บทที่ 5
พันธุกรรม

เค้าโครงเรื่อง

5.1 การกลาย

5.2 การทดลองผสมข้ามสายพันธุ์

5.2.1 การผสมข้ามสายพันธุ์ในพวกแฮพลอยด์

5.2.2 การผสมข้ามสายพันธุ์ในพวกดิพลอยด์

(1) ลักษณะเมทิงไทป์

(2) ลักษณะแอนติเจนิก

(3) ลักษณะคิลเลอร์และเมท-คิลเลอร์

(4) ลักษณะการกลายที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิ

(5) ลักษณะการกลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี

(6) ลักษณะพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย

5.3 ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏและการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์

5.3.1 ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏ

5.3.2 การถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์

สาระสำคัญ

1. การกลายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในโปรโตซัวพบได้น้อยและยากต่อการสังเกตเห็น แต่การกลายที่เกิดขึ้นโดยการเหนี่ยวนำด้วย รังสี ความร้อน หรือสารก่อมะเร็ง เกิดขึ้นได้ง่าย ทั้งในระดับยีน และในระดับโครโมโซม ความผิดปกติสังเกตเห็นได้ง่าย โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ แต่ในกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ สังเกตการผิดปกติได้ยาก เนื่องจากลักษณะปรากฏถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมที่เป็นพอลิพลอยด์ของแม่โครนิวเคลียสด้วย การกลายที่เกิดขึ้นในระดับยีน ทดสอบได้ด้วยวิธีทดลองผสมข้ามสายพันธุ์
2. ลักษณะเมทิงไทป์ ลักษณะแอนติเจนิก และลักษณะคิลเลอร์และเมท-คิลเลอร์เป็นการกลายที่กำหนดโดยยีนควบคู่กับการปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมทั้งที่

เป็นสภาพแวดล้อมภายในคืออิทธิพลของไซโทพลาซึมจากคู่สังยุค หรือสภาพแวดล้อมภายนอก (มีเดียที่ใช้เพาะเลี้ยง) รวมถึงอุณหภูมิด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพารามีเซียมที่มีการกลายที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิ ลักษณะการกลายต่อการเปลี่ยนทางชีวเคมี ถูกควบคุมโดยยีนที่สัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ สำหรับลักษณะพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียนั้น ถูกควบคุมโดยการทำงานร่วมกันของ DNA ในไมโทคอนเดรีย และ DNA ในนิวเคลียส

3. ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏทั้งที่แต่ละเซลล์มีจีโนไทป์เหมือนกัน พบในโปรโตซัวหลายชนิด เช่นใน ซิลิเอท ทริพาโนโซม เอพิคอมเพลกซาน และพวกที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ กลไกการทำงานของบางกลุ่มสามารถเห็นได้ชัดว่าอยู่ภายใต้การควบคุมของยีน บางกลุ่มไม่ปรากฏชัด DNA ที่สลายจากแมโครนิวเคลียสมาอยู่ในไซโทพลาซึม มีบทบาทช่วยในการปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏด้วย การปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏอาจย้อนกลับ หรือไม่ย้อนกลับก็ได้ ทั้งสองกรณีขึ้นอยู่กับชนิด ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏนี้สืบทอดทางพันธุกรรมต่อเนื่องไปยังชั่วรุ่นถัดไปได้

จุดประสงค์ของการเรียนรู้

เมื่อศึกษาจบบทนี้แล้ว นักศึกษาสามารถบอกได้ว่า

1. การกลายหมายถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระดับยีนและระดับโครโมโซมและอาจเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นได้อย่างไร ในระดับใดของเซลล์ ความผิดปกติสามารถสังเกตเห็นได้ในเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมแบบใด และจะทดสอบได้อย่างไร
2. การศึกษาเรื่องการกลายลักษณะต่าง ๆ นิยมทดลองในโปรโตซัวพวกใดและด้วยเหตุผลใด ลักษณะการกลายเหล่านั้น ลักษณะใดมีข้อมูลเด่นชัดว่ามีกลไกการทำงานภายใต้การควบคุมของยีน นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมใดมาเกี่ยวข้อง
3. ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏ และการถ่ายทอดลักษณะเหล่านั้นทางพันธุกรรม มีกลไกการทำงานภายใต้การควบคุมของยีนเป็นแบบใด
4. นักศึกษาสามารถตอบคำถามในแบบฝึกหัดท้ายบทได้เกินกว่าร้อยละ 80 ในเวล1 หนึ่งสัปดาห์

ปัจจัยควบคุมลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมคือ ยีน ซึ่งประกอบด้วยชุด หรือรูปแบบของยีนที่เรียกว่า **จีโนไทป์(genotype)** ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะปรากฏที่เรียกว่า **ฟีโนไทป์(phenotype)** ซึ่งเป็นหลักการปกติในสัตว์และพืช แต่ในโปรโตซัว จีโนไทป์ไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับลักษณะฟีโนไทป์ ยีนทำหน้าที่เพียงควบคุมปฏิกริยาปกติที่จะนำสู่การมีลักษณะปรากฏตามที่กำหนดไว้ โดยอยู่ภายใต้การควบคุมของความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมภายนอกและภายใน ยีนบนโครโมโซมควบคุมเพียงโครงสร้างพื้นฐานให้เซลล์มีการถ่ายแบบที่เหมือนกันจากเซลล์แม่ไปยังเซลล์ลูก รวมถึงควบคุมกระบวนการพื้นฐานของการสืบพันธุ์ เช่น การแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส ไมโอซิส และการรวมกันของนิวเคลียส(การปฏิสนธิ) ในพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ ยีนทำหน้าที่ควบคุมเพียงครั้งเดียว ในพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ ยีนทำหน้าที่ควบคุมเพียงสองครั้งโดยผ่านทาง **คู่ของยีน(alleles)**ที่อยู่บนโฮโมโลกัสโครโมโซม

การศึกษาเรื่องพันธุกรรมให้เข้าใจได้นั้น จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานศัพท์เทคนิคในเรื่องนี้มาก่อน โดยเฉพาะความหมายของคำหลายคำ เช่น **ยีน** ว่าหมายถึงกลุ่มของนิวคลีโอไทด์ที่มีจำนวนโมเลกุลและลำดับการเรียงตัวที่แน่นอนอยู่บนโครโมโซม ลักษณะข้อมูลทางพันธุกรรมถูกกำหนดโดยลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์เหล่านี้ ความสามารถในการถ่ายแบบลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนเดิมทุกประการ เป็นพื้นฐานของการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมที่คงที่ด้วย

ลักษณะบางอย่างซึ่งอยู่ภายในลักษณะรวมที่ปรากฏ(ฟีโนไทป์)ของแต่ละชนิดอาจไม่ถูกควบคุมและถ่ายทอดมาโดยยีน สาร หรือเซลล์ออร์แกเนลล์เฉพาะบางอย่างที่อยู่ภายในไซโทพลาซึม ก็มีส่วนร่วมในการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมด้วย เรียกการถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่ไม่ผ่านทางโครโมโซมนี้ว่า **"การถ่ายทอดทางพันธุกรรมนอกโครโมโซม"(extrachromosomal inheritance)** ซึ่งสามารถศึกษาพบได้ในโปรโตซัวหลายชนิด

5.1 การกลาย

การเปลี่ยนสารพันธุกรรมอย่างกระทันหัน ส่งผลกระทบต่อการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมให้เปลี่ยนไปจากเดิมในชั่วรุ่นถัดไป เรียกว่า **การกลาย(mutation)** เซลล์ที่มียีนบางยีน ต่างจากยีนปกติในยีนพูลของประชากรชนิดเดียวกัน เรียกเซลล์นั้นว่า **มิวแทนท์(mutant)** การศึกษาเรื่องการกลาย จำเป็นต้องนำหลายสเตรนของชนิดเดียวกันมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสรีรและพฤติกรรม เพื่อจะได้ทราบว่า ลักษณะใดเป็น

ลักษณะของการกลายบ้าง ในโปรโตซัวที่มีอัตราการกลายต่ำ นักพันธุศาสตร์ใช้หลายระเบียบวิธีเหนี่ยวนำให้มีอัตราการกลายสูงขึ้น สิ่งที่ช่วยให้มีการกลายเกิดขึ้นได้ คือ แสงอัลตราไวโอเลท(UV) รังสี(เช่น เอกซ์เรย์) และ**สารก่อการกลาย(mutagenic substance)** เช่น กรดไนตรัส ยูรีเทน(urethane) **สารปฏิชีวนะ(antibiotics)** และ **สารก่อมะเร็ง(carcinogens)**

การศึกษาเรื่องการกลาย นิยมใช้วิธีผสมข้ามพันธุ์ ในกรณีที่วิธีนี้ไม่ได้ผล อาจใช้วิธี**ถ่ายโอนนิวเคลียส(nuclear transfer)**ก็สามารถทราบตำแหน่งการกลายได้ N-methyl-N-introsourethane เป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่งที่นำมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายขึ้นในนิวเคลียสของ *Amoeba proteus* หลังจากนั้นจึงถ่ายโอนนิวเคลียสของเซลล์มิวแทนท์สเตรนไปใส่ลงในเซลล์ปกติที่ดูดนิวเคลียสออกแล้ว เซลล์ลูกหลานในโคลนของเซลล์ที่ได้รับการถ่ายโอนนิวเคลียสนี้แสดงลักษณะของเซลล์มิวแทนท์สเตรน จะเห็นได้ว่านิวเคลียสโดยเฉพาะที่โครโมโซมต้องเป็นตำแหน่งที่ก่อให้เกิดการกลาย ในทางตรงกันข้ามถ้าถ่ายโอนนิวเคลียสของเซลล์มิวแทนท์สเตรนไปใส่ในเซลล์ปกติที่ไม่มีการดูดนิวเคลียสออก ลักษณะปรากฏของเซลล์ลูกหลานภายในโคลนใหม่นี้จะเหมือนกับเซลล์ปกติ ในกรณีนี้แสดงว่านิวเคลียสของเซลล์ปกติควบคุมการถ่ายทอดลักษณะปรากฏ อย่างไรก็ตามการผสมข้ามสายพันธุ์มีความจำเป็น ถ้าต้องการทราบว่าการกลายขึ้นอยู่กับปัจจัยการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเพียงอย่างเดียวหรือไม่ ถ้าเป็นเช่นนั้น เรียกการกลายแบบนี้ว่า **การกลายเนื่องจากยีน(gene-mutation)**

ในโปรโตซัวที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ ยีนที่มีการกลาย(mutated gene) ไม่มีคู่(allele)ซึ่งอาจส่งผลให้มีการกดหรือทำให้ผลการกลายอ่อนลง การถ่ายทอดทางพันธุกรรมเพียงปัจจัยจากยีนอย่างเดียว ส่งผลโดยตรงต่อลักษณะปรากฏได้ทันที ส่วนใหญ่การกลายเนื่องจากยีนส่งผลรุนแรงถึงขั้นทำให้เซลล์ตายเรียกว่า **การกลายถึงตาย (lethal mutation)** บางเซลล์ที่รอดชีวิตจนถึงขั้นมีความสามารถแบ่งเซลล์ก็ยังได้**ผลกระทบจากการกลาย(defect mutation)**ที่ทำให้การมีชีวิตรอดลดลง ได้มีผู้ศึกษาเรื่องการกลายมากในหลายชนิดของสกุล *Chlamydomonas* (ดูอนุเฉกหน้า 86) แต่จะไม่นำเสนอในตำราเล่มนี้

ในโปรโตซัวที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ ยีนที่มีการกลายถูกกดหรือทำให้อ่อนลงโดยคู่ของยีนที่เป็นปกติ พวกซิลิเอทเป็นกลุ่มที่ถูกนำมาศึกษาเรื่องการกลายกัน

มาก พึงระลึกเสมอว่า ลักษณะปรากฏของโปรโตซัวกลุ่มนี้มิได้กำหนดโดยยีนจากไมโคร(เจเนเรทีฟ)นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว แต่ถูกครอบงำโดยยีนพอลิพลอยด์ของแมโคร(โซมาทิก)นิวเคลียสด้วย การกลายที่เกิดขึ้นในช่วงของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจึงไม่สามารถปรากฏชัดพอจะสังเกตเห็น เนื่องจากถูกบดบังคู่ของยีนที่เป็นปกติและมีอยู่เป็นจำนวนมาก การที่พวกซิลิเอทสามารถทนโดส(dose)สูงของรังสีก่อการกลาย อาจเชื่อมโยงโดยตรงต่อการมีคู่ของยีนปกติจำนวนมากในแมโครนิวเคลียส จึงทำให้ไม่ทราบชัดว่าดิพลอยด์ไมโครนิวเคลียสซิลิเอทมีการกลายเกิดขึ้นได้หรือไม่

การเพิ่มจำนวนยีนที่มีการกลายเกิดขึ้นได้เพียงช่วงที่มีการเจริญเป็นแมโครนิวเคลียสแอนลาเจนอันใหม่ ถ้านำ *Paramecium aurelia* มาให้ถูกรังสีก่อการกลาย แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปจนมีการผสมพันธุ์แบบออโทแกมี รูปแบบความผิดปกติที่พอสังเกตได้ในโคลนของเอกซ์ออโทแกมอนท์(เอกซ์คอนจิวแกนท์)มีความหลากหลาย ตั้งแต่อัตราการแบ่งเซลล์ลดลงเล็กน้อย และมากขึ้นมาจนถึงขั้นเซลล์ตาย จึงพออนุมานได้ว่า ความผิดปกติเหล่านี้สืบเนื่องมาจากการกลายในไมโครนิวเคลียสซึ่งมีโครโมโซมโฮโมไซกัสกันเมื่อมีการปฏิสนธิแบบออโทแกมี แล้วส่งผลกระทบต่อมาผ่านทางโฮโมไซกัสของซินแคริออนเมื่อมีการสร้างแมโครนิวเคลียสขึ้นมาใหม่ อาจหาเหตุผลอื่นมาสนับสนุนข้อคิดนี้ได้ด้วยการทดลองผสมพันธุ์ระหว่างสเตรนปกติกับสเตรนผิดปกติของเอกซ์ออโทแกมอนท์

มิวแทนท์ **ลักษณะอ่อนไหวต่ออัณหภูมิ(thermosensitive)** และ **ลักษณะพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง(behavioral)** ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นได้ด้วยสารหลายชนิด มิวแทนท์ของซิลิเอทส่วนใหญ่มิได้ถูกเหนี่ยวนำด้วยรังสีหรือสารก่อการกลายประเภทเดียวกันที่ทำให้เกิดขึ้นได้ในกลุ่มสกุล *Chlamydomonas* ส่วนใหญ่จะถูกแยกออกมาจากประชากรที่พบในถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ หรือไม่ก็พบโดยบังเอิญในประชากรที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปมิได้เป็น**มิวแทนท์ผิดปกติ(defect mutant)** แต่เป็นวาไรทีที่มีปฏิกริยาต่างจากสายพันธุ์ปกติ จึงไม่มีผลต่อการมีชีวิตรอดแต่อย่างใด ยังไม่เป็นที่ยุติว่ามิวแทนท์เหล่านี้สมควรได้รับการพิจารณาว่าเป็น **สายพันธุ์ปกติ(*wild* type)**ได้หรือไม่

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระดับโครโมโซม เรียกว่า **การกลายระดับโครโมโซม (chromosome mutation)** รูปแบบง่ายที่สุด คือ การที่ส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมหักหลุดออกไป มักจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเป็นครั้งคราว ซึ่งจะสังเกตเห็นได้เพียงกรณีที่ชุดของโครโมโซมมีรูปร่างเด่นชัด เช่นกรณีของแฟลเจลเลทชนิด *Holomastigotoides*

