

# ラマン顕微鏡

光と分子振動の相互作用による  
波長シフトを計測

分子振動スペクトルから  
**分子構造解析**

試料の処理が不要なため  
**非侵襲的**

可視光を用いるため  
**水分を含む環境**

無染色で分子解析  
**染色困難な分子も対象**

励起波長の選択性

405 nm      532 nm      780 nm

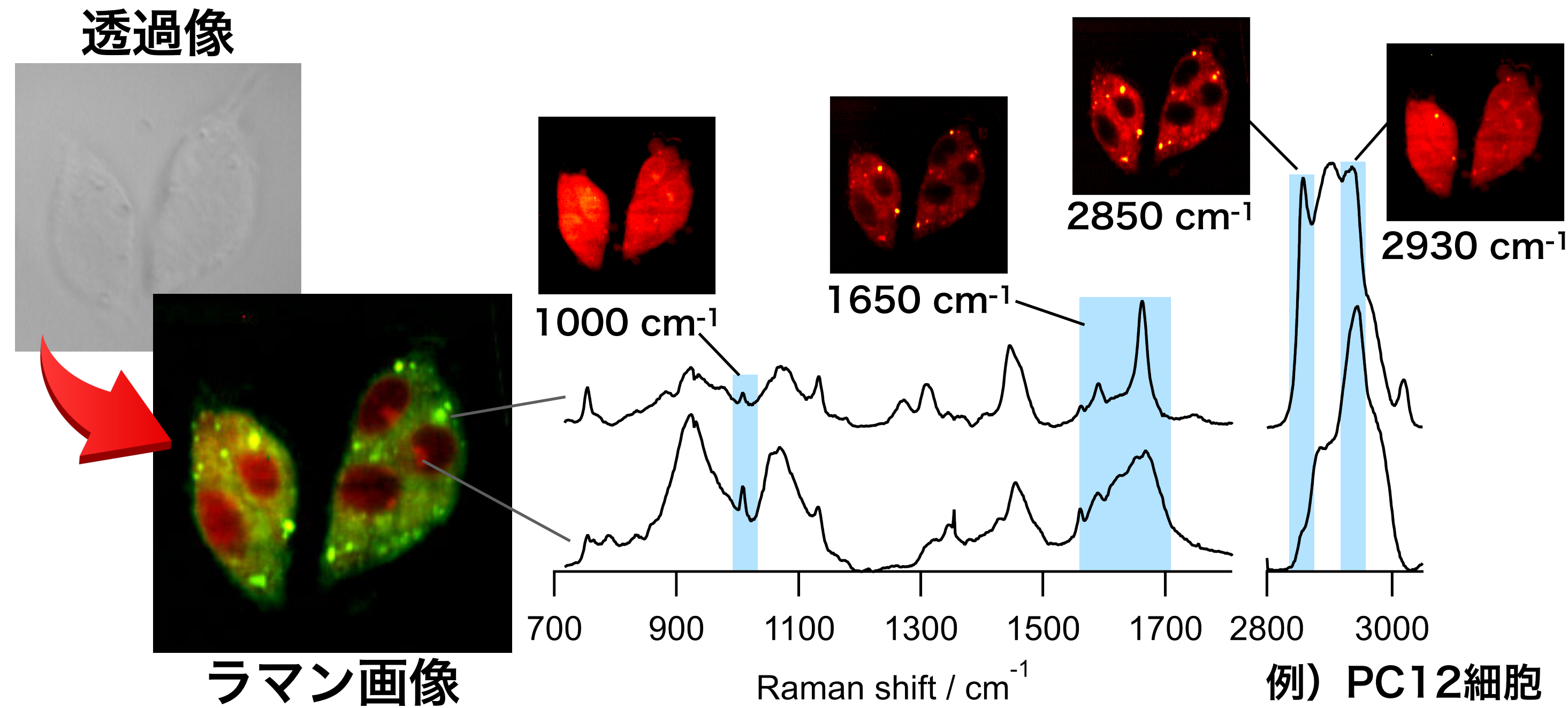
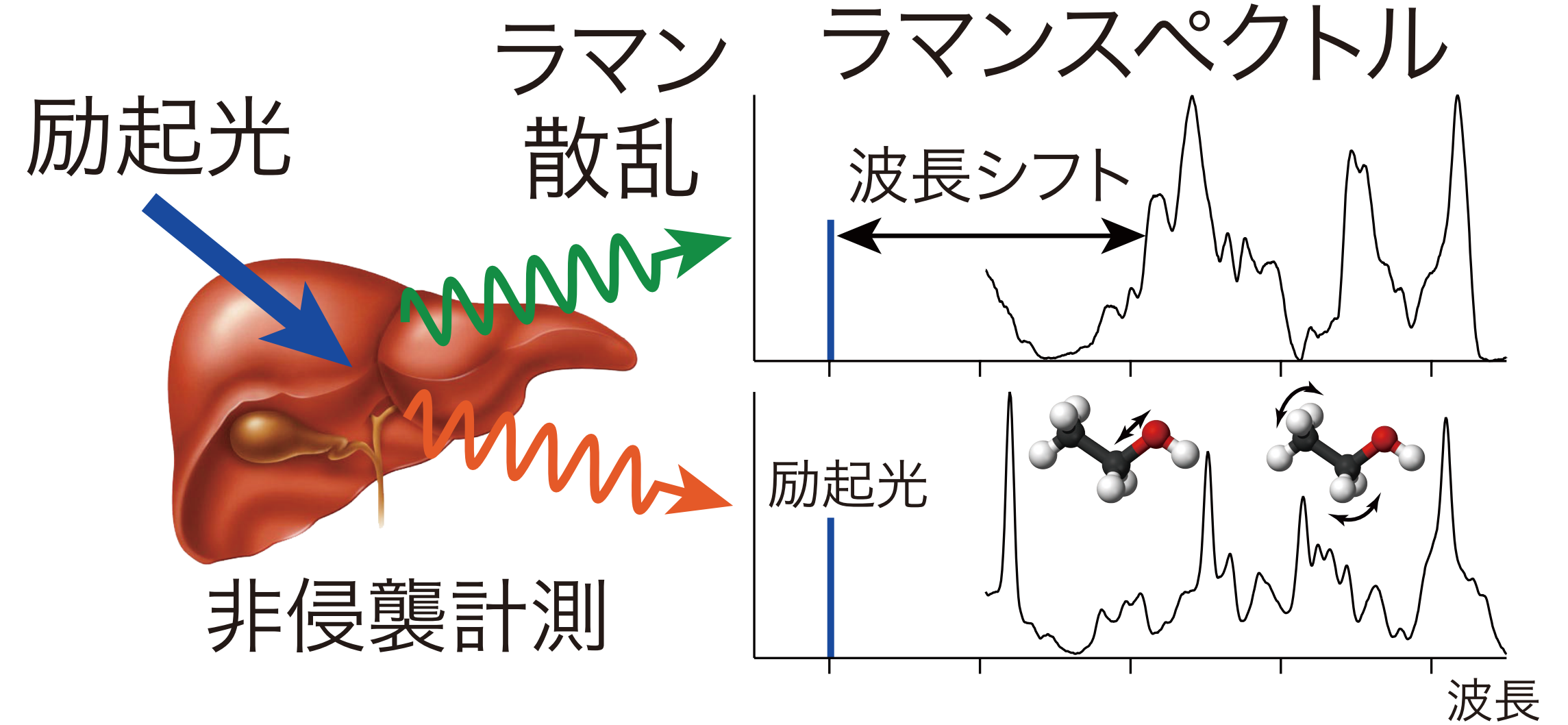
**高**      ラマン強度・分解能      **低**

