

บทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

จากคำกล่าวของ รูดอล์ฟ วิตซอว์ (Rudolf Virchow) ที่ว่า “เซลล์ทุกเซลล์มีจุดกำเนิดจากเซลล์” ทำให้มีการศึกษาขบวนการเพิ่มเซลล์ทั้งที่เป็นเซลล์เดียว (Unicellular) และหลายเซลล์ (Multicellular) จากความจริงที่ว่าสิ่งมีชีวิตทั้งหลายประกอบด้วยเซลล์ตั้งแต่เซลล์เดียวขึ้นไป เซลล์เหล่านี้ควรจะมีการเจริญเติบโตมาจากเซลล์เดียว ถ้าเป็นเช่นนั้นจริง การเจริญเติบโตของเซลล์จึงมีความสำคัญต่อการมีชีวิตของสิ่งมีชีวิต

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ผู้ศึกษา

1. สามารถเข้าใจการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิส
2. สรุปขั้นตอนต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ทั้งแบบไมโทซิสและไมโอซิส และสรุปผลที่เกิดขึ้นต่อสิ่งมีชีวิตเนื่องจากการแบ่งเซลล์ทั้งสองแบบ
1. สามารถหาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของปลายรากหอมและการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของดอกกุหลาบจากสไลด์ที่เตรียมด้วยตนเอง

เนื้อหา

การแบ่งเซลล์ประกอบด้วยกระบวนการพื้นฐานสำคัญ 2 ขั้นตอน คือ

1. การแบ่งนิวเคลียส (Karyokinesis หรือ Nuclear division)
2. การแบ่งไซโทพลาซึม (Cytokinesis หรือ Cytoplasmic division)

คำว่า ไมโทซิส และไมโอซิส หมายถึง การแบ่งนิวเคลียสเท่านั้น ซึ่งเมื่อเกิดการแบ่งนิวเคลียสแล้วก็จะเกิดการแบ่งไซโทพลาซึมติดตามมา กระบวนการทั้งสองคือ การแบ่งนิวเคลียสรวมกับการแบ่งไซโทพลาซึม จึงเรียกว่าการแบ่งเซลล์ โดยทั่วไปเรามักจะกล่าวว่า ไมโทซิส และ ไมโอซิส เป็นการแบ่งเซลล์ (ที่จริงเป็นการแบ่งนิวเคลียส) ซึ่งอาจเรียกได้แต่ไม่ถูกต้องนัก อย่างไรก็ตามเพื่อความสะดวกและไม่ให้เกิดความสับสนจึงอาจอนุมานเรียกว่าการแบ่งเซลล์ได้

การแบ่งนิวเคลียสแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ไมโทซิส และไมโอซิส การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส เป็นการแบ่งเซลล์ที่เมื่อแบ่งเสร็จสิ้นแล้วเซลล์ได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ ทั้งสองเซลล์ยังมีโครโมโซมเท่าเดิม มีปริมาณและคุณภาพเท่ากับโครโมโซมเดิมทุกประการ ก่อนที่จะแบ่งเซลล์นั้นมีการจำลองสารต่างๆ และสารพันธุกรรมขึ้นอีก 1 ชุดแล้วมีการแบ่งแยกไปยังเซลล์ใหม่เซลล์ละชุด การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และการพัฒนาของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ ส่วนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเป็นกระบวนการที่แบ่งเพื่อลดจำนวนโครโมโซมจาก $2n$ ลงเหลือ n เซลล์ใหม่ที่ได้จากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสได้ 4 เซลล์ ซึ่งมีกระบวนการแบ่งนิวเคลียสที่ซับซ้อนหลายขั้นตอนมากกว่าไมโทซิส การแบ่งนิวเคลียสแบบนี้เป็นการแบ่งเพื่อ

สร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Sex cell) เพื่อใช้ในกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสัตว์และเป็นการแบ่งเพื่อสร้างสปอร์ในพืช