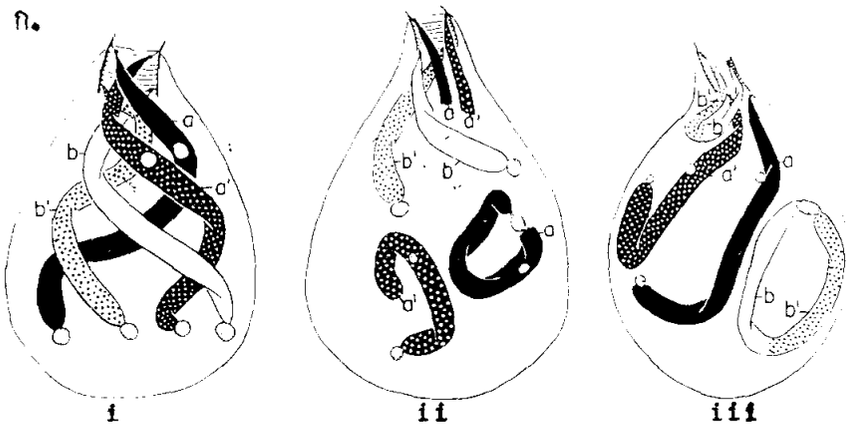
tusitala (Order Hypermastigotes, Class Parabasalia) (รูป 5-1 ก.) นิวเคลียสของโครโมโซมปกติเส้นยาวมีนิวคลีโอลัสด้านข้างติดอยู่ด้วย ใช้สัญญลักษณ์คู่โครมาทิดว่า a (เส้นทึบสีดำ) และ a' (เส้นโปร่งขาวจุดประดำ) (รูป 5-1 ก. i) ในกรณีที่เส้นยาวหักหลุด(fragment)เองตามธรรมชาติ ส่วนที่หักหลุดมีแนวโน้มที่จะต่อปลายที่หลุดออกด้วยตัวเองแทนที่จะไปต่อกับโครโมโซมอื่นที่ไม่มีการหักหลุด(รูป 5-1 ก. ii) เมื่อโครมาทิดส่วนที่หักหลุดนี้พร้อมต่อการถ่ายแบบเป็นโครโมโซมซึ่งต่อไปจะแบ่งออกเป็น 2 โครมาทิด โครโมโซมที่ได้ใหม่จึงมีโอกาสต่างกันสองลักษณะ กล่าวคือ ถ้าส่วนของโครมาทิดที่หักหลุดออกมามีไคเนโทคอร์ติดออกมาด้วยเมื่อเป็นโครโมโซมใหม่แล้วก็จะมีจุดเชื่อมต่อกับสปินเดิลไฟเบอร์ 2 จุด จึงเรียกส่วนที่หักหลุดที่มีไคเนโทคอร์นี้ว่า **ไดไคเนทิกแฟรกเมนท์(dikinetic fragment)** ถ้าส่วนที่หักหลุดไม่มีไคเนโทคอร์ก็ถูกเรียกว่า **เอไคเนทิกแฟรกเมนท์(akinetic fragment)** เนื่องจากไม่มีจุดเชื่อมต่อกับเส้นใยสปินเดิล ในกรณีที่เส้นสั้นหักหลุดเองตามธรรมชาติ(รูป 5-1 ก. iii) ไคเนทิกแฟรกเมนท์(ส่วนบนของภาพที่ติดอยู่กับเยื่อหุ้มนิวเคลียส) จะเชื่อมโยงกับส่วนเอไคเนทิกแฟรกเมนท์จะต่อกันเป็นรูปวงแหวนโดยใช้ส่วนที่หักต่อกับส่วนปลายที่มีนิวคลีโอลัสติดอยู่ เมื่อเซลล์ที่มีการหักหลุดแบบนี้ เจริญเข้าสู่ขั้นตอนของการแบ่งแบบไมโทซิส(รูป 5-1 ข. i-v) ส่วนเอไคเนทิกแฟรกเมนท์(ที่มียีน d,e) จะสลายไปเนื่องจากไม่มีจุดเชื่อมต่อกับเส้นใยสปินเดิล(รูป 5-1 ข. i-iii) ส่วนไดไคเนทิกแฟรกเมนท์จะยืดยาวตัวโดยจุดเชื่อมต่อยังคงอยู่(รูป 5-1 ข. i-iv) หรือหลุดออกจากกัน ณ ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง(รูป 5-1 ข. v) นิวเคลียสของเซลล์ลูกจะได้รับส่วนที่หักหลุด(แฟรกเมนท์)มาเซลล์ละหนึ่งอันซึ่งอาจได้รับยีนมาเหมือนกันหรือต่างกันแล้วแต่กรณี จุดเชื่อมต่อและหลุดออกจากกันนี้ไม่อยู่ที่ตำแหน่งเดิม ดังนั้นเมื่อมีการแบ่งแบบไมโทซิสช่วงต่อมาอีกหลายช่วง เซลล์ลูกก็ย่อมได้รับยีนต่างจากเซลล์เดิม(ที่มีการหักหลุดเพียงโครโมโซมเดียว) มากยิ่งขึ้นส่งผลให้เซลล์ในชั่วรุ่นหลังๆตายในที่สุด

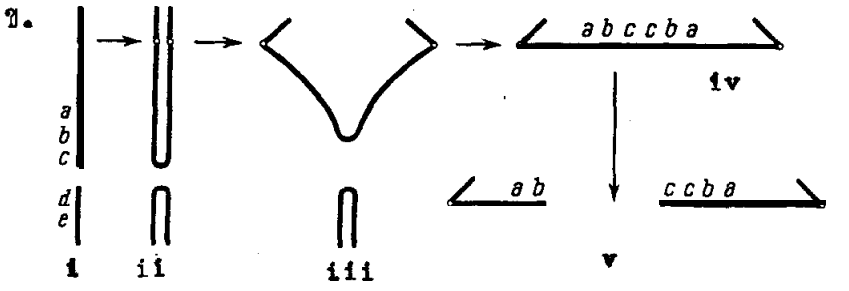
การหักหลุดของโครโมโซมทำให้ง่ายโดยการให้อาบด้วยรังสีเอกซ์ โดยเฉพาะในกลุ่มของพวกคอกซิเดียน การเพิ่มปริมาณรังสีแปรผันโดยตรงกับความถี่ของการหักหลุดจนถึงระดับหนึ่ง(ถ้ามากเซลล์จะตาย) ช่วงของการหักหลุดเกิดขึ้นเฉพาะระหว่างการแบ่งนิวเคลียสที่สัมพันธ์กับการสร้างไมโครแกมีทและสปอโรกอนี เมื่อมีการเชื่อมต่อส่วนที่หักหลุดระหว่างสองโครมาทิดที่ถ่ายแบบขึ้นมาใหม่แล้ว การขาดหลุดจากกันอีกครั้งมักเกิดขึ้นในช่วงต้นของสปอโรกอนี ถ้ามีการรวมกันอีกครั้งหนึ่งจะมีผลให้นิวเคลียสอัดเป็นมวล

แน่นจนไซโทพลาซึมแบ่งไม่ได้ ถ้าทำให้เกิดการหักหลุดในช่วงเป็นสปอโรซอยท์ ระยะโอโอซิสท์ที่ตามมาจะมีการแบ่งไซโทพลาซึมที่มีขนาดไม่เท่ากัน โดยทั่วไปขนาดจะใหญ่กว่าการแบ่งธรรมดาที่ไม่ได้รับการอาบรังสี อย่างไรก็ตาม เซลล์ชั่วรุ่นลูกขาดคุณสมบัติของการแบ่งสปอโรกอนี และตายในที่สุดทั้งนี้เพราะขาดยีนที่สำคัญบางยีน

ถ้ามีโครโมโซมหักหลุดมากกว่าสองเส้นภายในหนึ่งนิวเคลียส และมีการต่อกันอย่างเหมาะสมจนทำให้แต่ละส่วนที่หักหลุดมีจุดเชื่อมต่อกับเส้นใยสปินเดิลโดยไม่มีการสลาย ก็จะเป็นการช่วยให้มีชีวิตรอดต่อไปได้ ขึ้นอยู่กับธรรมชาติการกลายของโครโมโซมว่าจะเป็นแบบใด เช่น **ทรานสโลเคชัน(*translocation*)** **อินเวอร์ชัน(*inversion*)** และ **ดุพลิเคชัน(duplication)** ถ้าจำนวนโครโมโซมเปลี่ยนไปจากเดิม เรียกการกลายแบบนี้ว่า **จีโนมมิวเทชัน(genome mutation)** ถ้าจำนวนเพิ่มขึ้นเป็นชุดเรียกว่า **ยูพลอยดี (euploidy)** ถ้าเพิ่มขึ้นหรือลดลงเพียงเส้นเดียว เรียกว่า **เฮเทโรพลอยดี(heteroploidy)**

รูป 5-1 ก. แผนภาพการหักหลุดของโครโมโซมในแฟลเจลเลทชนิด *Holomastigotoides tusitala* i. นิวเคลียสที่มีโครโมโซมปกติ ให้สังเกตติ่งนิวคลีโอลัสที่ปลายแต่ละเส้นของโครมาทิด ii. การหักหลุดของโครมาทิดของโครโมโซมเส้นยาว iii. การหักหลุดของโครโมโซมเส้นสั้น ข. แผนภาพการยืดยาวของส่วนที่หักหลุด เมื่อถ่ายแบบเป็น 2 โครมาทิดและเชื่อมต่อกัน i. เส้นที่มียีน a b c เป็นเส้นไดไคเนทิกแฟรกเมนท์ เส้นที่มียีน d e เป็นเส้นเอไคเนทิกแฟรกเมนท์ ii. การถ่ายแบบเป็น 2 โครมาทิดปลายด้านหนึ่งเชื่อมต่อกัน iii. การยืดยาวของเส้นไดไคเนทิกแฟรกเมนท์ เส้นเอไคเนทิกจะสลายไป iv. ได้ไคเนทิกแฟรกเมนท์ยืดยาวเต็มที่ v. การหักหลุดเป็น 2 เส้นได้ยีนไม่เท่ากัน (จาก Grell, 1973)





5.2 การทดลองผสมข้ามสายพันธุ์

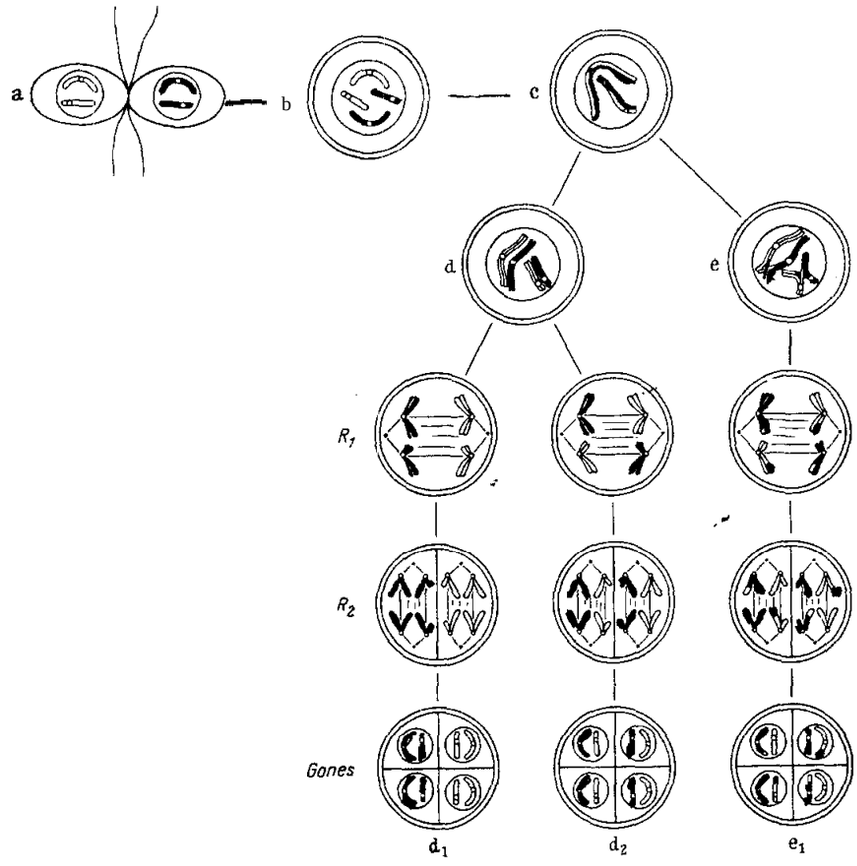
การศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับธรรมชาติการทำงานของยีนและส่วนประกอบของการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของแต่ละลักษณะ จำเป็นต้องอาศัยการทดลองนำตัวต่างลักษณะที่เห็นได้ชัดมาผสมพันธุ์กัน แต่ในโปรโตซัว การหาแต่ละเซลล์ที่ต่างลักษณะมาผสมพันธุ์กันมีข้อจำกัดมาก เนื่องจากเซลล์ที่แสดงการมีเพศและเห็นลักษณะต่างได้ชัดมีจำนวนน้อย และยังมีข้อจำกัดที่เซลล์เหล่านี้ยากต่อการนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่กำหนดแน่นอนอีกด้วย ในกลุ่มของพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ มีเพียงพวกไฟโทโมแนด(ดูอนุเฉกหน้า 86)เท่านั้นที่เหมาะสำหรับการนำมาศึกษาเรื่องพันธุกรรม ในทำนองเดียวกัน ในกลุ่มของพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ก็มีเพียงพวกซิลิเอท

5.2.1 การผสมข้ามสายพันธุ์ในพวกแฮพลอยด์ ถึงแม้ว่าปัจจุบัน ไฟโทโมแนดส์ได้รับการจัดหมวดหมู่ไว้เด่นชัดว่าเป็นพวกสาหร่ายสีเขียว แต่เพื่อให้เกิดความเข้าใจเชิงเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ จึงนำเสนอพอสังเขป

แฮพลอยด์มีโอกาสเป็นดิพลอยด์เพียงช่วงที่เป็นไซโกตเท่านั้น ไซโกตแบ่งแบบไมโอซิส เซลล์ลูกที่ได้จึงกลับเป็นแฮพลอยด์ดังเดิม เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า **โกนส์(gones)** ถ้านำแฮพลอยด์ต่างสายพันธุ์ที่ต่างลักษณะ ตั้งแต่หนึ่งลักษณะขึ้นไปมาผสมพันธุ์กัน มีเพียงไซโกตเท่านั้นที่แสดง ***ลักษณะผสม(dihybrid characteristics)*** ลักษณะดังกล่าวอาจเป็นเฮเทโรไซกัสตามคู่ของยีนที่เป็นลักษณะข่ม(เด่น) หรือลักษณะถูกข่ม(ด้อย) ที่จะส่งผลต่อลักษณะปรากฏในไกโกต แต่ถ้านำแฮพลอยด์ต่างสายพันธุ์ที่ต่างกันเพียงลักษณะเดียวมาผสมพันธุ์กันที่เรียกว่า **โมโนไฮบริดครอส(monohybrid cross)** คู่ของยีนที่กำหนดลักษณะแตกต่าง จะถูกกระจายไปยังโกนส์ โดยที่โกนส์หนึ่งได้รับยีนไปเพียงยีนหนึ่ง อีกโกนส์หนึ่งจะได้รับอีกยีนหนึ่งที่เป็นคู่ของยีนนั้น โกนส์แต่ละเซลล์ไม่มี

โอกาสได้รับคู่ของยีนไปทั้งหมด(รูป 5-2) เพราะคู่ของยีนที่รวมกันเมื่อมีการรวมนิวคลีไอกันจะถูกแยกอีกครั้งในช่วงที่สองของการแบ่งแบบไมโอซิส ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า **เซกรีเกชัน(segregation)** สามารถแสดงได้ด้วย **วิธีวิเคราะห์โกนส์(gone analysis)** โดยนำโกนส์แต่ละเซลล์ที่ได้มาจากไซโกตเดียวกัน มาแยกเลี้ยง แล้วศึกษาลักษณะของแต่ละโคลนที่ได้จากโกนส์เหล่านั้น

รูป 5-2 แผนภาพการแบ่งแบบไมโอซิสสองขั้นตอน a. การปฏิสนธิของแกมีท b. ไซโกต c. โฮโมโลกัสโครโมโซมแยกจากกัน d-d_1,d_2 ความเป็นไปได้ของโกนส์ที่จะได้รับยีนต่างกันจากโครโมโซมของเซลล์พ่อและเซลล์แม่ ขึ้นอยู่กับการจัดเรียงไคเนโทคอร์ของการแบ่งขั้นตอนแรก(R!) e-e_1 โอกาสการแลกส่วนของโครมาทิด (จาก Grell, 1973)



