

Figure 59

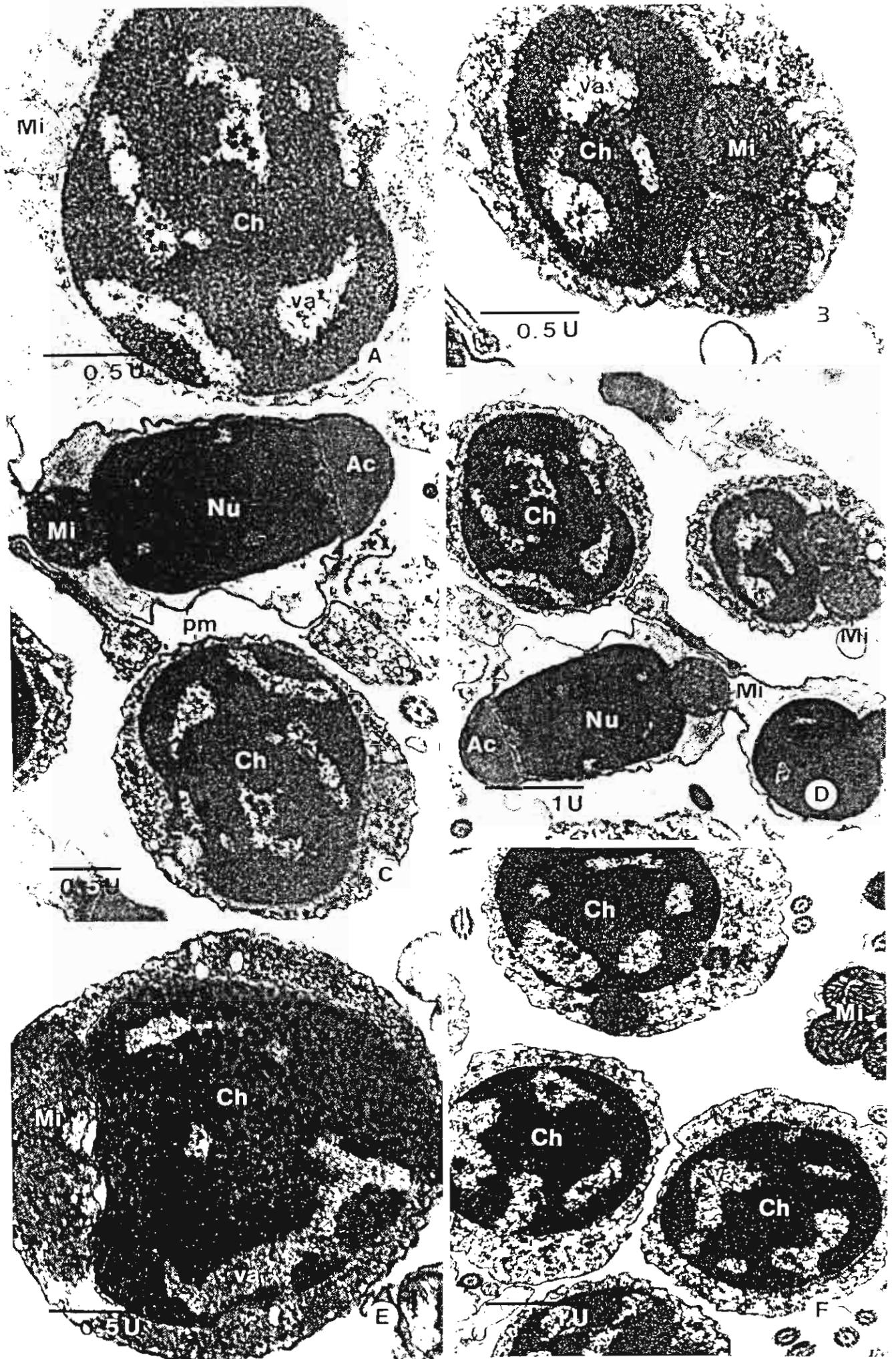
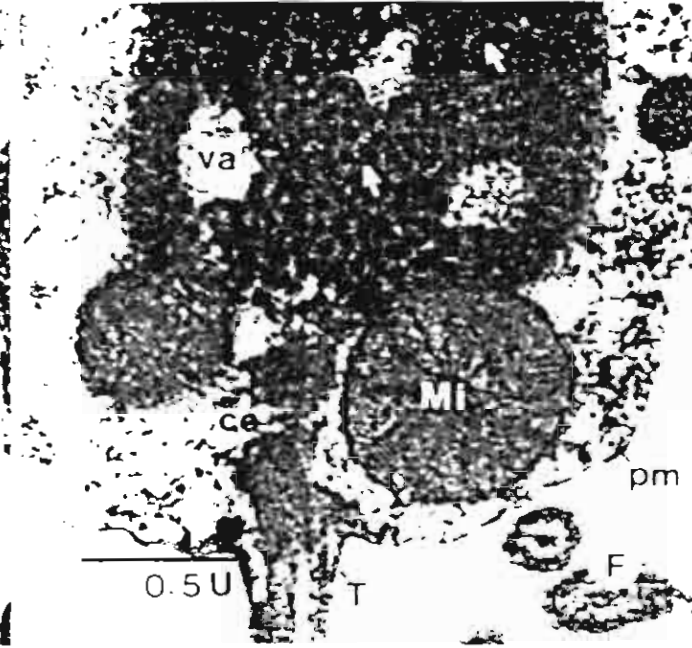
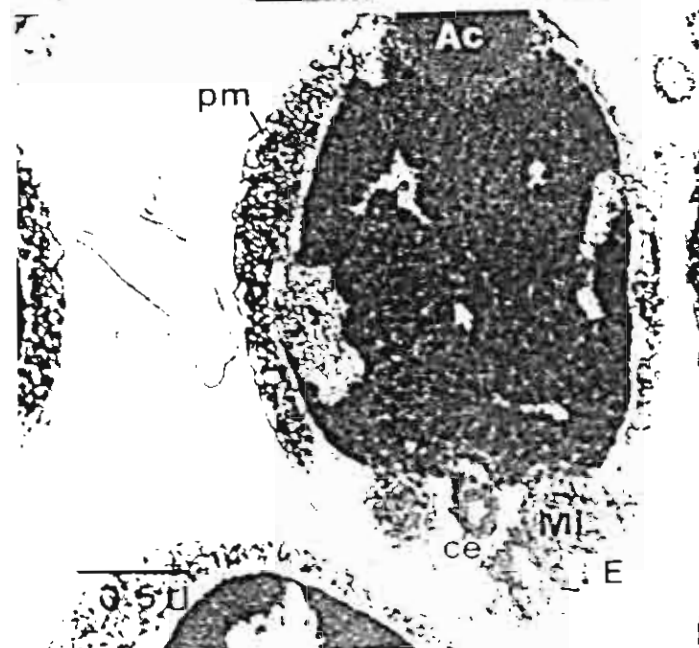
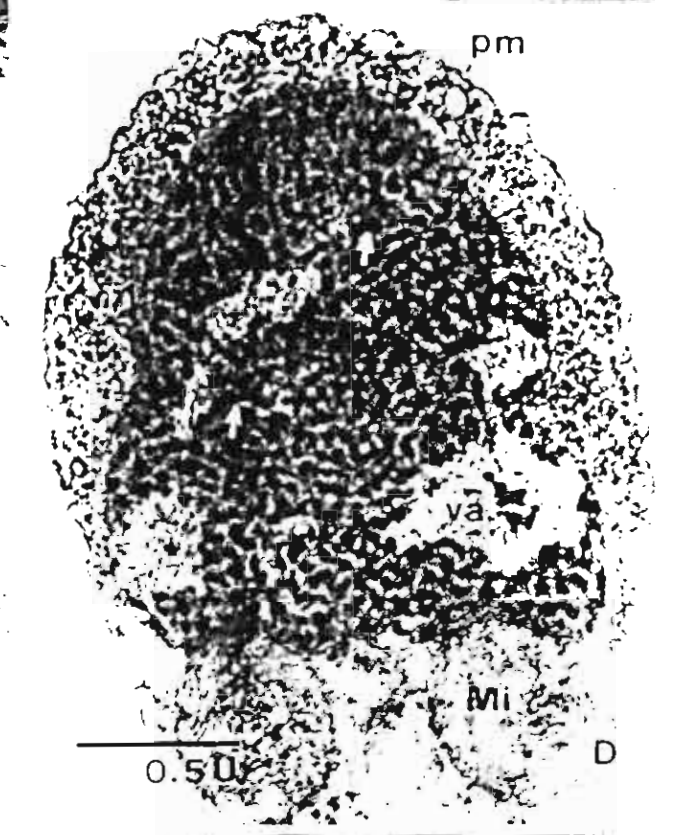
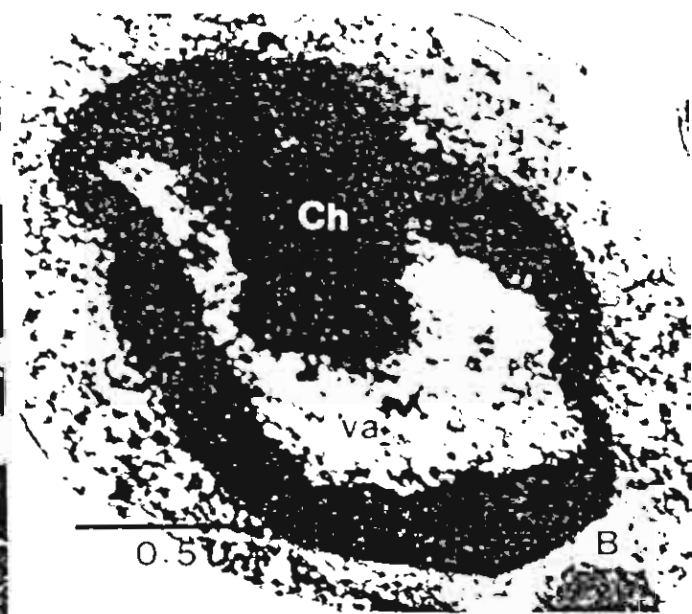
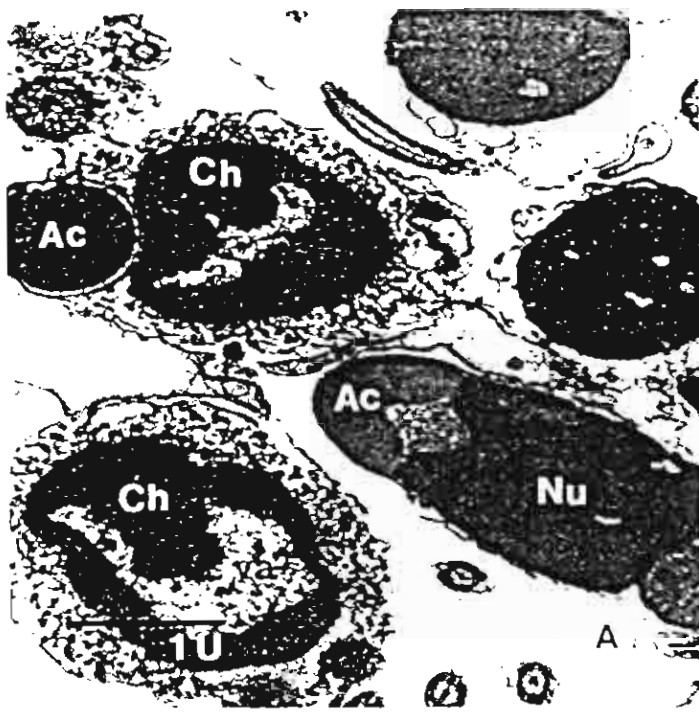


Figure 60



6.10.3 การศึกษาลักษณะโครงสร้างละเอียดของเซลล์อสุจิในอัตราโดย TEM และ SEM

เซลล์อสุจิเป็นกลุ่มเซลล์ที่อยู่นอกสุดจากแผ่น trabeculae และบางเซลล์หลุดออกไปอยู่ในช่องกลวงระหว่าง spermatogenic units ข้างเคียง เซลล์อสุจิประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหาง จากการศึกษาด้วย SEM ส่วนหัวมีลักษณะเป็นรูปกรวย โดยมีความยาวจากปลายสุดถึงโคนหางประมาณ 3 μm ความกว้างที่ระดับ acrosome ประมาณ 1 μm และที่ระดับส่วนท้ายของหัวประมาณ 1.5 μm (รูปที่ 61A-D)

Acrosome มีลักษณะเป็นรูปถ้วยหรือหมวกครอบอยู่ด้านหัว ใน section ที่ตัดผ่านขอบจะเห็น acrosome มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยม (รูปที่ 62C,F) ส่วนใน section ที่ตัดผ่านกลางจะเห็นรอยบุ๋มของ acrosome ประกับกับรอยบุ๋มในหัวของนิวเคลียส (รูปที่ 62E; 63E,F) acrosome มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นคือ plasma membrane และ acrosomal membrane หุ้มรอบ acrosomal matrix ซึ่งมีเอนไซม์และทีบแสงอิเล็กตรอนปานกลาง (รูปที่ 62E; 63E,F) ภายในช่องของรอยบุ๋มระหว่าง acrosome และส่วนหน้าของนิวเคลียสบรรจุสารทีบแสงอิเล็กตรอนที่มีลักษณะการเรียงตัวเป็นแบบ crystal lattice (รูปที่ 63E,F)

ภายในนิวเคลียสมีโครมาตินที่อัดกันแน่น ในหัวเซลล์อสุจิส่วนมากโครมาตินอัดกันอยู่แน่นมากจนมีลักษณะทีบแสงอิเล็กตรอน (รูปที่ 62A,B; 63A-D) แต่เซลล์อสุจิจำนวนหนึ่งมีเส้นโครมาตินที่หนาและทีบแสงอิเล็กตรอนซึ่งยังไม่อัดกันแน่น ทำให้ปรากฏช่องว่างหรือรูขนาดเล็กระหว่างใยโครมาตินเหล่านี้ (รูปที่ 62C,D) เซลล์อสุจิดังกล่าวอาจจะเป็นเซลล์ที่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ โครมาตินจึงยังไม่อัดแน่นจนปรากฏทีบแสงอิเล็กตรอนเต็มที่ ซึ่งอาจเป็นชั้น Sz₁ นอกจากนั้นแล้วภายในนิวเคลียสของเซลล์อสุจิทุกเซลล์มี nuclear vacuoles ที่มีลักษณะโลปรากฏอยู่ทั่วไป (รูปที่ 62A-F; 63A-D)

ด้านท้ายของนิวเคลียสมีไมโทคอนเดรียที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมติดอยู่ใน section ที่ตัดผ่านกลางตัวนิวเคลียส จะสังเกตเห็นไมโทคอนเดรีย 2 อัน ขนาบข้าง centriole ที่เป็นจุดเริ่มต้นโคนหางของเซลล์อสุจิ (รูปที่ 63C,D) แต่ใน cross section ของหัวที่ตัดผ่านระดับไมโทคอนเดรีย จะปรากฏว่ามีก้อนไมโทคอนเดรียที่มีลักษณะกลมเรียงตัวรอบ centriole อยู่ 5 อัน (รูปที่ 63A,B) ลักษณะและจำนวนของไมโทคอนเดรียดังกล่าว แสดงให้เห็นโดยชัดเจนใน SEM (รูปที่ 61C,D) บริเวณไซโตพลาสซึมรอบ ๆ ไมโทคอนเดรียที่ยังเหลืออยู่ในส่วนหัวของเซลล์อสุจิ มีเส้นใยขนาดเล็กขนาดประมาณ 15 nm ที่หักไปมาโยงระหว่างไมโทคอนเดรียกับเยื่อหุ้ม plasma membrane ที่คลุมส่วนท้ายของหัวอสุจิ (รูปที่ 62B,C,F) เยื่อหุ้มแผ่นนอกของไมโทคอนเดรียบริเวณใกล้กับนิวเคลียส เชื่อมติดกับ nuclear membrane โดยแถบที่มีลักษณะคล้ายซิฟ (รูปที่ 62C,E,F)