**高**      生体侵襲性      **低**

共鳴ラマン散乱

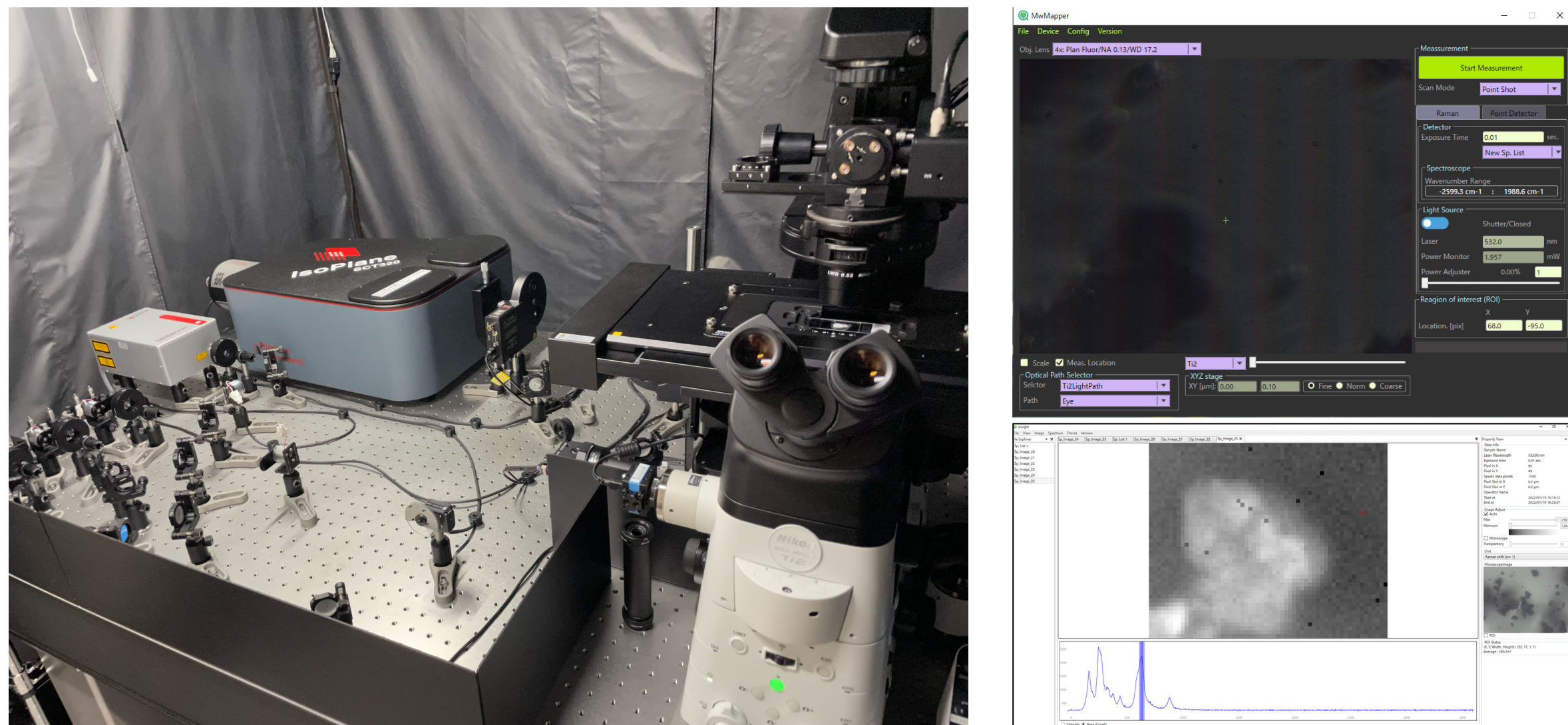
## ラマン散乱の原理と特徴

光と分子振動の相互作用による波長シフトを計測



# 自作マルチモーダル分光顕微鏡

運用開始: 2022年4月頃~@国循 研究棟 6階61205室



## マルチモーダル分光顕微鏡でできること

### • ラマン分光イメージング

無染色で分子分布・分子構造を解析  
分光器（反射配置）での測定  
イメージング時間：5~30分程度, 1~10秒/ポイント

### • 第二次高調波発生(SHG)イメージング

コラーゲンの配向・成熟度, 分子結晶の結晶性など  
分光器（反射配置） or PMT（透過配置）での測定  
イメージング時間：10秒~1分程度

### • LED光源での蛍光イメージング (UV, B, G励起)

染色組織・細胞の蛍光観察  
sCMOSカメラ（反射配置）での測定  
イメージング時間：0.1秒~10秒

### • レーザー走査型蛍光分光イメージング

染色組織・細胞の蛍光観察  
分光器（反射配置）での測定  
イメージング時間：1秒~10秒

### • 多光子蛍光分光イメージング

生体深部などの染色組織・細胞の蛍光観察  
分光器（反射配置）での測定  
イメージング時間：10秒~1分程度

**Concept** : 誰でも使える”改造可能な”多機能分光顕微鏡

## 基本スペック

**顕微鏡** : レーザー走査・ステージ走査型倒立顕微鏡

蛍光ランプ (UV, B, G励起), 位相差付き

**光源** : CW 532 nm (473, 633, 785 nmを導入予定)

フェムト秒 785 nm

**機能** : 分光器 (反射配置), PMT (透過配置)

いずれも, 任意の点の測定やイメージングが可能

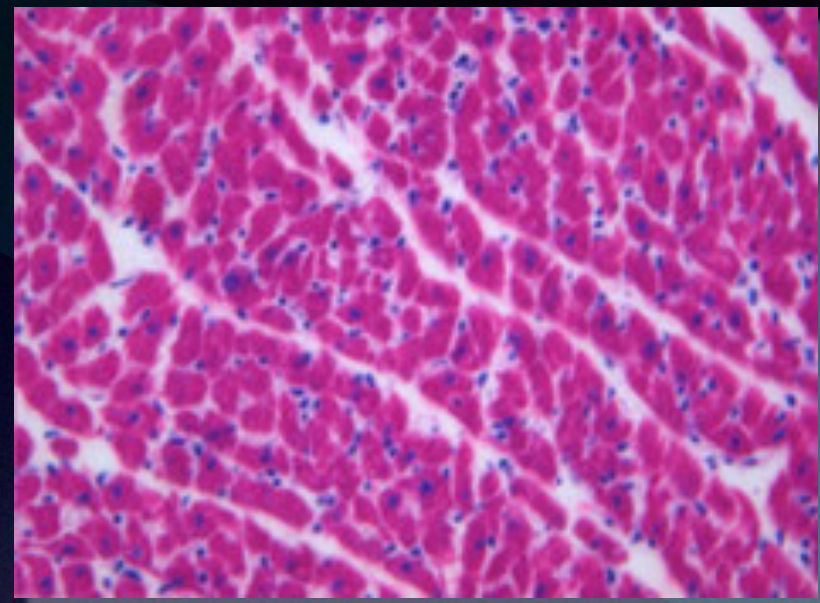
**分解能** : 約500 nm (XY), 1,000 nm (Z)