มิวแทนท์ที่นำมาทดลองศึกษากันมาก คือ สกุล *Chlamydomonas* ลักษณะที่แยกออกมาในการแบ่งแบบไมโอซิสส่วนใหญ่อยู่ในอัตรา 2:2 ได้ 4 เซลล์ น้อยครั้งจะได้ 8 เซลล์ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการแบ่งแบบไมโทซิสตามมาทันที

ถ้านำต่างสายพันธุ์ที่**ต่างกันสองลักษณะมาผสมพันธุ์กัน(dihybrid cross)** เมื่อมีการแบ่งแบบไมโอซิส เซลล์ลูกจะได้รับส่วนผสมลักษณะไปจากเซลล์พ่อและแม่ จึงมีโอกาสได้ไซโกตสามแบบ คือ

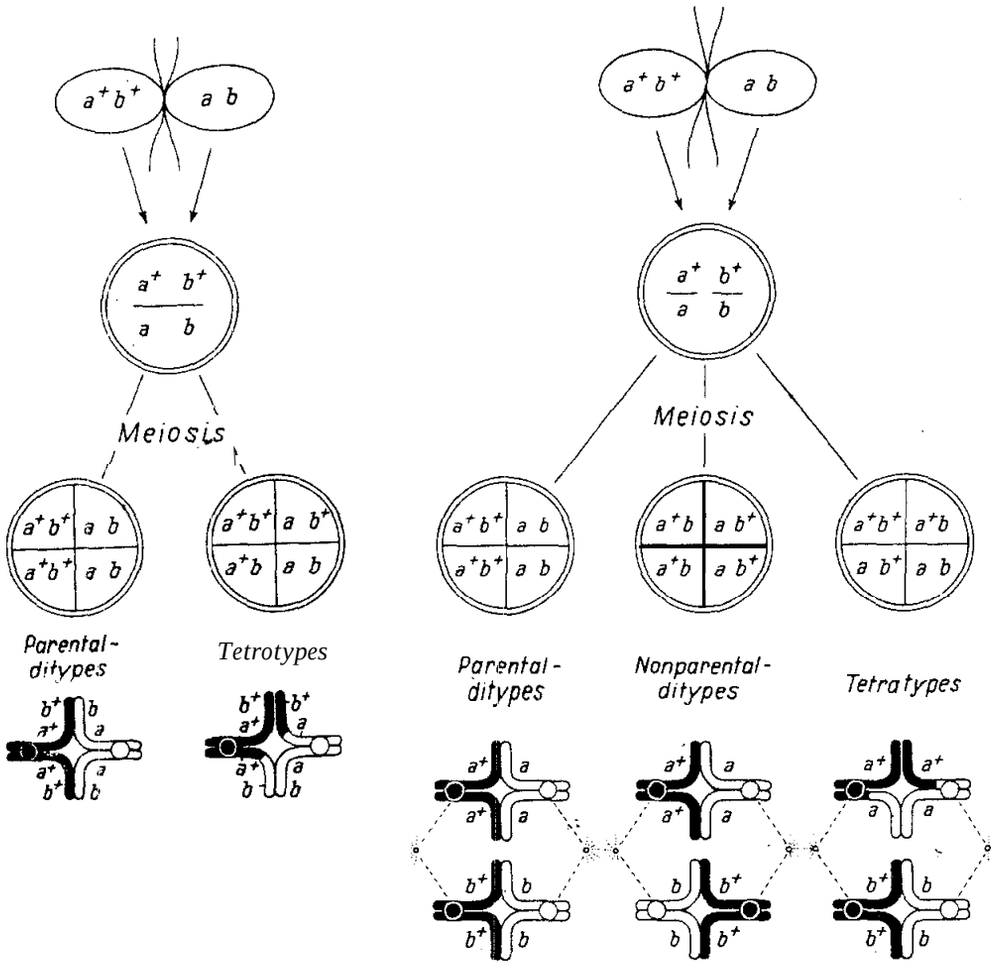
(1) **แบบพ่อและแม่(parental ditypes)** 2 โกนส์แสดงส่วนผสมลักษณะจากพ่อ อีก 2 โกนส์แสดงส่วนผสมจากลักษณะแม่

(2) **แบบต่างจากพ่อและแม่(nonparental ditypes)** คู่ของโกนส์หนึ่งแสดงส่วนผสมลักษณะของพ่อและแม่แบบหนึ่ง ส่วนอีกคู่หนึ่งของโกนส์แสดงส่วนผสมลักษณะของพ่อและแม่ที่ผกผันกับลักษณะแรก

(3) **แบบสี่ลักษณะ(tetratypes)** โกนส์ทั้ง 4 เซลล์ต่างกันหมด โดยมี 2 โกนส์แสดงลักษณะของพ่อแม่ อีก 2 โกนส์แสดงลักษณะผสมใหม่ที่ต่างกันอัตราส่วนความแตกต่างแบบของไซโกตเหล่านี้ให้ข้อคิดว่า ยีนที่ควบคุมสองลักษณะอยู่บนโครโมโซมเส้นเดียวกันแบบที่เรียกว่า **ยีนลิงเกจ(gene linkage)** หรืออาจอยู่ต่างโครโมโซมกัน ในกรณีที่ยีนอยู่บนโครโมโซมเส้นเดียวกัน(รูป 5-3 ก.) ลักษณะของไซโกตจะมีอัตราส่วนเหมือนแบบพ่อและแม่มากที่สุด อาจมีแบบสี่ลักษณะเป็นส่วนน้อยเนื่องจากมีโอกาศแลกส่วนของยีนบนโครมาทิดบ้าง มีข้อยกเว้นสำหรับกรณีที่มีลักษณะแบบต่างจากพ่อและแม่ เนื่องจากอาจมีการแลกเปลี่ยนยีนบนโครมาทิดส่วนที่เหลือหลังจากการแลกเปลี่ยนไปแล้วครั้งหนึ่ง ในกรณีที่ยีนอยู่ต่างโครโมโซมกัน(รูป 5-3 ข.) ลักษณะแบบต่างจากพ่อและแม่จะมีอัตราส่วนใกล้เคียงกับลักษณะแบบพ่อและแม่ เนื่องจากโอกาศที่โครโมโซมจากพ่อและจากแม่จะเคลื่อนที่ไปยังขั้วเดียวกันของเซลล์มีใกล้เคียงกับโอกาศที่โครโมโซมจากเพียงของพ่อหรือเพียงของแม่(อย่างใดอย่างหนึ่ง)จะเคลื่อนที่ไปยังขั้วเดียวกันของเซลล์บางครั้งอัตราส่วนความแตกต่างของไซโกตเปลี่ยนแปลงไปจากแบบที่ควรจะเป็นดังกล่าวข้างต้น โดยเป็นผลเนื่องจากความถี่ของยีนแบบพ่อและแม่ หรือแบบต่างจากพ่อและแม่เปลี่ยนแปลงไปโดยมีการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างโครมาทิดในรูปแบบอื่น อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้นัยสำคัญตามหลักสถิติมาประยุกต์ ผลลัพธ์จะบ่งชี้ว่าลักษณะแบบพ่อและแม่เป็นยีนลิงเกจ

รูป 5-3 แผนภาพการผสมพันธุ์สองลักษณะในพวกแฮพลอยด์ ก. เมื่อยีนอยู่บนโครโมโซมเส้นเดียวกัน(มียีนลิงเกจ) โอกาศที่โกนส์จะได้รับยีนแบบพ่อและแม่มีอัตราส่วนมากที่สุด อัตราส่วนแบบสี่ลักษณะมีน้อย ในแผนภาพแสดงการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดเพียงแห่งเดียว ข. เมื่อยีนอยู่ต่างโครโมโซมกัน โอกาศที่โกนส์จะได้ลักษณะเป็นแบบพ่อและแม่ กับลักษณะต่างจากพ่อและแม่มีใกล้เคียงกัน แบบสี่ลักษณะมีเป็นส่วนน้อยตามโอกาศของการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดซึ่งแสดงในภาพเพียงตำแหน่งเดียว (จาก Grell, 1973)

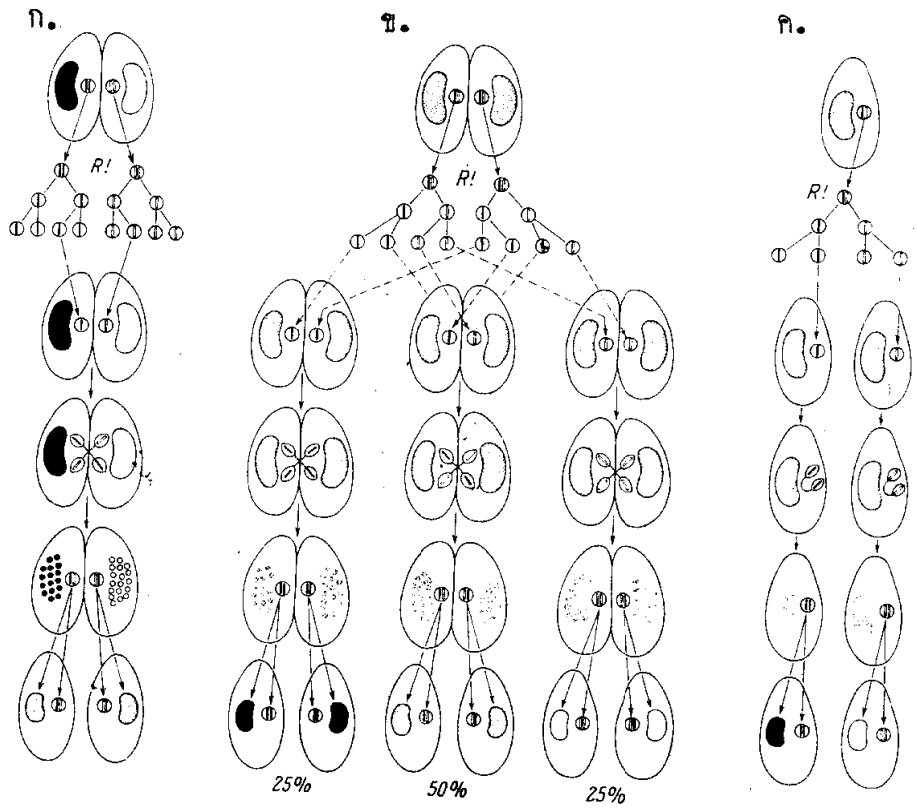
ก. ข.



ลักษณะการกลายที่นิยมศึกษากันมากในพวก *Chlamydomonas* คือการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะคลอโรพลาสท์ ในกรณีที่ต้องการศึกษาเปรียบเทียบมากกว่าสองลักษณะ จำเป็นต้องศึกษาเปรียบเทียบลักษณะเป็นคู่ ๆ แล้วบันทึกผลลงในตาราง ซึ่งจะไม่นำเสนอในตำราเล่มนี้

5.2.2 การผสมข้ามสายพันธุ์ในพวกดิพลอยด์ มีเพียงพวกซิลิเอทเท่านั้นที่ถูกนำมาเลี้ยงทดลองศึกษาได้เป็นผลสำเร็จ โดยการศึกษาครั้งแรกเริ่มจากลักษณะเมทิงไทป์ ต่อมาจึงมีการศึกษาลักษณะอื่น ขั้นตอนการศึกษามีพื้นฐานมาจากความรู้เรื่องการสืบพันธุ์แบบสังยุค (ข้อ 4.2.3 (3)) ได้นำมาประมวลไว้ในรูป 5-4 3 รูปแบบ คือ

รูป 5-4 แผนภาพขั้นตอนการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของโครโมโซมหนึ่งคู่ในพวกซิลิเอท ก. การสังยุคระหว่างโฮโมไซกัสยีนสองเซลล์(สีดำ/สีดำ X ไม่มีสี/ไม่มีสี) ข. การสังยุคระหว่างเฮเทโรไซกัสยีนสองเซลล์(สีดำ/ไม่มีสี X สีดำ/ไม่มีสี) ค. ออโทแกมีระหว่างเฮเทโรไซกัสยีน(สีดำ/ไม่มีสี) R! คือช่วงที่นิวเคลียสแบ่งแบบไมโอซิส (จาก Grell, 1973)



ก. การสังยุคระหว่างคอนจิวแกนท์ที่มียีนเป็นโฮโมไซกัส ไมโครนิวเคลียสของแต่ละคอนจิวแกนท์(ใช้สัญญลักษณ์สีดำและไม่มีสี) มีโครโมโซมเป็น 2 ชุด หลังจากไมโอซิส(R!) จำนวนโครโมโซมจะลดลงเหลือเพียงชุดเดียว เมื่อเข้าสู่ช่วงการแบ่งขั้นที่สาม แต่ละคอนจิวแกนท์ได้ 2 ไมโครแกมีทนิวคลีไอ แล้วมีการแลกเปลี่ยนไมเกรทอรีนิวคลีไอซึ่งกันและกัน ได้ซินแคริออนมาจากต่างคอนจวแกนท์กัน(สีดำและไม่มีสี) ซึ่งจะมีการแบ่งออกเป็น 2 นิวคลีไอลูก โดยอันหนึ่งเป็นไมโครนิวเคลียสอันใหม่ และอีกอันหนึ่งเป็นแมโครนิวเคลียสอันใหม่ ถ้าพ่อแม่มีคู่ยีนต่างกันตั้งแต่หนึ่งคู่ขึ้นไป เอกซ์คอนจิวแกนท์และโคลนของเอกซ์คอนจิวแกนท์ทั้งสอง จะมียีนเหมือนกันเรียกว่า **ไอโซเจนิก(isogenic)** และเป็นแบบเฮเทโรไซกัส บางครั้งทั้งๆที่ยีนเหมือนกัน บางเซลล์อาจมีลักษณะปรากฏต่างจากเซลล์อื่นในโคลนเดียวกันหรือต่างกันที่คู่เอกซ์คอนจิวแกนท์เอง ซึ่งเกิดขึ้นน้อยมาก ลักษณะปรากฏที่ต่างไปนี้มิได้ถูกกำหนดโดยยีน แต่ถูกกำหนดโดยไซโทพลาซึม เนื่องจากมีการรวมกันของไซโทพลาซึมก่อนการแยกออกเป็นเอกซ์คอนจิวแกนท์ ลักษณะปรากฏที่ต่างออกไปนี้สืบเนื่องจากยีนที่มีอยู่ภายในไซโทพลาซึม* ปรากฏการณ์เช่นนี้อำนวยประโยชน์ต่อการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ ทำให้ทราบพื้นฐานลักษณะบางอย่างว่ามีกระบวนการถ่ายทอดมาอย่างไร

ข. การสังยุคระหว่างคอนจิวแกนท์ที่มียีนเป็นเฮเทโรไซกัส ในกรณีนี้ยีนลักษณะข่มและคู่ของยีนที่เป็นลักษณะด้อยจะถูกแยกกระจายตามโอกาสของความน่าจะเป็นไปยังนิวคลีไอลูกเมื่อสิ้นสุดการแบ่งแบบไมโอซิส ภายหลังการรวมกันของไมเกรทอรีและสเทชันแนรีแกมีทนิวคลีไอแล้ว โอกาสที่เอกซ์คอนจิวแกนท์จะได้รับยีนจากเซลล์พ่อและเซลล์แม่(สัญญลักษณ์สีดำและไม่มีสี) จะได้ผลต่างจากกรณีข้อ ก. ถ้ากำหนดให้ยีนเฮเทโรไซกัสมีคู่ของยีนเป็น Aa ภายหลังการสังยุค เอกซ์คอนจิวแกนท์จะมียีนเป็นโฮโมไซกัส(AA สีดำ)ร้อยละ 25 โฮโมไซกัส(aa ไม่มีสี)ร้อยละ 25 และเป็นเฮเทโรไซกัส(Aa ทั้งสีดำและไม่มีสี)ร้อยละ 50 ในกลุ่มของเอกซ์คอนจิวแกนท์เดียวกันเองแต่ละคู่ยังคงแสดงลักษณะไอโซเจนิก ดังนั้น ความมียีนเหมือนกัน หรือ **ไอโซเจนิซิที(isogenicity)** จึงเกิดขึ้นได้เพียงกรณีที่การสังยุคดำเนินตามขั้นตอนปกติ กล่าวคือ แกมีทนิวคลีไอทั้งสองอัน(เช่น *Paramecium aurelia*) มาจากโกนส์นิวเคลียสอันเดียวกัน เมื่อใดที่แกมีทนิวคลีไอสองอัน

