

บทปฏิบัติการที่ 1

เรื่อง การสร้างเซลล์สืบพันธุ์

บทนำ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Gametogenesis) แบ่งเป็น 2 ประเภท คือการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือสเปิร์ม (Spermatogenesis) และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียหรือไข่ (Oogenesis)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เกิดขึ้นภายในอวัยวะสืบพันธุ์ (sex gland หรือ gonad) ของแต่ละเพศโดยเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell หรือ gamete) ทั้งเพศผู้และเพศเมียเจริญมาจาก primordium germ cell ซึ่งเคลื่อนตัว (migrate) มาจากส่วนอื่นของร่างกาย มายังบริเวณที่มีการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์เพื่อเจริญเป็นเซลล์สืบพันธุ์ของแต่ละเพศต่อไป

เซลล์ที่จะเจริญเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (primordium germ cell) นี้จะมีการเจริญเปลี่ยนแปลงพร้อมกับการแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) เพื่อลดจำนวนโครโมโซม (chromosome) เหลือเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid หรือ n) ของจำนวนโครโมโซมเดิม (diploid หรือ $2n$) เมื่อมีการปฏิสนธิ (fertilization) จะเกิดการรวมตัวระหว่างโครโมโซมของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองเพศได้เป็นไซโกต (zygote) ที่จะเจริญเป็นเอมบริโอ (embryo) ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับพ่อแม่ดั้งเดิม

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (Spermatogenesis)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือสเปิร์ม (sperm หรือ spermatozoon) เกิดภายในเทสทิส (testis) โดย primordium germ cell ที่เคลื่อนตัวมายังเทสทิสเกิดการแบ่งตัวแบบไมโทซิส (mitosis) ได้ spermatogonia จำนวนมากมาย ต่อมา spermatogonia เริ่มเจริญขยายขนาด (growth) เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ ที่เรียกว่า primary spermatocyte primary spermatocyte จะเกิดการแบ่งตัวแบบ meiosis ขั้นแรก (first meiotic division) ได้เป็น secondary spermatocyte สองเซลล์ แต่ละเซลล์ของ secondary spermatocyte จะมีการแบ่งตัวขั้นต่อไป (second meiotic division) ได้เป็นสองเซลล์ของ spermatid แต่ละ spermatid จะมีการเจริญเปลี่ยนแปลง (maturation หรือ differentiation) เป็น mature sperm เพื่อให้เหมาะสมในการเข้าผสมกับไข่ได้ การเจริญเปลี่ยนแปลงนี้ประกอบด้วย การรวมตัว (condensation) ของนิวเคลียส สร้างเป็นส่วนหัว (head) ของสเปิร์ม การสร้าง acrosome จากส่วน golgi apparatus ควบคุมส่วนหน้าของนิวเคลียส การเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนคอ (neck) และส่วนหาง (tail) รวมทั้งการกำจัดไซโทพลาสซึมออกจากเซลล์ เรียกการเจริญเปลี่ยนแปลงนี้ว่า spermiogenesis

สเปิร์ม (Sperm หรือ spermatozoon)

สเปิร์มของสัตว์แต่ละชนิด มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับไข่ รูปร่างจะแตกต่างกันไปบ้าง แต่จะประกอบด้วยโครงสร้างสำคัญ 3 ส่วน คือ

ส่วนหัว ค่อนข้างแหลม ประกอบนิวเคลียสเกือบเต็ม และมี acrosome คลุมอยู่ตอนหน้านิวเคลียส ทำหน้าที่สร้างสารที่เกี่ยวข้องกับการเจาะผ่านผิวไข่ในระหว่างการปฏิสนธิ

ส่วนคอ ประกอบด้วย distal centriole, proximal centriole และแกนกลาง axial filament ที่มี mitochondria พันรอบแกน mitochondria เป็นแหล่งสะสมพลังงานสำหรับการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม

ส่วนหาง (tail หรือ flagellum) เป็นส่วนที่ยาวที่สุด ประกอบด้วย axial filament เป็นแกนกลาง มีเยื่อ plasmalemma ล้อมรอบ ยกเว้นตอนปลายไม่มีเยื่อหุ้ม (naked filament) ส่วนหางทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเข้าหาไข่

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (Oogenesis)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียหรือไข่ (egg หรือ ovum) เกิดภายในรังไข่ (ovary) โดย primordial germ cell ที่เคลื่อนตัวมายังรังไข่จะเกิดการแบ่งตัวได้ oogonia จำนวนมากมาย ต่อมา oogonia บางเซลล์เริ่มเจริญขยายเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่เรียกว่า primary oocyte ซึ่งจะเกิดการแบ่งตัวแบบไมโอซิสขั้นแรกได้เซลล์สองขนาด เซลล์ขนาดใหญ่เรียกว่า secondary oocyte เซลล์ขนาดเล็กเรียกว่า first polar body การแบ่งตัวครั้งนี้ เกิดก่อนการตกไข่ (ovulation) จากรังไข่เล็กน้อย

เมื่อมีการปฏิสนธิ secondary oocyte จึงเกิดการแบ่งตัวแบบไมโอซิสขั้นที่สองได้เซลล์สองขนาดเช่นเดิม เซลล์ขนาดใหญ่คือ ootid ซึ่งจะเจริญเป็นเซลล์ไข่ที่สมบูรณ์ (mature ovum หรือ egg) เซลล์ขนาดเล็กคือ second polar body ส่วน first polar body อาจจะแบ่งตัวหรือไม่ก็ได้จะเห็นได้ว่า จาก oogonia หนึ่งเซลล์เจริญได้เป็นไข่เพียงหนึ่งเซลล์เท่านั้น

ไข่ (egg หรือ ovum)

ขนาดของไข่และสเปิร์มในสัตว์ชนิดเดียวกันจะแตกต่างกันมาก ไข่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง จึงมีการปรับตัวให้มีขนาดใหญ่กว่าสเปิร์ม เพื่อเพิ่มโอกาสให้สเปิร์มพบและเข้าผสมได้ง่าย

รูปร่างและขนาดของไข่ในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ไข่ของสัตว์บางชนิดเป็นรูปกลม บางชนิดรียาว ขนาดมีตั้งแต่เล็กมาก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น จนถึงขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจน

ไข่จะมีการสร้างอาหารสะสม (ไข่แดง หรือ yolk) ภายในไซโตพลาสซึม เพื่อใช้เป็นพลังงานสำหรับการเจริญของเอ็มบริโอ ดังนั้น อาจแบ่งไข่เป็นชนิดต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณของ

