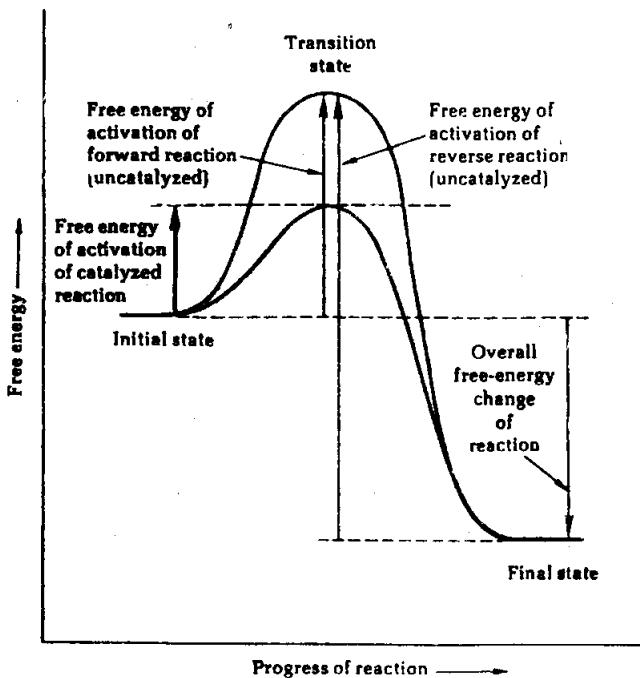


## บทที่ 2 เอนไซม์ (Enzyme)

สุพจน์ ใช้เกียรติวงศ์

เอนไซม์เป็นสารประกอบของโปรตีนหรือโปรตีนที่รวมอยู่กับสารเคมีพ่วงอื่น ดังนั้น คุณสมบัติโดยทั่วไปของเอนไซม์จึงคล้ายกับโปรตีน เอนไซม์จัดเป็น functional protein หรือ โปรตีนซึ่งมีหน้าที่ในการทำให้เกิดปฏิกิริยา เอนไซม์มีหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น (catalyst) ในปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต catalytic agent หมายถึง สารที่สามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้นได้อย่างรวดเร็วโดยที่ตัวเองไม่ได้เปลี่ยนแปลงไปในปฏิกิริยานั้นด้วย คตะลิสต์เป็นเพียงสารเร่งความเร็วของปฏิกิริยาโดยไม่จำเป็นต้องเป็นตัวเริ่มต้น กล่าวคือ ปฏิกิริยานั้นพร้อมที่จะเกิดขึ้นได้อยู่แล้ว ซึ่งถ้ามีสิ่งกระตุ้นปฏิกิริยา ก็เกิดขึ้นได้ทันที และสิ่งกระตุ้นก็ไม่จำเป็นต้องเป็นตัวคตะลิสต์ ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่าตัวคตะลิสต์หรือ catalytic agent คือ สารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาขึ้นได้ง่ายหรือยากนั้นเอง คตะลิสต์มีคุณสมบัติเป็นตัวลด energy of activation หรือลดพลังงานที่จำเป็นต้องใช้ในการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาขึ้น ตัวอย่างเช่น เมื่อนำก้าช์ไฮโตรเจนกับออกซิเจนมาผสานกันในสภาวะปกติ ก้าช์ทั้งสองจะไม่สามารถทำปฏิกิริยาร่วมตัวกันเป็นน้ำได้เอง แต่ถ้าจุดไฟให้ความร้อนเป็นพลังงานเพื่อการกระตุ้นในตอนเริ่มต้น จะทำให้ก้าช์ทั้งสองทำปฏิกิริยาร่วมตัวกันเป็นน้ำได้ หรือถ้าพ่นก้าช์ทั้งสอง ซึ่งผสานกันผ่านเส้นไนต์แกรนูลาตองคำขาว (platinum) ที่อุณหภูมิห้อง จะทำให้เกิดปฏิกิริยา รวมตัวกันเป็นน้ำได้ ในกรณีหลังนี้ เส้นไนต์แกรนูลาตองคำขาวไม่ได้ถูกใช้หรือสูญหายไปในปฏิกิริยา ของการเกิดน้ำด้วย และความร้อนซึ่งใช้เป็นพลังงานเพื่อการตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา ก็ไม่ได้สูงเหมือนการจุดไฟ ดังนั้น ทองคำขาวจึงถูกจัดเป็นตัวคตะลิสต์ของปฏิกิริยานี้

เอนไซม์ก็เช่นเดียวกันกับคตะลิสต์อื่น แต่เอนไซม์เป็นสารอินทรีย์ซึ่งผลิตขึ้นโดยสิ่งมีชีวิต เนื่องจากการดำรงชีพ การสืบพันธุ์ และการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตต้องอาศัยการ



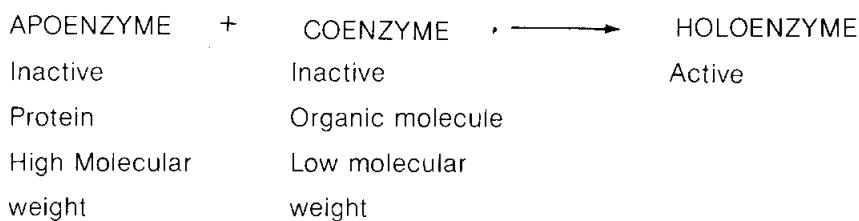
รูปที่ 2-1 Energy diagram for a chemical reaction, uncatalyzed and catalyzed