* ควรอ่านข้อ 3.3.2 ที่เกี่ยวข้องกับภาวะพอลิจีโนม ซึ่งมียีนอยู่บนแมโครนิวเคลียส ยีนเหล่านี้ยังคงอยู่ในไซโทพลาซึมเมื่อแมโครนิวเคลียสสลาย ก่อนการแบ่งแบบไมโอซิส

มาจากต่างโกนส์นิวคลีไอ(เช่น *Euplotes vannus*) แกมีทนิวคลีไอหนึ่งอาจมียีน A อีกอันหนึ่งมียีน a เมื่อเซลล์เหล่านั้นมาสังยุคกัน จึงเป็นไปได้ที่เอกซ์คอนจิวแกนท์หนึ่งจะได้ยีนเป็นเฮเทโรไซกัส(Aa) และอีกเซลล์หนึ่งจะได้ยีนเป็นโฮโมไซกัส (aa)

ค. ออโทแกมี มีโอกาสเกิดขึ้นได้ในโคลนที่มียีนเป็นเฮเทโรไซกัส ภายหลังการแบ่งแบบไมโอซิส โกนส์นิวเคลียสอาจมีสูตรคู่ของยีนเป็น A- หรือ a- ถ้าแกมีทนิวคลีไอทั้งสองมารวมกันแบบออโทแกมี(มาจากโกนส์นิวเคลียสเดียวกัน) เอกซ์คอนจิวแกนท์จึงต้องมียีนเป็นแบบโฮโมไซกัสตามลักษณะคู่ของยีน คือ อาจเป็นแบบ AA หรือ aa โดยมีโอกาศเท่ากัน ดังนั้นออโทแกมีจึงมีความสำคัญทางด้านพันธุศาสตร์ เพราะเป็นการนำสู่การแยกเป็นยีนโฮโมไซกัสขึ้นภายในไซโกต

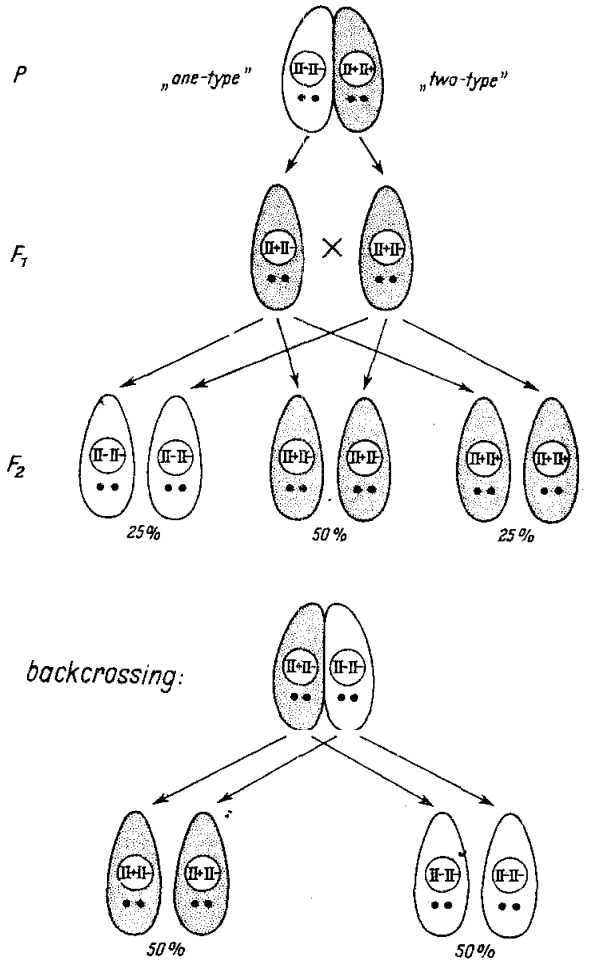
นักพันธุศาสตร์นิยมใช้ *Paramecium aurelia* มาทดลองผสมข้ามสายพันธุ์ เนื่องจากเพาะเลี้ยงง่ายและโอกาสเกิดออโทแกมีสูงกว่าชนิดอื่นซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงง่ายเช่นเดียวกัน คือ *P. bursaria*, *Tetrahymena pyriformis* และอีกหลายชนิดในสกุล *Euplotes*

ในทางปฏิบัติ ไม่นิยมศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของต่างชนิดกัน แต่นิยมศึกษาลักษณะที่ถ่ายทอดกันมาตามสายพันธุ์ในชนิดเดียวกันเอง และได้ผ่านการตรวจสอบที่แน่นอนแล้วว่าเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์

(1) ลักษณะเมทิงไทป์ ดังได้กล่าวแล้วในข้อ 4.2.3 (3) ค. ว่าลักษณะเมทิงไทป์ก็เช่นเดียวกับการมีเพศที่ถูกกำหนดโดยยีนควบคู่กันกับการปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมกับความเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ในกรณีหลังนี้ ยีนถูกกำหนดไว้แน่นอนแล้ว จำนวน และชนิดของเมทิงไทป์ที่ถูกกำหนดโดยสภาพแวดล้อม มีความหลากหลายในแต่ละซินเจนและชนิดของโปรโตซัว ใน *Paramecium aurelia* ทุกซินเจนมีเมทิงไทป์ แต่ใน *Tetralymena pyriformis* ซินเจน 1 เพียงสายพันธุ์เดียวก็มีถึง 7 เมทิงไทป์

ซินเจน I สต็อกของ *Paramecium aurelia* ส่วนใหญ่เป็นระบบไบโพลาร์(ดูหน้า 182) สามารถมี 2 เมทิงไทป์ คือ เมทิงไทป์ I และเมทิงไทป์ II เรียกสต็อกสายพันธุ์นี้ว่า "ทูไทป์"(two type) ส่วนสต็อกสายพันธุ์ที่เรียกว่า "วันไทป์"(one type) เป็นโคลนที่มีเพียงเมทิงไทป์ I เท่านั้น การสังยุคเกิดขึ้นได้ภายหลังออโทแกมีในสต็อก "ทูไทป์" แต่ไม่สามารถเกิดขึ้นใน "วันไทป์" ด้วยเหตุผลที่ว่า เอกซ์ออโทแกมอนท์มีเพียงเมทิงไทป์เดียว(เมทิงไทป์ I) ซึ่งตามกฎแล้วผสมพันธุ์กันไม่ได้

รูป 5-5 แผนภาพการผสมสายพันธุ์สต็อกวันไทป์(II-II-) กับสายพันธุ์สต็อกทูไทป์(II+II+) ของ *Paramecium aurelia* ให้สังเกตอัตราส่วนลักษณะทูไทป์ที่เป็นลักษณะข่ม ต่อลักษณะวันไทป์ที่เป็นลักษณะด้อย ใน F_1 และ F_2 ว่าเป็นไปตามกฎของเมนเดล (จาก Grell, 1973)



เมื่อนำสต็อก "วันไทป์" มาผสมกับสต็อก "ทูไทป์" (รูป 5-5) ซึ่งมีความแตกต่างของยีนเพียงคู่เดียวใช้สัญญลักษณ์ II+ แสดงความสามารถสร้างเมทิงไทป์ II II- ไม่สามารถสร้างเมทิงไทป์ II ในชั่วรุ่น F_1 คู่ของเอกซ์คอนจิวแกนท์สามารถให้โคลนที่มี 2 เมทิงไทป์ ดังนั้นลักษณะทูไทป์จึงเป็นลักษณะข่มลักษณะด้อยวันไทป์ซึ่งมียีนเป็นเฮเทโรไซกัส(II+/II-) เมื่อให้ F_1 ผสมกันเอง F_2 ที่ได้มีอัตราส่วน ทูไทป์/วันไทป์ เป็น 3:1 ตาม

กฎของเมนเดล ในลักษณะของทูไทป์นี้ประกอบด้วยยีนโฮโมไซกัส(II+/II-) 1 ส่วนและยีนเฮเทโรไซกัส(II+/II-) 2 ส่วน เมื่อนำ F_1 เฮเทโรไซกัสมาผสมย้อนกลับ*(back cross)กับพ่อแม่ที่มียีนด้อย(II-/II-) อัตราส่วนลักษณะ ทูไทป์/วันไทป์ ออกมาเป็น 1:1 เป็นไปตามกฎการผสมย้อนกลับของเมนเดล เมื่อทำการผสมย้อนกลับชั่วรุ่นถัดไปได้ข้อสรุปว่า ลักษณะทูไทป์ใน F_2 นี้ 2/3 มียีนเป็นเฮเทโรไซกัส และ 1/3 มียีนเป็นโฮโมไซกัส

เมื่อมีผู้ศึกษาต่อมาพบว่า ถ้านำซินเจน I ของ *Paramicium aurelia* มาสัมผัสกับความร้อน(heat shock)ในช่วงเวลาอันสั้น และอาบรังสีอัลตราไวโอเลท(UV-irradiation) มิวแทนท์ที่ได้จากวิธีการทั้งสองหลังการออโทแกมีแล้ว จะเป็นแบบเมทิงไทป์ I เมื่อทดสอบในระดับยีนแล้วพบว่า มียีนเหมือนกับสต็อกวันไทป์ เมื่อศึกษาต่อไปพบว่ามิวแทนท์เมทิงไทป์ I นี้มียีนที่กำหนดเมทิงไทป์ I ในสต็อกทูไทป์ด้วย ข้อมูลเกี่ยวกับเมทิงไทป์มีมากและซับซ้อน กลไกที่ทำให้เกิดเมทิงไทป์ในพวกซิลิเอท พอประมวลได้ว่า อยู่ภายใต้ 3 สภาวะ คือ ก. เซลล์ส่วนใหญ่ของโคลนอยู่ในระยะมีเพศเจริญเต็มที่ ข. อยู่ในช่วง G_1 ของเซลล์ไซเกิล เมื่อสต็อกอยู่ในช่วงการเจริญคงที่(stationary phase of growth) และ ค. ในบางชนิดในช่วงที่เซลล์มีสรีรวิทยาสูงสุด(circadian cycle) ในสต็อกประกอบด้วยเซลล์เจริญเต็มที่และไม่เต็มที่ด้วยสัดส่วนที่ต่างกัน ซึ่งถูกกำหนดโดยโปรตีน อิมแมทิวริน (immaturin) จะมีบทบาทช่วยให้มีการผสมพันธุ์กันแบบสังยุคได้ การศึกษาเรื่องเมทิงไทป์นิยมเพาะเลี้ยงในหลอดแก้วขนาดเล็กมาก(micro-capillary) เพราะศึกษาพฤติกรรมการสังยุคได้ง่าย ข้อมูลจาก มิวาและอุเมฮารา(Miwa & Umehara, 1983) ทำให้ทราบว่า ไม่เพียงต่างเมทิงไทป์เท่านั้นที่สังยุคกันได้ แม้กระทั่งภายในเมทิงไทป์เดียวกันแต่ต่างช่วงการเจริญของเซลล์ไซเคิล คือ G_1 และ G_2 ของเซลล์ไซเคิล ก็สามารถสังยุคกันได้ แต่เอกซ์คอนจิวแกนท์มีจำนวนโครโมโซมเป็น **ทริพลอยด์(triploid)** และหมดความสามารถสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศ

นับตั้งแต่มีการศึกษาพบเมทิงไทป์ในสกุล *Paramecium* เป็นต้นมา ได้มีผู้ศึกษาเมทิงทป์ในสกุลอื่นเพื่อให้ทราบข้อมูลว่า ปัจจัยใดที่ทำให้เซลล์เหล่านั้นสามารถจดจำกันและมาสังยุคกันได้ นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ให้ข้อคิดว่า น่าจะเป็นกระบวนการคงที่

* เพื่อความกระจ่างในเรื่องนี้ ควรอ่านหลักการของเมนเดลเรื่องการผสมพันธุ์ลักษณะเดียว สองลักษณะ หลายลักษณะ ตลอดจนการผสมย้อนกลับ จากตำราพันธุศาสตร์

กำหนดโดยยีนให้มีการสร้างสารเฉพาะขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำนองเดียวกันกับกระบวนการแอนติบอดี-แอนติเจน ที่ตรวจสอบได้ด้วยอิมมิวนอกลอบิวลินในสัตว์มีกระดูกสันหลัง แนวคิดนี้ได้มีผู้พิสูจน์โดยเฉพาะ แวนเบลล์และวิลเลียมส์ (Van Bell & Williams, 1983) ศึกษาเมทิงไทป์ของ *Tetrahymena thermophila* โดยวิธีทางชีวเคมีได้ข้อสรุปว่า ยีนเป็นปัจจัยกำหนดให้เมทิงไทป์ทุกกลุ่มมีกระบวนการสร้างโปรตีนพิเศษขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้ ^{125}I-concavalin A-binding protein สารโปรตีนพิเศษนี้จะทำหน้าที่เหนี่ยวนำให้เซลล์มาสังยุคกัน

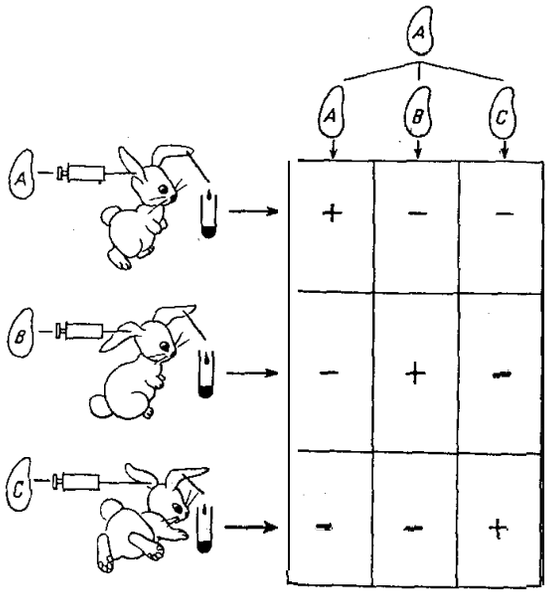
ในกรณีของ **มัลทิเพิลอัลลิลส์(multiple alleles)** ซึ่งมีมากกว่าสองยีนในตำแหน่งเดียวกันของโครโมโซมมากำหนดลักษณะ การศึกษาเป็นเรื่องยุ่งยากมากขึ้น ต้องใช้สถิติมาประยุกต์ซึ่งจะไม่นำเสนอในตำราเล่มนี้

(2) ลักษณะแอนติเจนิก การศึกษาเรื่องนี้จำเป็นต้องอาศัยวิธีการทางอิมมูนวิทยา โดยนำโปรโตซัวที่ต้องการศึกษา(*Paramecium*) ฉีดเข้าไปในหลอดเลือดดำที่ใบหูของกระต่าย สารบางอย่างในพารามีเซียมทำหน้าที่เป็นแอนติเจน จะกระตุ้นให้เกิดปฏิกริยาต่อต้าน สร้างแอนติบิดีที่เฉพาะกับแอนติเจนขึ้นในเลือด(ซีรัม) ถ้านำพารามีเซียมโคลนเดียวกันมาฉีดซ้ำเข้าไปในกระต่ายตัวเดิม กระต่ายจะสร้างแอนติบิดีเฉพาะนั้นขึ้นมาอีก แอนติบอดีดังกล่าว นำมาทดสอบโดยวิธี **อิมมอบิไลเซชันเทสท์(immobilization test)** คือ การนำซีรัมของกระต่ายมาหยดลงในโคลนของพารามีเซียมที่ต้องการตรวจสอบ ถ้าเป็นลักษณะเดียวกัน แอนติบอดีจะทำให้ซิเลียของพารามีเซียมเกาะติดกันจนเคลื่อนที่ไม่ได้ จมลงสู่ก้นหลอดเพาะเลี้ยง

