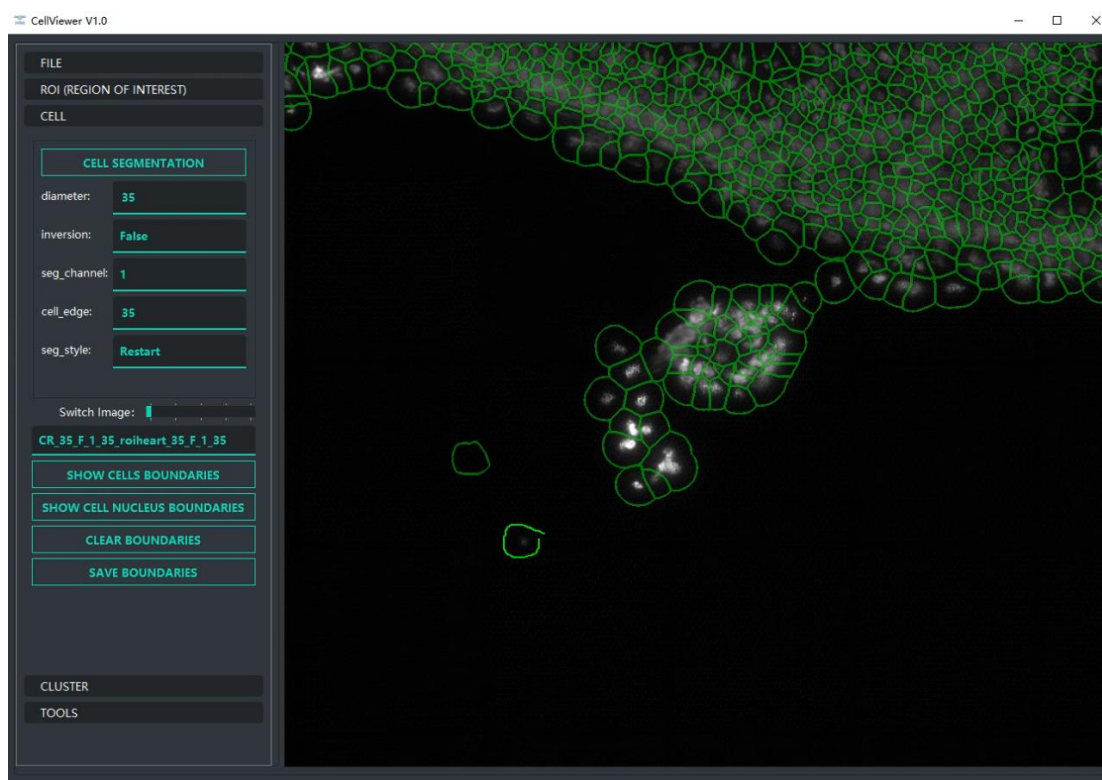
示例四（手动分割）
手动分割前如图所示：



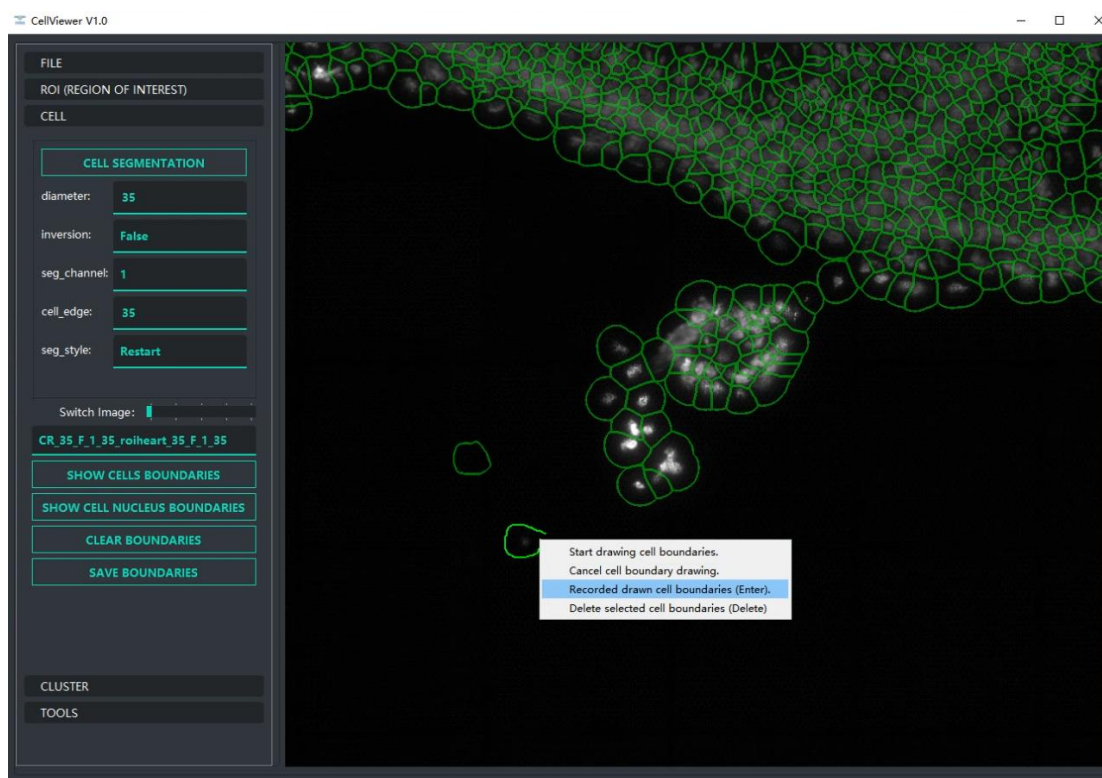
鼠标在图像上右键单击，出现以下菜单：



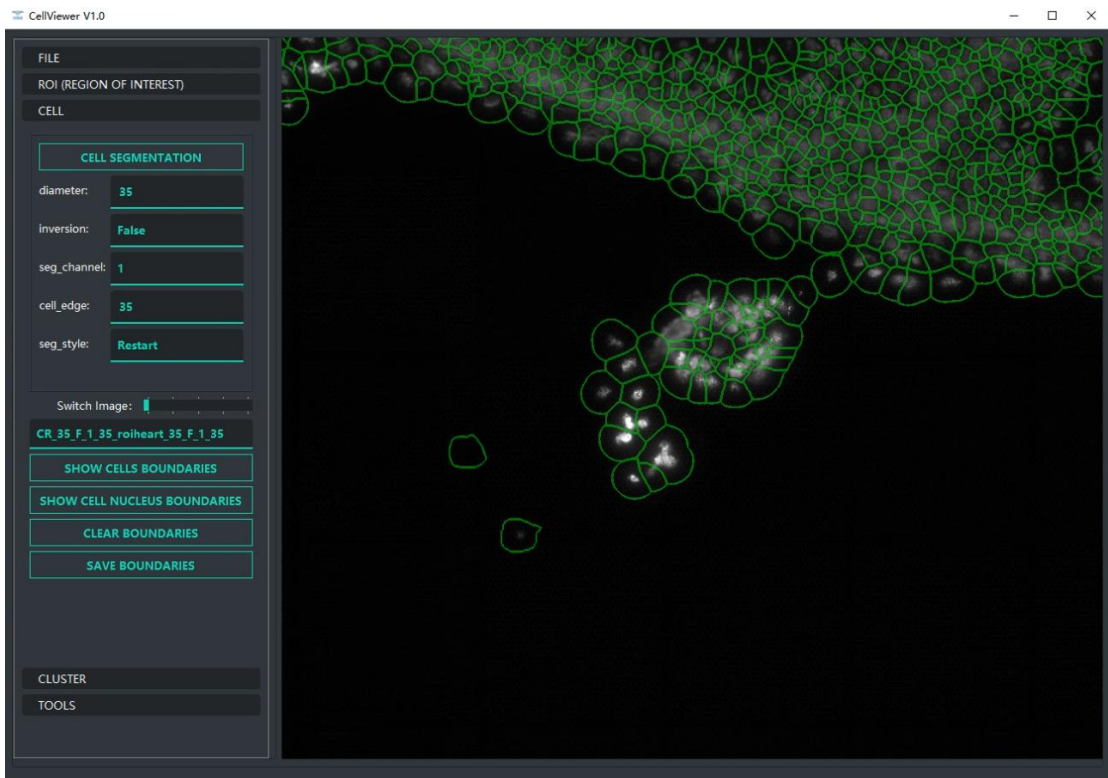
首先左键单击 Start drawing cell boundaries 按钮，然后按下并拖动鼠标左键绘制要添加的细胞区域。如下图：



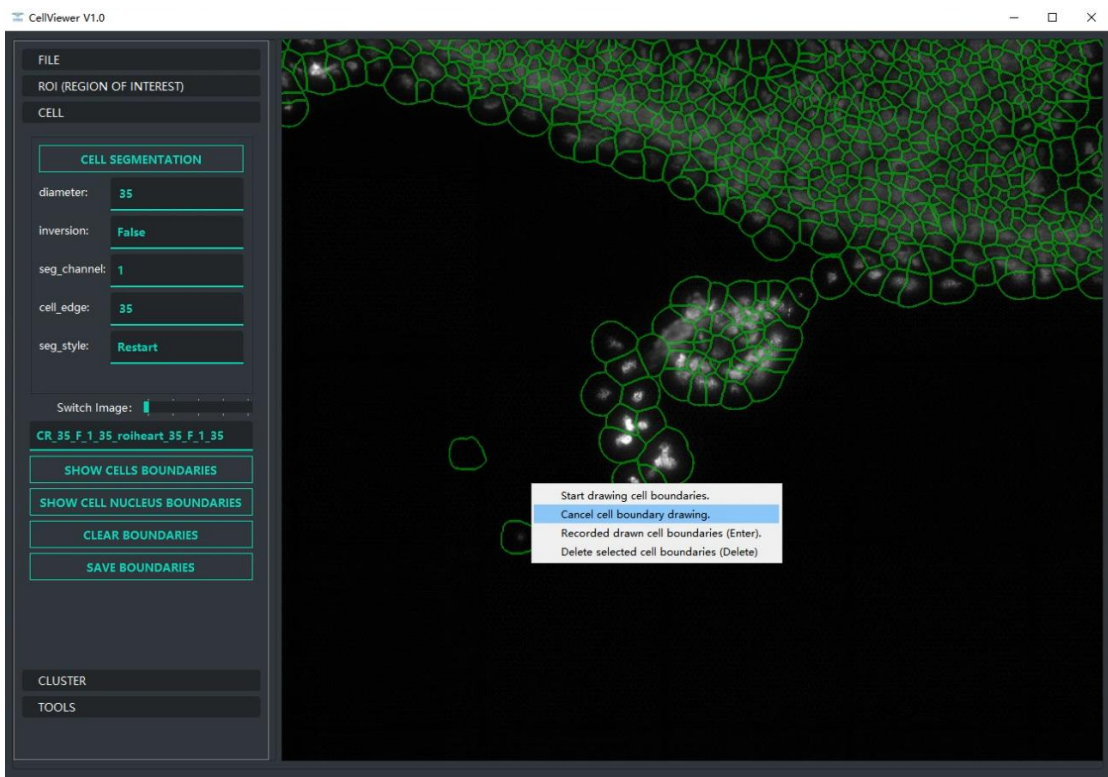
然后左键单击 Recorded drawn cell boundarier 按钮或者键盘敲击一次 Enter 键。如图：