**その他** : 必要に応じて改良可能

ラマン顕微鏡でできること

# 機能分子や組織の無染色イメージング

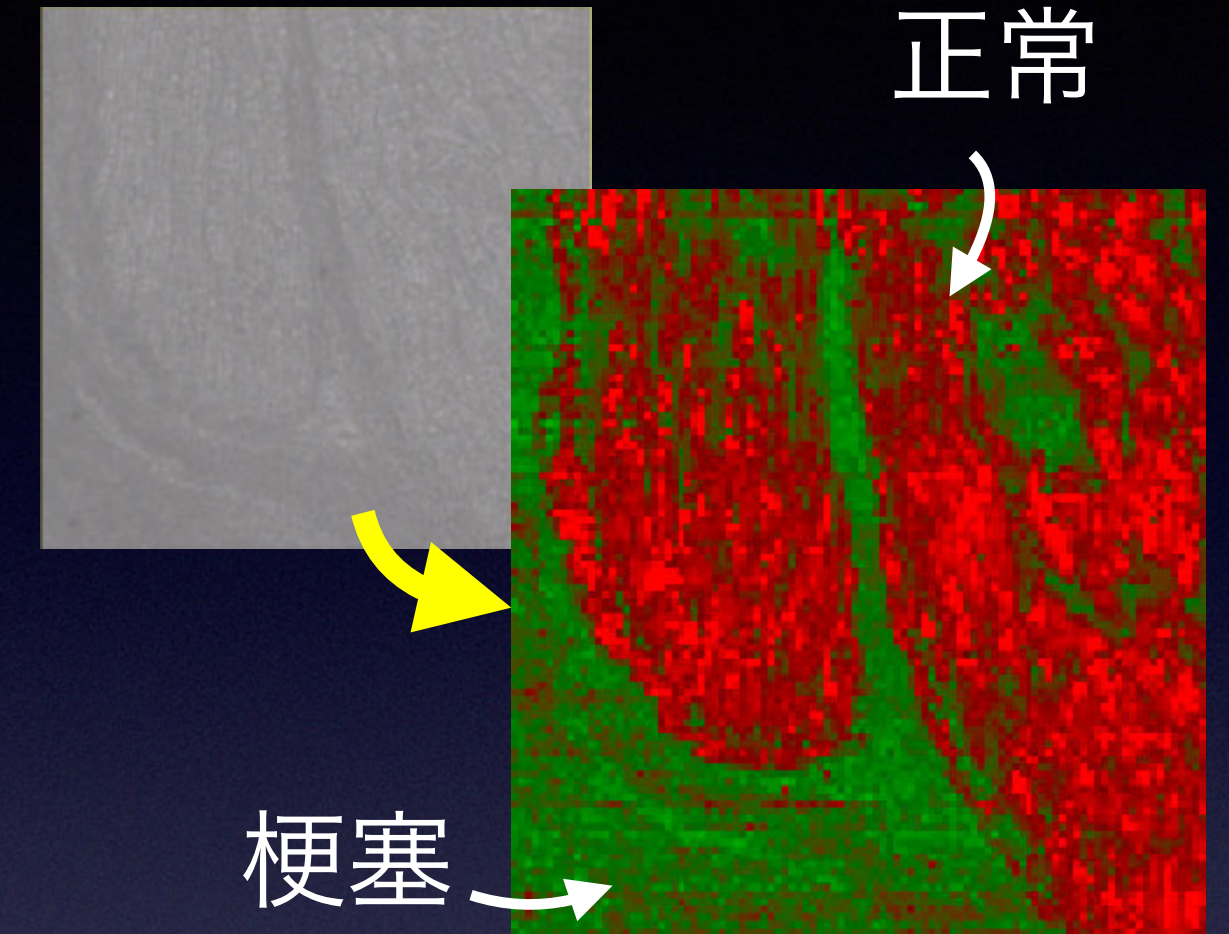
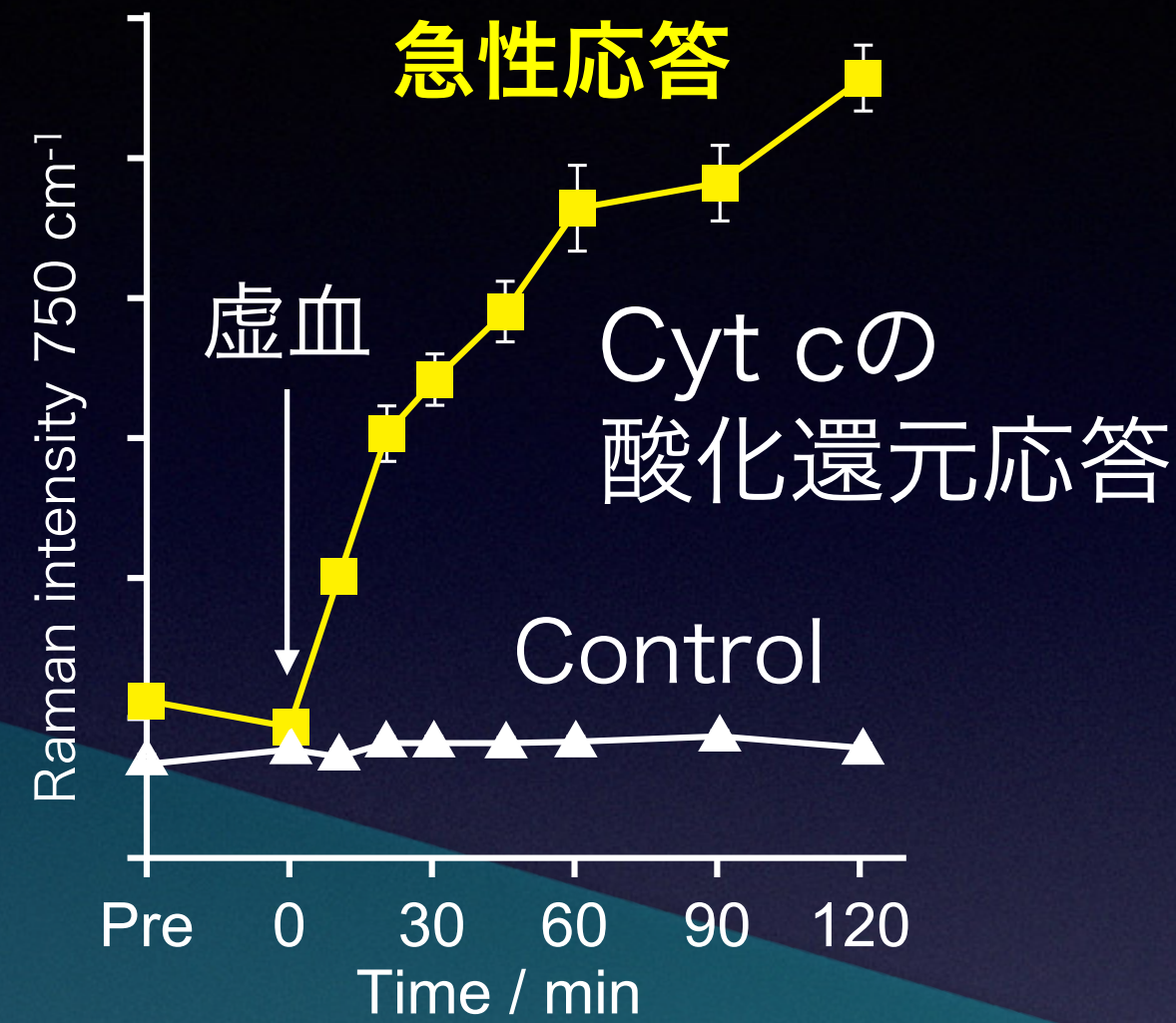
## ラマン散乱分光法による心筋梗塞診断の例



