

ชื่อ..... รหัส.....
สาขาวิชา..... ชั้นปี..... หมู่.....
อาจารย์ผู้สอน : อาจารย์ นฤมล ประครองรักษ์

ปฏิบัติการที่ 4 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

การแบ่งเซลล์ เป็นกระบวนการเกี่ยวกับการเจริญเติบโตและการดำรงพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต ต้องเริ่มมาจากการแบ่งเซลล์ ในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวการแบ่งเซลล์เป็นกระบวนการสืบพันธุ์ที่ไม่ใช้เพศ (asexual reproduction) ส่วนในสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ การแบ่งเซลล์เป็นกระบวนการเจริญเติบโตและ/หรือการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต มี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการแบ่งนิวเคลียส (karyokinesis) มี 2 แบบ ได้แก่ ไมโทซิส (mitosis) และไมโอซิส (meiosis) ขั้นตอนที่สองเป็นการแบ่งไซโทพลาสซึม (cytokinesis) ดังนั้นการแบ่งเซลล์จึงแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) และการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis)

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (Mitosis)

เป็นการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากเป็นทวีคูณ แล้วเซลล์เหล่านั้นก็จะแบ่งตัวอีกได้เรื่อยๆ จนหยุดกระบวนการแบ่งเซลล์ โดยเซลล์ที่ได้ทั้งหมดจะมีโครโมโซมเหมือนกันและมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม จึงยังคงลักษณะทางพันธุกรรมไว้เหมือนเดิม ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง การเจริญเติบโตเริ่มต้นจากเซลล์เริ่มต้นเซลล์เดียว คือ ไซโกต (zygote) มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ เปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของเซลล์ เพื่อทำหน้าที่ร่วมกันเป็น สิ่งมีชีวิตที่มีรูปร่างต่างกันไป ซึ่งเป็นผลมาจากการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสเป็นการแบ่งเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ทั่วไปเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากขึ้น เมื่อแบ่งเสร็จแล้วจะได้เซลล์ใหม่ (daughter cell) 2 เซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันและเท่ากับเซลล์เดิม ($2n$ หรือ diploid) ในเซลล์สัตว์ซึ่งมีการเจริญเติบโตแบบจำกัด การแบ่งเซลล์แบบนี้เกิดขึ้นในระยะแรกของการเจริญเติบโต ส่วนในระยะหลังนั้นจะมีการแบ่งเซลล์เฉพาะบริเวณที่ต้องซ่อมแซม เช่น เยื่อบุผิว เม็ดเลือด และผิวหนัง ส่วนในเซลล์พืชชั้นสูงซึ่งมีการเจริญเติบโตแบบไม่จำกัด การแบ่งเซลล์จะพบได้ในเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ได้แก่ บริเวณส่วนปลายยอด ปลายราก และบริเวณแคมเบียม (cambium) การแบ่งเซลล์ประกอบด้วย 2 ช่วงระยะคือ ช่วงอินเตอร์เฟส (interphase) และช่วงการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)

1. ระยะอินเตอร์เฟส (interphase) เป็นระยะที่เซลล์เตรียมตัวให้พร้อมก่อนที่จะแบ่งนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม เซลล์ในระยะนี้ มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ มีโครมาติน (chromatin) เป็นเส้นใยบาง ๆ สานกันเป็นร่างแห และเห็นนิวคลีโอลัสชัดเจนเมื่อย้อมสี แบ่งเป็น 3 ระยะย่อย คือ

- ระยะ G1 เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์โปรตีน RNA และออร์แกเนลล์ (organelle) ต่างๆ

- ระยะ S หรือ Synthesis ระยะนี้ยังคงสังเคราะห์โปรตีน และ RNA ต่อไป แต่มีการสังเคราะห์ DNA ขึ้น หรือเรียกว่ามีการจำลอง DNA ขึ้นเป็น 2 เท่าของเดิม