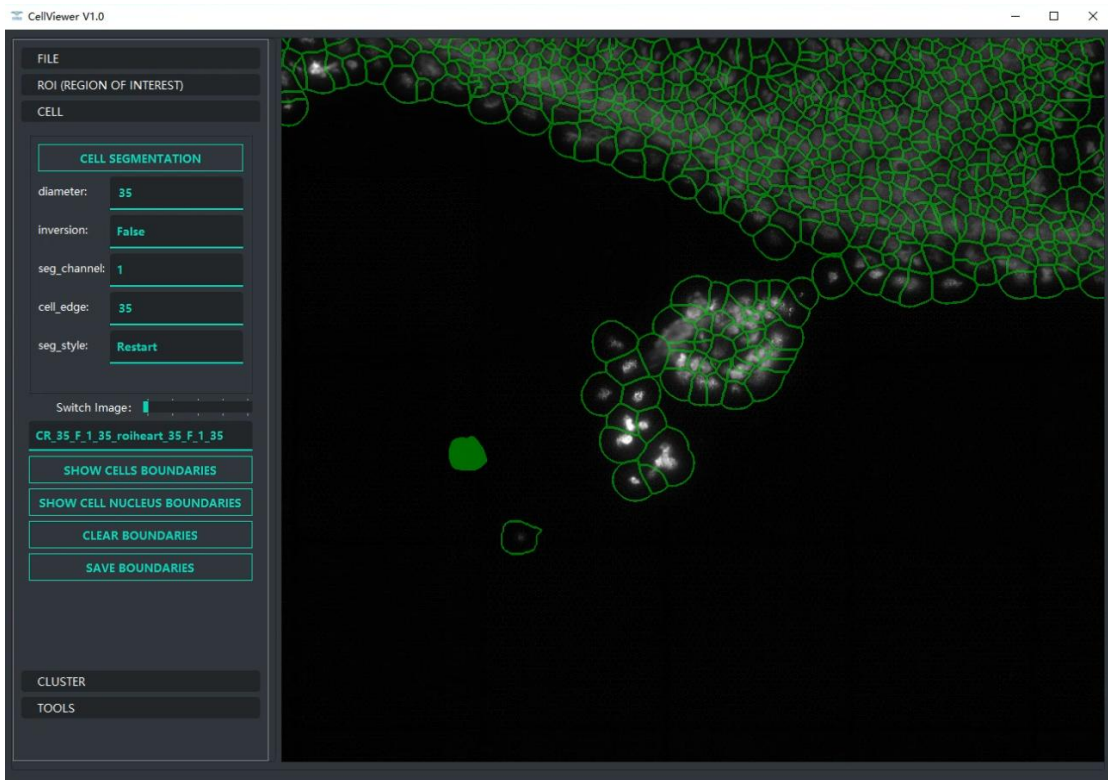
完成后显示（手动添加细胞成功，图像中新加入一个细胞边界）：



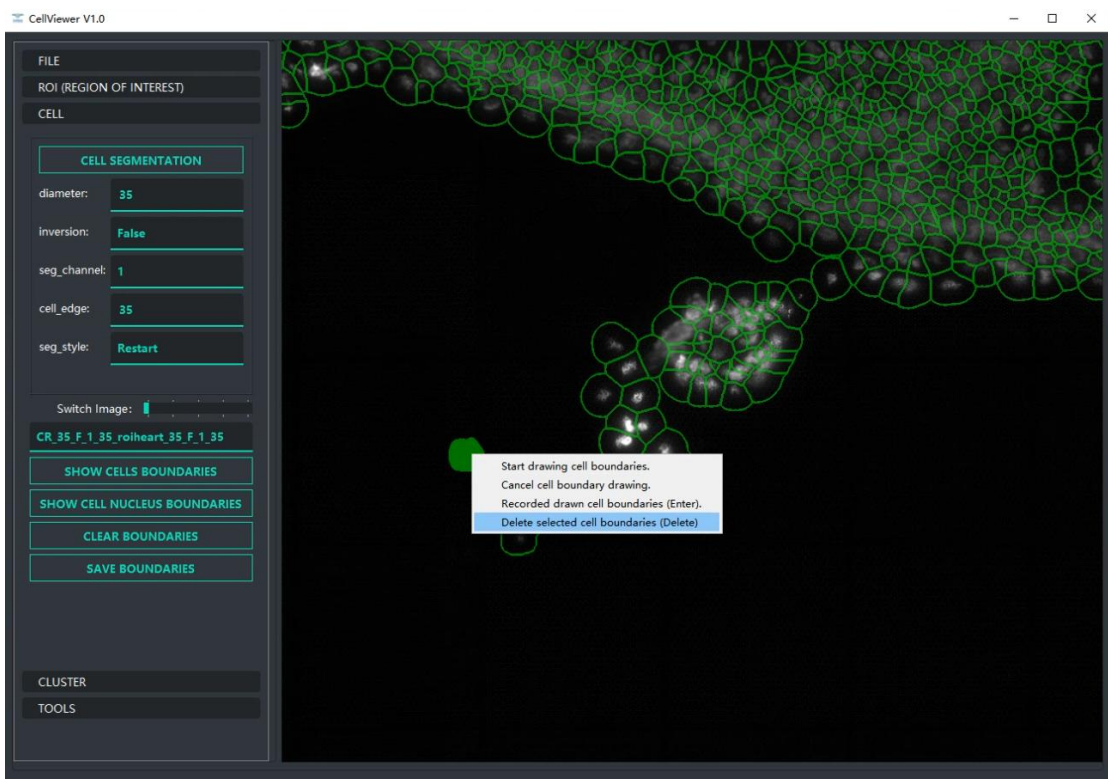
如果需要停止绘制，则需要右键单击 Cancel cell boundary drawing 按钮。
如下图：