เปลี่ยนแปลงทางเคมีต่าง ๆ มากมาย สารอาหารก่อนที่จะเข้าไปในเซลล์อาจถูกทำให้เปลี่ยนแปลงทางเคมีเสียก่อน และเมื่อเข้าไปในเซลล์แล้วก็อาจถูกทำให้เปลี่ยนแปลงต่อไปอีกด้วย สารอาหารบางส่วนอาจถูกใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ทางเคมีภายในเซลล์ยุ่งยากซับซ้อนมาก เนื่องจากมีแร่ธาตุและสารประกอบต่าง ๆ ประปันกันอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้น เอนไซม์จึงมีความสำคัญในการก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ภายในเซลล์ เอนไซม์ภายในเซลล์มีอยู่ในปริมาณน้อยมาก แต่สามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ทุกอย่างในกระบวนการของชีวิต ดังนั้น จึงอาจกล่าวได้ว่าเอนไซม์เป็นส่วนของเซลล์ที่มีการทำงาน (working part) อย่างแท้จริง ไม่มีสิ่งมีชีวิตใดดำรงชีพอยู่ได้โดยปราศจากเอนไซม์ เอนไซม์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตตั้งแต่เกิดจนตาย สิ่งมีชีวิตสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นได้ภายในเซลล์ แต่เอนไซม์บางชนิดก็อาจถูกขับออกมายังนอกเซลล์ เช่น เอนไซม์ของแบคทีเรียบางชนิด และเอนไซม์ที่ใช้ย่อยอาหารในกระเพาะลำไส้ เป็นต้น เอนไซม์พวกนี้ถูกจัดเป็นพวก extracellular enzyme หรือ exoenzyme ส่วนเอนไซม์ที่เซลล์เก็บไว้ใช้งานภายในเซลล์ถูกเรียกว่า intracellular enzyme หรือ endoenzyme เอนไซม์ที่ถูกขับออกมายังนอกเซลล์ส่วนใหญ่มีหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสารอาหารให้เหมาะสมก่อนที่จะถูกนำเข้าไปใช้ภายในเซลล์ ส่วนเอนไซม์ที่เซลล์เก็บไว้ใช้ภายในเซลล์มักมีหน้าที่ในการสังเคราะห์สิ่งต่าง ๆ

และสร้างพลังงานตามความต้องการของเซลล์ สำหรับสิ่งมีชีวิตซึ่งแตกต่างกันมากในทางสายพันธุ์ ก็อาจมีเอนไซม์บางอย่างซึ่งมีคุณสมบัติและลักษณะเหมือนกันทุกประการ หรือไม่ก็อาจมีเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่อย่างเดียวกันได้

## คุณสมบัติของเอนไซม์

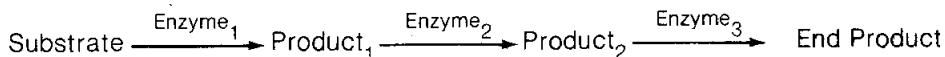
เอนไซม์ส่วนใหญ่มักมีองค์ประกอบหลัก 2 ส่วน คือ (1) ส่วนที่เป็นโปรตีน เรียกว่า apoenzyme และ (2) ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กเรียกว่า coenzyme องค์ประกอบหลักทั้งสองส่วนต้องอยู่ร่วมกันจึงจะเป็นเอนไซม์ที่สมบูรณ์ สามารถทำงานได้เรียกว่า holoenzyme



Coenzyme ของเอนไซม์หลายชนิดเป็นสารประกอบพากวิตามิน ได้แก่ วิตามินบีต่าง ๆ เช่น Thiamine ( $B_1$ ), riboflavin ( $B_2$ ), niacin, pyridoxin ( $B_6$ ) และ folic acid เป็นต้น แต่เอนไซม์บางอย่างก็มีไอออนของโลหะบางชนิดเกะดิดอยู่ โลหะอาจเกะดิดแน่นกับโปรตีนหรือเกะดิดอยู่อย่างหลวม ๆ และหลุดออกมากได้ง่าย เอนไซม์หลายชนิดไม่อาจทำงานได้ถ้าไม่ได้เติมไอออนของโลหะบางอย่างลงไป เช่น  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Fe^{++}$  และ  $Zn^{++}$  เป็นต้น เช่นกันว่าไอออนของโลหะมีหน้าที่ในการทำงานร่วมกันกับส่วนที่เป็นโปรตีนของเอนไซม์ จึงถือได้ว่าไอออนของโลหะต่าง ๆ เหล่านี้เป็น inorganic coenzyme

