บทที่ 9
เอนไซม์และการควบคุมเอนไซม์

เพื่อการดำรงชีพ การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์เซลล์จะต้องสามารถกระทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่าง ๆ หลายอย่าง เซลล์อาจต้องมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารก่อนเข้าไปในเซลล์และสารอาหารเมื่อเข้าไปในเซลล์ก็ต้องถูกทำให้เปลี่ยนแปลงต่อไปอีก สารที่ถูกดูดซึมเข้าไปบางอย่างอาจถูกสังเคราะห์ให้เป็นสารประกอบซึ่งเป็นส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ แต่สารอื่นอาจถูกทำให้สลายตัวต่อไปเพื่อให้ได้พลังงานซึ่งจำเป็นต่อการสังเคราะห์ดังกล่าว การเปลี่ยนเช่นนี้มีความซับซ้อนมากเมื่อคำนึงถึงชนิดของสารที่ถูกใช้เป็นอาหารและชนิดของสารที่ถูกสังเคราะห์ให้เป็นส่วนประกอบของเซลล์ มีปัญหาสงสัยว่าเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้ได้อย่างไร? คำตอบก็คือข้อเท็จจริงเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ (Enzyme) ซึ่งเป็นสารปริมาณน้อยภายในเซลล์และสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ได้ทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับขบวนการทำงานของชีวิต ในแง่นี้เอนไซม์อาจหมายถึงส่วนซึ่งมีการทำงานของเซลล์ (working part of the cell) ความเลวร้ายต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นต่อกิจกรรมของเอนไซม์ก็จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หรือแม้แต่ทำให้เซลล์ตาย ไม่มีชีวิตใดดำรงอยู่ได้ถ้าปราศจากเอนไซม์ เพื่อความเข้าใจในหลักการเกี่ยวกับขบวนการของชีวิตจำเป็นต้องมีความคุ้นเคยกับธรรมชาติของเอนไซม์และปฏิกริยาของเอนไซม์ จุดประสงค์ในบทนี้เพื่อบรรยายถึงลักษณะใหญ่บางอย่างของสารซึ่งทำงานเกี่ยวกับชีวิตในหมู่นี้และการควบคุม

ลักษณะบางอย่างของเอนไซม์

คำว่าเอนไซม์ได้ถูกจัดตั้งขึ้นในปี 1878 โดย Kuhne จากภาษากรีกหมายถึง ในยีสต์ (in yeast) ในชั้นแรกเอนไซม์หมายถึงสิ่งที่ทำให้เกิดการหมัก (ferment) เนื่องจากมีการกระทำคล้ายกับการหมักของยีสต์การโต้แย้งกันอย่างเผ็ดร้อนในเรื่องนี้ได้เกิดขึ้นระหว่าง Pasteur กับ Liebig นักเคมีผู้ยิ่งใหญ่ชาวเยอรมัน Liebig กล่าวว่าการหมักเกิดโดยสารเคมีไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์ที่มีชีวิต แต่ Pasteur คิดว่าการหมักนั้นไม่อาจแบ่งแยกออกได้จากเซลล์ซึ่งมีชีวิต จากความรู้ในปัจจุบันจึงทำให้ทราบว่าไม่มีอันใดผิดอย่างแท้จริง การโต้แย้งระหว่าง Pasteur กับ

Liebig ได้ถูกสรุปในปี 1897 โดย Buchner ผู้ซึ่งได้แสดงให้เห็นว่าน้ำสกัดจากเซลล์ที่เตรียมได้จากยีสต์โดยการบดแล้วกรองมีเอนไซม์ปนอยู่