อาหารสะสมและการกระจายของอาหารสะสมในไซโตพลาสซึม ดังนี้

ชนิดของไข่ แบ่งตามปริมาณของอาหารสะสม (Amount of Yolk) มี 4 ชนิด คือ

1. Alecithal Egg ไข่ชนิดที่ไม่มีอาหารสะสมเลย เช่น ไข่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
2. Microlecithal Egg ไข่ชนิดที่มีอาหารสะสมเล็กน้อย เช่น ไข่ดาวทะเล เม่นทะเล
3. Mesolecithal Egg ไข่ชนิดที่มีอาหารสะสมมากพอควร เช่น ไข่กบ คางคก
4. Polylecithal Egg ไข่ชนิดที่มีอาหารสะสมจำนวนมาก เช่น ไข่สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ชนิดของไข่ แบ่งตามการกระจายของอาหารสะสม (Distribution of yolk) มี 3 ชนิด คือ

1. Isolecithal Egg ไข่ชนิดที่มีการกระจายของอาหารเท่ากันตลอดเซลล์ เช่น ไข่ดาวทะเล เม่นทะเล สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
2. Telolecithal Egg ไข่ชนิดที่มีการกระจายของอาหารไม่เท่ากันในเซลล์ แบ่งได้เป็น
 - 2.1 Moderately Telolecithal Egg ไข่ที่มีอาหารสะสมมากทางด้านล่าง (vegetal pole) เช่น ไข่กบ คางคก
 - 2.2 Heavily Telolecithal Egg ไข่ที่มีอาหารสะสมมาก แยกจากไซโตพลาสซึม เช่น ไข่สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
3. Centrolecithal Egg ไข่ที่มีอาหารสะสมอยู่ตรงกลาง ไซโตพลาสซึมอยู่รอบนอก เช่น ไข่แมลง

วัตถุประสงค์ บทปฏิบัติการนี้ มีวัตถุประสงค์ให้นักศึกษา

1. ลำดับขั้นตอนของการสร้างสเปิร์มและไข่ รวมทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างของแหล่งที่สร้างและขั้นตอนในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองเพศได้
2. อธิบายรูปร่าง ลักษณะของสเปิร์มและไข่ รวมทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองเพศนี้ได้

วัสดุอุปกรณ์

1. สไลด์ถาวร และภาพ แสดงเซลล์ชั้นผ่านเทสทิส และรังไข่ของดาวทะเล เม่นทะเล กบ ไข่
2. ภาพแสดงโครงสร้างของเทสทิส และรังไข่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
3. สไลด์ถาวรและภาพ แสดงสเปิร์มของดาวทะเล (starfish sperm smear)
4. ภาพแสดงโครงสร้างของสเปิร์มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
5. รูปปั้นและภาพ แสดงชนิดต่าง ๆ ของไข่

การศึกษา

1. ศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ตามหัวข้อต่อไปนี้

1.1 จากสไลด์ถาวรและภาพ แสดงเซคชันผ่านเทสทิสของดาวทะเล เม่นทะเล เริ่มศึกษาจากผนังของเทสทิส เข้าสู่ช่องว่างภายใน เซลล์ที่เรียงรายที่ผนังจะเป็น เซลล์ที่เจริญในระยะแรกของการสร้างสเปิร์ม คือ spermatogonia primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid อยู่เป็นลำดับเข้าไปภายใน โดย sperm อยู่ตรงกลางช่องว่าง

1.2 จากสไลด์ถาวรและภาพ แสดงเซคชันผ่านเทสทิสของกบ ไม้ เริ่มศึกษาจากผนังของท่อ seminiferous tubule เข้าสู่ช่องว่างภายใน spermatogonia อยู่บริเวณผนังของท่อ เซลล์ในการเจริญลำดับต่อ ๆ ไป อยู่เป็นลำดับเข้าไปในช่องว่างของท่อ ตรงกลางของท่อ ปรากฏส่วนหัวของสเปิร์มเป็นสีเข้ม ลักษณะเป็นเส้นเล็ก ๆ อยู่เป็นกลุ่ม

1.3 จากภาพ แสดงโครงสร้างของเทสทิสสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

เริ่มศึกษาจากผนังของ seminiferous tubule เข้าสู่ช่องว่างภายใน สังเกต

spermatogonia

primary spermatocyte

secondary spermatocyte

spermatids

spermatozoa

Sertoli sustentacular cell

2. ศึกษาสเปิร์มของสัตว์ชนิดต่าง ๆ ดังนี้

จากสไลด์ถาวร และภาพ แสดงสเปิร์มของดาวทะเล

จากภาพ แสดงโครงสร้างของสเปิร์ม สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

สังเกตส่วนหัว ส่วนคอ และส่วนหางของสเปิร์ม

3. ศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ตามหัวข้อต่อไปนี้

3.1 จากสไลด์ถาวร และภาพ แสดงเซคชันผ่านรังไข่ของเอคโคไนด์ฟอร์ม (ดาวทะเล เม่นทะเล)

ศึกษาจากผนังรังไข่ (ovarian wall) ปรากฏกลุ่มของ primary oocyte ที่กำลังเจริญ ขนาดต่าง ๆ primary oocyte บางเซลล์ มี nucleus ขนาดใหญ่ (เรียกว่า germinal vesicle) ซึ่งภายใน มี nucleolus ติดสีเข้มเห็นได้ชัดเจน

ช่องว่างภายในรังไข่ (ovarian sac) ปรากฏเซลล์ไข่ที่สมบูรณ์ (mature ova) ภายในไซโตพลาสซึมมีอาหารสะสม (yolk) อยู่เต็มเซลล์

3.2 จากสไลด์ถาวร และภาพ แสดงเซคชันผ่านรังไข่กบ

ศึกษา primary oocyte ที่กำลังเจริญขนาดต่าง ๆ กัน ที่ผนังรังไข่ (peritoneum)

หรือ theca externa) primary oocyte บางเซลล์มีขนาดใหญ่ เห็น nucleus ชัดเจน ภายใน nucleus มี nucleolus เป็นจุดเล็ก ๆ หลายจุด และปรากฏชั้นของ follicle cell เรียงรายรอบ primary oocyte อาจเรียกเป็นชั้นของ theca interna

3.3 จากภาพ แสดงโครงสร้างของรังไข่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