ส่วนหางของตัวอสุจิเริ่มจากท่อน centriole ที่มีด้านหน้าฝังติดกับแถบหนา 2 แถบ ที่เชื่อมอยู่กับด้านท้ายสุดของนิวเคลียส (รูปที่ 64A,B) ต่อจาก centriole คือ axoneme ซึ่งประกอบด้วย microtubules เรียงตัวตลอดความยาวของหาง axoneme แต่ละอันประกอบด้วย microtubule doublets วงนอก 9 ชุด อยู่รอบ doublet ที่อยู่ตรงกลางอีก 1 ชุด (รูปที่ 64C) axoneme ส่วนต้นถูกห่อหุ้มด้วย plasma membrane ที่หยักไปมา เนื่องจากอาจจะยังมีไซโตพลาสซึมที่ต่อเนื่องกับส่วนท้ายของหัวอสุจิเหลืออยู่ (รูปที่ 63C; 64C) ที่ส่วนกลางและส่วนปลายของหาง plasma membrane หุ้ม axoneme อย่างกระชับและมีลักษณะเรียบ (รูปที่ 64C,F) ที่ส่วนท้ายของหาง axoneme อาจจะมี microtubule doublets ไม่ครบจำนวน เนื่องจาก microtubule บางอันคงจะสั้นกว่าจำนวนที่เหลือ

รูปที่ 61 ภาพ SEM ของเซลล์อสุจิในอัตรา ๓๐๐๐๐ เท่า แสดงหัว (H) ที่มีรูปร่างคล้ายกรวย และมีหางยาว (T) (ภาพ A,B) ไมโทคอนเดรีย (Mi) มีลักษณะเป็นก้อนกลมเรียงกันอยู่รอบ ๆ โคนหาง (ภาพ C,D) acrosome (Ac) มีลักษณะคล้ายหมวกครอบอยู่ทางด้านหน้าของหัว (ภาพ C)

รูปที่ 62 A-F) ภาพ TEM แสดงโครงสร้างละเอียดของเซลล์อสุจิซึ่งประกอบด้วย nucleus (Nu) acrosome (Ac) plasma membrane (pm) mitochondria (Mi) ที่ติดอยู่กับด้านท้ายของหัวและ vacuole (Va) ในนิวเคลียส ภาพ C และ D แสดงนิวเคลียสที่โครมาตินยังไม่ประกัปกันสนิท โดยยังปรากฏร่องหรือรูขนาดเล็ก (ลูกศร) อยู่ระหว่างเส้นใยโครมาตินที่หนาแน่น

รูปที่ 63 A-D) ภาพ TEM แสดงไมโทคอนเดรีย เซลล์อสุจิบางเซลล์ที่ตัดผ่านกลางเซลล์แสดงไมโทคอนเดรีย 2 อัน ขนาบข้าง centriole (Ce) ที่เป็นส่วนต้นของหาง (ภาพ D) บางเซลล์ที่ตัดผ่านระดับไมโทคอนเดรียเอง แสดงการเรียงตัวของไมโทคอนเดรีย 5 อัน อยู่เป็นวงรอบ centriole (Ce) (ลูกศร) (ภาพ A,B) บางเซลล์ที่ตัดผ่านระดับผิวแสดงไมโทคอนเดรีย 3 อัน (ภาพ A-ลูกศร) ไมโทคอนเดรียเชื่อมติดอยู่กับส่วนท้ายของนิวเคลียสด้วยแถบหนา (ภาพ D-ลูกศร) ด้านหน้าของนิวเคลียสคลุมโดย acrosome (ac) ซึ่งมีสารที่เรียงตัวคล้าย crystal lattice อยู่ในรอยบุ๋มหรือช่องระหว่าง acrosome และ nucleus (ภาพ E,F-ลูกศร)

รูปที่ 64 ภาพ TEM แสดงส่วนหางของเซลล์อสุจิ ซึ่งประกอบด้วย centriole (Ce) ที่เชื่อมติดอยู่กับนิวเคลียสด้วยแถบหนา (ภาพ A,B,D-ลูกศร) ในไซโตพลาสซึมระหว่างนิวเคลียสและไมโทคอนเดรียมี microtubule (mt) หยักไปมาในระหว่างนิวเคลียสกับ plasma membrane (ภาพ B,E) ส่วนหางตัดตามขวาง (ภาพ C) และส่วนหางตัดตามยาว (F)

Figure 61

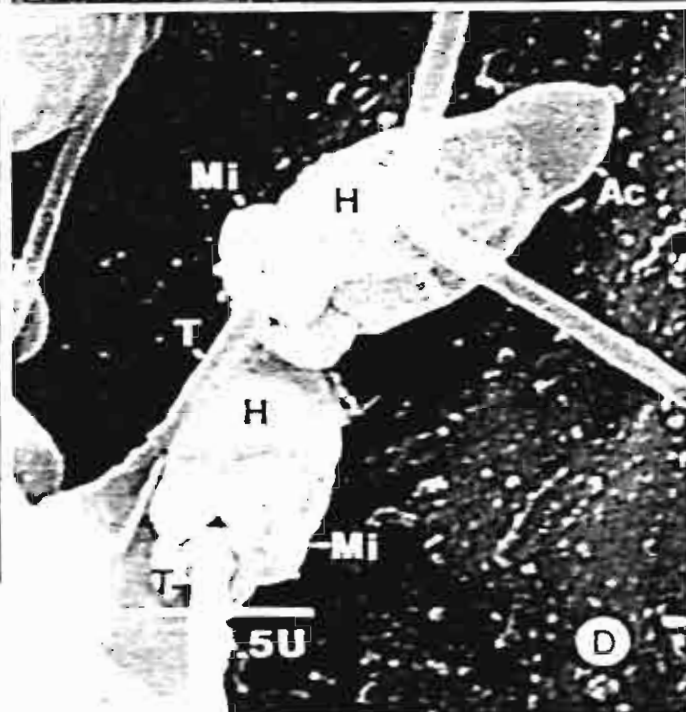
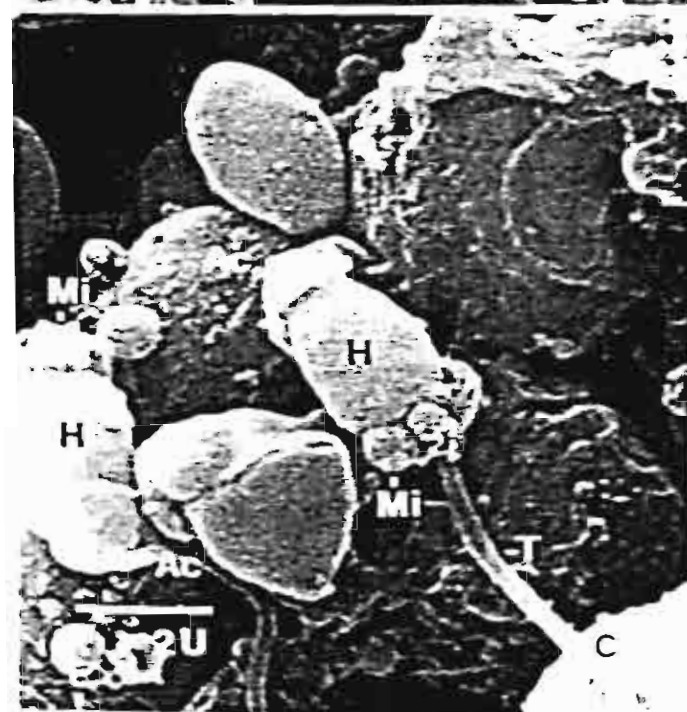
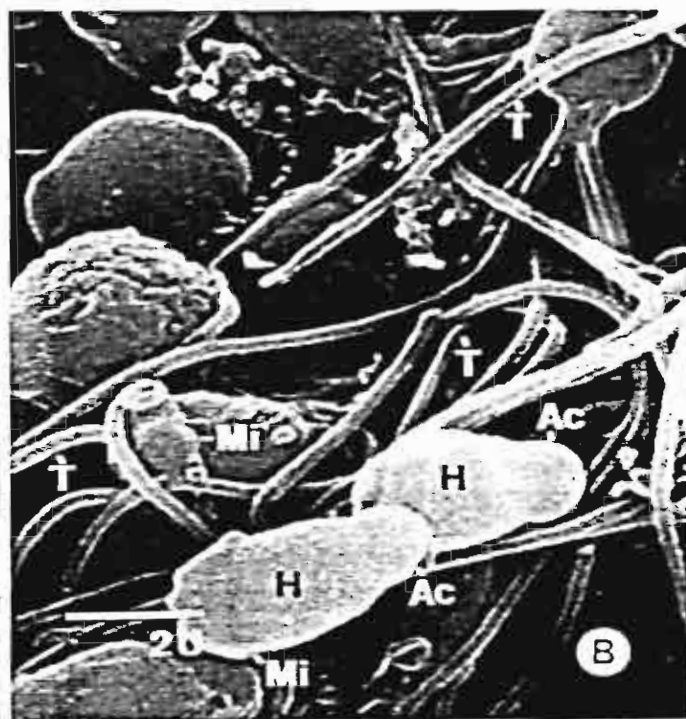
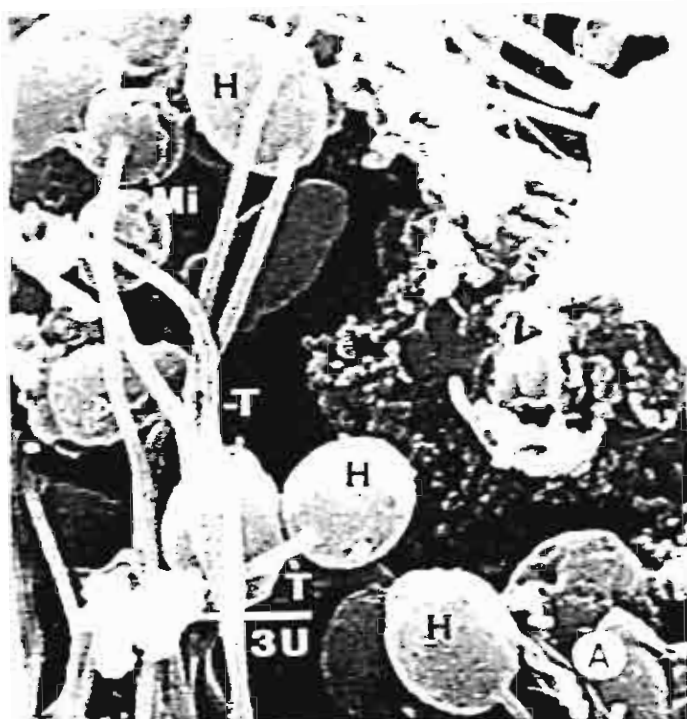