จากการศึกษา *Paramecium aurelia* หลายสต็อกทำให้ทราบว่า แต่ละสต็อกมีหลายสารทำหน้าที่เป็นแอนติเจนที่ต่างกัน และมีความเฉพาะกับแอนติบอดีของตน จะไม่มีการจับกับต่างแอนติบอดี แต่อาจมีพารามีเซียมบางเซลล์ในโคลนเดียวกันไม่ถูกทำให้หยุดเคลื่อนที่โดยแอนติบอดีเฉพาะของตน ที่เป็นเช่นนี้ก็เนื่องจากบางเซลล์ในสต็อกสร้างแอนติเจนต่างออกไป(รูป 5-6) กล่าวคือภายในโคลน A เซลล์ส่วนใหญ่สร้างแอนติเจน A แต่ก็มีบางเซลล์สร้างแอนติเจน B หรือ C ตามกฎของความเฉพาะระหว่างแอนติเจน-แอนติบอดี เฉพาะแอนติเจนและแอนติบอดีของตนเองเท่านั้นจะทำให้มีการจับจนหยุดการเคลื่อนที่ เซลล์ที่มีแอนติเจน A จึงถูกหยุดการเคลื่อนที่ด้วยแอนติบอดี A เซลล์ที่มีแอนติเจน B ก็ถูกหยุดการเคลื่อนที่ด้วยแอนติเจน B ในทำนองเดียวกันเซลล์ที่มีแอนติ

เจน C ก็ถูกหยุดการเคลื่อนที่ด้วยแอนติเจน C บางครั้งภายในหนึ่งสต็อกมีแอนติเจนต่างกันถึง 3 แอนติเจน และอาจมีต่างกันได้จนถึง 12 แอนติเจน

รูป 5-6 แผนภาพปฏิกริยาแอนติเจน-แอนติบอดีของพารามีเซียม 3 โคลนที่มาจากเซลล์เริ่มต้นเซลล์เดียวที่มีแอนติเจน 3 แบบ (A,B,C) ด้านซ้ายเป็นการเตรียมซีรัมของแต่ละโคลน (A,B,C) เครื่องหมาย + แสดงการหยุดการเคลื่อนที่ของพารามีเซียมที่มีแอนติเจน-แอนติบอดีตรงกัน เครื่องหมาย - แสดงถึงไม่มีการหยุดเคลื่อนที่ของพารามีเซียมเนื่องจากต่างแอนติเจน-แอนติบอดี (จาก Grell, 1973)



ลักษณะแอนติเจนิกถูกกำหนดโดยยีน แล้วถ่ายทอดสู่เซลล์ชั่วรุ่นถัดไป แต่เปลี่ยนแปลงได้เมื่อได้รับผลกระทบจากปัจจัยภายนอกบางอย่าง โดยทั่วไป หนึ่งเซลล์มีเพียงหนึ่งลักษณะแอนติเจนิก จากการศึกษาเปรียบเทียบหลายสต็อกที่มาจากซินเจนเดียวกัน พบว่า แอนติเจนบางแบบพบเพียงบางสต็อกเท่านั้น ขณะที่แอนติเจนแบบอื่นพบได้ในทุกสต็อก แม้กระทั่งแอนติเจนแบบเดียวกันที่พบในหลายสต็อกก็มีคุณสมบัติต่างกันได้ตามปริมาณของไทเทอร์(titer)

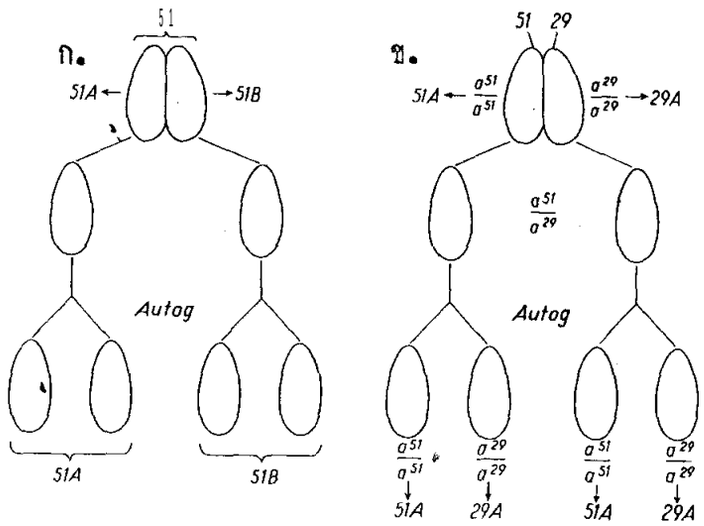
การศึกษาลักษณะแอนติเจนิกที่ถูกถ่ายทอดต่อไปยังเซลล์ชั่วรุ่นถัดไปได้นี้ ให้ข้อสรุปทั่วไปได้ว่า ก. เมื่อนำ 2 เมทิงไทป์ของสต็อกเดียวกันที่ต่างลักษณะแอนติเจนิก (เช่น A และ B)มาผสมพันธุ์กัน คุณสมบัติของพ่อและแม่จะกลับปรากฏอีกในชั่วรุ่น F_1 A คอนจิวแกนท์จะเป็นตัวต้นของ A โคลน ขณะเดียวกัน B คอนจิวแกนท์ก็จะเป็นตัวต้น

ของ B โคลน โดยคงคุณสมบัติดั้งเดิมไว้ แม้ภายหลังมีการออโทแกมีของ F_1 ซึ่งบ่งชี้ว่าลักษณะแอนติเจนิกกำหนดโดยความเฉพาะของไซโทพลาซึม(ซึ่งมีโครโมโซมของแมโครนิวเคลียสที่สลายอยู่ด้วย) แล้วถูกถ่ายทอดสู่ชั่วรุ่นถัดไปได้ ไม่ว่าจะเป็นการสืบพันธุ์แบบสังยุคหรือออโทแกมี(รูป 5-7 ก.) ข. เมื่อนำต่างสต็อก(51 และ 29) ของซินเจน 4 ซึ่งมี A แอนติเจนต่างกันที่คุณสมบัติของไทเทอร์ มาผสมพันธุ์กัน โคลนที่ได้จากเอกซ์คอนจิวแกนท์ทั้งสองมีการออโทแกมี(รูป 5-7 ข.) เอกซ์ออโทคอนจิวแกนท์จะให้โคลนที่ต่างแอนติเจน(51A และ 29A) เนื่องจากมาจากต่างคู่ของยีนกัน แสดงให้เห็นบทบาทของลักษณะแอนติเจนิกที่ถูกควบคุมและถ่ายทอดได้โดยยีน ค. ลักษณะแอนติเจนิกที่ถูกควบคุมโดยสภาพแวดล้อมภายนอก ศึกษาพบในพารามีเซียม สต็อกของซินเจน 1 คือ สต็อก 41, 60, 61 และ 90 โดยมีแอนติเจน S-, G-, และ D- เป็นแอนติเจนร่วม แอนติเจนที่โฮโมโลกัสกับแอนติเจนข้างต้นพิจารณาจากไทเทอร์ S แอนติเจนของสต็อก 61 มียีนต่างจากสต็อกอื่น และ D แอนติเจนของสต็อก 41 และ 60 ต่างจากของสต็อก 61 และ 90 ซึ่งสองสต็อกหลังนี้ไม่ต่างกัน(ตาราง 5-1) เมื่อนำทุกสต็อกมาเลี้ยงโดยการเปลี่ยนอุณหภูมิจาก 18 องศาเซลเซียส จนถึง 33 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ 18 องศาเซลเซียส ทุกสต็อกมีคุณสมบัติสร้าง S แอนติเจนเป็นส่วนใหญ่ ที่ 25 องศาเซลเซียสมีคุณสมบัติสร้าง G แอนติเจน และช่วง 29-33 องศาเซลเซียสมีคุณสมบัติสร้าง D แอนติเจน แสดงว่า อุณหภูมิ(สภาพแวดล้อมภายนอก) มีอิทธิพลควบคุมลักษณะแอนติเจนิกได้ จะเห็นได้ว่า ลักษณะแอนติเจนิกถูกควบคุมและถ่ายทอดได้ผ่านทาง ไซโทพลาซึม ทางยีน และทางการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายนอก

ตาราง 5-1 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการสร้างแอนติเจน S, G และ D ของพารามีเซียมซินเจน 1 สต็อก 41,60,61 และ 90 ให้สังเกตยีนร่วมของแต่ละสต็อก

Stock	Antigens at			Genes
	18" C	25°C	29—33° c	
41	**41** S	**41** G	**41** D	s g^{41} d^{41}
60	60 S	60 G	60 D	s g^{60} d^{60}
61	**61** S	**61** G	**61** D	s^{61} g^{61} d
90	90 S	90 G	90 D	s g^{90} d

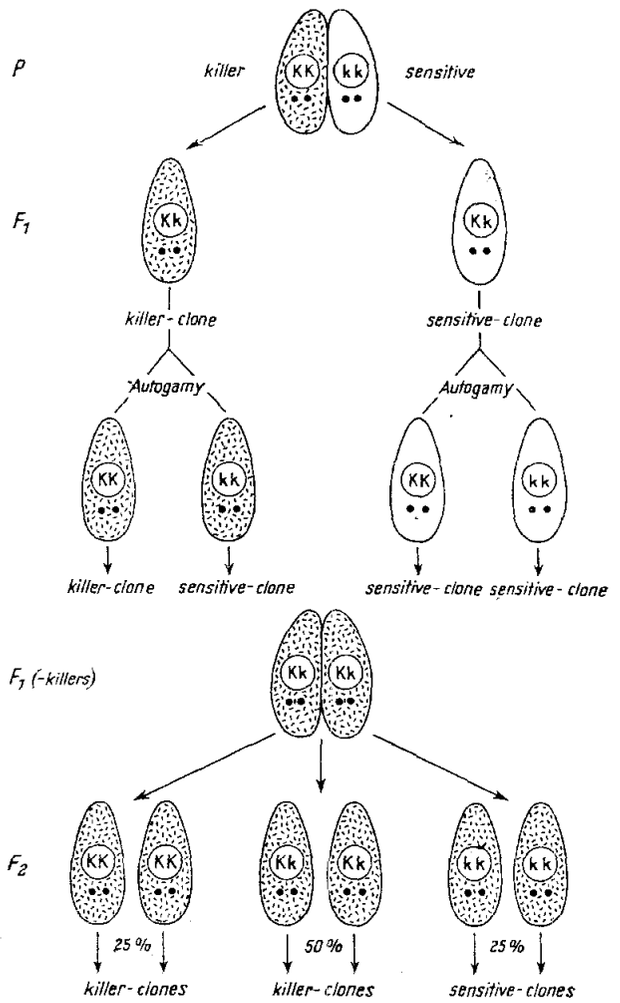
รูป 5-7 แผนภาพการถ่ายทอดลักษณะแอนติเจนิก(ซินเจน 4) ก. การสังยุคกันเองของสต็อก 51 ระหว่างคอนจิวแกนท์ที่สร้างแอนติเจน A และคอนจิวแกนท์ที่สร้างแอนติเจน B ไม่มีการแยกลักษณะภายหลังออโทแกมี ข. การสังยุคระหว่างสต็อก 51 ที่สร้างแอนติเจน 51 A และสต็อก 29 ที่สร้างแอนติเจน 29 A มีการแยกลักษณะภายหลังออโทแแกมี (Pin Grell, 1973)



(3) ลักษณะคิลเลอร์และเมท-คิลเลอร์ บางสต็อกของ *Paramecium aurelia* มีแบคทีเรียอาศัยแบบพึ่งพาอยู่ภายในไซโทพลาซึม การแบ่งเซลล์ของแบคทีเรียตกอยู่ภายใต้การควบคุมของยีนของพารามีเซียม แบคทีเรียเหล่านี้ ทำให้พารามีเซียม ซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้พักพิง มีคุณสมบัติพิเศษที่จะฆ่าพารามีเซียมสต็อกอื่นที่ปราศจากแบคทีเรียนี้ เรียกแบคทีเรียที่ดำรงชีพแบบพึ่งพานี้ว่า **แคปพาซิมไบออนท์(kappa symbiont)** พารามีเซียมที่มีแบคทีเรียนี้อาศัยอยู่เรียกว่า **คิลเลอร์(killer)** คิลเลอร์เซลล์ผลิตสารออกสู่สภาพแวดล้อม ส่งผลให้พารามีเซียมที่ไม่มีแคปพาซิมไบออนท์ถึงตาย เรียกพวกนี้ว่า **เซนซิทิฟว์(sensitive)** สารที่ส่งออกมาจากคิลเลอร์นั้น มีต้นกำเนิดมาจากแคปพาซิมไบออนท์ และมีอย่างน้อยที่สุดหนึ่งสารที่พวกเซนซิทีฟว์อาจกินเข้าไปในรูปอาหารเป็นพิษถึงตาย ในช่วงที่มีการสังยุค เซนซิทีฟว์ยังไม่ตายเนื่องจากไม่มีการกินอาหารในช่วงนั้น จึงเป็นช่วงที่มีคุณสมบัติต่อต้านคิลเลอร์ได้ชั่วคราว อำนวยโอกาสให้สต็อกคิลเลอร์สังยุคกับสต็อกเซนซิทีฟว์ได้(รูป 5-8) เมื่อมีการแลกเปลี่ยนไมเกรทอรีนิวคลีไอกันระหว่าง

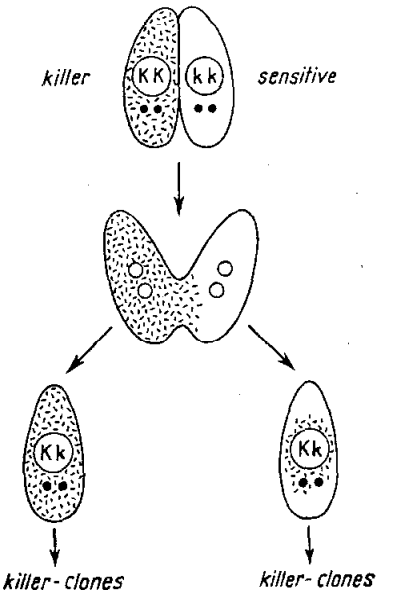
คอนจิวแกนท์แล้ว โคลนของเอกซ์คอนจิวแกนท์(F_1)ย่อมมีลักษณะปรากฏ(ฟีโนไทป์) เหมือนเซลล์พ่อและแม่เดิม จีโนไทป์จะแสดงผลให้มีคุณสมบัติเพิ่มจำนวนแคปพาได้ในกรณีที่มีการผสมพันธุ์แบบออโทแกมี มีการแยกคู่ของยีนเมื่อมีการออโทแกมี ครึ่งหนึ่ง

รูป 5-8 แผนภาพการสังยุคระหว่างโฮโมไซกัสคิลเลอร์สต็อก(KK และ แคปพา) กับโฮโมไซกัสเซนซิทีฟว์สต็อก(kk) เอกซ์คอนจิวแกนท์(F_1) ทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของคิลเลอร์โคลนและเซนซิทีฟว์โคลน เมื่อเกิดการออโทแกมี ครึ่งหนึ่งของคิลเลอร์โคลนจะเป็นพวกเซนซิทีฟว์เนื่องจากมียีนด้อย(kk)อยู่ภายในสต็อก เมื่อ F_1 คิลเลอร์ที่มียีนเป็นเฮเทโรไซกัสมาสังยุคกัน(Kk และ แคปพา) ผลที่ได้จะเป็นไปตามกฎของเมนเดล (จาก Grell, 1973)