ลักษณะพิเศษของเอนไซม์ซึ่งแตกต่างจากคลาสสิกอื่นนอกจากเป็นสารอินทรีย์แล้ว ยังเป็นตัวเร่งความเร็วของปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพมาก เอนไซม์หนึ่งโมเลกุลอาจทำให้ substrate (สารที่ถูกกระทำโดยเอนไซม์) เปลี่ยนแปลงไปได้ตั้งแต่ 10,000 ถึง 1 ล้านโมเลกุลต่อนาที ความสามารถนี้เป็นผลเนื่องจากเอนไซม์ไม่ได้ถูกใช้หรือถูกทำให้เปลี่ยนแปลงไปในปฏิกิริยา จึงมีผลทำให้เซลล์ดำเนินกิจกรรมของชีวิตได้โดยจัดเตรียมให้มีเอนไซม์ต่าง ๆ ด้วยปริมาณเพียงเล็กน้อย เอนไซม์ยังมีความเฉพาะเจาะจงต่อชั้บสเตรตสูงมาก เอนไซม์อย่างหนึ่งอาจกระทำต่อชั้บสเตรตได้เพียงชนิดเดียวหรือหมู่เดียวเท่านั้น ดังนั้น เซลล์จึงต้องผลิตเอนไซม์หลายอย่าง เพื่อใช้กับชั้บสเตรตต่าง ๆ ชนิดกัน นอกจากนี้ เอนไซม์ยังทำให้ชั้บสเตรตเปลี่ยนแปลงไปได้เพียงขั้นตอนเดียวเท่านั้น ตัวอย่างเช่น การหมักน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยยีสต์ เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ได้เกิดขึ้นโดยเอนไซม์เพียงชนิดเดียว แต่เป็นการ

เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์หลายชนิดกระทำต่อเนื่องกันเป็นลำดับ เรียกว่าระบบเอนไซม์ (enzyme system) และปฏิกิริยาในขั้นสุดท้ายของระบบจะทำให้ได้เป็นผลผลิตสุดท้ายเรียกว่า end product ดังแผนภูมิต่อไปนี้



เอนไซม์เป็นสารประกอบไม่คงตัว อาจถูกทำให้เสื่อมคุณสมบัติหรือถูกทำลายได้โดย สภาพแวดล้อมทางพิสิกส์และทางเคมีต่าง ๆ การทำงานของเอนไซม์อาจลดลงเป็นอย่างมาก เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อย การที่เอนไซม์ถูกทำลายไปโดยบังจัยต่าง ๆ จะมีผลต่อชีวิตของเซลล์เป็นอย่างมาก

## การเรียกชื่อเอนไซม์

เอนไซม์อาจถูกเรียกชื่อได้ 2 แบบ คือ

1. เรียกตามชื่อของชั้นสเตรต แล้วลงท้ายด้วย -ase ดังตัวอย่างต่อไปนี้

SUBSTRATE	ENZYME
Protein	Proteinase
Lipid	Lipase
Lactose	Lactase
Sucrose	Sucrase (Invertase)
Urea	Urease
Cellulose	Cellulase

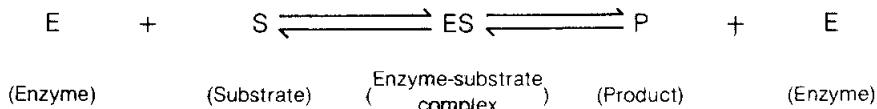
2. เรียกตามชื่อของปฏิกิริยา แล้วลงท้ายด้วย -ase ดังตัวอย่างต่อไปนี้

REACTION	ENZYME
Oxidation	Oxidase
Reduction	Reductase
Decarboxylation	Decarboxylase
Dehydrogenation	Dehydrogenase

นอกจากนี้ การเรียกชื่อเอนไซม์บางชนิดที่รู้จักกันมาช้านานอาจไม่เป็นไปตามระเบียบ ดังกล่าวข้างต้น เช่น rennin เป็นเอนไซม์ที่ได้จากน้ำนมในกระบวนการนมสด ใช้ทำให้น้ำนมจับตัวเป็นก้อน trypsin เป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำ gastric juice ใช้ย่อยสลายโปรตีน pepsin เป็นเอนไซม์ในการเผาของสูกร ใช้ย่อยสลายโปรตีน และ papain เป็นเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน ได้จากยางมะละกอ เป็นต้น

## ธรรมชาติของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์อาจแสดงเป็นสมการทั่วไปและสรุปได้ดังนี้ คือ



1. คำว่าซับสเตรต (substrate) หมายถึง สารหรือสิ่งที่ถูกกระทำโดยเอนไซม์
2. การเปลี่ยนแปลงของซับสเตรตเกิดขึ้นหลังจากที่ได้รวมตัวกับเอนไซม์แล้ว
3. สารประกอบที่เปลี่ยนแปลงมาจากซับสเตรตถูกเรียกว่า ผลผลิต (product)
4. เอนไซม์ไม่ได้ถูกใช้ไปในปฏิกิริยาที่เอนไซม์ทำให้เกิดขึ้น แต่ถูกปลดปล่อยให้หลุด เป็นอิสระหลังจากเกิดผลผลิตของปฏิกิริยาแล้ว และสามารถกลับมาร่วมตัวกับซับสเตรตไม่เลกู่ ใหม่เพื่อทำให้เกิดผลผลิตได้อีก
5. ปฏิกิริยาซึ่งเกิดขึ้นโดยเอนไซม์เป็นปฏิกิริยาที่ย้อนกลับไปมาได้ คือ

