ผลการวิจัย

ผลการทดลองเลี้ยงเซลล์เพื่อศึกษาไมโตซิส

ในการศึกษาไมโตซิสของเซลล์ในขณะที่มีชีวิตโดยการนำเซลล์ออกมาเลี้ยงบน glucose agar medium ความเข้มข้นของกลูโคส ๔.๕ เปอร์เซ็นต์, ๕ เปอร์เซ็นต์, ๕.๕ เปอร์เซ็นต์, และ ๖ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่า medium ที่เหมาะที่สุดที่จะให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้นานและมีการแบ่งปกติ คือ กลูโคส ๕ เปอร์เซ็นต์ และ agar ๐.๖ เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกลูโคสที่เปลี่ยนไปจากระดับ ๐.๕ เปอร์เซ็นต์จะทำให้เซลล์มีการแบ่งที่ผิดปกติมากขึ้น ดังนั้นในการนำเซลล์ออกมาเลี้ยงดูไมโตซิสจึงใช้ medium กลูโคส ๕ เปอร์เซ็นต์ และ agar ๐.๖ เปอร์เซ็นต์โดยตลอด

เซลล์ที่นำมาเลี้ยงบนวุ้นอาหารนี้จะมีชีวิตอยู่ประมาณ ๒๔ ถึง ๔๘ ชั่วโมง แต่จะไม่มีการเจริญเกิดขึ้นเพียงพอที่จะทำให้เซลล์ที่แบ่งตัวแล้วเมื่ออยู่บนวุ้นอาหารทำการแบ่งอีกเป็นครั้งที่สอง เซลล์ที่อยู่บนวุ้นอาหารนี้ยังมีน้ำเลี้ยงในเมล็ดหลอเลี้ยงอยู่ จากการทดลองโดยเด็ดเมล็ดออกจากฝักทิ้งไว้ ๒๔ และ ๔๘ ชั่วโมงตามลำดับ แล้วนำเซลล์ออกมาดูก็พบว่ายังมีเซลล์ที่มีไมโตซิสอยู่บ้าง เซลล์ทั้งหมดมีอยู่เป็นจำนวนน้อยและยังไม่เกิดเป็นเนื้อเยื่อขึ้นซึ่งแสดงว่าเกิดการเจริญน้อยมาก โดยปกติในวันที่ ๘ - ๙ หลังจากการผสม endosperm จะเปลี่ยนจากลักษณะ free cell เป็นเนื้อเยื่อขึ้นเต็มเมล็ดแล้วเมื่อเมล็ดนั้นอยู่ในฝักที่ติดต้นอยู่หรือเด็ดออกมาจากต้นพร้อมทั้งก้านแช่น้ำไว้ก็ตาม แสดงว่าอาหารที่สะสมอยู่ในน้ำเลี้ยงในเมล็ดนั้นไม่เพียงพอแก่การเจริญเติบโตของเซลล์ เมื่อนำออกมาเลี้ยงบน glucose agar ซึ่งอยู่ในสถานะที่ผิดไปจากเดิมจึงทำให้การเจริญหยุดชงักได้ง่ายและเร็วขึ้น

ในการทดลองเลี้ยงนี้พบว่าอุณหภูมิห้อง ๒๘° ถึง ๓๐°ซ มิได้เป็นปัญหาสำคัญในการทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้ช้าหรือเร็วขึ้น ถ้า medium ปราศจากเชื้อราและแบคทีเรียจะทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้นานขึ้น จากการทดลองเลี้ยงพบว่าครั้งหนึ่งที่เซลล์อยู่ในสภาวะปราศจากเชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึง ๗ วัน ในอุณหภูมิห้องประมาณ ๒๔° ซ จำนวนเซลล์ที่ตายจะค่อยๆเพิ่มขึ้นตามลำดับจนกระทั่งถึงวันที่เจ็ด แสดงว่าเซลล์ขาดอาหารหล่อเลี้ยง

อย่างเพียงพอที่จะทำให้เกิดการเจริญขึ้น เซลล์สามารถจะมีชีวิตอยู่ได้นานเช่นกันในอุณหภูมิห้อง (๒๘-๓๐° ซ) เมื่อปราศจากเชื้อจุลินทรีย์

ผลการศึกษาไมโตซิส

ภาพยนต์ที่ถ่ายนี้แบ่งออกเป็นสองชุด ชุดแรกแสดง mitotic stage ระยะต่างๆที่มีการแบ่งตามปกติ ชุดที่สองแสดงการแบ่งไมโตซิสแบบต่างๆที่ผิดปกติ

ภาพยนต์ชุดแรก Normal Mitosis

ลำดับของเซลล์มีดังนี้

๑. Metabolic Stage Cell No.1 ถ่ายด้วย objective ๔๐ X oil แสดงให้เห็น mitochondria ใน cytoplasm และ Brownian movement ของ particle ต่างๆ

๒. Metabolic Stage Cell No.2 ถ่ายด้วย objective ๔๐ X phase ธรรมดาเช่นเดียวกับเซลล์อื่นๆ เห็น Brownian movement เห็น vacuole ในนิวคลีโอลัส มีการขยายและแตกเป็น vacuole เล็ก

๓. Prophase Cell No.3

๔. Prophase - Metaphase Cell No.4

๕. Contraction Stage - Telophase Cell No.5 ถ่ายด้วยอัตราเร็ว ๖ ภาพต่อนาที

๖. Contraction Stage - Telophase Cell No.6

๗. Metaphase - Telophase Cell No.7

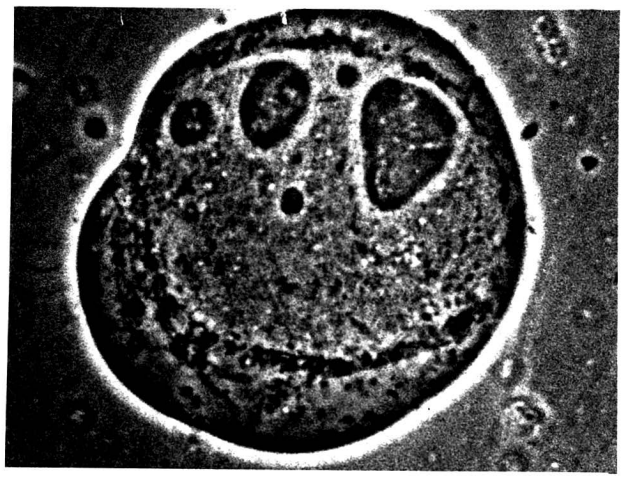
๘. Prophase - Telophase Cell No. 8

ภาพยนต์ชุดที่สอง Abnormal Mitosis

๑. Anaphase - Telophase Cell No.9 ถ่ายด้วยอัตราเร็ว ๖ ภาพต่อนาที

๒. Metakinesis - Telophase Cell No.10

๓. Prophase - Telophase Cell No. 11



รูปที่ ๖ เซลล์ **No.1** กำลังขยาย ๑๐๘๐ เท่า
แสดงระยะ **metabolic stage** ถ่ายด้วย **objective** ๔๐X
oil phase contrast เห็นนิวเคลียสใหญ่เกือบเต็มเซลล์
nucleolus มีขนาดต่าง ๆ กัน จุดดำที่เห็นคือ **mitochondria**
อยู่รอบนิวเคลียส

๔. Prophase-Telophase Cell No. 12

๕. Prophase - Telophase Cell No. 13

๖. Prophase - Telophase Cell No.14

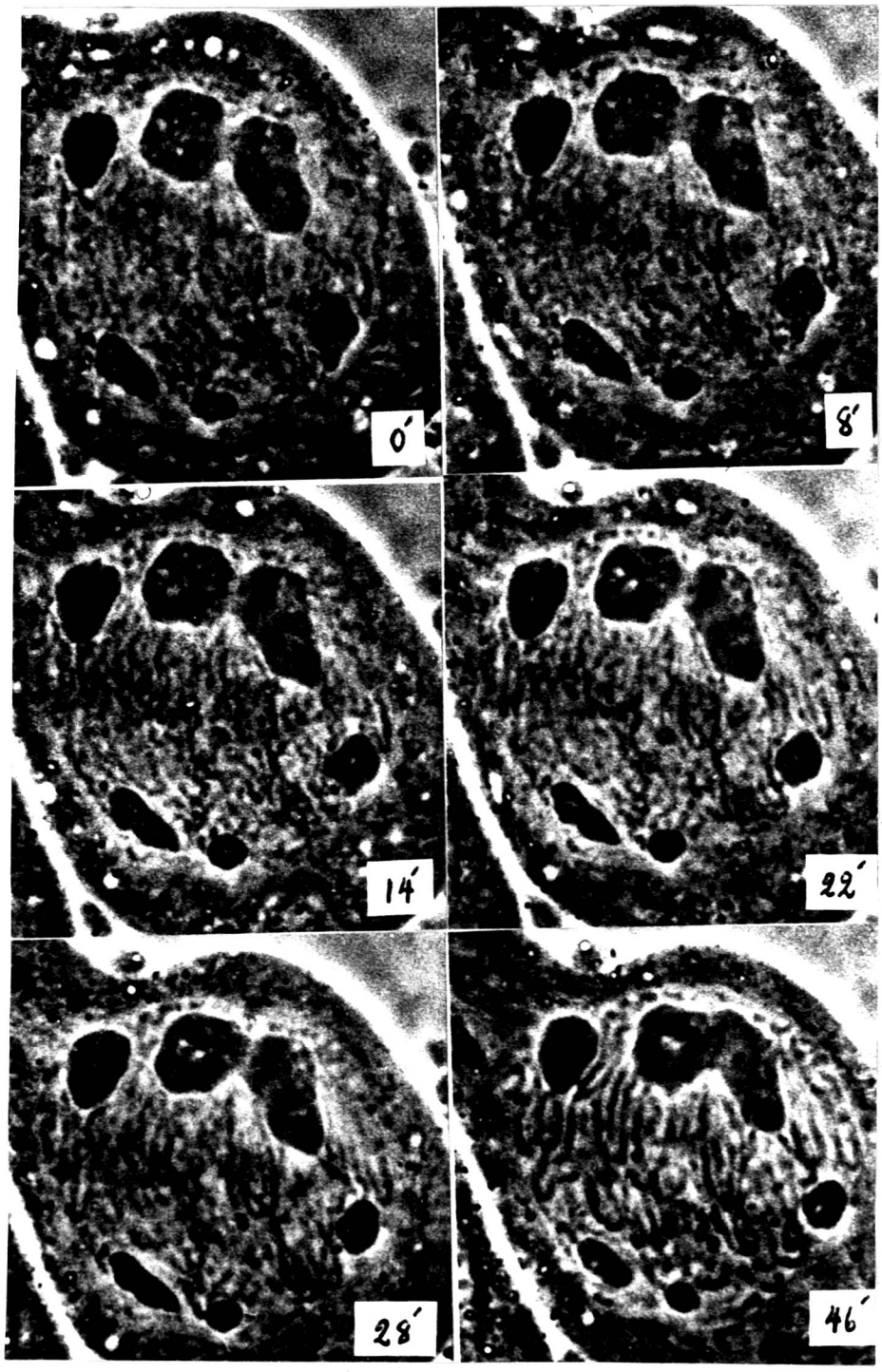
ระยะต่างๆของ mitotic stage ของเซลล์ในฟิล์มภาพยนต์จากการวิเคราะห์จาก Cine-micrograph ได้ดังนี้

Table I Duration of Mitotic Stages in Endosperm Cell - Zephyranthes

Cell No.	Contrac-tion stage (min.)	Metaki-nesis and Meta-phase (min.)	Chro. Sep. to Cell plate (min.)	Cell plate to Nu-cleolus (min.)	Ana-phase to Telo-phase (min.)	Meta-kine-sis to Telo-phase (min.)	Contrac-tion stage to Telophase (min.)
No.5		25.30	6.30	20.0	26.30	52.0	
No.6		29.30	17.30	23	40.30	70.0	
No.7			7.0	10.30	17.30		
No.8	6.30	42.30	11.0	19.0	30.0	72.30	79.0
No.10			12.0	16.30	28.30		
No.11	16.0	33.30	13.30	6.0	19.30	53.0	69.0
No.13			15.0	9.0	24.0		

เซลล์อื่นที่ไม่ได้ทำการวัดหาระยะต่างๆเนื่องจากมีความผิดปกติเกิดขึ้นมาก การวัดอาจผิดผลาดได้โดยง่าย

พฤติการณ์ต่างๆที่เกิดขึ้นของแต่ละเซลล์ที่มีไมโตซิสเป็นไปดังนี้



รูปที่ ๘ เซลล์ No.3 ขยาย ๑๐๑๘ เท่า

เซลล์ No.3

เซลล์นี้แสดงระยะ prophase ในฟิล์มภาพยนต์ ลักษณะเซลล์ยาวรี cytoplasm ยืดขยายออกไปทางด้านหนึ่ง การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เป็นไปอย่างเชื่องช้า ลักษณะพิเศษที่แสดงให้เห็นคือการเกิด clear zone ที่ยืดขยายออกมีลักษณะคล้าย polar cap ทั้งสองด้านซึ่งปรากฏในระยะ late prophase - contraction stage ทั้งนี้อาจจะเนื่องจาก mechanical condition ของเซลล์ประกอบด้วย การละลายของนิวคลีโอลัสเป็นไปอย่างเชื่องช้า หยุดถ่ายในขณะเกิด contraction ของโครโมโซม ตัวอย่างแสดงใน micrograph (รูปที่๘)

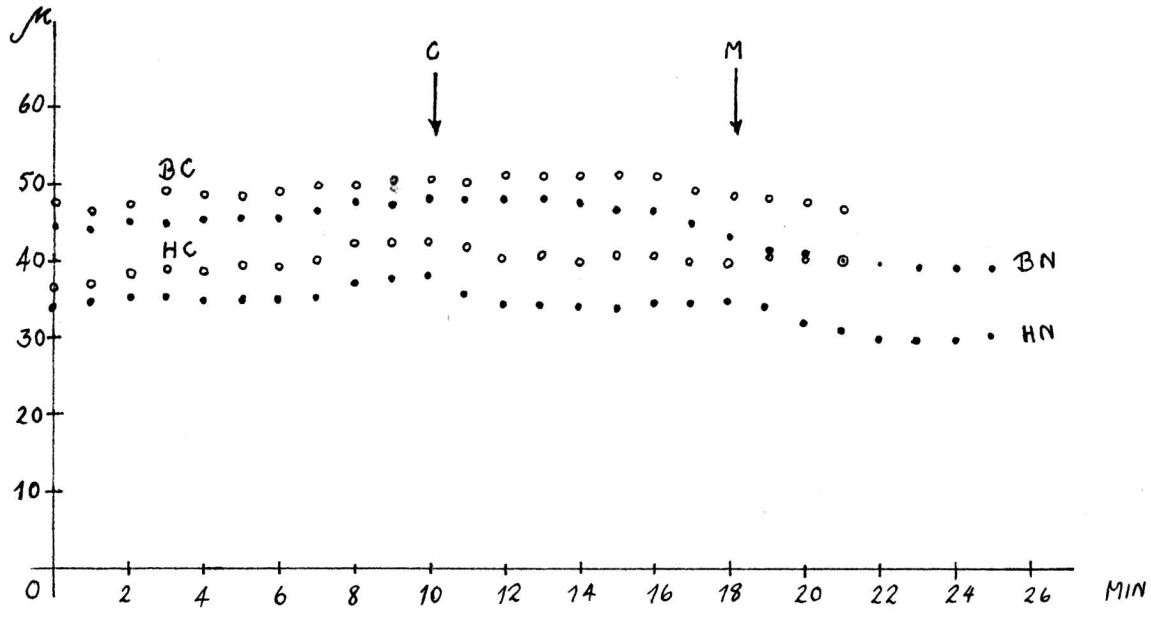
เซลล์ No.4

เซลล์นี้ถ่ายจากระยะ midprophase ถึง metaphase ระยะเวลาที่หาได้จากกราฟคือระยะ contraction stage ซึ่งกินเวลา ๘ นาที

เซลล์นี้แบบราบไปตาม medium ที่เลี้ยง เห็น clear zone ที่เกิดขึ้นเป็นวงค่อนข้างกว้างและมีขอบเขตชัดเจนจึงทำการวัดหาการเกิดของ clear zone ประกอบด้วยจาก Table II และกราฟ (รูปที่ ๑๐) แสดงให้เห็นว่า clear zone เกิดขึ้นรอบๆนิวเคลียสและขยายใหญ่ออกไปเป็นวงกว้าง ในนาทีที่ ๘ ซึ่ง nuclear membrane ละลายแล้วโดยสังเกตุจากการเคลื่อนไหวของปลายโครโมโซมและโครโมโซมที่อยู่กลางนิวเคลียส จาก micrograph ในนาทีที่ ๗,๘,๙,จะเห็นว่า nuclear membrane นี้ละลายในเวลาอันรวดเร็วมากประมาณ ๑ นาที จากกราฟเมื่อ nuclear membrane ละลายแล้วบริมาตรของ clear zone จะเพิ่มขึ้น เมื่อบริมาตรของ clear zone มากที่สุดก็เกิด contraction ของโครโมโซม

หลังจาก nuclear membrane ละลายเริ่มเห็นการละลายของนิวคลีโอลัสเช่นกันในนาทีที่ ๘ การละลายนี้เป็นไปเพียงเล็กน้อย ในนาทีที่ ๑๑ ซึ่งโครโมโซมเริ่ม contract แล้วจึงเห็นการละลายของนิวคลีโอลัสชัดเจน แต่ไม่เกิด maximun dissolvtion ให้เห็นโดยนิวคลีโอลัสจะค่อยๆละลายไปแล้วหลุดออกจากโครโมโซมสู่ clear space ในนาทีที่ที่ ๒๐ ในขณะนี้ลักษณะของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปโดยการลดขนาดลง นิวคลีโอลัสที่อยู่ใน clear space นี้จะค่อยๆละลายเรื่อยไปพร้อมๆกับการจัดเรียงตัวกันของ kinetochore

0′
7′
8′
9′
11′
18′
20′
36′
75′



รูปที่ ๑๐ Contraction stage, Metakinesis and Clear zone Formation in Cell No.4

กราฟนี้ได้จากการวัดความสูงของนิวเคลียสและ clear zone ที่ตั้งฉากกับ metaphase plane (HN, HC) ความกว้างของนิวเคลียสและ clear zone ตาม metaphase plane (BN,BC) ต่อระยะเวลา ลูกศร C และ M หมายถึงเวลาที่เริ่ม contraction stage และ metakinesis ตามลำดับในนาทีที่ ๘ ซึ่ง nuclear membrane ละลายจะเห็นว่าบริมาตรของ clear zone เพิ่มขึ้น เมื่อบริมาตรของ clear zone สูงสุดในนาทีที่ ๑๐ เกิด contraction ของโครโมโซม ในระยะ metakinesis ความสูงของกลุ่มโครโมโซมลดลง เนื่องจากโครโมโซมเดินทางไปที่ metaphase plate.