ของโคลนที่เกิดจากเอกซ์คอนจิวแกนท์คิลเลอร์เป็นพวกคิลเลอร์ อีกครึ่งหนึ่งของโคลนเป็นพวกเซนซิทีฟว์ ทั้งนี้จะต้องผ่านการแบ่งเซลล์หลายชั่วรุ่นสักระยะหนึ่ง จึงจะได้จำนวนสัดส่วนออกมาดังกล่าว ความแตกต่างของทั้งสองสต็อกเป็นผลเนื่องมาจากยีนข่ม (KK) ที่มีอยู่ในคิลเลอร์สต็อก และยีนด้อย(kk) ที่มีอยู่ในเซนซิทีฟว์สต็อก ภายหลังออโทแกมี ซิมไบออนท์จะแบ่งเซลล์ได้อีกก็ต่อเมื่อเอกซ์ออโทแกมอนท์ได้คู่ของยีนลักษณะข่มมาด้วย ขณะเดียวกัน เอกซ์ออโทแกมอนท์ที่เกิดมาจากเอกซ์คอนจิวแกนท์ของเซนซิทีฟว์ ก็ยังคงความเป็นเซนซิทีฟว์อยู่ และจะตายในภายหลัง เมื่อให้ F_1 คิลเลอร์สังยุคกันอีก คู่ของยีนที่แยกจะกระจายเป็นสัดส่วนตามกฎของเมนเดล กล่าวคือ ร้อยละ 75 ของ F_2 จะเป็นคิลเลอร์(โดยเป็นโฮโมไซกัสร้อยละ 25 เฮเทโรไซกัสร้อยละ 50) ร้อยละ 25 จะเป็นเซนซิทีฟว์

ภายใต้ภาวะเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นในระหว่างการสังยุค ทำให้มีการเชื่อมต่อไซโทพลาซึมของคอนจิวแกนท์ เปิดโอกาสให้บางส่วนของไซโทพลาซึม เคลื่อนตามไมเกรทอรีนิวคลีไอไปยังคู่คอนจิวแกนท์ตรงกันข้าม(รูป 5-9) จึงเป็นไปได้ที่แคปพาซิมไบออนท์จะไหลเข้าไปอยู่ในไซโทพลาซึมของเซนซิทีฟว์ เอกซ์คอนจิวแกนท์ทั้งสองเซลล์ จึงทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของคิลเลอร์โคลน การเพิ่มจำนวนแคปพาภายในเซลล์ของคิลเลอร์โคลน อยู่ภายใต้การควบคุมของยีน ถ้าเป็นโฮโมไซกัส (KK) จะทำหน้าที่ได้ดีกว่าแคปพาซิมไบออนท์เพิ่มจำนวนมากเป็นสองเท่าของเซลล์ที่มียีนเป็นเฮเทโรไซกัส (Kk)



รูป 5-9 แผนภาพการสังยุคระหว่างโฮโมไซกัสคิลเลอร์สต็อก(KK และ แคปพา) และโฮโมไซกัสเซนซิทีฟว์สต็อก (kk ไม่มีแคปพา) โดยสร้างภาวะเหนี่ยวนำให้มีการไหลของแคปพาจากคิลเลอร์ไปยังเซนซิทีฟว์ (จาก Grell, 1973)

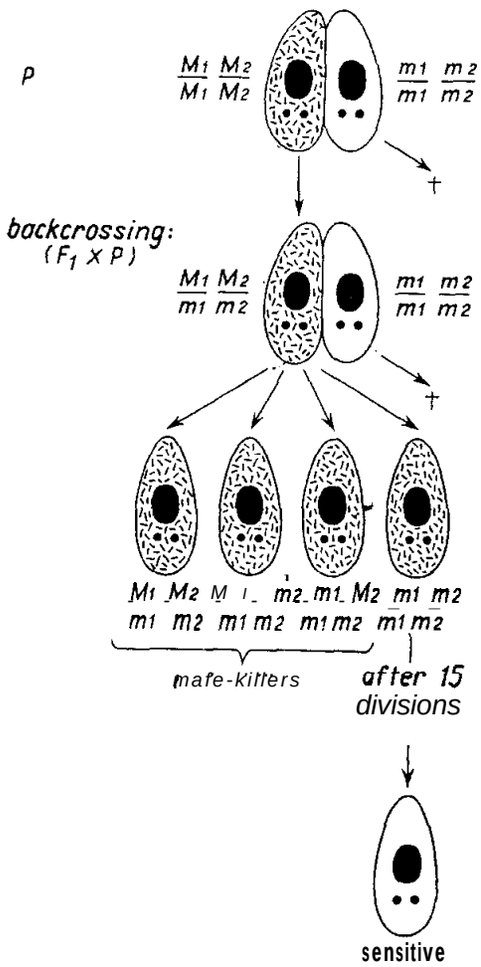
ในบางกรณี แคปพาซิมไบออนท์หายไปจากคิลเลอร์เซลล์ถ้าเซลล์นั้นได้รับยีน S (ด้วยการสังยุค)ซึ่งเป็นยีนที่มีอยู่ในเพียงบางสต็อกของเซนซิทีฟว์ ยีน S นี้ได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์แล้วว่า อยู่บนโครโมโซมสองตำแหน่งที่ไม่เกี่ยวเนื่องกัน(two nonlinked loci) ถ้าพารามีเซียมมียีนลักษณะข่มแบบโฮโมไซกัสทั้งสองตำแหน่ง($KKS_1S_1S_2S_2$) แคปพาซิมไบออนท์จะหายไปจากทุกเซลล์ของโคลน แต่ถ้ายีน S มีลักษณะข่มเพียงตำแหน่งเดียว($KKS_1S_1s_2s_2$) มีเพียงบางเซลล์ของโคลนเท่านั้นที่แคปพาซิมไบออนท์หายไป เซลล์ส่วนใหญ่ยังคงมีแคปพาซิมไบออนท์อยู่ การหายไปของแคปพามิได้ถูกควบคุมโดยยีนเพียงอย่างเดียว แต่อาจเกิดขึ้นจากปัจจัยอื่น เช่น อัตราการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หรือมีการเพิ่มอุณหภูมิ อย่างไรก็ตาม สามารถใส่แคปพาเข้าไปในเซลล์เหล่านี้ได้(เพราะมียีน K อยู่แล้ว) ด้วยการเพาะเลี้ยงรวมกับเซลล์โฮโมโลกัสยีน(KK) ที่มีแคปพาอยู่ด้วย

Paramecium aurelia บางสต็อกมี **เอ็มยูซิมไบออนท์(mu-symbiont)** อยู่ภายในไซโทพลาซึม โดยทั่วไปมีลักษณะคล้ายแคปพา ต่างกันที่ไม่มีการคัดหลั่งสารออกมาสู่มีเดีย จึงไม่ฆ่าเซนซิทีฟว์ การฆ่าเกิดขึ้นในกรณีที่มีการสังยุค จึงเรียกสต็อกพวกนี้ว่า **เมท-คิลเลอร์(mate-killer)** และเนื่องจากการสังยุคเป็นการแลกเปลี่ยนไมเกรทอรีนิวคลีไอ เมท-คิลเลอร์จึงนำมาผสมพันธุ์(สังยุค)กับเซนซิทีฟว์เพื่อให้มีการแลกเปลี่ยนคู่ของยีนกันได้ เพียงแต่เอกซ์คอนจิวแกนท์ของเซนซิทีฟว์เท่านั้นที่ตาย ส่วนของเมท-คิลเลอร์ยังคงมีชีวิตเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของโคลนต่อไป การถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเมท-คิลเลอร์ในสต็อกของซินเจน 8 ดำเนินไปเช่นเดียวกับกรณีของคิลเลอร์ โดยมียีน M ทำหน้าที่ควบคุมการเพิ่มจำนวน เอ็มยูซิมไบออนท์

เป็นที่ทราบกันว่า เมท-คิลเลอร์สต็อกของซินเจน 1 มักประกอบด้วยโฮโมไซกัสยีนบนโครโมโซมสองตำแหน่งที่ไม่สัมพันธ์กัน(M_1M_1,M_2M_2)(รูป 5-10) เมื่อนำเมท-คิลเลอร์($\frac{M_1}{M_1}\cdot\frac{M_2}{M_2}$) มาสังยุคกับเซนซิทีฟว์($\frac{m_1}{m_1}\cdot\frac{m_2}{m_2}$) ลักษณะเมท-คิลเลอร์ยังคงอยู่ตราบเท่าที่เซลล์ยังคงมียีนข่ม ณ ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง เอกซ์คอนจิวแกนท์ของเซนซิทีฟว์ตายตั้งแต่แยกออกจากการสังยุค เซนซิทีฟว์โคลนทำให้เกิดขึ้นมาใหม่ได้จากสต็อกของ F_1 เมท-คิลเลอร์ด้วยการผสมพันธุ์ย้อนกลับกับเซนวิทีฟว์(F_1 X P) เอกซ์คอนจิวแกนท์(P)ของเซนซิทีฟว์จะตายตามกฎ เอกซ์คอนจิวแกนท์(F_1) ทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดโคลนของเมท-คิลเลอร์ต่อไป โดยที่หนึ่งส่วน(จากทั้งหมด 4 ส่วน) มียีนด้อยเป็นโฮโม

ไซกัส($\frac{m_1}{m_1}\cdot\frac{m_2}{m_2}$) ซึ่งเป็นยีนของพวกเซนซิทีฟว์ ดังนั้น เอ็มยูซิมไบออนท์จะค่อยๆหายไป หลังจากการแบ่งเซลล์ 15 ชั่วรุ่น ได้สต็อกของเซนซิทีฟว์ที่ปราศจาก เอ็มยูซิมไบออนท์

รูป 5-10 แผนภาพการสังยุคระหว่างเมท-คิลเลอร์สต็อกกับเซนซิทีฟว์สต็อก ให้สังเกตเอกซ์คอนจิวแกนท์ของเซนวิทีฟว์ที่ตาย(†) ภายหลังการสังยุคทั้งสองช่วง อัตราส่วน เมท-คิลเลอร์ : เซนซิทีฟว์ ในขั้น F_2 = 3 : 1 เป็นไปตามกฎของเมนเดล (จาก Grell, 1973)



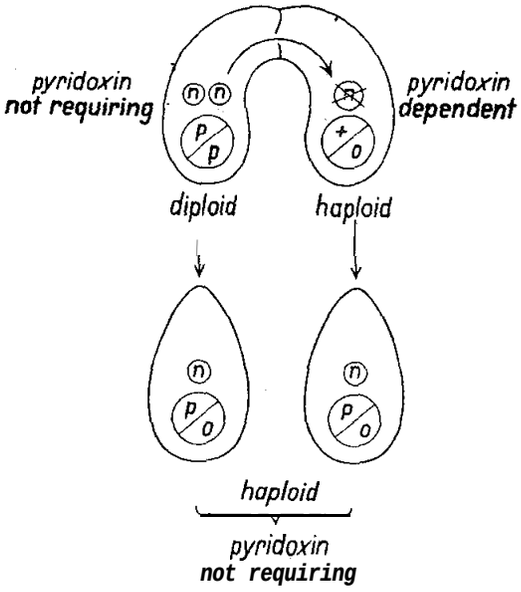
(4) ลักษณะการกลายที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิ เป็นการกลายที่เหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นใน *Paramecium aurelia* ซินเจน 4 โดยใช้สิ่งก่อให้เกิดการกลายได้หลายประเภท เช่น รังสีเอกซ์ รังสีอัลตราไวโอเลท และไนโตรโซกัวนิดีน มิวแทนท์ลักษณะนี้เจริญในจานเพาะเลี้ยงตามปกติที่อุณหภูมิไม่เกิน 28 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 35 องศาเซลเซียสจะตาย ขณะที่เซลล์ปกติสามารถเจริญได้ดีและแบ่งเซลล์ได้ด้วย เมื่อเป็นมิวแทนท์แล้ว ลักษณะการกลายที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิจะถูกถ่ายทอดไปยังชั่วรุ่นถัดไปทางยีนด้อย(ts) การตรวจสอบ สังเกตจากช่วงเวลาการมีชีวิตรอดที่สั้นเมื่อถูกเลี้ยงในที่อุณหภูมิสูงและลักษณะปรากฏของเซลล์ก่อนตายที่ต่างจากเซลล์ปกติ ยีนควบคุมลักษณะการกลายที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิและทำให้มีการเปลี่ยนรูปร่างนี้ ใช้สัญญลักษณ์ว่า ts_{21m} เมื่อมีการแยก จะแยกแบบอิสระ ได้ ts_{111} และ m_1(ยีนการกลายที่ควบคุมการเปลี่ยนรูปร่าง) ซึ่งจะสัมพันธ์กับยีน ts_{401} โดยมีอัตราการไขว้เปลี่ยน(crossing over) น้อยกว่าร้อยละ 10 ซึ่งถือว่าเป็นข้อมูลเริ่มแรกของการไขว้เปลี่ยนใน *P. aurelia*

(5) ลักษณะการกลายต่อการเปลี่ยนทางชีวเคมี จากการศึกษาสต็อกของ *Tetrahymena pyriformis* พบว่า มี 2 สต็อกที่สามารถสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญซึ่งจำเป็นต้องเติมลงไปในจานเพาะเลี้ยงของโคลนปกติ สต็อกแรกสามารถสังเคราะห์ **ไพริดอกซิน(pyridoxin)** คือ วิตามิน B_6 สต็อกที่สองสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน**เซรีน (serine)** จากการทดลองผสมข้ามสายพันธุ์ของทั้งสองลักษณะทำให้ทราบว่า ยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวเป็นยีนด้อยที่เป็นคู่ของยีนในสายพันธุ์ปกติ

ถ้านำดิพลอยด์มิวแทนท์(ไม่ต้องการไพริดอกซิน) มาผสมพันธุ์กับแฮพลอยด์พันธุ์ปกติ(ต้องการไพริดอกซิน) ซึ่งได้มาจากการอาบรังสีเอกซ์(รูป 5-11) แฮพลอยด์ไมโครนิวเคลียสของสายพันธุ์ปกตินี้จะสลายในขั้นตอนการแบ่งแบบไมโอซิส ดังนั้นแกมีทนิวเคลียสจากมิวแทนท์ที่เคลื่อนเข้ามาในเซลล์สายพันธุ์ปกติจึงไม่มีคู่รวม ทำให้ทั้งสองเอกซ์คอนจิวแกนท์มีสภาพเป็นแฮพลอยด์ ดำรงลักษณะการกลาย คือ ไม่ต้องการไพริดอกซินในจานเพาะเลี้ยง

การศึกษาต่อมาโดย วิธีสตาร์ชเจลอิเล็กโทรฟอเรซิส ทำให้ทราบว่า การกลายประเภทนี้ยังเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเอนไซม์กลุ่มเอสเทเรส ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซน์นี้ยังสัมพันธ์กับยีนควบคุมการสร้างไพริดอกซินด้วย อัตราการไขว้เปลี่ยนของยีนทั้งสองตำแหน่งประมาณร้อยละ 25

รูป 5-11 แผนภาพการสังยุคระหว่างดิพลอยด์มิวแทนท์และแฮพลอยด์เซลล์ปกติของ *Tetrahymena pyriformis* ซินเจน 2 p/p คือ ยีนควบคุมการสังเคราะห์ไพริดอกซินในมิวแทนท์ +/0 คือ ยีนที่ต้องการไพริดอกซินในเซลล์ปกติ (จาก Grell, 1973)



(6) ลักษณะพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ไมโทคอนเดรียมี DNA เป็นองค์ประกอบสำคัญด้วย จึงทำให้ได้แง่คิดว่า DNA เหล่านี้ทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะได้เช่นเดียวกับยีนหรือไม่ และจะทำงานสัมพันธ์กับยีนในนิวเคลียสได้อย่างไร แนวคิดหลัก คือ ยีนของไมโทคอนเดรียควรควบคุมการถ่ายแบบ tRNA rRNA และโปรตีนของไมโทคอนเดรีย แต่เนื่องจากมี DNA อยู่ในไมโทคอนเดรียเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงพออนุมานได้ว่า โปรตีนที่มีอยู่ในไมโทคอนเดรียจำนวนมากไม่น่าจะมาจากการควบคุมการทำงานของไมโทคอนเดรียทั้งหมด

โปรโตซัวที่เหมาะต่อการนำมาศึกษาเรื่องนี้ คือ *Paramecium aurelia* จากประสบการณ์การศึกษาเรื่องยีสท์ ทำให้นักโปรโตซัววิทยาเพาะเลี้ยงพารามีเซียมจนได้สายพันธุ์มิวแทนท์ที่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะบางอย่าง การกลายอย่างหนึ่งที่ได้เองโดยบังเอิญ คือ มิวแทนท์ที่ทนทานต่อ **อีริโทรไมซิน(erythromycin)** แต่มิวแทนท์ที่ทนทานต่อ **คลอแรมฟีนิคอล(chloramphenicol)** ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโดยการเพาะเลี้ยงในมีเดียที่มีสารก่อการกลาย(ไนโตรโซกัวนิดีน) ลักษณะการกลายที่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะทั้งสอง ถ่าย

