

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

## ปฏิบัติการที่ 5 การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส

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)

### การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (Meiosis)

เป็นการแบ่งเซลล์ในเซลล์สืบพันธุ์ มีการแบ่งเซลล์ 2 ครั้ง คือ ไมโอซิส 1 (meiosis I) ซึ่งจะได้เซลล์ใหม่เกิดขึ้น 2 เซลล์ โดยแต่ละเซลล์จะมีจำนวนชุดโครโมโซมลดลงเป็นครึ่งหนึ่ง ( $n$ ) ของเซลล์เริ่มแรก แล้วจึงเข้าสู่การแบ่งเซลล์ครั้งที่ 2 เรียกว่า ไมโอซิส 2 (meiosis II) ซึ่งมีกระบวนการเหมือนกับการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ดังนั้นจากเซลล์เริ่มต้น 1 เซลล์ เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจะได้เซลล์ใหม่เกิดขึ้น 4 เซลล์ โดยแต่ละเซลล์มีจำนวนชุดโครโมโซมลดลงเป็นครึ่งหนึ่งของเซลล์เริ่มแรก

1. **ระยะอินเตอร์เฟส (interphase)** เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์โปรตีน RNA และมีการจำลอง DNA ออกเป็น 2 เท่า ในระยะนี้ 1 โครโมโซมประกอบด้วย 2 โครมาทิด

2. **ระยะการแบ่งเซลล์ แบบไมโอซิส (meiosis)** มีการแบ่งเซลล์ 2 ครั้ง ได้แก่ ไมโอซิสครั้งที่ 1 (meiosis I) และ ไมโอซิสครั้งที่ 2 (meiosis II)

### การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 1 (meiosis I)

เป็นการแบ่งเซลล์เพื่อลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ดังนี้

**โปรเฟส I (prophase I)** แบ่งย่อยเป็น 5 ระยะ คือ

- **เลปโทเทิน (leptotene)** โครโมโซมเป็นเส้นใย ขนาดเล็กและยาวมากสานกันไปบางส่วนพันกันถี่มาก เมื่อย้อมสีจะติดสีเข้มคล้ายลูกปัด เรียกว่า โครโมเมียร์ (chromomere) และเห็น นิวคลีโอลัสชัดเจน
- **ไซโกเทิน (zygotene)** โฮโมโลกัสโครโมโซมมาจับคู่เรียงกันตามความยาวของโครโมโซม ทำให้โครโมเมียร์ตรงกันทุกจุด เรียกว่า ซิแนปส์ (synapse)

- แพคทีทีน (*pachytene*) โครโมโซมหดตัวสั้น ทำให้เห็นเป็นแท่งสั้นชัดเจน โดยไฮโมโลกัสโครโมโซมอยู่กันเป็นคู่ เรียกว่า ไบเวเลนต์ (bivalent) แต่ละไบเวเลนต์ประกอบด้วย 4 โครมาทิด เรียกว่า เทแทรด (tetrad)

- ไดโพลทีน (*diplotene*) เป็นระยะที่สายโครมาทิดจากต่างโครโมโซมมาพันกัน เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของไฮโมโลกัสโครโมโซม เรียกว่า ไคแอสมา(chiasma) และการแลกเปลี่ยนนี้เรียกว่าเกิดการครอสซิงโอเวอร์ (crossing over) ทำให้ยีนมีการเรียงตัวกันใหม่และเกิดการแปรผันทางพันธุกรรม

- ไดอะไคนีซิส (*diakinesis*) โครโมโซมหดสั้นมากขึ้นทำให้ไบเวเลนต์แยกตัวมากขึ้น โครโมโซมติดกันเฉพาะส่วนปลาย นิวคลีโอลัสและเยื่อหุ้มนิวเคลียสเริ่มสลายตัวไป

**เมทาเฟส I (metaphase I)** ไฮโมโลกัสโครโมโซมแต่ละคู่มาเรียงกันอยู่ตรงกลางเซลล์ โดยมีสายสปินเดิลยึดอยู่ที่ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์

**แอนาเฟส I (anaphase I)** ไฮโมโลกัสโครโมโซมแต่ละคู่จะแยกออกจากกัน โดยถูกดึงไปอยู่คนละขั้วเซลล์

**เทโลเฟส I (telophase I)** ไฮโมโลกัสโครโมโซมแยกออกไปอยู่คนละขั้ว เกิดนิวคลีโอลัส และเยื่อหุ้มเซลล์

### การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 (meiosis II)

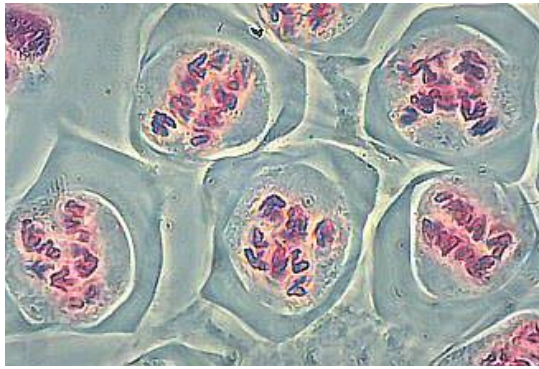
การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ โพรเฟส II เมทาเฟส II แอนาเฟส II และเทโลเฟส II ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะเหมือนกับในการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)



