

STOmics

CELL BIN Studio 操作指南

软件版本号：V1.0.6

参考手册版本号：A1

版本历史

参考手册版本	软件版本	修订日期	修订内容摘要
A1	V1.0.5	2022 年 11 月	◆ 首次发布

提示：请下载最新版说明书，与相应版本的软件配套使用。

版权声明：

本说明书版权归深圳华大生命科学研究院所有。未经本机构书面许可，任何其他个人或组织不得以任何形式对本说明书中的各项内容进行复制、拷贝、编辑或翻译为其他语言。

目录

1	介绍.....	5
2	安装与基本设置.....	5
	下载地址（建议下载最新版本）:	5
	电脑配置推荐:	5
	如何安装?	6
	模型准备	8
3	入门.....	9
	软件页面功能基础介绍.....	9
	图像处理	11
	3.1.1 Studio QC.....	11
	3.1.2 自动流程	12
	3.1.3 手动流程	14
	3.1.4 结果保存	14
4	教程.....	14
	4.1 如何手动拼接	14
	4.1.1 界面介绍	14
	4.1.2 拼接检查	16
	◆ 拼接移位检查及调整	16
	◆ 拼接模板点检查	20
	4.2 如何手动配准.....	25
	配准模块介绍及图像导入	25
	4.3 如何手动组织分割.....	30
	组织分割模块介绍及操作	30
	4.4 如何手动细胞分割.....	34

4.5 如何将 SAP 里的 ipr 导入 Studio	38
5 参考	41

1 介绍

Cell bin Studio 软件是一款能够线下实现 SAW 流程中图像处理的内部用户使用软件。

它能够为用户提供 cellbin 全流程自动操作，以及单独拼接、配准、组织分割、细胞分割各部分手动操作。

2 安装与基本设置

下载地址（建议下载最新版本）:

<https://gitlab.genomics.cn/biointelligence/implab/sterio-rnd/advancedtools/cellbin-studio>

版本号	特性	下载
1.0.0.221010	首次发布	click me
1.0.1.221011	无	click me
1.0.2.221014	1.拼接可加载历史记录 2.拼接视图中,会记录亮度值并相应显示 3.拼接视图中, ctrl+鼠标左键可跳转到下一张 4.会在拼接总览视图中显示当前位置	click me
1.0.3.2d5b5388	1.拼接显示热图 2.修复二次加载ipr不显示图像的bug	click me
1.0.4.e6b20eea	1.所有路径支持拖拽加载,需要打开安装路径运行main.exe才可以使用此功能 2.QC如果不通过会弹框提示 3.gem加载兼容16bit的数据 4.添加日志功能 5.分割bug修复 6.安装包内置所有model	click me
1.0.5.23cbb23e	1.拼接模块添加setColorMap按钮可将点击图块添加颜色, closeColorMap取消颜色添加 2.添加指引视频播放界面 3.添加导航图点击过的区域变色功能 4.添加热图置信度排序 5.添加QC不通过的数据流程支持 6.添加大图的流程支持 7.支持徕卡三通道数据	click me
1.0.6.22493bd5	1.拼接模块添加网格线拖拽 2.添加导入组织, 细胞mask导入 3.添加组织分割矩形填充 4.添加细胞修正可视化按钮 5.添加QC与ini文件中的中文检测 6.新增IF校准模块 7.新增tar.gz保存 8.拼接移动添加评分	click me

电脑配置推荐:

内存:	32G
-----	-----

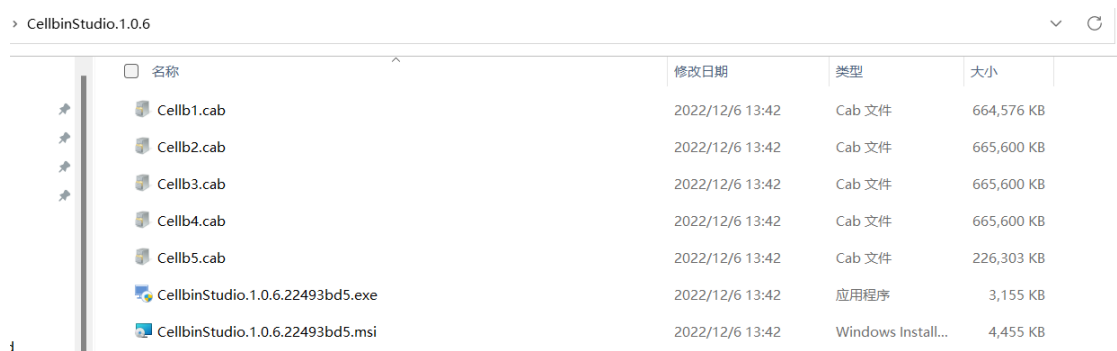
硬盘:	512G
显示屏:	1K

电脑内存若为 16G 时，使用 studio 中偶尔可能出现内存爆炸导致程序秒退的情况。

如何安装？

准备工作：

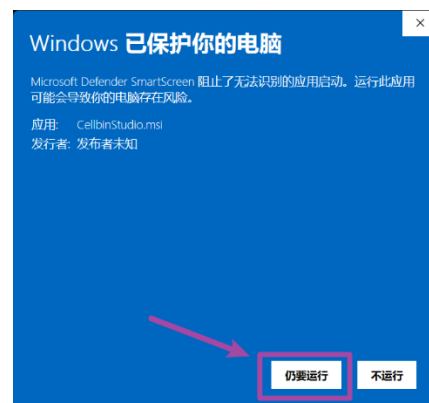
- 选择安装盘符并创建安装目录 d（如 D:\cellbinstudio）
- 剪切下载好的安装包到目录 d
- 在目录 d 下创建安装子目录 setup（安装过程的新生成文件会存放在这里）
- 准备工作完成后如下图所示：



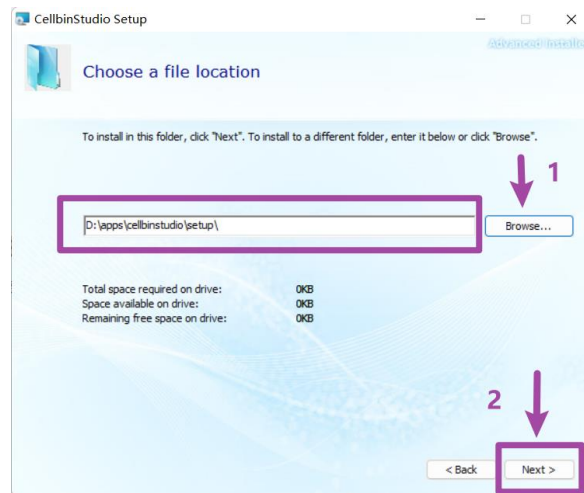
CellbinStudio.1.0.6				
名称	修改日期	类型	大小	
Cellb1.cab	2022/12/6 13:42	Cab 文件	664,576 KB	
Cellb2.cab	2022/12/6 13:42	Cab 文件	665,600 KB	
Cellb3.cab	2022/12/6 13:42	Cab 文件	665,600 KB	
Cellb4.cab	2022/12/6 13:42	Cab 文件	665,600 KB	
Cellb5.cab	2022/12/6 13:42	Cab 文件	226,303 KB	
CellbinStudio.1.0.6.22493bd5.exe	2022/12/6 13:42	应用程序	3,155 KB	
CellbinStudio.1.0.6.22493bd5.msi	2022/12/6 13:42	Windows Install...	4,455 KB	

开始安装：

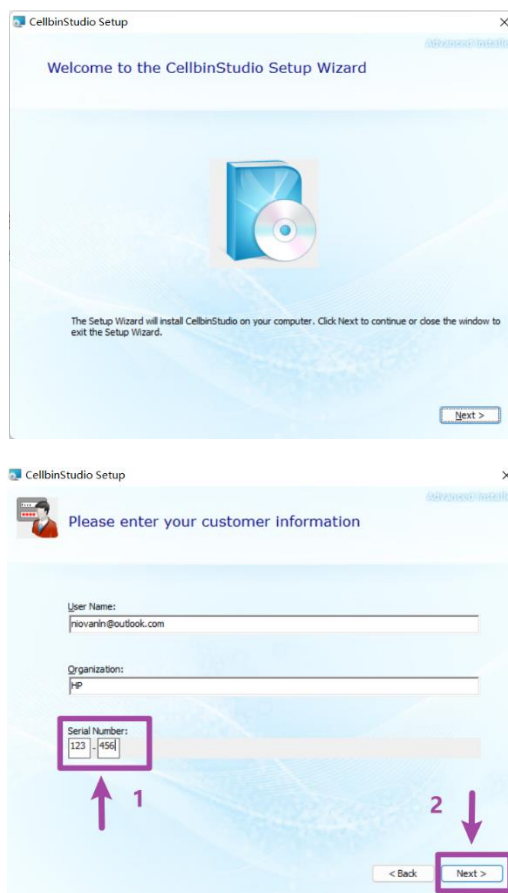
- 双击安装程序 CellbinStudio.1.0.6.4a28eda6.exe
- (可选) 当主机安装了杀毒软件，会存在下述警告，选择“仍要运行”继续



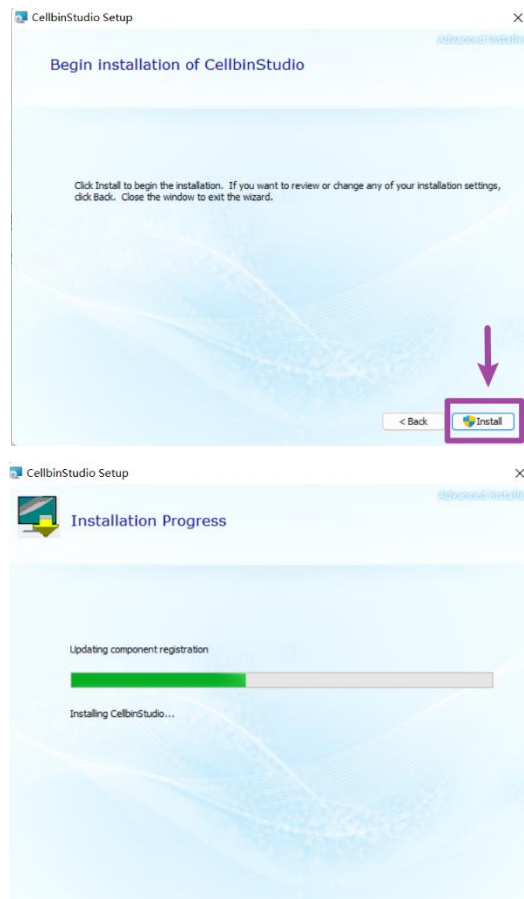
- ◆ 指定安装盘符（如 D:\cellbinstudio\setup）



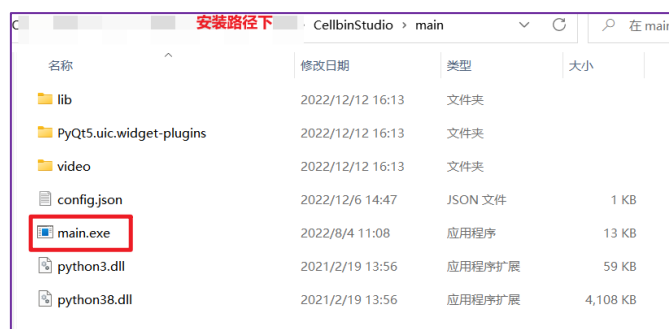
- ◆ 默认下一步，至输入序列编码 [123456] 页面。



- ◆ 正式安装，等待约 1-3 分钟（因主机软硬件配置而存在时间差异）



- ◆ 安装完成后在安装路径下均可找到“安装路径\CellbinStudio\main”，双击点击 main.exe 打开,可以右键点击在桌面创建快捷方式。



模型准备

说明：工具内置模块涉及神经网络模型（CNN）的有，imageQC、组织分割和细胞分割。

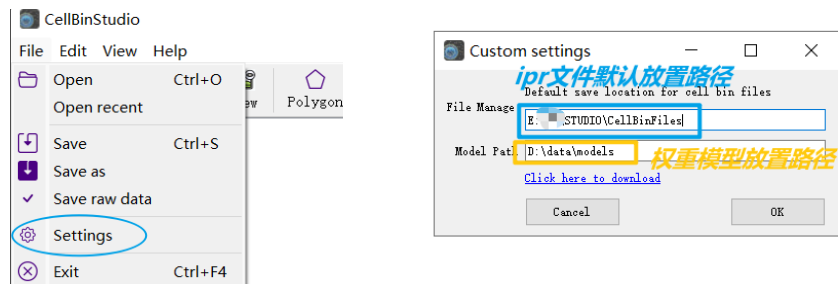
下载地址：

<https://pan.genomics.cn/ucdisk/s/2iqE3a>

各个模型的对应关系如下图所示：

文件名称	
best_model.pth	自研细胞分割权重模型
weight_tissue_cut_tool_220304.hdf5	组织分割权重模型
ST_TP_V2_05_13_Nano.pt	IMageQC权重模型