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ประกอบด้วยระยะต่างๆ ดังนี้

1. ระยะอินเตอร์เฟส (Interphase)

ระยะนี้เซลล์และนิวเคลียสจะมีขนาดใหญ่ เยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสจะปรากฏให้เห็นชัดเจน สารพันธุกรรมมีลักษณะเป็นเส้นบางมากจนมองเห็นไม่ชัด ซึ่งมีชื่อเรียกว่า โครมาติน (Chromatin)

2. ระยะโพรเฟส (Prophase)

ระยะนี้โครมาตินเริ่มหดตัวจึงเห็นหนาหรือชัดขึ้นและเปลี่ยนชื่อใหม่ว่า โครโมโซม เยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสเริ่มสลาย และเมื่อถึงปลายโพรเฟสจะเห็นโครโมโซมหนาขึ้น เยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสสลายไปหมดสิ้น ในเซลล์สัตว์จะมีเซนทริโอลซึ่งได้แบ่งจาก 1 เป็น 2 และจะแยกกันไปยังขั้วตรงข้าม โดยมีเส้นใยสปินเดอร์ (Spinder fiber) ยึดติดกันไว้

3. ระยะเมทาเฟส (Metaphase)

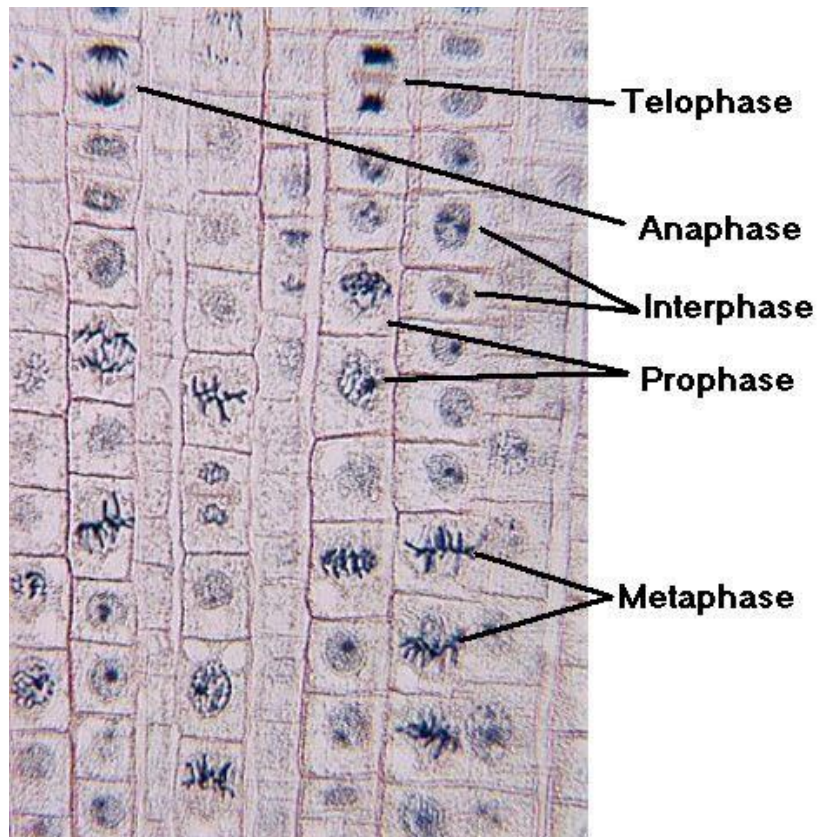
โครโมโซมจะมีขนาดใหญ่ที่สุด (เพราะหดตัวมากที่สุด) โดยที่ 1 โครโมโซมจะประกอบด้วย 2 โครมาติด ที่ยึดติดกันที่ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ (Centromere) ระยะนี้โครโมโซมได้เคลื่อนอยู่กลางเซลล์ โดยมีเส้นใยสปินเดอร์โยงจากเซนโตรเมียร์ไปยังแต่ละขั้วของเซลล์

4. ระยะอะนาเฟส (Anaphase)