Zygotene /Prophase I



Diplotene/Prophase I



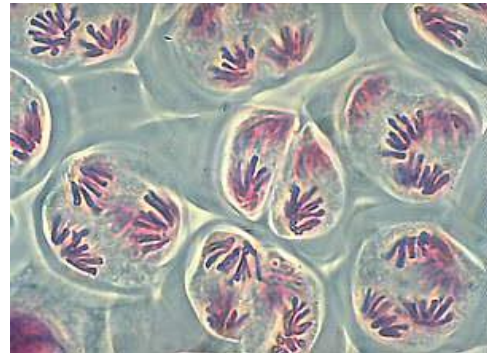
Diakinesis/Prophase I



Metaphase I



Metaphase II



Anaphase II

รูปที่ 1 แสดงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ภาพถ่ายโครโมโซมดอกหอม (*Allium ursinum*)

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาสามารถเตรียมสไลด์สำหรับการศึกษการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส
2. เพื่อให้นักศึกษาทราบความสำคัญและขั้นตอนของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส
3. เพื่อให้นักศึกษาหาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส

### วัสดุอุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์
2. ดอกกุยช่าย
3. สี aceto-orcein
4. 5% HCl หรือ 1N HCl
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. ไม้ขีดไฟ
7. สไลด์ และกระจกปิดสไลด์
8. เข็มเขี่ยและปากคีบ

9. ใบมีดโกน
10. หลอดหยด
11. ปีกเกอร์
12. น้ำกลั่น
13. กระดาษทิชชู
14. กระดาษเช็ดเลนส์

### วิธีการศึกษา

เลือกดอกกุยช่ายที่กำลังมีการแบ่งเซลล์ เป็นดอกที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป โดยเลือกดอกย่อยที่อยู่ในช่วงกลางๆของดอก ซึ่งจะพบการแบ่งเซลล์ในไมโครสปอร์มาเทอร์เซลล์ (microspore mother cell) หรือไมโครสปอโรไซต์ (microsporocyte) ของอับเรณู (anther) ของเกสรตัวผู้

1. นำดอกกุยช่ายไปแช่ในสารละลายรักษาสภาพเนื้อเยื่อ (fixative) นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ใน 70 % ethanol และเก็บรักษาไว้ 4°C จนกว่าจะนำมาใช้
2. นำดอกกุยช่ายมาวางบนสไลด์ และล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง
3. ใช้เข็มเขี่ยฉีกกลีบดอกออกจะพบดอกย่อยอยู่ภายใน เลือกดอกย่อยที่อยู่ช่วงกลางๆ 2-3 ดอก เขี่ยเอาเฉพาะอับเกสรตัวผู้หรืออับเรณูและเขี่ยส่วนอื่นทิ้งไป
4. หยด 5% HCl 2-3 หยด ลงบนอับละลองเกสร ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที แล้วขับ HCl ออกให้หมดด้วยกระดาษทิชชู แล้วหยदन้ำกลั่นล้างอีก 3 ครั้ง
5. หยดสี aceto-orcein ให้ท่วมอับละลองเกสร และใช้ปลายเข็มเขี่ยกดหรือขยี้ให้อับละลองเกสรแตกออก แล้วนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 3-4 ครั้ง เพื่อให้ติดสียอมได้ดียิ่งขึ้น ระวังอย่าให้สีเดือดและแห้งจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น
6. ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นวางกระดาษทิชชูทับบนกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้หัวแม่มือบดขยี้หรือทุบด้วยด้ามของเข็มเขี่ยเบาๆ เพื่อให้เซลล์แยกออกจากกัน
7. ซับสีที่ล้นออกมานอกกระจกปิดสไลด์ และเช็ดด้านล่างของสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 100 และ 400 เท่า
8. วาดภาพระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ ที่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมระบุรายละเอียด

**ผลการทดลอง**

ให้วาดภาพระยะการแบ่งเซลล์ พร้อมอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ภาพที่เห็นได้กล้อง (Meiosis I)	ภาพที่เห็นได้กล้อง (Meiosis II)
<p style="text-align: center;"><b>Prophase I</b></p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p style="text-align: center;"><b>Prophase II</b></p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>
<p style="text-align: center;"><b>Metaphase I</b></p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p style="text-align: center;"><b>Metaphase II</b></p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>

ภาพที่เห็นได้กล้อง (Meiosis I)	ภาพที่เห็นได้กล้อง (Meiosis II)
<p style="text-align: center;">Anaphase I</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p style="text-align: center;">Anaphase II</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>
<p style="text-align: center;">Telophase I</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>	<p style="text-align: center;">Telophase II</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: center;">กำลังขยาย.....เท่า</p>

**สรุปผลการทดลอง**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**คำถามท้ายบท**

1. การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมเกิดขึ้นในระยะใด และมีผลต่อพันธุกรรมของเซลล์ที่เกิดใหม่อย่างไร

.....

.....

.....

.....

2. การแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase I และ anaphase II แตกต่างกันอย่างไ

.....

.....

.....

.....

3. เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์ในระยะ Telophase II ของเซลล์พืชจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างไร

.....

.....

.....

.....

4. เมื่อสิ้นสุดการการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เซลล์ลูกมีลักษณะอย่างไร

.....

.....

.....

.....

.....

.....