自定义存放路径：下载完成后，将权重模型放到自定义路径 P 下，打开 Studio 软件后，在 File/settings 弹框中确认好路径 P，如下图所示。

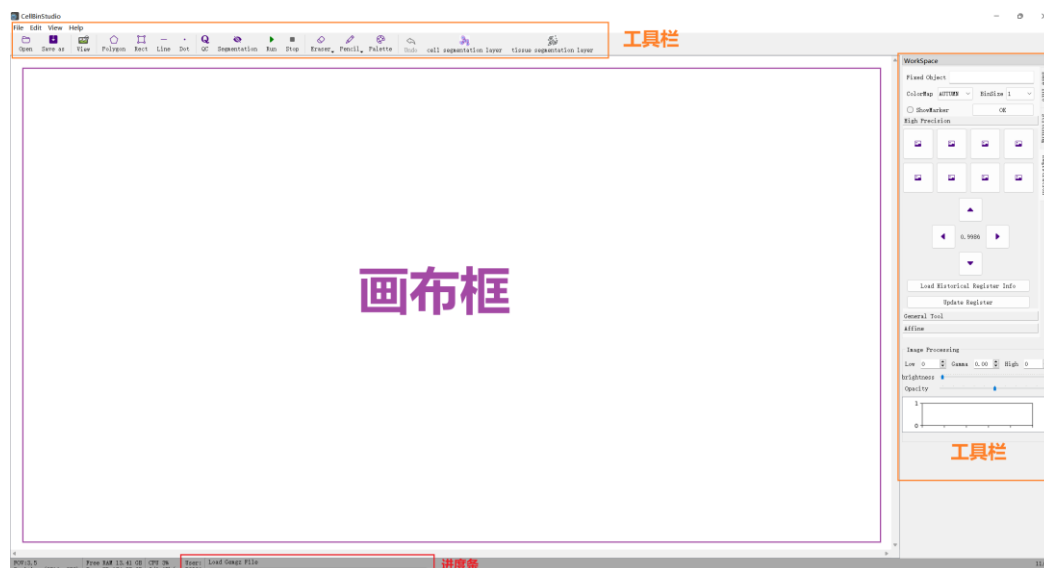


该窗口还可以设置 ipr 的存储路径，可以选择默认路径或者修，如上图所示。

3 入门

软件页面功能基础介绍

打开 CellbinStudio，软件界面如下：



- ◆ **画布框**：展示当前操作时的图像，如拼接图、拼接局部图、配准图等。需搭配工具栏以及键盘按键操作。

键盘操作

鼠标滚轮

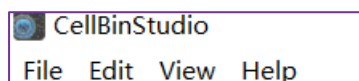
功能

图像上下滑动

shift + 鼠标滚轮	图像左右滑动
ctrl + 鼠标滚轮	图像缩放

- ◆ **上侧工具栏：**上侧工具栏包含两个部分

软件工具栏：主要功能在于打开 ipr，软件基础设置以及帮助。其余功能会在以下操作讲解中介绍。



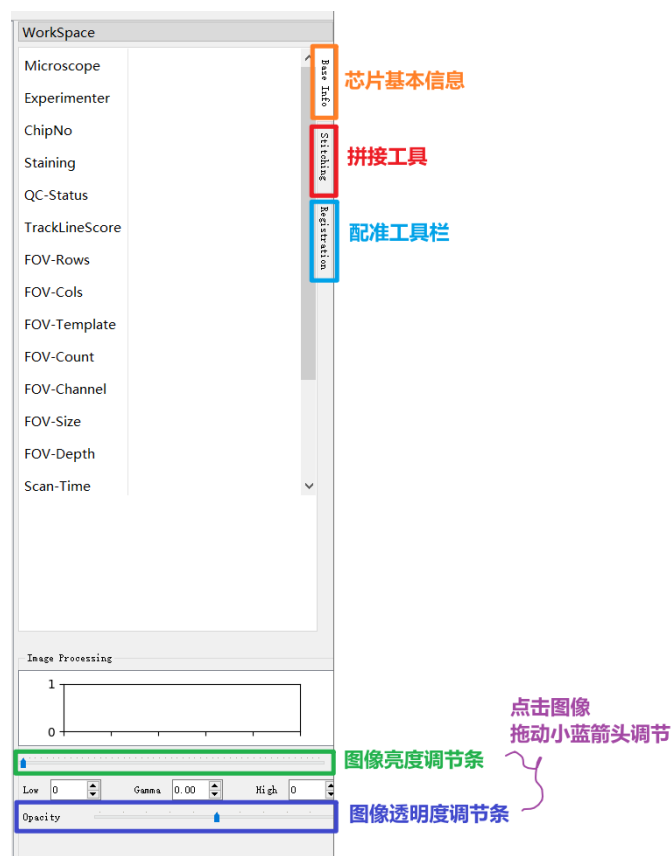
图像工具栏：该工具栏放置了对图像的**自动流程操作按钮**以及**手动分割相关工具**。解释

如下图：

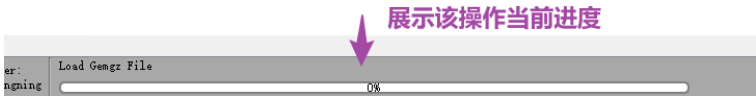


- ◆ **右侧工具栏：**该工具栏包括芯片基本信息、拼接工具、配准工具（这三者可以通过点击

下图中所选框框切换不同的工具界面栏）、图像亮度调节条以及图像透明度调节条。

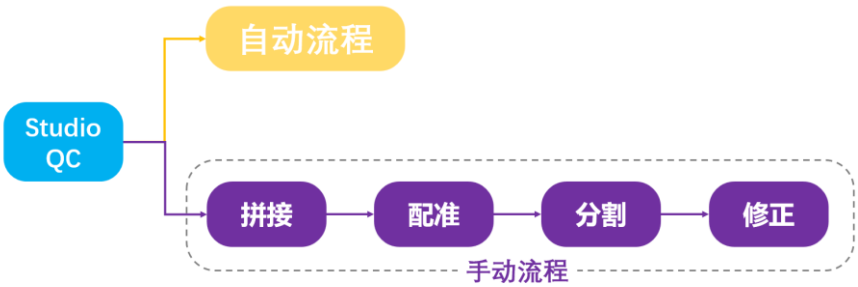


- ◆ **下方进度条：**可展示执行 QC 操作、重拼接、输入 gem、重配准时的进度。展示区域如下图所示：



图像处理

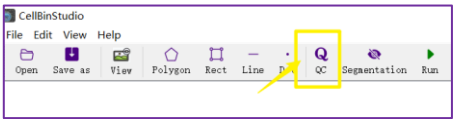
对图像进行图像处理可以有两种操作方式：一种是通过用自动流程的方法，对图像直接进行拼接，配准，组织分割，细胞分割、细胞修正的操作；另一种是对于上述的步骤，每一步都进行手动处理。



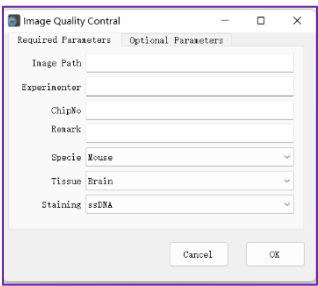
3.1.1 Studio QC

在开始使用 Studio 时需要有 Studio QC 过的 ipr。获得 Studio QC 过的 ipr 方式如下：

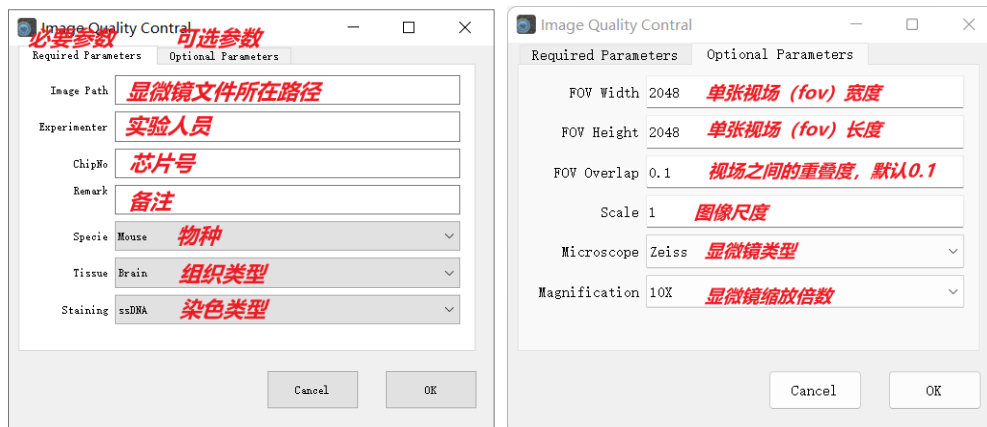
- 1、点击上侧工具栏中的 QC 图案，如右所示：



点击之后会弹出一个窗口。



- 2、窗口上参数的意思如下图所示：



在必要参数页面，将显微镜文件或者拼接大图拖入 Image Path（或者直接在里面输入路径文件路径），填写好实验人员、芯片号、备注（非必选），点击下方 OK，开始 QC。

- ◆ 若是使用显微镜文件 QC，显微镜文件夹中必须包含如下文件：



- ◆ 若是使用拼接大图 QC，必须填写 QC 窗口中可选参数的页面，若没有特殊需求，可按照上上图中的数字填写。

请注意：输入的路径不要包含中文，若是使用显微镜文件，请确保 1.ini 中的路径不包含中文！

3、等待软件下方的进度条完成后，软件会自动弹出输入选择 ipr 的窗口，点击刚刚 QC 的芯片号，主画布上会出现该芯片的预拼接图像（若是拼接大图，则展示原图）。

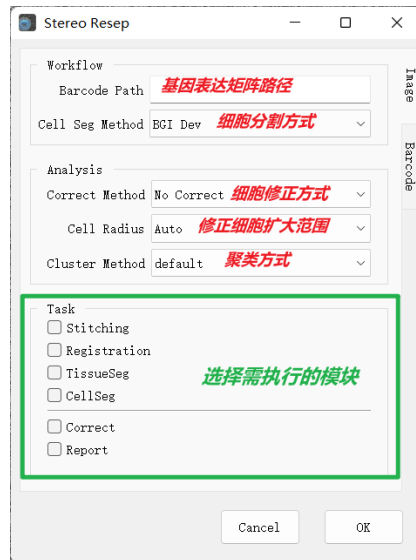
若该图像不过 QC，会弹出弹框提醒，但是不影响接下来的操作。

3.1.2 自动流程

若用户是走自动流程，点击上方工具栏的 run，可根据模块选择自动跑 cell bin 流程。



弹出如下窗口，可以在选择执行的模块（如下图绿色框所示）中可勾选的自动跑的流程，若选择的模块包含配准、分割、修正，则需要在绿色框上面选择所需要的方式。



修正方式设置：

选择 No correct，会在结果路径中生成 Cell_GetExp_gene_with_background.txt

选择 Fast correct，会在结果路径中生成 data_adjust_fast.txt

选择 Vor correct，会在结果路径中生成 data_adjust_vor.txt

快速修正算法下的细胞半径参数设置：

默认为 Auto，即程序自动设置半径参数。用户也可以根据自身数据情况自行设置。

注意：

- 1、目前自动流程中的拼接还不能使用，需要手动拼接，这个功能后续会进行完善。
- 2、若勾选分割（TissueSeg，CellSeg）模块，需要确保勾选了 Registration，或者该图像已经完成了配准处理。
- 3、细胞分割的方式目前只能选择分水岭方式。

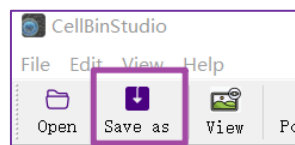
3.1.3 手动流程

若用户采用走手动流程，需要用户使用上侧工具栏和右侧工具栏来完成拼接，配准，分割各个模块的工作。每个模块具体的操作可以在以下教程中找到对应的方法。

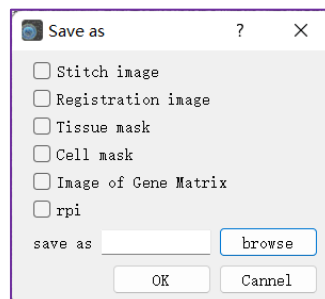
需确保按照拼接，配准，分割这个顺序执行。可全程都是手动处理，也可以在中间接入自动流程，如完成了手动拼接和手动配准后，采用自动分割和修正。

3.1.4 结果保存

点击上方工具栏中的 Save as，如下所示：



然后在弹框中勾选需要保存的结果即可。（需确保该结果已经生成。）

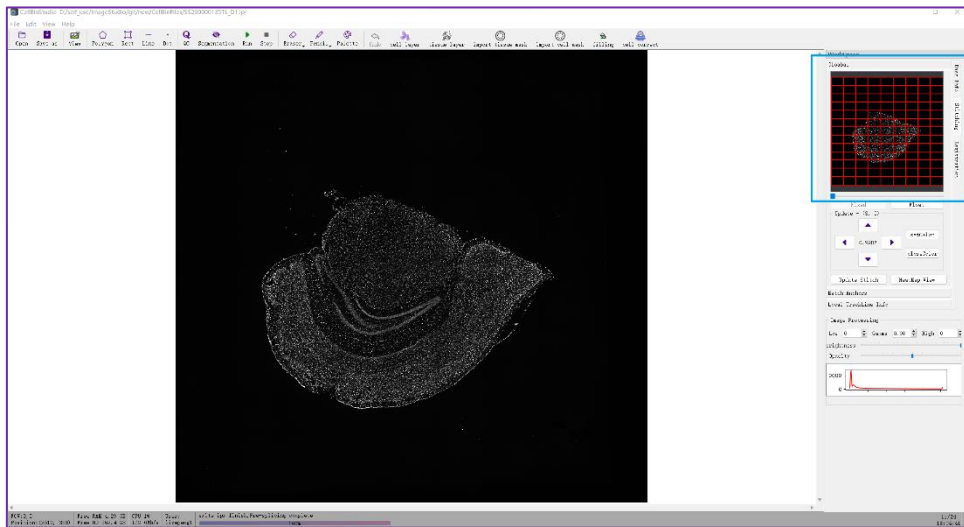


4 教程

4.1 如何手动拼接

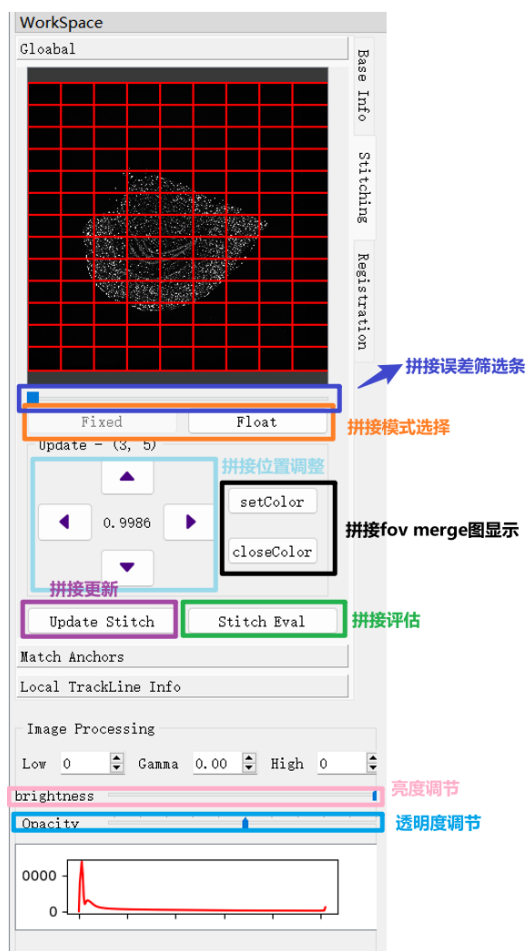
4.1.1 界面介绍

在加载进 ipr 之后，若该 ipr 之前未用 Studio 进行任何拼接，Studio 会先使用显微镜的拼接坐标给图像进行预拼接，主画布上会展示预拼接的效果。若不是第一次加载该 ipr，则使用上一次的拼接坐标进行拼接展示。如下所示：