Normal

### 急性応答

S. Ohira, T. Minamikawa et al.,  
Sci. Rep. (2017).

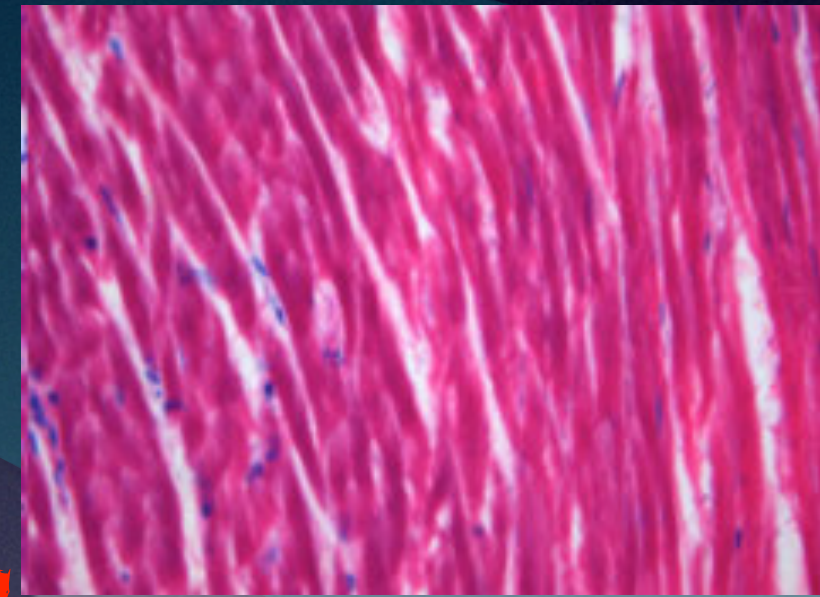


正常

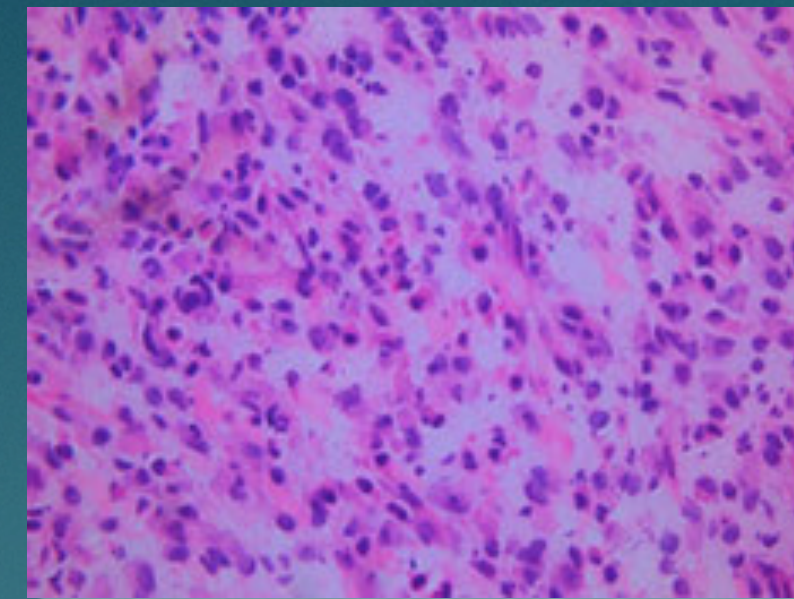
梗塞

### 心筋梗塞後の過程

N. Muranishi, T. Minamikawa et al.,  