สารจำนวนเล็กน้อยบางอย่างมีความสามารถในการทำให้ความเร็วของปฏิกริยาเคมีเพิ่มขึ้นโดยที่ตัวเองไม่ถูกทำให้เปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากมีปฏิกริยาเกิดขึ้นแล้ว สารเหล่านี้เป็นเพียงแต่ตัวกระตุ้นหรือเร่งความเร็วของปฏิกริยาโดยไม่จำเป็นต้องเป็นตัวเริ่มต้น ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนกับอ๊อกซิเจนจะไม่รวมตัวกันเป็นน้ำภายใต้ภาวะบรรยากาศธรรมดา แต่อย่างไรก็ตามถ้าแกสทั้งสองถูกปล่อยให้สัมผัสกับคอลลอยด์ปลาตินั่มจะเกิดปฏิกริยารวมตัวกันเป็นน้ำทันที ปลาตินั่มช่วยเพิ่มความเร็วของปฏิกริยานี้เป็นอย่างมาก โดยไม่ถูกใช้ไปในปฏิกริยา สารเหล่านี้โดยปกติไม่มีผลต่อสมดุลย์ของปฏิกริยาเคมีที่ย้อนกลับได้เพียงแต่เพิ่มความเร็วของปฏิกริยาจนถึงสมดุลย์เท่านั้น อีกทั้งยังแสดงความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของปฏิกริยาที่จะทำให้เกิดขึ้นด้วยกล่าวคือ สารหนึ่งจะมีผลต่อเฉพาะปฏิกริยาประเภทหนึ่งเท่านั้น สารซึ่งมีพฤติกรรมเช่นนี้ถูกเรียกว่า คาตาลิสต์ (Catalyst or catalytic agent) เอนไซม์ถูกจัดเป็นสารกรณีเดียวกันนี้เนื่องจากมีการทำงานเป็นตัวคาตาลิสต์อย่างไรก็ตามเอนไซม์แตกต่างจากปลาตินั่มซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ เอนไซม์เป็นสารอินทรีย์ที่ถูกสร้างขึ้นโดยสิ่งมีชีวิต ดังนั้นจึงอาจจัดได้ว่าเอนไซม์เป็นพวกอินทรีย์สารคาตาลิสต์ (Organic catalytic agent) ซึ่งถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์ที่มีชีวิต

ถึงแม้ว่าเอนไซม์ทุกชนิดถูกสร้างขึ้นจากภายในเซลล์แต่เอนไซม์บางอย่างก็ถูกขับออกมานอกเซลล์และทำงานในสิ่งแวดล้อมของเซลล์ ดังนั้นจึงทำให้สามารถจัดแบ่งเอนไซม์ออกได้เป็นสองประเภทตามพื้นฐานตำแหน่งแห่งที่ถูกใช้งาน คือ intracellulor enzyme หรือ endoenzyme มีการทำงานภายในเซลล์ และ extracellular enzyme หรือ exoenzyme มีการทำงานนอกเซลล์ หน้าที่หลักของเอ็กตร้าเซลลูล่าเอนไซม์ คือ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารที่จำเป็นเพื่อความเหมาะสมที่จะเข้าไปภายในเซลล์ ส่วนอินตร้าเซลลูล่าเอนไซม์ทำให้เกิดการสังเคราะห์สารซึ่งจะกลายเป็นส่วนของเซลล์และทำให้เกิดปฏิกริยาการย่อยสลายเพื่อให้ได้พลังงานที่จำเป็นสำหรับเซลล์

ลักษณะของเอนไซม์โดยทั่วไปคล้ายคลึงกันไม่ว่าจะผลิตขึ้นโดยเซลล์ของจุลินทรีย์มนุษย์หรือสิ่งมีชีวิตอื่น เซลล์จากสิ่งมีชีวิตซึ่งแตกต่างกันมากอาจมีเอนไซม์บางอย่างซึ่งเหมือนกันทุกประการหรืออย่างน้อยก็มีหน้าที่ในการทำงานเหมือนกัน

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเอนไซม์

เอนไซม์เป็นโปรตีนหรือโปรตีนซึ่งรวมอยู่กับสารเคมีหมู่อื่น เนื่องจากเอนไซม์มีคุณสมบัติลักษณะของโปรตีน ดังนั้นเอนไซม์จึงถูกทำให้ผิดธรรมชาติ (Denature) ได้ด้วยความร้อน ตกตะกอนได้ด้วยแอลกอฮอล์หรือเกลืออนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียซัลเฟต และไม่อาจถูกทำให้ไหลลอดเยื่อกึ่งซึม (semipermeable membrane) ได้โดยวิธีการห่อด้วยเยื่อกึ่งซึมแล้วแช่น้ำซึ่งเรียกว่าการ dialysis

เอนไซม์หลายชนิดประกอบด้วยโปรตีนรวมอยู่กับสารอินทรีย์ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเรียกว่าโคเอนไซม์ (coenzyme) สำหรับส่วนที่เป็นโปรตีนถูกเรียกว่า อะโปเอนไซม์ (apoenzyme) เมื่อทั้งสองส่วนรวมอยู่ด้วยกันจึงจะเป็นเอนไซม์ที่สมบูรณ์เรียกว่า โฮโลเอนไซม์ (holoenzyme)