ทอดได้ผ่านทางไซโทพลาซึมในช่วงที่มีการสังยุค ตามหลักการสังยุค มิวแทนท์ที่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะเมื่อนำมาสังยุคกับเซลล์ปกติ(เซนซิทีฟว์)ที่ไม่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะ หลังจากการแลกเปลี่ยนไมเกรทอรีนิวคลีไอกันแล้ว เอกซ์คอนจิวแกนท์ของมิวแทนท์ยังคงทนทานต่อสารปฏิชีวนะ เอกซ์คอนจิวแกนท์ของเซนซิทีฟว์ไม่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะตามคุณสมบัติปกติเดิม แต่ถ้ามีการแลกเปลี่ยนไซโทพลาซึม* เอกซ์คอนจิวแกนท์ทั้งสองมีคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะและถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปยังชั่วรุ่นต่อไปได้ เมื่อนำมิวแทนท์ที่ทนทานต่ออิริโทรไมซินมาสังยุคกับมิวแทนท์ที่ทนทานต่อคลอแรมฟีนิคอล โคลนของเอกซ์คอนจิวแกนท์ทั้งสองมิวแทนท์ แสดงคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะทั้งสองสาร แม้กระทั่งนำมาเพาะเลี้ยงในมีเดียที่ไม่มีสารปฏิชีวนะ ก็ยังคงแสดงคุณสมบัติทนทานต่อมาเกินกว่าร้อยชั่วรุ่น แต่ถ้านำมาเพาะเลี้ยงในสารปฏิชีวนะสารใดสารหนึ่ง(อีริโทรไมซิน หรือ คลอแรมฟีนิคอล)ติดต่อกัน 2-3 ชั่วรุ่น โคลนนั้นจะสูญเสียคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะอีกสารหนึ่งที่ไม่ถูกใส่เข้าไปในจานเพาะเลี้ยง

ถ้าใช้วิธี **ไมโครอินเจกชัน(microinjection)** โดยการนำไมโครปิเปทดูดเฉพาะไมโทคอนเดรียจากมิวแทนท์ที่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะ แล้วฉีดใส่ลงในไซโทพลาซึมของเซนซิทีฟว์ที่มาจากซินเจนเดียวกันของมิวแทนท์นั้น เซลล์ส่วนใหญ่ในโคลนของเซนซิทีฟว์ที่ได้รับไมโทคอนเดรียจะมีคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะชนิดเดียวกับมิวแทนท์ที่เป็นต้นกำเนิด จึงเป็นข้อพิสูจน์ได้ว่า ไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งที่มีการกลาย ประชากรของโคลนพารามีเซียมที่มีทั้งมิวแทนท์(ได้รับจากการถูกใส่เข้าไป) และเซนซิทิฟว์ เมื่อแบ่งเซลล์ต่อไปหลายชั่วรุ่น จะมีมิวแทนท์เพิ่มมากขึ้น แล้วขจัด(ทำให้ตาย)เซนซิทีฟว์ออกไปจนหมด การศึกษาต่อมาพบว่า การกลายจากเซนซิทีฟว์มาเป็นมิวแทนท์ที่ทนทานต่อสารปฏิชีวนะนั้น เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโปรตีนที่สัมพันธ์กับไรโบโซมของไมโทคอนเดรีย

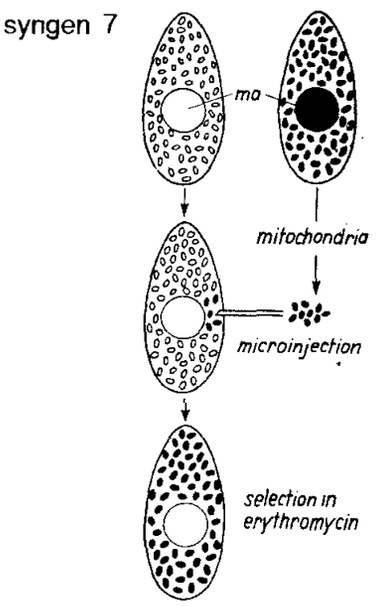
วิธีไมโครอินเจกชันยังใช้ประโยชน์สำหรับแสดงให้เห็นว่า การทำงานของเอนไซม์ในไมโทคอนเดรีย ไม่ได้ถูกควบคุมโดยไมโทคอนเดรีย แต่ถูกควบคุมโดยนิวเคลียส(รูป 5-12) จากการศึกษาพบว่า ซินเจน1 และซินเจน 7 ของ *Paramecium aurelia* มีเอน**ไซม์ฟิวมาเรส(fumarase)** ต่างกันเล็กน้อย** เมื่อนำไมโทคอนเดรียของมิวแทนท์ที่ทน

* ดูรูป 5-9 กรณีการแลกเปลี่ยนไซโทพลาซึมที่มีแคปพาซิมไบออนท์

** ทราบจากการศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของเอนไซม์ด้วยวิธีอีเล็กโทรฟอเรซิส

ทานต่ออีริโทรไมซินของซินเจน 1 มาฉีดใส่ลงไปในพารามีเซียมซินเจน 7 ซึ่งมีไมโทคอนเดรียที่เซนซิทีฟว์ต่ออีริโทรไมซิน แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในมีเดียที่เติมอีริโทรไมซินลงไปด้วย ไมโทคอนเดรียของซินเจน 7 (เซนซิทีฟว์) ไม่สามารถถ่ายแบบเพราะถูกยับยั้งโดยเอนไซม์จากไมโทคอนเดรียของซินเจน 1 (ทนทานต่ออีริโทรไมซิน) ในที่สุดไมโทคอนเดรียของซินเจน 7 ก็เต็มไปด้วยไมโทคอนเดรียของซินเจน 1 แต่เอนไซม์ฟิวมาเรสยังคงคุณสมบัติการเคลื่อนที่ในอีเล็กโทรฟอเรซิสตามแบบของซินเจน 7 แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ฟิวมาเรสของไมโทคอนเดรียไม่ได้ถูกถ่ายแบบและสร้างโดยไมโทคอนเดรีย แต่ถูกถ่ายแบบและควบคุมการสร้างโดย DNA จากนิวเคลียส

รูป 5-12 แผนภาพการถ่ายโอนไมโทคอนเดรียของ *Paramecium aurelia* โดยวิธีไมโครอินเจกชัน จากซินเจน 1 (ทนทานต่ออีริโทรไมซิน) ไปยังซินเจน 7 (เซนซิทีฟว์ต่ออีริโทรไมซิน) ให้สังเกตว่า ในที่สุดไมโทคอนเดรียของซินเจน 7 จะเต็มไปด้วยไมโทคอนเดรียของซินเจน 1 (จาก Grell, 1973)



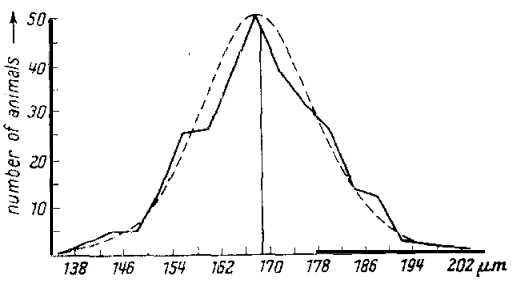
5.3 ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏและการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์

5.3.1 ความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏ

ความสามารถปรับเปลี่ยน(modificability) หมายถึงเซลล์(หรือตัว) ที่มีจีโนไทป์(ยีน) เหมือนกัน แต่มีฟีโนไทป์(ลักษณะปรากฏ)ต่างกัน โปรโตซัวเป็นสิ่งมีชีวิตที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาทดลองศึกษาเรื่องนี้ เพราะสามารถแยกเซลล์เดี่ยวออกมาเพาะเลี้ยงได้ง่าย เพื่อจะได้เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของโคลนโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

จากการศึกษาในหลายโคลนของ *Paramecium caudatum* พบว่า ความยาวของแต่ละเซลล์ไม่เท่ากัน เซลล์ที่สั้นสุดและยาวสุดมีจำนวนน้อย เซลล์ส่วนใหญ่ภายในประชากรของโคลนจะมีความยาวปานกลางใกล้เคียงกัน(รูป 5-13) ซึ่งคล้อยตามลักษณะเส้นโค้งรูประฆังตามหลักสถิติ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากปัจจัยภายนอกมาเสริมหรือยับยั้ง จึงทำให้บางเซลล์ได้รับผลกระทบทางบวกหรือทางลบตามปัจจัยเหล่านั้น จึงเกิดปัญหาว่าลักษณะที่ถูกปรับเปลี่ยนไปจากมาตรฐานนั้นเนื่องมาจากอะไร

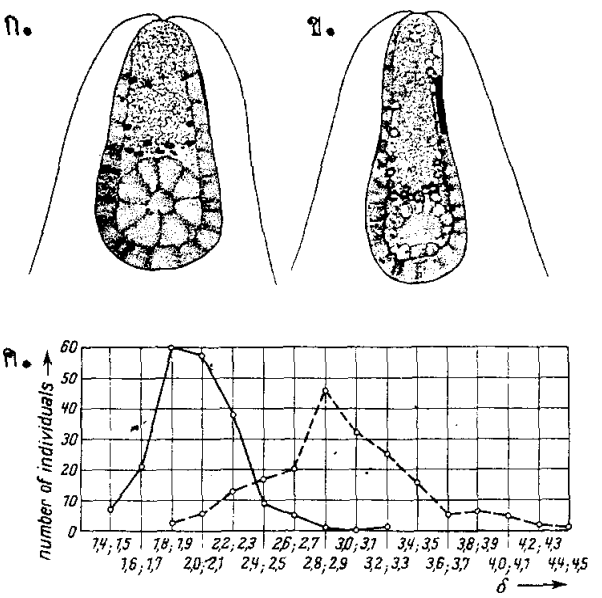
รูป 5-13 แผนภาพโค้งรูประฆังแสดงความยาวเซลล์ในโคลนของ *Paramecium caudatum* 300 เซลล์ ให้สังเกตความยาวเฉลี่ย (168.5 ไมครอน) ที่จุดสูงสุดของเส้นโค้ง กับจำนวนสูงสุด (50 เซลล์) และความยาวสั้นสุดและยาวสุดที่มีจำนวนต่ำกว่า 5 เซลล์



ข้อมูลที่ได้จากการศึกษารูปร่างเซลล์ของ *Dunaliella salina** สองสายพันธุ์พบว่ามีความแตกต่างของรูปร่าง(รูป 5-14 ก. และ ข.) กล่าวคือ สายพันธุ์มิวแทนท์มีรูปทรงผอมกว่าสายพันธุ์ปกติ การปรับเปลี่ยนรูปทรงแสดงในรูปอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเซลล์(รูป 5-14 ค.) จะเห็นว่าอัตราส่วนดังกล่าว มีอยู่ช่วงหนึ่งที่ทั้งสองสายพันธุ์คาบเกี่ยวกัน ถ้านำมาเพาะเลี้ยงรวมกันจะไม่สามารถทราบได้ว่าเป็นสายพันธุ์ใด จำเป็นต้องแยกเพาะเลี้ยงโดยเลือกจากเซลล์ที่บ่งบอกลักษณะที่เด่นชัดจึงจะทราบสายพันธุ์ได้ หลังจากนั้นจึงนำสายพันธุ์ทั้งสองมาผสมพันธุ์กัน ทำให้ทราบว่า การปรับเปลี่ยนรูปทรงที่แตกต่างนั้น อยู่ภายใต้การควบคุมของยีนหนึ่งคู่ การทำงานของยีนจะดำเนินไปตามปกติภายใต้ยีนอื่นที่ควบคุมลักษณะทั่วไป ยีนควบคุมลักษณะเฉพาะ(อัตราส่วนความยาว ต่อความกว้าง)นี้ จะปรับเปลี่ยนรูปทรงโดยขึ้นอยู่กับขั้นตอนของการเจริญ

* ปัจจุบันได้รับการจัดหมวดหมู่ไว้ใน Order Dunaliellales, Class Chlorophyceae, Phylum Chlorophyta

รูป 5-14 แผนภาพรูปทรงของ *Dunaliella salina* ก. รูปทรงปกติ ข. รูปทรงกระบอกของมิวแทนท์ ค. อัตราส่วนการปรับเปลี่ยนรูปทรงที่แสดงโดยอัตราส่วนความยาว ต่อความกว้างของเซลล์ เส้นทึบเป็นของสายพันธุ์ปกติ เส้นประเป็นของสายพันธุ์มิวแทนท์ ให้สังเกตอัตราส่วนที่คาบเกี่ยวกันระหว่างสองสายพันธุ์ (จาก Grell, 1973)



เมื่อศึกษาในโปรโตซัวกลุ่มอื่น เช่นพวก เอพิคอมเพลกซาน ชนิด *Eucoccidium dinophili* (Order Coelotrophiida, Class Coccidia) โดยเน้นลักษณะขนาดของโอโอซิสท์ที่ต่างกันเนื่องจากมีจำนวนสปอร์ต่างกัน(ขนาดของสปอร์เท่ากัน) พบว่า การปรับเปลี่ยนขนาดของโอโอซิสท์ขึ้นอยู่กับการปรับเปลี่ยนความสามารถในการติดเชื้อในโฮสท์ ถ้าการติดเชื้อไม่ดี โอโอซิสท์มีเพียงสปอร์เดียว แมโครแกมอนท์ได้รับอาหารจากโฮสท์อย่างมากเกินพอ จะทำให้โอโอซิสท์มีขนาดใหญ่สุดของช่วงเส้นโค้งปกติ ในทางตรงกันข้าม ถ้าการติดเชื้อดี อาหารที่ได้จากโฮสท์ถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว แมโครแกมอนท์จะเปลี่ยนเป็นแมโครแกมีทเร็วขึ้น ทำให้สิ้นสุดการแบ่งระยะสปอโรกอนีอย่างรวดเร็วขนาดของโอโอซิสท์ก็จะเล็กลง

ในกรณีของอะมีบาชนิด *Stereomyxa angulosa* การปรับเปลี่ยนตกอยู่ภายใต้อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมภายนอก เมื่ออาหาร(ไดอะตอม)ไม่เพียงพอ มีการยื่นซูโดพอเดีย

ออกมามากกว่าช่วงที่มีอาหารสมบูรณ์ จนหลุดลอยจากการยึดเกาะกับซับสเตรท แต่ช่วงที่อาหารสมบูรณ์มีไดอะตอมบนผิวซับสเตรทมากก็มักเกาะติดอยู่กับที่ มีซูโดพอเดียอ้วนป้อม การปรับเปลี่ยนลักษณะนี้เรียกว่า **ความแตกต่างรูปทรงของเซลล์(different cell forms)** *Steromyxa ramosa* ปรับเปลี่ยนรูปทรงต่างออกไป ไม่มีการปล่อยหลุดจากซับสเตรท แต่ยื่นซูโดพอเดียยาวออกมาเป็นแขนงเพื่อการเกาะเกี่ยวอาหารที่ลอยมาสัมผัสได้ง่ายขึ้น