Figure 62

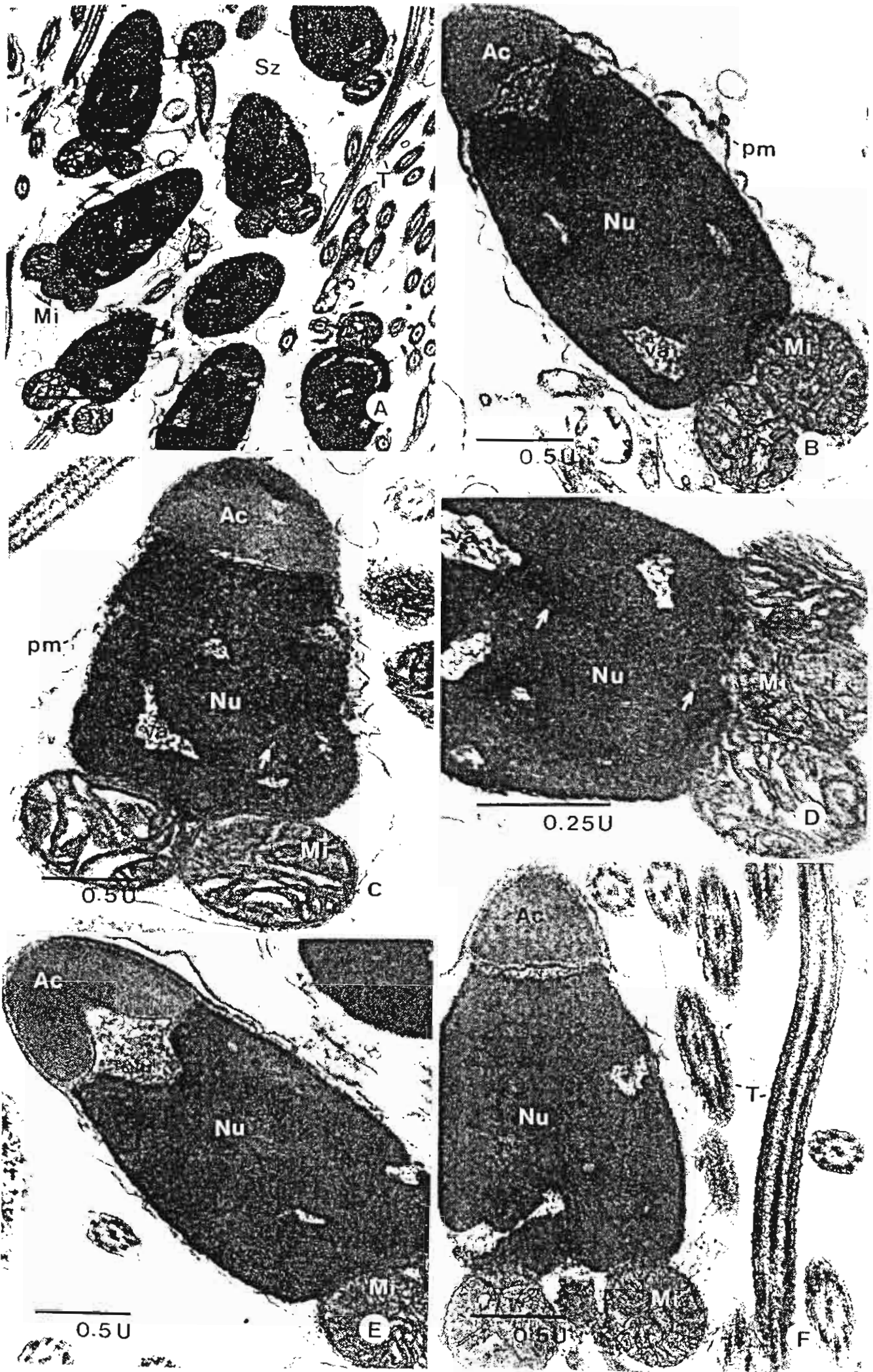


Figure 63

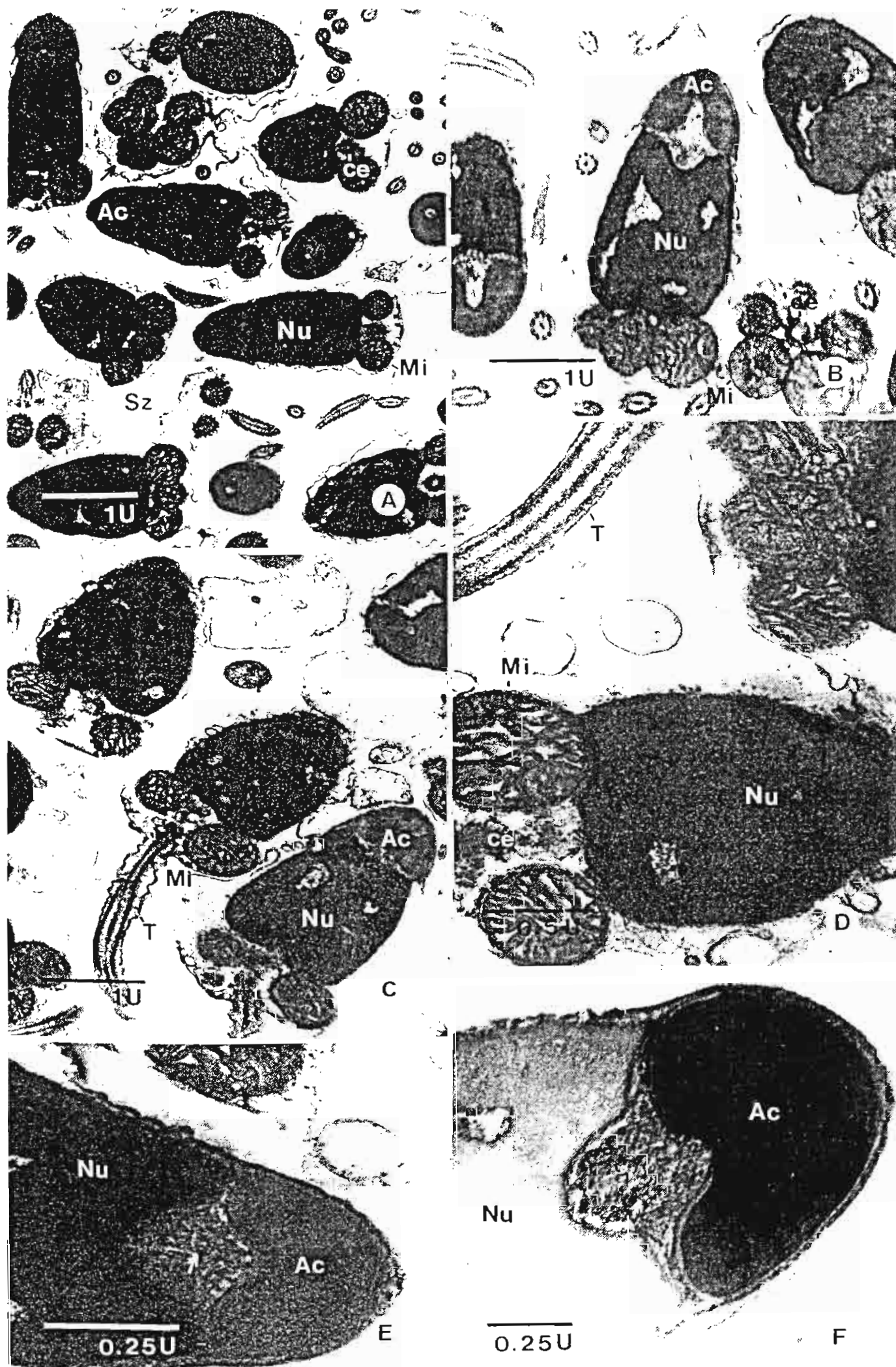
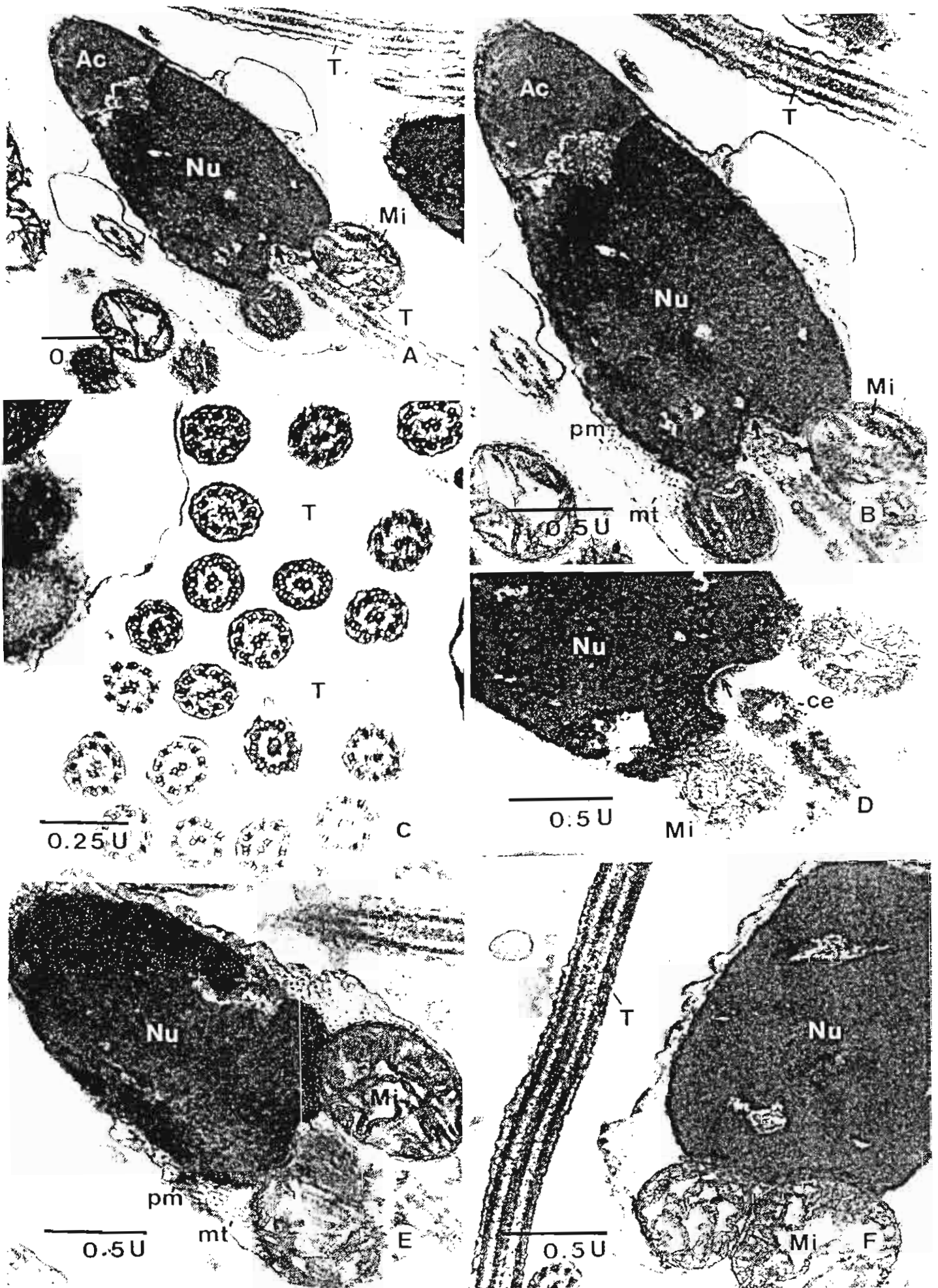


Figure 64



6.11 การศึกษาลักษณะและการจำแนกชั้นของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในรังไข่ด้วยจุลทรรศน์ธรรมดา

จากการศึกษาในระดับจุลทรรศน์ธรรมดาด้วยเทคนิค paraffin และ semithin section แล้วย้อมด้วยสี Hematoxylin-eosin (H & E), PAS (Periodic acid Schiff) และ methylene blue สามารถแยกเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียออกได้เป็น 6 ระยะ คือ

Oogonia (Og) (รูปที่ 65B; 67A)

เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลมหรือรีเล็กน้อย ขนาดเล็กที่สุดในกลุ่ม โดยมีขนาดของตัวเซลล์ประมาณ 10-12 μm และขนาดของนิวเคลียสประมาณ 7 μm ภายในนิวเคลียสมี heterochromatin ก้อนเล็ก ๆ เกาะอยู่ด้านในของถุงหุ้มนิวเคลียสคล้าย ๆ กับลักษณะของหน้าปัทมนาฬิกา นิวคลีโอลัสยังมีขนาดเล็ก ส่วนกลางของนิวเคลียสประกอบด้วย euchromatin ซึ่งมีลักษณะใส เนื้อไซโตพลาสซึมใสและติดสีฟ้าอ่อน ๆ (จาก H & E และ methylene blue) ซึ่งแสดงคุณสมบัติ basophilia ของไซโตพลาสซึมที่อาจเนื่องมาจากมีไรโบโซมอยู่ในปริมาณพอสมควร เซลล์ Og มักจะเกาะกันเป็นกลุ่ม ๆ อยู่ถัดไปทางด้านโคนของ trabeculae ติดถุงหุ้มรังไข่ เซลล์ Og มี follicular cells ที่มีรูปร่างแบนขนาดเล็กประกบอยู่ทุกเซลล์

Oocyte ระยะที่หนึ่ง (Oc₁) (รูปที่ 65B,C; 67A,B)

เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยมีขนาดของตัวเซลล์ประมาณ 24 μm และขนาดของนิวเคลียสประมาณ 12 μm โครมาตินและนิวคลีโอลัสมีลักษณะทึบ นิวคลีโอลัสเป็นก้อนทึบเด่นชัด ถุงหุ้มนิวเคลียสมีขอบเขตที่ไม่ค่อยชัดเจน ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้ม (จาก H & E และ methylene blue) ซึ่งแสดงถึงปริมาณของ basophilia ที่เป็นดรรชนีสะท้อนปริมาณของไรโบโซมที่เพิ่มขึ้น เซลล์ Oc₁ แต่ละเซลล์ถูกล้อมรอบด้วย follicular cell ซึ่งแผ่ไซโตพลาสซึมออกเป็นแผ่นแบนบางหุ้มรอบตัวเซลล์ Oc₁ เซลล์ Oc₁ ส่วนมากยังยึดติดอยู่กับเยื่อเกี่ยวพันของ trabeculae

Oocyte ระยะที่สอง (Oc₂) (รูปที่ 65B-D; 67B)

เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และยึดออกเป็นรูปแท่งจากเยื่อเกี่ยวพันของ trabeculae รอบ ๆ เซลล์ Oc₂ มี follicular cells ห่อหุ้มอยู่ เซลล์ Oc₂ มีขนาดประมาณ 30 x 55 μm และนิวเคลียสของมันมีขนาดประมาณ 22 μm ภายในนิวเคลียสมีโครมาตินและนิวคลีโอลัสที่มีลักษณะโปร่งแสง ทำให้นิวคลีโอลัสปรากฏเด่นชัดขึ้น โครมาตินส่วนมากกลายเป็น euchromatin และภายในตัวนิวคลีโอลัสเองก็มีการคลี่ออกของเส้นใยโครมาติน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเริ่มมี genetic activities ทั้งจากโครมาตินและนิวคลีโอลัส ถุงหุ้มนิวเคลียส

ปรากฏเด่นชัด ไซโทพลาซึมยังติดสีน้ำเงินแต่ไม่เข้มเหมือนกับเซลล์ Oc₁ นอกจากนั้นยังมี lipid droplets ซึ่งมักปรากฏเป็นฟองเล็ก ๆ ในไซโทพลาซึมด้านที่อยู่ติดกับ trabeculae

Oocyte ระยะที่สาม (Oc₃) (รูปที่ 65B,C; 67B-D)

เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่า Oc₂ และมีรูปร่างคล้ายแก้วไวน์ที่ยังติดอยู่กับ trabeculae โดยด้านฐานซึ่งมีไซโทพลาซึมที่แคบลง เซลล์มีขนาดประมาณ 35-70 μm และนิวเคลียสมีขนาดประมาณ 20 μm ภายในนิวเคลียสโครมาตินกลายเป็น euchromatin เกือบทั้งหมด นิวคลีโอพลาซึมโปร่งแสงขึ้นมาก นิวคลีโอลัสขยายใหญ่และจางลง ซึ่งแสดงให้เห็นการเคลื่อนที่ของ nucleolar chromatin และชี้บ่งว่ามีทั้ง chromosomal และ nucleolar activities เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ Oc₂ อนุภาคนิวเคลียสปรากฏเด่นชัด นอกจาก lipid droplets ที่มีจำนวนมากขึ้นแล้ว ในไซโทพลาซึมยังมีก้อน yolk platelets ซึ่งติดสีแดง (จาก H & E) กระจายอยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังมีเม็ดสีน้ำเงินละเอียดกระจายอยู่ทั่วไป โดยแทรกอยู่ระหว่างก้อน yolk ซึ่งอาจจะเป็นกลุ่มไรโบโซม follicular cells มีจำนวนมากขึ้น ทั้งในส่วนที่ล้อมรอบตัวเซลล์และที่ล้อมรอบส่วนฐานของเซลล์ซึ่งยังยึดติดกับแผ่น trabeculae

Oocyte ระยะที่สี่ (Oc₄) (รูปที่ 66A,C; 67D)

เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่พัฒนาเกือบเต็มที่ ตัวเซลล์มีขนาดประมาณ 63 x 70 μm และนิวเคลียสมีขนาดประมาณ 35 μm โครมาตินภายในนิวเคลียสเป็น euchromatin ทั้งหมด และนิวคลีโอพลาซึมโปร่งแสงเต็มที่ จึงทำให้สังเกตเห็นแนวร่องเยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสได้เด่นชัด ตัวนิวคลีโอลัสเองก็ขยายใหญ่เต็มที่ และโปร่งแสงขึ้นมากเมื่อเทียบกับระยะต้น ๆ ภายในไซโทพลาซึมเต็มไปด้วยก้อน yolk ที่ติดสีแดงเข้ม lipid droplets สีใด ๆ และเม็ดสีน้ำเงิน ซึ่งน่าจะเป็นกลุ่มของ cortical granules กระจายไปอยู่ตามขอบของเซลล์ได้ชั้นเยื่อหุ้มเซลล์รอบ ๆ เยื่อหุ้มเซลล์เริ่มมีแผ่นบาง ๆ ของชั้น jelly coat ที่ติดสีชมพูจาก PAS ปรากฏขึ้นระหว่างชั้นเยื่อหุ้มเซลล์และแนวร่อง follicular cells ที่ยังหุ้มรอบ ๆ Oc₄ อยู่ อาจเป็นไปได้ว่า jelly coat ถูกสร้างขึ้นโดยทั้งเซลล์ไข่และ follicular cells เซลล์ Oc₄ บางเซลล์ยังยึดติดอยู่กับเยื่อเกี่ยวพันของ trabeculae โดยก้านไซโทพลาซึมที่ยาวเรียว