Anal. Chem, (2014).



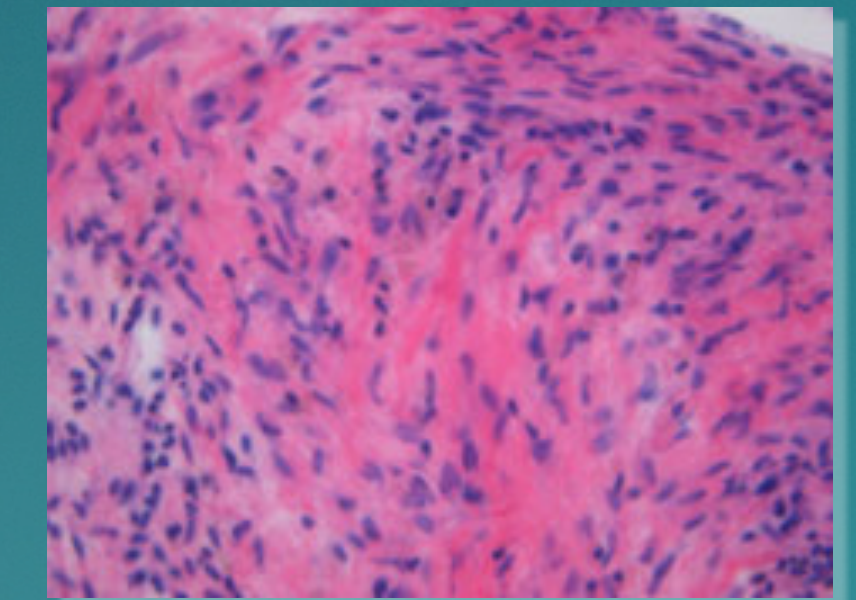
Necrosis



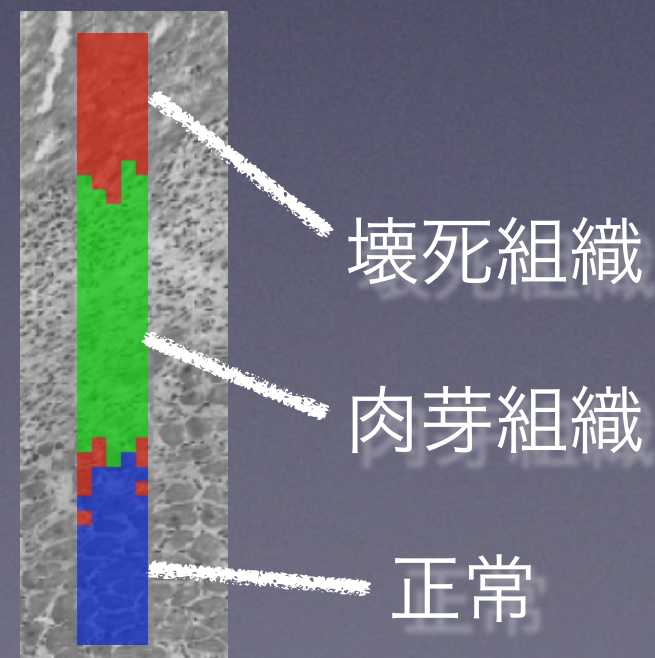
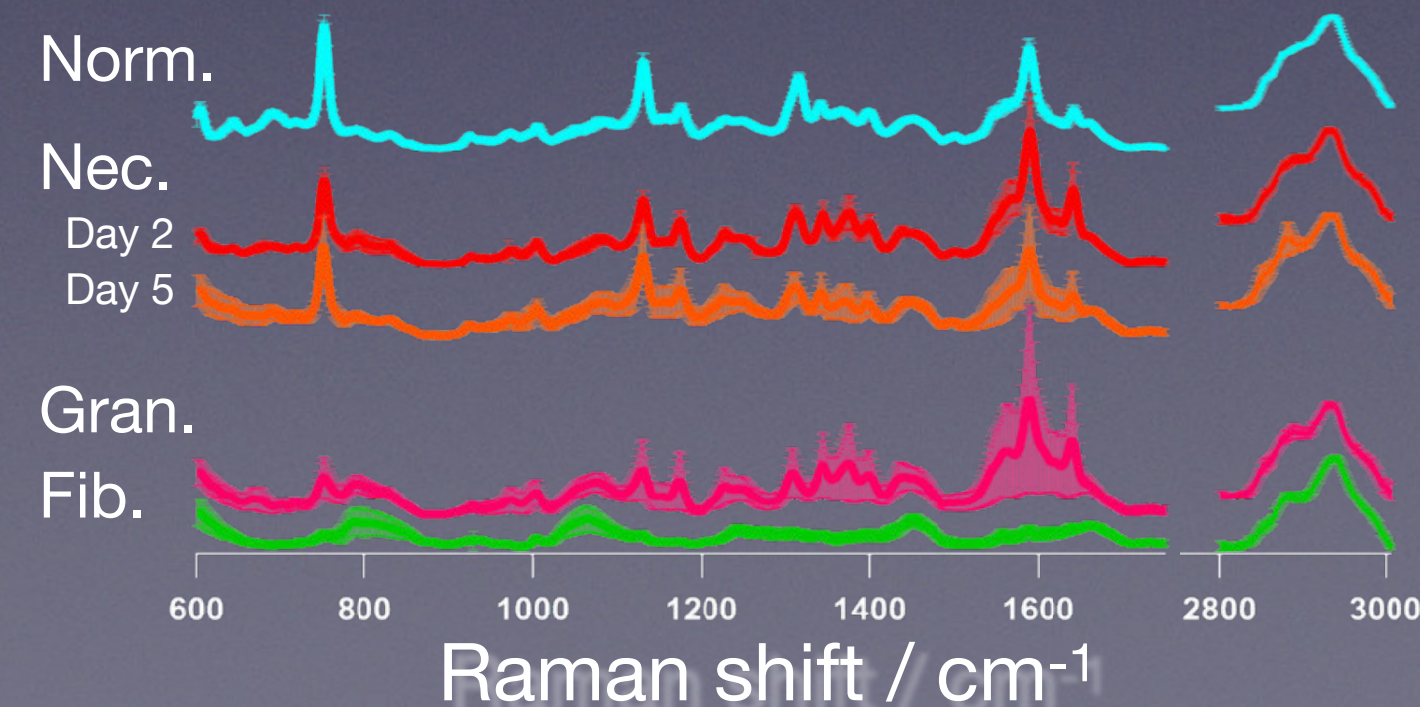
Granulation