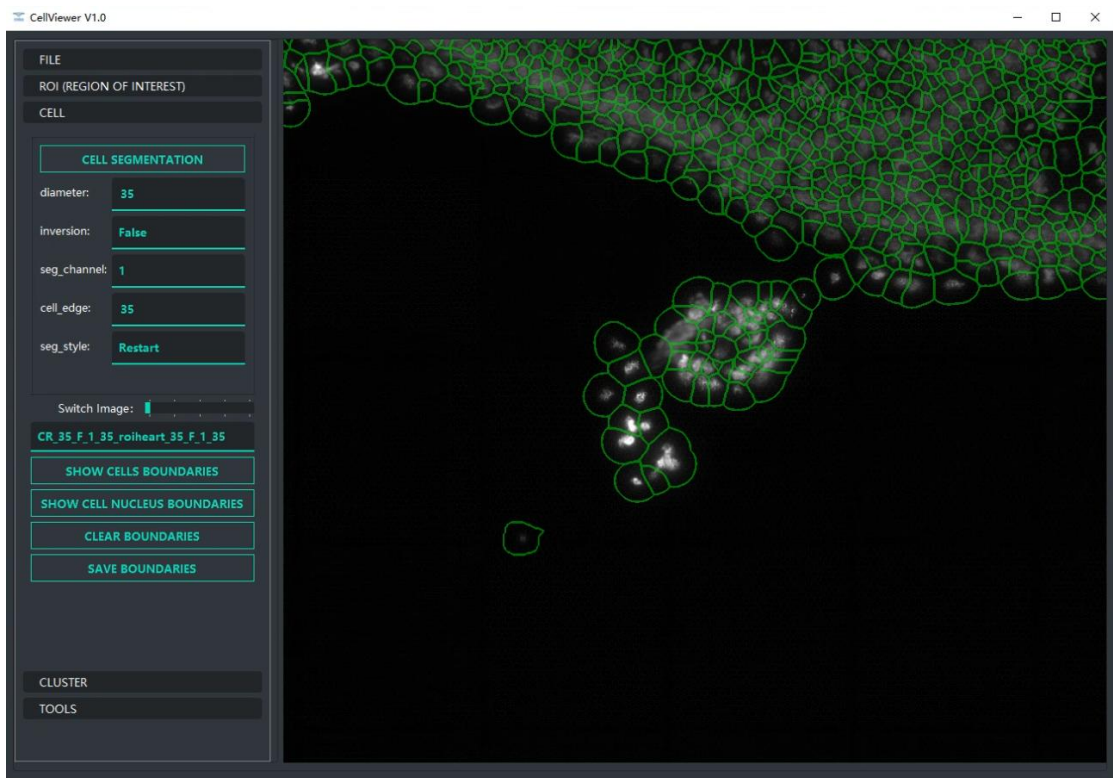
如果要删除某个细胞，则需要鼠标左键选中该位置细胞，选中如下图：



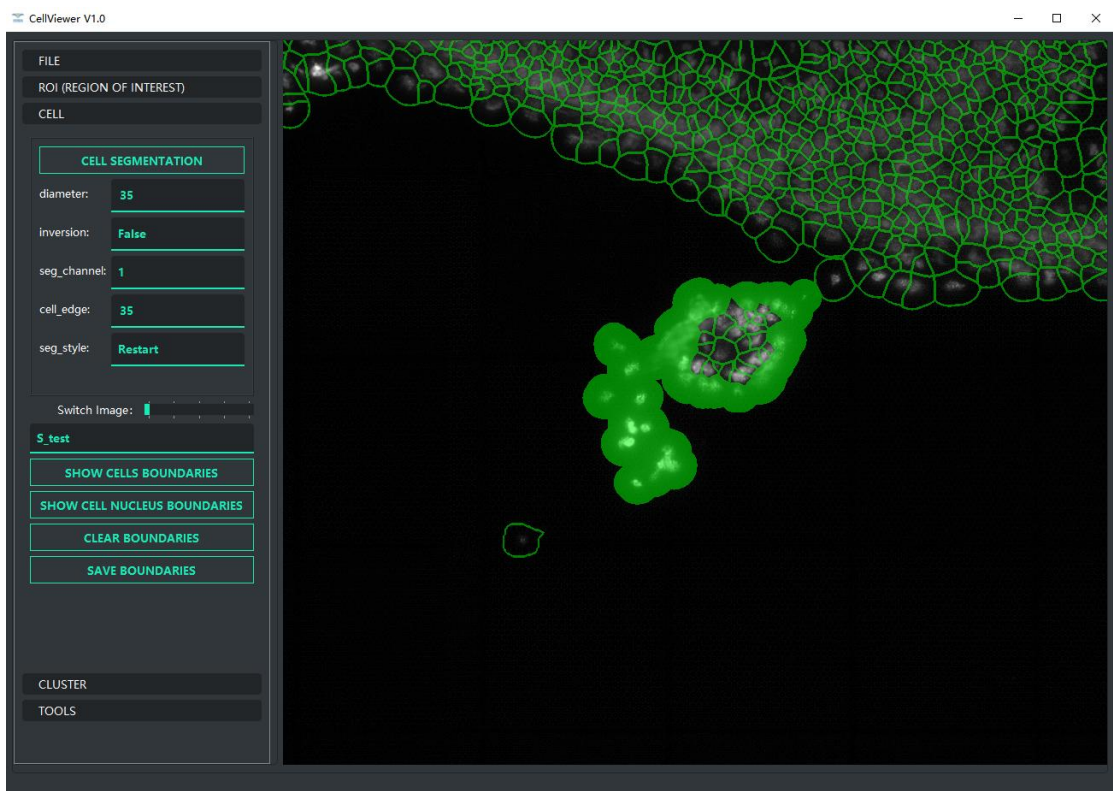
然后在右键菜单中左键单击 Delete selected cell boundaries(Delete)或者键盘按下一次 Delete 键。如下图所示：



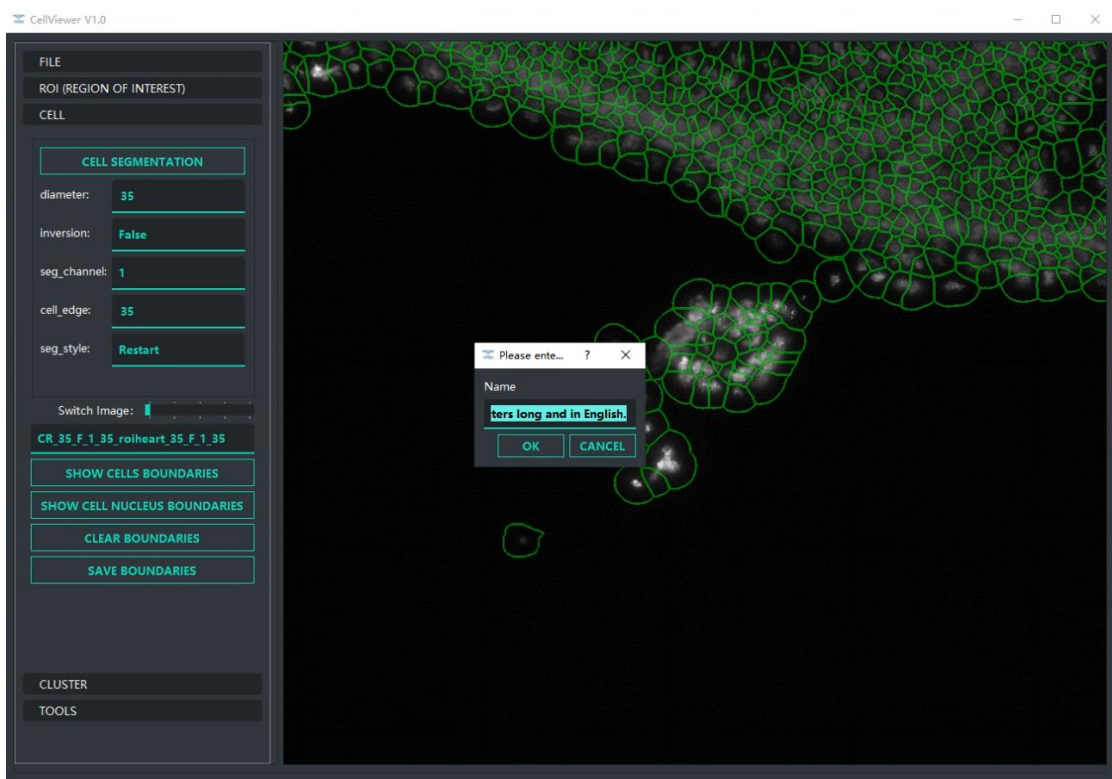
如下图所示，已删除该细胞边界：



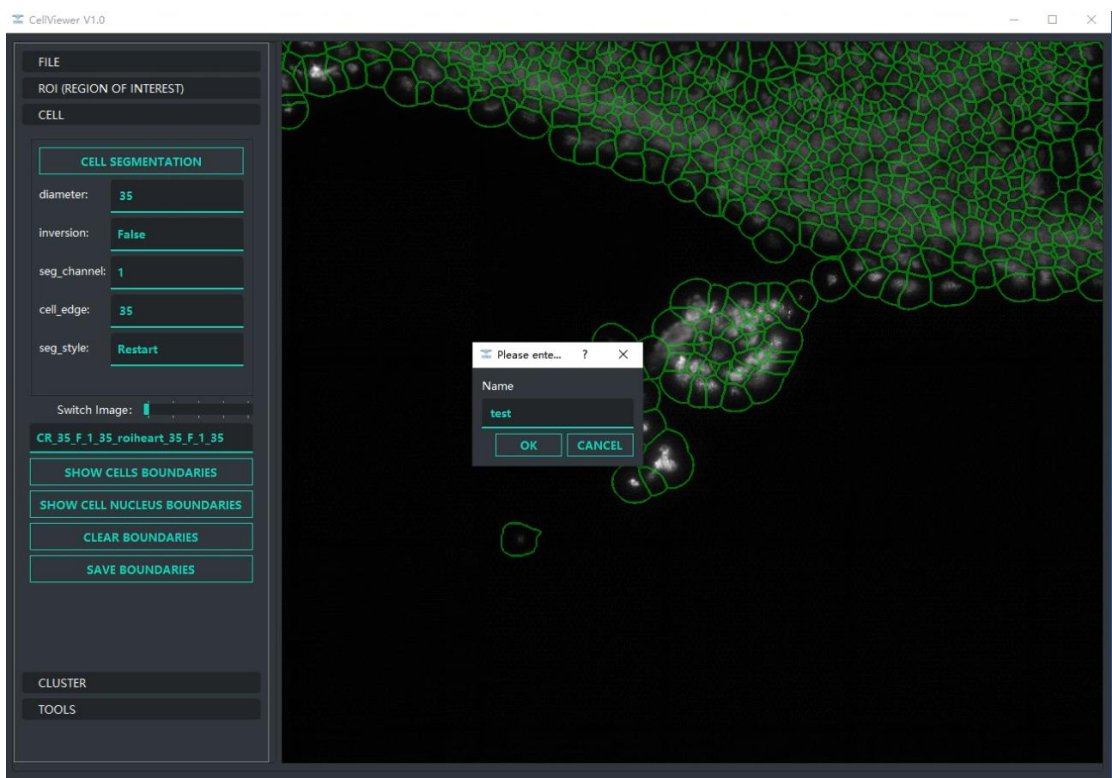
此外还可以按下 Ctrl 键不松开，鼠标左键选择进行多选，如下图所示：



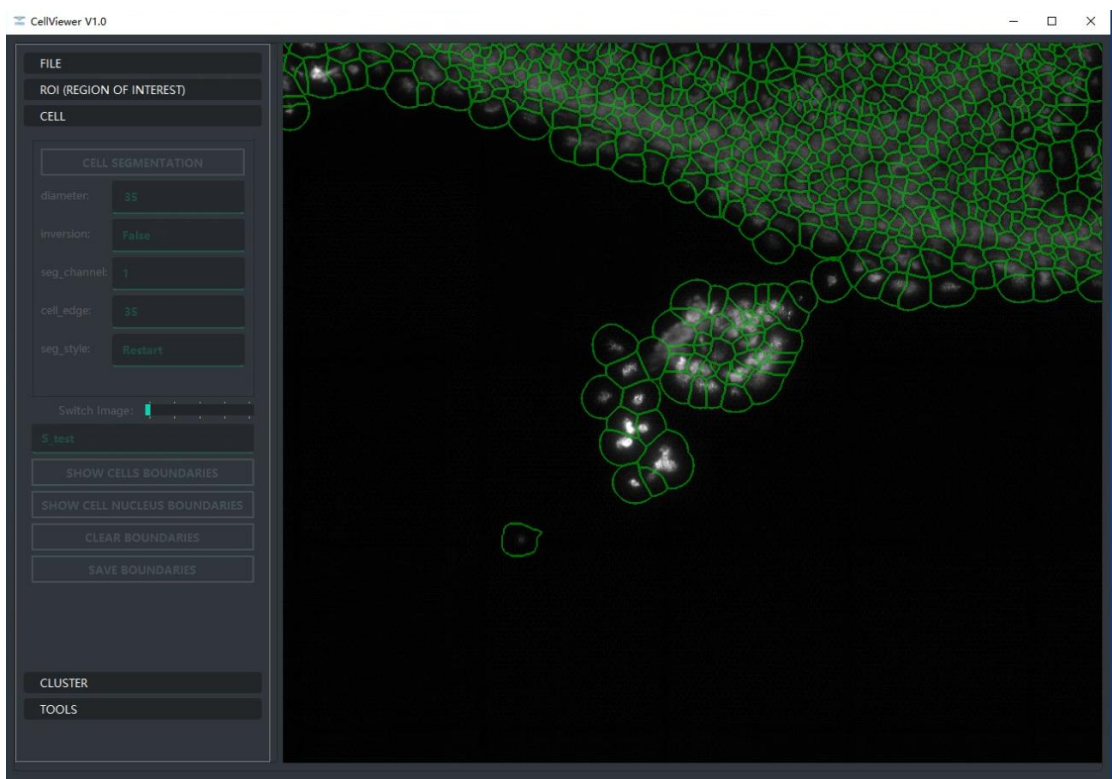
对手动分割后的结果进行保存：鼠标左键单击 **SAVE BOUNDARIES** 按钮。出现下图：