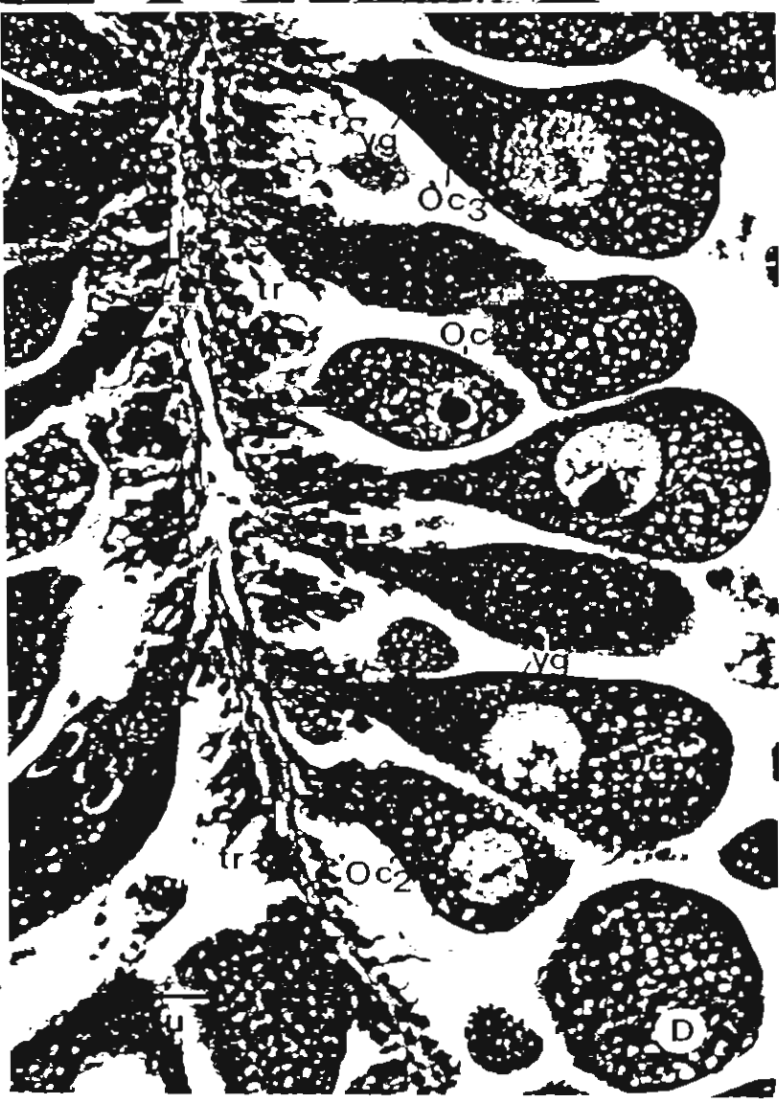
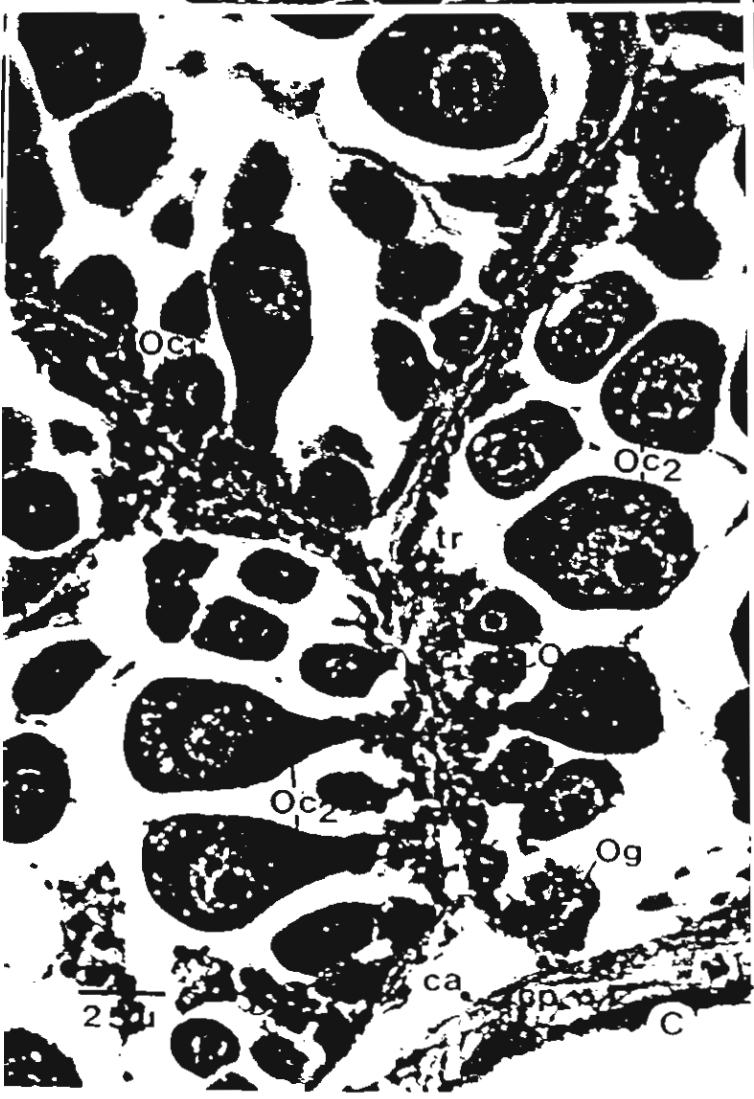
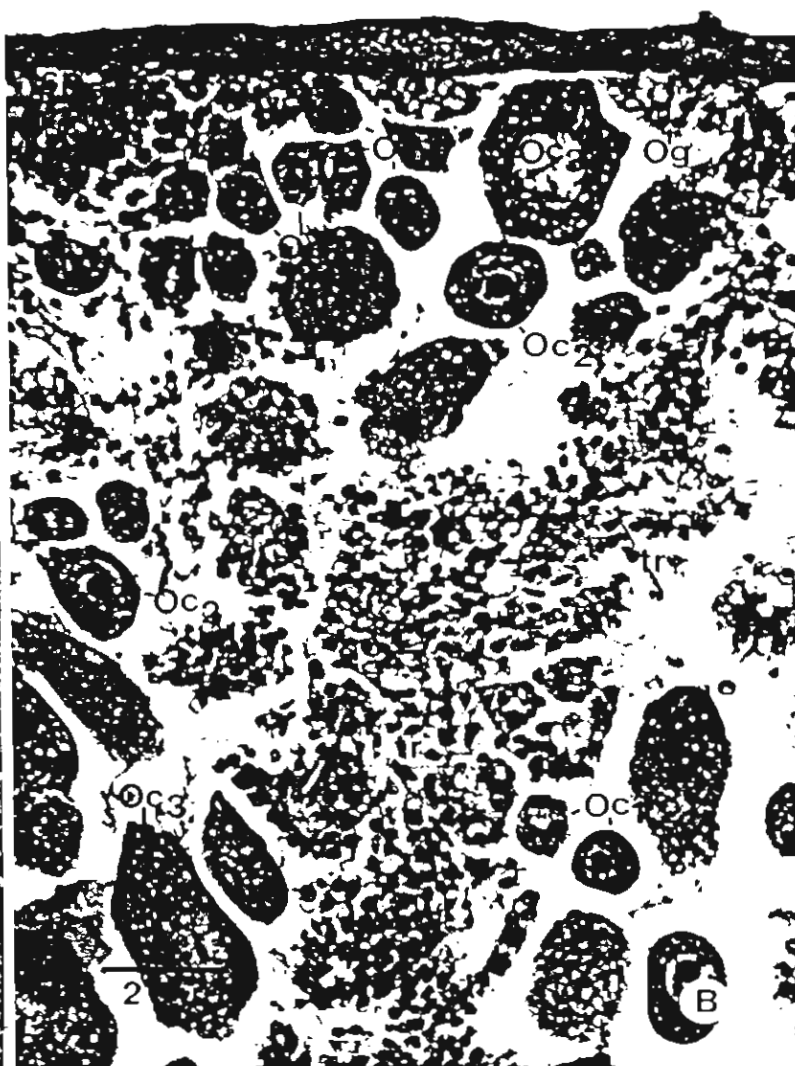
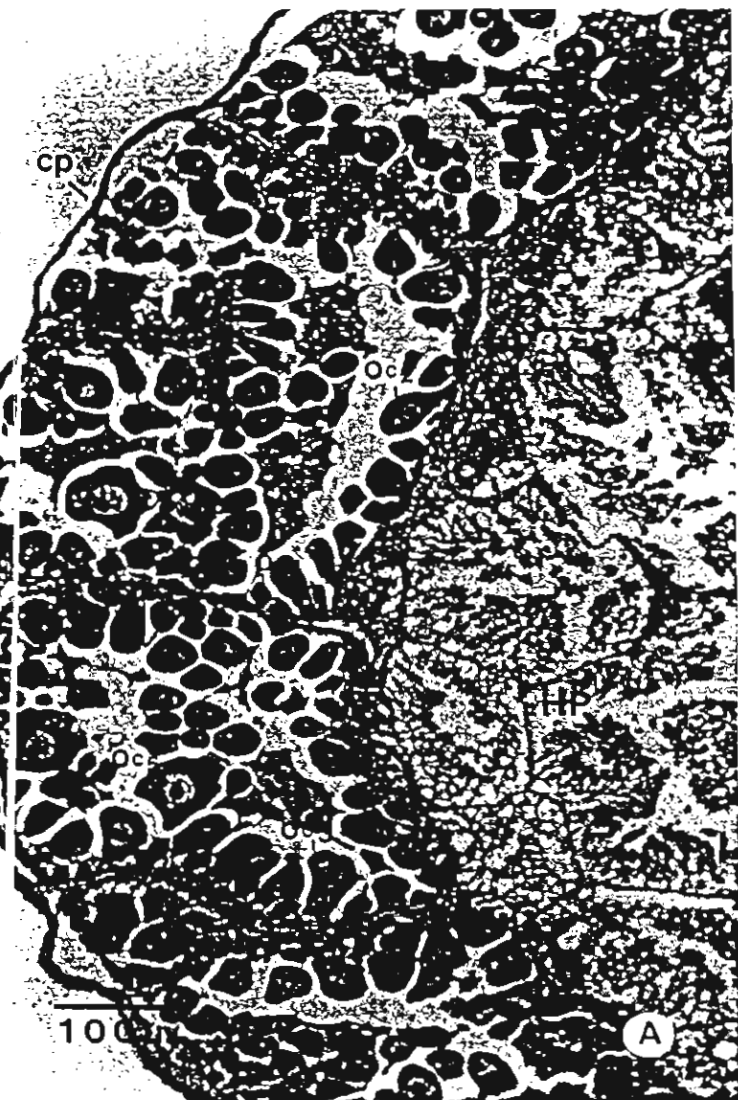
Oocyte ระยะที่ 5 (Oc₅) (รูปที่ 66B-D; 67C,D)

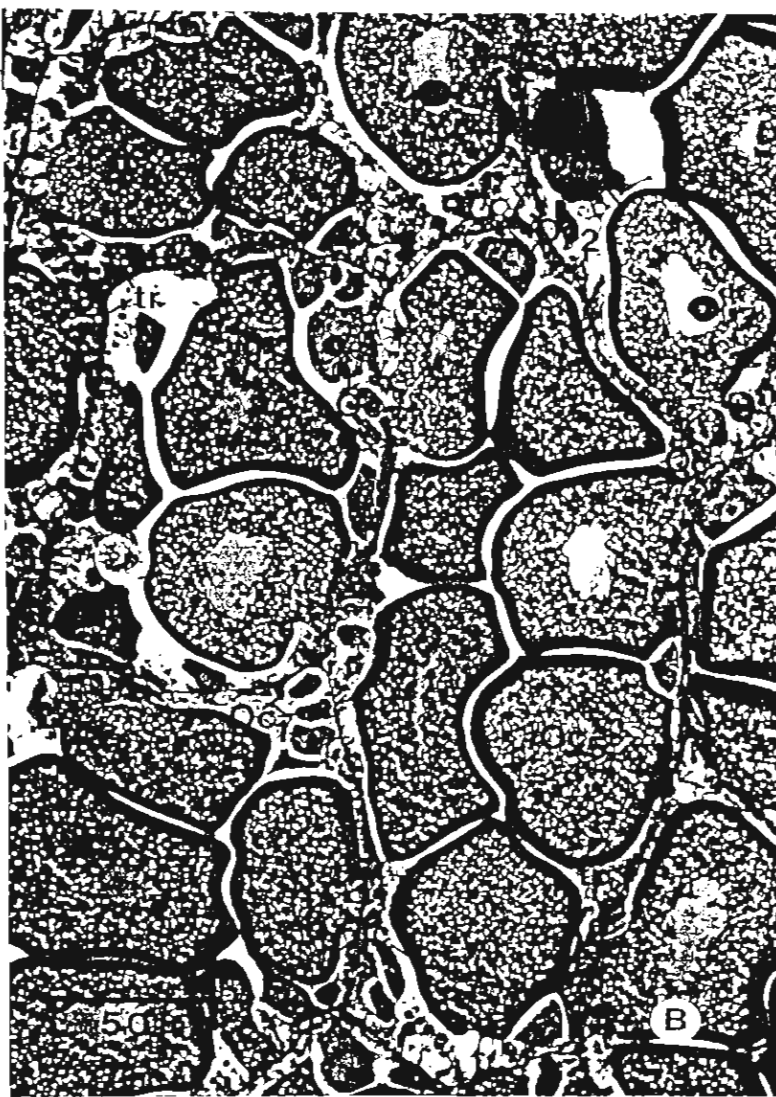
เป็นเซลล์ไข่ที่พัฒนาเต็มที่ และเป็นขั้นสุดท้ายก่อนหน้าที่จะตกไข่ออกไปจากตัวหอย เซลล์ระยะนี้แบ่งออกเป็นสองกลุ่มย่อยที่มีลักษณะของก้อน yolk แตกต่างกัน แต่ลักษณะอื่น ๆ เหมือนกัน เซลล์ระยะนี้มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีขนาดเซลล์ประมาณ 70 x 140 μm และขนาดนิวเคลียสประมาณ 40 μm นิวเคลียสของเซลล์ในระยะนี้มีลักษณะเช่นเดียวกับนิวเคลียสของเซลล์ Oc₄ โดยมีโครมาตินที่กลายเป็น euchromatin ทั้งหมด และนิวคลีโอลัสโปร่ง

รูปที่ 65 ภาพ LM paraffin sections ของรังไข่ที่ย้อมด้วยสี H & E แสดงเซลล์ oogonia (og) และ oocytes ขั้นต้น (Oc_1 , Oc_2 , Oc_3) ที่ยังติดอยู่กับแผ่น trabeculae (tr)

รูปที่ 66 ภาพ LM paraffin sections ของรังไข่ที่ย้อมด้วยสี PAS แสดงเซลล์ oocytes ขั้นปลาย (Oc_4 , Oc_5) ซึ่งพัฒนา jelly coat (jc) เกือบเต็มที่

รูปที่ 67 Semithin sections ของรังไข่ที่ย้อมด้วยสี methylene blue แสดงเซลล์ oocytes ขั้นต่าง ๆ (Oc_1 , Oc_2 , Oc_3 , Oc_4 , Oc_5) oogonia (Og) และเซลล์ต่าง ๆ ใน trabeculae (tr), yg-yolk granules, jc-jelly coat, gm-granular cells in trabeculae







6.12 การศึกษาลักษณะโครงสร้างละเอียดของเซลล์สืบพันธุ์ชั้นต่าง ๆ ในรังไข่ โดยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ TEM

เราสามารถแยกเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในหอยเป่าฮื้อ ที่มีอยู่ในรังไข่ตามลักษณะที่ปรากฏในจุลทรรศน์ธรรมดาออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะ Oogonia, Oocyte I, Oocyte II, Oocyte III, Oocyte IV และ Oocyte V ตามที่กล่าวมาแล้วในข้อ 6.11 เราได้ศึกษาโครงสร้างละเอียดของเซลล์แต่ละชั้นเพิ่มเติมโดย TEM และได้ข้อสรุปดังนี้

Oogonia (Og)

ใน semithin section ที่ย้อมด้วยสี methylene blue Og เป็นเซลล์รูปร่างกลม มีขนาดประมาณ 8-10 μm เกาะติดอยู่กับเยื่อเกี่ยวพันของ trabeculae โดยเฉพาะด้านที่อยู่ใกล้กับ capsule นิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสอยู่ 1 หรือ 2 อันซึ่งปรากฏเด่นชัด มีแถบ heterochromatin บาง ๆ เกาะอยู่ตามขอบในของนิวเคลียส เนื้อนิวคลีโอลัสมีสีเข้มค่อนข้างใส และมักมีก้อน heterochromatin เล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไป ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยและติดสี methylene blue ค่อนข้างเข้ม ซึ่งแสดงว่ามีก้อน ribosomes อัดกันอยู่พอประมาณ ซึ่งสังเกตเห็นได้ใน TEM ระยะนี้ยังไม่มีการพัฒนาอแกเนนเลนชนิดอื่น เช่น rough endoplasmic reticulum (RER) หรือ Golgi complex (GC) อีกทั้งยังไม่ปรากฏ secretory granule (SG) ในไซโตพลาสซึม