สังเกตการเจริญของเซลล์ไข่ในรังไข่ จะปรากฏกลุ่มของ follicle cell ล้อมรอบจากระยะ primary oocyte มีชั้นของ follicle cell เป็นชั้นเดียวล้อมรอบเรียกเป็น primary follicle ต่อมาจำนวนชั้นของ follicle cell ที่ล้อมรอบจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น กลายเป็น secondary และ tertiary follicle และในที่สุด เกิดช่องว่าง (antrum) ระหว่างชั้นของ follicle cell

ระยะที่มี antrum ขนาดใหญ่ มี primary oocyte ภายใน เรียก graffian follicle

เมื่อมีการตกไข่ (ovulation) แล้ว follicle cell นี้จะเปลี่ยนแปลงเป็น corpus luteum

ศึกษา mature graffian follicle สังเกต

primary oocyte

zona pellucida

cumulus oophorus

antrum

follicle cell

4. ศึกษาชนิดต่างๆ ของไข่

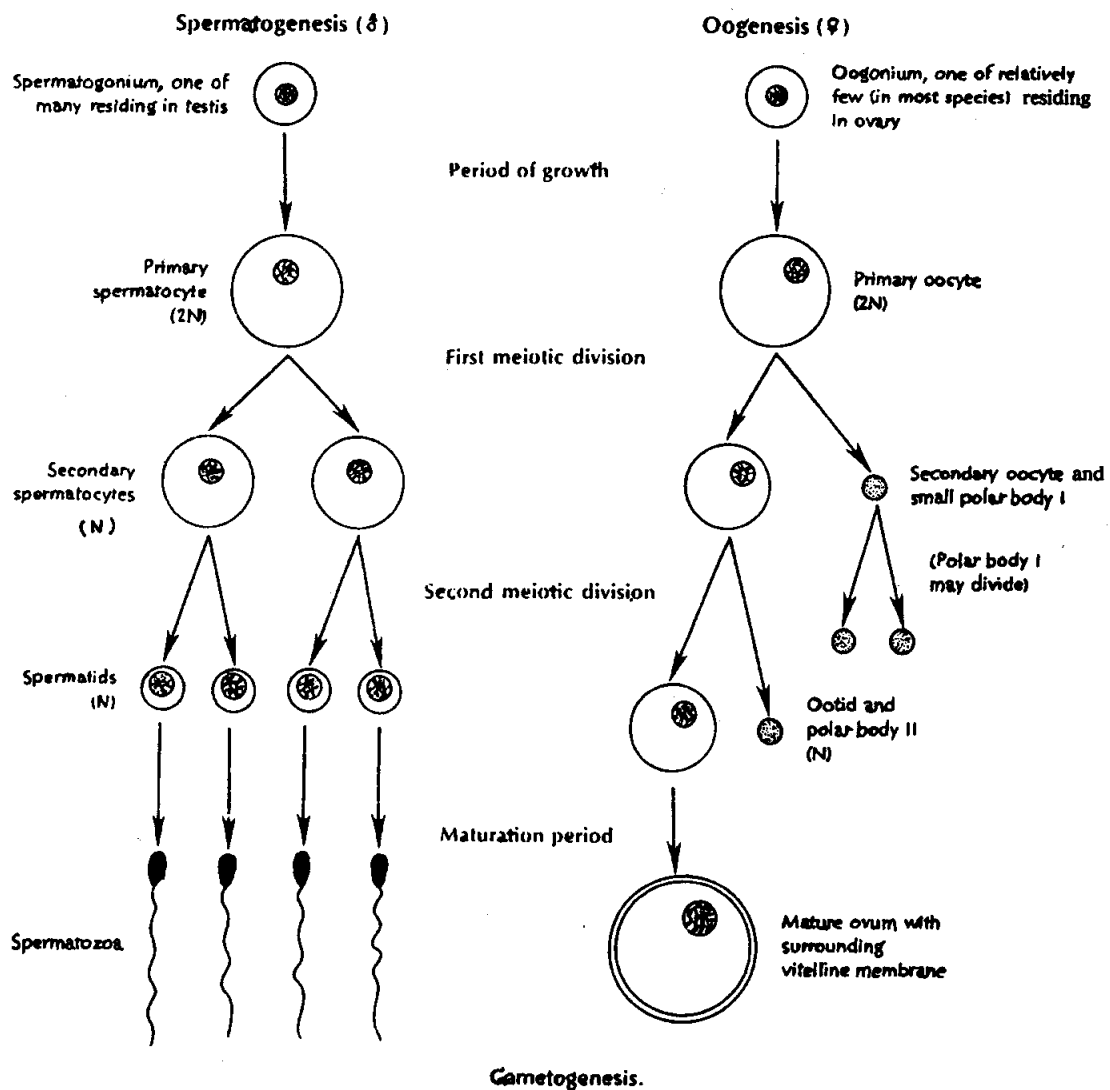
จากรูปปั้น และภาพ ศึกษาชนิดต่างๆ ของไข่ดังนี้

isolecithal egg (human)

moderately telolecithal egg (frog)

heavily telolecithal egg (chicken)

centrolecithal egg (fly)



ภาพที่ 1.1 ไคอะแกรมเปรียบเทียบความแตกต่างของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย (จาก Eichler, 1978)