เพื่อสร้าง metaphase plate

Metakinesis เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๑๘ การถ่ายภาพยนต์หยุดในนาทีที่ ๗๕ โดย kinetochore ยังไม่แยกออกจากกันและยังมี traces ของนิวคลีโอลัสเหลืออยู่ ในเซลล์นี้ระยะ metakinesis และ metaphase จึงกินเวลานานมาก

Table II Measurement of Nucleus and Clear Zone in Cell No.4

Time	Height		Breadth		Time	Height		Breadth	
	Nucleus	Clear Zone	Nucleus	Clear Zone		Nucleus	Clear Zone	Nucleus	Clear Zone
min.	μ	μ	μ	μ	min.	μ	μ	μ	μ
0	34.41	37.20	44.64	47.43	13	33.94	40.92	47.43	51.15
1	34.41	37.20	44.64	46.50	14	32.55	39.99	47.43	51.15
2	34.87	38.13	45.57	47.43	15	33.48	40.92	46.50	51.15
3	35.34	39.53	45.11	49.29	16	34.41	40.92	46.50	51.15
4	34.41	39.06	45.57	48.36	17	34.41	39.99	44.64	49.29
5	34.41	39.99	45.57	48.36	18	34.41	39.99	43.71	48.36
6	34.88	39.99	45.57	49.29	19	33.48	40.92	41.85	48.36
7	35.34	40.92	46.50	50.22	20	31.62	39.99	41.85	47.43
8	36.27	42.78	47.43	50.22	21	30.69	39.99	39.99	46.50
9	37.20	42.78	47.43	50.22	22	29.76		39.06	
10	38.13	42.78	48.36	51.15	23	29.76		39.06	
11	35.34	41.85	47.43	50.69	24	29.76		39.06	
12	33.95	40.92	47.43	51.15	25	30.69		39.06	

เซลล์ No.5

เซลล์นี้เริ่มถ่ายเมื่อเข้าระยะ contraction stage แล้วด้วยอัตราเร็ว ๖ ภาพต่อนาที ระยะเวลาของ mitotic cycle ที่ได้จึงเริ่มจาก metakinesis จนกระทั่งถึง telophase ระยะเวลาตาม Table I นิวคลีโอลัสละลายหมดเมื่อเซลล์มี contraction มากที่สุด ระยะ metakinesis นี้เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๓ จากกราฟ (รูปที่ ๑๒)

Mitotic process ของเซลล์นี้เป็นปกติแม้ว่าเซลล์จะแบนราบไปตาม medium ที่เลี้ยงมาก การแยกของโครโมโซมเกิดขึ้นในนาทีที่ ๒๘.๓๐ การเคลื่อนที่ของโครโมโซมค่อนข้างพร้อมเพรียงและสม่ำเสมอกัน

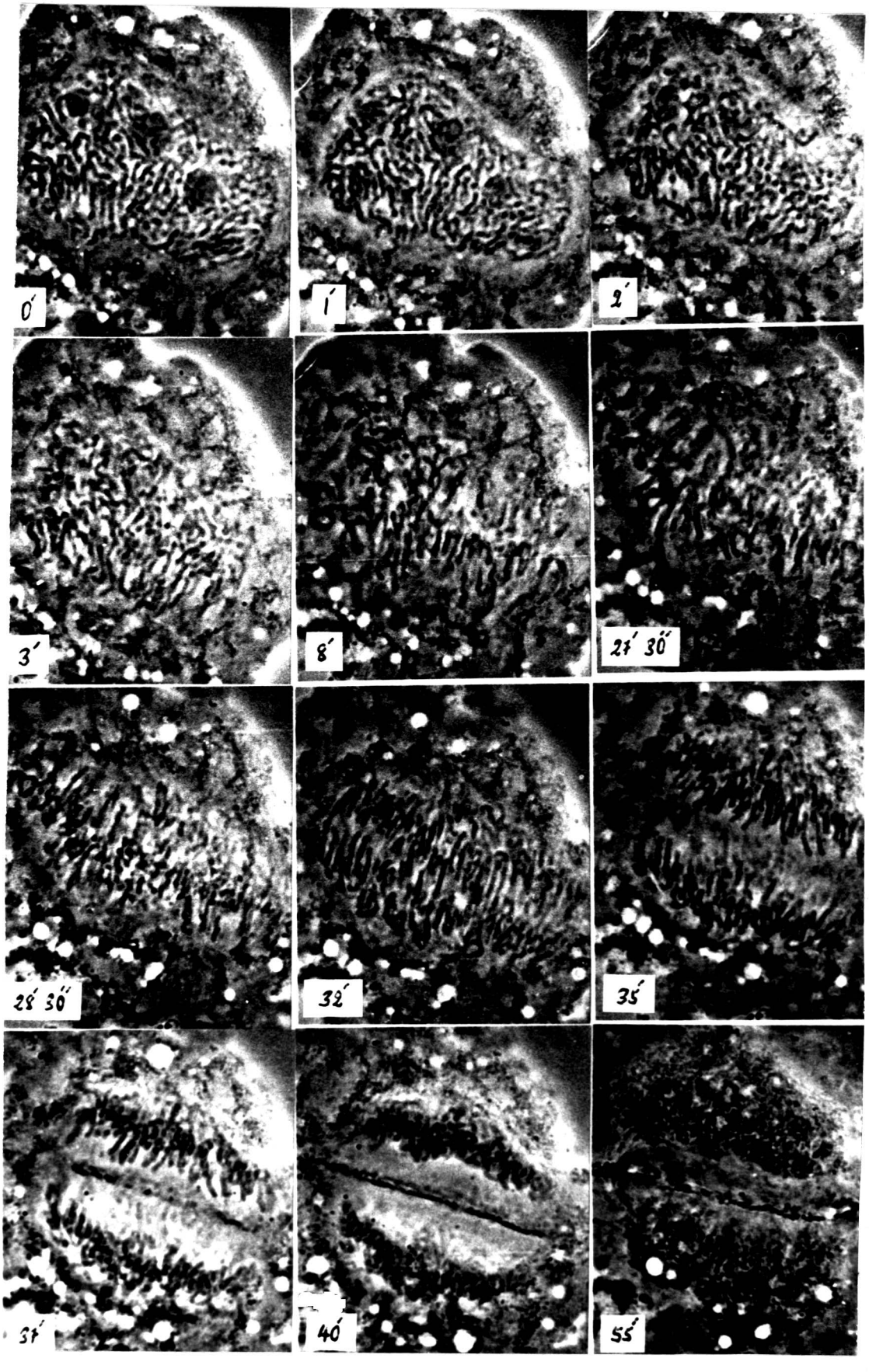
Cell plate เกิดขึ้นในนาทีที่ ๓๕ พร้อมกันตลอดความกว้างของ spindle แต่อัตราการเกิดตอนริมของ spindle จะเร็วกว่าตอนกลาง หลังจากตัดผ่าน spindle หมดจึงเกิดขยายต่อไปจนจดขอบเซลล์ นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๕๕ Mitotic process ของเซลล์นี้เมื่อนับจากระยะ metakinesis มาจนกระทั่งถึง telophase กินเวลาทั้งหมด ๓๒ นาที

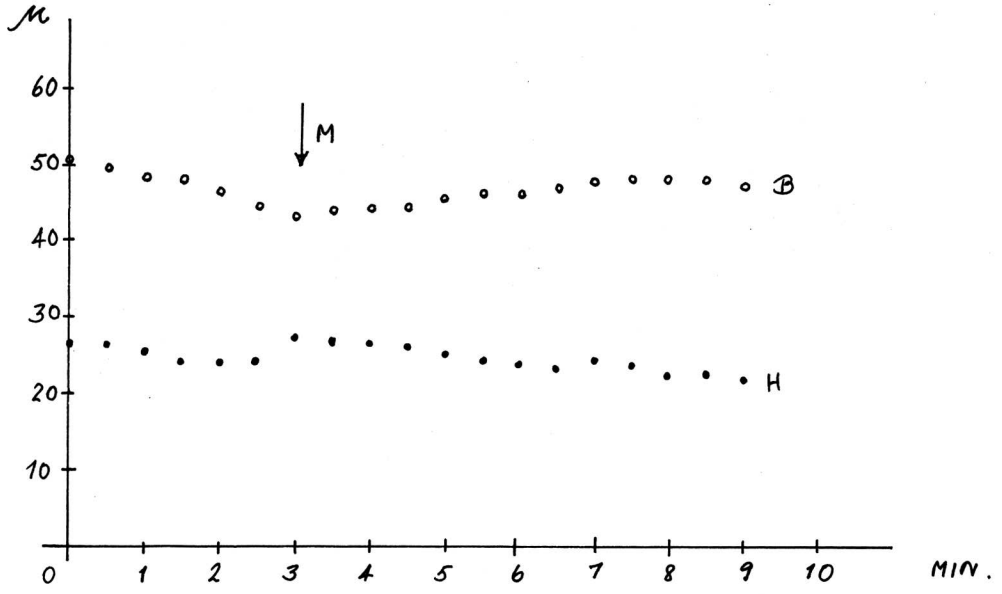
Table III Measurement of Height and Breadth of Nucleus in Cell No.5

Time	Height	Breadth	Time	Height	Breadth
min.	μ	μ	min.	μ	μ
0	26.04	50.69	5	25.11	46.04
0.30	26.32	49.76	5.30	24.18	46.50
1.0	25.11	48.36	6.0	24.18	46.78
1.30	24.18	48.36	6.30	23.25	47.43
2.0	24.18	46.97	7.0	24.18	48.36
2.30	24.65	44.64	7.30	23.25	48.36
3.0	27.90	43.71	8.0	22.32	48.36
3.30	26.97	44.64	8.30	22.32	48.36
4.o	26.97	44.64	9.0	21.39	47.86
4.30	26.04	44.64			

i 17099286

รูปที่ ๑๑ เซลล์ No.5 ขยาย ๘๙๔ เท่า


0′
1′
2′
3′
8′
21′ 30″
28′ 30″
32′
35′
37′
40′
55′



รูปที่ ๑๒ Metakinesis in Cell No.5

กราฟนี้แสดงความสูงของกลุ่มโครโมโซมที่ตั้งฉากกับ metaphase plane (H) และความกว้างของกลุ่มโครโมโซมตาม metaphase plane (B) ต่อระยะเวลา เซลล์นี้เริ่มการวัดในระยะ contraction stage กลุ่มโครโมโซมถูกกดเข้ามารวมกัน กระจายออกแล้วเริ่มเคลื่อนไป สู่ metaphase plate ทันที ระยะ metakinesis เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๓ ตามลูกศร M

เซลล์ No.6

เซลล์นี้เริ่มถ่ายขณะอยู่ในระยะ contraction โครโมโซมรวมเป็นกลุ่มอยู่ตรงกลาง กระจายออกแล้วเข้าสู่ระยะ metakinesis จากการวัดบริมาตรของกลุ่มโครโมโซมที่ได้ ระยะ metakinesis เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๕ จากกราฟ (รูปที่ ๑๔)

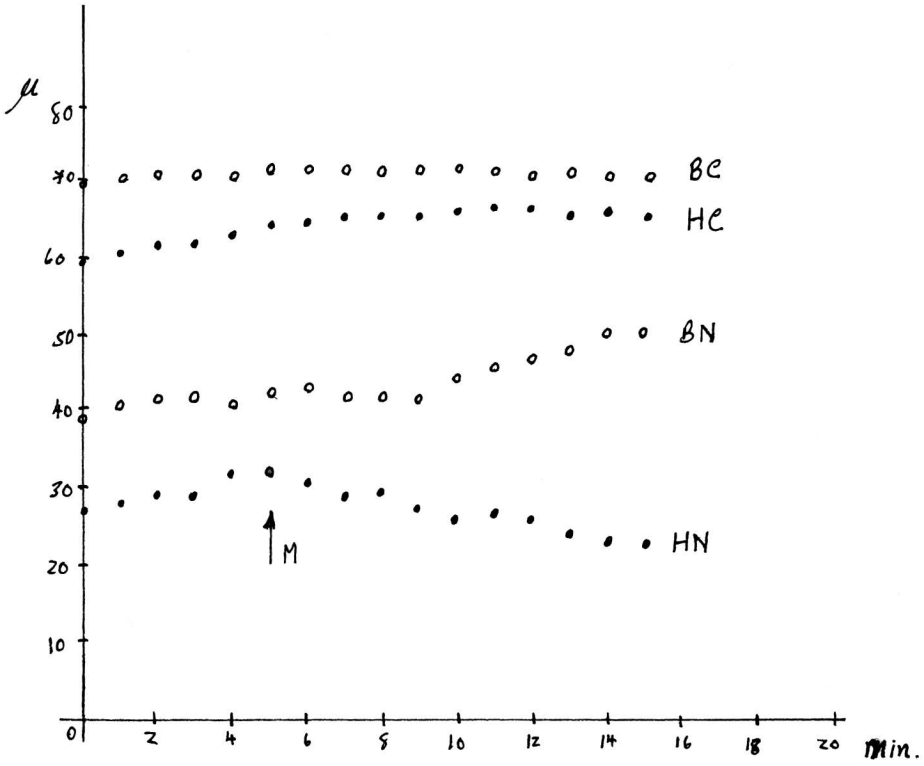
ในระยะ contraction นี้นิวคลีโอลัสละลายไม่หมด ออกมาอยู่ใน cytoplasm แล้วค่อยๆละลายหายไปหมดในนาทีที่ ๑๑ ซึ่งเป็นขณะที่ kinetochore กำลังจัดเรียงตัวสร้าง metaphase plate Metaphase plate ที่ได้ไม่อยู่ในแนวเส้นตรงเป็นรูปโค้งตามความกว้างของเซลล์

ในนาทีที่ ๓๔.๓๐ kinetochore เริ่มแยกออกจากกัน หลังจากการแยกแล้วการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่พร้อมเพรียงกัน Kinetochore ที่แยกออกก่อนจะเคลื่อนที่ล่วงหน้าไปก่อน มีลักษณะคล้ายกับเกิด chromosome bridge ขึ้นในนาทีที่ ๕๑ แต่ไม่ปรากฏชัดในนาทีที่ติดกัน Cell plate เกิดขึ้นในนาทีที่ ๕๒ ระยะเวลาตั้งแต่โครโมโซมเริ่มแยกจนกระทั่งเกิด cell plate จึงกินเวลา ๑๗.๓๐ นาทีซึ่งเป็นเวลาที่นานมากเมื่อเทียบกับเซลล์อื่นๆ Cell plate นี้จะเกิดจากริมด้านหนึ่งของ spindle ไปยังอีกด้านหนึ่ง เมื่อเกิดจนถึงกลาง spindle cell plate ที่ริมอีกด้านหนึ่งจึงเกิดขึ้นแล้วมาบรรจบกันตรงกลาง ในเซลล์นี้ cell plate ไม่เกิดขึ้นตลอดจดริมเซลล์

นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๗๕ ระยะเวลาตั้งแต่เกิด cell plate จนกระทั่งจบ tolophase จึงกินเวลา ๒๓ นาที เมื่อรวมระยะ anaphase และ telophase จึงเป็นเวลา ๔๐.๓๐ นาที ระยะต่างๆของ mitotic process ของเซลล์นี้นับจาก metakinesis จนถึง telophase จึงกินเวลา ๗๐ นาที

รูปที่ ๑๓ เซลล์ No.6 ขยาย ๔๐๐ เท่า

0′
5′
11′
31′
34′ 30″
38′
44′
51′
52′
60′
75′
82′



รูปที่ ๑๔ Metakinesis in Cell No.6

แสดงระยะ metakinesis จากการวัดความสูงของกลุ่มโครโมโซมและเซลล์ (HN,HC)และความกว้างของกลุ่มโครโมโซมและเซลล์(BN,BC) ต่อระยะเวลา เซลล์นี้เริ่มถ่ายขณะอยู่ในระยะ contraction stage ระยะ metakinesis เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๘ ในการจัดเรียงตัวของ kinetochore ที่ metaphase plate นี้ kinetochore พยายามที่จะจัดเรียงตัวอยู่ในแนวเดียวกันทำให้ ความกว้างของ metaphase plate ขยายออกจาก micrograph ของ รูปที่ ๑๓ จะเห็นว่า metaphase plate ขยายออกจนเกือบจดขอบเซลล์

Table IV Measurement of Height and Breadth of Nucleus and Cell in Cell No.6

	Nucleus			Cell	
Time min.	Height μ	Breadth μ	Time min.	Height μ	Breadth μ
0	26.51	38.60	0	59.52	69.75
1	27.90	40.46	1	60.45	70.03
2	28.83	41 39	2	61.66	70.68
3	28.83	41.85	3	61.38	70.68
4	31.62	40.92	4	63.25	70.68
5	31.62	40.04	5	64.17	71.15
6	30.69	42.78	6	64.17	71.61
7	28.83	41.85	7	65.10	71.15
8	29.76	41.85	8	65.10	71.15
9	26.97	41.85	9	65.10	70.68
10	25.58	44.18	10	66.03	71.61
11	26.03	45.57	11	66.50	71.15
12	25.11	46.50	12	65.57	70.68
13	23.25	47.43	13	65.10	71.61
14	22.32	50.22	14	65.10	70.68
15	22.32	50.22	15	65.38	70.68