Oocyte ระยะที่ 1 (Oc₁)

เซลล์ในระยะนี้มีรูปร่างกลมขนาดประมาณ 12-25 μm เซลล์ชั้นนี้มีลักษณะเด่นคือ ใน Oc₁ ระยะต้น นิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสขนาดใหญ่ขึ้นมากเมื่อเทียบกับใน Og เนื้อนิวคลีโอลัสมีสีเข้มที่บ่งชี้ถึงอิเล็กตรอนมากขึ้น เนื่องจากมีไฮโครมาตินขนาดเล็กอัดกันอยู่แน่น นอกจากนั้นยังมีแถบหนาของ lampbrush chromosomes จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วทั้งนิวเคลียส ทำให้นิวเคลียสปรากฏเป็นลายชัดเจน (รูปที่ 68D,E; 69A-D) lampbrush chromosome ประกอบด้วยเส้นไฮโครมาตินขนาดใหญ่ ซึ่งใน cross section ปรากฏเป็นจุดกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 100-120 nm lampbrush chromosomes โยงต่อกันด้วยเส้นไฮโครมาตินขนาดเล็กซึ่งสานกันอยู่ทั่วทั้งนิวเคลียส (รูปที่ 69B,D,E,F) ไซโตพลาสซึมมีไรโบโซมอัดกันอยู่แน่น ดังนั้นใน semithin section ไซโตพลาสซึมของ Oc₁ จึงติดสี methylene blue ค่อนข้างเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับ Og มีการพัฒนา RER และ GC ขึ้นแต่ยังมีขนาดเล็กและจำนวนน้อย นอกจากนั้นยังมีก้อน SG รูปร่างกลมขนาดประมาณ 560 nm ปรากฏอยู่ประปรายทั่วไซโตพลาสซึม และอาจจะมี lipid droplet อยู่ 1-2 อันต่อส่วนตัดขวางของเซลล์ ขนาดประมาณ 650 nm (รูปที่ 68A-C)

ใน Oc₁ ระยะปลาย เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก (รูปที่ 70A,B) นิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสที่ขยายใหญ่ขึ้น และที่บ่งชี้ถึงอิเล็กตรอนน้อยลง โดยขอบนอกมีความทึบมากกว่าส่วน

กลาง ซึ่งสามารถสังเกตเห็นเส้นใยและก้อนของสารอัดกันแน่นอยู่ 2 ก้อน (รูปที่ 71A-C) จากนิวคลีโอลัสมีสายใยโครมาตินขนาดต่าง ๆ ทอดออกไปเป็นเส้นตรงตั้งฉากกับผิวของนิวคลีโอลัส (รูปที่ 71A-C) Lampbrush chromosomes เหลืออยู่น้อยเมื่อเทียบกับระยะต้น ส่วนมากจะคลี่ออกไปเป็นเส้นใยขนาดกลาง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 40-60 nm และเส้นใยขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 7-12 nm ซึ่งสานกันอยู่ทั่วทั้งนิวเคลียส บางบริเวณในนิวเคลียสมีก้อนที่บวมใสเล็กน้อยที่ประกอบด้วยเม็ดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 25 nm อัดกันอยู่แน่น ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ precursors ของไรโบโซม (รูปที่ 70C-F; 73E) ในไฮโดพลาสซึมมี lipid droplets อยู่น้อยมากหรือไม่มีเลย เนื้อของไฮโดพลาสซึมประกอบด้วยใย microtrabeculae ที่สานกันไปมาและมีไรโบโซมเกาะอยู่อย่างหนาแน่น มีไมโทคอนเดรียกระจายอยู่ทั่วไปจำนวนมาก แต่มีออร์แกเนลล์ชนิดอื่น ได้แก่ RER และ GC อยู่น้อยมาก ในระยะนี้ยังไม่ปรากฏ secretory granules นอกจากที่เหลื้อมาจากระยะ Oc, ตอนต้น ลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ของ Oc, ขึ้นปลายคือ ก้อนสารที่บวมใสเล็กน้อยที่กระจายอยู่รอบ ๆ นิวเคลียส บางก้อนอยู่ติดกับผนังนิวเคลียส โดยเฉพาะบริเวณที่มีนิวคลีโอลัส (nucleopores) อยู่มาก (รูปที่ 70B-D) ก้อนเหล่านี้ประกอบด้วยเม็ดเล็ก ๆ ที่อัดกันแน่น และที่ขอบของก้อนมีเส้นใยแตกออกไปเชื่อมกับ microtrabecular fibers ที่มีเม็ดไรโบโซมเกาะอยู่ (รูปที่ 70D-F) อาจจะเป็นไปได้ว่าก้อนเหล่านี้คือ ไรโบโซมที่เพิ่งผ่านออกมาจากนิวเคลียส และกระจุกตัวอยู่บนใย microtrabeculae ก้อนหน้าที่ไรโบโซมจะกระจายออกไป พร้อมกับสารคัดของใย microtrabeculae กลายเป็นร่างแหที่มีลักษณะโปร่งที่มีไรโบโซมเกาะอยู่ เช่นที่พบในไฮโดพลาสซึมทั่วไป เราจึงเรียกก้อนเหล่านี้ว่า ribosomal microtrabecular mass (RMM)

จากข้อมูลดังกล่าวทำให้เราคิดว่า Oc, ที่เคยเป็นเซลล์ที่ถูกจัดเป็นกลุ่มเดียวเมื่อสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา น่าจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ Oc, ขึ้นต้น ซึ่งเป็นตอนที่มีการสังเคราะห์ DNA อย่างรวดเร็วจนกระทั่งทำให้เกิด lampbrush chromosomes หนาเนื่องจากสายใย DNA ที่เพิ่มจำนวนยังไม่แยกตัวจากกัน ต่อจากนั้นเมื่อถึง Oc, ขึ้นปลาย lampbrush chromosomes เริ่มคลี่และใยโครมาตินกระจายออกทั่วทั้งนิวเคลียส นิวคลีโอลัสเองก็มีการสร้างไรโบโซมออกมามากมาย ซึ่งจะเห็นจากการขยายตัวของมัน โดยภายในปรากฏเป็นเส้นใยบาง ๆ เซลล์ขั้นนี้มีลักษณะเด่นมากคือ มีก้อนที่บวมใสในไฮโดพลาสซึมที่มักอยู่ติดกับผนังนิวเคลียส ที่อาจจะเป็นก้อนที่เกิดจากการกระจุกตัวของไรโบโซมก่อนที่จะกระจายออกไปทั่วทั้งไฮโดพลาสซึม ระยะ Oc, จึงเป็นระยะที่มีทั้งการสังเคราะห์ DNA ในรูปของ lampbrush chromosomes และการสร้างไรโบโซมในปริมาณสูงมากที่เริ่มกระจายออกไปสู่ไฮโดพลาสซึม จึงอาจเรียกว่าเซลล์ขั้นนี้เป็น Ribosomal stage

Oocyte ระยะที่ 2 (Oc₂)

เป็นเซลล์ที่ยังมีรูปร่างกลม มีด้านหนึ่งติดแน่นอยู่กับแผ่น trabeculae ของรังไข่ เซลล์มีขนาดประมาณ 25-35 μm ลักษณะเด่นที่สังเกตเห็นได้ใน semithin section คือมี lipid droplet เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก และมักจะเกาะกันอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ภายในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 67B; 72A) นิวคลีโอลัสมีขนาดใหญ่ และมีความโปร่งแสงอิเล็กตรอนใกล้เคียงกับที่เห็นใน Oc₁ ขึ้นปลาย โครมาตินส่วนใหญ่คลี่ออกเป็นสายใยขนาดเล็กที่สานกันไปมา โดยมีปริมาณ lampbrush chromosomes ลดลง (รูปที่ 73A,C,D) ในระยะนี้มี nucleopore จำนวนมากและสังเกตเห็นได้ชัด nucleopore แต่ละอันประกอบด้วยก้อน central complex 1 ก้อน ล้อมรอบด้วย peripheral complexes 6-8 ก้อน (รูปที่ 73F) นอกจากการเพิ่มจำนวน lipid droplet แล้ว ลักษณะเด่นอีกประการหนึ่งในไซโตพลาสซึมคือ การเพิ่มจำนวนของ Golgi complexes (GC) ซึ่งมีกระจายอยู่เกือบทั่วทั้งไซโตพลาสซึม ถึงแม้ GC แต่ละอันจะมีการพัฒนาเป็นเยื่อซ้อนกันหลายชั้น และดูเกือบจะสมบูรณ์ แต่ก็ยังไม่มีการสร้าง secretory granules (SG) ที่เห็นได้ชัด (รูปที่ 72B,C) เนื้อไซโตพลาสซึมประกอบด้วยใย microtrabeculae สานกันไปมา และมีไรโบโซมเกาะอยู่จำนวนมาก (รูปที่ 72C-E) บางบริเวณมี ribosomal-microtrabecular mass (RMM) ที่ยังคงเหลืออยู่จากระยะ OC₁ แต่โดยทั่วไป RMM มีปริมาณน้อยกว่าที่พบใน Oc₁ มาก ในระยะ Oc₂ มีการเริ่มสร้าง SG ที่กระจายอยู่เป็นกลุ่มเล็ก ๆ โดย SG มี 2 แบบคือ แบบที่หนึ่ง (SG₁) เป็นก้อนกลมขนาดประมาณ 400-450 nm ภายในมีเนื้อที่โปร่งแสงอิเล็กตรอน แบบที่สอง (SG₂) มีลักษณะเป็นก้อนกลมขนาดประมาณ 330-370 nm ภายในมีเนื้อค่อนข้างโปร่งแสงอิเล็กตรอน จากการสังเกตลักษณะและการกระจายของ SG₁ ที่พบในระยะ Oc₄ และ Oc₅ ทำให้เราคิดว่า SG₁ คือ แกรนูลที่มีสารสร้าง vitelline-jelly coat ส่วน SG₂ อาจจะเป็น cortical granules เซลล์ Oc₂ จึงเป็นระยะที่เซลล์เตรียมตัวสร้าง SG โดยการเพิ่มปริมาณและขนาดของ GC ทั่วทั้งไซโตพลาสซึม จึงอาจจะเรียกว่าเป็นระยะ Golgi stage

Oocyte ระยะที่ 3 (Oc₃)

ระยะนี้เซลล์เริ่มแยกตัวออกจาก trabeculae โดยเซลล์มีลักษณะคล้ายขวด (flask) มีด้านแคบหรือขั้วติดอยู่กับ trabeculae ลักษณะเด่นคือ เซลล์เริ่มมีแกรนูลที่โปร่งแสงขนาดใหญ่เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึมซึ่งอาจจะเป็น yolk granules (รูปที่ 67B; 74A) เซลล์ Oc₃ มีขนาดประมาณ 35 x 70 μm นิวเคลียสมีลักษณะคล้ายกับของ Oc₂ แต่มี lampbrush chromosomes เหลืออยู่จำนวนน้อย โดยส่วนมากปรากฏเป็นท่อนสั้น ๆ โครมาตินส่วนมากกลายเป็นสายใยขนาดเล็กที่สานกันไปมาทั่วทั้งนิวเคลียส (รูปที่ 74B) ลักษณะเด่นของไซโตพลาสซึม คือการเพิ่มปริมาณแกรนูลโดยเฉพาะ SG₁ และ SG₂ ซึ่งมักรวมกันอยู่เป็นกลุ่มใหญ่ ๆ กระจายเป็นกระจุกอยู่

ทั่วทั้งไซโตพลาสซึม โดย SG_1 มักมีปริมาณมากกว่า SG_2 (รูปที่ 74C) ในกลุ่ม SG แต่ละกลุ่มมักจะมี Golgi complex อยู่อย่างน้อย 1 อัน โดยบริเวณใกล้ ๆ กับ GC มักมี transitional granules ขนาดต่าง ๆ กระจายอยู่รอบ ๆ (รูปที่ 74C-E) ใน SG แต่ละกลุ่มจะมีทั้ง SG_1 และ SG_2 อยู่ปะปนกัน ส่วน Yolk granules ซึ่งมีขนาดใหญ่และทึบแสงอิเล็กตรอนยังมีจำนวนค่อนข้างน้อย ในบางบริเวณของไซโตพลาสซึมอาจมี ribosomal-microtrabecular mass เหลืออยู่ (รูปที่ 74F) Oc_3 จึงถือได้ว่าเป็นระยะที่มีการสร้าง SG ในอัตราสูงและปริมาณมาก จึงอาจจะเรียกว่าเป็นระยะ SG-synthetic stage

Oocyte ระยะที่ 4 (Oc_4)

ระยะนี้เซลล์เกือบจะแยกตัวออกจากแผ่น trabeculae โดยยังคงมีเพียงขั้วเรียวแคบโยงติดกับเยื่อเกี่ยวพันของ trabeculae (รูปที่ 67D) ตัวเซลล์มีขนาดประมาณ $50 \times 80 \mu m$ ลักษณะเด่นของเซลล์ชนิดนี้ที่สังเกตเห็นใน semithin section คือปริมาณ lipid droplets ที่มีจำนวนมาก และกระจายอยู่เกือบทั่วทั้งไซโตพลาสซึม และจำนวน yolk granules ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 75A,B) เมื่อสังเกตด้วย TEM Oc_4 มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ ภายในมีนิวคลีโอลัสขนาดใหญ่และโปร่งแสงอิเล็กตรอนมากกว่าชั้น Oc_{1-3} ภายในนิวคลีโอลัสปรากฏเป็นแถบเข้มสานกันไปมาในพื้นที่ค่อนข้างโปร่งแสงอิเล็กตรอน บางแห่งอาจจะมี nucleolar vacuoles เกิดขึ้นด้วย (รูปที่ 76A,C,D) รอบ ๆ ขอบนิวคลีโอลัสมีใยโครมาตินขนาดเล็กแผ่ออกมาจากผิว (รูปที่ 76B) lampbrush chromosomes เหลืออยู่น้อยมาก โดยโครมาตินส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นใยขนาดเล็กและละเอียดสานกันไปมา (รูปที่ 76E,F)

ในไซโตพลาสซึมของ Oc_4 นอกจากมี lipid droplets ขนาดประมาณ 1500-3000 nm และ SG_1 และ SG_2 จำนวนมากแล้วยังมี yolk granules (yg) ที่มีลักษณะเป็นรูปไข่และมีเนื้อทึบแสงอิเล็กตรอนขนาดประมาณ 1500-2500 nm กระจายอยู่ทั่วไป (รูปที่ 76A-D) เนื้อไซโตพลาสซึมระหว่าง granules และ lipid droplets ค่อนข้างทึบกว่าใน Oc_3 และประกอบด้วยไรโบโซมอัดกันอยู่แน่น (รูปที่ 75C,F) ผิวของ Oc_4 ปรับเป็นแผง microvilli จำนวนมากยื่นออกไปในชั้น vitelline หรือ jelly coat ที่มีเนื้อใสและสม่ำเสมอห่อหุ้มเยื่อหุ้มเซลล์ vitelline และ jelly coat ไม่แยกจากกันเหมือนในไข่ของหอยเม่น (sea urchin) หรือไข่ของหอยเป่าอื้อที่พบในเขตอบอุ่น ซึ่งแยกเป็นสองชั้นชัดเจน ชั้น vitelline-jelly coat อาจถูกสร้างโดยการหลั่งสารจาก SG_1 ออกมาเชื่อมกับเยื่อหุ้มเซลล์ (รูปที่ 75D) นอกจาก SG_1 แล้วส่วนของไซโตพลาสซึมที่อยู่ใต้เยื่อหุ้มมักมี mitochondria กระจายอยู่จำนวนมาก (รูปที่ 75F) เซลล์ Oc_4 จึงเป็นระยะที่มีการสร้าง yolk granules เพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และเริ่มมีการสร้าง vitelline-jelly coat (VJC) พร้อมกันด้วย จึงอาจจะเรียกว่าเป็น YG-VJC synthetic stage