界面居中的为已拼接的图像，右上方为图像的缩略图，用来定位 FOV 及展示热图（见

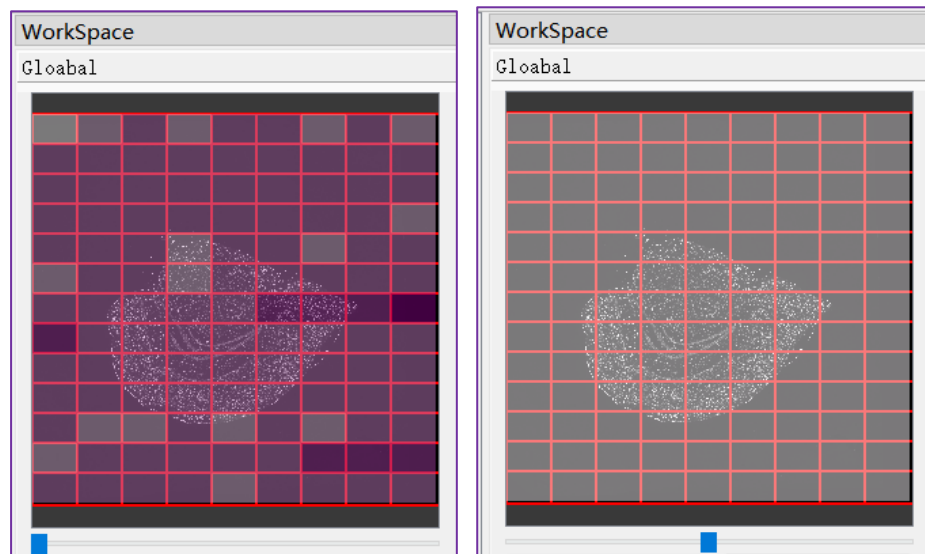
4.1.2 拼接检查）。



4.1.2 拼接检查

◆ 拼接移位检查及调整

点击工具栏内的[拼接评估热图显示](#) (Stitch Eval), 可在缩略图界面出现计算当前拼接图的像素误差如下所示, **若是大图流程则无需该步**。点击 HeatMap View 需要等待数分钟 (算法自动拼接计算), 请等待时不要进行任何操作。



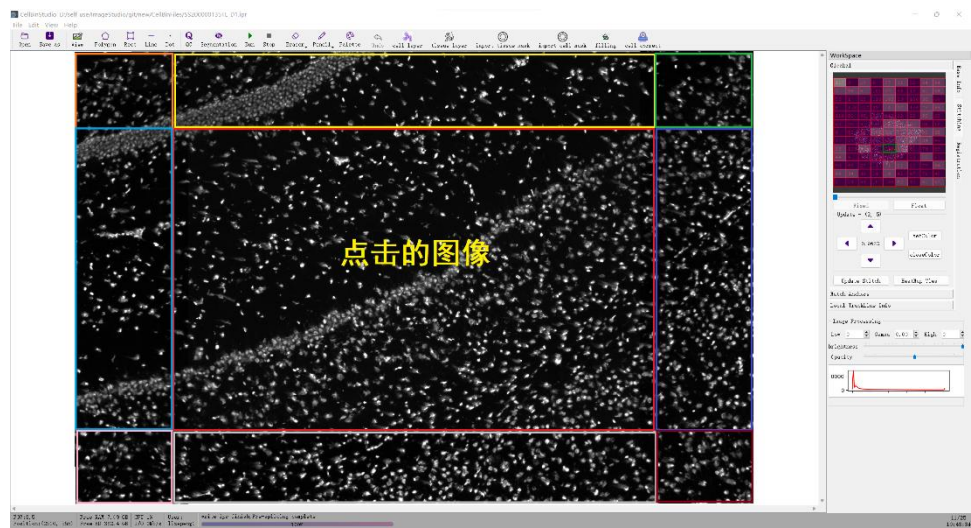
上图缩略图中, 不同 FOV 呈现不同深浅的红色, 表示该 FOV 与左边一张 FOV 和上边一张 FOV 的平均拼接误差。可将缩略图下方的滑条拖到中间, 若当滑块拖到中间时, 缩略图显示的是拼接误差大于 5 个像素的 FOV, 若图像如上方右图所示, 已经不存在有色块的 FOV, 表示该芯片的拼接误差均小于 5 个像素 (可不再调整拼接)。

缩略图下方的滑动条从左到右表示分别筛选大于 1~10 个像素的拼接误差, 低于该值的误差不显示。

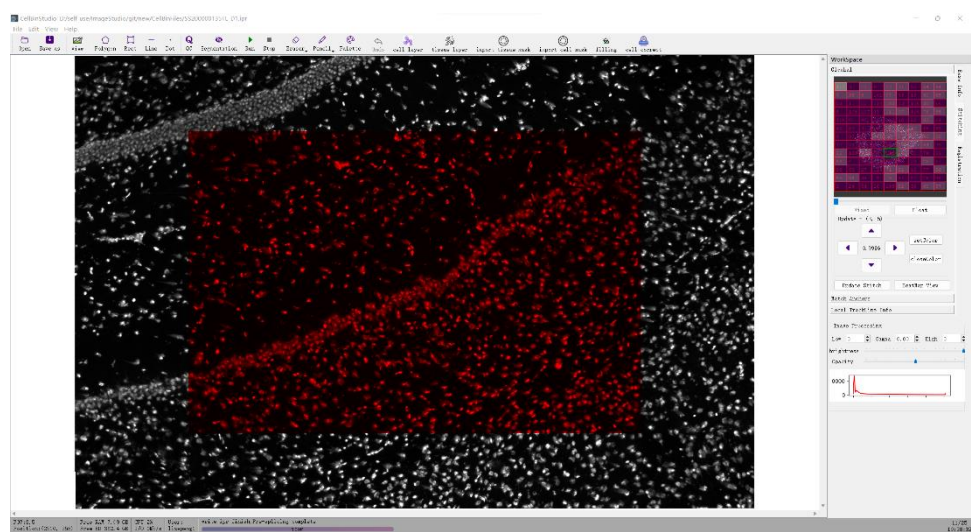
若缩略图中的 fov 上出现数字 “-1”, 则表示在计算拼接评估时该 FOV 计算出来的置信度较低, 需要客户手动点击该图查看实际是否存在拼接误差 (与上图和左图), 所有则需要手

动调整。

若存在不能接受的误差值，可以点击缩略图到对应的 FOV 进行查看。

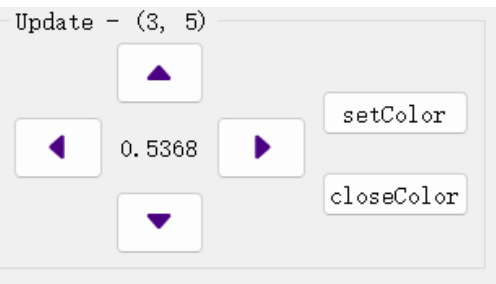
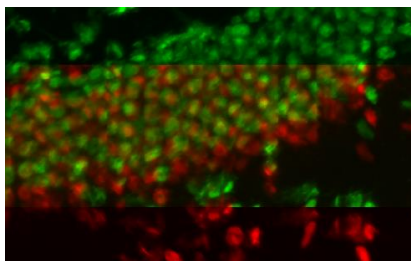
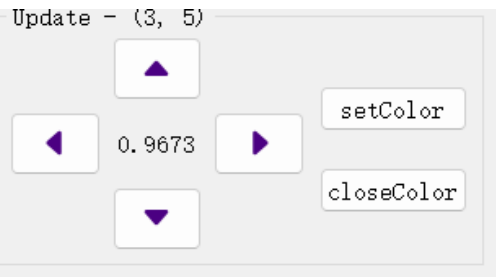
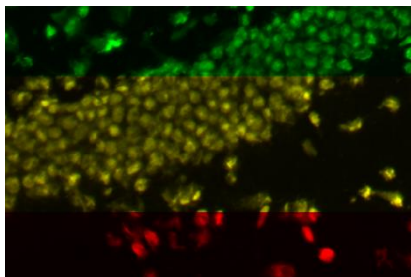
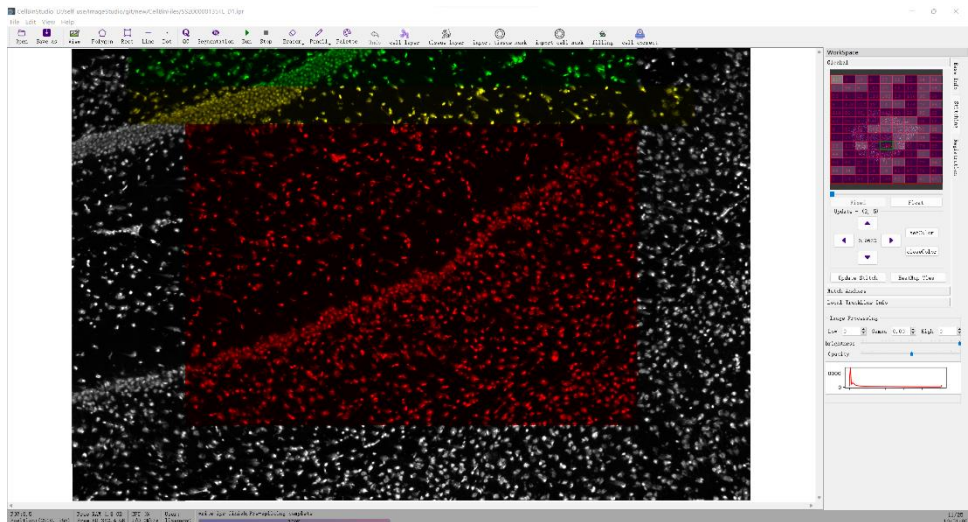


如图点击对应位置，将跳转到对应位置进行拼接，此时视图展示的是该 FOV 与其相邻的八张图像的拼接情况，使用[拼接 merge 图显示功能](#)，所[点击](#)的图像位置居中，再点击 `setColor`，如下图：



再[点击](#)需要对齐的 FOV，之后点击 `setColor`，可显示两张图像重叠区域的 merge 图，

且右方工具栏**拼接位置调整模块**中心会出现 merge 图拼接数值。



移动中心图像的操作如下：

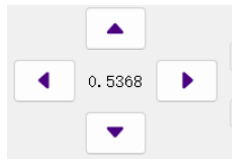
操作

解释：

键盘中上下左右键操作

对中心图像进行小幅度移动

右侧工具栏中上下左右键操作



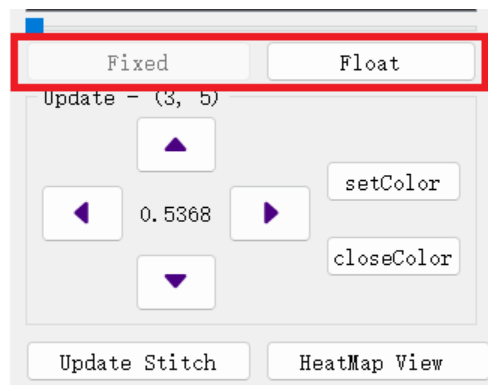
对中心图像大幅度移动。

注意：若使用了这种移动方式，在使用

键盘中的上下左右键进行微调，需要再

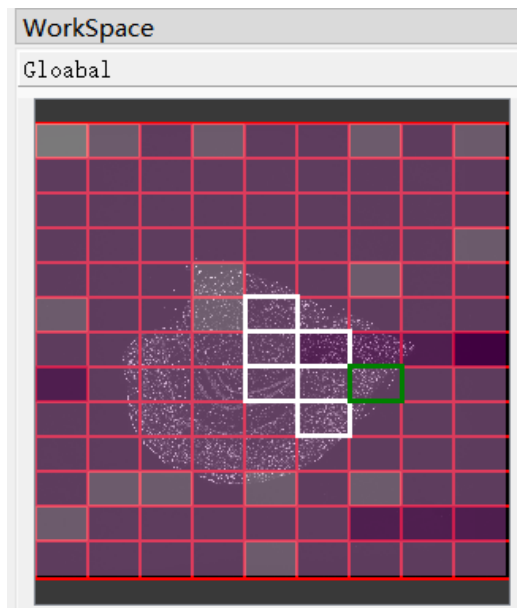
点击一下中心图像。

将中心图像 FOV 拖动到最佳位置时，此时有两种坐标更新模式进行选择，



默认是 **Fixed**，即全局其他 FOV 位置不动，只更新中心单个 FOV 的坐标，若点击 **Float** 模式，即采用拼接评估计算出来的相对坐标和调整的 FOV 的坐标重新计算全局坐标（速度会慢一点）。