เซลล์ No.7

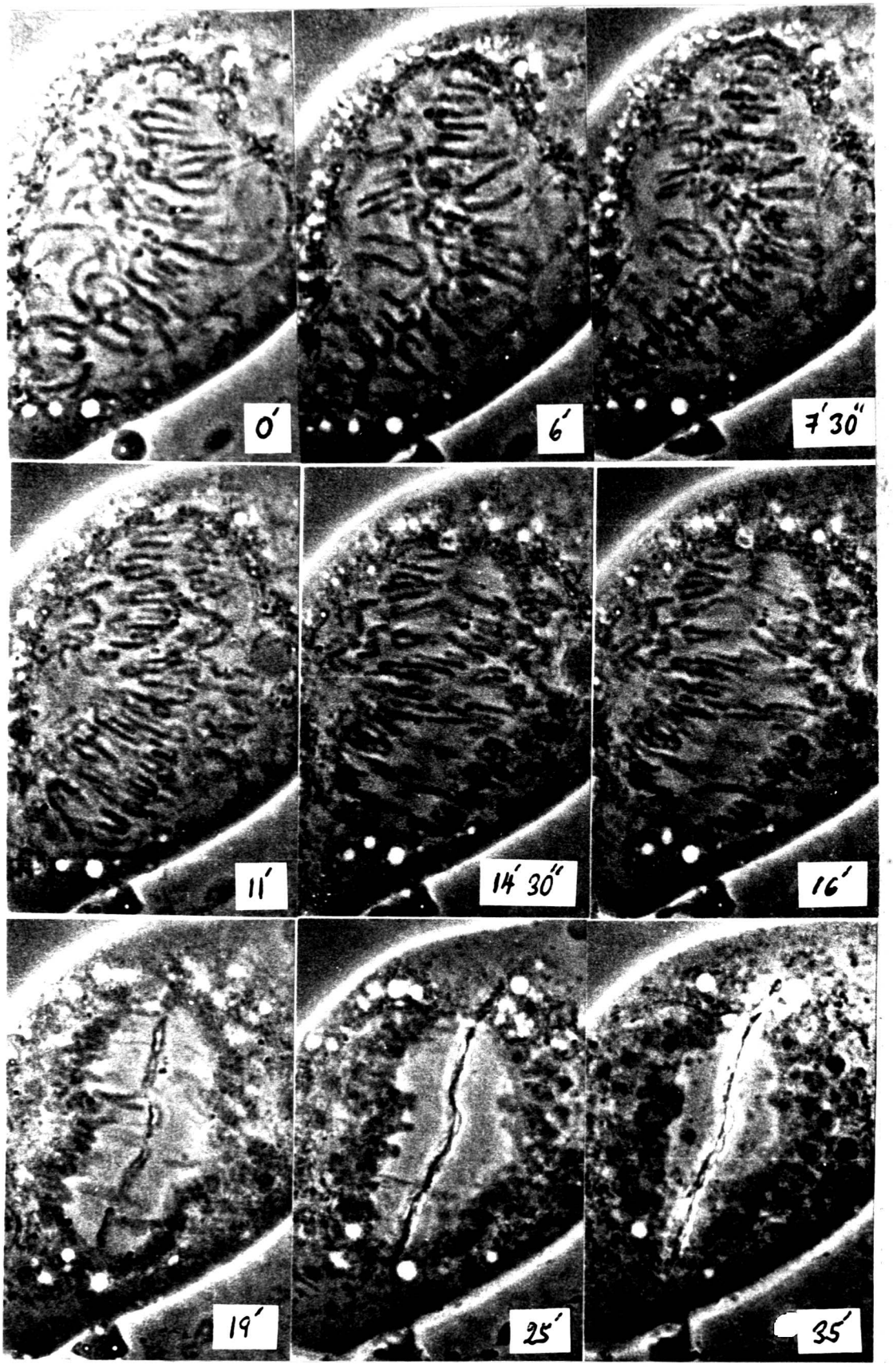
เซลล์นี้เริ่มถ่ายขณะอยู่ในระยะ metakinesis หรือ metaphase Kinetochore กำลังจัดเรียงตัวที่ metaphase plate เพื่อให้สมดุล เห็น clear zone ที่เกิดรอบโครโมโซมชัดเจน ตามขอบของ clear zone มี cellular organelle คล้ายกับ mitochondria อยู่เป็นจำนวนมาก

ไมโตซิสของเซลล์นี้เป็นปกติ ระยะเวลาของ mitotic cycle ตามเวลาใน Table I Metaphase plate ที่ได้นี้ไม่เป็นเส้นตรง Kinetochore เริ่มแยกออกจากกันในนาทีที่ ๗.๓๐ หลังจากแยกออกจากกันแล้วการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่เป็นไปโดยพร้อมเพรียงและสม่ำเสมอกัน ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับลักษณะของ metaphase plate ด้วยที่ทำให้ระยะทางระหว่าง plate และขั้วทั้งสองไม่เท่ากัน แต่บางโครโมโซมก็เคลื่อนที่ช้ามากเห็นได้ชัดเจนในนาทีที่ ๑๗,๑๙และ ๒๑ ในนาทีที่ ๒๑ โครโมโซมที่เคลื่อนไปก่อนเปลี่ยนแปลงลักษณะเพื่อกลับคืนเป็น interphase nuclei แล้ว โครโมโซมนี้จึงเดินทางไปถึงแล้วเข้ารวมกลุ่มกับโครโมโซมอื่นตามปกติ เมื่อโครโมโซมเคลื่อนห่างจากกันบ้างเล็กน้อยในระยะmid anaphase เห็นนิวคลีโอลัสเกิดขึ้นใน clear zone ที่บริเวณขั้วเซลล์ นิวคลีโอลัสนี้เกิดขึ้นเรื่อยๆเป็นก้อนโตในระยะ late anaphase เมื่อโครโมโซมเคลื่อนมาถึงขั้วนิวคลีโอลัสนี้จะเคลื่อนออกไปทางบริเวณริมเซลล์ ในระยะ telophase เกิดนิวคลีโอลัสขึ้นอีกหลายอันในบริเวณ cytoplasm นิวคลีโอลัสนี้มีการเคลื่อนที่หรือละลายหายไปได้

ในระยะ late anaphase เกิด cell plate ขึ้นในนาทีที่ ๑๔.๓๐ ระยะเวลานับจากโครโมโซมแยกจนเกิด cell plate นี้ ๗ นาทีจึงประมาณเท่ากับเซลล์ No.5 นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๒๕ เมื่อนับเวลาจากการที่โครโมโซมเริ่มแยกจนกระทั่งหมด telophase จึงกินเวลา ๑๗.๓๐ นาที Mitotic process ของเซลล์นี้จึงเร็วกว่าเซลล์อื่นๆมาก

Cell plate เกิดขึ้นตลอดความกว้างของ spindle Daughter nuclei ที่ได้มีขนาดไม่เท่ากัน ลักษณะนี้คล้ายกับเกิด unequal distribution ของโครโมโซม แต่มองไม่เห็นจาก micrograph

รูปที่ ๑๕ เซลล์ No.7 ขยาย ๑๐๓๖ เท่า


0′
6′
7′ 30″
11′
14′ 30″
16′
19′
25′
35′

เซลล์ No.8

เซลล์นี้เริ่มถ่ายจากระยะ late prophase ถึง telophase จนเกิด nuclear membrane ขึ้นใหม่ ระยะเวลาของ mitotic cycle ดังแสดงไว้ใน Table I

ในระยะ prophase จาก micrograph ไม่เห็นการเคลื่อนไหวของโครโมโซม ในนาทีที่ ๔ จะเริ่มเห็นการเคลื่อนไหวของโครโมโซมขึ้นจากโครโมโซมที่อยู่กลางนิวเคลียส และอีกโครโมโซมหนึ่งที่อยู่ตอนริม โครโมโซมทั้งสองมีการเคลื่อนไหวเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งเกิด contraction ขึ้นในนาทีที่ ๗ หลักฐานเหล่านี้จึงเป็นเครื่องแสดงว่า nuclear membrane ละลายหมดไปในนาทีที่ ๔ นี้ ในนาทีที่ ๔ จากกราฟ (รูปที่ ๑๗) จะเห็นว่าบริมาตรของนิวเคลียสมากที่สุด

การละลายของนิวคลีโอลีสเห็นว่าเกิดขึ้นในระยะ contraction โดยเริ่มเห็นการละลายในนาทีที่ ๑๐ นิวเคลียสหดตัวอย่างรวดเร็วมีขนาดเล็กที่สุดในนาทีที่ ๑๑ ในนาทีนี้จะเห็นว่านิวคลีโอลัสเกิด maximum dissolvtion ละลายไปอย่างรวดเร็ว ระยะ contraction กินเวลาทั้งหมด ๖.๓๐ นาที แรงกดที่กระทำมาบนนิวเคลียสนี้มาจากทางขั้วของเซลล์

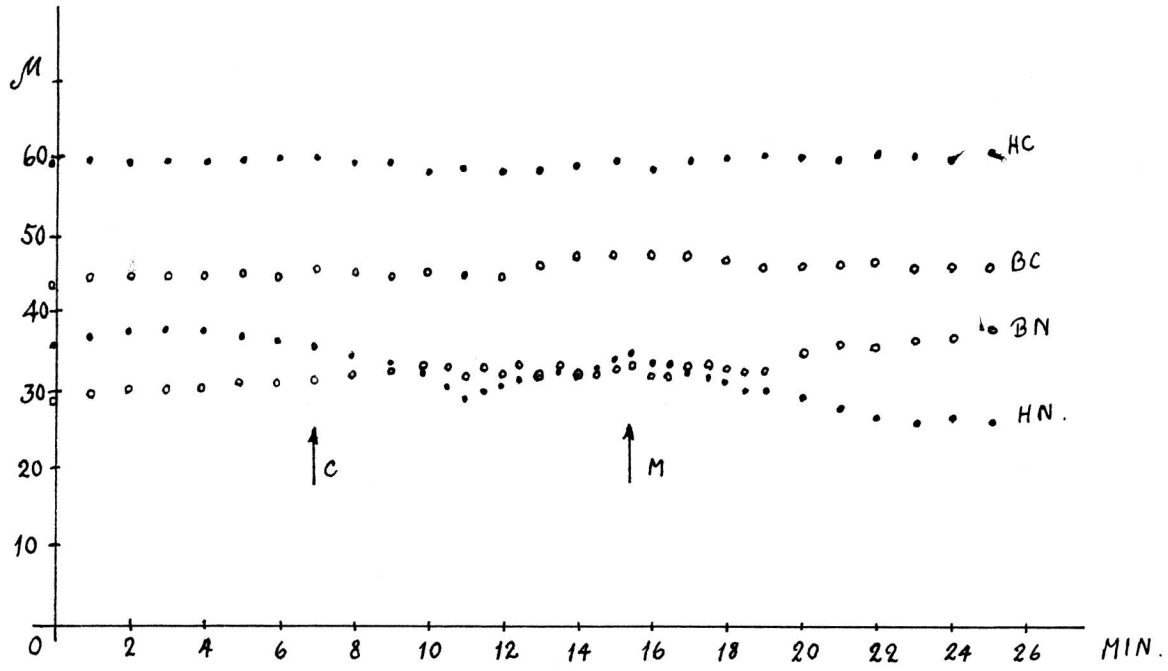
ระยะ metakinesis และ metaphase เริ่มจากโครโมโซมที่เคลื่อนมาทางขั้วเดินทางไปยังกลาง spindle เพื่อสร้าง metaphase plate ความสูงของนิวเคลียสที่วัดได้จะเล็กลง ในขณะเดียวกันความกว้างจะเพิ่มขึ้นจากการจัดเรียงตัวกันของ kinetochore ที่ metaphase plate จากกราฟเห็นได้ว่าระยะนี้เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๑๕.๓๐

ในระยะนี้ก่อนที่โครโมโซมจะแยกออกจากกันเกิด long stability ของ metaphase plate หลังจากที่ kinetochore มาเรียงตัวกันเรียบร้อยแล้วที่ metaphase plate เป็นเวลานานจึงเกิดการแยกของโครโมโซม ในระหว่างนี้มีการเคลื่อนไหวของ kinetochore อยู่ตลอดเวลาทำให้ metaphase plate ผิดไปจากเดิม บางโครโมโซมเคลื่อนออกมานอก metaphase plate เล็กน้อย(รูปที่ ๓๐)

หลังจากการแยกของ kinetochore ในนาทีที่ ๕๘ การเคลื่อนที่ของโครโมโซมเป็นไปเกือบพร้อมเพรียงกัน Cell plate เกิดขึ้นในระยะ late anaphase ใน

รูปที่ ๑๖ เซลล์ No.8 ขยาย ๘๘๔ เท่า

0′
4′
7′
10′
11′
14′
15′ 30″
28′
58′
60′ 30″
69′
88′



รูปที่ ๑๗ Contraction stage and Metakinesis in Cell No.8

วัดความสูงของนิวเคลียสและเซลล์ (HN, HC) ความกว้างของนิวเคลียส และเซลล์ (BN, BC) ต่อระยะเวลาเช่นเดียวกับเซลล์ No.6 (รูปที่ ๑๔) ลูกศร C และ M แสดงถึงเวลาที่เริ่มเกิด contraction stage และ metakinesis ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าบริมาตรของเซลล์มิได้เปลี่ยนไปตาม contraction ของกลุ่มโครโมโซมที่เกิดขึ้น

Table V Measurement of Height and Breadth in Cell No.8

Time	Nucleus		Cell		Time	Nucleus		Cell	
	Height	Breadth	Height	Breadth		Height	Breadth	Height	Breadth
min.	μ	μ	μ	μ	min.	μ	μ	μ	μ
0	37.20	29.76	59.99	44.64	14	32.55	32.55	59.80	48.36
1	37.20	30.23	60.45	45.11	14.30	33.02	33.48	60.45	48.36
2	38.13	30.23	60.45	45.20	15	34.40	33.95	60.45	47.90
3	38.13	30.69	60.45	45.38	15.30	35.34	33.48	60.45	47.90
4	38.13	30.69	60.45	45.46	16	33.48	32.55	59.99	48.36
5	37.67	31.62	40.45	45.76	16.30	33.48	32.55	60.64	47.43
6	37.06	31.62	60.83	45.76	17	32.55	33.48	60.62	48.83
7	36.76	31.62	60.64	46.04	17.30	32.55	34.46	60.45	48.36
8	35.34	32.55	60.26	45.85	18	31.62	33.48	60.45	47.43
9	34.43	33.48	60.64	45,11	18.30	30.69	33.48	60.92	47.43
10	32.55	33.48	59.52	46.04	19	30.69	33.48	60.92	46.94
10.30	30.69	33.48	59.99	46.50	20	29.76	35.34	60.45	46.97
11	29.76	32.55	59.99	45.57	21	27.90	36.27	60.45	46.50
11.30	30.83	33.96	59.99	46.50	22	26.97	36.27	60.92	47.43
12	31.16	32.55	59.99	45.57	23	26.97	37.20	60.92	46.50
12.30	31.62	33.95	59.52	47.43	24	26.96	37.20	60.45	46.50
13	32.55	32.55	59.80	47.43	25	25.11	38.13	61.38	46.97
13.30	32.55	33.02	59.52	48.36					

นาทีที่ ๖๙ การเกิด cell plate นี้เกิดขึ้นพร้อมๆกันตลอดความกว้างของ spindle หลังจากเกิดขึ้นจนเต็มแล้วจึงขยายออกไปจนจดขอบเซลล์ เมื่อโครโมโซมเคลื่อนมาถึงขั้ว ก็จะหยุดแล้วกลับคืนตัวในสภาพของ interphase nuclei นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๘๘