ภาพที่ 1.2 ภาพเซคชันผ่านเทสทิส แสดงการสร้างสเปิร์ม



A เทสทิสของดาวทะเล

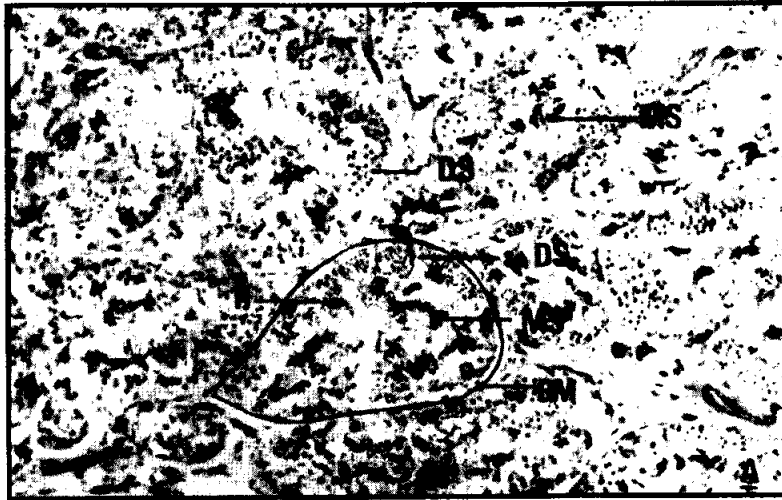
B เทสทิสของเม่นทะเล

คำอธิบายประกอบภาพ

DS developmental stages of sperm

MS mature sperm in lumen of tubule

ภาพที่ 1.3 ภาพเซคชันผ่านเทสทิส แสดงการสร้างสเปิร์ม



A เทสทิสของกบ

B เทสทิสของไก่

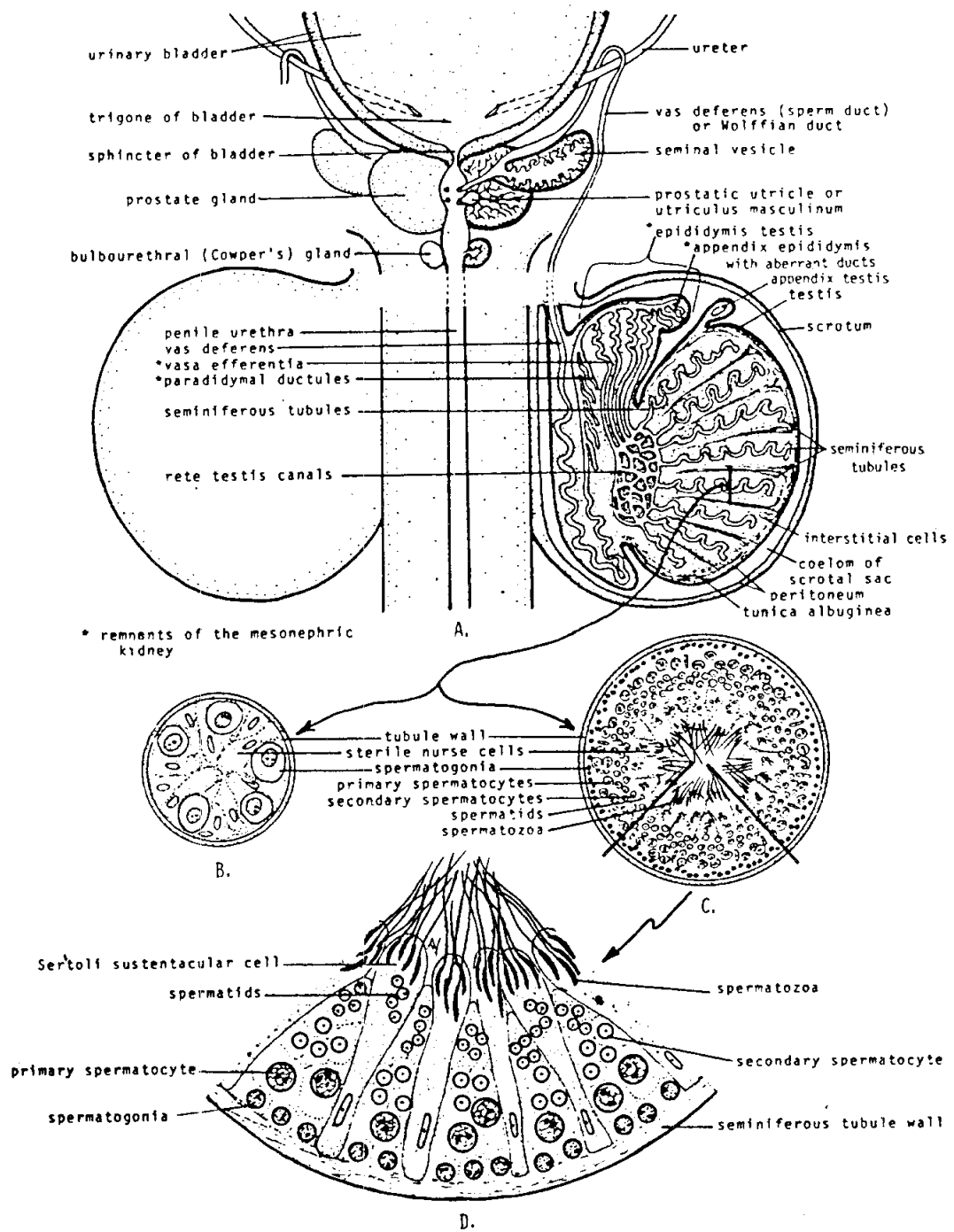
คำอธิบายประกอบภาพ

BM basement membrane of seminiferous tubules

DS developmental stages of sperm

H head of mature sperm

MS mature sperm



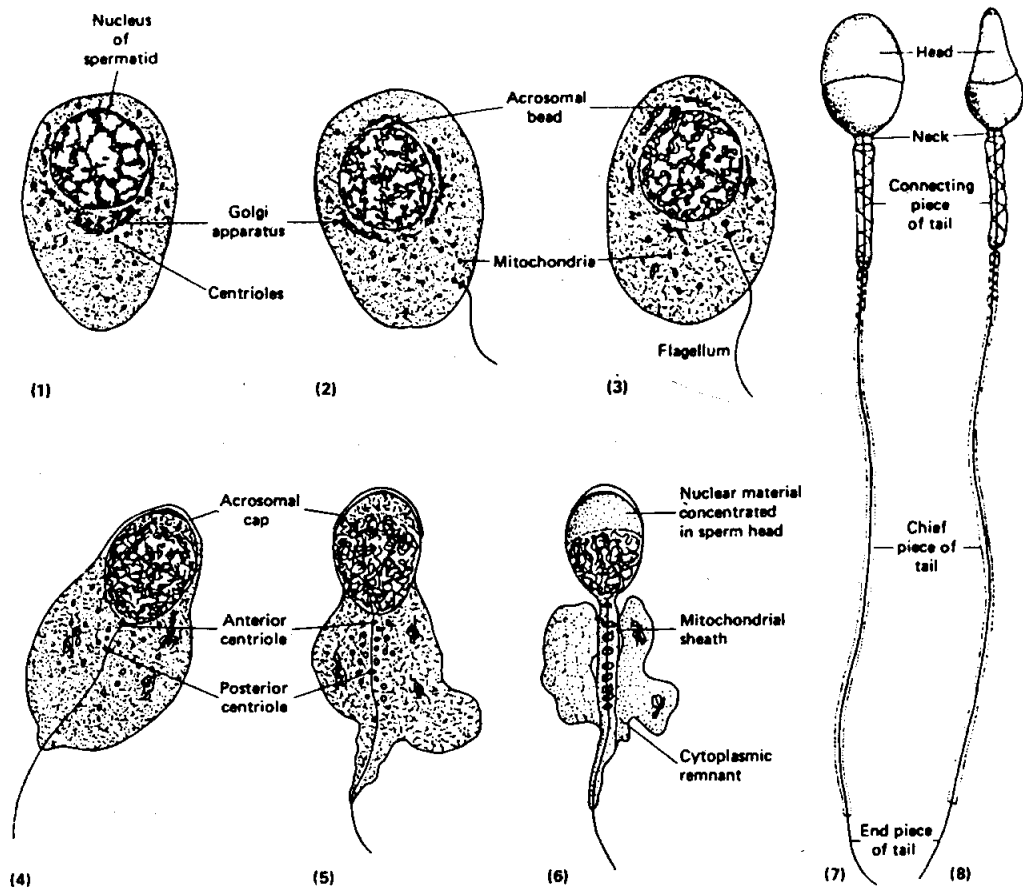
ภาพที่ 1.4 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างของเทสทิสสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