### 陳旧性心筋梗塞

M. Ogawa et al., BBRC, (2009)  
T. Yamamoto, T. Minamikawa et al.,  
Sci. Rep. (2018)



Fibrosis



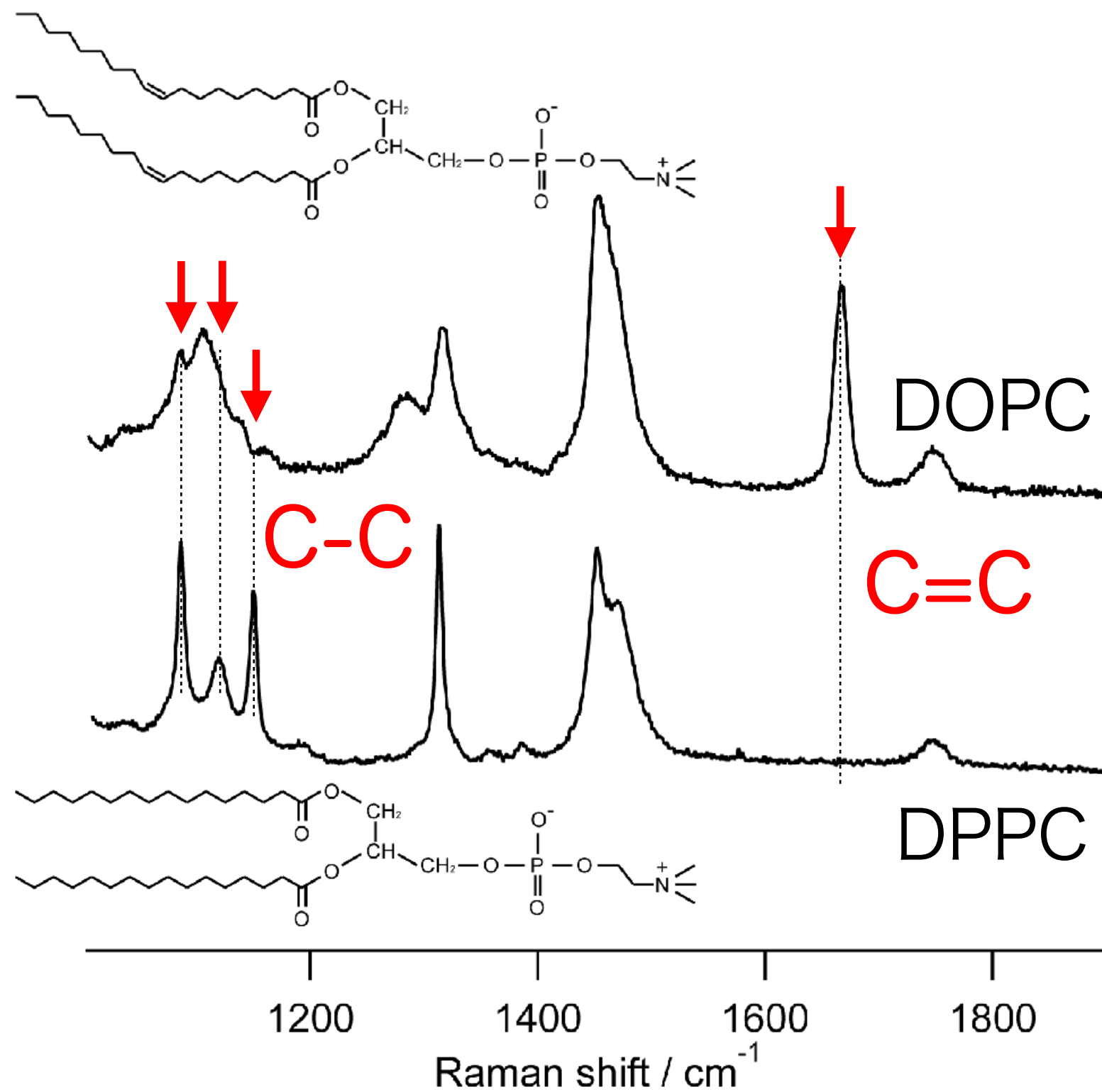
ただし、  
レーザー照射スポット (1×1×1 μm<sup>3</sup>) に  
~mM程度の濃度が必要