เป็นระยะที่โครมาติดแต่ละคู่ของโครโมโซมเคลื่อนที่ออกจากกัน โดยมีเส้นใยสปินเดิลที่ยึดติดกับเซนโตรเมียร์ (ซึ่งแบ่งจาก 1 เป็น 2) เป็นตัวดึงออกไป ปลายระยะอะนาเฟสจะได้เซลล์ที่มีโครมาติด 2 กลุ่ม ในขั้วตรงข้ามกัน

5. ระยะเทโลเฟส

ระยะที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสเกิดขึ้นกับโครโมโซม (ซึ่งได้ยืดยาวออก) แต่ละกลุ่มที่ขั้วเซลล์ทำให้ได้เป็น 2 นิวเคลียส ที่มีจำนวนและลักษณะของโครโมโซมเหมือนกันทุกประการและเหมือนกับเซลล์เดิมด้วย หลังจากแบ่งนิวเคลียสแล้วก็จะมีการแบ่งไซโทพลาซึมเพื่อแบ่งเซลล์เดิมให้เป็นเซลล์ลูก 2 เซลล์ ในพืชจะเริ่มจากมี cell plate เกิดที่กลางเซลล์และเจริญออกไปทางด้านข้าง จนกลายเป็นผนังเซลล์ที่กั้นระหว่างเซลล์ใหม่ทั้งสอง ส่วนในเซลล์สัตว์จะมีการคอดของไซโทพลาซึมที่กลางเซลล์ และจะคอดมากขึ้นจนแบ่งเซลล์เดิมออกเป็น 2 เซลล์ใหม่อย่างสมบูรณ์



ภาพที่ 1 แสดงระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของปลายรากหอม

กิจกรรมนักศึกษา

1. ทำแบบทดสอบก่อนเรียน
2. แบ่งกลุ่มประมาณ 5-6 คน
3. ปฏิบัติการทดลอง ชุด การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส
4. สรุปรายงานผลการทดลองและนำเสนอ
5. ทำแบบฝึกหัด
6. ทำแบบทดสอบหลังเรียน

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์
2. รากหอมแดงที่ผ่านการตรึงสภาพของเซลล์
3. กรดไฮโดรคลอริก (HCL) เข้มข้น 5%
4. เอธิลแอลกอฮอล์
5. กรดแกลเซียอะซิติก (glacial acetic acid)
6. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
7. เข็มเขี่ย และปากคีบปลายแหลม

8. สีอะซีโตคาร์มีน (acetocarmine)
9. ใบมีดโกน
10. น้ำกลั่น
11. กระจกตาขีชี

กิจกรรมก่อนปฏิบัติการ : เตรียมล่วงหน้าอย่างน้อย 1-2 สัปดาห์

1. นำหัวหอมแดงมาตัดส่วนโคนออกแล้ว วางบนตระแกรงที่มีลักษณะเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาดพอดีกับหัวหอม (อาจใช้ที่วางหลอดทดลอง) แล้วนำไปวางบนภาดอลูมิเนียมที่มีน้ำบรรจุอยู่ โดยให้โคนหอมแดงสัมผัสกับผิวน้ำเล็กน้อย ระวังไม่ให้หัวหอมแช่อยู่ในน้ำเพราะจะทำให้เน่า ทั้งไว้ 4-6 วัน จนหัวหอมมีรากงอก
2. นำหอมแดงที่มีรากมาตัดส่วนปลายราก โดยใช้กรรไกรตัดปลายรากบริเวณที่มีสีขาวขุ่น ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำมาตรึงสภาพเซลล์ โดยใช้รากหอมในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (fixation) ซึ่งเตรียมจากส่วนผสมของเอธิลแอลกอฮอล์และกรดกลูเซอซิดิกในอัตราส่วน 3:1 เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง (การตัดปลายรากหอมควรทำในช่วงเช้า ระหว่างเวลา 9.00-12.00 น. เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่มียอตราการแบ่งเซลล์ค่อนข้างสูง)
3. นำรากหอมมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วตามด้วยการล้างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% จากนั้นรักษาสภาพรากหอมไว้ในเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% โดยเก็บในตู้เย็น