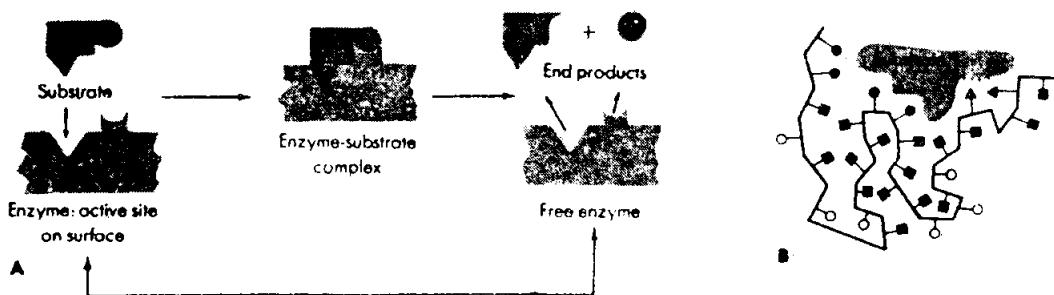


อัตราความเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ภายใต้สภาพแวดล้อมเหมาะสมจะขึ้นอยู่กับปัจจัยสามอย่าง คือ ความเข้มข้นของซับสเตรต เอนไซม์ และผลผลิต ถ้าผลผลิตของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่ได้ถูกกำจัดออกไปหรือถูกใช้ไป ท้ายที่สุดปฏิกิริยา ก็จะอยู่ในภาวะสมดุล (equilibrium) แต่ถ้าผลผลิตที่เกิดขึ้นถูกกำจัดออกหรือถูกใช้ไปในปฏิกิริยาอื่น ก็จะป้องกันไม่ให้มีภาวะสมดุลเกิดขึ้น ดังนั้น ซับสเตรตจึงถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นผลผลิตอยู่ตลอดเวลา เมื่อไรก็ตามที่ มีความเข้มข้นของผลผลิตเกินสมดุลกับความเข้มข้นของซับสเตรต ก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยา y ย้อนกลับ เปลี่ยนผลผลิตให้กลับเป็นซับสเตรตได้ และที่ภาวะสมดุล อัตราความเร็วของปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลงซับสเตรตให้เป็นผลผลิตจะเท่ากับอัตราความเร็วของปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลง ผลผลิตให้เป็นซับสเตรต

## กลไกการทำงานของเอนไซม์

เนื่องจากเอนไซม์มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการของชีวิต จึงได้มีผู้สนใจและตั้งทฤษฎีเกี่ยวกับกลไกการทำงานของเอนไซม์ไว้มากมาย ทฤษฎีทั้งหลายมักมีแนวคิดร่วมกันว่า ซับสเตรตถูกกระตุ้นหลังจากที่ได้รวมตัวกับเอนไซม์เป็น enzyme-substrate complex (ES) แล้ว การกระตุ้นนี้เกิดขึ้นเนื่องจากซับสเตรตมีความสัมพันธ์ดึงดูดกับผิวของเอนไซม์ โดยประจุไฟฟ้าตรง บริเวณที่เรียกว่า active site ทำให้บอนด์ซึ่งยึดเหนี่ยวอยู่ในโมเลกุลซับสเตรตเกิดการขึ้นตึง

ฉีกขาดสลายตัวไป โดยเลกุลของชับสเตรตเมื่อถูกทำให้เปลี่ยนแปลงไปแล้วจะหมดความสัมพันธ์ ดึงดูดกันกับ active site ของเอนไซม์จึงหลุดออกจากเอนไซม์เมื่อเป็นอิสระแล้วจะรวมตัวกับชับสเตรตโดยเลกุลใหม่เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาได้อีก



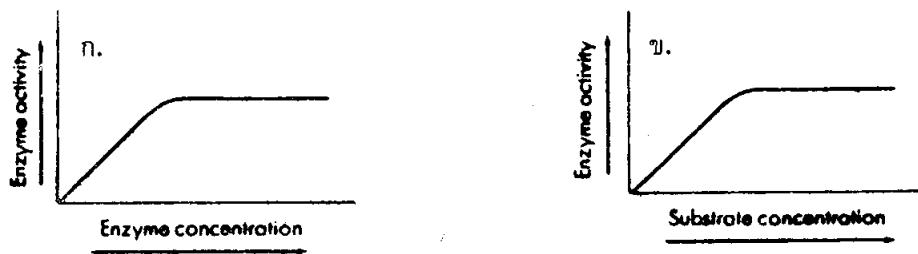
รูปที่ 2-2 แผนภูมิแสดงปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับชับสเตรต

ตามทฤษฎีนี้ นอกจากใช้อธิบายถึงการสลายตัวของชับสเตรตได้แล้ว ยังใช้อธิบายถึงการสังเคราะห์สารประกอบโดยเลกุลใหญ่จากสารโดยเลกุลเล็กได้อีกด้วย คือ โดยเลกุลของชับสเตรต 2 โดยเลกุลจะถูกดูดติดกับ active site ที่ผิวของเอนไซม์ ทำให้โดยเลกุลของชับสเตรตทั้งสองอยู่ใกล้ชิดติดกัน และถูกกระตุ้นให้เกิดอนด์เชื่อมต่อระหว่างกันกลยุบเป็นสารประกอบโดยเลกุลใหญ่ สารประกอบใหม่ที่เกิดขึ้นจะหมดความสัมพันธ์ดึงดูดกับ active site จึงหลุดออกเป็นอิสระจากโดยเลกุลของเอนไซม์

## ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

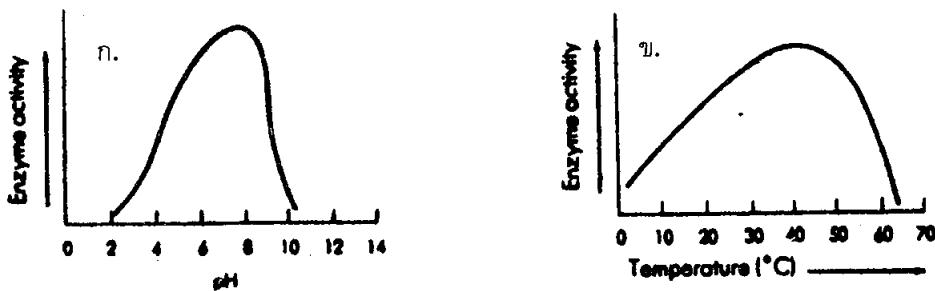
1. ความเข้มข้นของเอนไซม์
2. ความเข้มข้นของชับสเตรต
3. ความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอช (pH)
4. อุณหภูมิ

อัตราการทำงานของเอนไซม์จะอยู่ในระดับสูงสุดเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์หรือชับสเตรตอยู่ในระดับหนึ่ง ถ้าเพิ่มความเข้มข้นให้สูงเกินไปกว่านี้จะไม่ทำให้อัตราการทำงานของเอนไซม์สูงขึ้น แต่ถ้าลดความเข้มข้นให้ต่ำลงอัตราการทำงานของเอนไซม์ก็จะลดต่ำลงไปด้วย ดังรูปที่ 2-3



- รูปที่ 2-3 ก. Effect of enzyme concentration on rate of activity. With highly purified enzymes there exists, within limits, a linear relationship between amount of enzyme and amount of activity.  
ก. Effect of substrate concentration on rate of enzyme activity. Note that the rate increases rapidly with initial increases in substrate. Further increases in substrate concentration have no effect on rate; the rate becomes independent of substrate concentration.

เอนไซม์ทุกชนิดมีอัตราการทำงานสูงสุดที่พีเอชหรืออุณหภูมิหนึ่งเท่านั้น เรียกว่า optimal pH หรือ optimal temperature for enzyme activity ที่พีเอชหรืออุณหภูมินอกเหนือจากนี้ จะทำให้อัตราการทำงานของเอนไซม์ลดลงเป็นอย่างมาก ดังรูปที่ 2-4 ที่พีเอชสูงหรือต่ำเกินไป เอนไซม์จะถูกทำลาย เช่นเดียวกับกับที่อุณหภูมิสูงเกินไป เช่น ถ้าต้มเป็นเวลา 2-3 นาที เอนไซม์ จะถูกทำลาย ส่วนที่อุณหภูมิตามากการทำงานของเอนไซม์เพียงแค่หยุดลง แต่ไม่ถูกทำลาย คือ ถ้าค่อยเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น เอนไซม์ก็จะกลับทำงานใหม่ได้อีก เอนไซม์หลายชนิดอาจถูกเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า



- รูปที่ 2-4 ก. Effect of pH on enzyme activity. Maximum activity occurs at a particular pH, and deviations from it cause decreased activity.  
ก. Effect of temperature on enzyme activity. Starting at a low temperature, the rate increases with the rising temperature until the optimum is reached. Further increases result in decreased activity and eventual destruction of the enzyme.

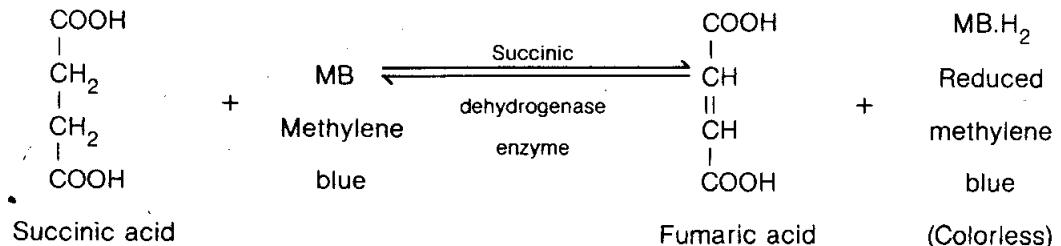
เนื่องจากเอนไซม์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่าง ๆ ในกระบวนการชีวิต ดังนั้น ปัจจัยซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของสิ่งมีชีวิต ด้วย ตัวอย่างเช่น เชลล์ปักษ์มักมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเฉพาะที่พีเอชหรืออุณหภูมิหนึ่งเท่านั้น และเรียกพีเอชหรืออุณหภูมนั้นว่า พีเอช หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต (Optimal pH or optimal temperature for growth) พีเอชหรืออุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับ

การเจริญเติบโตมักเป็นพื้นที่หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ แต่ไม่ได้หมายความว่าเอนไซม์ทุกอย่างภายใต้เงื่อนไขการทำงานได้ดีที่สุดที่พื้นที่หรืออุณหภูมิเดียวกัน เนื่องจากการเจริญเติบโตการทำงานและการตอบสนองต่อสิ่ง外界ของสิ่งมีชีวิตเป็นผลรวมทางกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดหรือทั้งระบบภายในเซลล์ โดยมีการทำงานร่วมกันอย่างกลมเกลียวเป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน ดังนั้น ภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อระบบเอนไซม์ต่าง ๆ อย่างรวม ๆ เอนไซม์บริสุทธิ์ที่สกัดแยกออกจากมาจากสิ่งมีชีวิตเป็นเอนไซม์ที่ไม่ได้อยู่ในสภาพแวดล้อมปกติตามธรรมชาติ เมื่อนำมาตรวจสอบจึงไม่ได้รับอิทธิพลจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์อื่น ดังนั้น ภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์หนึ่งจึงไม่จำเป็นต้องเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อื่นด้วย

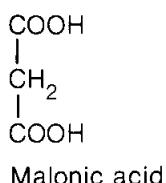
## การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การทำงานของเอนไซม์อาจถูกยับยั้งได้ด้วยปัจจัยต่าง ๆ แต่ที่สำคัญ คือ การยับยั้งด้วยสารเคมีอย่างมีเลคนัยกว่าการทำลายส่วนที่เป็นโปรดีนของเอนไซม์ เนื่องจากรายละเอียดในการยับยั้งด้วยสารเคมีพากันทำให้ทราบถึงกลไกการทำงานของเอนไซม์ และเข้าใจถึงกระบวนการของการชีวิตได้ ตัวอย่างของกลไกที่สำคัญในการยับยั้งเอนไซม์ด้วยสารเคมี มีดังต่อไปนี้

1. การยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) เป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยสารเคมีซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับชั้บสเตรตของเอนไซม์ สารเคมีซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับชั้บสเตรตจะสามารถแข่งขันกับชั้บสเตรตเพื่อเกาะติดกับ active site ของเอนไซม์ได้ เมื่อ active site ถูกเกาะติดด้วยสารเคมีซึ่งไม่ใช่ชั้บสเตรต การทำงานของเอนไซม์จะหยุดชะงักลงเนื่องจากไม่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ ตัวอย่างเช่น succinic dehydrogenase เป็นเอนไซม์ที่ทำให้ไฮโดรเจนหลุดออกจากโมเลกุลของกรด succinic และปลดปล่อยให้กับสารประกอบอื่นซึ่งรวมตัวได้กับไฮโดรเจน (hydrogen acceptor) ในกรณีลดลง ได้รีสี methylene blue (MB) เป็นสารรับไฮโดรเจน เพื่อทำให้มองเห็นถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เนื่องจากสี methylene blue เมื่อร่วมตัวกับไฮโดรเจนจะกลายเป็นสารประกอบไม่มีสี ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

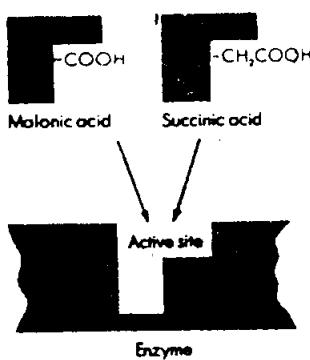


ปฏิกิริยาการทำให้ไฮโดรเจนหลุดออกจากโมเลกุลของกรด succinic ด้วยเอนไซม์ succinic dehydrogenase ถูกยับยั้งได้ด้วยกรด malonic ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับกรด succinic



ถ้าเติมกรด malonic ลงในปฏิกิริยาด้วยปริมาณที่มากเพียงพอ การจางหายไปของสี methylene blue จะหยุดลง

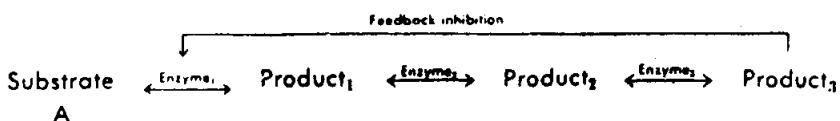
เนื่องจากกรด malonic มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับกรด succinic ดังนั้น จึงเกิดติดกับ active site ของเอนไซม์สำหรับกรด succinic ได้ กรด succinic จึงถูกปิดกั้นไม่ให้เกะหรือรวมตัวกับเอนไซม์ แต่กรด malonic เมื่อเกิดติดกับเอนไซม์ succinic dehydrogenase และไม่อาจถูกกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ การแย่งแข่งขันระหว่างสารสองพวกรเพื่อเกิดติดกับเอนไซม์ชนิดเดียวกัน อาจแสดงเป็นแผนภูมิได้ดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 Competitive inhibition (schematic) between malonic acid and succinic acid. Note that each molecule has a structurally similar fragment. Since this portion of either molecule can fit or combine with a site on the enzyme surface, there is competition between the two substrates for this site. Because this enzyme is specific for succinic acid, if the malonic acid occupies the site, further activity is blocked. Malonic acid is not changed by this enzyme.

2. การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (Noncompetitive Inhibition) เป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยสารเคมีโดยไม่มีการแข่งขันกับชับสเตรตเพื่อเกิดติดกับ active site ที่ผิวของเอนไซม์ เช่น สารเคมีบางอย่างสามารถดึงดูดไอออนของโลหะต่าง ๆ ได้ จึงสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ต้องการไอออนของโลหะได้ เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้ได้ยึดเหนี่ยวไอออนของโลหะไว้ ทำให้เอนไซม์ขาดไอออนไม่สามารถทำงานได้ ตัวอย่างเช่น ไซแอโนเจนเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ต้องการธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากไซแอโนเจนยึดเหนี่ยวธาตุเหล็กออกจากโมเลกุลของเอนไซม์ ฟลูออไรด์เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ต้องการธาตุแคลเซียมหรือแมgnีเซียมเป็นองค์ประกอบโดยการรวมตัวกับโลหะเหล่านี้

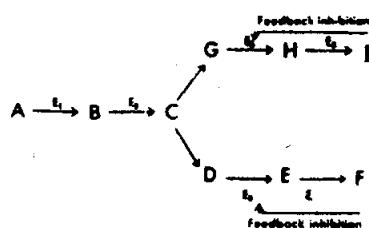
3. การยับยั้งด้วยผลผลิตของปฏิกิริยา (Feedback or endproduct inhibition) เป็นการยับยั้งเอนไซม์โดยวิธีการย้อนกลับด้วยผลผลิตของเอนไซม์ เนื่องจากการยับยั้งเอนไซม์มีความจำเป็นต่อกระบวนการเมแทบoliซึมทำให้เซลล์สามารถกำหนดความเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ การยับยั้งเอนไซม์ด้วยผลผลิตของปฏิกิริยาเป็นวิธีการหนึ่งที่สำคัญ โดยทั่วไปเอนไซม์แรกของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องกันอาจถูกยับยั้งได้ด้วยผลผลิตของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในตอนท้าย ดังแผนภูมิในรูปที่ 2-6



รูปที่ 2-6

เมื่อผลผลิตขั้นสุดท้าย (product<sub>3</sub>) ของปฏิกิริยาเกิดมากขึ้นจนมีปริมาณเพียงพอ การทำงานของเอนไซม์ที่ 1 (enzyme<sub>1</sub>) จะถูกยับยั้ง สมมุติ product<sub>3</sub> เป็นกรดแอมิโนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยลำดับของปฏิกิริยา ดังแผนภูมิในรูปที่ 2-6 ถ้ากรดแอมิโนถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นจำนวนมากเกินความต้องการของเซลล์ เชลล์ก็อาจใช้กลวิธีการย้อนกลับ (feedback) เพื่อยับยั้งการสังเคราะห์กรดแอมิโนนี้ได้

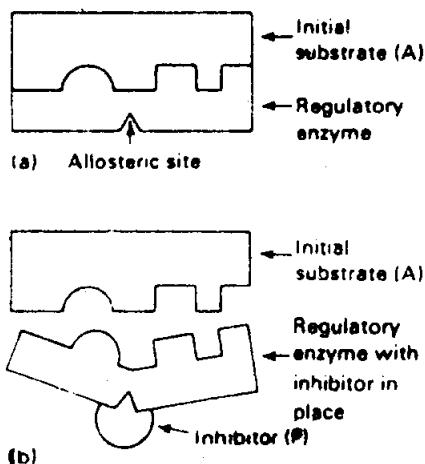
ในการนี้ของลำดับปฏิกิริยาที่มีการแตกแขนงเพื่อทำให้เกิดผลผลิตขั้นสุดท้ายหลายชนิด ผลผลิตขั้นสุดท้ายแต่ละชนิดอาจแสดงการยับยั้งแบบย้อนกลับต่อเอนไซม์แรกที่นำเข้าสู่การสังเคราะห์ผลผลิตนั้นได้ ดังแผนภูมิในรูปที่ 2-7



รูปที่ 2-7 Endproduct inhibition

เอนไซม์ที่ถูกยับยั้งได้โดยการย้อนกลับของผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา ถูกจัดเป็นพวก allosteric enzyme ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มี allosteric site หรือ noncatalytic site อยู่ที่ผิวของโมเลกุล Allosteric site จะถูกเกะกะติดด้วยผลผลิตของปฏิกิริยาหรือสารยับยั้งได้ สัมพันธภาพระหว่างเอนไซม์กับชั้บสเตรตจะลดลงเมื่อมีสารยับยั้งหรือผลผลิตของปฏิกิริยาเกาะติดอยู่ที่ allosteric site เมื่อสารยับยั้งเกาะติดที่ allosteric site ของเอนไซม์ จะทำให้โครงสร้างของ

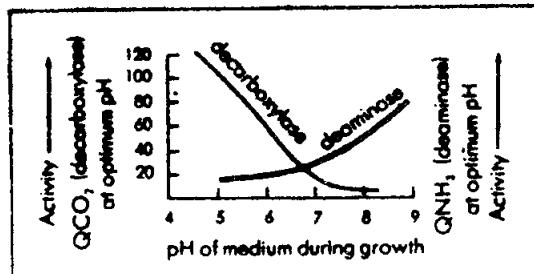
เอนไซม์เปลี่ยนแปลงไป จนกระทั้งโมเลกุลของซับสเตรตไม่อาจเข้าติดที่ active site ของเอนไซม์ได้ จึงไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ดังรูปที่ 2-8



รูปที่ 2-8 A model for the action of a regulatory enzyme.  
 (a) The regulatory enzyme and its substrate fit like lock and key. (b) With the inhibitor bound at the allosteric site, the active site of the regulatory enzyme is distorted, and the regulatory enzyme will not bind its substrate.