# 染色が難しい分子や分子構造計測

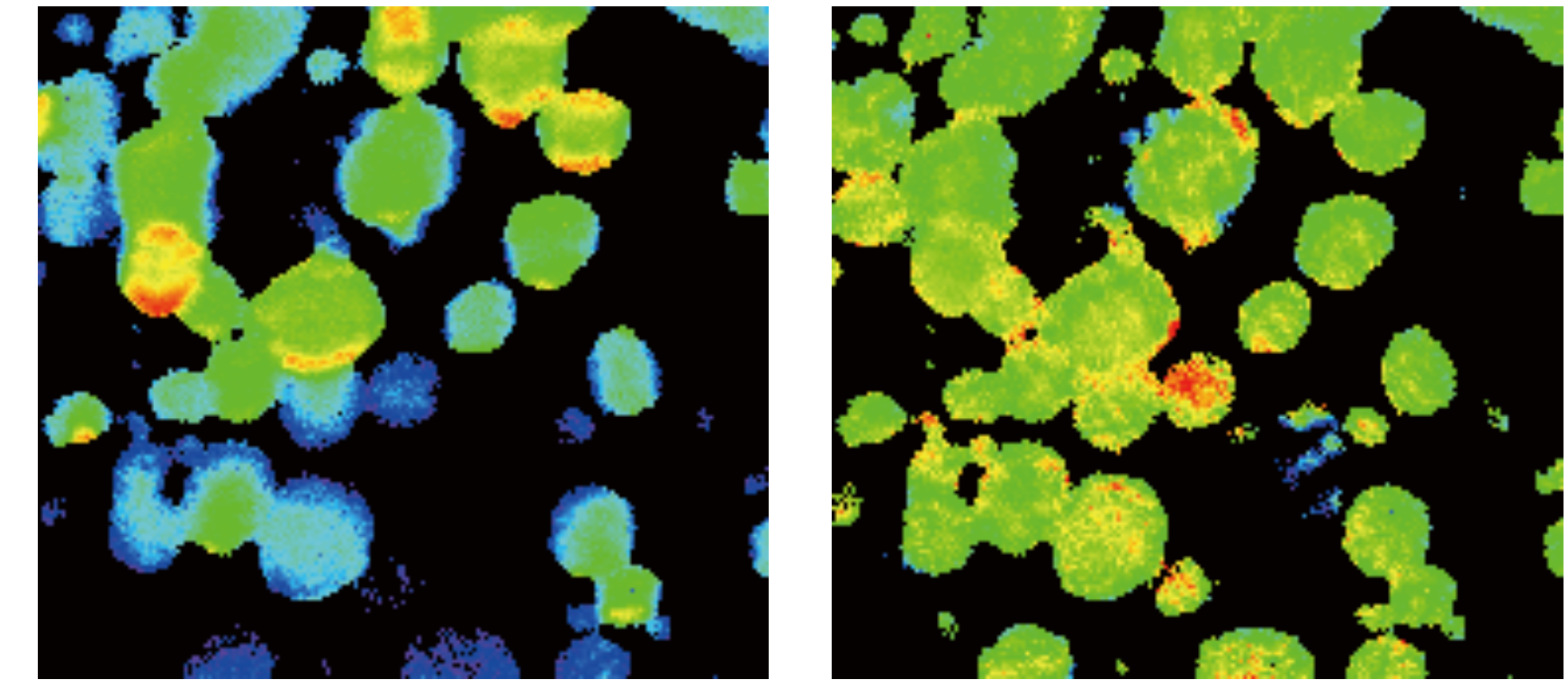
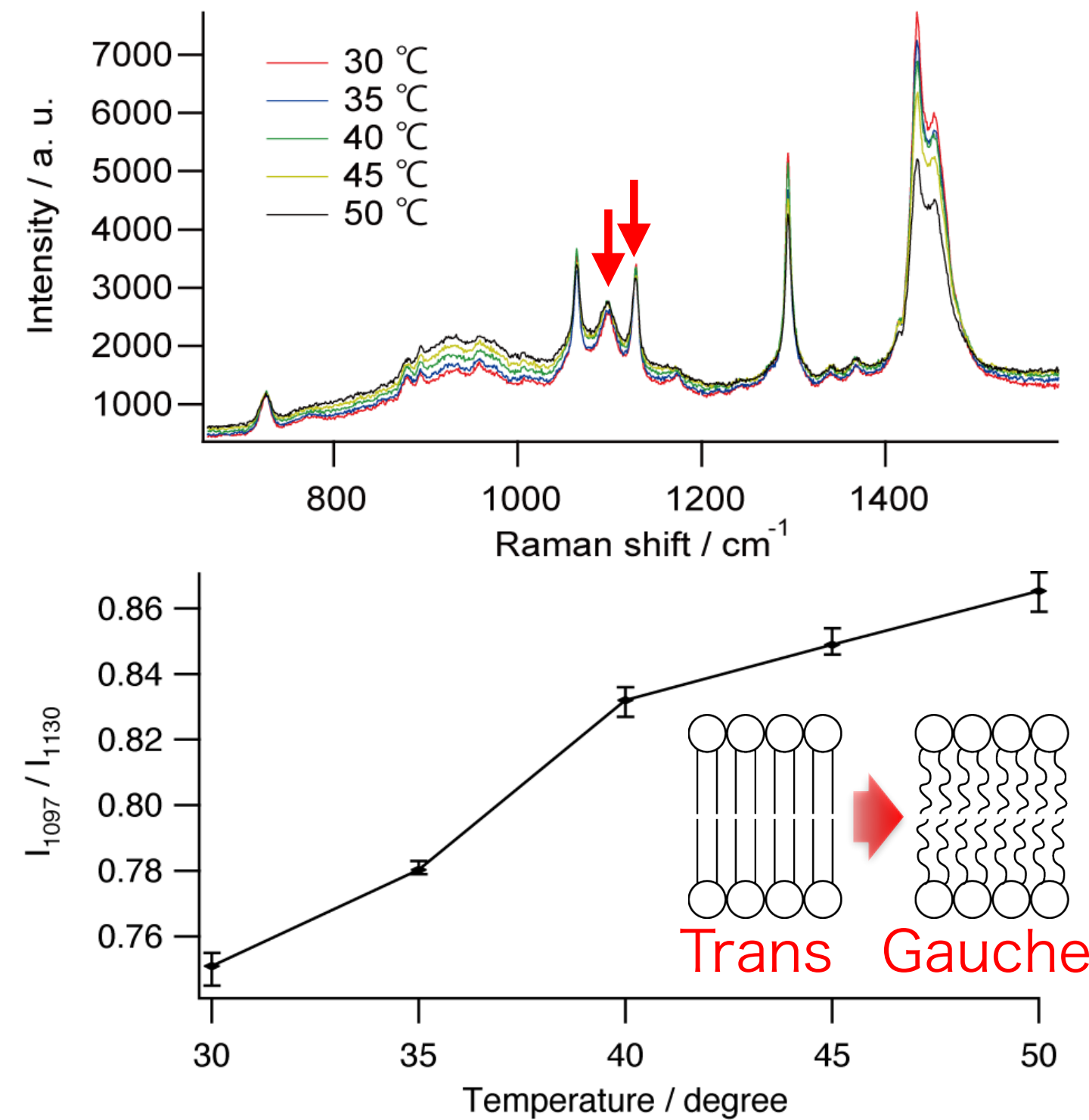
## 脂質分子構造解析の例