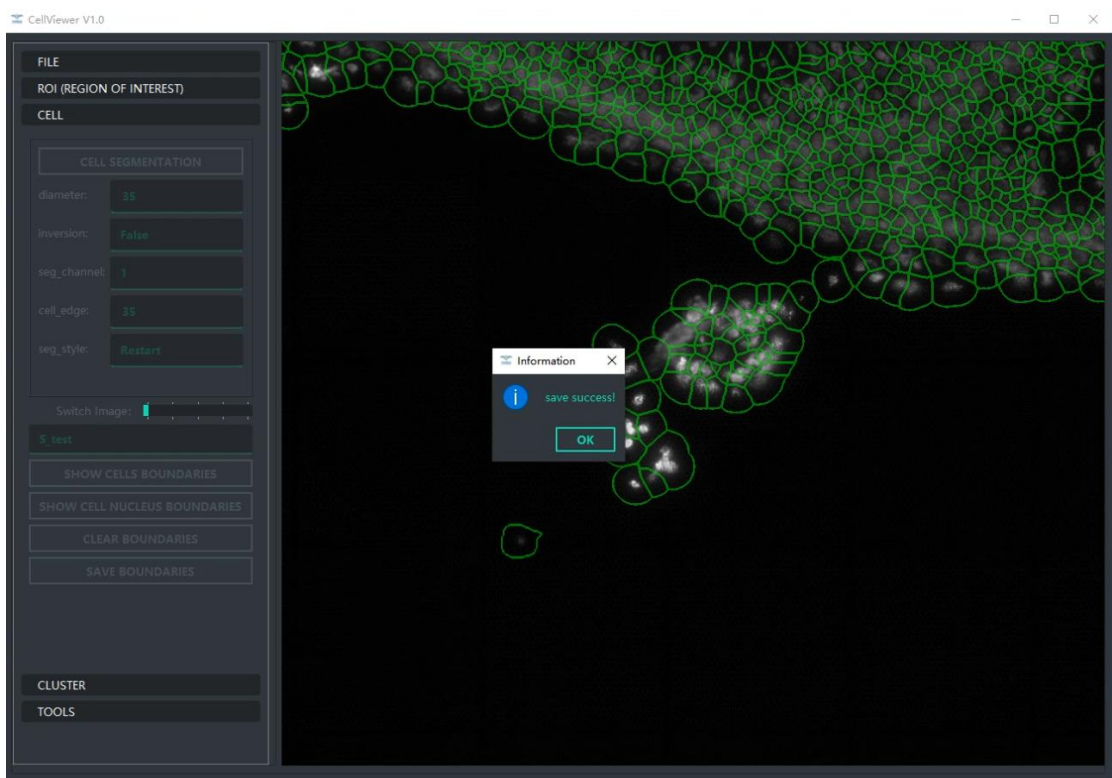
需要在弹出的输入对话框中输入新保存的细胞分割边界的名称，示例中输入 **test**。



然后单击 OK 按钮，之后出现下图。



等待一会儿保存成功后，弹出 save success! 对话框，即为保存成功。此时在细胞分割列表中出现 S_test。



FILE

ROI (REGION OF INTEREST)

CELL

CELL SEGMENTATION

diameter: 35

inversion: False

seg_channel: 1

cell_edge: 35

seg_style: Restart

Switch Image:

S_test

SHOW CELLS BOUNDARIES

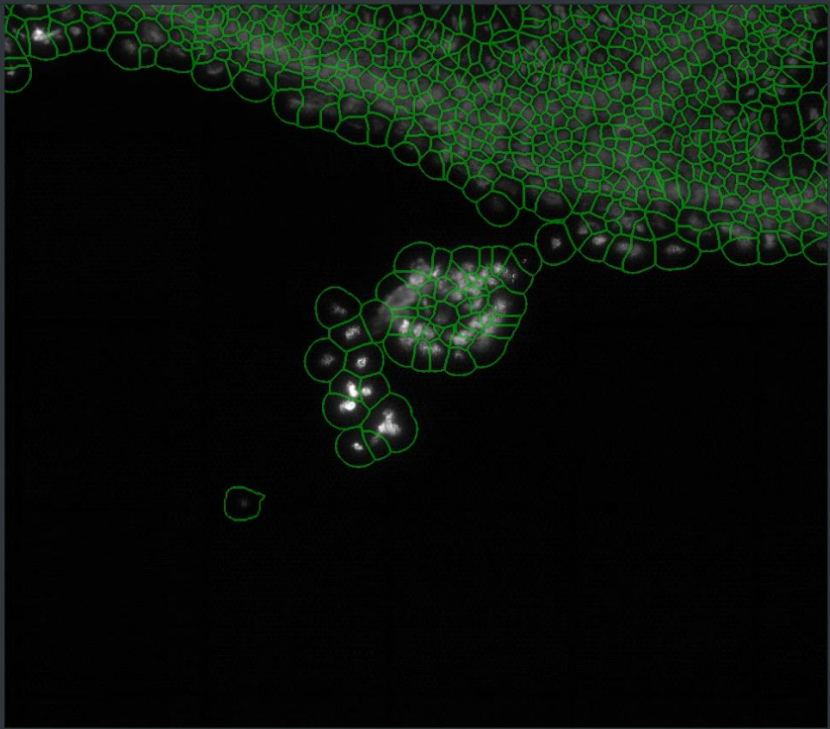
SHOW CELL NUCLEUS BOUNDARIES

CLEAR BOUNDARIES

SAVE BOUNDARIES

CLUSTER

TOOLS



4、CLUSTERING 功能区

该功能区可以设定聚类参数在细胞分割区域聚类

SWITCH CLUSTERING 按钮: 切换显示当前列表中显示的聚类名称的聚类信息

CLEAR CLUSTERING 按钮: 清空当前显示的聚类信息

IMPORT ANNOTATIONS 按钮: 导入注释文件

SAVE ANNOTATIONS 按钮:保存注释文件到项目中

START CLUSTERING 按钮:启动聚类

Clustering Method:表示聚类方式，目前 Seurat 方法

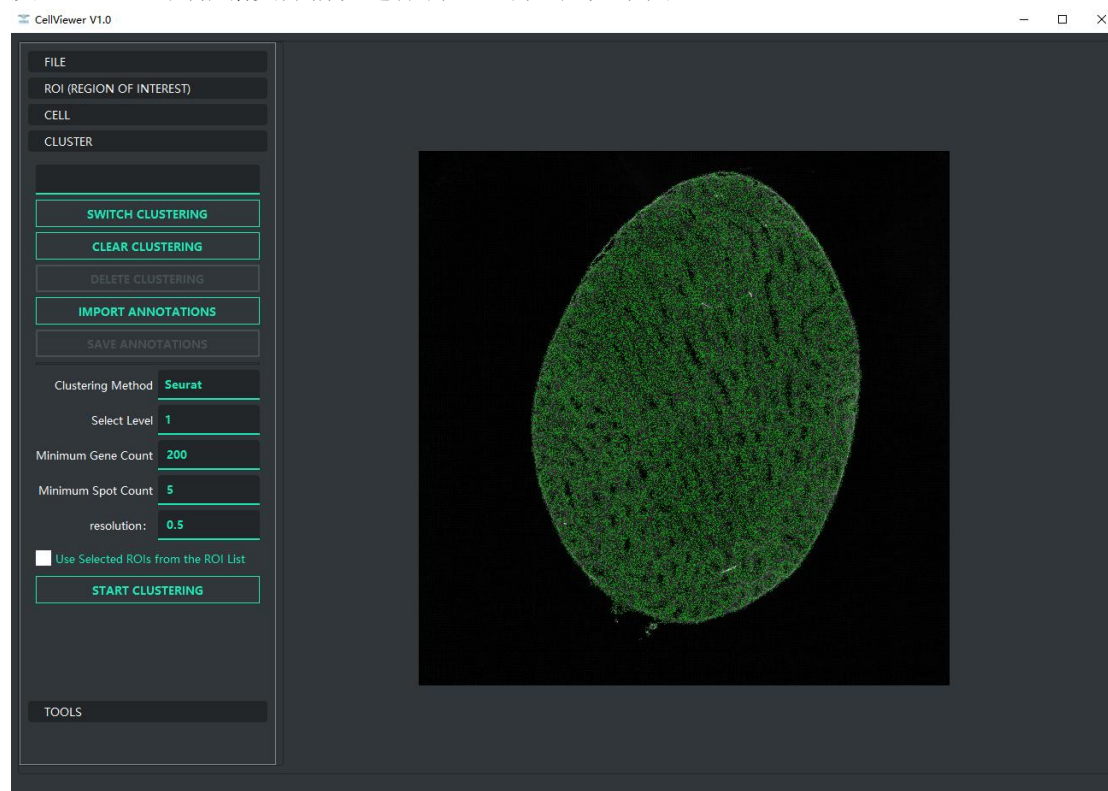
Select Level: 表示分辨率，目前是 level_1

Minimum Gene Count: 表示最小基因数，当单个 spot 中基因数少于这个数目则会被自动过滤掉

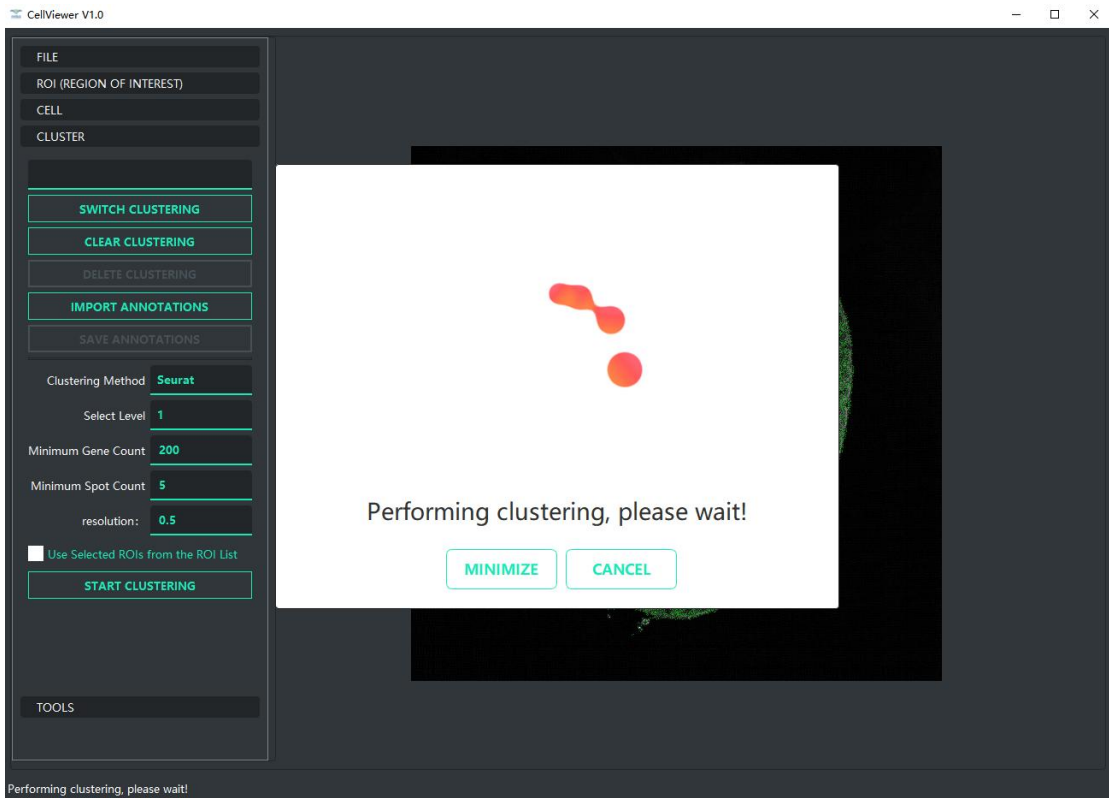
Minimum Spot Count: 表示最小 spot 数，单个基因需要表达的 spot 数，少于这个数目该基因会被过滤掉

resolution: 表示聚类丰富度值，该数值越高 cluster 种类越多

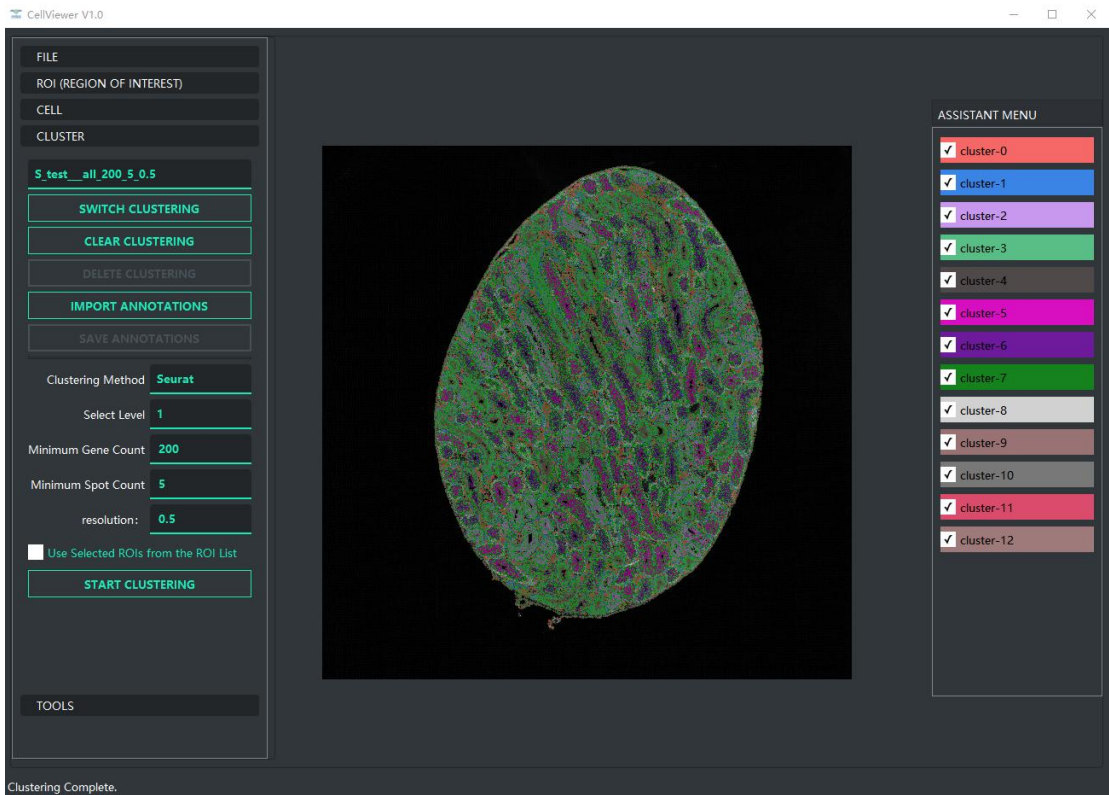
全局聚类: 聚类方法设置为 Seurat、Level 选择选择 1，最小基因数和最小 spot 组数以及 resolution 则根据实际情况进行调整，调整后如下图:



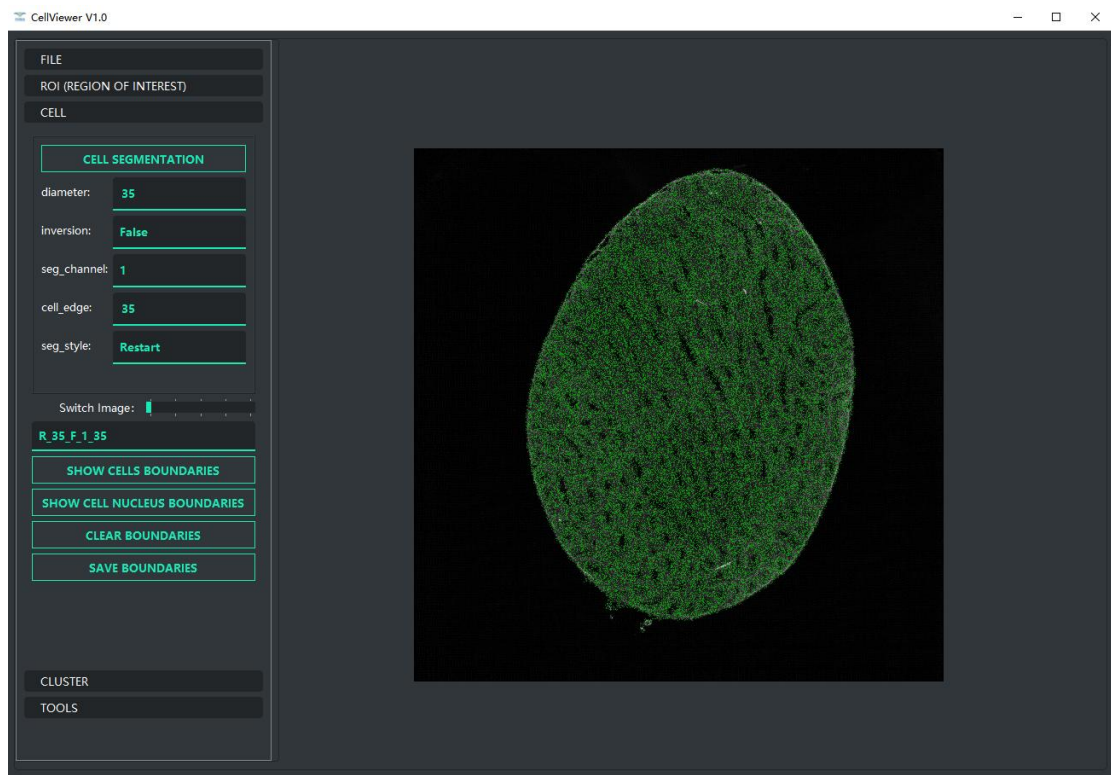
然后点击启动聚类按钮，则进入聚类状态如下图所示：



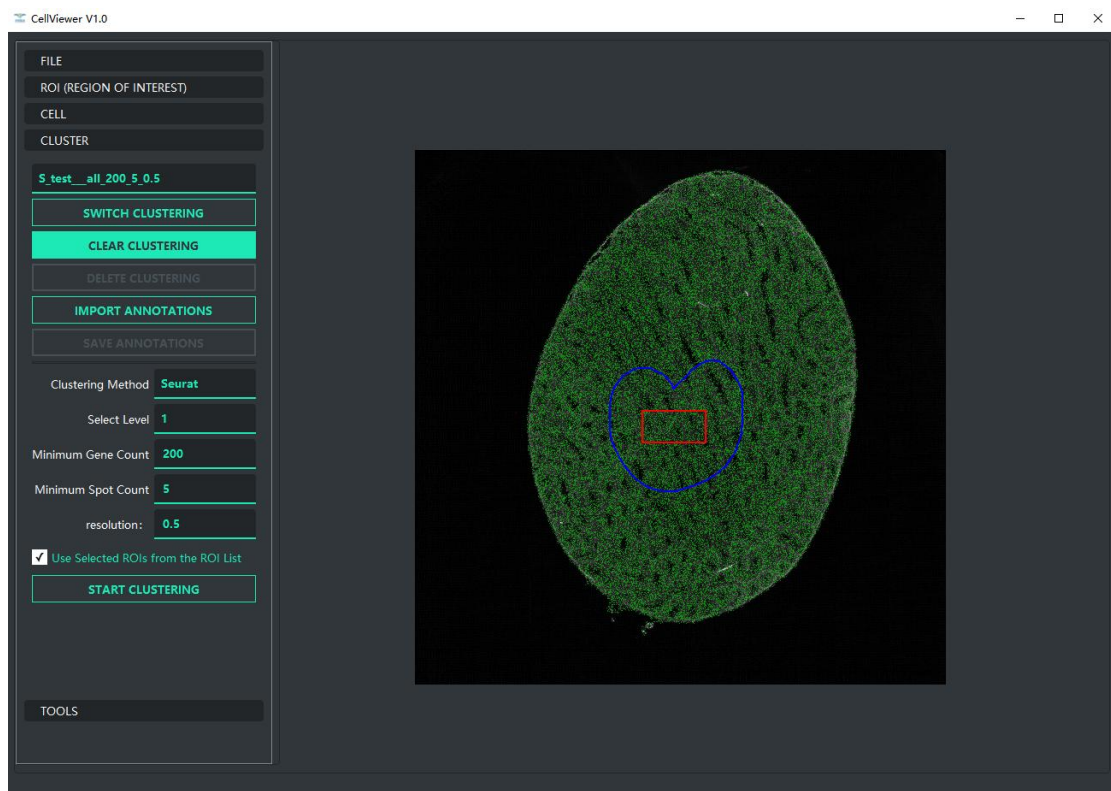
聚类完成后：



Roi 局部聚类: 聚类方法设置为 Seurat、Level 选择选择 1，最小基因数和最小 spot 组数以及 resolution 则根据实际情况进行调整，并显示出要进行局部聚类的细胞分割边界，如下图（即在 R_35_F_1_35 边界上的 roi 区域中进行局部聚类）：



绘制好要进行聚类的 roi 区域，如下图：



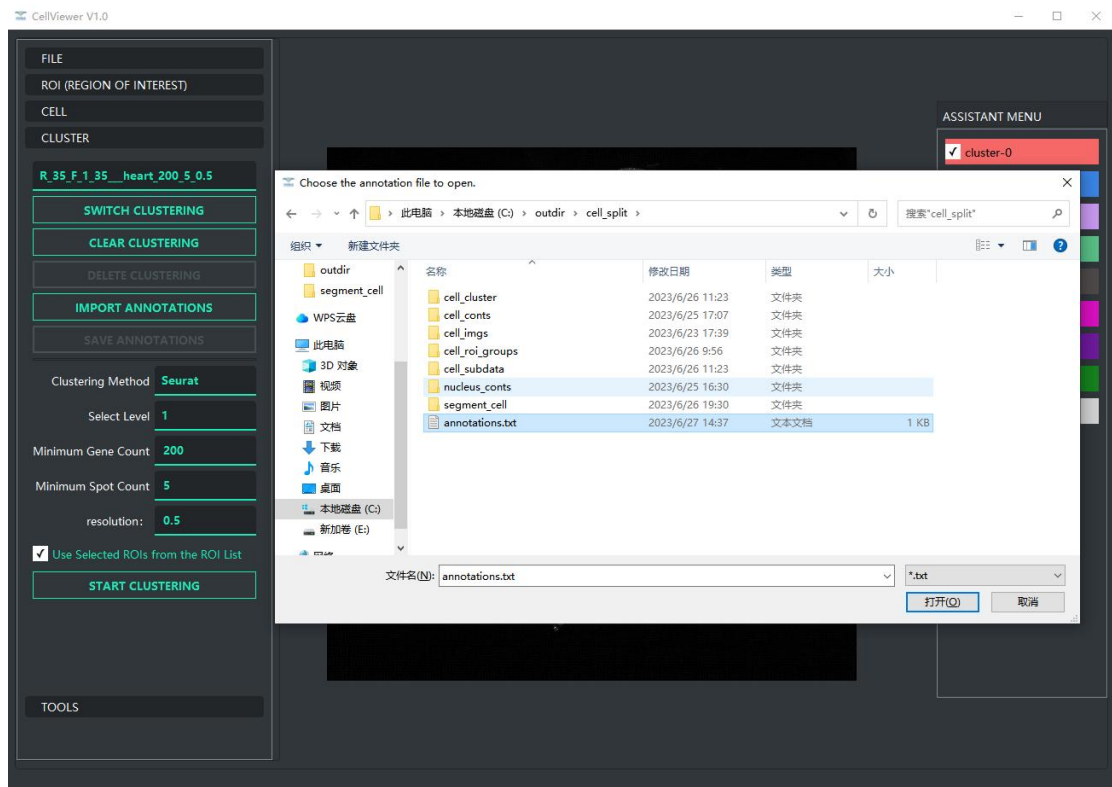
然后点击 **START CLUSTERING** 按钮，启动聚类。聚类结果如下：

The screenshot displays the CellViewer V1.0 interface. On the left, a control panel includes a menu with options like FILE, ROI (REGION OF INTEREST), CELL, and CLUSTER. Below these are buttons for SWITCH CLUSTERING, CLEAR CLUSTERING, DELETE CLUSTERING, IMPORT ANNOTATIONS, and SAVE ANNOTATIONS. The Clustering Method is set to Seurat, with Select Level at 1, Minimum Gene Count at 200, Minimum Spot Count at 5, and resolution at 0.5. A checkbox for 'Use Selected ROIs from the ROI List' is checked. A prominent START CLUSTERING button is visible. The central area shows a heatmap of a heart-shaped region with various colored clusters. On the right, an ASSISTANT MENU lists clusters from cluster-0 to cluster-8, each with a checkmark and a colored bar. At the bottom left, a status bar reads 'Clustering Complete.'

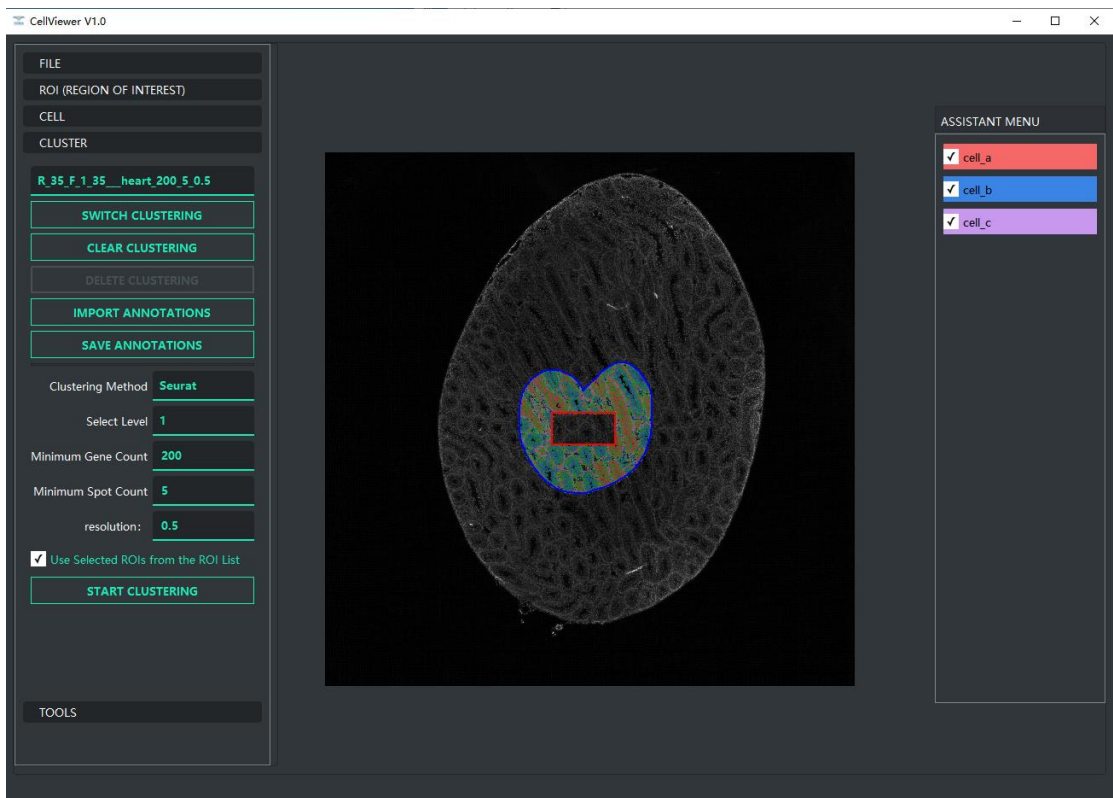
如果需要导入注释文件，则需要导入一个内容如下图所示的 txt 文件，其中最左边一列表示类别号，固定为阿拉伯数字，从 0 开始，数目与 ASSISTANT MENU 菜单中类别数目一致。第二列是类别所代表的细胞名。如下图所示：