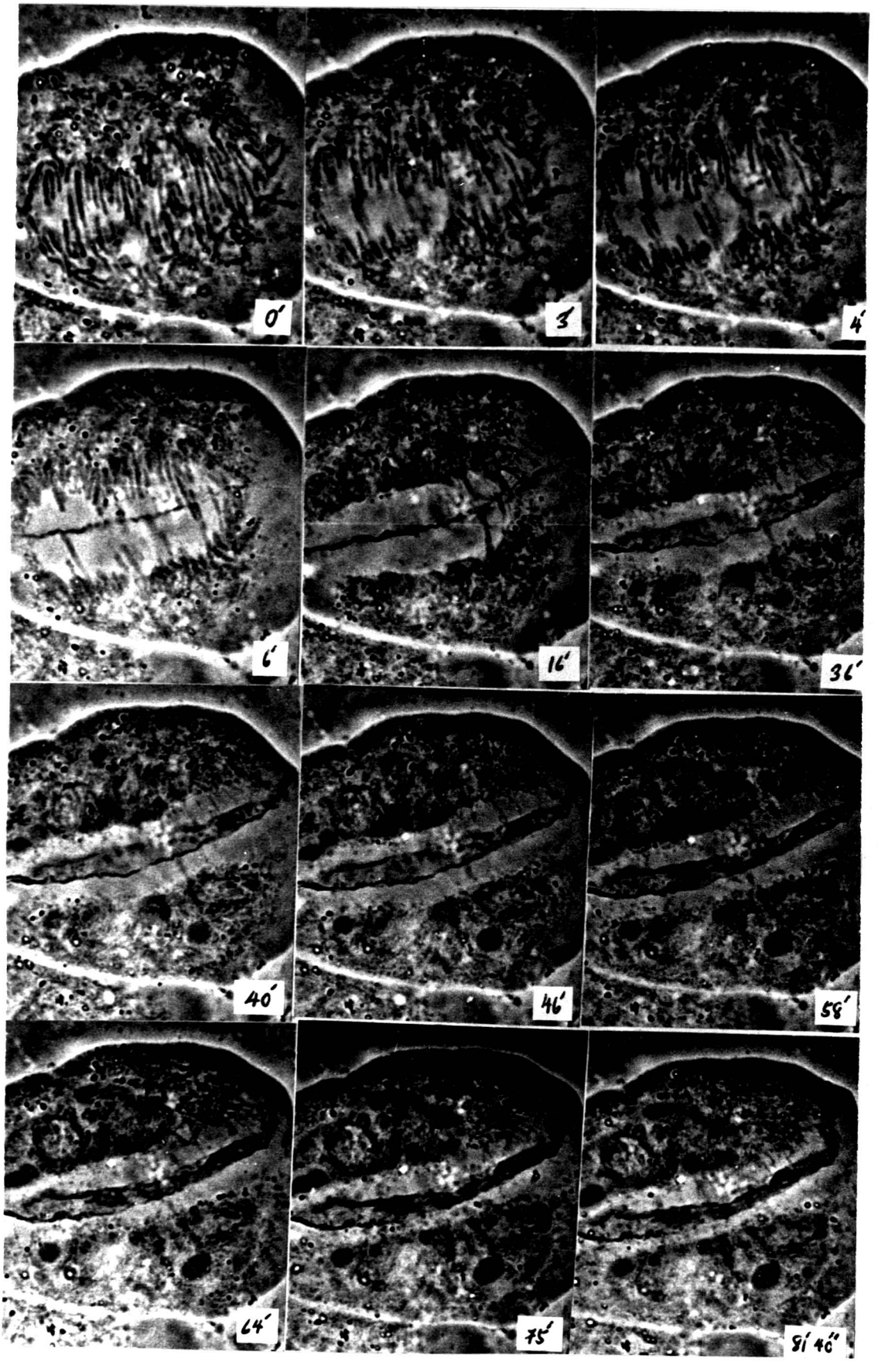
ระยะเวลาของ mitotic cycle ในเซลล์นี้เริ่มจาก contraction stage จนจบ telophase เป็นเวลา ๘๑ นาที เมื่อนับจากระยะ metakinesis ไปกินเวลา ๗๒.๓๐ นาที

Clear zone ที่เกิดขึ้นในระยะ prophase ไม่ได้ทำการวัดเนื่องจากเกิดขึ้นเป็นวงที่แคบมากไม่แยกจากนิวเคลียสชัดเจน การวัดจึงอาจผิดจากความจริงได้โดยง่าย

<u>เซลล์ No.9</u>

เซลล์นี้ถ่ายด้วยอัตราเร็ว ๖ ภาพต่อนาที เห็นการเคลื่อนไหวของโครโมโซมเป็นไปโดยรวดเร็วในฟิล์มภาพยนต์ เริ่มถ่ายจากระยะ mid anaphase ถึง telophase จนเกิด nuclear membrane ขึ้นใหม่ การเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่พร้อมเพรียง เกิด chromosome bridge เซลล์นี้แสดงการเกิด cell plate และ daughter nuclei ได้ชัดเจนดี

รูปที่ ๑๘ เซลล์ No.9 ขยาย ๘๕๔ เท่า


0'
3'
4'
6'
16'
36'
40'
46'
58'
64'
75'
81' 40"

เซลล์ No.10

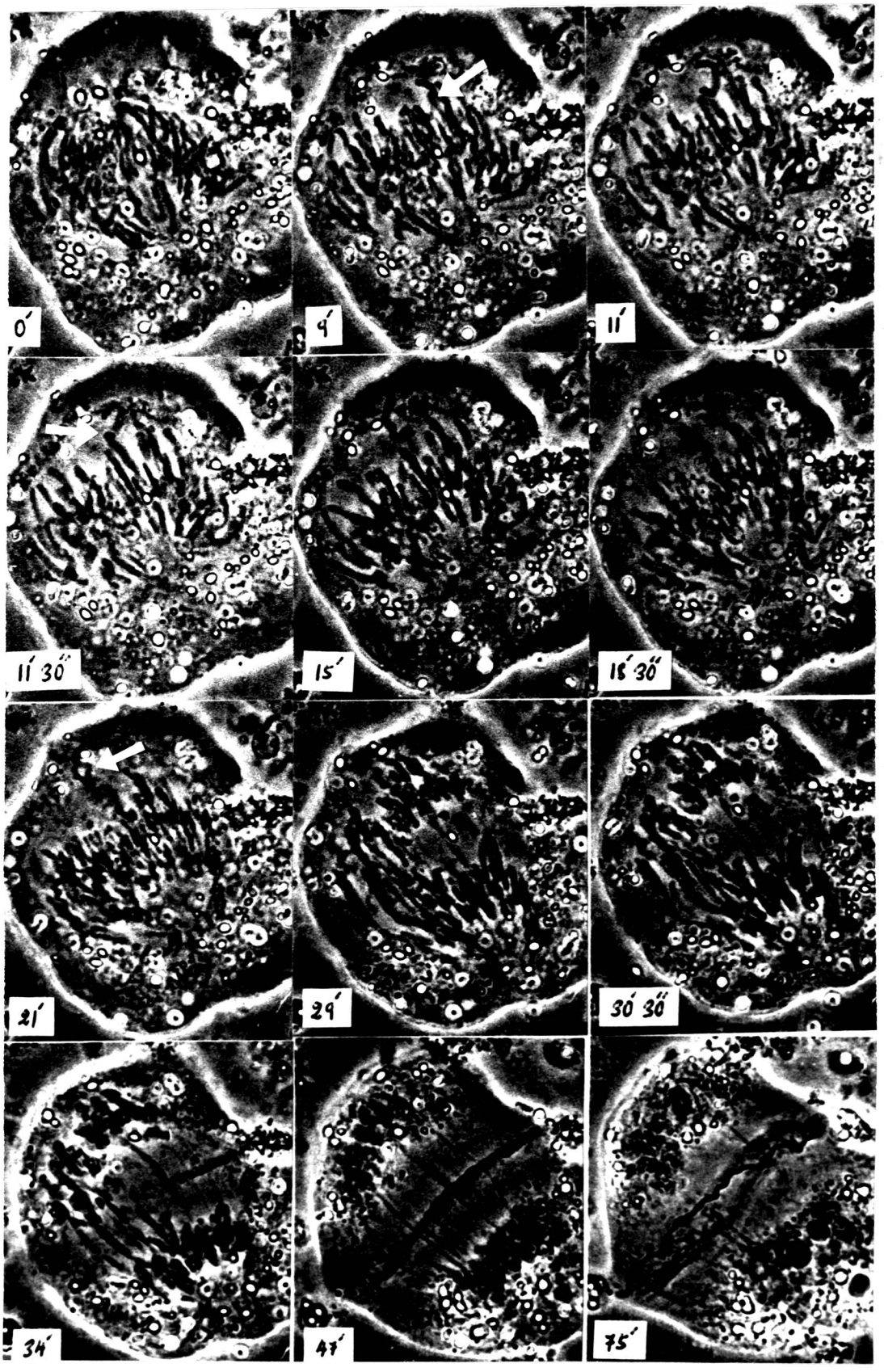
เริ่มถ่ายเมื่อเข้าสู่ระยะ metakinesis แล้ว ลักษณะเซลล์แบนราบไปตาม medium ที่เลี้ยง มีการแบ่งที่ผิดปกติเกิดขึ้นมาก ระยะเวลาต่างๆของการแบ่งตาม Table I

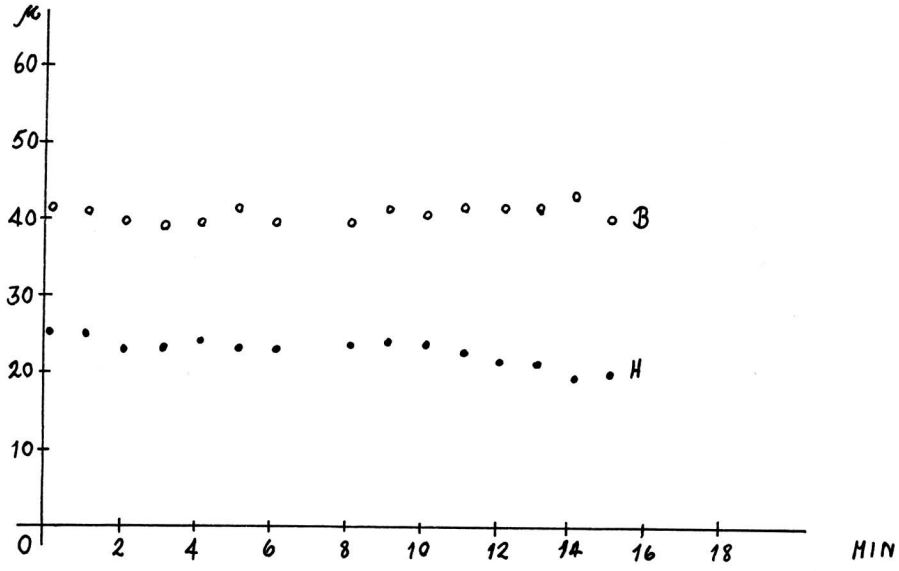
ในระยะ metakinesis ขณะที่ kinetochore จัดเรียงตัวกันที่ metaphase plate ในนาทีที่ ๙ ทางด้านหนึ่งของเซลล์จะเห็นโครโมโซมหนึ่งเคลื่อนออกมาจากกลุ่ม แล้วเดินทางไปยังขั้วของเซลล์ ในขณะที่เคลื่อนออกมาพ้นกลุ่มโครโมโซมนี้จาก micrograph ในนาทีที่ ๑๑.๓๐ ปลายของโครโมโซมไปต่อกับปลายของอีกโครโมโซมหนึ่งแล้วดึงเอาโครโมโซมนั้นติดตามออกไปด้วย โครโมโซมทั้งสองเคลื่อนที่ไปยังขั้วของเซลล์แล้วไปหยุดอยู่ตรงขอบของ clear zone หรือ spindle ขณะเดียวกันจากอีกด้านหนึ่งของเซลล์มีโครโมโซมอีกคู่หนึ่งเคลื่อนที่ออกจาก metaphase plate ไปยังขั้วเช่นเดียวกัน

Anaphase เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๑๘.๓๐ การแยกของ kinetochore ของโครโมโซมที่ขั้วและที่ metaphase plate เป็นไปเกือบพร้อมๆกัน โครโมโซมที่ขั้วหลังจากแยกออกจากกันแล้วก็ไม่เคลื่อนไหวหยุดอยู่ที่เดิม การแยกกันของกลุ่มโครโมโซมที่ metaphase plate นี้ไม่พร้อมเพรียงและสม่ำเสมอกัน โครโมโซมที่อยู่ตรงขอบนอกจะเดินทางออกไปก่อนติดตามด้วยโครโมโซมที่อยู่ตรงกลาง ในระยะ late anaphase เห็นโครโมโซมหนึ่งเริ่มเคลื่อนออกจาก metaphase plate ไปยังขั้วของเซลล์ ในนาทีที่ ๓๐.๓๐ เริ่มเห็น cell plate เกิดขึ้นโดยเกิดจากขอบของ spindle ด้านที่ไม่มี chromosome bridge Cell plate นี้เกิดจากทั้งสองด้านของ spindle แต่ด้านที่ไม่มี chromosome bridge เกิดขึ้นได้เร็วกว่า หลังจากโครโมโซมขาดออกจากกันเกือบหมดแล้ว cell plate จึงเกิดขึ้นจดกันเต็มความกว้างของ spindle แล้วจึงเกิดต่อไปจนจดขอบเซลล์ ระยะเวลาหลังจากการแยกของโครโมโซมจนกระทั่งเกิด cell plate กินเวลา ๑๒ นาที

กลุ่มโครโมโซมที่แยกออกจากกันแล้วเคลื่อนที่ไปยังขั้วนี้จะรวมกับโครโมโซมที่เคลื่อนออกไปก่อนในระยะ metakinesis รวมกันเป็นนิวเคลียสใหม่ นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๔๗ เมื่อนับจากเวลาที่โครโมโซมเริ่มแยกจนจบ telophase จึงกินเวลา ๒๘.๓๐ นาที

รูปที่ ๑๙ เซลล์ No.10 ขยาย ๘๔๔ เท่า
ลูกศรชี้แสดงถึงพฤติการณ์ของโครโมโซมตามที่บรรยายไว้


0′
9′
11′
11′ 30″
15′
18′ 30″
21′
29′
30′ 30″
34′
47′
75′



รูปที่ ๒๐ Metakinesis in Cell No.10

เซลล์นี้เริ่มถ่ายเมื่อเข้าระยะ metakinesis แล้ว ความสูงของกลุ่มโครโมโซม (H) จะค่อย ๆ ลดลงเรื่อย ๆ จากการเคลื่อนย้ายของโครโมโซมไปที่ metaphase plate ความกว้างของกลุ่มโครโมโซม(B) ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

Table VI Measurement of Height and Breadth of Nucleus in Cell No.10

Time min.	Height μ	Breadth μ	Time min.	Height μ	Breadth μ
0	26.04	41.85	9	23.25	41.39
1	25.56	40.92	9.30	22.79	41.85
2	23.25	39.99	10	23.72	40.92
3	23.25	39.06	11	22.32	41.85
4	24.18	39.99	11.30	21.39	41.85
5	23.25	41.85	12	21.86	41.85
6	23.25	39.99	13	21.39	42.78
8	23.72	39.99	14	19.53	42.78
8.30	23.25	40.92	15	19.99	39.99

เซลล์ No.11

เซลล์นี้เริ่มถ่ายจากระยะ prophase ถึง telophase ไมโตซิสที่เกิดขึ้นมีการแบ่งที่ผิดปกติเห็นชัดเจน ลักษณะเซลล์ยาวนิวเคลียสมีลักษณะยาวรีตามรูปเซลล์ Clear zone ที่เกิดขึ้นมีขอบเขตชัดเจนแต่เป็นวงแคบมากจึงไม่ได้วัดการเกิดของ clear zone ประกอบด้วย ระยะเวลาของ mitotic cycle ตามเวลาใน Table I

จากกราฟ (รูปที่ ๒๒) เซลล์นี้เข้าสู่ระยะ contraction ในนาทีที่ ๕ ระยะนี้กินเวลา ๑๖ นาที Contraction เกิดขึ้นทีละน้อยและเป็นระยะเวลานานไม่มี maximun contraction ให้เห็นชัดเจนเหมือนเซลล์ No.8 Contraction นี้เกิดจากทางขั้วของเซลล์ จาก micrograph จะเห็นการหดตัวของกลุ่มโครโมโซมมาจากทางขั้วได้ชัดเจน หลังจากหมดแรงกดการกระจายของโครโมโซมเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย

การละลายของนิวคลีโอลัสเริ่มเห็นได้ชัดเจนในนาทีที่ ๑๓.๒๐ นิวคลีโอลัสนี้ละลายไม่หมดหลุดออกจากโครโมโซมสู่ cytoplasm ในนาทีที่ ๒๒.๓๐ ก่อนเข้าระยะ metakinesis แล้วละลายหมดไปใน cytoplasm ในนาทีที่ ๓๖ ก่อนเริ่ม anaphase ในระยะ mid anaphase เห็นนิวคลีโอลัสปรากฏขึ้นอีกใน cytoplasm แล้วเคลื่อนมารวมกันเป็นอันเดียว

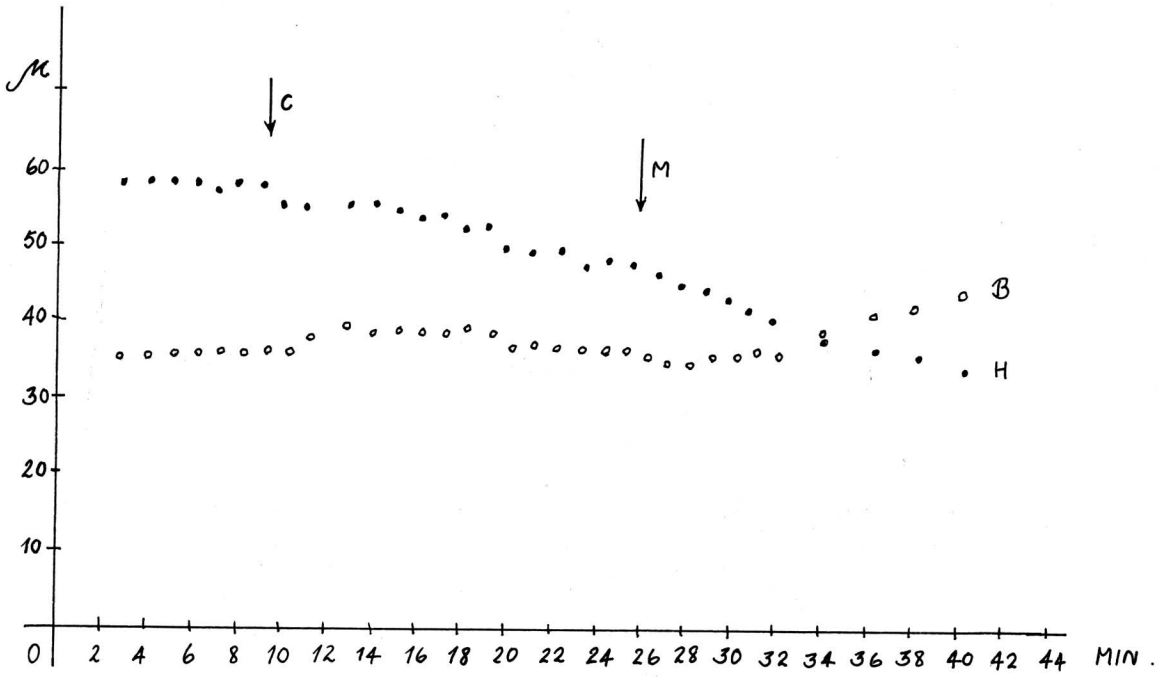
การเรียงตัวกันของ kinetochore ที่ metaphase plate นี้มีบางโครโมโซมอยู่นอก metaphase plate Kinetochore แยกออกจากกันในนาทีที่ ๕๘.๓๐ การแยกกันของ kinetochore ไม่พร้อมกัน Kinetochore จากริมด้านหนึ่งของเซลล์จะแยกออกก่อนทำให้การเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่พร้อมกัน ในระยะ late anaphase เห็น chromosome bridge เกิดขึ้นมาก