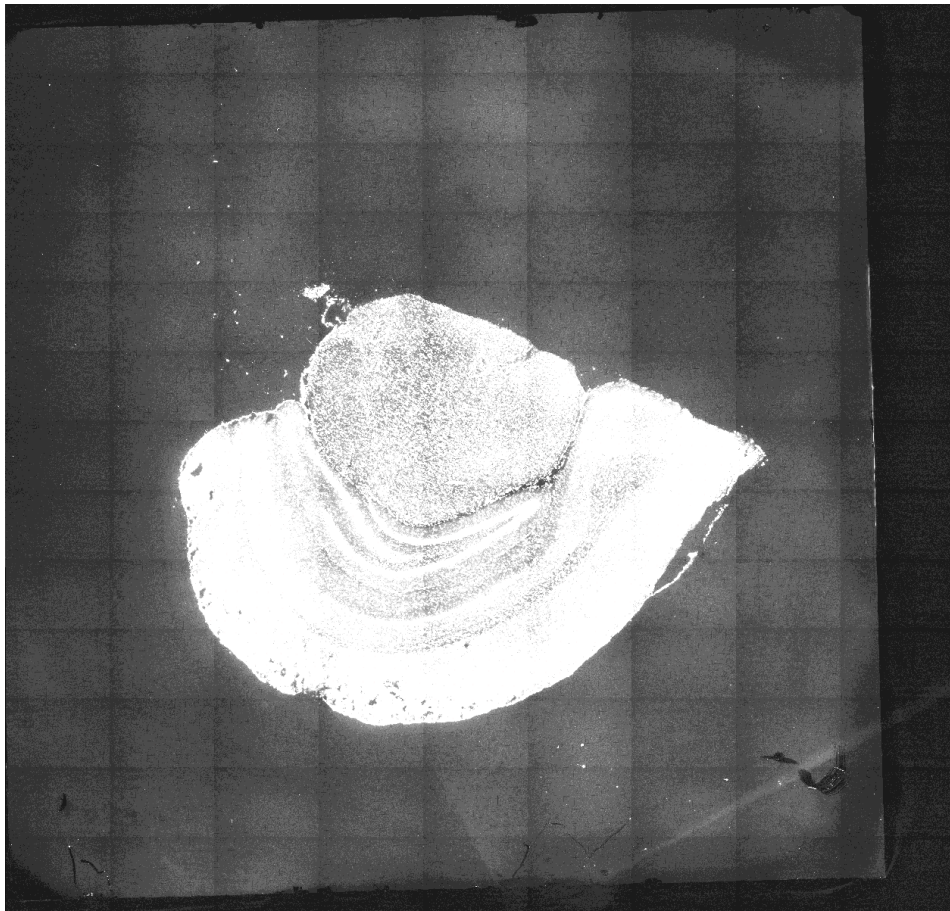
若需要跳转到相邻的 FOV 进行拼接，可按住 Ctrl + 鼠标左键（对应区域），即可完成跳转，已浏览过的区域会在缩略图上以白色方格标记，当前区域为绿色方格，如图：



待需要拼接的图像拼接完成后，可点击 [Update Stitch](#) 进行拼接即可。

◆ 拼接模板点检查

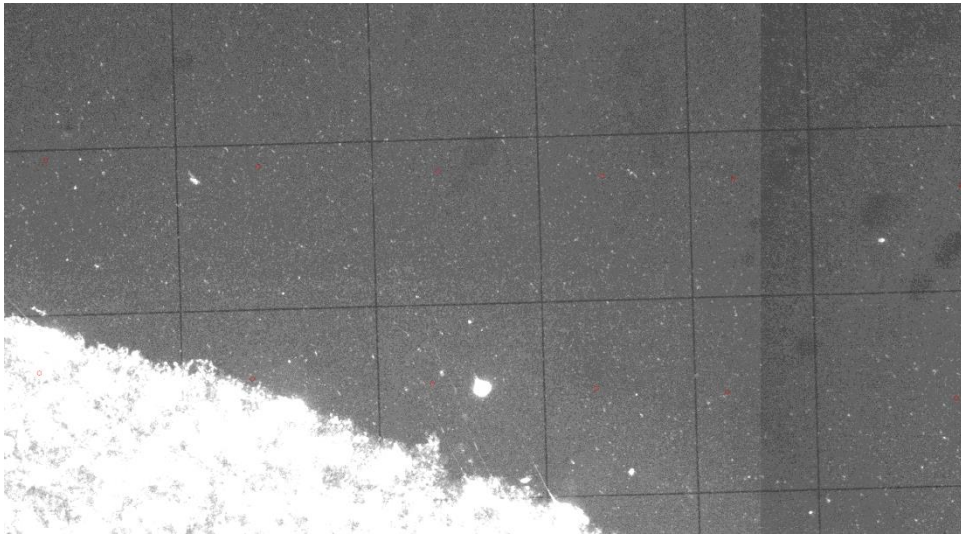
使用工具栏内的图像增亮模块，将图像的对比度调整到合适的阈值方便查看。



此时分为两种情况：

1、前序阶段 QC 通过

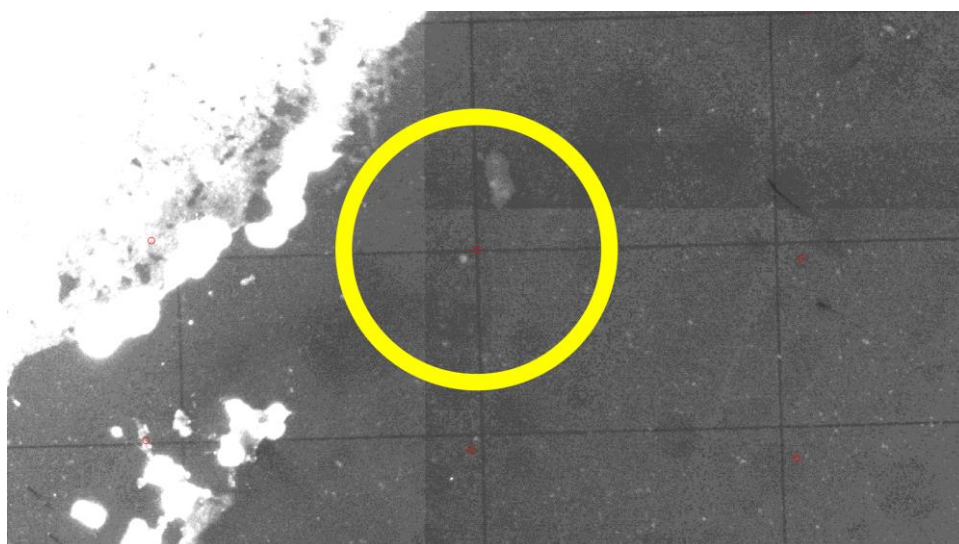
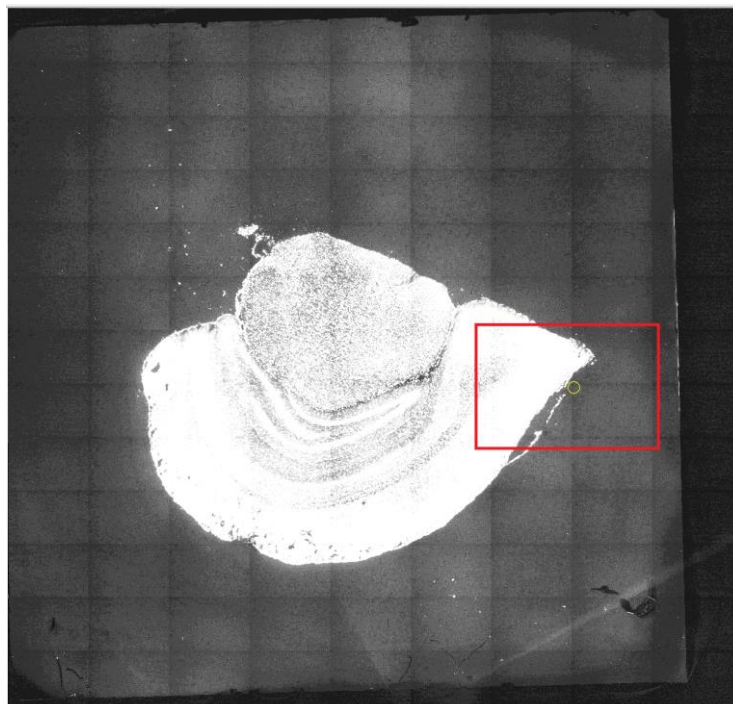
将图像放大后，可在视图内看到小红圈，其半径为 5，若图像中所有的 track 点均在红圈内部，即说明此时的模板点正确，无需再调整，若有大量的 track 点不在其内部，如下图所示：



则需进入[拼接模板线调整](#)模式，若 QC 未通过数据则无红圈。

Template Type	FP20		▼		
X-Scale	0.00	▲▼	Y-Scale	0.00	▲▼
X-Index	0	▲▼	Y-index	0	▲▼
X-Offset	0	▲▼	Y-Offset	0	▲▼
Rotation	0.00	▲▼			
TrackNet					

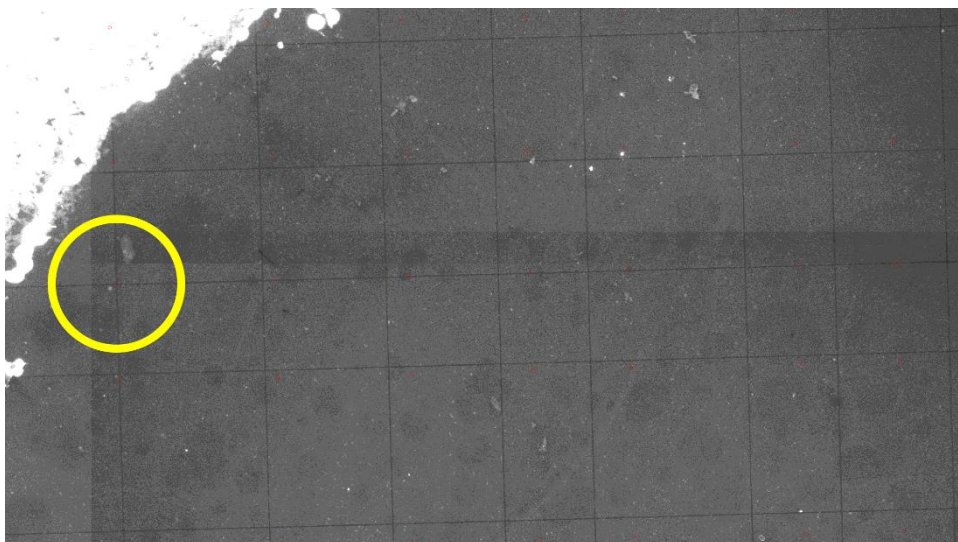
任意点击如 [X-Scale](#) 触发模板线调整，将在主视图上出现黄色圆圈，



首先调整角度，可在黄圈水平方向的红圈上进行 **Rotation** 的调整，若黄圈所在内的红圈

不在正确的 track 点上，则进入 QC 未通过模式：

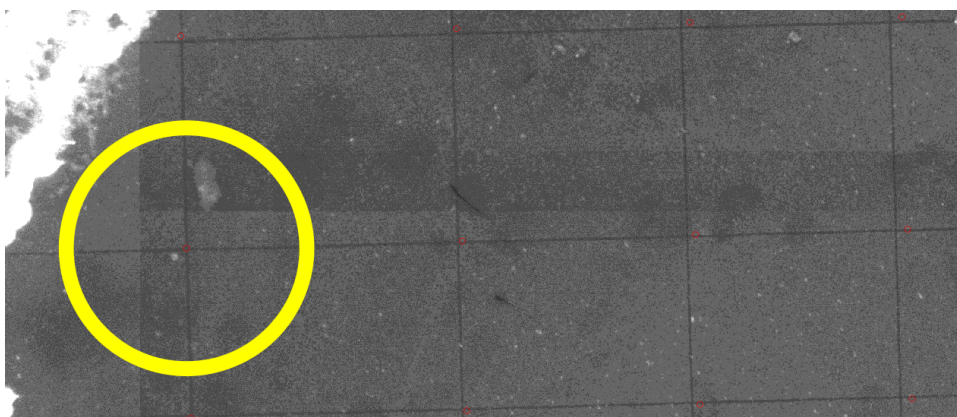
Template Type	FP20	
X-Scale	1.00	Y-Scale 0.00
X-Index	0	Y-index 0
X-Offset	0	Y-Offset 0
Rotation	0.00	
TrackNet		

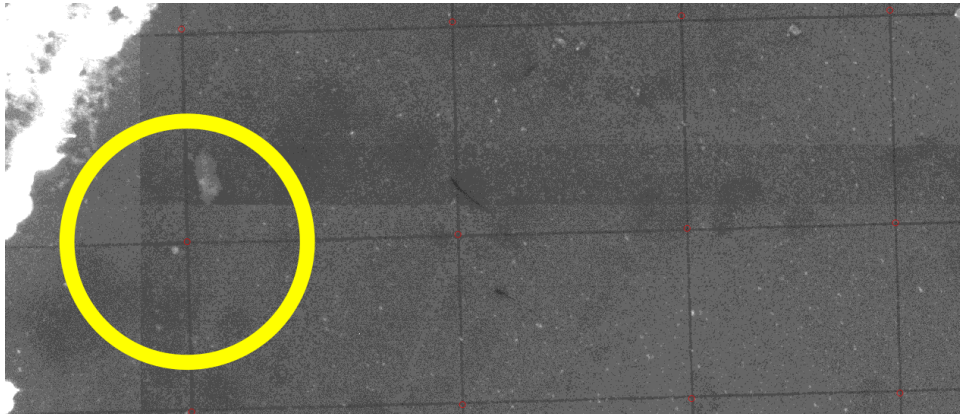


调整完近端的角度，可在远离黄圈的位置调整到更精细的角度，完成角度的调整后进入尺度的调整（[X-Scale](#) 和 [Y-Scale](#)）:

Template Type	FP20		
X-Scale	1.00	Y-Scale	0.00
X-Index	0	Y-index	0
X-Offset	0	Y-Offset	0
Rotation	0.00		
TrackNet			

同样是先调整近黄圈位置的尺度，再调整远端的，

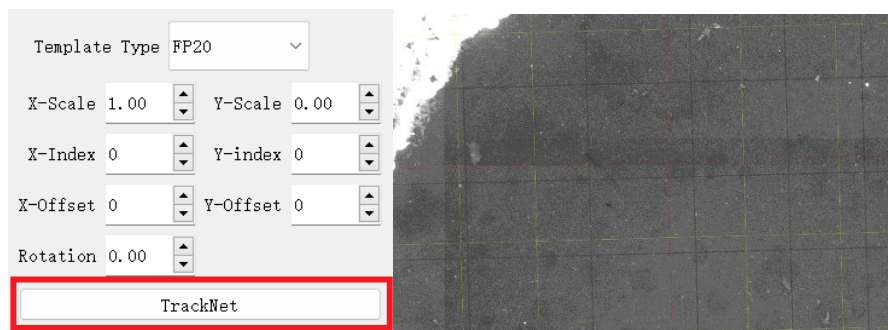




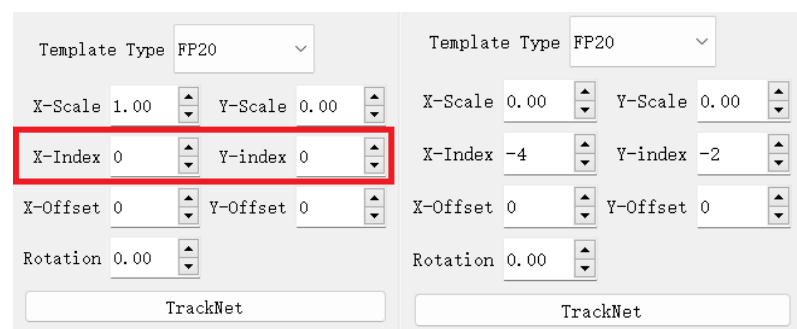
重复横向的 X 方向尺度调整和 Y 方向尺度调整，到两个最佳的尺度值即可，完成到此则**拼接模块结束**。

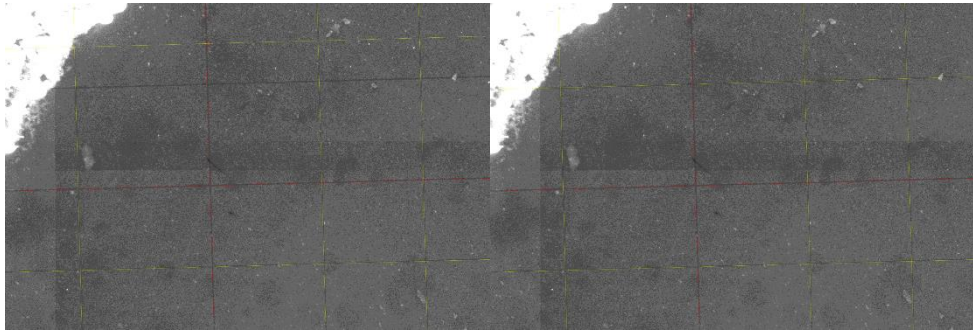
2、前序阶段 QC 未通过

当 QC 未通过或者 QC 错误时，则选择该模式，点击 TrackNet 进入标线（**若全图中 无法找寻到任何 track 点，则直接跳转到 4.2 手动配准**），如下图：



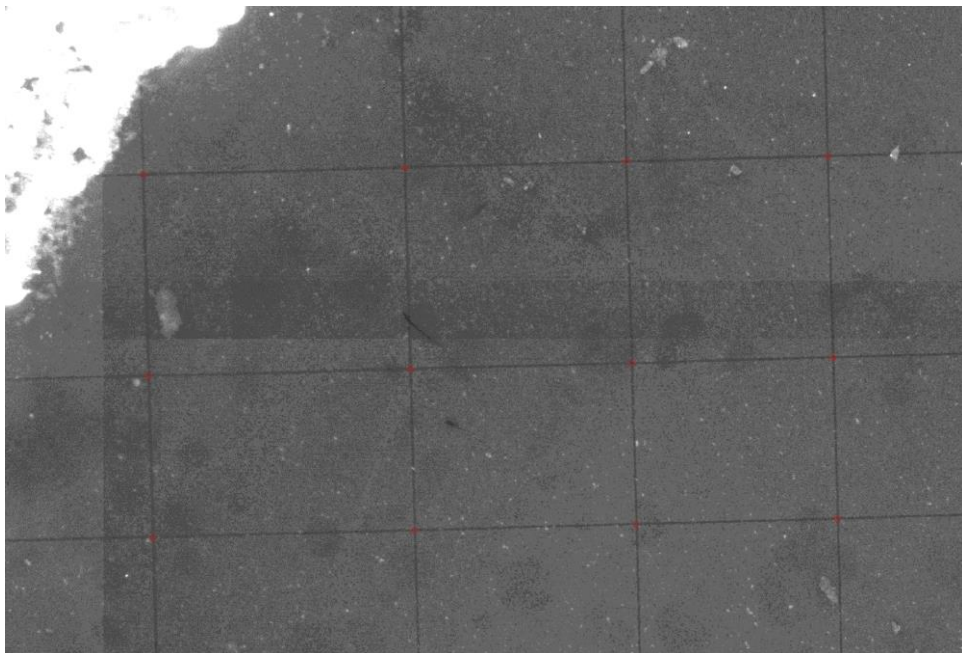
将生成随着鼠标移动的实时 track 线网格，此时点击图像中任意一点，进入锚定模式，此时同样需要首先调整角度（见 1. 前序阶段 QC 通过），待角度调整完成后，进入 track 线周期调整，如下图：





周期调整结束后，进入 Scale 的调整（见 1. 前序阶段 QC 通过），调整完成后，再**点击一**

下主屏幕，即开始依据生成的 track 线标红圈，如下图：

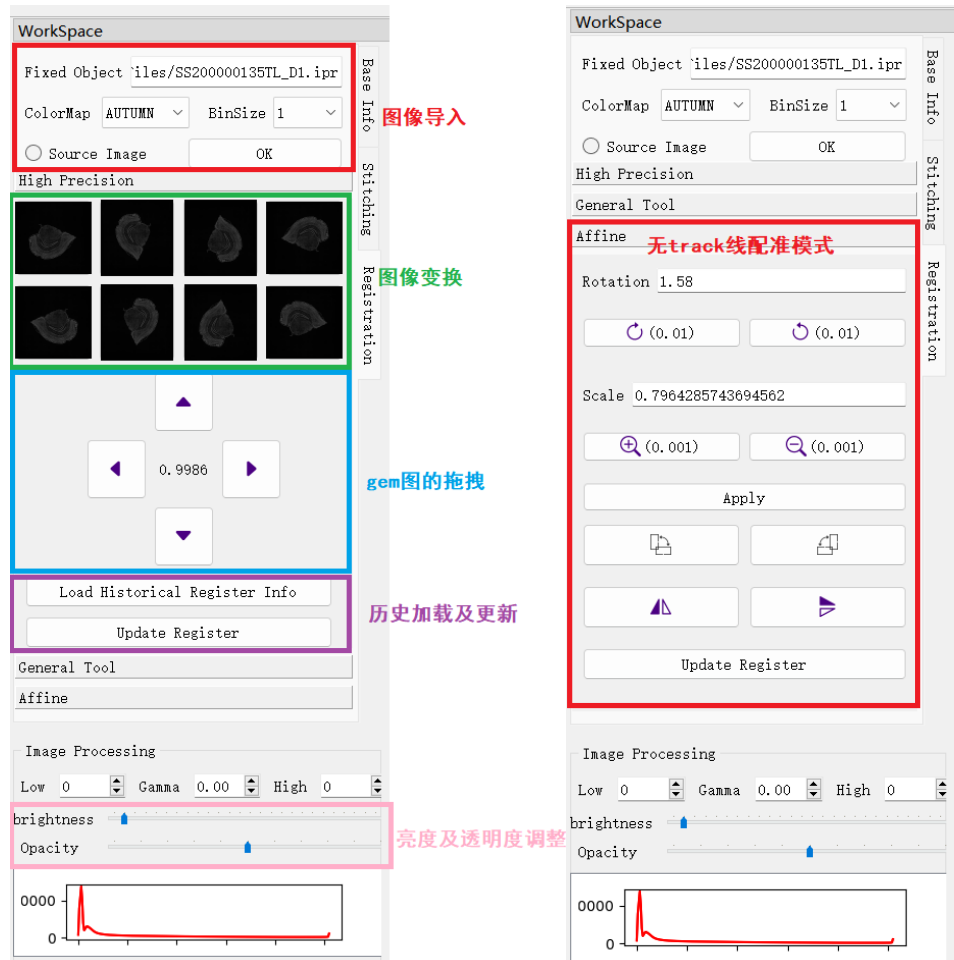


至此，**拼接模块结束**。

4.2 如何手动配准

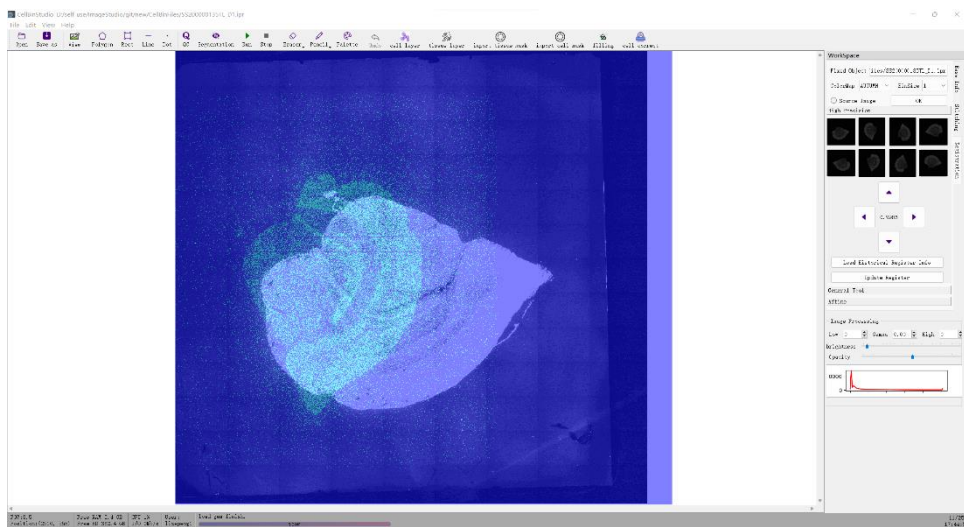
配准模块介绍及图像导入

在全部完成拼接模块后，第二步进入配准模块，模块界面如下图所示：



若是第一次导入测序矩阵文件，gem 图像导入模块的路径为空，可直接拖入文件即可，当前支持格式（**gem.gz**，**gef**，**tif**，**txt**）。若是非首次导入测序文件，则无需再次导入，其数据已在 ipr 内记录。其中，**ColorMap** 为矩阵图像的伪色彩选择，**BinSize** 为矩阵图 Bin 的大小，**Source Image** 为导入的图像不做任何处理，一般为导入非矩阵文件使用。

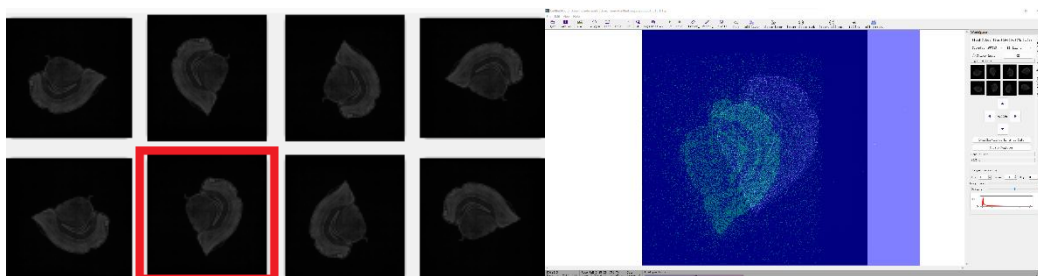
所有选择完成后，点击 **OK**，即可正式开始导入图像（首次导入速度较慢），如下图所示：