APOENZYME	+	COENZYME ⟶	HOLOENZYME
Inactive		Inactive	Active
Protein		Organic molecule	
High molecular weight		Low molecular weight	
Nondialyzable		Dialyzable	

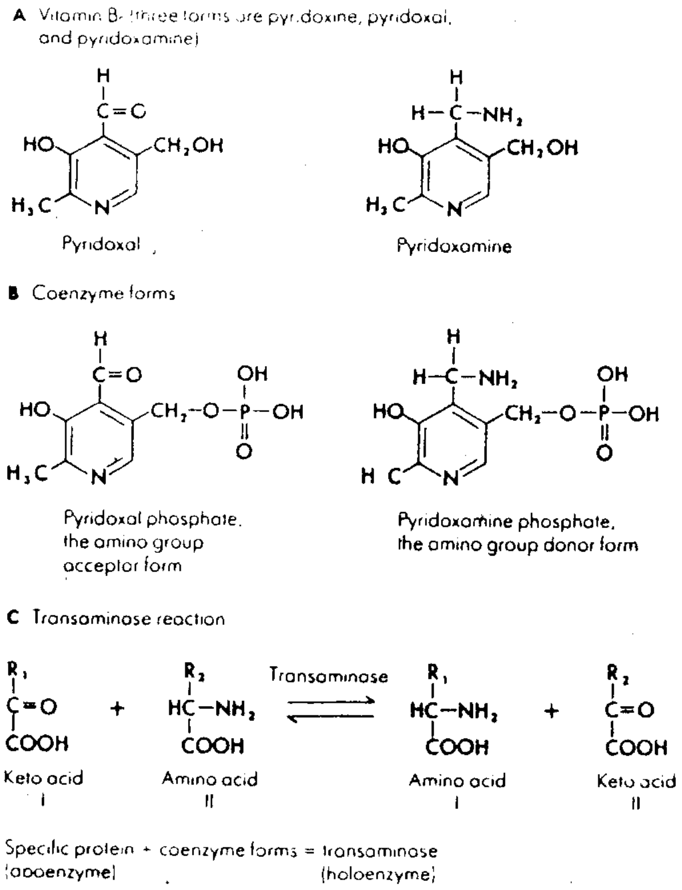
ส่วนที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์บางชนิดก็เป็นสารประกอบพวกวิตามิน (Vitamin) วิตามินส่วนมากที่มักถูกใช้เป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์คือ พวกวิตามิน บีต่าง ๆ ดังในตารางที่ 9-1

ตารางที่ 9-1 Some Vitamins Their Coenzyme Forms and Functions

VITAMIN	COENZYME	FUNCTION OF ENZYME
Thiamine (B_1)	Cocarboxylase	Decarboxylation of a-keto acids, e.g., pyruvic acid
Riboflavin (B_2)	Riboflavin-adenine-dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (hydrogen-transfer)
Niacin	Nicotinamide-adenine-dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (hydrogen-transfer)
Pyridoxine (B_6)	Pyridoxal phosphate	Transamination and decarboxylation of amino acids
Folic acid	Tetrahydrofolic acid	Interchange of one-carbon units

ตัวอย่างความสัมพันธ์เฉพาะของวิตามินกับโคเอนไซม์ (วิตามิน บี$_6$ ในรูปของ pyridoxal phosphate และ pyridoxamine phosphate) ได้แสดงไว้ในรูปที่ 9-1

รูปที่ 9-1 (A) Vitamin B$_6$ exists in three forms. Pyridoxal and pyridoxamine are shown. (B) Coenzyme forms of the vitamin. (C) The transaminase reaction.



ในบางกรณีส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนของเอนไซม์อาจเป็นโลหะ เช่น เหล็กในเอนไซม์คาตาเลส (catalase) โลหะอาจเกาะติดอยู่กับโปรตีนอย่างเหนียวแน่นหรือเกาะติดอยู่อย่างหลวม ๆ และง่ายที่จะหลุดออกมาได้ทั้งนี้ย่อมขึ้นอยู่กับเอนไซม์โดยเฉพาะ เอนไซม์หลายชนิดอาจต้องการเติมไออ้อนของโลหะบางอย่าง เช่น Mg^{++}, Mn^{++}, Fe^{++} และ Zn^{++} รวมกับส่วนที่เป็นโปรตีนของเอนไซม์และอาจถือได้ว่าเป็นอินทรีย์สารโคเอนไซม์ หรือโคแฟคเตอร์ (cofactor) ในบางครั้งทั้งโคแฟคเตอร์และโคเอนไซม์ซึ่งเป็นสารอินทรีย์อาจจำเป็นต้องเติมลงไปก่อนที่เอนไซม์จะทำงานได้