วิธีการทดลอง

1. ใช้ forceps คีบรากหอมที่ผ่านการรักษาสภาพแล้ว วางบนแผ่นสไลด์
2. ตัดเฉพาะปลายรากที่มีสีขาวขุ่นด้วยใบมีดโกนหรือเข็มเย็บเย็บ ส่วนที่เหลือใช้กระจกตาขีชีขูดออก
3. ล้างน้ำยารักษาสภาพออกให้หมด โดยหยดน้ำกลั่นลงบนรากหอม แล้วขูดน้ำออกด้วยกระจกตาขีชี ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง
4. หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% ลงบนรากหอม 1 หยด ทั้งไว้ 5-10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น โดยหยดน้ำกลั่นลงบนรากหอมแล้วขูดน้ำออกด้วยกระจกตาขีชี ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง
5. ใช้ปลายเข็มขูดปลายรากหอมให้ละเอียด เพื่อให้เซลล์แยกออกจากกัน
6. หยดสีย้อม acetocarmine 1 หยด บนรากหอมที่ขูดแล้ว
7. ปิดทับแผ่นสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นวางกระจกตาขีชีทับลงบนกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้หัวแม่มือบิดขีชีเบาๆ หรือใช้ดินสอด้านที่มียางลบเคาะเบาๆ หลายๆ ครั้ง เพื่อให้เซลล์แยกออกจากกัน ซึ่งจะทำให้เห็นโครโมโซมแต่ละระยะได้ชัดเจนขึ้น
8. นำสไลด์ที่ผ่านวิธีการข้างต้น ไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อศึกษาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสให้ถูกต้อง วาดภาพแสดงระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของปลายรากหอมจากการเตรียมสไลด์สด และบรรยายลักษณะของนิวเคลียสและโครโมโซมที่สังเกตได้ในแต่ละระยะ

การวัดผลและการประเมินผล

1. สืบเนื่องจากพฤติกรรมการทดลอง
2. การนำเสนอรายงานผลการทดลอง
3. การทำแบบฝึกหัด
4. การตรงต่อเวลาและความรับผิดชอบ
5. การรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการ และการดูแลรักษาอุปกรณ์
6. การทดสอบก่อนเรียนและหลังเรียน

รายงานผลการทดลอง

เรื่อง การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

หมู่เรียน.....กลุ่มพื้นฐาน.....โปรแกรมวิชา.....กลุ่มปฏิบัติการที่.....

ชื่อผู้รายงาน 1.....รหัส.....
 2.รหัส.....
 3.รหัส.....
 4.รหัส.....
 5.รหัส.....
 6.รหัส.....

วันที่ทำการทดลอง.....

ตอนที่ 1 จงวาดรูปลักษณะของโครโมโซมที่มีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส จากสไลด์ปลายรากหอม

1. การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

1.1 ระยะอินเตอร์เฟส

1.2 ระยะโพรเฟส

1.3 ระยะเวลาเฟส

1.4 ระยะอะนาเฟส

1.5 ระยะเทโลเฟส

แบบฝึกหัด

จงตอบคำถามต่อไปนี้

1. ส่วนใดของพืชและสัตว์ที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิส
.....
.....
2. ระยะใดของการแบ่งเซลล์ที่เหมาะสมแก่การศึกษาของโครโมโซม เพราะเหตุใด
.....
.....
3. จงเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิส
.....
.....
.....
.....
4. จงเปรียบเทียบความแตกต่างของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในระหว่างเซลล์พืชและเซลล์สัตว์
.....
.....
.....
5. จงเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม และจำนวนโครโมโซมระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิส

ระยะของการแบ่งเซลล์	ไมโทซิส	ไมโอซิส
Prophase		
Metaphase		
Anaphase		
Telophase		