### ปัจจัยซึ่งมีผลต่อการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์

ภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อสำหรับสัตว์นั้นสูงมักมีชนิดและปริมาณของเอนไซม์ต่าง ๆ ค่อนข้างคงที่ เนื่องจากภายในร่างกายของสัตว์นั้นสูงมีระบบควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ของเซลล์ทั้งทางพิสิกส์และทางเคมีไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ถึงแม้ว่าสภาพแวดล้อมภายนอกร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไรก็ตาม แต่ในกรณีของสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ เช่น แบคทีเรียซึ่งดำรงชีพแบบเซลล์เดียวมักได้รับการเปลี่ยนแปลงจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเสมอ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียแบบเซลล์เดียวที่เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาพที่เป็นกรดหรือเป็นด่าง ( $\text{pH } 4.5-9.5$ ) ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ และในสภาพที่มีก้าซออกซิเจนหรือไม่มีก้าซออกซิเจน เป็นต้น เซลล์ของ *Escherichia coli* ซึ่งเจริญเติบโตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมากๆ อาจมีเอนไซม์ที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ดังแสดงโดยกราฟในรูปที่ 2-9



รูปที่ 2-9 Variations in the formation of glutamic acid decarboxylase and deaminase by *Escherichia coli* with the pH of the medium during growth.

(Redrawn from E.F. Gale, "The Chemical Activities of Bacteria, Academic Press Inc., New York, 1952.)

จากการรำพแสดงว่าสภาระแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์เป็นอย่างมาก แต่ก็ไม่ได้หมายความว่าเมื่อสภาระแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปมากแล้วจะทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์เปลี่ยนแปลงอย่างสิ้นเชิง ทั้งนี้เนื่องจากสิ่งมีชีวิตอาจแสดงการเปลี่ยนแปลงเพื่อตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมได้ในขอบเขตจำกัดเท่านั้น ซึ่งถ้าสภาระแวดล้อมเปลี่ยนแปลงมากเกินไปเซลล์ก็อาจมีชีวิตอยู่ไม่ได้ อย่างไรก็ตาม สิ่งแวดล้อมก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการทำให้สิ่งมีชีวิตเกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้น ในการตรวจสอบลักษณะของสิ่งมีชีวิตเพื่อการชันสูตร จึงจำเป็นต้องบ่งบอกหรือกำหนดสภาระแวดล้อมทั้งทางเคมีและทางพิสิกส์ ในขณะทำการตรวจสอบด้วย เช่น เซลล์ของแบคทีเรียบางชนิดอาจมีสีแดงที่อุณหภูมินี้ แต่ที่อุณหภูมิอื่นอาจไม่มีสีอย่างนี้ เป็นต้น

ในการสนใจของการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์ ถ้าถือให้การมีหรือไม่มีชับสเตรตเป็นสิ่งกำหนด ก็อาจแบ่งเอนไซม์ออกได้เป็น 3 พาก คือ

1. **Constitutive Enzyme** เป็นเอนไซม์ที่เซลล์มักผลิตขึ้นมาอยู่เสมอ ไม่ว่าจะมีชับสเตรตอยู่หรือไม่ก็ตาม

2. **Adaptive (Induced) Enzyme** เป็นเอนไซม์ที่เซลล์ผลิตขึ้นมาเป็นครั้งคราวเพื่อตอบสนองต่อชับสเตรตที่ปรากฏ คำว่า adaptive enzyme เป็นคำที่ใช้เรียกเพื่อให้มีความหมายเกี่ยวข้องกับการปรับตัวของเซลล์ แต่ปัจจุบันมักนิยมใช้คำว่า induced enzyme เพื่อให้หมายถึง เอนไซม์ที่เซลล์อาจถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นมาได้ด้วยชับสเตรตหรือสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับชับสเตรต ชับสเตรตหรือสารซึ่งมีโครงสร้างใกล้เคียงกับชับสเตรตที่ใช้เป็นตัวกระตุ้น จะถูกเรียกว่า inducer

อย่างไรก็ตาม เชื่อกันว่า induced enzyme จะมีอยู่ในเซลล์ตลอดเวลา แต่ในปริมาณเพียงเล็กน้อยจนไม่สามารถตรวจสอบได้ และพาก constitutive enzyme ที่พบอยู่ในเซลล์ตลอดเวลา ก็เช่นเดียวกัน อาจถูกกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นมาได้ถ้ามีชับสเตรตของเอนไซมนี้อยู่

3. **Repressible Enzyme** คือ เอนไซม์ที่เซลล์ไม่อาจสังเคราะห์ขึ้นมาได้ถ้ายังมีผลผลิตของเอนไซมนี้อยู่

การกระตุ้นหรือยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ถูกควบคุมโดยสารที่เรียกว่า repressor ซึ่งกระทำต่อสารพันธุกรรมของเซลล์ รายละเอียดเกี่ยวกับเรื่องนี้จะได้ศึกษาในบทที่ 3 เรื่อง การควบคุมการทำงานของจีน ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่า feedback inhibition เป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ส่วนการสะกด (repression) เป็นการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์