A ลักษณะโดยทั่วไปของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

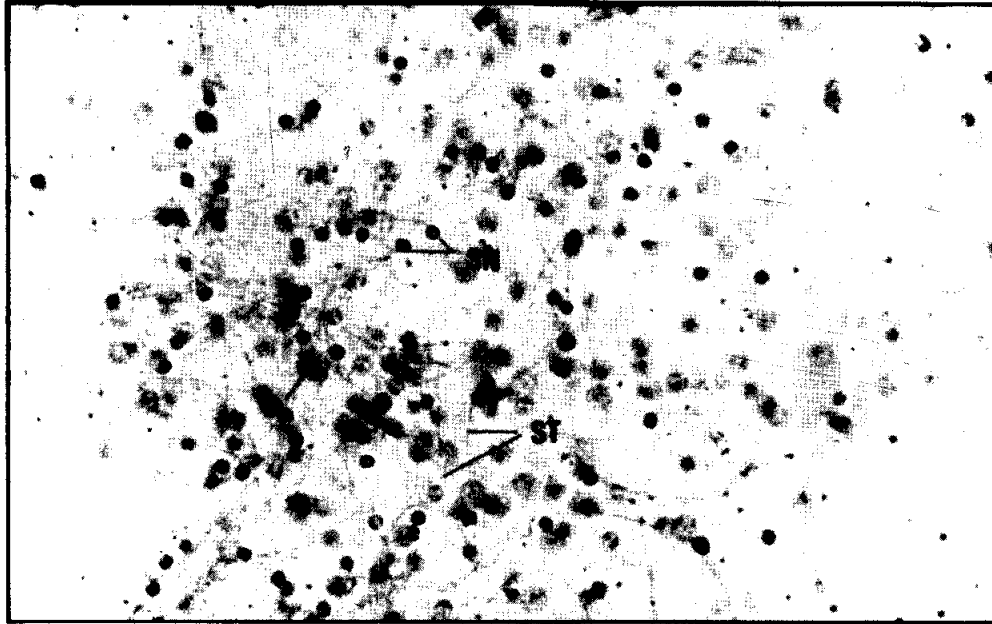
B เซกชันผ่าน seminiferous tubule ที่ยังไม่เจริญเต็มที่

C,D เซกชันผ่าน seminiferous tubule แสดงการสร้างสเปิร์มระยะต่าง ๆ

(จาก Lehman, 1977)



ภาพที่ 1.5 แสดงลำดับการเปลี่ยนแปลงของ spermatid จนเป็น mature sperm (Spermiogenesis)
 (จาก Brookbank, 1978)

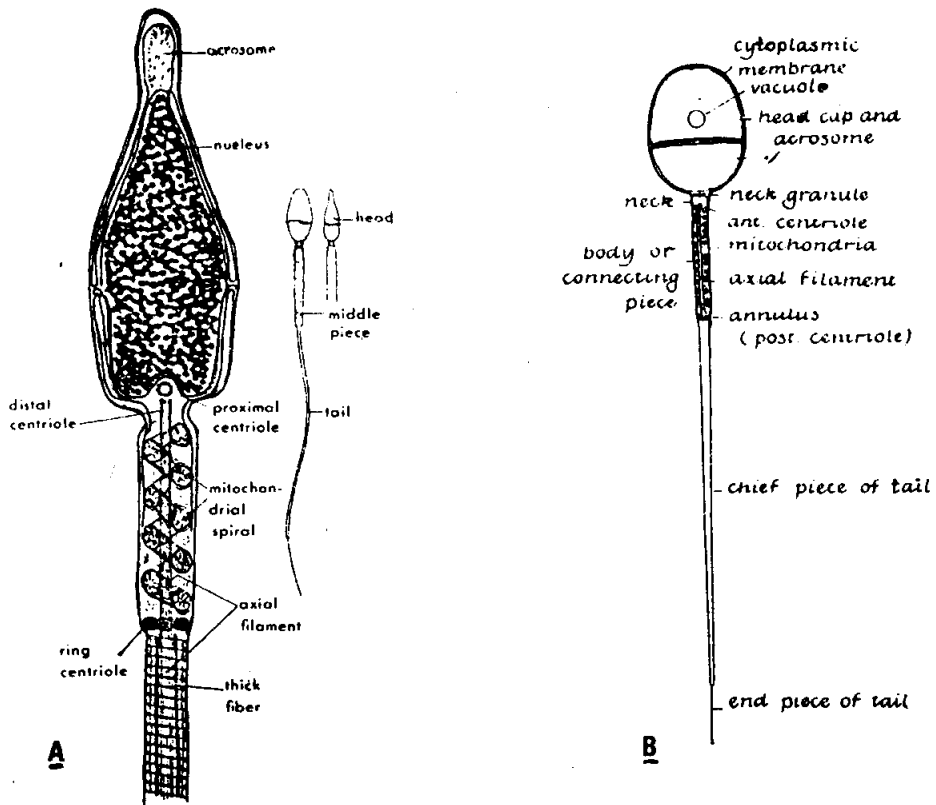


ภาพที่ 1.6 แสดงสเปิร์มของดาวทะเล (starfish sperm smear)

คำอธิบายประกอบภาพ

SN – Sperm nuclei (head)