Cell plate เริ่มปรากฏขึ้นในนาทีที่ ๗๒ จากริมของ spindle ทั้งสองข้างแล้วค่อยๆเกิดเรื่อยมาตรงกลาง อัตราการเกิดทางริมด้านที่มี chromosome bridge น้อยจะเร็วกว่าทางด้านที่มี chromosome bridge มาก Cell plate เกิดขึ้นตัดผ่าน chromosome bridge จนกระทั่งจดกัน Chromosome bridge ขาดออกจากกันเมื่อ cell plate ตัดผ่านแต่ยังเห็นเส้นใยบางๆโยงกันอยู่ เส้นใยเหล่านี้จะค่อยๆละลายหายไป ระยะเวลานับจากโครโมโซมเริ่มแยกจนกระทั่งเกิด cell plate เป็นเวลา ๑๓.๓๐ นาที

นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๗๘ ในขณะที่ยังมีโครโมโซม bridge เหลืออยู่และโครโมโซมที่เคลื่อนที่ช้าบางอันยังไม่เข้าไปรวมกลุ่ม ระยะเวลานับจากเริ่มเกิด cell plate จนกระทั่งเกิดนิวคลีโอลัสเป็นเวลา ๖ นาที ระยะที่เกิดนิวคลีโอลัสนี้จึงยังไม่ใช่เครื่องแสดงว่าจบ telophase ที่แท้จริง โครโมโซมที่เคลื่อนช้านี้เข้ารวมกลุ่มกับ daughter nuclei หมดในนาทีที่ ๑๐๖.๓๐

รูปที่ ๒๑ เซลล์ No.11 ขยาย ๗๔๐ เท่า

3′
9′
15′15″
15′20″
19′
22′30″
25′
36′
52′
58′30″
59′30″
68′
72′
78′
87′
106′30″



รูปที่ ๒๒ Contraction stage and metakinesis in Cell No.11

วัดความสูงและความกว้างของนิวเคลียสหรือกลุ่มโครโมโซม(H, B)ต่อระยะเวลา ลูกศร C และ M หมายถึงเวลาที่เริ่มเกิด contraction stage และ metakinesis ตามลำดับcontraction เริ่มขึ้นในนาทีที่ ๙ เป็นระยะเวลานาน แรงกดจะค่อย ๆ กระทำมาทางขั้วเซลล์ในนาทีที่ ๒๔ จึงเริ่มเข้าสู่ระยะ metakinesis

Table VII Measurement of Height and Breadth of Nucleus in Cell No.11

Time min.	Height μ	Breadth μ	Time min.	Height μ	Breadth μ
3	57.66	35.34	20	49.29	36.27
4	57.66	35.34	21	49.29	36.27
5	56.73	35.34	22	49.29	36.27
6	57.66	35.34	22.30	46.50	36.27
7	56.73	35.34	23	46.50	35.34
8	57.66	35.34	23.30	46.50	35.34
9	57.19	35.34	24	47.43	35.34
10	54.87	35.81	25	47.43	35.34
11	54.87	37.66	25.30	45.57	35.34
13	54.87	39.06	26	45.57	35.34
13.15	54.87	38.87	27	44.64	34.41
13.20	54.88	39.06	28	43.71	34.41
13.30	54.88	39.06	29	42.78	35.34
14	54.87	38.83	30	40.92	35.34
15	53.94	38.13	31	39.99	36.27
16	52.08	38.13	32	39.06	35.34
16.30	52.54	38.56	34	38.13	37.20
17	53.01	38.13	36	36.27	40.92
17.30	52.08	38.13	38	35.34	40.92
18	51.15	38.13	40	33.48	43.71
19	51.15	38.13	42	33.48	45.57

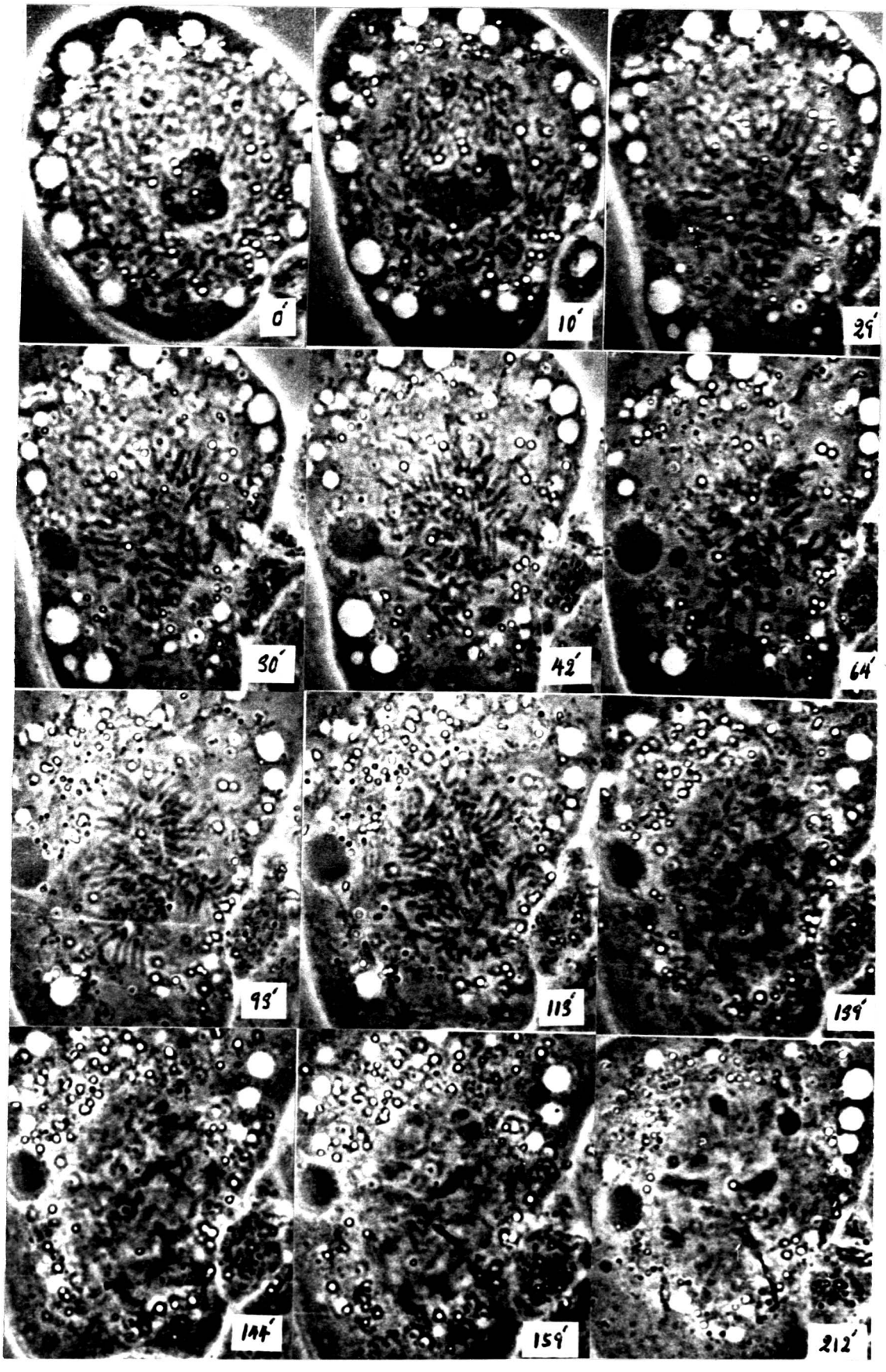
เซลล์ No.12

เซลล์นี้เริ่มถ่ายจากระยะ late prophase มีการแบ่งที่ผิดปกติเกิดขึ้นมาก เนื่องจากการถ่ายทำไม่ชัดเจนจึงมิได้วัดการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสเช่นเซลล์อื่นๆ ในระยะเริ่มแรกเซลล์มีลักษณะกลม นิวเคลียสก็มีลักษณะกลมตามรูปเซลล์ ในขณะที่ทำการแบ่งรูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปด้วยโดยการแผ่ขยายออกไปทางขั้วเพิ่มความยาวของเซลล์มากขึ้น แต่นิวเคลียสยังคงลักษณะเดิม เซลล์แบนราบลงกว่าเดิม

ระยะ prophase เมื่อเริ่มการถ่ายทำเกิด vacuole ขึ้นใน cytoplasm รอบนิวเคลียสเป็นจำนวนมาก ในนิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสใหญ่หนึ่งอันและเล็กหนึ่งอัน ในนาทีที่ ๑๐ เริ่มเห็นการละลายของนิวคลีโอลัสซึ่งในเวลานี้ควรจะใกล้เคียงกับ contraction stage นิวคลีโอลัสนี้ค่อยๆละลายหายไปทีละน้อยแล้วเคลื่อนออกไปสู่ cytoplasm ในนาทีที่ ๒๔ นิวคลีโอลัสจะค่อยๆหลุดออกไปรวมกันเป็นก้อนโตใน cytoplasm และคงอยู่ตลอดระยะเวลาของการแบ่ง

Contraction ของโครโมโซมสังเกตเห็นได้ชัดเจนในขณะที่นิวคลีโอลัสในนิวเคลียสกำลังละลาย กลุ่มโครโมโซมที่เกิด contraction นี้ครั้งแรกจะมีลักษณะกลมแล้วเป็นรูปยาวรีขึ้นเป็นลำดับไปทางขั้วของเซลล์ ถัดจากนาทีที่ ๓๐ โครโมโซมจะเคลื่อนมาเป็นกลุ่มตรงกลางโดย kinetochore เป็นตัวนำมุ่งเข้าสู่จุดศูนย์กลางอันเดียวกัน ลักษณะนี้ควรจะหมายถึงการเข้าสู่ระยะ metakinesis กลุ่มโครโมโซมจะรวมตัวกันอยู่ในลักษณะนี้จนกระทั่งในนาทีที่ ๔๒ จึงเห็นแนวของ kinetochore เรียงกันผ่านกลางกลุ่มโครโมโซม ลักษณะนี้คล้ายกับว่า kinetochore พยายามจัดเรียงตัวเพื่อสร้าง metaphase plate แต่อาจจะเนื่องจากการแบนราบของเซลล์หรือความผิดปกติอย่างอื่นเกิดขึ้น kinetochore จึงไม่สามารถมาสู่ metaphase plate ได้หมด ในขณะนี้แต่ละโครโมโซมเห็นเป็นสองโครมาติดและบางโครโมโซมที่ metaphase plate เห็นการแยกของ kinetochore การแบ่งในระยะต่อมาไม่เห็นการเคลื่อนที่ของโครโมโซม การแยกกันของโครโมโซมสังเกตุเห็นได้ในนาทีที่ ๙๓ จากลักษณะ metaphase plate ที่กลางกลุ่มโครโมโซมหายไป การเคลื่อนไหวของโครโมโซมเห็นได้เล็กน้อยจากโครโมโซมที่อยู่ตอนริม กลุ่มโครโมโซมนี้จะค่อยๆเปลี่ยนแปลงลักษณะไปเป็น interphase nucleus ในนา

รูปที่ ๒๓ เซลล์ No.12 ขยาย ๘๘๘ เท่า


0'
10'
29'
30'
42'
64'
93'
113'
139'
144'
159'
212'

ที่ที่ ๑๔๔ จะเห็นเส้นลักษณะคล้าย cell plate เกิดขึ้นตรงกลางตัดผ่านกลุ่มโครโมโซม จนกระทั่งมาจดกัน นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๑๓๔ เมื่อจบการถ่ายทำในนาทีที่ ๒๑๒ เห็นได้ชัดว่าเกิดนิวเคลียสใหม่ขึ้นหนึ่งอันติดต่อกันมี cell plate มาตัดกลาง แต่ cell plate นี้อาจจะไม่เกิดขึ้นตลอดความหนาของนิวเคลียส นิวคลีโอลัสของนิวเคลียสใหม่มีเป็นจำนวนมาก

พฤติการณ์ของไมโตซิสในเซลล์อาจอธิบายว่าเนื่องจากเซลล์เกิดการแบนราบในขณะที่มีการแบ่ง ความหนาของเซลล์มีน้อยมากไม่เพียงพอที่จะให้โครโมโซมมาที่ equatorial plate หมด โครโมโซมกระจายกันออกไปจนถึงขั้วเซลล์ซึ่งอาจทำให้การเรียงตัวกันของ spindle เป็นไปได้โดยยาก อย่างไรก็ดีเกิดการแยกของ kinetochore การที่โครโมโซมไม่เคลื่อนที่อาจอธิบายได้โดยกลุ่มโครโมโซมเรียงตัวเต็มไปหมดจนถึงขั้วไม่มีที่ว่างเหลือให้โครโมโซมเคลื่อนที่ได้ การที่เกิด cell plate ขึ้นควรเป็นเครื่องแสดงว่ามีการแยกกันของกลุ่มโครโมโซม แต่ cell plate นี้ไม่เกิดขึ้นตลอดความหนาของนิวเคลียส การแยกกันของโครโมโซมอาจมีเพียงเล็กน้อยบางกลุ่ม และเนื่องจากการถ่ายทำไม่ชัดเจนพอจึงไม่สามารถจะมองเห็นได้ Cell plate ที่เกิดขึ้นนี้ตัดแบ่งนิวเคลียสออกทั้งสองข้างไม่เท่ากัน

<u>เซลล์ No.13</u>

เซลล์นี้เริ่มถ่ายจากระยะ late prophase การแบ่งโครโมโซมแยกออกเป็นสามกลุ่ม tripolar ไม่ได้ทำการวัดหาระยะ contraction เนื่องจากมี metaphase plate เป็นสามมุม การละลายของ nuclear membrane ไม่อาจตัดสินได้แน่นอนจาก micrograph สังเกตเห็นการละลายของนิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาที ที่ ๑๔.๓๐ นิวคลีโอลัสนี้จะค่อยๆละลายหายไปแล้วหลุดออกมาสู่ clear zone ละลายหมดไปในนาทีที่๓๔

หลังจาก contraction ของโครโมโซมจาก micrograph โครโมโซมที่มารวมกลุ่มกันอยู่ตรงกลางจะกระจายออกไปทางสามด้าน การจัดเรียงตัวของ kinetochore ในระยะ metakinesis เกิดเป็นสามแฉกตามการกระจายของโครโมโซม metapgase plate ที่ได้จึงมีลักษณะเป็นสามแฉกคล้ายตัว Y

การแยกของ kinetochore เกิดขึ้นในนาทีที่ ๖๖ ระยะ metakinesis

รูปที่ ๒๔ เซลล์ No.13 ขยาย ๔๐๐ เท่า

0'
14'30"
25'
28'30'
34'
60'
66'
74'
78'
51'
90'
94'

และ metaphase จึงกินเวลานานมาก โครโมโซมเคลื่อนที่แยกออกเป็นสามกลุ่มตาม metaphase plate ที่เกิดขึ้น เนื่องจากมีโครโมโซมเป็นจำนวนมากโครโมโซมที่เคลื่อนที่ที่หลังจึงติดอยู่ตรงกลาง ทำให้โครโมโซมสองกลุ่มเชื่อมต่อกันตามรูปในนาทีที่ ๗๘ ผลการแยกจึงได้สอง daughter nuclei ที่มีขนาดไม่เท่ากัน ในระยะ anaphase เกิด chromosome bridge และมีโครโมโซมบางอันเคลื่อนที่ออกจาก metaphase plate ช้าผิดปกติ

Cell plate เริ่มเกิดขึ้นในนาทีที่ ๘๑ จากริมของ spindle ทั้งสามด้าน แล้วเคลื่อนมาตรงกลางตัดผ่าน chromosome bridge ระยะเวลานับจากการที่โครโมโซมแยกจนกระทั่งเกิด cell plate กินเวลา ๑๕ นาที นิวคลีโอลัสเกิดขึ้นในนาทีที่ ๙๐ ซึ่งในขณะนี้ยังมี chromosome bridge เหลืออยู่ ฉะนั้นถ้านับเวลาที่โครโมโซมเริ่มแยกจนกระทั่งเกิดนิวคลีโอลัสนับรวมกันเป็น ๒๔ นาที