## 脂肪性肝炎計測の例 脂肪滴の脂質分子構造解析

### 分子構造の**違い**

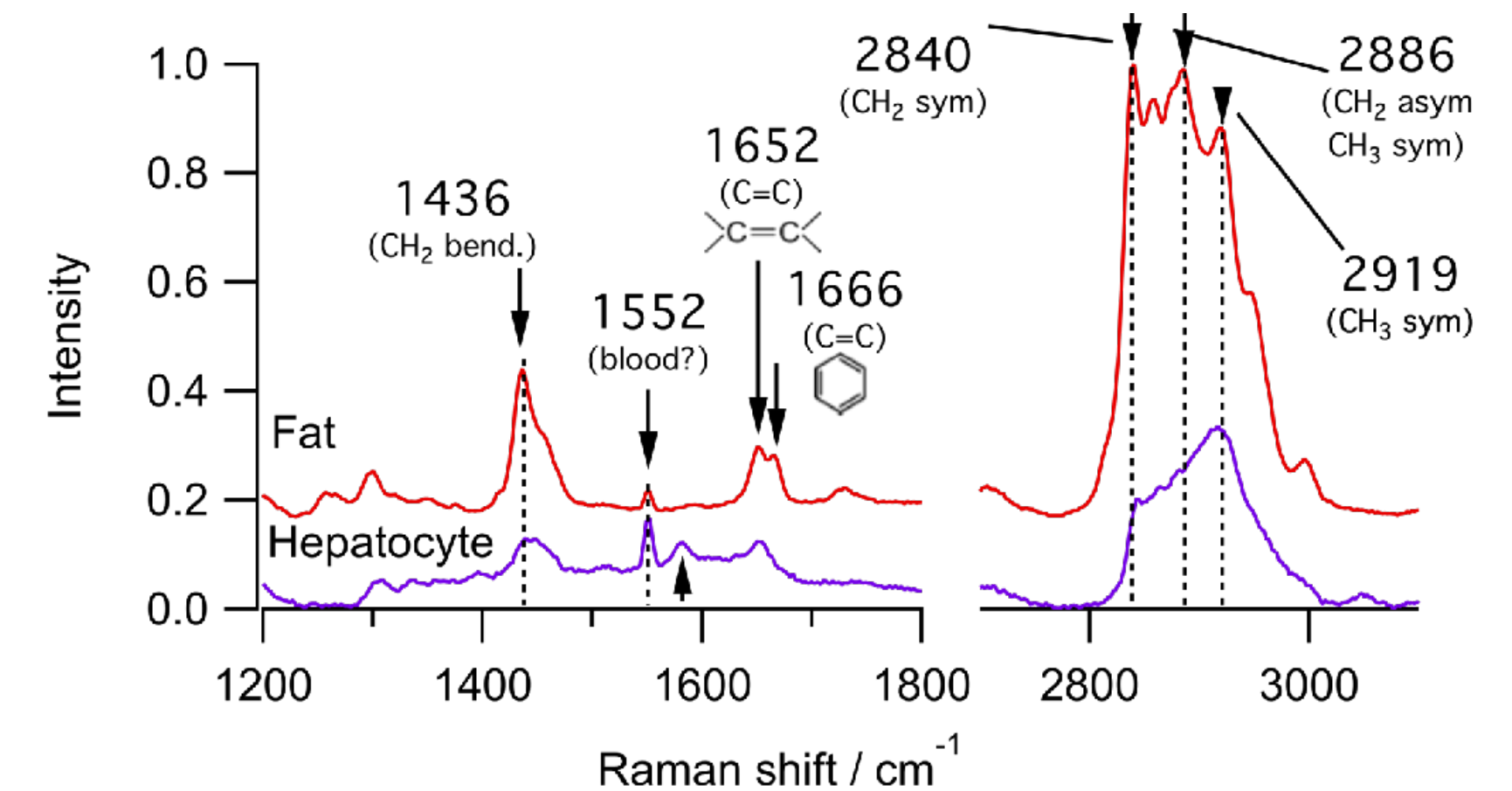


### 分子構造の**変化**



脂質分子種診断  
(例: コレステロール)

分子構造診断  
(脂質不飽和度)



## 脂質分子スペクトル解析

T. Minamikawa, et al. Sci. Rep, (2020)

南川, 高松, "ラマン分光顕微鏡", ライフサイエンス顕微鏡学ハンドブック, (2018)  
南川, "ラマン散乱分光法による脂質分子解析", ラマン分光スペクトル解釈事例集, (2022)