การเปลี่ยนรูปทรงของเซลล์(cell differentiation) พบได้ในโปรโตซัวหลายชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มของ อะมีบอแฟลเจลเลท(amoeboflagellate) ซึ่งอาจมีรูปทรงคืบคลานแบบอะมีบาหรือมีรูปทรงคล้ายแฟลเจลเลทว่ายน้ำได้ บางชนิดมีความสามารถพิเศษเปลี่ยนเป็นซิสท์ได้ด้วย *Naegleria gruberi* (Order Amoebida, Class Lobosea) (รูป 5-15) เป็นอะมีบาที่ตามปกติดำรงชีพด้วยการกินแบคทีเรียเป็นอาหาร แต่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปราศจากเชื้อแบคทีเรีย(**axenic culture**) แบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ขณะมีรูปทรงคล้ายอะมีบา(รูป 5-15 ก.) เมื่ออาหาร(แบคทีเรีย)ขาดแคลน หรืออาหารสำหรับเพาะเลี้ยงในมีเดียลดลง จะมีการเปลี่ยนรูปทรงจากอะมีบามาเป็นรูปทรงคล้ายแฟลเจลเลทภายในเวลาน้อยกว่าหนึ่งชั่วโมง แล้วว่ายน้ำเป็นอิสระเมื่อไปสัมผัสซับสเตรทที่เหมาะสม ด้านที่มีแฟลเจลลาจะสลายถูกเปลี่ยนเป็นส่วนท้ายของเซลล์ แล้วเปลี่ยนรูปทรงมาคล้ายอะมีบา(รูป 5-15 ข. และ ค.) ส่วนที่เคยเป็นเบซัลบอดีของแฟลเจลลาจะสลายโดยสิ้นเชิง ตรวจสอบไม่พบแม้ด้วยระเบียบวิธีทางอิเล็กตรอนไมโครสโคป ภายใต้ภาวะเฉพาะ รูปทรงคล้ายอะมีบาอาจปรับเปลี่ยนเป็นซิสท์ได้

ความหลากรูปทรง(polymorphism) ปรากฏชัดในสกุล *Trypanosoma** อาจอยู่ในรูปของ เอแมสทิกอท เอพิแมสทิกอท หรือ ทริพอแมสทิกอท ขึ้นอยู่กับว่าจะอยู่ในมีเดียเพาะเลี้ยงหรือในเซลล์ของโฮสท์ ความต่างชนิดของโฮสท์ก็มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนรูปร่างได้

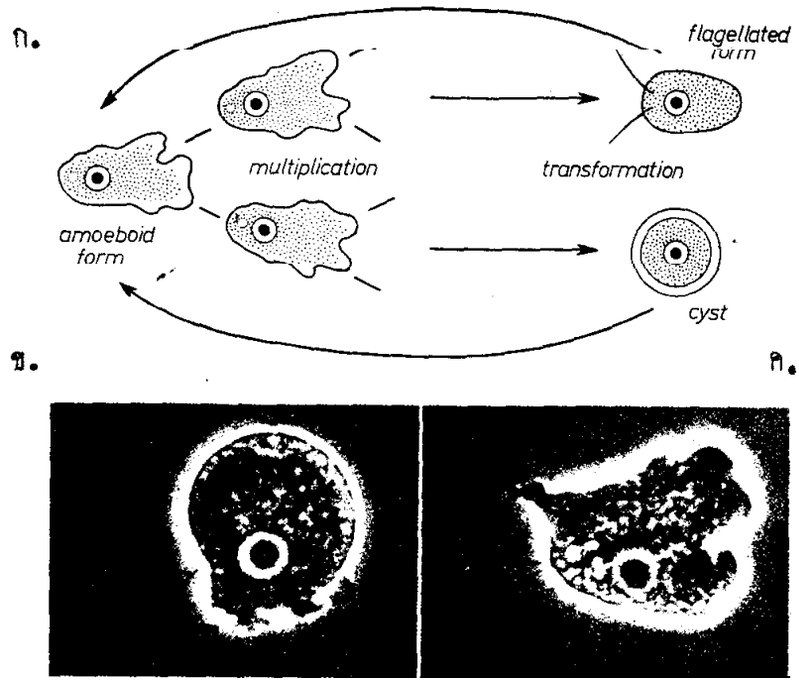
การเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์เมื่อมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของโปรโตซัวหลายชนิดได้กล่าวแล้วในข้อ 4.2 ไม่เพียงแต่เซลล์เปลี่ยนเป็นเซลล์เพศเพียงอย่างเดียว แต่ยังสามารถเปลี่ยนเป็นแกมอนท์ทำหน้าที่สร้างแกมีทได้ด้วย ถ้าการมีเพศถูกกำหนดโดย

* ดูข้อ **4.1.2** หน้า149

การปรับเปลี่ยน แกมีทที่ต่างเพศกันก็สามารถเกิดขึ้นภายในโคลนเดียวกัน หรือมาจากแกมอนท์เดียวกันได้ โดยทั่วไปการกำหนดความแตกต่างของเพศสืบเนื่องมาจากการแบ่งนิวเคลียสหรือการแบ่งเซลล์ที่ไม่เท่ากัน เหตุใดจึงดำเนินไปเช่นนั้น ยังไม่มีข้อมูลที่ทราบชัด

การมีความแตกต่างที่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์ อาจสลับกลับไปกลับมา หรือเปลี่ยนแล้วเปลี่ยนเลย ตัวอย่างที่เห็นชัด คือ เซลล์เพศ ไอโซแกมีทของ *Chlamydomonas* เปลี่ยนกลับมาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ปกติที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้ ในทางตรงกันข้าม ไอโซแกมีทของฟอแรมินิเฟรานเปลี่ยนกลับมาเป็นเซลล์ปกติไม่ได้ ต้องเข้าสู่ขั้นตอนการปฏิสนธิมิฉะนั้นจะตาย ในกรณีของออโทแกมี แมโครแกมีทที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิสามารถเจริญต่อไปแบบพาร์เทนอเจเนซิส เช่น ในพวก *Eucoccidium* และสาหร่ายสกุล *Volvox*

รูป 5-15 ก. แผนภาพการแบ่งเซลล์และปรับเปลี่ยนรูปทรงของ *Naegleria gruberi* ให้สังเกตว่า รูปทรงคล้ายอะมีบาเท่านั้นที่เปลี่ยนกลับไปกลับมาระหว่างรูปทรงซิสท์ได้ ข. และ ค. ภาพถ่ายของ *Naegleria* จากรูปทรงคล้ายแฟลเจลเลท(ข) เปลี่ยนมาเป็นรูปทรงคล้ายอะมีบา(ค) (จาก Grell,1973)



การมีความแตกต่างของเซลล์ทั้งที่เซลล์เหล่านั้นมีจีโนไทป์เหมือนกัน อาจอนุมาณได้ว่า สืบเนื่องมาจากการก่อฤทธิ์ของยีนต่างกัน(differential geneactivation) ข้อมูลกลไกการทำงานของยีนประเภทนี้ สามารถศึกษาได้ในเรื่องกลไกการทำงานของยีนในแบคทีเรียจากตำรา ชีววิทยา เซลล์วิทยา หรือ จุลชีววิทยา

5.3.2 การถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์ ในที่นี้จะเน้นเฉพาะการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์เฉพาะที่เกี่ยวข้องกับความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏเท่านั้น ข้อมูลที่ได้จากการทดลองผสมข้ามสายพันธุ์ต่างลักษณะของพวกซิลิเอทในข้อ 5.2 ถือเป็นตัวอย่างที่สนองแนวคิดการก่อฤทธิ์ของยีนต่างกัน สามารถประมวลได้ดังนี้ ก. การกำหนดลักษณะเมทิงไทป์โดยการปรับเปลี่ยน สืบเนื่องจากการก่อฤทธิ์การทำงานของหน่วยย่อยที่เรียกว่า **ซิสทรอน(cistron)** ของยีนบนตำแหน่งที่ซับซ้อน(complex locus) ข. ได้มีผู้พิสูจน์กลไกการทำงานนี้ใน *Paramecium bursaria* โดยการทำให้มีการก่อฤทธิ์อย่างต่อเนื่องของตำแหน่งที่ทำหน้าที่ควบคุมการผลิตสารในแต่ละเมทิงไทป์ ค. การก่อฤทธิ์การทำงานของยีนสืบเนื่องจากการกระตุ้นของอุณหภูมิต่างกัน เช่น กรณีการมีคุณสมบัติแอนติเจนิกที่ต่างกัน ง. **การถูกข่ม(allelic repression)**โดยคู่ของยีน ถือเป็นกรณีพิเศษที่ไม่สามารถสนองแนวคิดการก่อฤทธิ์ของยีนที่ต่างกันได้

การถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์พวกซิลิเอทที่สืบเนื่องมาจากความสามารถปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏ มีให้เห็นชัดหลายลักษณะ เช่น การสร้างสารเฉพาะในแต่ละเมทิงไทป์ การมีแอนติเจนิก ซึ่งสืบเนื่องติดต่อกันมาหลายชั่วรุ่นของการแบ่งเซลล์ ทำให้มีแนวโน้มว่า กลไกการปรับเปลี่ยนลักษณะปรากฏถูกควบคุมโดยการก่อฤทธิ์ของยีน ซึ่งต้องมียีนก่อฤทธิ์อยู่ ณ ที่หนึ่งในตำแหน่งของยีนซับซ้อนนั้น ข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันไม่ให้ความกระจ่างในเรื่องเหล่านี้เมื่อเทียบกับของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม สิ่งที่แน่ชัด คือ บทบาทของ DNA ของแมโครนิวเคลียสซึ่งมีอยู่ในไซโทพลาซึมที่ควบคุมการทำงานที่สมดุลของไซโทพลาซึมและอาจมีส่วนเสริมความสมดุลกลไกการทำงานของเซลล์ทั้งหมดด้วย

กิจกรรม 5.1

ให้นักศึกษาเตรียมน้ำต้มฟางประมาณ 1 ลิตร เมื่อเย็นแล้วกรองใส่ขวดมีฝาปิด แบ่งใส่ลงในหลอดทดลองประมาณ 10 มิลลิลิตร หยดน้ำที่เก็บจากบ่อน้ำธรรมชาติลงไปในหลอดน้ำต้มฟางประมาณ 2-3 หยด ปิดหลอดด้วยสำลี ตั้งไว้ประมาณหนึ่งสัปดาห์ สุ่มตัวอย่างโดยดูดน้ำจากหลอดมาตรวจหา *Paramecium* ด้วยกล้องจุลทัศน์ เมื่อพบแล้ว

ให้แบ่งครึ่งถ่ายน้ำจากหลอดที่มี *Paramecium* ลงในหลอดใหญ่ 2 หลอดที่มีน้ำต้มฟางอยู่ประมาณหลอดละ 10 มิลลิลิตร หลอดที่ 1 หยดอีริโทรไมซินลงไปหนึ่งหยด หลอดที่ 2 หยดคลอแรมฟีนิคอลลงไปหนึ่งหยด โดยให้หน่วยความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะทั้งสองเท่ากัน(อ่านค่าปริมาณสารในสารละลายจากฉลากข้างขวด) ปิดปากหลอดทั้งสองด้วยสำลี ตรวจผลโดยวิธีสุ่มตัวอย่างมาศึกษาการรอดชีวิตโดยใช้กล้องจุลทัศน์ทุกสัปดาห์ต่อเนื่องกัน 4 สัปดาห์ อาจต้องเติมน้ำต้มฟางเล็กน้อยทุกสัปดาห์ รายงานและวิจารณ์ผล

สรุป

รังสี ความร้อน สารก่อมะเร็ง ใช้เป็นสารก่อให้เกิดการกลายสำหรับโปรโตซัว การศึกษาการกลายลักษณะต่าง ๆ นิยมใช้ *Paramecium* เนื่องจากเพาะเลี้ยงง่าย มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ นำมาสังยุคเพื่อศึกษาโคลนของเอกซ์คอนจิวแกนท์ว่ามีลักษณะเช่นใดได้ง่ายด้วย ลักษณะเมทิงไทป์ และลักษณะแอนติเจนิก ถือเป็นลักษณะปรากฏที่ถูกปรับเปลี่ยนและถ่ายทอดสู่ชั่วรุ่นต่อไปได้ด้วยกลไกการทำงานแบบมีการก่อฤทธิ์ของยีน ลักษณะพันธุกรรมของไมโทคอนเดรีย ถูกควบคุมด้วยการทำงานร่วมกันของ DNA ในไมโทคอนเดรีย และ DNA ในนิวเคลียส การกลายลักษณะอื่นยังหาข้อสรุปที่แน่นอนไม่ได้ว่า เนื่องจากกลไกการก่อฤทธิ์ของยีนโดยตรงหรือถูกปรับเปลี่ยนเพียงชั่วคราวตามอิทธิพลของสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตาม พอประมวลได้ว่า การกลายบางลักษณะ และการปรับเปลี่ยนรูปทรงของเซลล์ทั้ง ๆที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน เป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมภายนอก และอิทธิพลของ DNA ที่สลายจากแมโครนิวเคลียสมาอยู่ในไซโทพลาซึมด้วย

แบบฝึกหัดบทที่ 5

I. จงตอบคำถามต่อไปนี้

1. จงบรรยายวิธีการก่อให้เกิดการกลายขึ้นในสายพันธุ์ปกติของ *Paramecium* เพื่อให้ได้มิวแทนท์ที่อ่อนไหวต่ออุณหภูมิ ท่านสามารถนำมิวแทนท์ที่ได้รับนี้ ไปทดลองคุณสมบัติแอนติเจนิกได้หรือไม่ อธิบายเหตุผลประกอบ
2. จงบรรยายระเบียบวิธีเพื่อการศึกษาการกลายลักษณะแอนติเจนิกของ *Paramecium* เขียนเฉพาะขั้นตอนหลักเป็นข้อ ๆ

3. วิธีไมโครอินเจกชัน ใช้สำหรับการศึกษาเรื่องใด สามารถนำไปประยุกต์ใช้ศึกษาเรื่องอื่นได้หรือไม่และอย่างไร

II. จงเติมคำลงในช่องว่างด้วยศัพท์เทคนิคเพื่อให้ได้ข้อความถูกต้องสมบูรณ์

4. ปกติโปรโตซัวมีอัตราการกลายต่ำ แต่สามารถเหนี่ยวนำให้มีการกลายเกิดขึ้นได้ด้วย ..... substances เช่น ....., antibiotics และ ..... ซึ่งในกลุ่มหลังนี้หลายชนิด เช่น N-methyl - N - nitrosourethane นิยมมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายขึ้นในนิวเคลียสของ .... จนลักษณะของการกลายถูกถ่ายทอดต่อไปยังชั่วรุ่นถัดไปได้ เรียกการกลายแบบนี้ว่า ..... mutation
5. เซลล์ที่ดำรงชีพถ่ายทอดลักษณะต่างๆ ไปยังชั่วรุ่นถัดไปตามธรรมชาติ เรียกเซลล์เหล่านั้นว่า .... แต่ถ้ามีเซลล์ใดเซลล์หนึ่งในกลุ่มประชากรมีลักษณะต่างไป บ้างเรียกเซลล์เหล่านั้นว่า defect ..... ซึ่งไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติจนถึงขั้นตาย ในกรณีหลังนี้เรียกว่า ..... mutation ซึ่งมักจะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในระดับโครโมโซม อาจเป็นการหักหลุดแบบ ..... fragment หรือ ..... fragment ซึ่งส่งผลให้เซลล์ลูกได้รับยีนต่างจากเดิมและถึงตายได้ในที่สุด
6. การศึกษาลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมไม่ว่าจะเป็นแบบ ..... cross หรือ ..... cross ของพวกแฮพลอยด์ สามารถศึกษาการ segregation ได้ด้วยวิธี ..... analysis โดยนำโกนส์แต่ละเซลล์ที่ได้มาจากไซโกตเดียวกันมาแยกเลี้ยง แล้วศึกษาลักษณะของแต่ละโคลนของโกนส์เหล่านั้น หลักการโดยทั่วไป ไซโกตจะมี 3 แบบ คือ ..... ditypes, ... ditypes และ ..... ขึ้นอยู่กับว่าจะมี gene ..... บนโครโมโซมเส้นเดียวกันหรือต่างเส้นกัน แต่ในกรณีของพวกดิพลอยด์มีปัจจัยอื่นมาเสริมอีก คือ ..... หรือ heterozygous
7. สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันที่มีจีโนไทป์เหมือนกันแต่มีฟีโนไทป์ต่างกัน เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า ..... ศึกษาพบในโปรโตซัวหลายกลุ่ม เช่น ซิลิเอทชนิด .... ในเอพิคอมเพลกซาน ชนิด .... อะมีบาหลายชนิด รวมถึงสาหร่ายดิวิชัน(ไฟลัม) ..... ชนิด *Dunaliella salina* ด้วย โปรโตซัวบางกลุ่มมี ..... ปรากฏชัด เช่น สกุล *Trypanosoma* เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้สามแบบ คือ ....., epimastigote และ .....