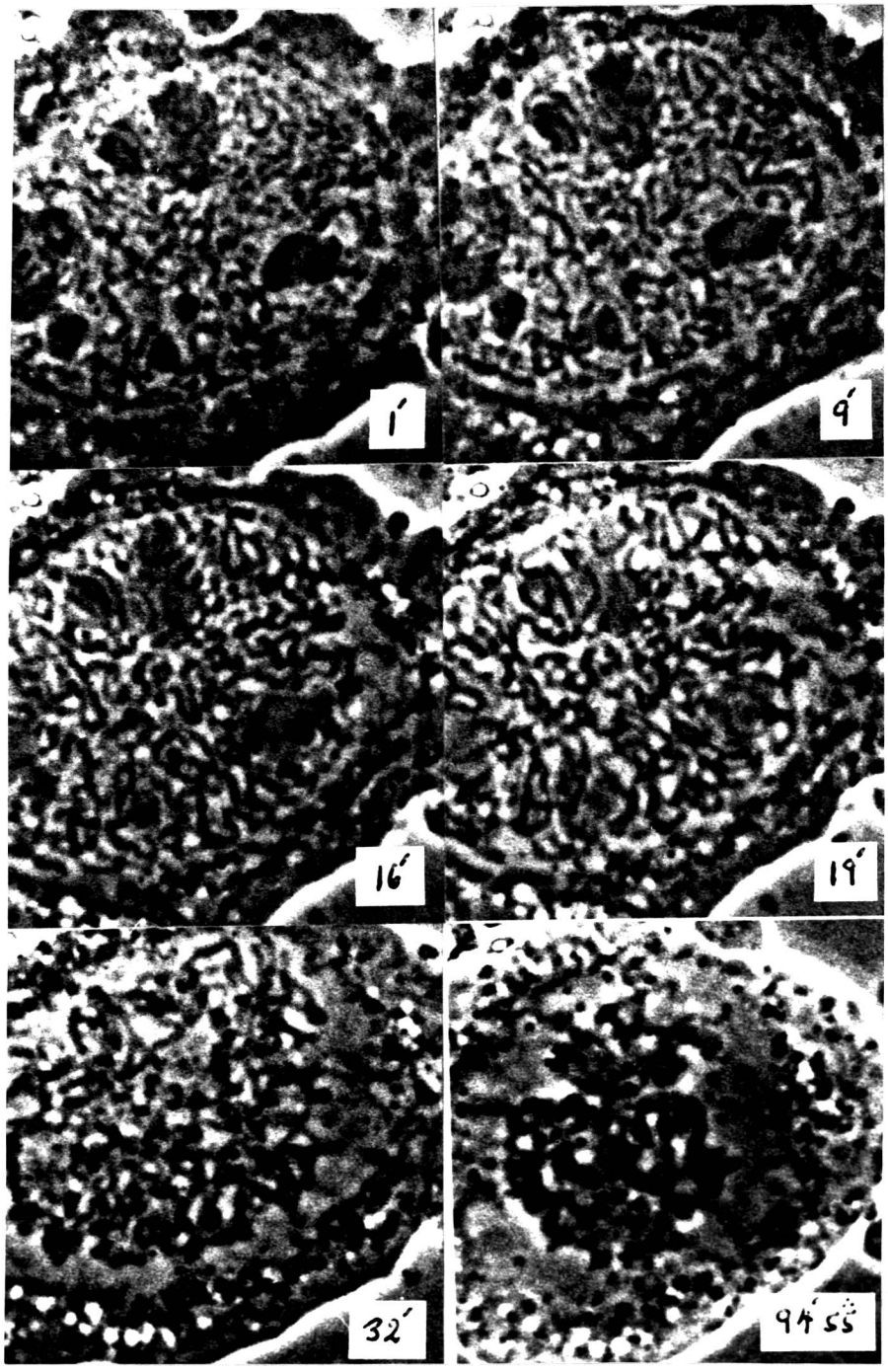
เซลล์ No.14

เซลล์นี้แสดงให้เห็นความผิดปกติแบบหนึ่งของไมโตซิสในขณะที่อยู่บนวุ้นอาหาร เริ่มถ่ายจากระยะ mid prophase ลักษณะเซลล์แบนราบไปตาม medium ที่เลี้ยง ในระยะ late prophase เข้า contraction stage เห็น clear zone ทางด้านหนึ่งมีลักษณะคล้าย polar cap ในขณะที่เกิด contraction นิวคลีโอลัสจะละลายหมดไป โครโมโซมจะมารวมกลุ่มกันอยู่ตรงกลางมากขึ้นทุกที และหยุดอยู่ในลักษณะนี้เป็นเวลานาน ลักษณะของโครโมโซมเปลี่ยนแปลงไปคล้ายกับจะรวมเป็น interphase nucleus ใหม่ ไม่เกิดนิวคลีโอลัสขึ้นและเซลล์ตายในที่สุด

นอกจากเซลล์ที่ถ่ายทำเป็นภาพยนต์ยังมีเซลล์ที่ถ่ายธรรมดาโดยติดตามการแบ่งในระยะเวลาต่างๆกันอีกสองเซลล์ คือ เซลล์ A_4 และ A_5 ทั้งคู่มีการแบ่งที่ผิดปกติ

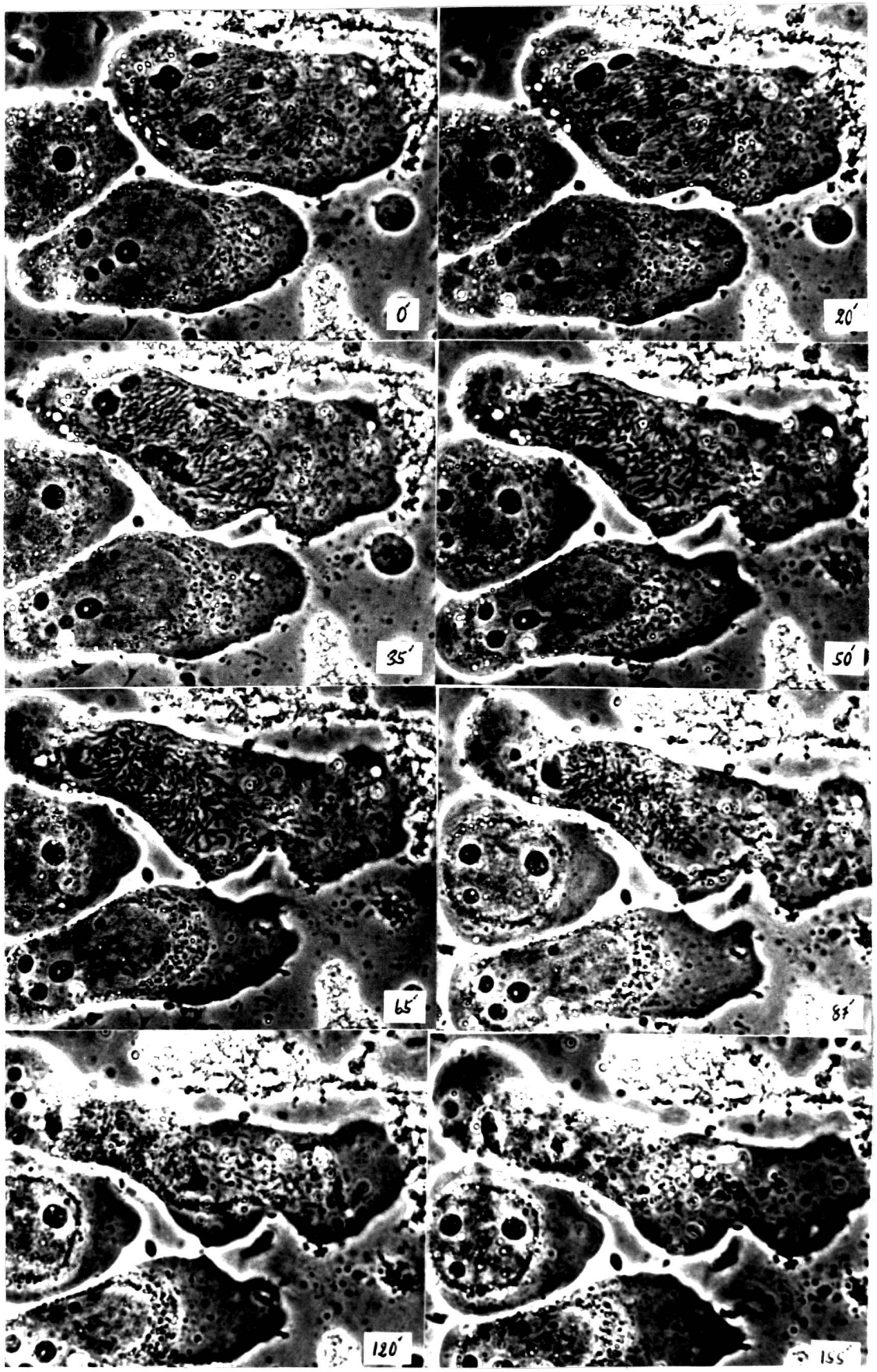
เซลล์ A_4

เริ่มถ่ายจากระยะ early prophase ถึง telophase ในขณะที่มีไมโตซิสนี้ cytoplasm เกิดการยืดขยายออกเซลล์ยาวขึ้น ในระยะ metakinesis นิวคลีโอลัสละลายไม่หมด โครโมโซมรวมกันอยู่ Kinetochore ไม่เรียงกันเป็น metaphase



รูปที่ ๒๕ เซลล์ No. 14 ขยาย ๑๑๑๖ เท่า

รูปที่ ๒๖ เซลล์ A_4 ขยาย ๗๖๕ เท่า


0'
20'
35'
50'
65'
87'
120'
155'

รูปที่ ๒๗ เซลล์ A_5 ขยาย ๑๐๐๑ เท่า

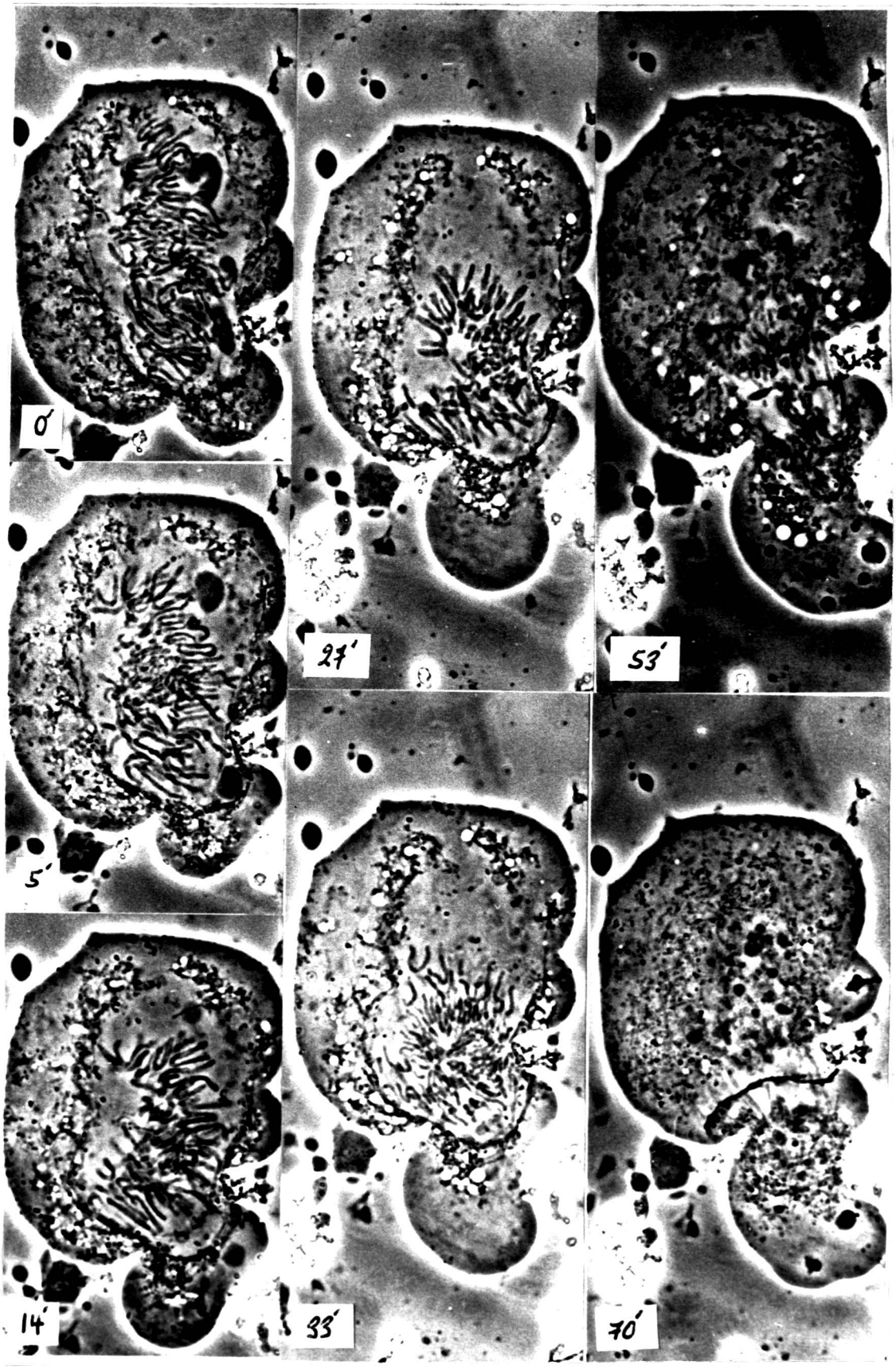

0'
27'
53'
5'
14'
33'
70'

plate เกิดการแยกของ kinetochore แล้วกลายเป็น polyploid

เซลล์ A_5

เริ่มถ่ายจากระยะ contraction stage นิวคลีโอลัสละลายหมดไปในระยะ metakinesis ในขณะที่ kinetochore จัดเรียงตัวกันสร้าง metaphase plate ในระยะนี้เกิดการยืดขยายของ cytoplasm ออกไปทางด้านหนึ่งทำให้ metaphase plate โค้งงอเข้า เมื่อ kinetochore แยกออกจากกันโครโมโซมเคลื่อนไปแต่ละขั้วไม่เท่ากัน จึงได้สอง daughter nuclei ที่มีขนาดไม่เท่ากัน

ไมโตซิสนี้จะปกติหรือไม่ถือเอา equal distribution ของโครโมโซมเป็นเกณฑ์ พฤติการณ์ในการแบ่งแม้ว่าจะแตกต่างจากกันบ้าง เช่น การละลายของนิวคลีโอลัส long stability ของ metaphase plate หรือการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่พร้อมเพรียงกัน แต่ถ้าการแยกนี้ daughter chromosome เคลื่อนออกไปอยู่คนละขั้วของเซลล์เหมือนกัน จำนวนชุดของโครโมโซมทั้งสองด้านเท่ากันก็ถือเป็นไมโตซิสที่ปกติ ไมโตซิสที่ผิดปกติมีพฤติการณ์ที่เกิดขึ้นทำให้เกิด unequal distribution ของโครโมโซม เกิด chromosome bridge, polyploidy,aneuploidy หรือ hypoploidy ทำให้ daughter nuclei ที่ได้เกิด duplication หรือ deficiency ก็ถือเป็นไมโตซิสที่ผิดปกติ

สรุปพฤติการณ์ที่เกิดขึ้นในขณะมีไมโตซิสของ Endosperm เซลล์

Prophase

ระยะนี้กินเวลาเฉลี่ยประมาณ ๒๐ ถึง ๓๐ นาที แต่เนื่องจากไม่ได้เฝ้าสังเกตเซลล์ที่เริ่มเข้าสู่ prophase ได้ตั้งแต่แรกจึงไม่อาจประมาณเวลาที่แน่นอนได้ ในระยะนี้เกิดปรากฏการณ์ต่างๆดังนี้

๑. การหดตัวของโครโมโซม ในระยะ early prophase จะเริ่มเห็นโครโมโซมเป็นเส้นบางๆแล้วค่อยๆหนาขึ้นตามลำดับ โครโมโซมหดตัวสั้นเข้าแต่ยังมีความยาวอยู่มาก เห็นการเคลื่อนไหวของนิวคลีโอลัสเล็กน้อย เมื่อ nuclear membrane ละลายจึงเห็นการเคลื่อนไหวของโครโมโซม นิวเคลียสมีลักษณะตามรูปร่างของเซลล์

๒. การเกิด Clear Zone Clear zone นี้เกิดขึ้นรอบๆนิวเคลียสเริ่มขึ้นในระยะ early prophase เป็นบริเวณที่ใสไม่มี cytoplasmic organelle ต่างๆปะปนอยู่ ขนาดของ clear zone นี้แคบมากแล้วขยายใหญ่ขึ้นในระยะ late prophase ลักษณะของ clear zone ปกติจะเป็นไปตามลักษณะของนิวเคลียส แต่บางครั้งอาจเกิดการยืดขยายออกไปทางขั้วได้มากกว่าทางด้านข้างคล้ายลักษณะของ polar cap ลักษณะนี้อาจขึ้นอยู่กับ mechanical condition ของเซลล์ด้วย

ระยะ prophase นี้จะเริ่มจากการหดตัวของโครโมโซมจนกระทั่ง nuclear membrane ละลาย การละลายของ nuclear membrane จะทำให้เซลล์เริ่มเข้าสู่ contraction stage (Bajer 1958a)

Contraction Stage

ระยะนี้เกิดขึ้นหลังจาก nuclear membrane ละลายแล้ว ระยะเวลาที่เป็นระยะนี้ไม่แน่นอน บางเซลล์ contraction ของโครโมโซมจะกินเวลานานก่อนกระจายออกจากกันดังตัวอย่างในเซลล์ No.8และ No.๑๑ ซึ่งเกิดพฤติการณ์ที่เห็นได้ชัดเจนสองอย่างคือ

๑. Contraction ของกลุ่มโครโมโซม หลังจาก nuclear membrane ละลายกลุ่มของโครโมโซมอยู่ในลักษณะเดิม ปลายของโครโมโซมที่อยู่รอบนอกจะมีการเคลื่อนไหวเล็กน้อยทำให้บริมาตรของนิวเคลียสเพิ่มขึ้น Contraction ที่เกิดขึ้นนี้คล้ายกับมีแรงผลักจากภายนอกนิวเคลียสเข้ามาทำให้กลุ่มของโครโมโซมนี้ถูกกดเข้ามารวมกันอยู่ตรงกลาง แรงผลักนี้จะมาจากทางขั้วของเซลล์ ผลจากแรงกระแทกของโครโมโซมที่เคลื่อนเข้ามาตรงกลางทำให้ความกว้างของนิวเคลียสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ในระยะแรกที่เกิดแรงกดนี้โครโมโซมทั้งเส้นจะถูกผลักเข้าไป ในขณะที่กลุ่มโครโมโซมถูกกดให้รวมกันนี้ปลายของโครโมโซมบางอันจะหันทางด้าน kinetochore เข้าหาศูนย์กลางของแรงกด บางอันจะหันทางปลายเข้าสู่แรงกด ซึ่งอาจแสดงว่าแรงกระทำที่เกิดขึ้นนี้กระทำทั่วไปหมดทั้งโครโมโซม หลังจากหมดแรงกดโครโมโซมบางอันจะเคลื่อนออกมาได้ก่อน ปลายของโครโมโซมจะเป็นอิสระยืดขยายออกทำให้บริมาตรของกลุ่มโครโมโซมเพิ่มขึ้น โครโมโซมนี้จะเคลื่อนกระจายออกมาทางด้านตั้งฉากกับ metaphase plane