- ระยะ G2 หยุดสังเคราะห์ DNA แล้วจะสังเคราะห์โปรตีน และ RNA ต่อไป

2. ระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitotic phase หรือ M phase) เป็นระยะที่มีการแบ่งนิวเคลียส เกิดขึ้นในช่วงสั้นๆ แล้วตามด้วยการแบ่งของไซโทพลาซึม การแบ่งนิวเคลียสแบบ ไมโทซิส แบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ

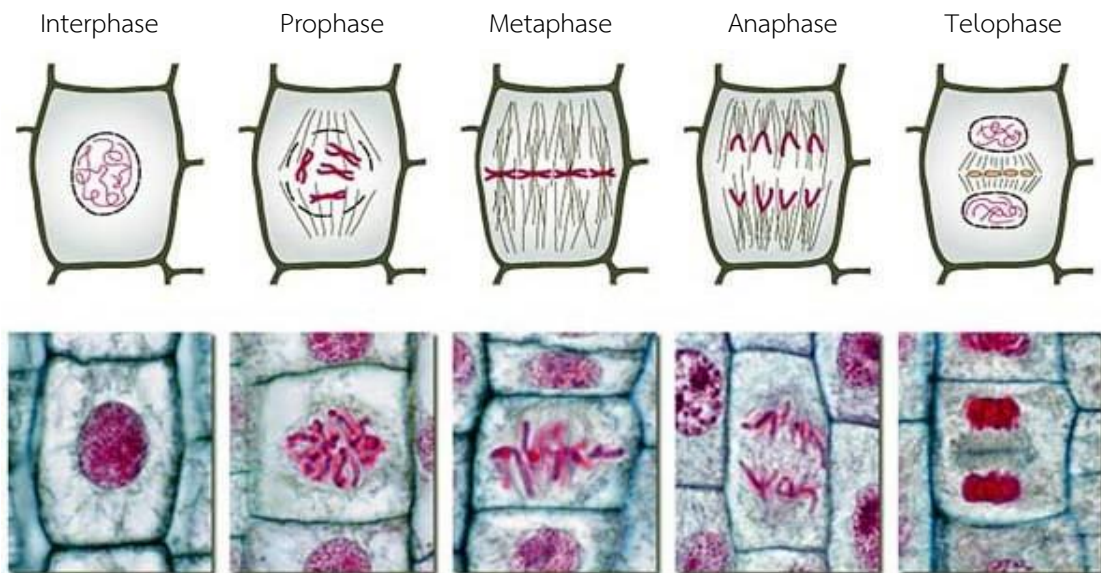
โพรเฟส (prophase) เป็นระยะที่โครโมโซมหดตัวสั้นเข้าและหนาขึ้น โดยการพันเกลียวของดีเอ็นเอ ทำให้เห็นโครโมโซมได้ชัดเจน เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นโครโมโซมมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย แต่ละโครโมโซมประกอบด้วย 2 โครมาทิด ถ้าเป็นเซลล์สัตว์เซนทริโอลเริ่มแบ่งตัวเป็นสองส่วนและเคลื่อนที่ไปคนละขั้วของเซลล์ มีการสร้างเส้นใย mitotic spindle ไปยึดโครโมโซมที่ตำแหน่ง เซนโทรเมียร์ เยื่อหุ้มนิวเคลียส และนิวคลีโอลัสเริ่มสลายตัว

เมทาเฟส (metaphase) เยื่อหุ้มนิวเคลียสจะหายไป โครโมโซมหดตัวสั้นและหนาขึ้น แต่ละโครโมโซมจะเคลื่อนมาเรียงกันบริเวณตรงกลางเซลล์ ระยะนี้จึงเหมาะสมที่สุดในการนับจำนวนโครโมโซมและศึกษาความแตกต่างของลักษณะโครโมโซม

แอนาเฟส (anaphase) ระยะนี้เส้นใย mitotic spindle หดสั้นเข้า ดึงให้โครมาทิดแยกตัวออกจากกัน และค่อยๆเคลื่อนไปยังแต่ละขั้วของเซลล์