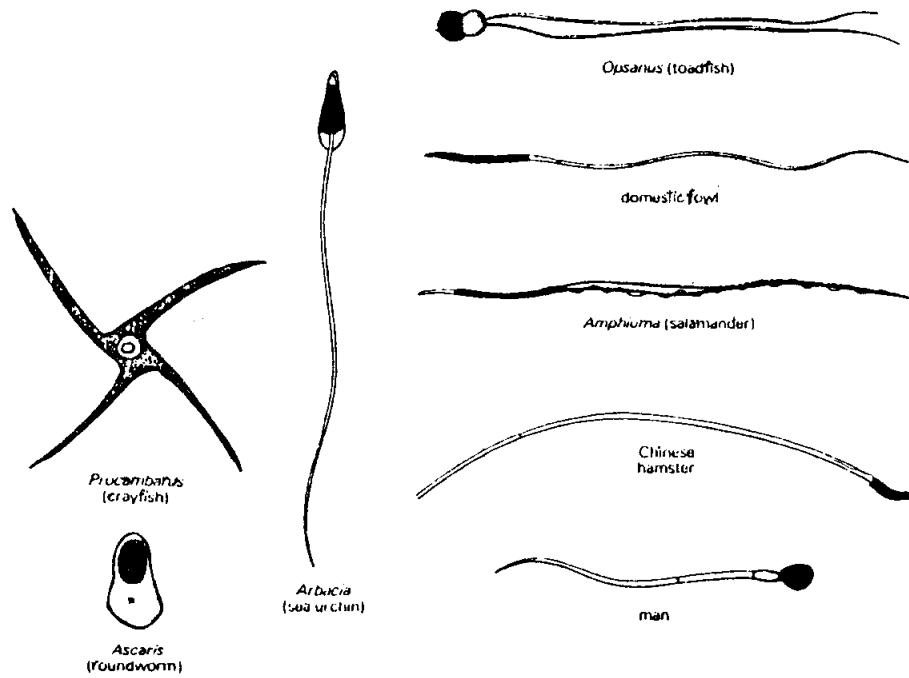
ST – Sperm tails



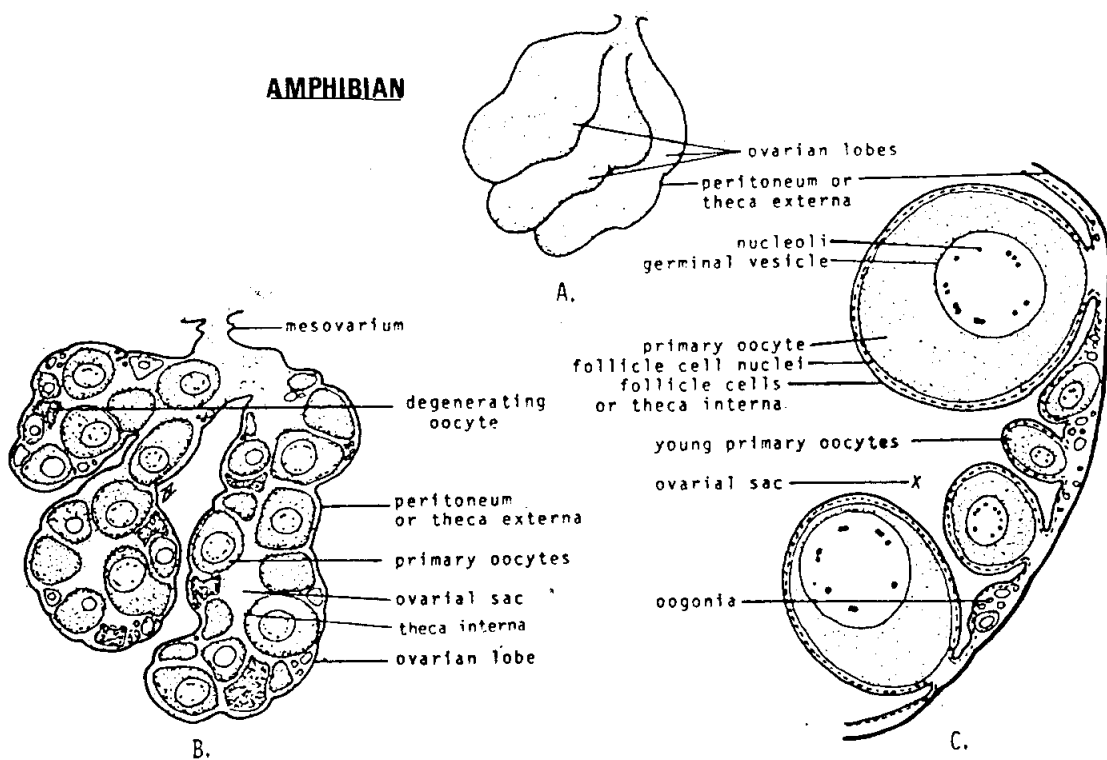
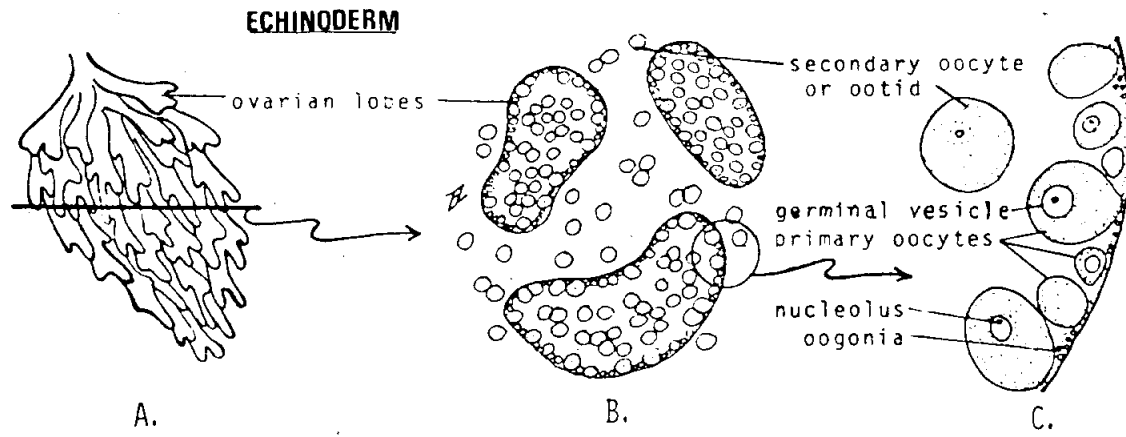
ภาพที่ 1.7 แสดงโครงสร้างของสเปิร์ม