รูปที่ ๒๘ แสดง contraction ของโครโมโซมในเซลล์ No.11 และ No.8 ขยาย ๑๑๔๕ เท่า เซลล์ No.11 นาทีที่ ๑๔-๒๓.๓๐ แสดง contraction ของโครโมโซมและการกระจายของโครโมโซม ในนาทีที่ ๒๓ ลูกศรชี้แสดงให้เห็นโครโมโซมที่เคลื่อนที่เข้าไปด้วยแรงกดแล้วกระจายออกมา
เซลล์ No.8 นาทีที่ ๑๐.๓๐-๑๓.๓๐ แสดง contraction ของโครโมโซมและการกระจายของโครโมโซมมาทางขั้วเซลล์หลังจากหมดแรงกดเช่นเดียวกัน

14'
15'
16'
22'
23'
23' 30"
10' 30"
12' 30"
13' 30"

หรือทางขั้ว การเคลื่อนไหวของโครโมโซมในระยะนี้เชื่อว่า kinetochore เป็นตัวสำคัญ (รูปที่ ๒๘)

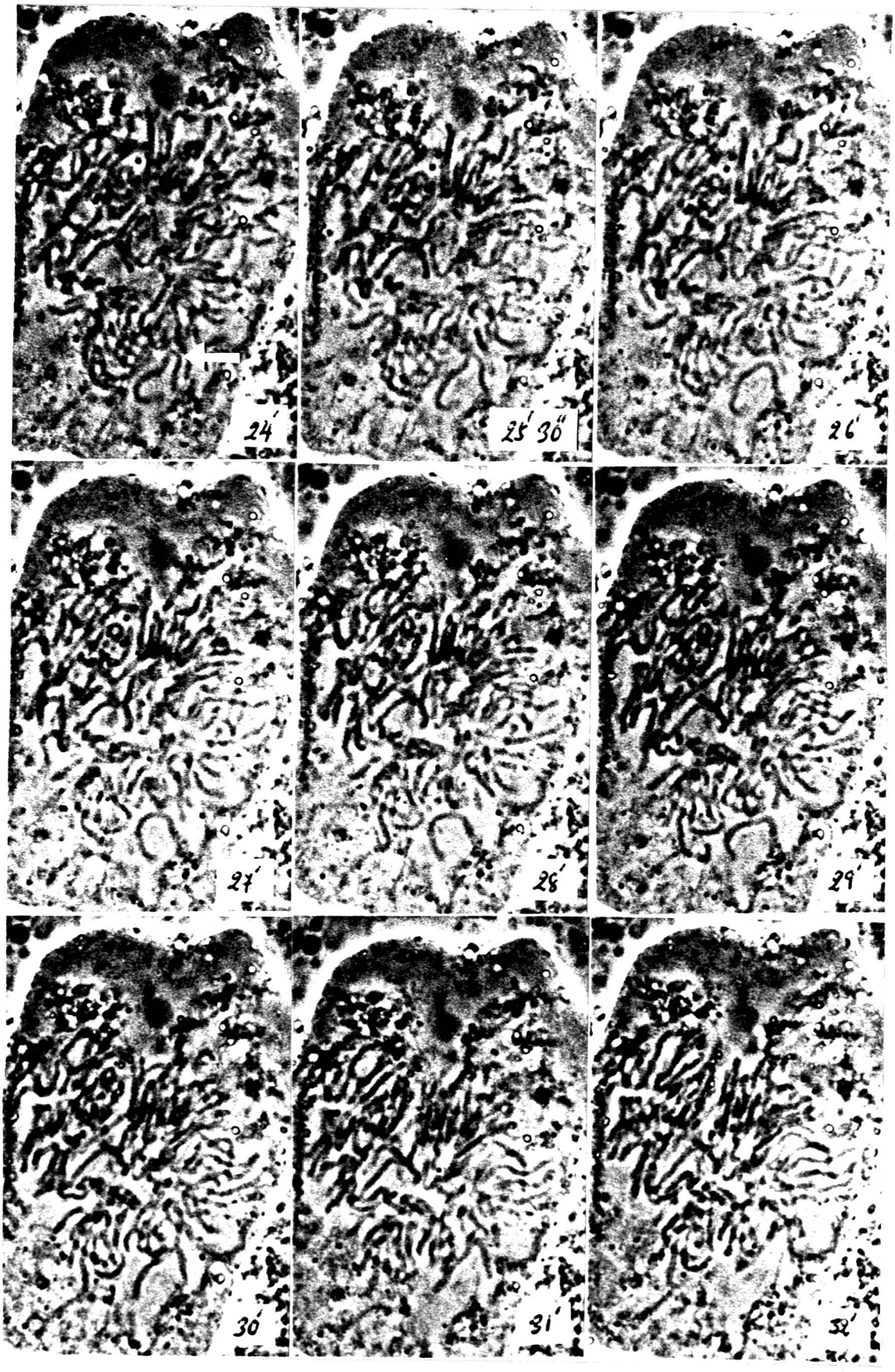
ขนาดของเซลล์ในขณะเกิด contraction นี้ไม่ได้เปลี่ยนแปลงตามไปด้วย แสดงว่า contraction นี้เกิดขึ้นกับกลุ่มโครโมโซมแต่อย่างเดียว ความกว้างของเซลล์ขยายออกเล็กน้อยตาม metaphase plate ที่เกิดขึ้น

Contraction ของเซลล์ของ Zephyranthes นี้เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยจะสังเกตเห็นว่าเซลล์ที่ถ่ายด้วยอัตรา ๑๒ ภาพต่อนาทีแทบจะมองไม่เห็น contraction ที่เกิดขึ้น แต่ในเซลล์ No.5 ซึ่งถ่ายด้วยอัตราเร็ว ๖ ภาพต่อนาทีจะเห็น contraction เล็กน้อย การวิเคราะห์จาก micrograph จะเห็น contraction ที่เกิดขึ้นและทราบระยะเวลาของระยะนี้ได้จากกราฟ

๒.การละลายของนิวคลีโอลัส การละลายของนิวคลีโอลัสเริ่มขึ้นพร้อมกับ contraction ของโครโมโซม นิวคลีโอลัสจะค่อยๆละลายไปทีละนิดโดยสังเกตเห็นว่าความหนาของนิวคลีโอลัสจะค่อยๆบางเข้า เมื่อ contraction ของโครโมโซมสูงสุด (เซลล์ No.8) หรือเกือบสูงสุด (เซลล์ No.11) นิวคลีโอลัสจะละลายหายไปอย่างรวดเร็ว จาก micrograph ในเซลล์ No.11 ในนาทีที่ ๑๓.๕๐-๑๓.๒๐ ซึ่งต่างกันเพียง ๕ วินาทีนิวคลีโอลัสจะหายไปเป็นจำนวนมาก (รูปที่ ๒๑) นิวคลีโอลัสจะละลายหมดไปก่อนเข้า metakinesis นิวคลีโอลัสจะละลายหายไปพร้อมๆกันและละลายหมดไปในเวลาไล่เรี่ยกันไม่ว่าจะเป็นอันใหญ่หรืออันเล็ก ในเซลล์ No.8 ซึ่งมีการแบ่งปกติการละลายของนิวคลีโอลัสจะกินเวลาประมาณ ๓.๓๐ นาที

นิวคลีโอลัสนี้บางครั้งอาจจะลายไม่หมดโดยไหลออกจากโครโมโซมสู่ cytoplasm หรือ clear zone นิวคลีโอลัสจะละลายหมดไปก่อนที่โครโมโซมจะแยกออกจากกัน ในเซลล์ No.12 ซึ่งไม่เห็นการเคลื่อนที่และแยกของโครโมโซมนิวคลีโอลัสเหลืออยู่ใน cytoplasm ตลอดระยะเวลาของ mitotic process ในระยะ late anaphase อาจเกิดนิวคลีโอลัสขึ้นอีกใน cytoplasm นิวคลีโอลัสนี้จะเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อยๆหรือรวมกันเป็นก้อนใหญ่อันเดียว

รูปที่ ๒๙ Metakinesis ในเซลล์ No.11 ขยาย ๑๐๑๙ เท่า แสดงการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไปทางขั้วเซลล์ในระยะ metakinesis ลูกศรชี้ในนาทีที่ ๒๙ คือโครโมโซมที่กระจายออกมาจากกลุ่ม หลังจากหมดแรงกดแล้ว ในนาทีที่ ๒๕.๓๐ เมื่อเข้าระยะ metakinesis โครโมโซมเคลื่อนออกมาทางขั้วเซลล์ แล้วจึงเดินทางไปที่ metaphase plate การเคลื่อนที่ของโครโมโซมนี้ kinetochore เป็นตัวนำ


24'
25' 30"
26'
27'
28'
29'
30'
31'
32'

Metakinesis และ Metaphase

Metakinesis จะเริ่มขึ้นในทันทีที่โครโมโซมหมดแรงกด Kinetochore ของแต่ละโครโมโซมจะเดินทางไปสู่กลางของ spindle เพื่อสร้าง metaphase plate ทันที พฤติการณ์ของโครโมโซมในระยะนี้มีสามแบบ คือ

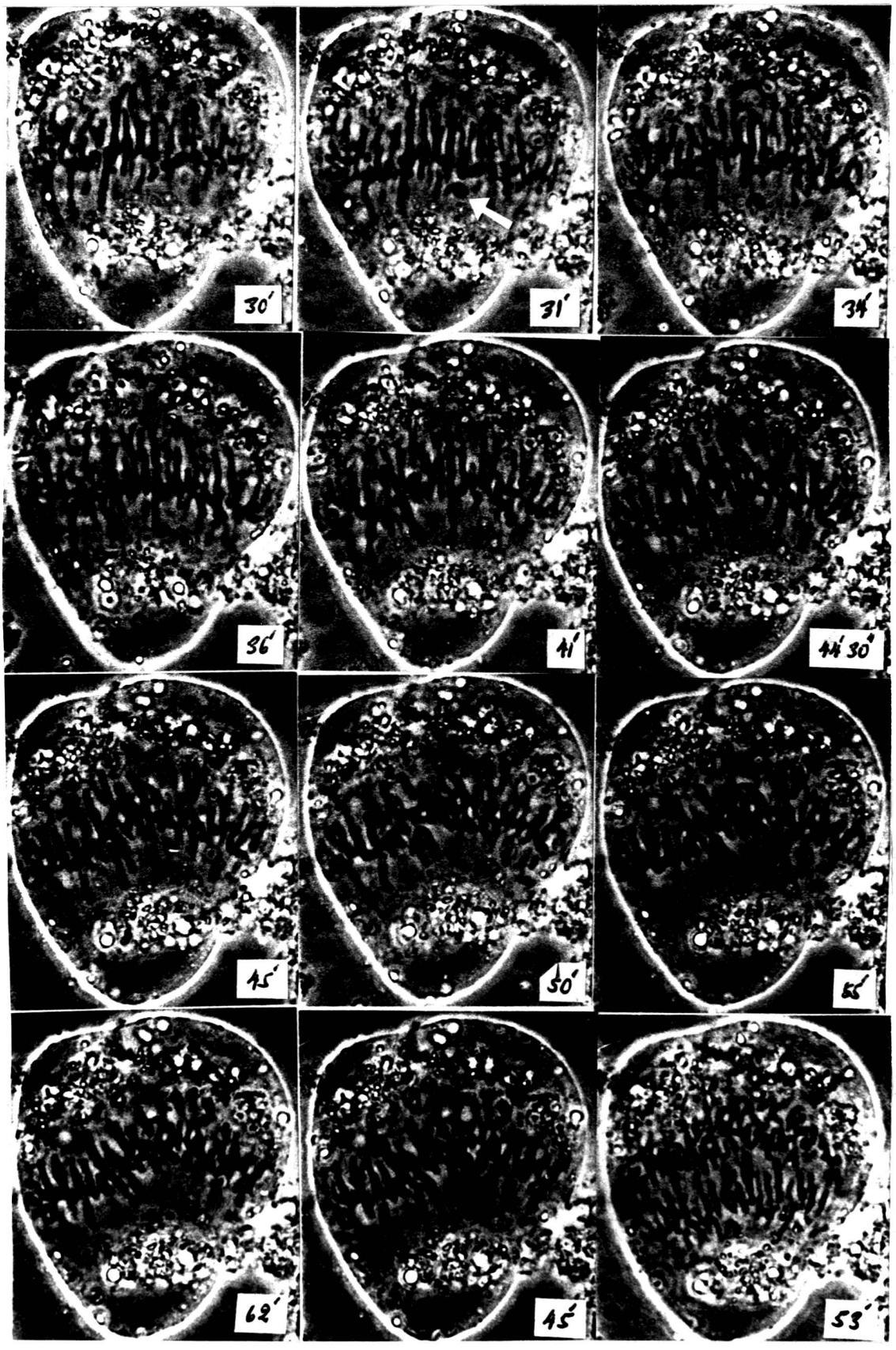
๑. การเคลื่อนที่ของ kinetochore ไปยังขั้ว การเคลื่อนที่ชนิดนี้มีเป็นจำนวนน้อย บางโครโมโซมหลังจากหมดแรงกด kinetochore จะเคลื่อนที่ไปทางขั้วก่อนแล้วจึงเดินทางไปที่ metaphase plate (รูปที่ ๒๔) บางโครโมโซมหลังจากเข้าสู่ metaphase plate แล้วจะเดินทางกลับไปที่ขั้วใหม่ก่อนกลับมาอีก (รูปที่ ๑๔) การเคลื่อนที่ในลักษณะนี้ทำให้เกิดไมโตซิสที่ผิดปกติ

๒. การเคลื่อนที่ของ kinetochore เข้าสู่ metaphase plate หลังจากหมดแรงกดในระยะ contraction แล้ว kinetochore จะเคลื่อนไปจัดเรียงตัวที่ metaphase plate ทันที Kinetochore แต่ละอันจะพยายามเคลื่อนเข้ามาอยู่ในระดับเดียวกัน ในขณะเดียวกัน chromosome arm ก็มีการเคลื่อนไหวโดยพยายามเหยียดออกตรงในแนวขนานกับ spindle (รูปที่ ๑๖) Chromosome arm ที่ยืดขยายออกนี้จะหดสั้นเข้าทุกทีจนกระทั่งเกิดการแยกของโครโมโซม

๓. การจัดเรียงตัวของ kinetochore ที่ metaphase plate Kinetochore แต่ละอันจะพยายามเข้ามาอยู่ในแนวระดับเดียวกันหมดจึงเกิดการแยกของโครโมโซม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ mechanical condition ของเซลล์ด้วยที่จะทำให้การเรียงตัวกันของ kinetochore สำเร็จลงได้เพียงไร ในเซลล์ No.8 ซึ่งเป็น non-flattened cell kinetochore จะเรียงตัวอยู่ในแนวเดียวกันหมดเป็นเส้นตรง ในเซลล์ No.11 และ No.6 ซึ่งเป็น half flattened cell kinetochore ไม่ได้มาเรียงอยู่ในแนวเดียวกันหมดหมด บางตอนมีโครโมโซมอยู่เป็นกลุ่มมากกว่าส่วนอื่นๆทำให้ไม่สามารถมาอยู่ใน plane เดียวกันได้ Kinetochore จะพยายามจัดเรียงตัวให้อยู่ในแนวสมดุลที่สุด ระยะเวลาของการจัดเรียงตัวนี้ไม่เท่ากัน

ในเซลล์ที่มีการแบ่งผิดปกติเช่น เซลล์ No.10 และ เซลล์ A_5 (รูปที่ ๑๔,๒๗) metaphase plate ไม่ได้อยู่ในแนวเส้นตรงเป็นรูปโค้งคล้ายเกือกม้า การเรียงตัวกันใน

รูปที่ ๓๐ **Long stability** ของ **metaphase plate** ในเซลล์ **No.11** ขยาย ๙๖๐ เท่า ลูกศรชี้คือ **chromosome arm** ที่ขดงออยู่แล้วเหยียดออกตรงในแนวขนานกับ **spindle** ในนาทีที่ ๔๔.๓๐ ทางริมด้านขวาเห็นโครโมโซมหนึ่งเคลื่อนออกจาก **metaphase plate**


30'
31'
34'
36'
41'
44' 30"
45'
50'
55'
62'
45'
53'

ลักษณะนี้ขึ้นอยู่กับ mechanical condition ของเซลล์โดยที่เซลล์ A_5 เกิดการยืดขยายตัวออกไปทางด้านหนึ่ง clear zone หรือ spindle มีลักษณะผิดไปจากเดิม เมื่อ kinetochore แยกออกจากกันโครโมโซมเคลื่อนที่ไปแต่ละข้างไม่เท่ากัน

ในบางครั้งการเรียงตัวกันของ kinetochore นี้เกิดแยกเป็นสามแฉก เช่น เซลล์ No.13 ลักษณะนี้คล้ายกับว่าเซลล์นี้มีสามขั้ว การเคลื่อนที่ของโครโมโซมไปได้สามทางได้ tripolar cell (รูปที่ ๒๔)