เทโลเฟส (telophase) ระยะนี้โครโมโซมซึ่งมี 1 โครมาทิดที่ถูกดึงมาอยู่ที่ขั้วเซลล์จะยึดตัวออกเป็นเส้นยาวและบางลงเป็นโครมาตินใหม่อีกครั้งหนึ่ง มีการสร้างเยื่อหุ้มนิวเคลียสหุ้มโครโมโซม ทำให้ 1 เซลล์ มีนิวเคลียสอยู่ 2 นิวเคลียส

หลังจากเกิดกระบวนการแบ่งนิวเคลียสแล้ว จะมีกระบวนการแบ่งไซโทพลาซึมเกิดขึ้น ในเซลล์สัตว์จะมีการคอดเว้าของเยื่อหุ้มเซลล์ เรียกการแบ่งไซโทพลาซึมแบบนี้ว่า ferrow type สำหรับเซลล์พืชจะมีการสร้างเซลล์เพลต (cell plate) กั้นระหว่างนิวเคลียสใหม่ เรียกการแบ่งไซโทพลาซึมแบบนี้ว่า cell plate type จนในที่สุดจะได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ (จากเซลล์เริ่มต้น 1 เซลล์) โดยเซลล์ใหม่แต่ละเซลล์จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับเซลล์เริ่มต้น



รูปที่ 1 แสดงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเปรียบเทียบภาพโครงร่างกับภาพถ่ายของเซลล์พืช

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาสามารถเตรียมสไลด์สำหรับการศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส
2. เพื่อให้นักศึกษาทราบความสำคัญและขั้นตอนของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส
3. เพื่อให้นักศึกษาหาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

วัสดุอุปกรณ์

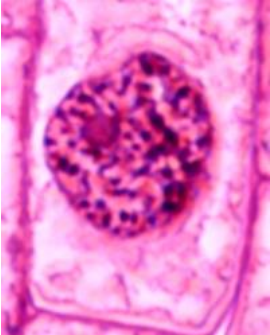
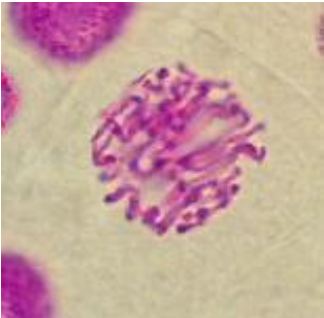
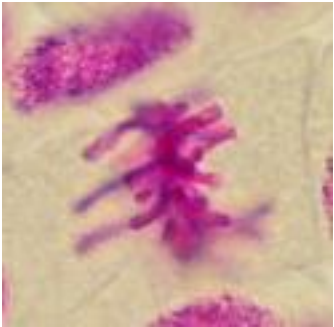
1. กล้องจุลทรรศน์
2. ปลายรากหอม
3. น้ำยา Fixative (Glacial acetic acid: Absolute ethanol, 1:3 v/v)
4. สี aceto-orcein
5. 5% HCl หรือ 1N HCl
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์
7. ไม้ขีดไฟ
8. สไลด์ และกระจกปิดสไลด์
9. เข็มเขี่ยและปากคีบ
10. ไขมีดโกน
11. หลอดหยด
12. ปีกเกอร์
13. น้ำกลั่น
14. กระดาษทิชชู
15. กระดาษเช็ดเลนส์