เอนไซม์จำนวนมากสกัดได้จากเซลล์โดยกลวิธีร่วมกันทั้งทางกายภาพและทางเคมีเพื่อให้ได้เอนไซม์อยู่ในรูปของสารเคมีซึ่งบริสุทธิ์ ยูรีเอส (urease) เป็นเอนไซม์แรกที่ถูกคัดแรกได้ใน

รูปของผลึกโดย J.B. Sumner เอนไซม์เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่มาก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณตั้งแต่ 10,000 ถึง 1 ล้านซึ่งได้ตรวจสอบจากบรรดาเอนไซม์ต่าง ๆ เอนไซม์คาตาเลสซึ่งทำให้ไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์แตกตัวเป็นน้ำกับอ๊อกซิเจนมีน้ำหนักโมเลกุล 250,000 แต่ในทางตรงกันข้ามไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์มีน้ำหนักโมเลกุลเพียง 34

โมเลกุลของเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากในการเร่งปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลง substrate (สารหรือสิ่งที่ถูกกระทำโดยเอนไซม์) ให้กลายเป็นผลผลิตขั้นสุดท้าย (end product) เอนไซม์เพียงหนึ่งโมเลกุลสามารถทำให้ซับสเตรตเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่ 10,000 ถึง 1 ล้านโมเลกุลต่อนาที ความสามารถเช่นนี้เกิดขึ้นร่วมกับความจริงที่ว่าเอนไซม์ไม่ได้ถูกใช้ไปหรือถูกเปลี่ยนแปลงไปในปฏิกริยา ดังนั้นจึงทำให้เข้าใจได้ว่าทำไมเอนไซม์ปริมาณเพียงเล็กน้อยจึงเพียงพอต่อขบวนการต่าง ๆ ของเซลล์

เอนไซม์ไม่มีความคงทนถาวรในแง่ซึ่งถูกทำให้เสียหาย กิจกรรมของเอนไซม์อาจถูกทำให้ลดลงได้เป็นอย่างมากหรือถูกทำลายได้โดยภาวะทางกายภาพหรือทางเคมีต่าง ๆ ซึ่งจะได้แสดงต่อไปแต่ก็แตกต่างกันตามชนิดของเอนไซม์ เอนไซม์บางอย่างอาจถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมเพียงเล็กน้อย การถูกทำลายของเอนไซม์โดยปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีต่าง ๆ มีผลทำให้เซลล์สูญเสียหน้าที่ในการทำงานและอาจมีผลทำให้เซลล์ตายได้

ลักษณะเด่นชัดที่สุดของเอนไซม์สองประการ คือ (1) มีประสิทธิภาพสูงในการเร่งความเร็วของปฏิกริยา (2) มีความเฉพาะเจาะจงต่อซับสเตรตอย่างเข้มงวด คือ เอนไซม์หนึ่งอาจทำปฏิกริยาได้กับซับเตรตเพียงชนิดเดียวเท่านั้น หรือในบางกรณีก็อาจทำปฏิกริยาได้กับซับสเตรตเฉพาะในหมู่ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางเคมีเดียวกันเท่านั้น ดังนั้นเซลล์จึงจำเป็นต้องสร้างเอนไซม์หลายอย่างต่าง ๆ กันสำหรับสารประกอบทุกชนิดที่เซลล์ต้องการทำให้เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้แต่ละเอนไซม์ยังทำให้ซับสเตรตมีการเปลี่ยนแปลงได้เพียงขั้นตอนเดียวเท่านั้น ตัวอย่างเช่น การหมักน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็นแอลกอฮอล์กับแกสคาร์บอนไดอ๊อกไซด์โดยยีสต์ ดังสมการ

GLUCOSE	+	YEASE CELL	⟶	ALCOHOL + CARBON DIOXIDE
Substrate		Source of enzyme		End products