配准具备两种模式，有 track 线配准和无 track 线配准：

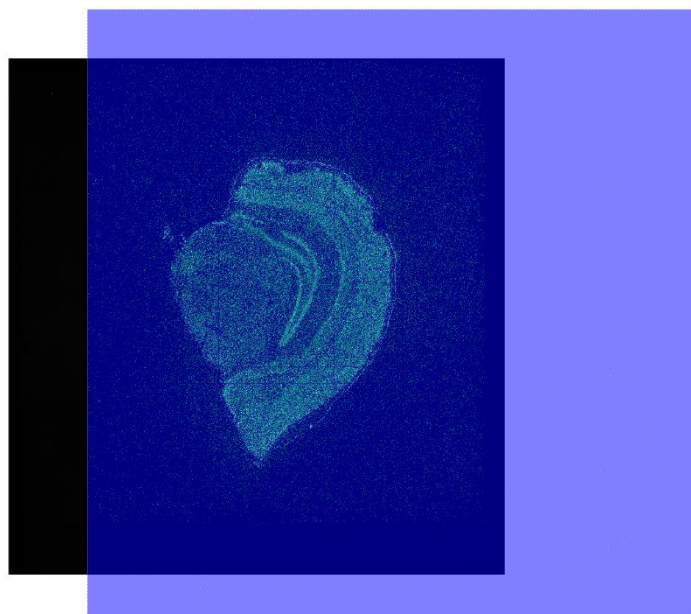
1.有 track 线配准

此时，根据矩阵图的形状，从图像变换模块中选择对应的图像，

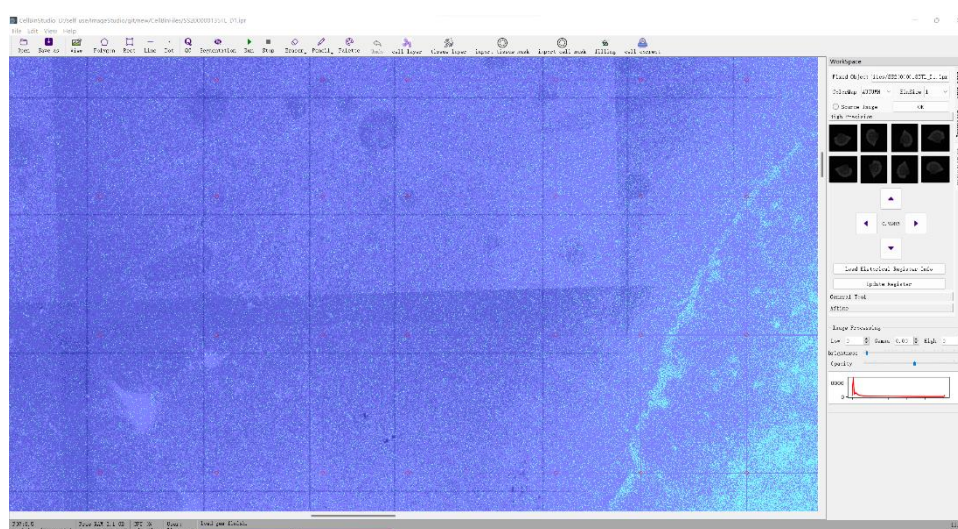


底图会根据拼接模块调整好的 track 点线进行自动的变换，使其与测序矩阵图在同一尺度下进行配准。

此时可拖动测序图大致对齐，如下图：



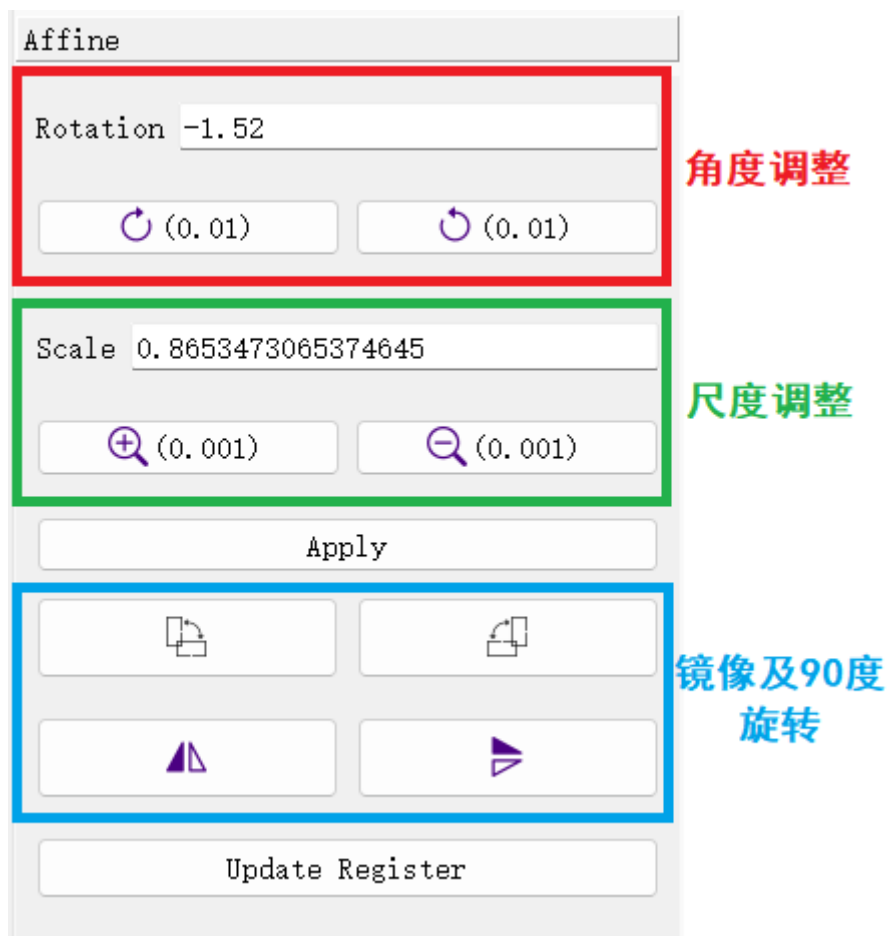
之后开始精细配准，可通过[亮度透明度调节模块](#)增强底图图像，或调节矩阵图的透明度。



可在视图中看到配准红圈及底图的 track 线，此时只需将红圈对齐到 track 线即可完成配准，并可查看其他位置的红圈是否对齐到对应位置上的 track 点，**若难以对齐，则可能时拼接模块未调整好**，需重回拼接模块进行操作，最后点击 [Update Register](#) 即可完成配准。

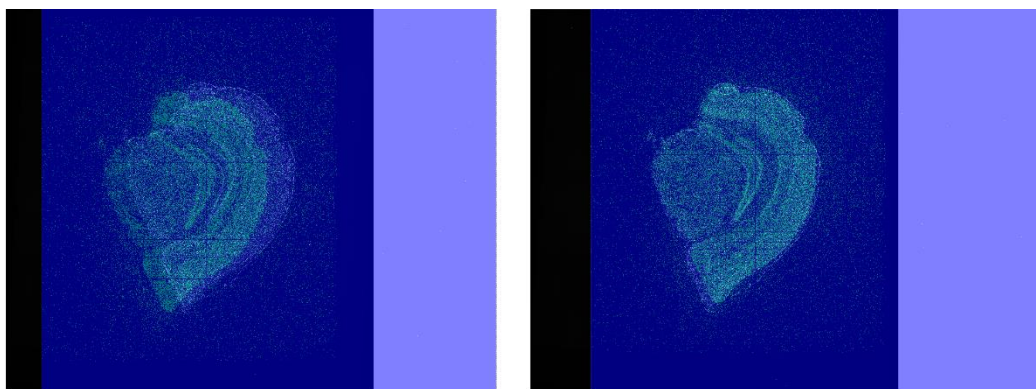
2.无 track 线配准

若在前序拼接模块中无 track 线，此时需进入无 track 配准模式：

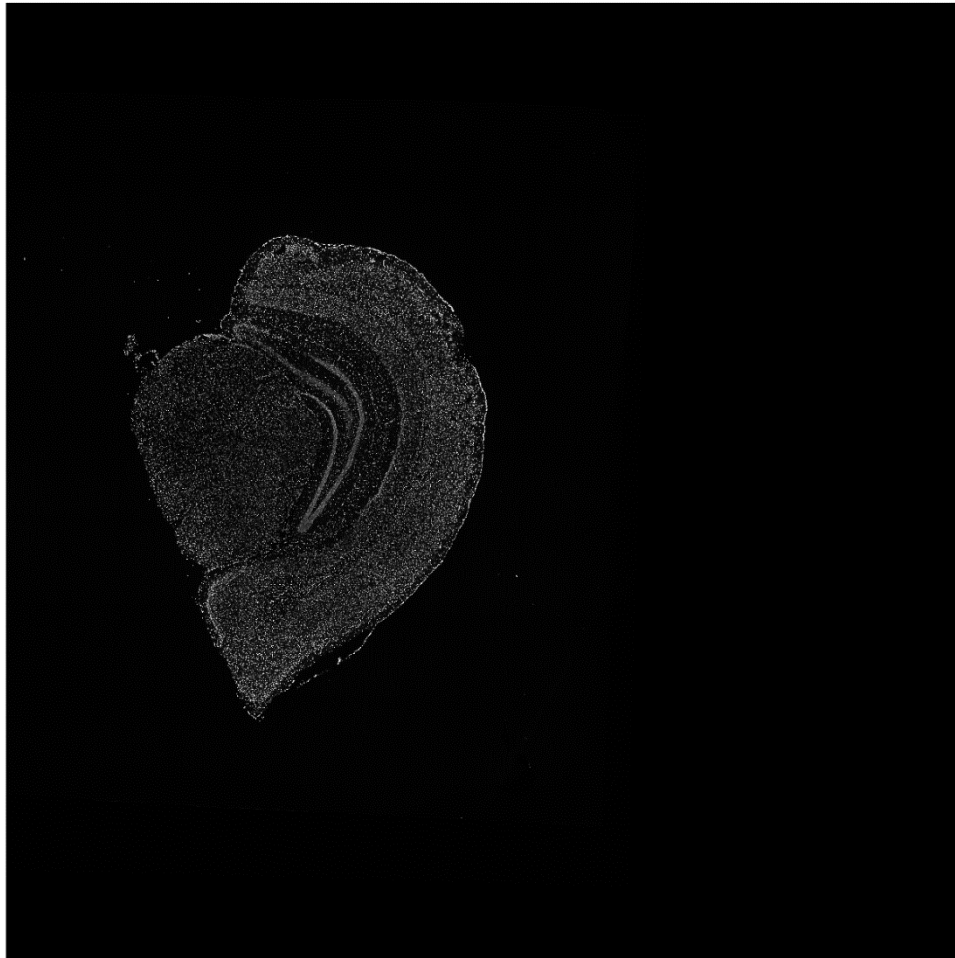


此时同样是根据矩阵图的轮廓确定好对应的翻转和 90 度的调整，且之后对齐大致轮廓，

即**粗配准**：



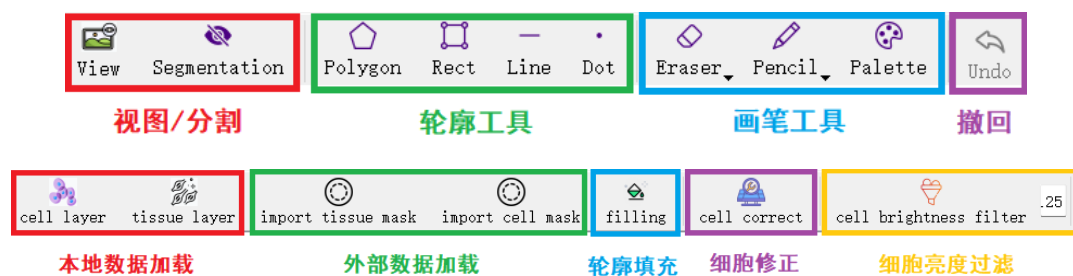
之后可通过调整角度以及尺度进行更精细的配准，同样支持键入值后按 [Apply](#) 即可，待完成所有操作，按 [Update Register](#) 完成配准，随即生成最后的与矩阵图大小尺寸一致的图像。



4.3 如何手动组织分割

组织分割模块介绍及操作

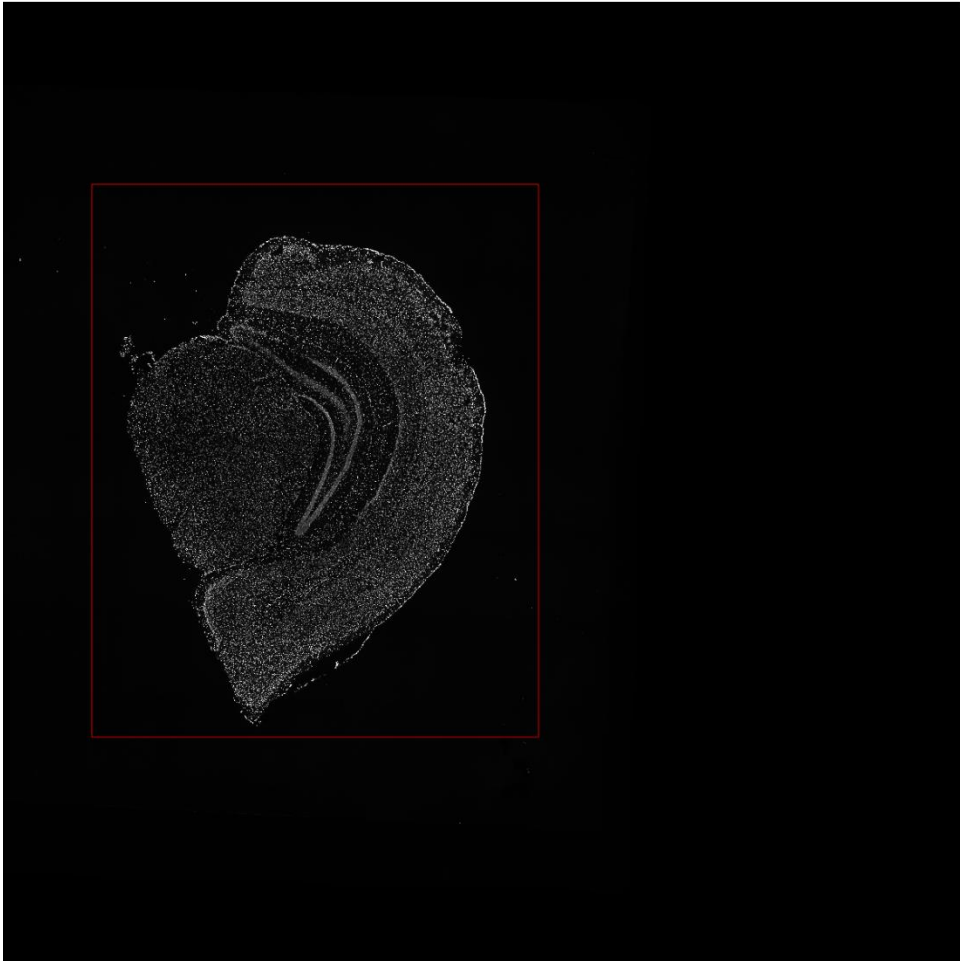
完成配准模块的所有操作后，将在主界面展示配准图，此时可使用分割界面的所有操作。



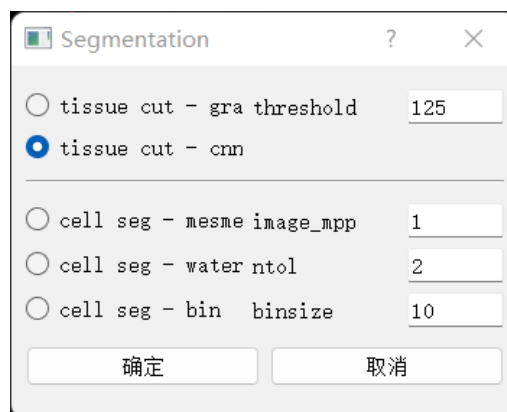
若该数据之前做过对应分割操作，可点击**本地数据加载**模块直接加载对应的分割数据，否