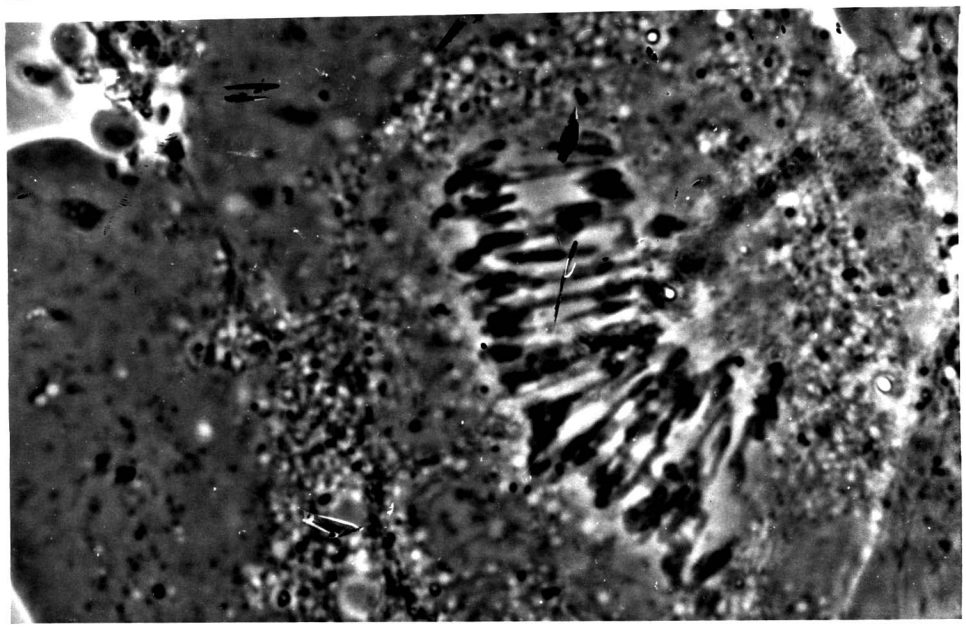
การจัดเรียงตัวของ kinetochore เพื่อสร้าง metaphase plate นี้ในบางครั้งแม้การเรียงตัวจะอยู่ในแนวสมดุล แต่โครโมโซมก็ยังไม่แยกเกิด long stability ของ metaphase plate (รูปที่ ๓๐) ในขณะนี้โครโมโซมแต่ละอันจะมีการเคลื่อนไหวอยู่เสมอ โครโมโซมางอันจะเคลื่อนออกมานอก plate โครโมโซมจะอยู่ในสถานะนี้เป็นเวลานานก่อนแยกออกจากกัน

การเคลื่อนย้ายของโครโมโซมในระยะ metakinesis ที่ผิดปกติไปนี้ไม่แสดงว่าขึ้นอยู่กับ mechanical condition ของเซลล์ในขณะนั้น เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติของ endosperm เซลล์เอง

ในบางครั้งโครโมโซมไม่มาเรียงตัวกันที่ metaphase plate แต่กระจายอยู่ทั่วไปในบริเวณ clear zone (รูปที่ ๒๓,๒๖) ลักษณะนี้ daughter chromosome แต่ละอันไม่เคลื่อนที่หลังจากแยกออกจากกัน โครโมโซมจะรวมกันเป็นนิวเคลียสใหม่เป็น hexaploid

Anaphase และ Telophase

โครโมโซมแยกออกจากกันที่ kinetochore จากการดูการแยกของโครโมโซมในเซลล์ต่างๆ พบว่า ความสมดุลของ metaphase plate การละลายของนิวคลีโอลัส มีส่วนเกี่ยวข้องกับการแยกและการเคลื่อนที่ของ kinetochore ในเซลล์ที่มีการละลายของนิวคลีโอลัสช้าระยะ metakinesis จะกินเวลานาน เช่น เซลล์ No.11, No.13 และนิวคลีโอลัสจะละลายหมดไปชั่วระยะเวลาหนึ่ง kinetochore จึงแยกออกจากกัน ในเซลล์ No.12 และ A_5 เห็นนิวคลีโอลัสอยู่ตลอดระยะของไมโตซิสแต่ไม่เห็นการเคลื่อนที่ของโครโมโซม พฤติการณ์ที่เกิดขึ้นในระยะนี้แบ่งได้ คือ



รูปที่ ๓๑ เซลล์ A_3 ขยาย ๑๒๘๐ เท่า
แสดง chromosome bridge ที่เกิดขึ้นจากการแบนราบ
ของเซลล์ จากรูปจะเห็นได้ว่าเซลล์แบนราบออกไปมาก
chromosome bridge เกิดขึ้นเกือบทุกโครโมโซม

๑. <u>การเคลื่อนที่ของโครโมโซม</u> ในขณะที่ kinetochore จะแยกออกจากกันโครโมโซมจะหดตัวสั้นมากที่สุดแยกออกเป็นสองโครมาติด เมื่อเริ่มระยะ anaphase kinetochore แยกหลุดออกจากกันก่อน (รูปที่ ๑๙) การแยกของ kinetochore นี้อาจจะไม่พร้อมเพรียงกันทุกโครโมโซม เช่นในเซลล์ No.11 (รูปที่ ๒๑) kinetochore ด้านหนึ่งแยกไปก่อนอีกด้านหนึ่ง หลังจากแยกออกจากกัน kinetochore จะเคลื่อนไปที่ขั้วทันที ระยะเวลาที่ต่างกันนี้ทำให้โครโมโซมเคลื่อนที่ไปไม่พร้อมกัน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับตำแหน่งของโครโมโซมที่ metaphase plate ด้วย โครโมโซมที่อยู่ริมนอกจะเคลื่อนออกไปก่อนโครโมโซมที่อยู่ด้านใน (รูปที่ ๑๓,๑๙) ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับเนื้อที่ๆจะให้โครโมโซมนั้นเดินทางไป (Bajer & Molé-Bajer 1956)

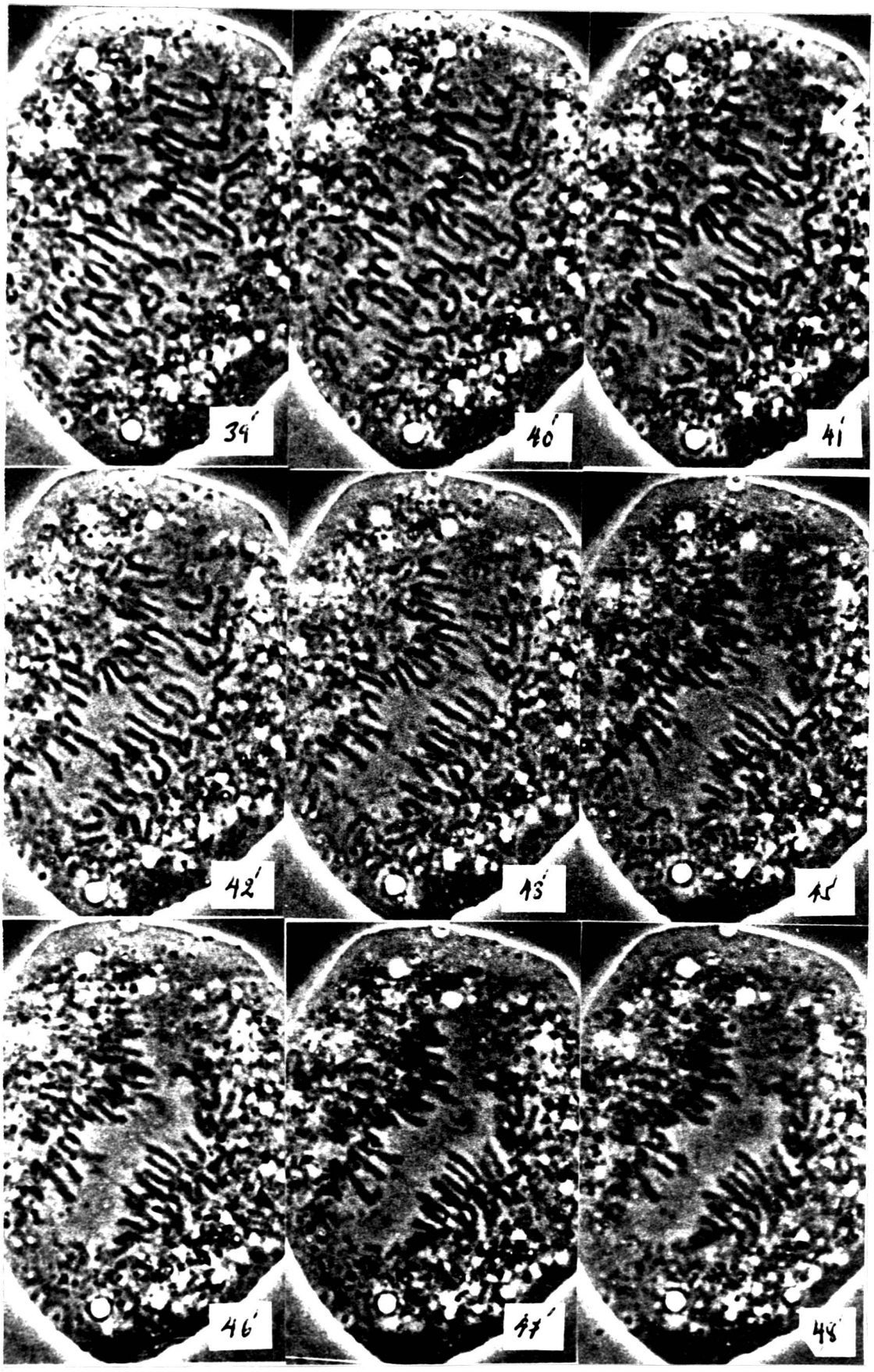
ในเซลล์ที่มีการแบ่งปกติการเคลื่อนที่ของโครโมโซมจะแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย แต่ในเซลล์ที่มีการแบ่งผิดปกติการเคลื่อนที่ของโครโมโซมจะแตกต่างกันมาก เช่น เกิด lagging chromosome (รูปที่ ๑๕,๑๙) โครโมโซมจะหยุดนิ่งอยู่ที่ metaphase plate ในขณะที่โครโมโซมอื่นเคลื่อนที่ โครโมโซมนี้เริ่มเคลื่อนที่ในระยะ late anaphase แล้วเข้าไปรวมกลุ่มกับโครโมโซมอื่นได้ในที่สุด

Endosperm เซลล์ของ <u>Zephyranthes</u> นี้เกิด chromosome bridge ได้โดยง่าย จากการดูไมโตซิสจากเซลล์ต่างๆจะเห็น chromosome bridge เกิดขึ้นเสมอ Chromosome bridge นี้อาจเกิดขึ้นได้ทั้ง non และ flattened cell แต่อัตราการเกิดจะเห็นได้มากใน flattened cell เช่น เซลล์ No.10 และ A_3 (รูปที่ ๓๑) เซลล์เหล่านี้แบนราบไปตามวุ้นอาหารที่เลี้ยงมาก chromosome bridge เกิดขึ้นเกือบทุกโครโมโซม

โครโมโซมบางอันในขณะเคลื่อนที่ไม่แสดงให้เห็นว่า kinetochore เป็นตัวนำไป โครโมโซมบางอันเคลื่อนที่ออกไปในลักษณะเดิมที่เรียงตัวอยู่ที่ metaphase plate โดย chromosome arm ทั้งสองข้างชี้ไปที่ขั้วตลอดเวลา ตัวอย่างในเซลล์ No.6, No.8 และ No.11 (รูปที่ ๑๓,๑๖,๒๑) ลักษณะเหล่านี้เกิดขึ้นอยู่เสมอเกือบทุกเซลล์ โดยทั่วๆไปการเคลื่อนที่ของโครโมโซมจะแสดงลักษณะว่า kinetochore เป็นตัวสำคัญ

ระยะทางของแต่ละโครโมโซมที่เคลื่อนที่ไปยังขั้วอาจจะไม่เท่ากัน บางโคร

รูปที่ ๓๖ Anaphase ในเซลล์ No.6 ขยาย ๑๐๖๐ เท่า
แสดงการเคลื่อนที่ของโครโมโซมในระยะ anaphase ลูกศรชี้
คือกลุ่มโครโมโซมสามแห่งที่เคลื่อนที่ตามกันไปยังขั้วเซลล์


39'
40'
41
42'
43'
45
46'
47'
48

โมโซมเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่าโครโมโซมอื่น เช่น เซลล์ No.7 (รูปที่ ๓๒) โครโมโซมที่เคลื่อนที่ที่หลังจะอยู่ในตำแหน่งถัดมา บางโครโมโซมจะเคลื่อนที่ติดตามกันไปคล้ายกับอยู่ในแนวทางอันเดียวกัน ตามรูปโครโมโซมสามแท่งนี้เคลื่อนที่ติดตามกันมาตั้งแต่แรกแล้วหยุดอยู่ในตำแหน่งที่ถัดกันคล้ายลักษณะเดิม ลักษณะนี้คล้ายกับโครโมโซมแรกเป็นตัวนำโครโมโซมที่ติดตามมา Daughter chromosome ตรงข้ามก็เคลื่อนไปพร้อมๆกันเช่นกัน ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับตำแหน่งบน metaphase plate ที่ทำมุมกับขั้วได้ Daughter chromosome ด้านหนึ่งเดินทางเป็นเส้นโค้ง ในกรณีนี้ระยะทางเคลื่อนที่ของโครโมโซมด้านหนึ่งยาวกว่าอีกด้านหนึ่ง

๒. <u>การรวมตัวกันของโครโมโซม</u> เมื่อโครโมโซมเคลื่อนมาถึงขั้วก็จะหยุดนิ่งอยู่กับที่แล้วเริ่มเปลี่ยนแปลงลักษณะจากเดิมรวมกันเป็นนิวเคลียสใหม่ โครโมโซมที่เคลื่อนติดตามมาก็จะเข้ามารวมกลุ่ม ในเซลล์ที่เกิด chromosome bridge โครโมโซมจะค่อยๆขาดออกจากกันในระยะ late anaphase ปลายของโครโมโซมที่ขาดออกจากกันนี้จะค่อยๆหดสั้นเข้ามาหากลุ่มโครโมโซมจนรวมกันได้ในที่สุด

ตำแหน่งของโครโมโซมที่มาที่ขั้วนี้จะเป็นที่ปลายของ spindle หรือขอบของ clear zone ในขณะที่โครโมโซมเปลี่ยนลักษณะเป็นนิวเคลียสใหม่นี้แถวของโครโมโซมที่เรียงกันตามขอบของ clear zone จะค่อยๆหดตัวเข้ามารวมกันเป็นก้อนกลมเกิดเป็นนิวเคลียสใหม่ขึ้น เกิดนิวคลีโอลัส, nuclear membrane(รูปที่ ๑๖,๑๘,๑๙)

ระยะเวลาของการแยกและการเคลื่อนที่ของโครโมโซมรวมกันเป็น telophase nuclei นี้เป็นพฤติการณ์ที่เกิดขึ้นเชื่อมโยงกัน เนื่องจากการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไม่พร้อมเพรียง การเปลี่ยนแปลงลักษณะของโครโมโซมจะเกิดขึ้นในทันทีที่โครโมโซมมาถึงขั้วและหยุดการเคลื่อนไหวการสังเกตจากเซลล์ต่างๆพบว่ามีความแตกต่างอยู่มาก (Table I)

๓. <u>การเกิด Cell Plate</u> Cell plate เกิดขึ้นในระยะ late anaphase ในตำแหน่งของ metaphase plate ในเซลล์ที่การเคลื่อนที่ของโครโมโซมค่อนข้างพร้อมเพรียงกัน cell plate จะเกิดขึ้นพร้อมๆกันตลอดความกว้างของspindle (รูปที่ ๑๘) ในเซลล์ที่เกิด chromosome bridge การเกิดของ cell plate จะช้าลงและ

จะเกิดทางด้านที่ไม่มี chromosome bridge ก่อน Cell plate นี้เริ่มเกิดจากขอบของ spindle ติดต่อกันมาตัดผ่าน chromosome bridge (รูปที่ ๑๙,๒๑) จนกระทั่งเต็มความกว้างของ spindle แล้วจึงเกิดออกไปทางบริเวณด้านนอกจนจดขอบเซลล์

ปรากฏการณ์ต่างๆใน Cytoplasm

Mitochondria นิวเคลียสของเซลล์ที่มี mitotic activity นี้จะเห็น cellular organelle ลักษณะคล้าย mitochondria มาล้อมอยู่เป็นจำนวนมาก มีการเคลื่อนไหว มี Brownian movement เห็นได้ชัดเจน เมื่อเกิด clear zone ขึ้น organelle เหล่านี้ก็ยังคงอยู่รอบๆ clear zone (รูปที่ ๑๕,๒๕,๒๗)

Vacuole Vacuole ใน cytoplasm ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของเซลล์ที่ทำการศึกษา ในเซลล์ที่มีการแบ่งปกติหรือไม่กระทบกระเทือนกับสภาวะแวดล้อมมากนัก vacuoleจะมีอยู่เป็นจำนวนน้อยหรือไม่มี ในเซลล์ที่มีการแบ่งผิดปกติจะเห็น vacuole มีอยู่เป็นจำนวนมาก เช่น เซลล์ No.12 (รูปที่ ๒๓) ในเซลล์ที่มี vacuole เป็นจำนวนมากนี้จะเป็นอุปสรรคในการแยกและการเคลื่อนที่ของโครโมโซม ส่วนมากมักจะพบว่าเซลล์ที่มี vacuole เป็นจำนวนมากนี้ไมโตซิสจะหยุดชงักในระยะ metaphase และเซลล์เหล่านี้มักจะตายก่อนที่การแบ่งนิวเคลียสจะจบลง ทั้งนี้การที่เห็น vacuole ใหญ่ๆในเซลล์อาจเป็นเครื่องแสดงถึงความผิดปกติของเซลล์

Vacuole นี้มีการเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลาใน cytoplasm บางครั้ง vacuole ใหญ่อาจแตกออกเป็น vacuole เล็กๆหลายอัน หรือ vacuole เล็กๆหลายอันรวมกันเป็น vacuole ใหญ่อันเดียวได้ Vacuole เหล่านี้อาจจะแตกออกแล้วละลายหายไปใน cytoplasm การเคลื่อนย้ายของ wacuole อาจเกี่ยวโยงกับ cytoplasmic current อีก ใน Zephyranthes นี้ไม่เห็น cytoplasmic current ที่เกิดขึ้น