วิธีการศึกษา

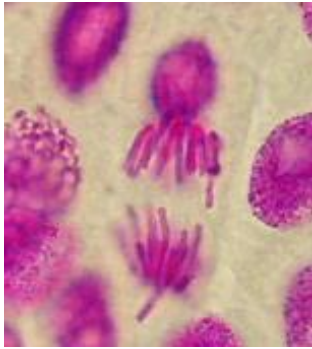
1. นำปลายรากหอม ตัดเอาเฉพาะส่วนของปลายรากที่มีลักษณะใสมีความยาว 2-3 cm จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายรักษาสภาพเนื้อเยื่อ (fixative) ที่เตรียมเสร็จใหม่ นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ใน 70 % ethanol และเก็บรักษาไว้ในตู้แช่ 4°C จนกว่าจะนำมาใช้
2. ใช้ปากคีบปลายแหลม คีบรากหอมที่ผ่านการรักษาสภาพแล้ว วางบนสไลด์
3. ใช้ใบมีดโกนตัดบริเวณปลายรากหอม (บริเวณที่มีสีเขียวขุ่น) ยาวประมาณ 2-3 mm และจับส่วนที่เหลือออกด้วยกระดาษทิชชู
4. ล้างน้ำยารักษาสภาพออก โดยหยดน้ำกลั่นลงบนรากหอม แล้วซับด้วยกระดาษทิชชู ทำซ้ำ 3-4 ครั้ง
5. หยด 5% HCl 2-3 หยด ลงบนรากหอม ทิ้งไว้ 5-10 นาที
6. ซับ HCl ออกให้หมดด้วยกระดาษทิชชู แล้วหยดน้ำกลั่นล้างอีก 3 ครั้ง จะทำให้รากมีลักษณะอ่อนนุ่มขึ้น
7. หยดสี aceto-orcein ให้ท่วมราก และใช้ปลายเข็มเขี่ยกดหรือขยี้รากให้เนื้อเยื่อกระจายออก
8. นำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 3-4 ครั้ง เพื่อให้รากติดสีย้อมได้ดียิ่งขึ้น ระวังอย่าให้สีเดือดและแห้ง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น
9. ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นวางกระดาษทิชชูทับบนกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้หัวแม่มือบดขยี้เบาๆ เพื่อให้เซลล์แยกออกจากกัน
10. ซับสีที่ล้นออกมาบนกระจกปิดสไลด์ และเช็ดด้านล่างของสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า 100 เท่า และ 400 เท่า
11. วาดภาพระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ ที่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมระบุรายละเอียด

ผลการทดลอง

ให้วาดภาพระยะการแบ่งเซลล์ พร้อมอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ระยะการแบ่งเซลล์	ภาพที่เห็นได้กล้อง
<p data-bbox="331 412 485 448">Interphase</p> 	<p data-bbox="643 772 1401 898">.....</p> <p data-bbox="643 824 1401 837">.....</p> <p data-bbox="643 887 1401 900">.....</p>
<p data-bbox="343 922 474 958">Prophase</p>  <p data-bbox="268 1339 552 1375">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p data-bbox="643 1339 1401 1464">.....</p> <p data-bbox="643 1391 1401 1404">.....</p> <p data-bbox="643 1453 1401 1467">.....</p>
<p data-bbox="336 1494 480 1529">Metaphase</p>  <p data-bbox="268 1915 552 1951">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p data-bbox="643 1904 1401 2029">.....</p> <p data-bbox="643 1955 1401 1968">.....</p> <p data-bbox="643 2018 1401 2031">.....</p>

Anaphase



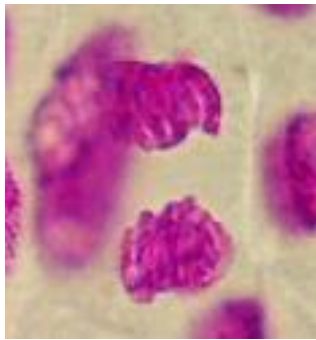
กำลังขยาย.....เท่า

.....

.....

.....

Telophase



กำลังขยาย.....เท่า

.....

.....

.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายบท

1. เพราะเหตุใดจึงเลือกบริเวณปลายรากหอมที่ชาวชุมชนมาศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

.....

.....

.....

.....

2. ระยะใดของการแบ่งเซลล์ที่เหมาะสมแก่การศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมมากที่สุด เพราะอะไร

.....

.....

.....

.....

3. จงให้เหตุผลของการหยุดกรดไฮโดรคลอริกลงบนตัวอย่างในขั้นตอนการเตรียมสไลด์

.....

.....

.....

.....

4. เมื่อเสร็จสิ้นการแบ่งเซลล์ในระยะเทโลเฟส (telophase) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างไร

.....

.....

.....

.....

5. การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสแตกต่างจากไมโอซิสอย่างไร

.....

.....

.....

.....