则需要先用**轮廓工具**画定 ROI 区域，可在**画笔工具**处选定画框的粗细，如下图所示

(Rect 示例):



之后可点开 [Segmentation](#)，出现待分割选项，选择其中一种分割，点击一次“确认”即可，该弹窗不会自动关掉，需要自己手动关掉。

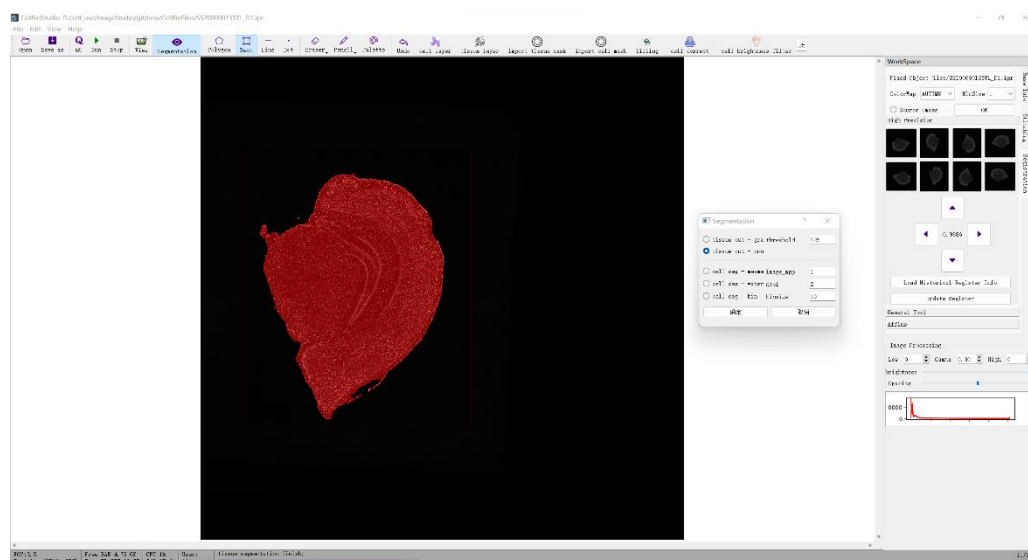


Segmentation 组织分割参数介绍：

gra：传统分割方法——otsu 二值化，需输入参数 threshold（灰度阈值）分割，范围为 0-255，默认输入 125。

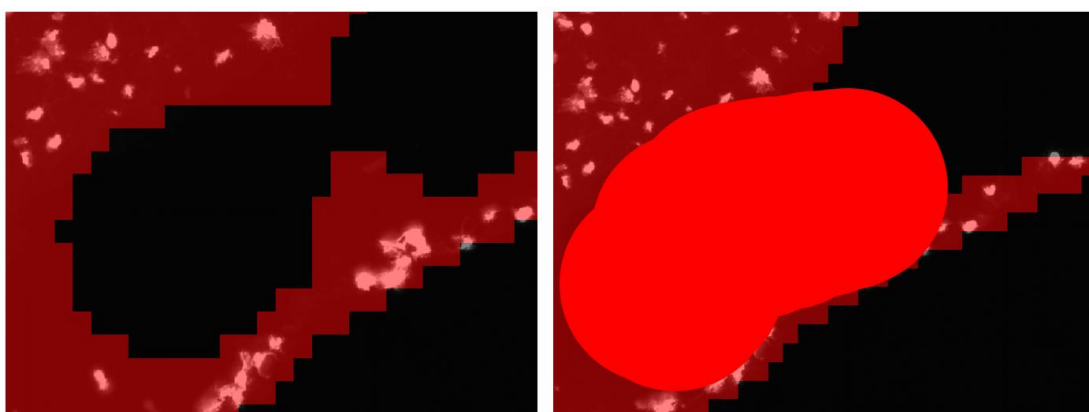
cnn：深度学习分割方法。

在组织分割选项中，有传统分割方法和深度学习方法，前者速度较快，后者时间及计算资源较大，示例使用 CNN 分割方法，如下图：

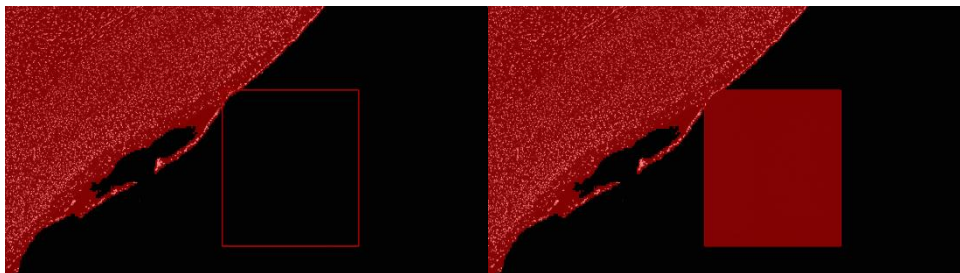


同时，**软件支持从外部导入数据**，**import tissue mask** 与 **import cell mask**，点击之后再点击**本地数据加载**模块加载数据。

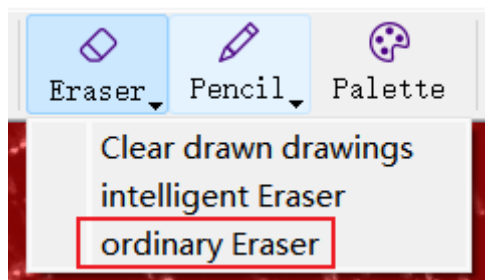
若出现**少量分割情况**，可使用**画笔工具**中的 **Pencil** 进行填充，并可选择粗细，如下图所示：左图为原始分割情况，右图图中的红色色块为画笔工具填充。