鼠标左键单击 IMPROT ANNOTATIONS 按钮，在弹出的对话框中找到并选中注释文件，点击打开。



然后聚类信息会自动进行刷新同步，如下图所示：

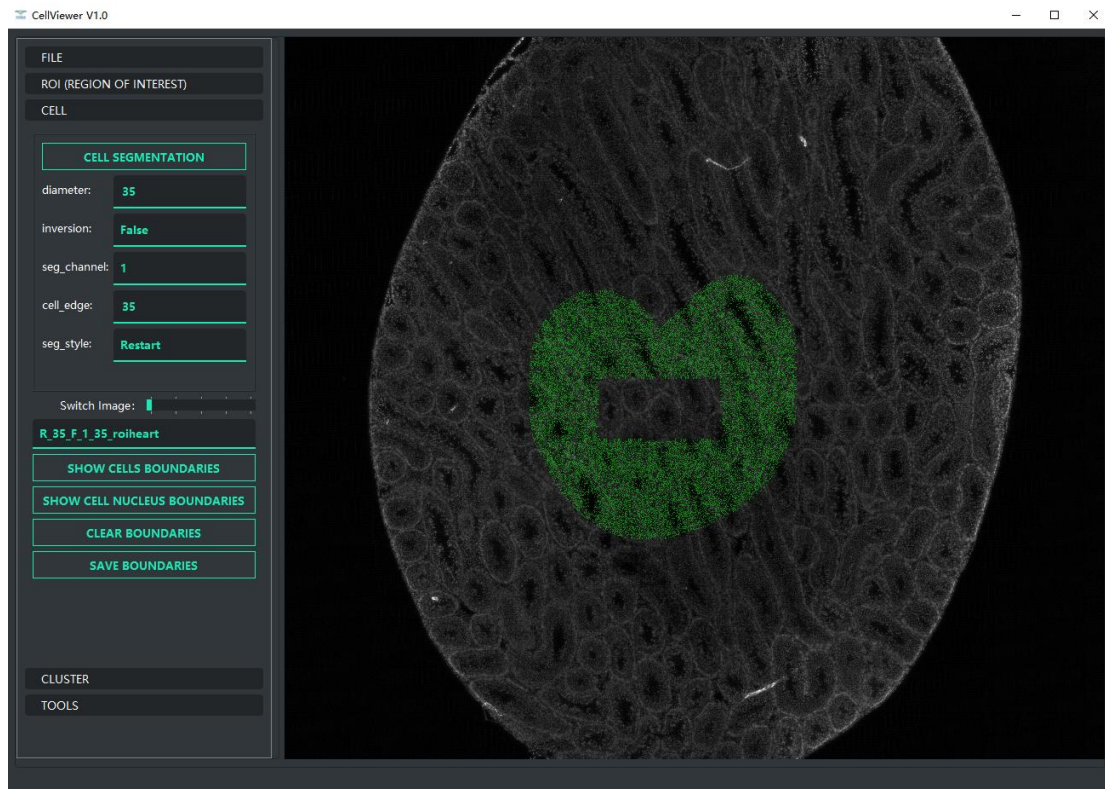


5、TOOLS 功能区

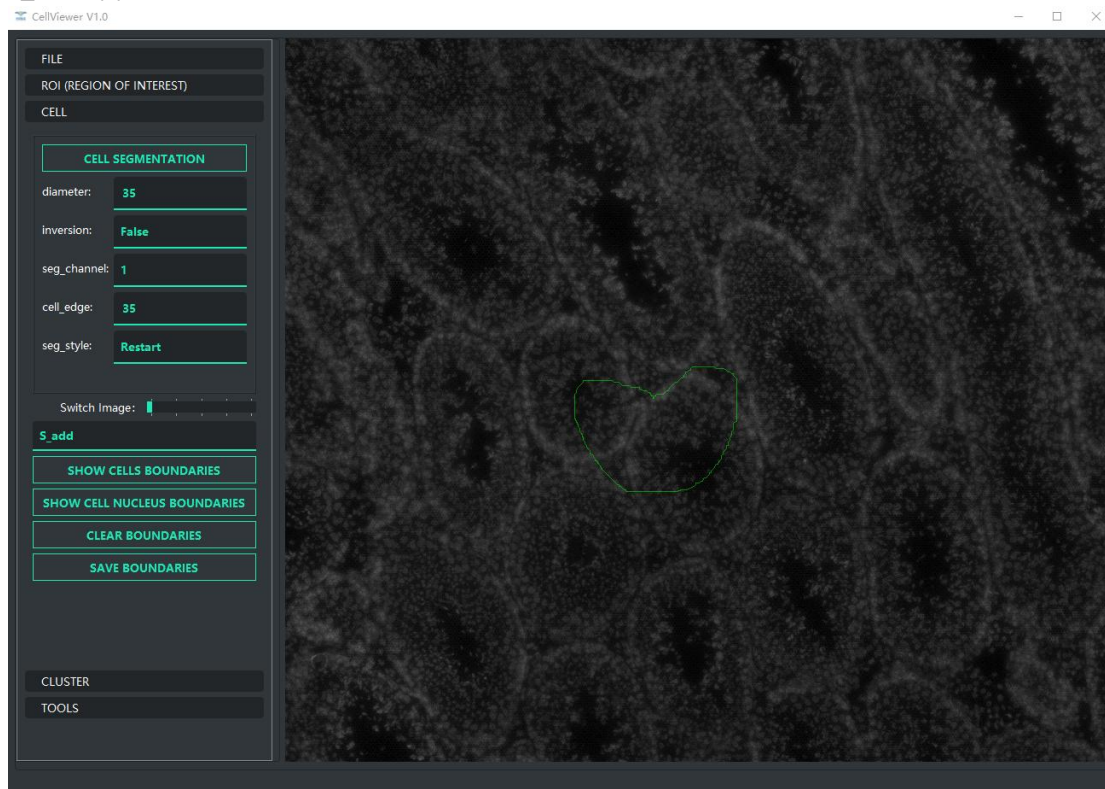
IMPORT MERGED BOUNDARIES 按钮： 点击该按钮后可以选择同一幅图片的多个细胞 npy 文件进行合并。