Oocyte ระยะที่ 5 (Oc₅)

เซลล์ Oc₅ เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่สุดประมาณ 90 x 110 μm ใน semithin section เซลล์ระยะนี้ติดสี methylene blue เข้มกว่าระยะ Oc₃ และ Oc₄ เนื่องจากมี yolk granules ขนาดใหญ่ (1600-3400 nm) ซึ่งติดสีน้ำเงินเข้มเพิ่มจำนวนมากขึ้น และกระจายอยู่อย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งไซโตพลาสซึม ชั้น vitelline-jelly coat รอบเซลล์ Oc₅ มีความหนาสม่ำเสมอแตกต่างจากระยะ Oc₄ ซึ่งมี vitelline-jelly coat บางและขนาดไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 67C,D) เมื่อสังเกตด้วย TEM นิวเคลียสของ Oc₅ มีขนาดใหญ่มาก นิวคลีโอลัสเด่นและขยายใหญ่ทำให้โปร่งแสงอิเล็กทรอนิกส์เช่นเดียวกับนิวเคลียสใน Oc₄ lampbrush chromosomes ไม่เหลืออยู่เลยและโครมาตินส่วนมากมีลักษณะเป็นเส้นใยละเอียดขนาดเล็กสานกันไปมาทั่วทั้งนิวเคลียส จึงทำให้นิวเคลียสดูใสสม่ำเสมอ และค่อนข้างโปร่งแสงอิเล็กทรอนิกส์เช่นเดียวกับ Oc₄ (รูปที่ 76E,F; 77A,B) ภายในไซโตพลาสซึมมี SG₁, SG₂ ซึ่งเป็นแกรนูลขนาดเล็กที่กระจายอยู่ทั่วไป แต่มักจะมีจำนวนมากเป็นพิเศษที่บริเวณไซโตพลาสซึมได้เชื่อมหุ้มเซลล์ โดยมีจำนวนหนึ่งเคลื่อนออกไปเชื่อมกับเยื่อหุ้ม การรวมตัวของแกรนูล SG₁ และ SG₂ ได้เชื่อมหุ้มเซลล์น่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้สังเกตเห็นแถบสีน้ำเงินบาง ๆ ได้เชื่อมหุ้มเซลล์ทั้งใน paraffin และ semithin sections บางเซลล์มีการปล่อยสารจาก SG₁ ออกไปสู่ vitelline jelly coat โดย exocytosis ทำให้ vitelline-jelly coat เปลี่ยนจากสภาพที่มีเนื้อโปร่งแสงสม่ำเสมอ กลายเป็นลักษณะที่มีเส้นใยหนาติดสีเข้มสานกันไปมา (รูปที่ 78A,B,E,F) ในรูปขยายใหญ่ vitelline-jelly coat ในสภาพที่มีเนื้อสม่ำเสมอนั้นที่จริงแล้วประกอบด้วยเส้นใยขนาดเล็กสานกันอยู่แน่นและสม่ำเสมอ (รูปที่ 78C) แต่ในสภาพที่ถูกกระตุ้นจากการปล่อยสารจาก SG₁ จำนวนมาก เส้นใยเหล่านี้รวมกันเป็นมัด ๆ ขนาดใหญ่ขึ้น จึงทำให้เกิดมีช่องว่างระหว่างใยเหล่านี้ (รูปที่ 78C,E,F)

นอกจากลักษณะพิเศษของ vitelline-jelly coat และชั้นรอบนอกของไซโตพลาสซึมแล้ว Oc₅ ยังมีก้อน yolk granule ขนาดใหญ่ที่ทึบแสงอิเล็กทรอนิกส์อัดกันอยู่ทั่วทั้งไซโตพลาสซึม lipid droplets ก็มีจำนวนมาก และกระจายทั่วเซลล์ยกเว้นบริเวณไซโตพลาสซึมรอบ ๆ นิวเคลียส (รูปที่ 77A-F) ระยะ Oc₅ จึงเป็นระยะที่เซลล์ได้พัฒนาส่วนต่าง ๆ สมบูรณ์ และอาจเรียกว่าเป็น mature stage

รูปที่ 68 A-F) ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte ระยะต้น แสดง lampbrush chromosomes (Ch) nucleolus (no) granules (gr) ขนาดเล็กในไซโตพลาสซึม และแถบ rough endoplasmic reticulum (rer)

รูปที่ 69 A-C) ภาพ TEM ของ lampbrush chromosome (Ch) และ nucleolus (no) ที่มี vacuole (va)

D-F) ภาพแสดงใยโครโมโซมขนาดต่าง ๆ กัน 3 ขนาดในตัว lampbrush chromosomes และบริเวณรอบ ๆ (1, 2, 3)

รูปที่ 70 A,B) ภาพ TEM ของ oocyte I ระยะปลายแสดงนิวเคลียสที่มี lampbrush chromosomes (Ch) และ nucleolus (no)

D-F) ภาพแสดง ribosomal-microtrabecular mass (rmm) รูป F แสดงการกระจายตัวของ rmm ออกเป็นใย microtrabeculae ที่มีไรโบโซมเกาะอยู่ (ลูกศร)

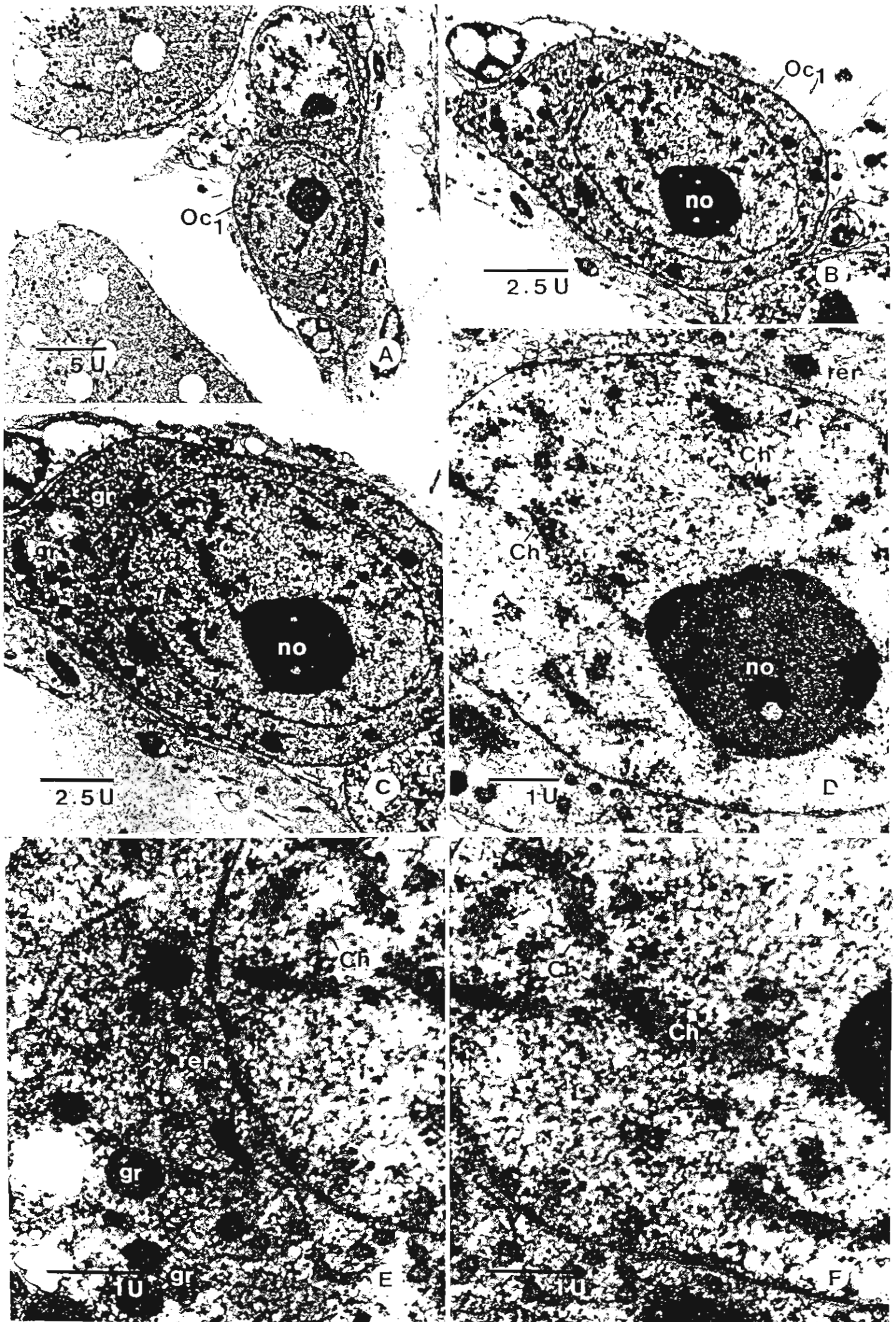
รูปที่ 71 A-C) ภาพ TEM ของ oocyte I ระยะปลาย แสดงนิวคลีโอลัส (no) ที่ขยายใหญ่ และใยโครมาตินรอบ ๆ (Ch)

D-F) ภาพแสดงใยโครมาตินแบบหนาใน lampbrush chromosomes ที่เหลืออยู่ (1) และใยขนาดกลางกับขนาดเล็กที่อยู่รอบ ๆ (2, 3)

รูปที่ 72 ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte II แสดงนิวเคลียส (nu) nucleolus (no) (ภาพ A) ไซโตพลาสซึมที่มี Golgi complex (Gc) อยู่จำนวนมาก (ภาพ B) Golgi complex ล้อมรอบด้วยใย microtrabeculae ที่มีไรโบโซมเกาะอยู่ (ลูกศร) (ภาพ C) แกรนูลขนาดเล็กแบบ SG₁ และ SG₂ (ภาพ D,E) กับ ribosomal microtrabecular mass (rmm)

รูปที่ 73 ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte II แสดง nucleolus ที่ขยายใหญ่ (no) และ lampbrush chromosomes (Ch) ที่เหลืออยู่ (ภาพ A,B) เส้นใยโครมาตินที่คลี่ออกจาก lampbrush chromosomes ขนาดกลางและขนาดเล็ก (2, 3) (ภาพ C,D) และก้อนของ ribosomal mass (rm) (ภาพ E) กับ nucleopore (np) ใน nuclear membrane (ภาพ F)

Figure 68



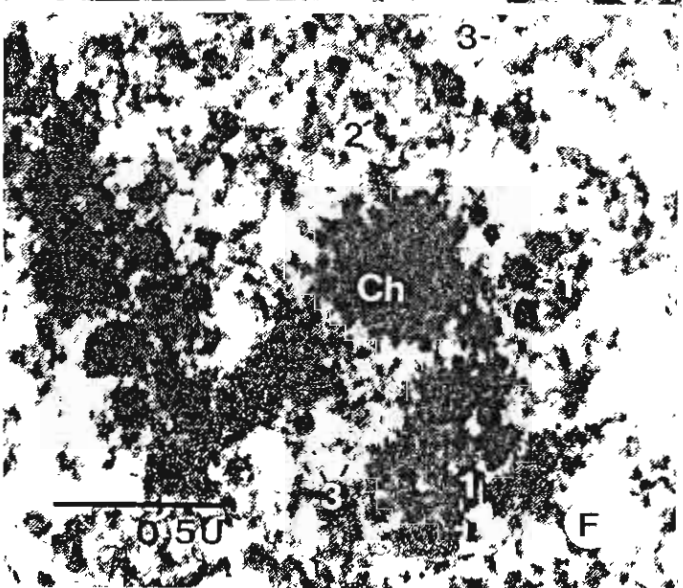
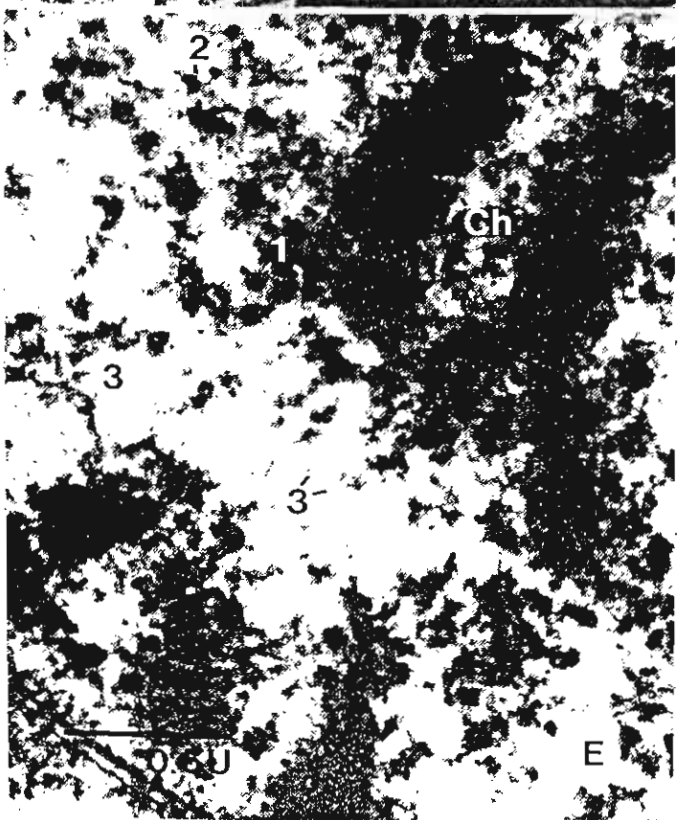
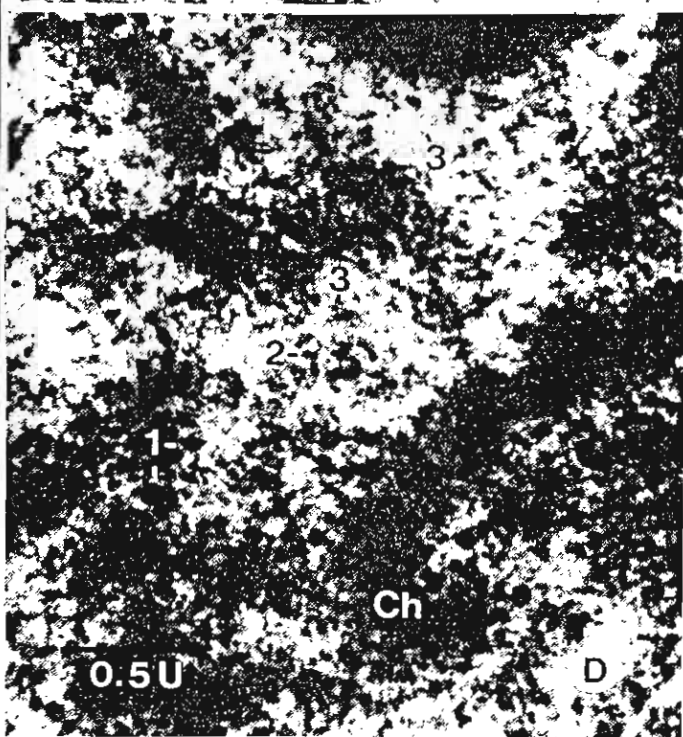
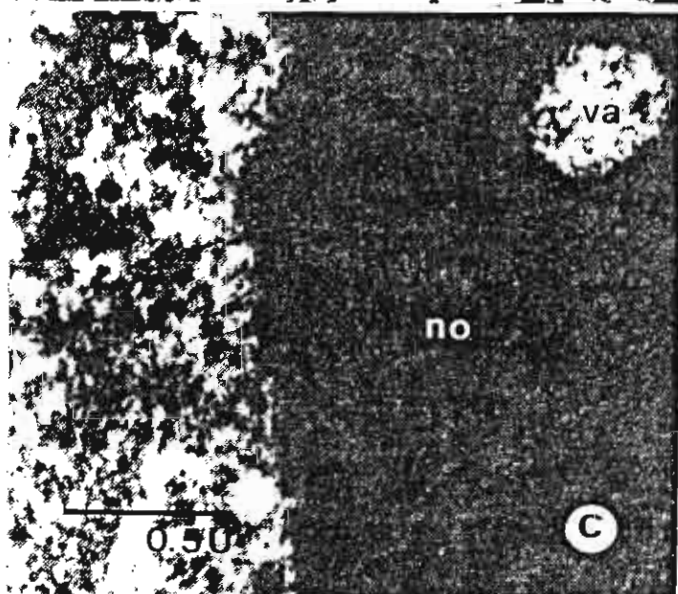
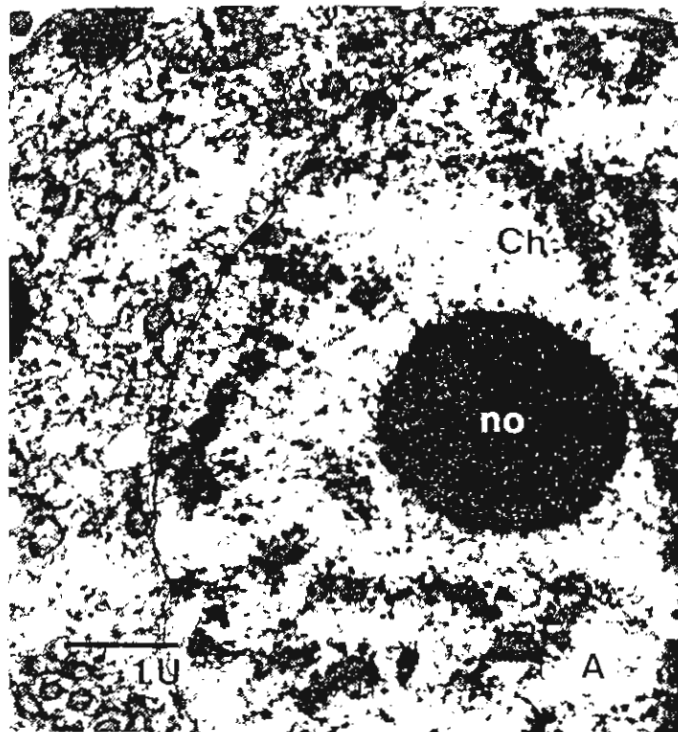