การเปลี่ยนแปลงข้างต้นนี้ไม่ได้เกิดขึ้นโดยเอนไซม์เพียงชนิดเดียวแต่เกิดขึ้นโดยหมู่ของเอนไซม์เรียกว่าระบบเอนไซม์ (enzyme system) ประกอบด้วยเอนไซม์เดี่ยวมากกว่า 12 ชนิดทำงานต่อเนื่องกันเป็นลำดับ แต่ละเอนไซม์จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นผลผลิตเฉพาะอย่างหนึ่งแล้วถูกใช้ไปโดยเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งต่อเนื่องกัน และปฏิกริยาในขั้นสุดท้ายของระบบจึงจะทำให้ได้ผลผลิตขั้นสุดท้าย (A $\xrightarrow{\text{Enzyme1}}$ B $\xrightarrow{\text{Enzyme2}}$ C $\xrightarrow{\text{Enzyme3}}$ D $\rightarrow \rightarrow \rightarrow$ End procuct)

ปัจจุบันมนุษย์ได้รู้จักเอนไซม์มากกว่า 1,000 ชนิดแตกต่างกันและมีมากกว่า 150 ชนิดที่ถูกทำให้ตกผลึกได้ นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาค้นพบใหม่อีก เมื่อไม่กี่ปีมานี้ได้มีการค้นพบเกี่ยวกับเอนไซม์ในแนวใหม่ซึ่งได้แก่การควบคุมการทำงานและการสังเคร์าเอนไซม์โดยระบบทางพันธุกรรม และบทบาทของเอนไซม์ต่อการพัฒนาปรับปรุงตัวและการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิต

การตั้งชื่อเอนไซม์

ชื่อของเอนไซม์มักถูกจัดตั้งขึ้นโดยผู้ทำงานกลุ่มต่าง ๆ มีหลายกรณีที่เอนไซม์ชนิดเดียวกันถูกรู้จักในหลาย ๆ ชื่อหรือชื่อเดียวกันแต่ใช้เรียกเอนไซม์ต่างชนิดกัน นอกจากนี้หลายชื่อที่ใช้เรียกกันอาจไม่ทำให้นึกถึงธรรมชาติของปฏิกริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์นั้น ประมาณปี ค.ศ. 1955 ได้มีหลักฐานปรากฏว่าการเรียกชื่อเอนไซม์ตกอยู่ในภาวะที่ยุ่งยากสับสนจึงทำให้มองเห็นความจำเป็นและความสำคัญในการตั้งชื่อเอนไซม์อย่างมีระบบในปี 1955 สมาคมชีวเคมีนานาชาติจึงได้จัดตั้งคณะเจ้าหน้าที่นานาชาติเกี่ยวกับเอนไซม์เพื่อจัดการในเรื่องนี้และได้จัดพิมพ์ข้อแนะนำต่าง ๆ ขึ้นในปี 1964 ดังนั้นนักจุลชีววิทยาที่ทำงานเกี่ยวกับเอนไซม์จึงควรติดตามข้อแนะนำดังกล่าว

การจัดแบ่งหมวดหมู่และการเรียกชื่อเอนไซม์ ชื่อของเอนไซม์จะลงท้ายด้วย -ase และควรใช้เรียกกับเอนไซม์เฉพาะชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว เช่น succinate dehydrogenase เมื่อต้องการใช้เรียกหมู่เอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกริยาทั้งระบบก็ควรเติมคำว่าระบบ (system) ลงไปด้วย เช่น succinate dehyrogenase system ซึ่งเร่งปฏิกริยาการอ๊อกซิเดชั่นของ succinate โดยอ๊อกซิเจนและประกอบด้วยเอนไซม์ succinate dehydrogénase, cytochrome oxidase และเอนไซม์อื่นอีกหลายอย่าง เพื่อการจัดแบ่งหมวดหมู่เอนไซม์เพียงชนิดเดียวเท่านั้นไม่ใช่ทั้งระบบที่ถูกพิจารณา

ประเภทของปฏิกริยาเคมีที่ถูกเร่งให้เกิดขึ้นถูกใช้เป็นพื้นฐานในการจัดแบ่งหมวดหมู่และการตั้งชื่อเอนไซม์ เนื่องจากเป็นคุณสมบัติเฉพาะทำให้เอนไซม์หนึ่งแตกต่างจากเอนไซม์อื่น ๆ โดยทั่วไปเอนไซม์แต่ละชนิดมักมีสองชื่อ คือชื่อที่เรียกเพื่อการใช้งานหรือชื่อย่อย และชื่อที่ตั้งขึ้นตามระบบ ชื่อที่เรียกเพื่อการใช้งานมักสั้นและง่ายต่อการใช้ในหลายกรณีมักเป็นชื่อที่ใช้เรียกกันโดยทั่วไปแล้ว ส่วนชื่อตามระบบเป็นชื่อที่ตั้งขึ้นตามกฎเกณฑ์แน่นอนซึ่งกำหนดถึงประเภทของซับสเตรตและปฏิกริยาที่ถูกเร่ง นอกจากนี้ยังได้มีวิธีการเพื่อให้หมายเลขแก่เอนไซม์อีกด้วย ตัวอย่างเช่น E.C.1.1.1.1 เป็นหมายเลขที่กำหนดขึ้นสำหรับเอนไซม์ alcohol dehydrogenase เป็นชื่อย่อยและมีชื่อตามระบบคือ alcohol : NAD oxidoreductase เอนไซม์อาจถูกแบ่งเป็นหมวดหมู่อย่างสากลได้เป็น 6 หมู่ใหญ่ด้วยกัน ดังในตารางที่ 9-2 การแบ่งหมวดหมู่เช่นนี้มีรากฐานมาจากประเภทของปฏิกริยาเคมีที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 9-2 Major Classes of Enzymes and the Chemical Reactions They Catalyze