示例：

R_35_F_1_35_roiheart.npy, 如下图所示：

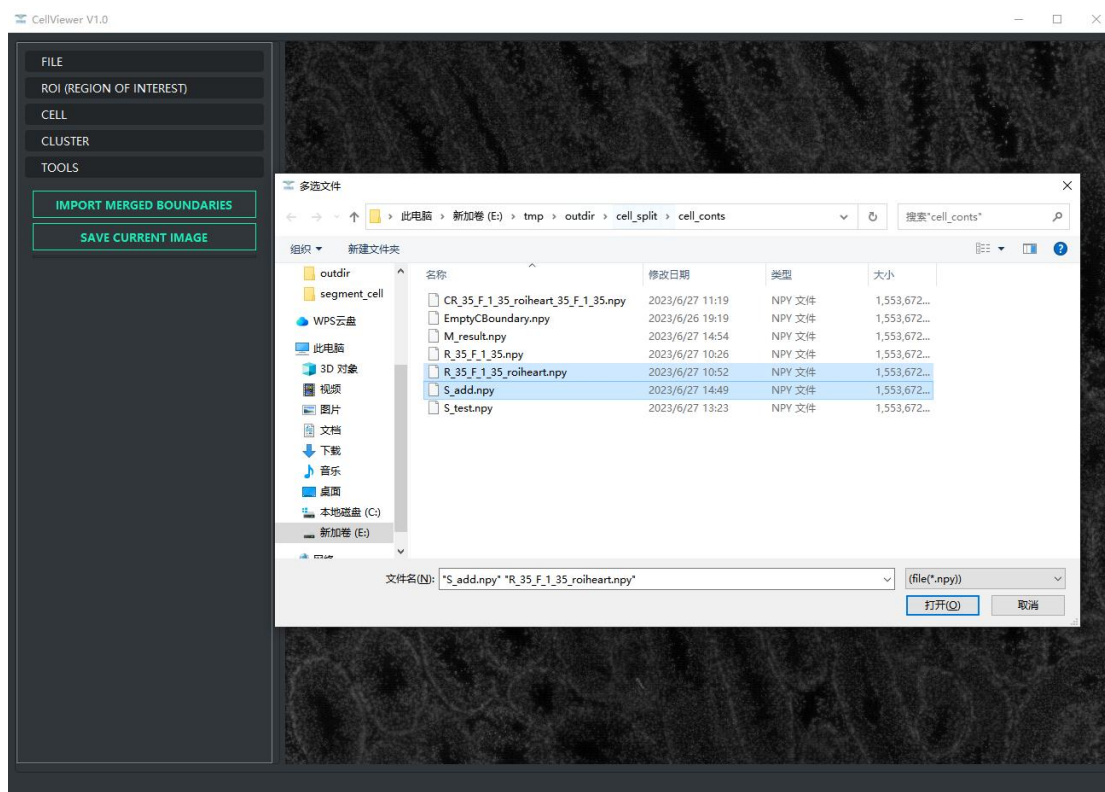


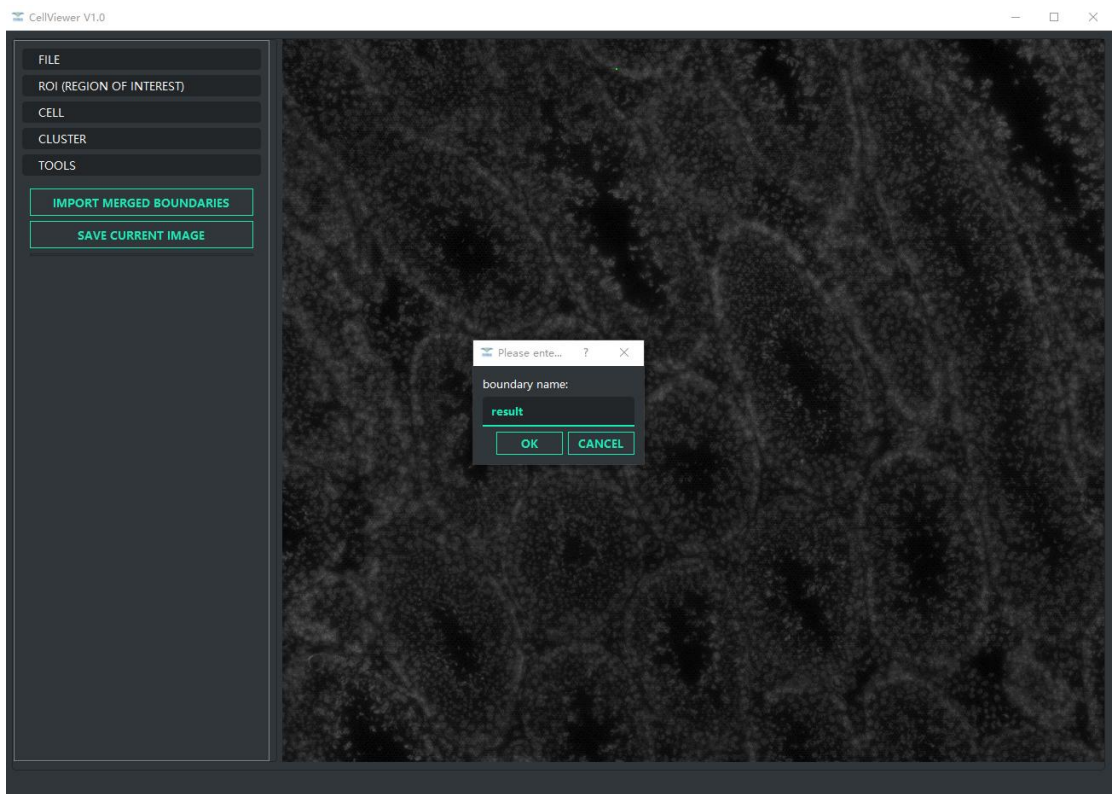
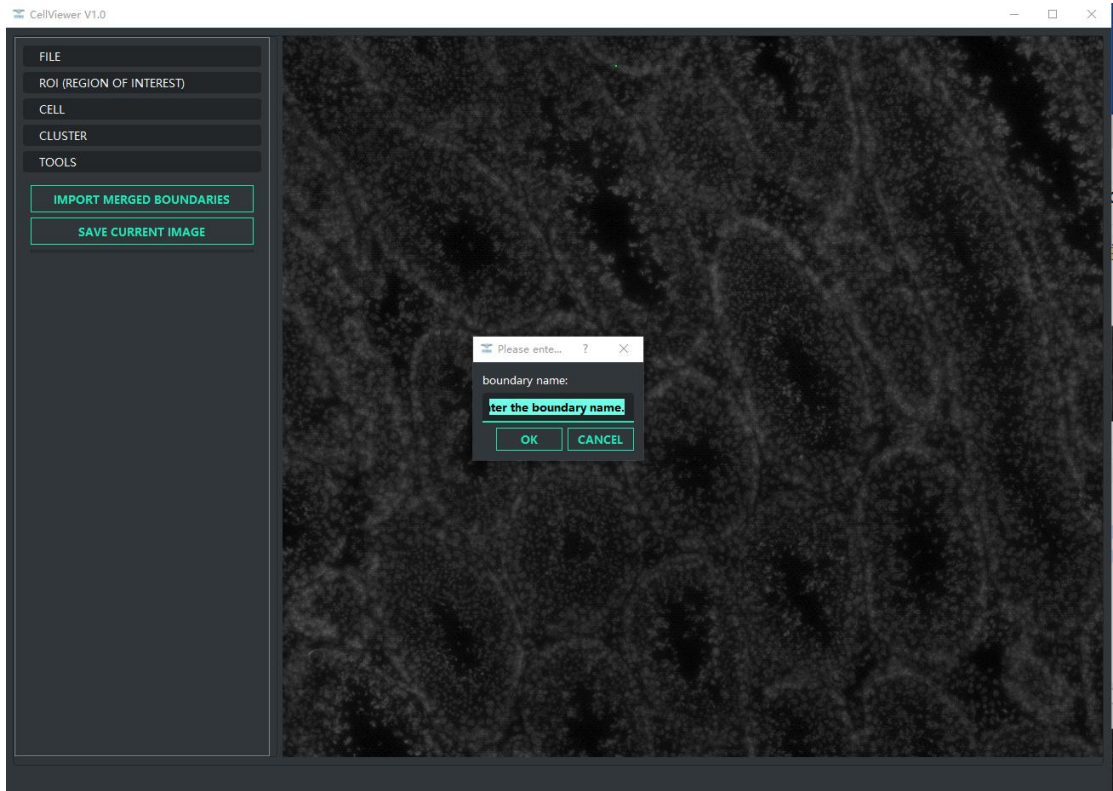
S_add.npy, 如下图所示:



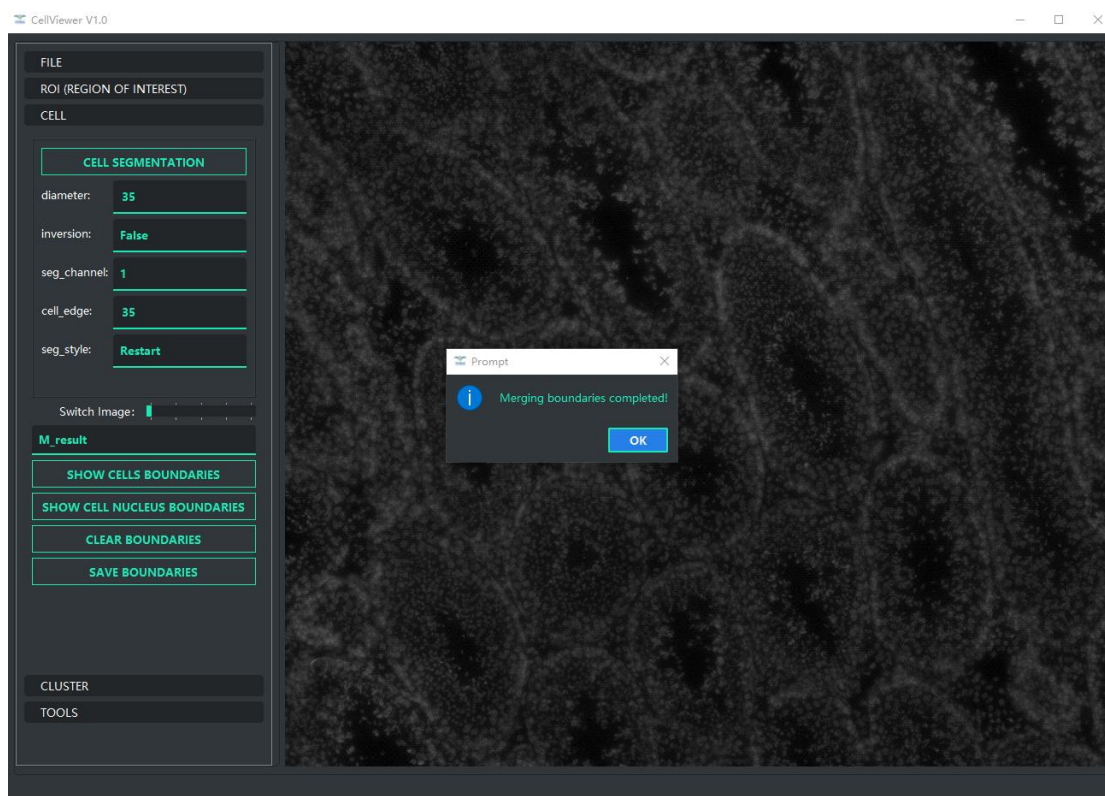
要合并 R_35_F_1_35_roiheart.npy 和 S_add.npy, 并将合并后结果命名为 result.npy. 如下图所示:

鼠标左键单击 IMPROT MERGED BOUNDARIES 按钮, 然后找到并按住 Ctrl 选择上述两个 npy 文件, 然后点击打开按钮, 在弹出的输入对话框中输入 result.

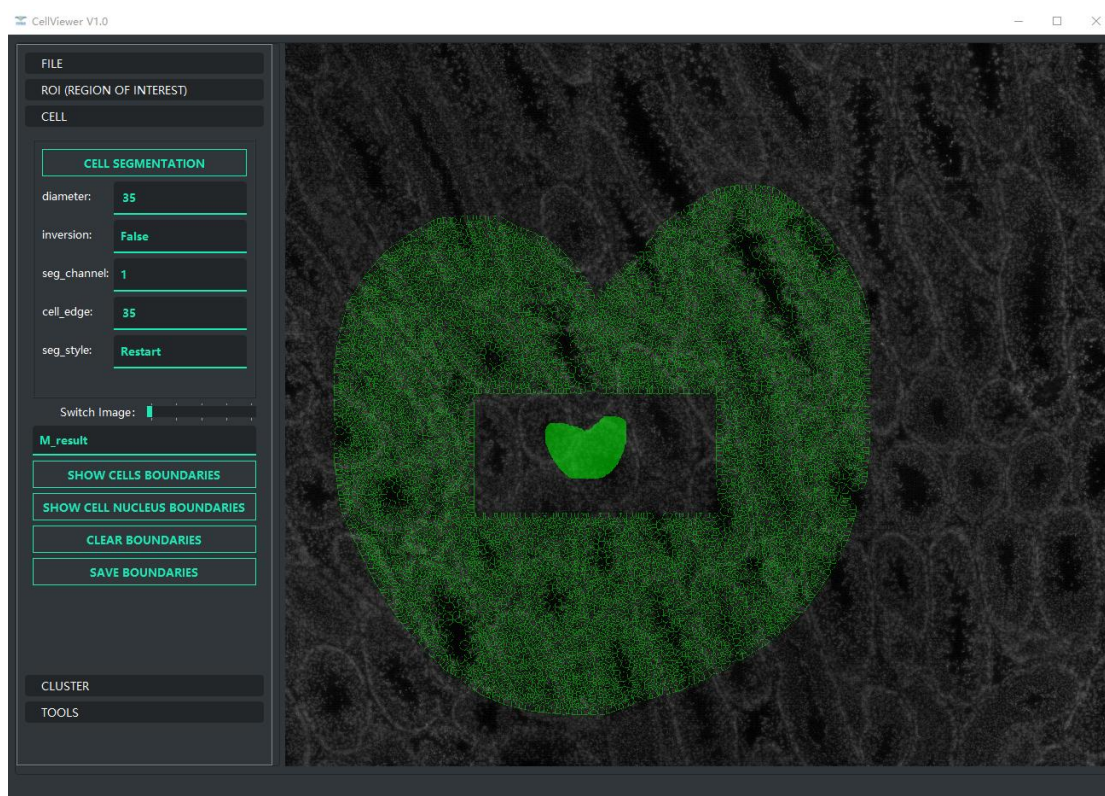




然后点击 OK 会进行保存，保存完成后并在 CELL 功能区的细胞分割列表中添加 M_result 条目。如下图所示：



显示合并后的 M_result 细胞边界，如下图所示：



SAVE CURRENT IMAGE 按钮: 点击后会保存当前显示的图像。图像保存在打开项目路径或创建项目路径下的./cell_split/cell_imgs 文件夹内。