A สเปิร์มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (จาก Balinsky, 1976)

B สเปิร์มของคน (จาก Spratt, 1971)



ภาพที่ 1.8 แสดงรูปร่างของสเปิร์มในสัตว์แต่ละชนิด
(จาก Berill, 1974)



ภาพที่ 1.9 ไตอะแกรมแสดงโครงสร้างของรังไข่ ในพวกเอคไคโนดอร์ม และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ

A รูปร่างกายนอกโดยทั่วไป

B เซกชันผ่านรังไข่ เมื่อดูด้วยกำลังขยายต่ำ

C เซลล์ที่กำลังเจริญในระยะต่าง ๆ จากผนังรังไข่

(จาก Lehman, 1977)

ภาพที่ 1.10 ภาพเซกชันผ่านรังไข่ แสดงการสร้างเซลล์ไข่

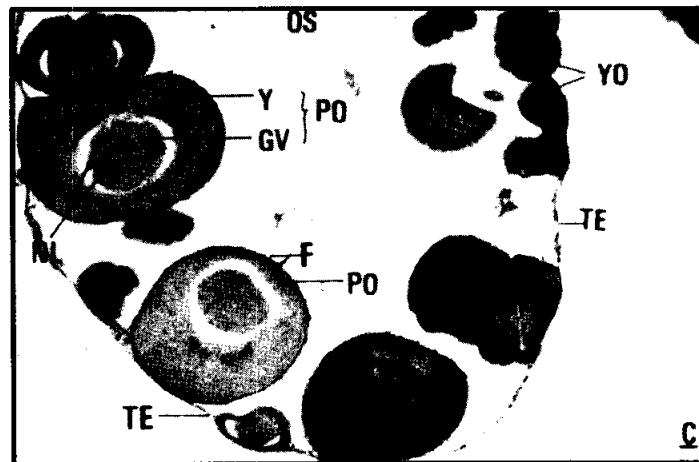
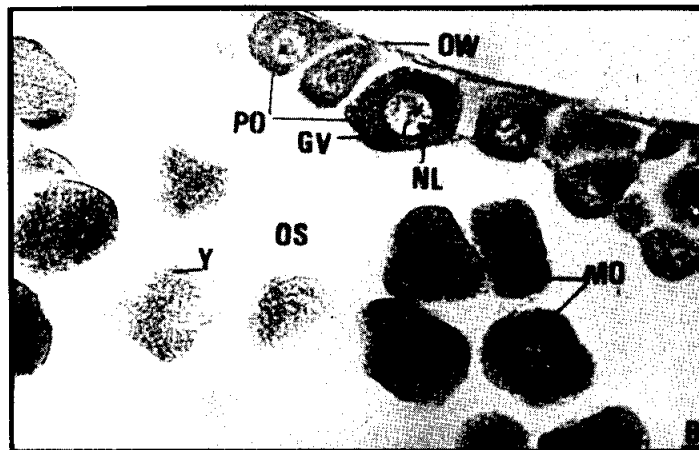
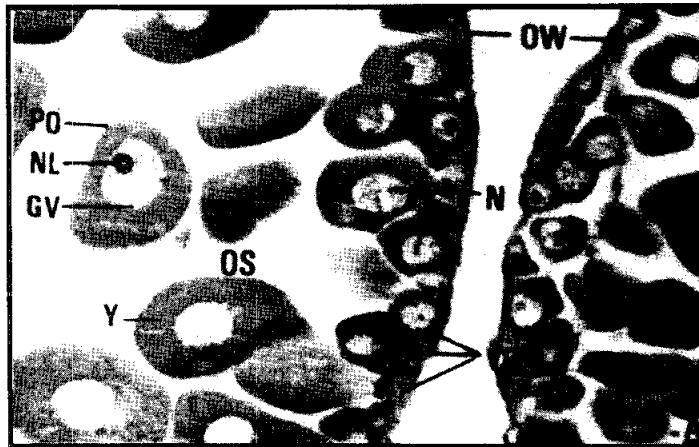
A รังไข่ของดาวทะเล