亦可使用**轮廓工具**+**轮廓填充**功能大批量填充图像，如下图：

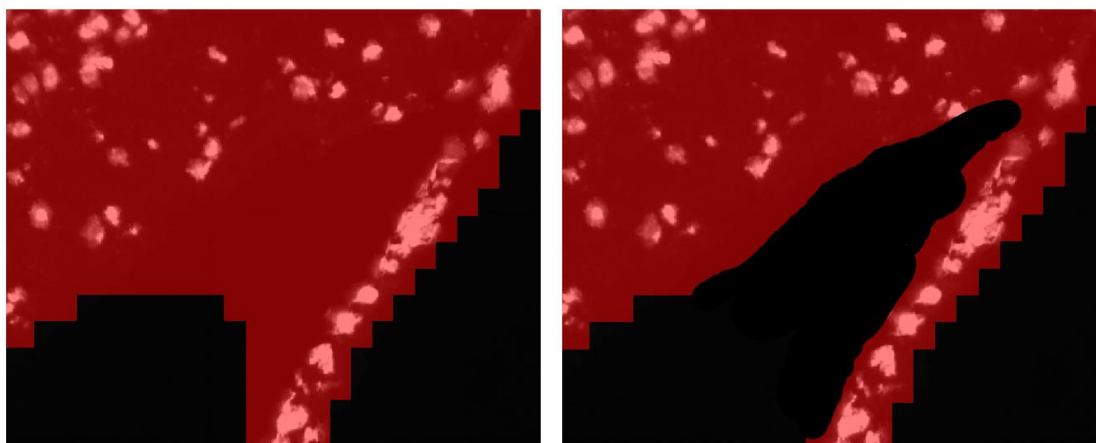


若出现**过度分割情况**，需使用画笔工具中的 **Eraser** 进行去除，如下：

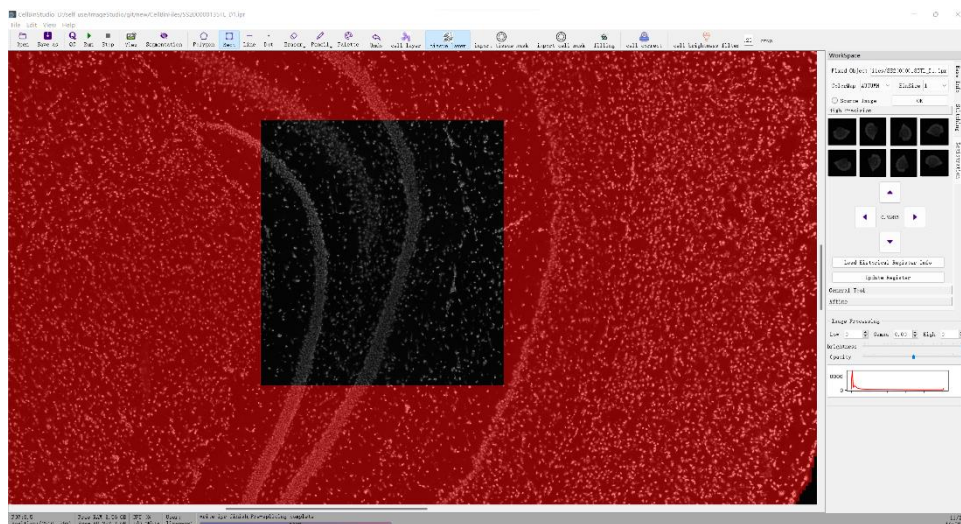


之后可选择 **Pencil** 调整粗细，可任意涂抹 Mask 图像，下图所示：

左图为原始分割情况，右图已用画笔工具涂抹。



且同样可使用**轮廓工具**+**Eraser**+**轮廓填充**进行大批量矩阵填充去除，

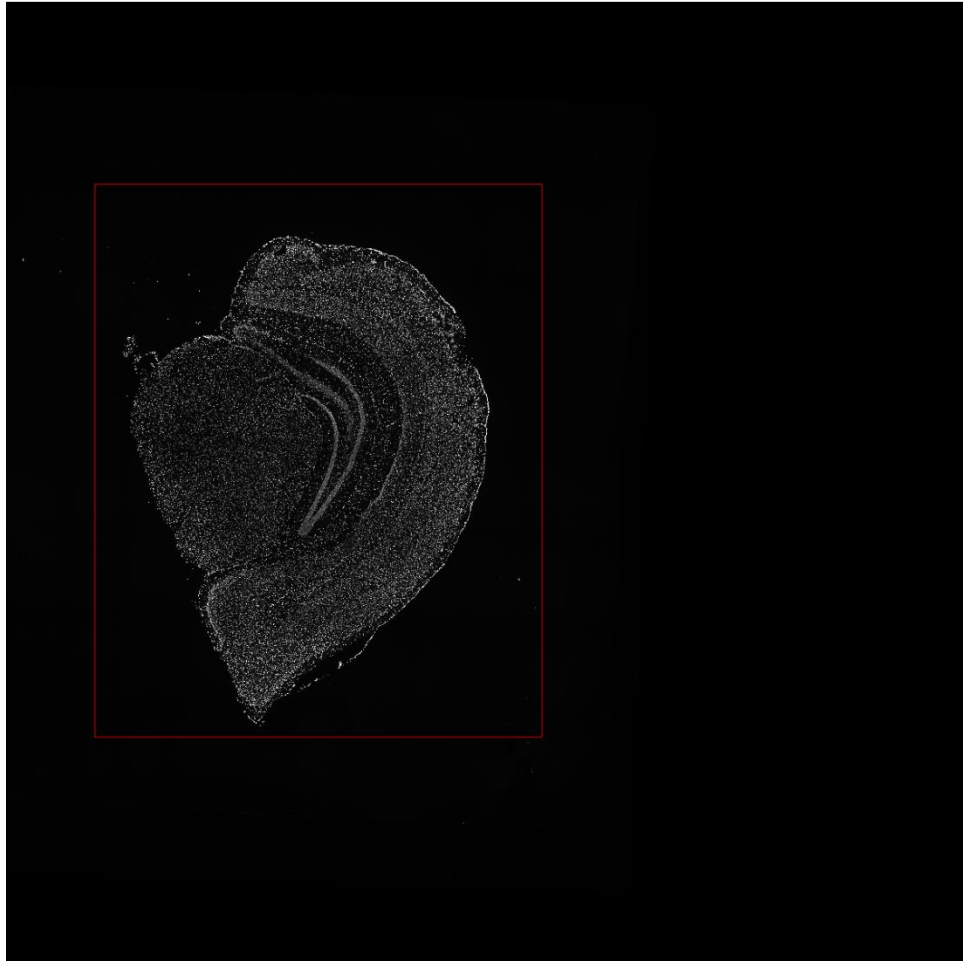


注意：使用轮廓工具填充或者填充去除时，目前只支持使用矩形工具。

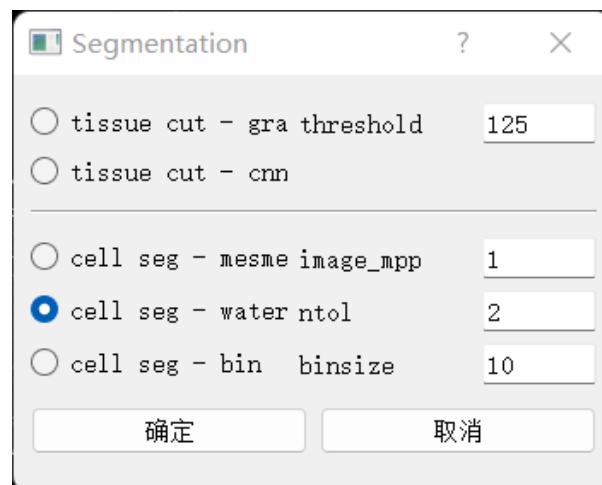
4.4 如何手动细胞分割

细胞分割模块介绍及操作

与组织分割类似，在做完配准后同样可做细胞分割，界面介绍见 [4.3 如何手动组织分割](#)，并且同样是框定一定大小的区域做细胞分割，如下图：



可点开 [Segmentation](#)，出现待分割选项，



Segmentation 细胞分割参数介绍：

merse: deepcell 分割方法 merse，需输入参数 image_mpp（目镜倍数）分割，范围为 0-

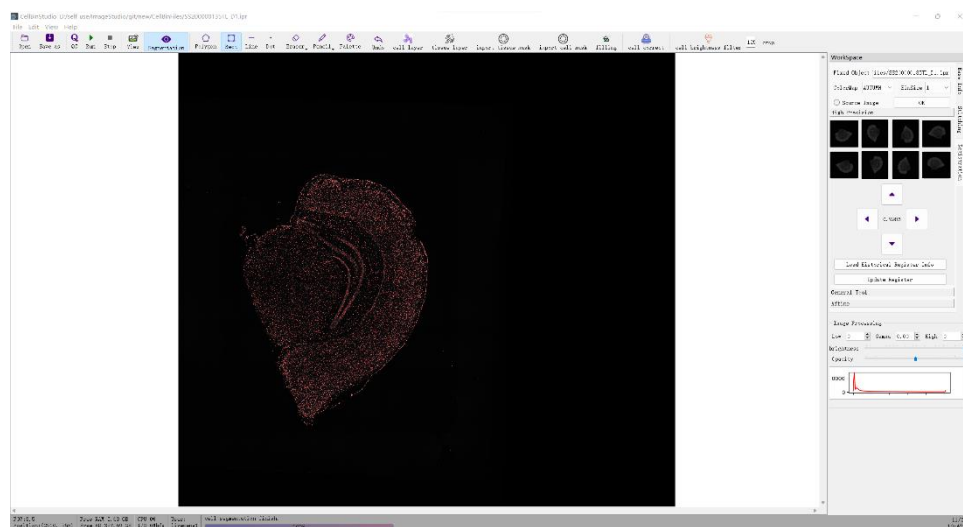
2，默认输入 1。其中该参数针对目镜倍数为 10X 的图像填 1，20X 的图像填 0.5，40X 的图

像填 0.25 以此类推。

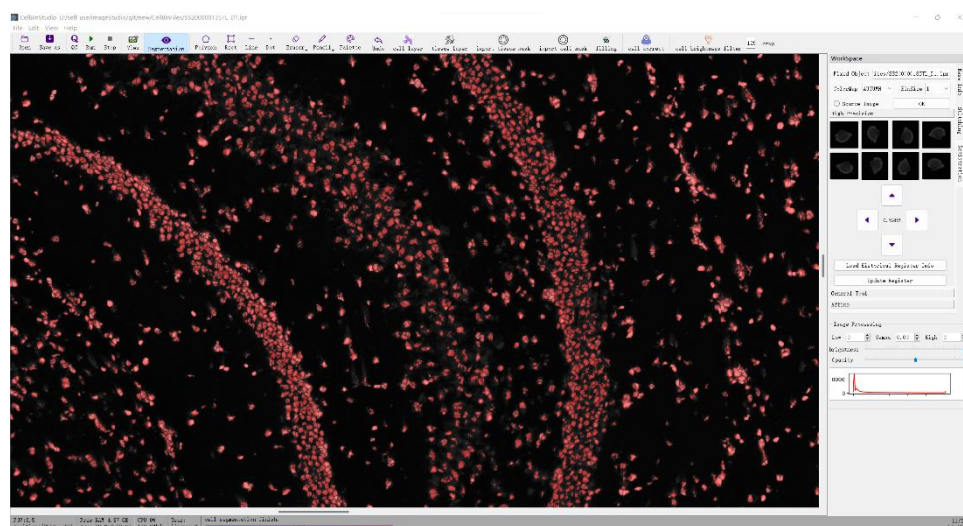
water: 分水岭分割方法，需输入参数 `ntol`，范围为大于 1 的整数，默认输入 2。该参数用于调整分割出来的细胞大小，如果细胞分割出来的效果过碎，可以输入更大的参数。

bin: bin 分割，需输入参数 `bin`，按照 `bin` 的大小规则填充。

选择细胞分割的三个选项，之后即可在主界面上生成细胞分割图像，下图所示：



放大看效果如下：





此时若出现**少量分割**或者**过度分割**情况，同样参考 [4.3 组织分割](#) 的操作。

当做完全部的分割操作后，可使用细胞修正来进行细胞填充，点击菜单栏中 **Run**， 填写
如下图：



将在 **i pr 保存路径** 生成两个 **txt 文件**，如下图：

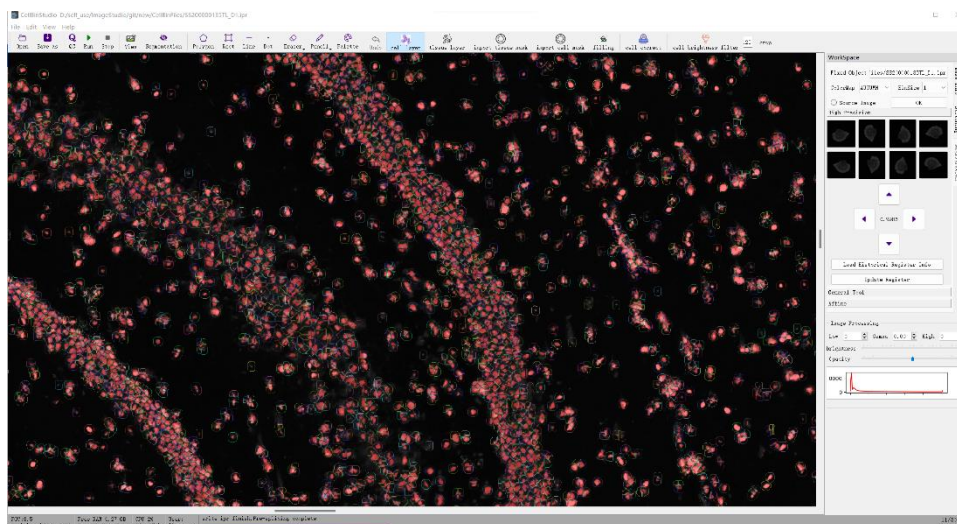
 **data_adjust_fast.txt**

 **Cell_GetExp_gene_with_background.txt**

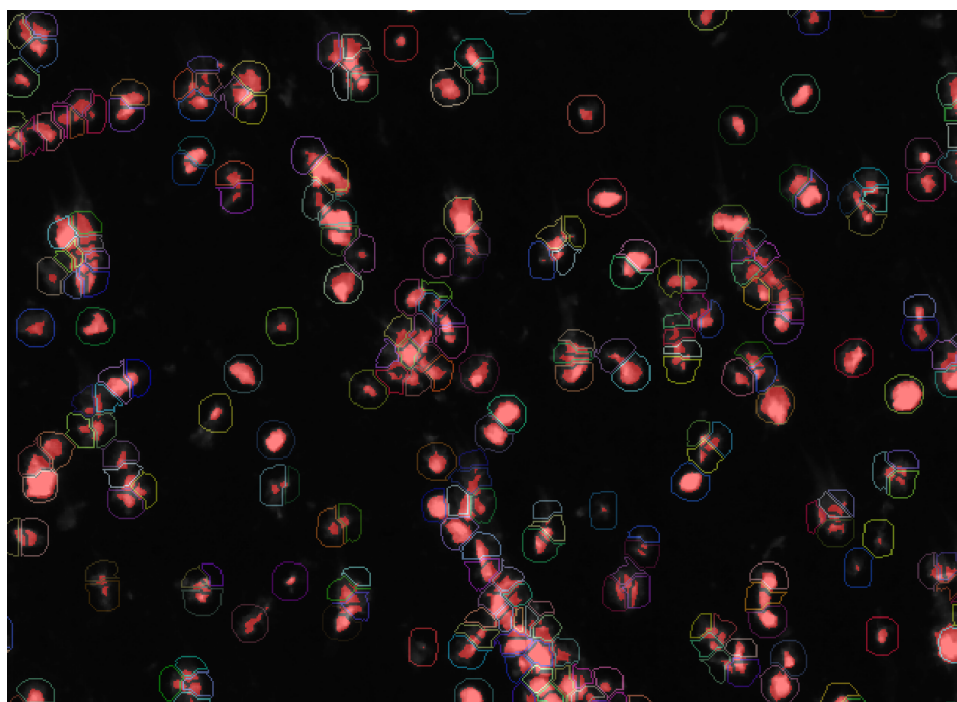
之后点击 **cell correct**，选择 **data_adjust_fast.txt**。



将在主界面上生成细胞修正后的图像，如下图：



放大后效果如下：



即完成整个细胞分割及修正流程。

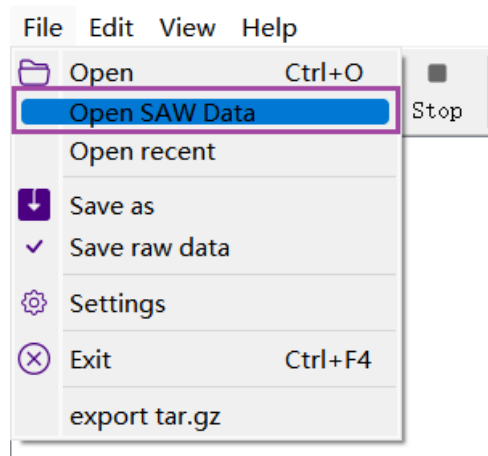
4.5 如何将 SAP 里的 ipr 导入 Studio

需准备文件：1、跑完 v5 流程后的 ipr，2、与该 ipr 对应的 tar.gz 文件，3、与 ipr 对应的 gem 文件。

将这 ipr 和 tar.gz 两个文件放在一个文件里面，并将文件夹命名为所对应的 sn 号，如下所示：



点击以下按钮，选择文件夹所在位置。

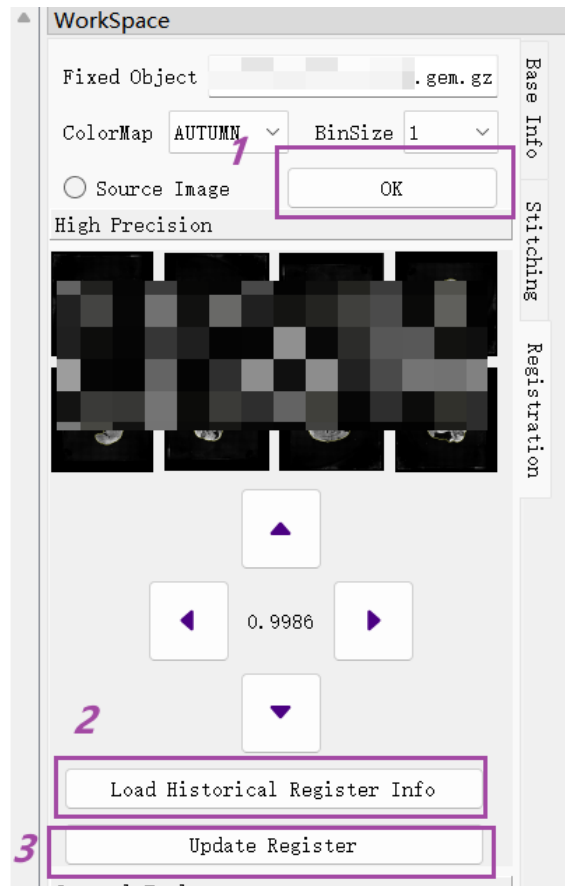


Studio 会自动读取 ipr 内容，并重新 Studio QC，等待下方进度条完成会弹出 ipr 文件打开窗口，选择该芯片对应的 ipr。加载完后，Studio 中展示的结果为原先 ipr 的结果。

若需要看到配准、细胞分割、组织分割，还需以下操作：

1、重新手动配准：

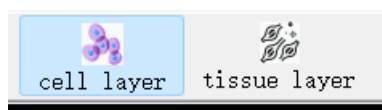
将下载好的 gem.gz 文件放进，与 4.2 中的手动配准操作相同，先导入基因表达矩阵图像，然后点击“Load Historical Register Info”，再点击“Update Register”即可。如下所示：



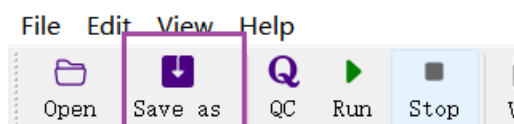
若中间发现先前的配准不对，也可重新配准。也可以通过此步骤检查配准情况。

2、加载细胞分割图像与组织分割图像：

分别点击以下 2 个按钮，可直接查看分割效果。



3、完成以上步骤，如需要保存结果（图像或者 ipr），可点击“Save as”，保存自己想要的结果。



5 参考

常见问题

- 1、有 track 线配准步骤中在精确对准 track 点时，出现一边的 track 点对准了，另一边没有对准？

出现该问题的原因为配准前没有调整好模板线。调整好模板线的要求是，整张图像的 track 点都应该在小红圈内。如下图所示：