Figure 70

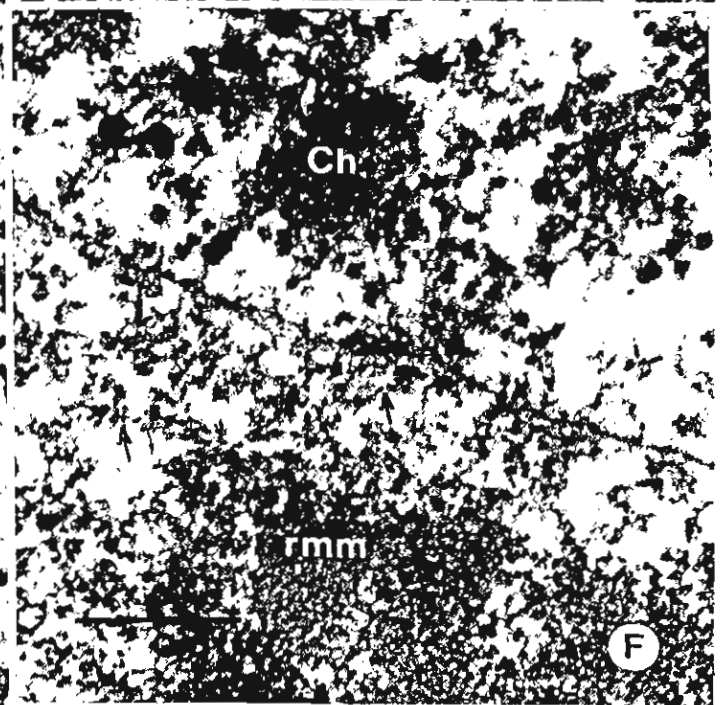
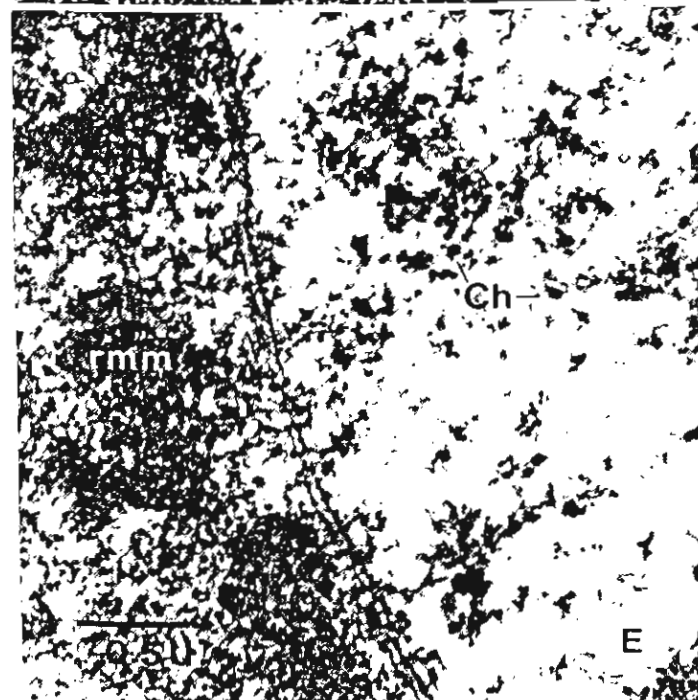
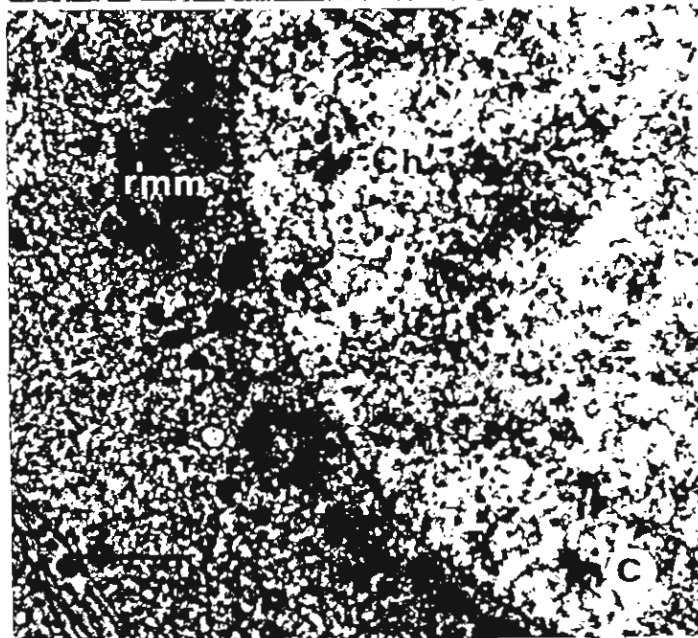
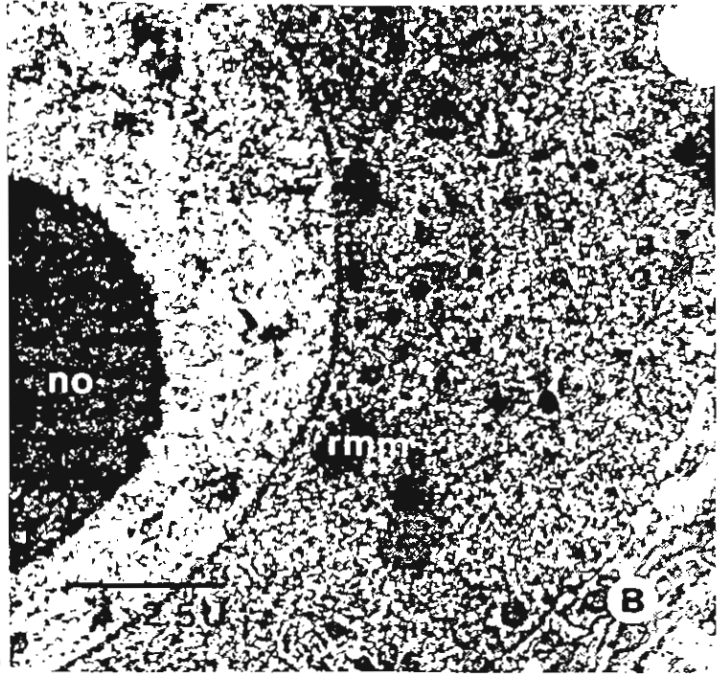


Figure 71

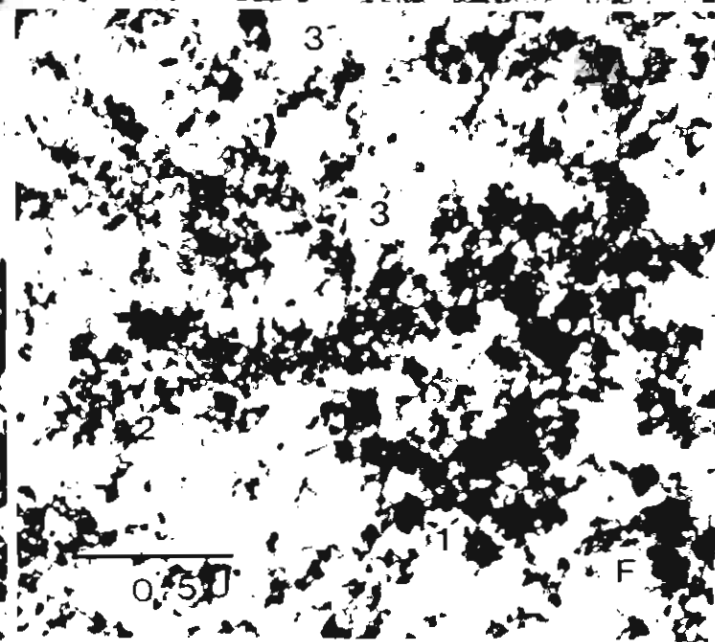
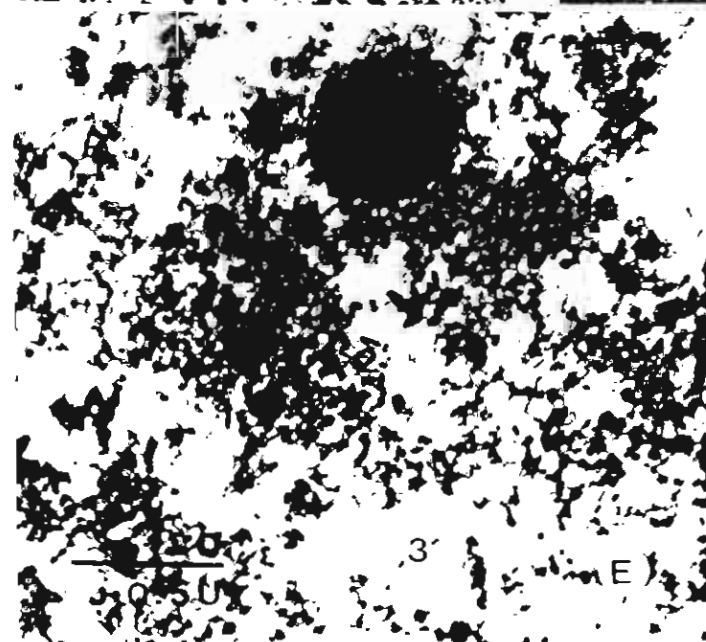
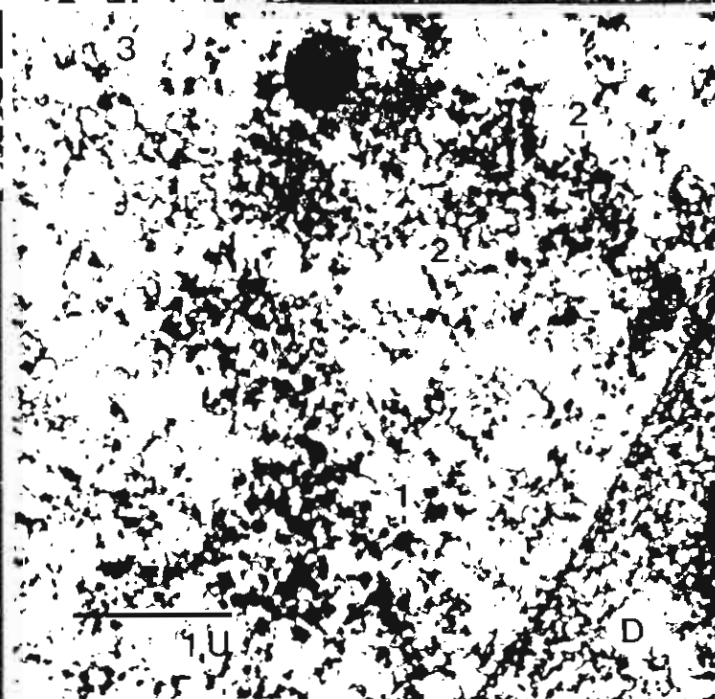
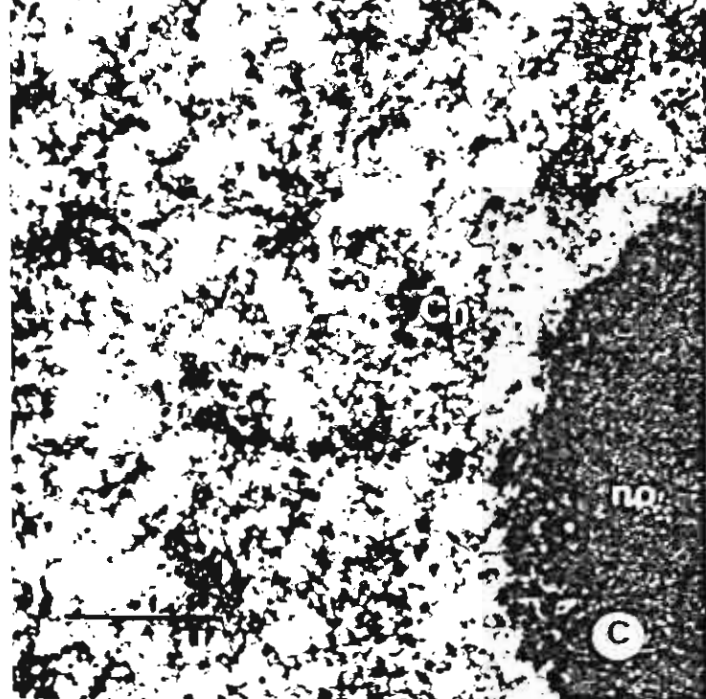
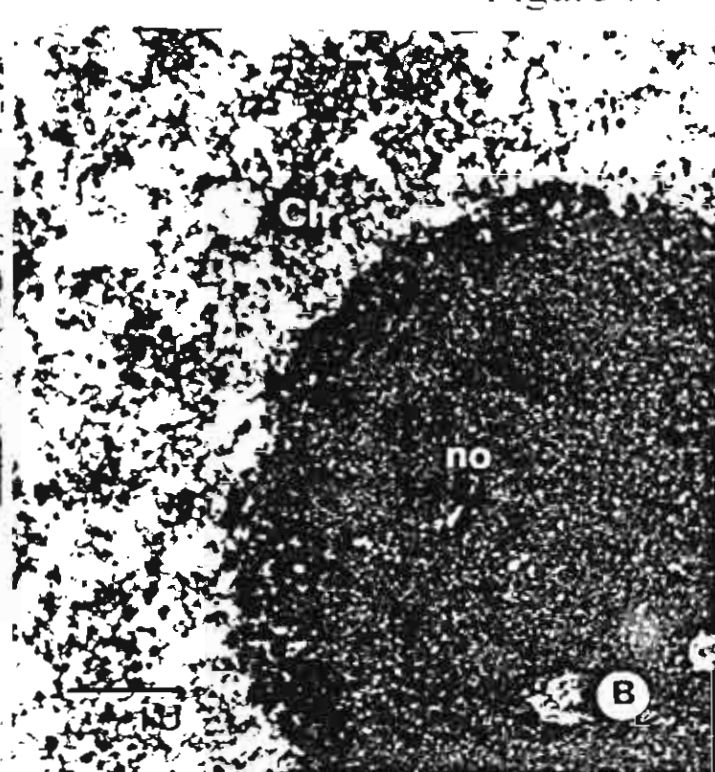