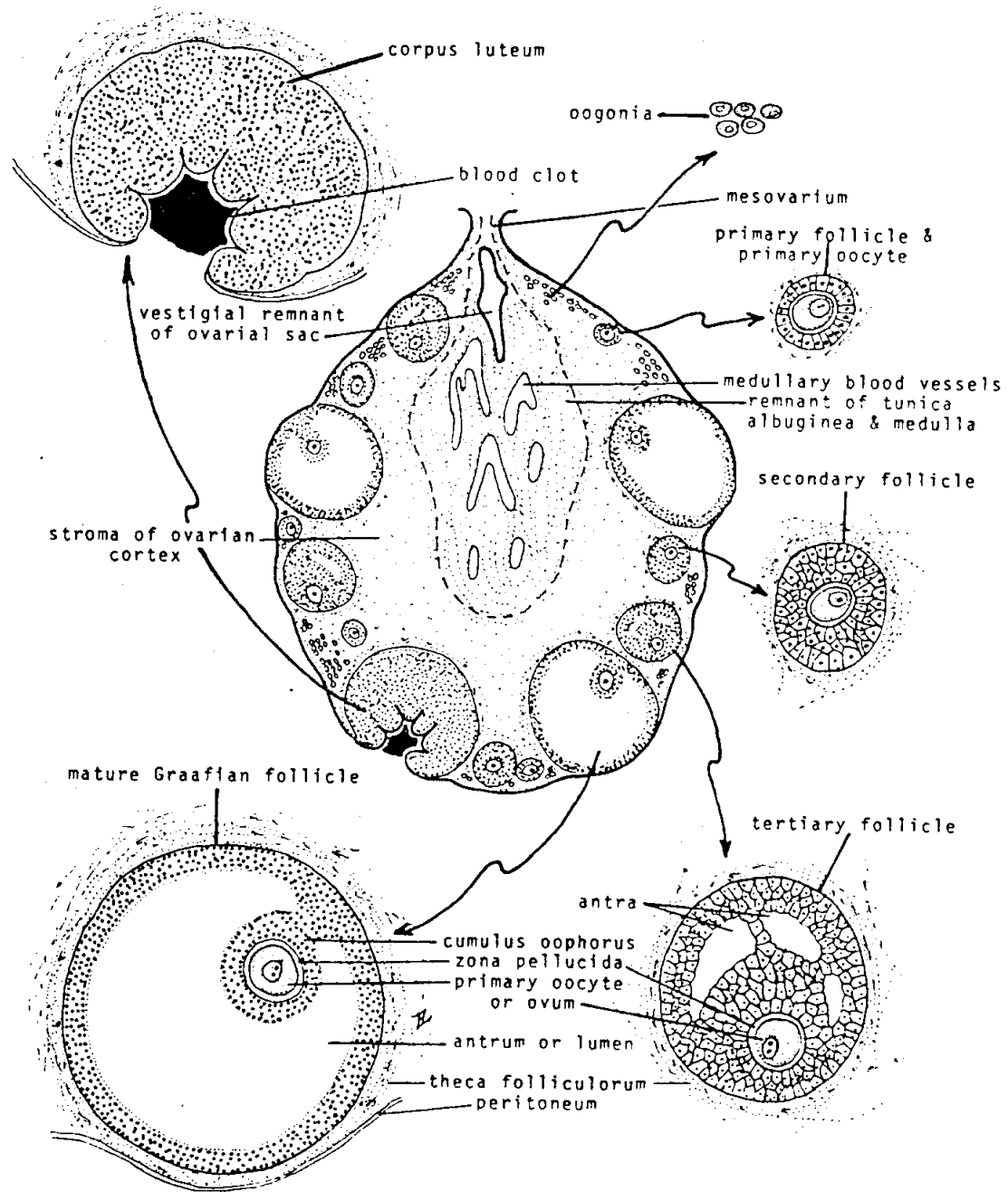
B รังไข่ของเม่นทะเล

C รังไข่ของกบ

คำอธิบายประกอบภาพ

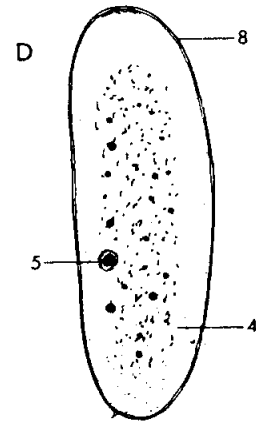
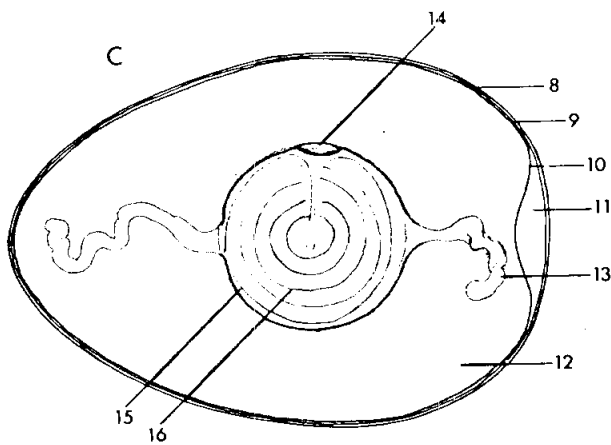
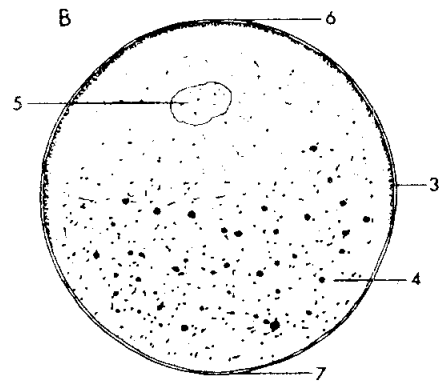
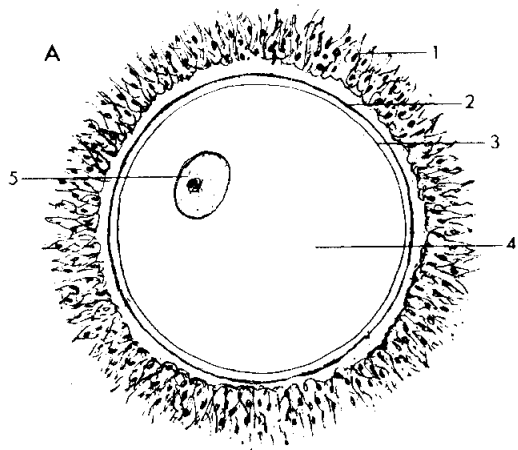
F	follicle cells (theca interna)
GV	germinal vesicle
MO	mature ova
N	nucleus
NL	nucleolus
OS	ovarian sac
OW	ovarian wall
PO	primary oocyte
TE	theca externa (peritoneum)
Y	yolk
YO	young primary oocyte





ภาพที่ 1.11 แสดงการเจริญของเซลล์ไข่ภายในรังไข่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
(จาก Lehman, 1977)

EGG TYPES



- A. Isolecithal (human)
 - B. Telolecithal (frog)
 - C. Highly telolecithal (chicken)
 - D. Centrolecithal (fly)
- 1. Corona radiata
 - 2. Zona pellucida
 - 3. Vitelline membrane
 - 4. Yolk-rich cytoplasm
 - 5. Nucleus

- 6. Animal pole
- 7. Vegetal pole
- 8. Shell
- 9. Outer shell membrane
- 10. Inner shell membrane
- 11. Air chamber
- 12. Albumen
- 13. Chalaza
- 14. Blastoderm
- 15. White yolk
- 16. Yellow yolk

ตำราอ่านประกอบ

1. Arey, L.B. 1974. *Developmental Anatomy*. Rev. 7th ed. Philadelphia : Saunders.
2. Balinsky, B.I. 1976. *An Introduction to Embryology*. 4th ed. Philadelphia : Saunders.
3. Berill, N.J. 1974. *Developmental Biology*. TMH ed. New Delhi : TATA McGraw Hill
4. Brookbank, J.W. 1978 *Developmental Biology*. New York: Harper & Row.
5. Eichler, V.B. 1978. *Atlas of Comparative Embryology*. Saint Louis: CV Mosby.
6. FitzGerald, M.J.T. 1978. *Human Embryology*. New York: Harper& Row.
7. Lehman, H.E. 1977. *Chordate Development*. Winston-Salem : Hunter.
8. Mathews, W.W. 1978. *Laboratory Studies in Animal Development*. New York: Macmillan.
9. _____ , 1982. *Atlas of Descriptive Embryology*. 3rd ed. New York: Macmillan.
10. Rugh, R. 1977. *A Guide to Vertebrate Development*. 7th ed. Minneapolis : Burgess.
11. Spratt, N.T.1971. *Developmental Biology*. California: Wadsworth.