Figure 72

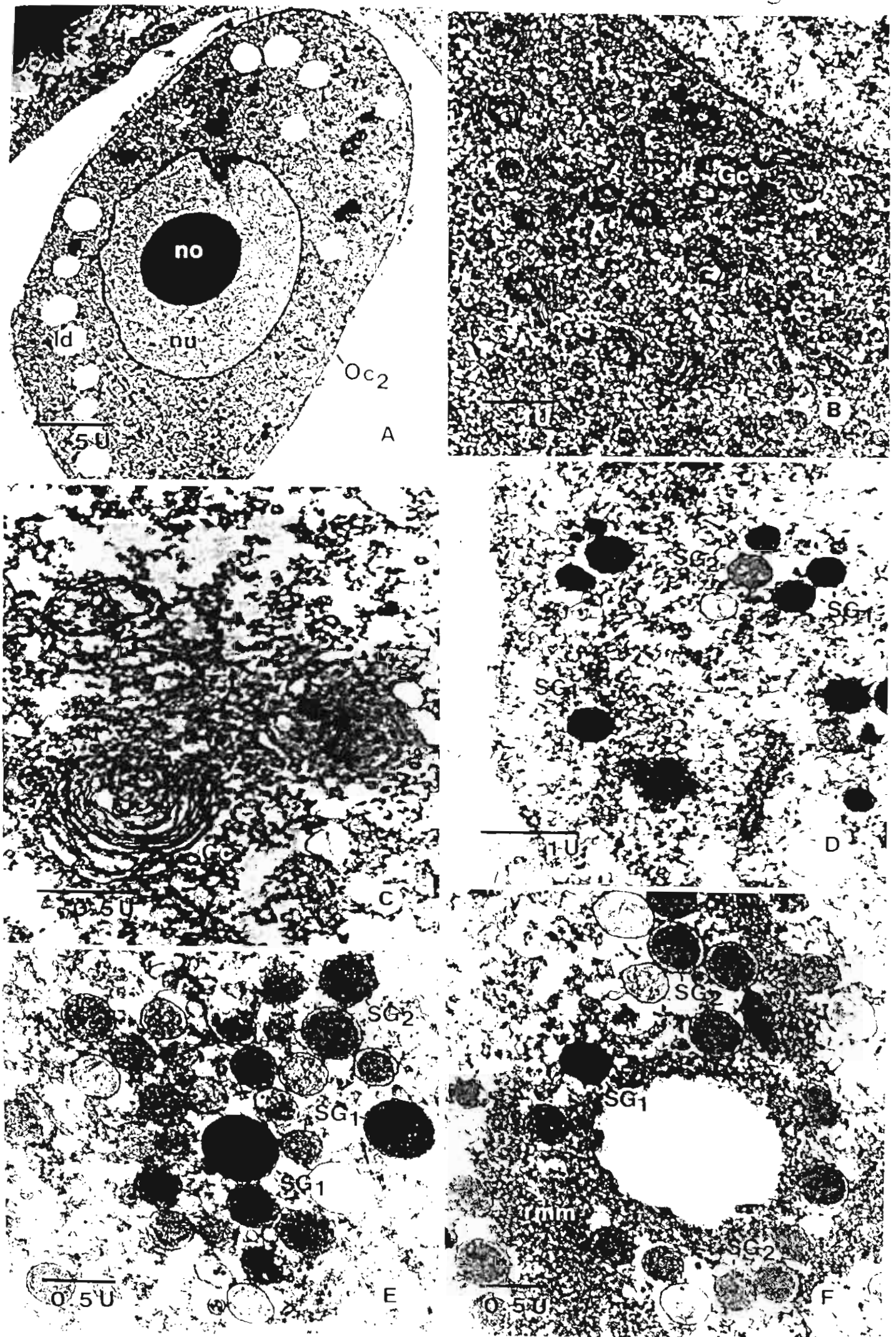
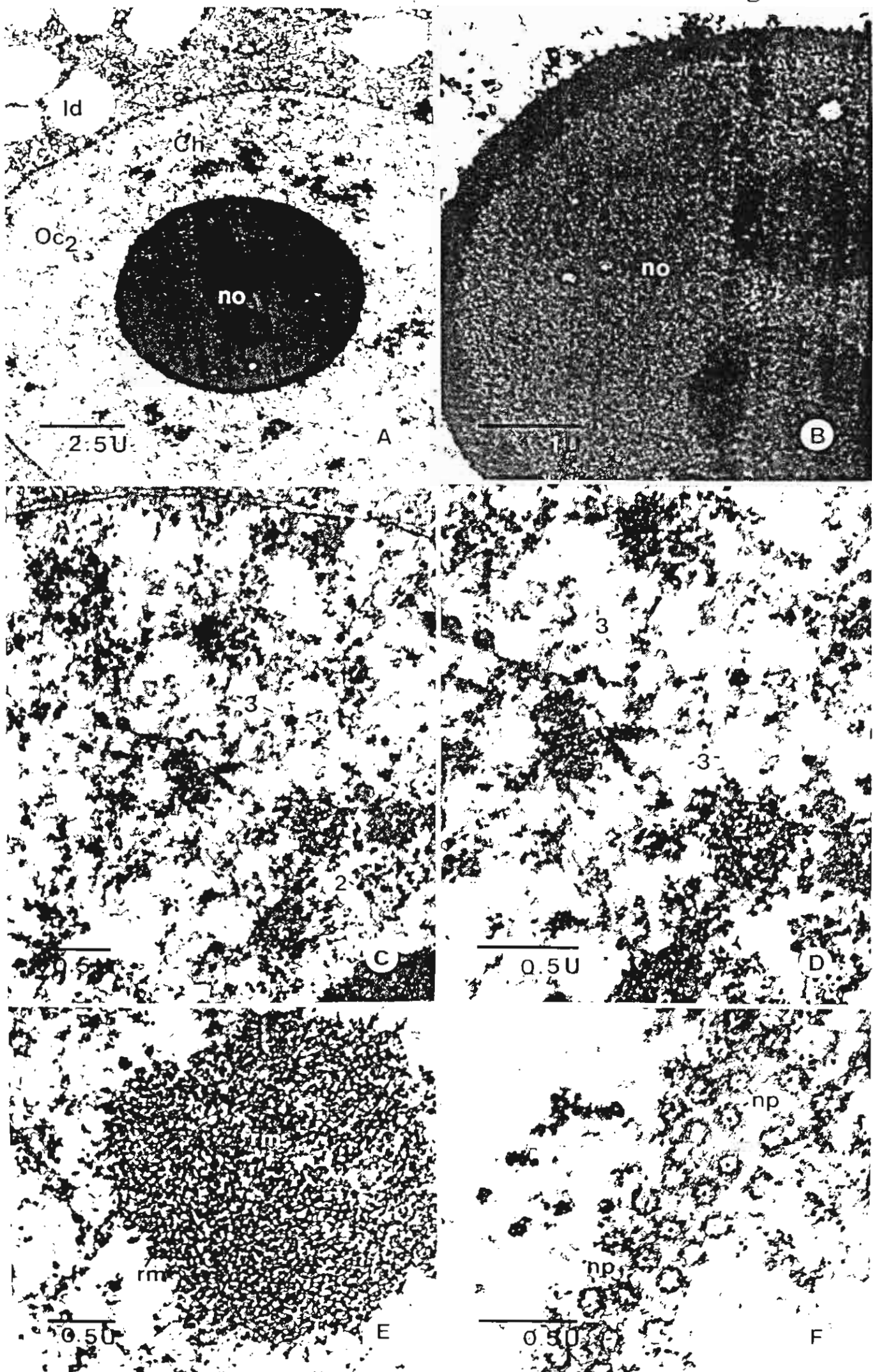


Figure 73



รูปที่ 74 ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte III แสดงนิวเคลียส (nu) และไซโตพลาสซึมที่มีแกรนูล (SG₁, SG₂) อยู่เต็มพร้อมกับ lipid droplets (ld) (ภาพ A,B) แกรนูล SG₁ และ SG₂ อยู่เป็นกลุ่ม ๆ โดยแต่ละกลุ่มมี Golgi complexs (Gc) กำกับอยู่ 1 อัน (ภาพ C,F) บางบริเวณยังมี ribosomal microtrabecular mass (rmm) เหลืออยู่ (ภาพ D,F)

รูปที่ 75 ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte IV แสดงนิวเคลียส (nu) ที่ไล่ไซโตพลาสซึมที่เต็มไปด้วย yolk granules (yg) jelly coat granule (SG₁) cortical granules (SG₂) และ lipid droplets (ld) (ภาพ A,B) ไซโตพลาสซึมระหว่างแกรนูลมีไรโบโซม (ลูกศร) อัดอยู่เต็ม (ภาพ C) ได้เยื่อหุ้มเซลล์มีจำนวนแกรนูล SG₁ และ SG₂ และไมโทคอนเดรีย (Mi) อยู่มากเป็นพิเศษ และในบางเซลล์มี SG₁ เคลื่อนออกไปเชื่อมกับเยื่อหุ้มเซลล์ (ลูกศร) (ภาพ D-F)

รูปที่ 76 A-F) ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte IV แสดงการขยายตัวของนิวคลีโอลัส (no) และการคลี่ของโครมาตินออกเป็นเส้นใยขนาดเล็ก (3) โดยมี lampbrush chromosomes (Ch) เหลืออยู่น้อยมาก

รูปที่ 77 A-D) ภาพ TEM ของเซลล์ oocytes V แสดงนิวเคลียส (nu) และไซโตพลาสซึมที่มี yolk granules (yg) lipid droplets (ld) และแกรนูลขนาดเล็ก (SG₁, SG₂) อัดอยู่เต็ม E,F) ไซโตพลาสซึมระหว่างแกรนูลประกอบด้วย microtrabeculae ที่มีไรโบโซม (ลูกศร) เกาะอยู่อย่างหนาแน่น

รูปที่ 78 A-C) ภาพ TEM ของเซลล์ oocyte V แสดง vitelline-jelly (Vc) coat 2 แบบ แบบที่หนึ่ง (Vc₁) มีลักษณะสม่ำเสมอและประกอบด้วยเส้นใยเล็ก ๆ อัดกันแน่น และแบบที่สอง (Vc₂) เป็นเส้นใยขนาดใหญ่ที่สานกันไปมา E,F) เซลล์ที่ติดกับ Vc₁ ยังไม่มี exocytosis ของ SG₁ ส่วนที่ติดกับ Vc₂ มีการปล่อยสารจาก SG₁ (ลูกศร)

Figure 74

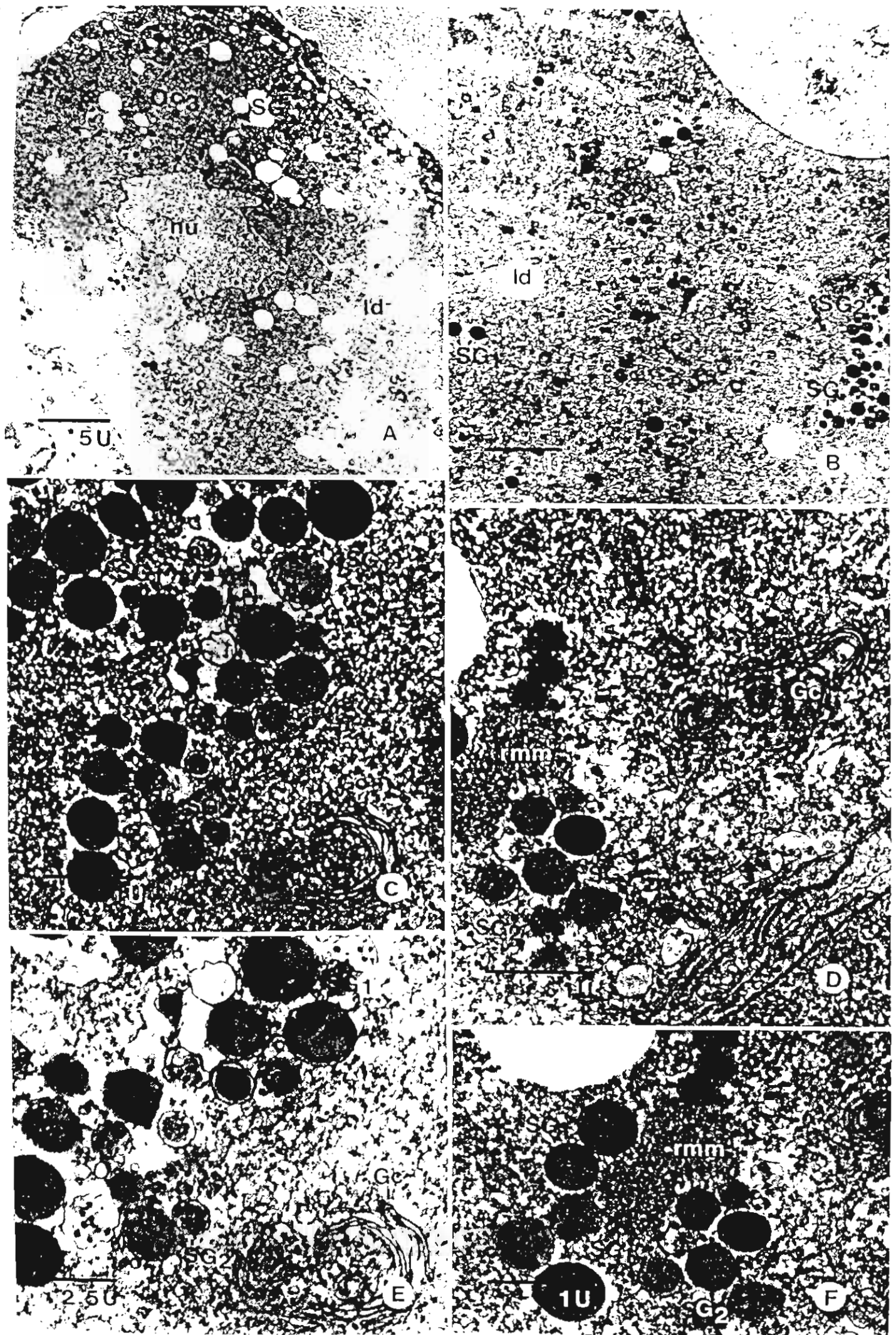


Figure 75