CLASS	CHEMICAL REACTIONS CATALYZED
1 Oxidoreductases (e.g., alcohol dehydrogenase)	Electron-transfer reactions
2 Transferases (e.g., transketolase)	Transfer of functional groups
3 Hydrolases (e.g., galactosidase)	Hydrolysis reactions
4 Lyases (e.g., aconitate hydratase)	Addition to double bonds
5 Isomerases (e.g., triose phosphate isomerase)	Isomerization reactions
6 Ligases (synthetases) (e.g., acetyl-CoA carboxylase)	Formation of bonds with cleavage of ATP

จากความเจริญก้าวหน้าทางวิชาการด้านเอนไซม์ทำให้พบปัญหาใหม่เกี่ยวกับการตั้งชื่อเอนไซม์มากขึ้น เช่นจากการพบว่ามีเอนไซม์หลายชนิดมีโครงสร้างแตกต่างกันแต่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกริยาเหมือนกันหรือใกล้เคียงกัน เอนไซม์เหล่านี้ถูกเรียกว่า isozyme หรือ isoenzyme เอนไซม์เหล่านี้เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์สังเคราะห์ส่วนย่อย (subunit) ชนิดต่าง ๆ แล้วนำมารวมกันเป็นโมเลกุลของเอนไซม์ด้วยสัดส่วนที่แตกต่างกันจึงทำให้เอนไซม์มีส่วนประกอบและโครงสร้างแตกต่างกันแต่มีกิจกรรมเหมือนกัน ดังนั้นระบบการตั้งชื่อเอนไซม์ในปัจจุบันจึงไม่อาจให้กำหนดถึงโครงสร้างซึ่งแตกต่างแต่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกริยาเหมือนกันได้

ธรรมชาติของปฏิกริยาที่ถูกเร่งโดยเอนไซม์

ปฏิกริยาที่ถูกเร่งโดยเอนไซม์ส่วนใหญ่อาจแสดงได้โดยปฏิกริยาต่อไปนี้

$$\text{Enzyme E} + \text{substrate S} \underset{k-2}{\xrightarrow{k+1}} \underset{\text{comples ES}}{\text{enzyme-substrate}} \underset{k-2}{\xrightarrow{k+2}} \text{product P} + \text{Enzyme E}$$

เอนไซม์ E และซับสเตรต S รวมกันได้เอนไซม์ซับสเตรตซับซ้อน ES แล้วแตกตัวออกให้ผลผลิต P เอนไซม์ไม่ได้ถูกใช้ไปในปฏิกริยา แต่ถูกปลดปล่อยออกมาเป็นอิสระเพื่อกลับไปทำให้เกิดปฏิกริยาซ้ำอีกกับซับสเตรตชนิดเดิมโมเลกุลใหม่ ขบวนการจะเกิดขึ้นซ้ำซ้อนเช่นนี้หลายครั้ง

ในปฏิกริยา

	อัตราความเร็วในการรวมกันของ E และ S เพื่อทำให้เกิด ES
k_{-1}	อัตราความเร็วในการแตกตัวของ ES เป็น E และ S
k_{+2}	อัตราความเร็วในการเปลี่ยนแปลง ES เป็น P และ E
k_{-2}	อัตราความเร็วคงที่เฉพาะในการย้อนกลับ

เมื่อความเข้มข้นของซับสเตรตมีน้อยเอนไซม์บางโมเลกุลจะมีสภาพเป็นอิสระ และอัตราความเร็วของปฏิกริยาจะไม่ขึ้นถึงจุดสูงสุด เมื่อซับสเตรตมีมากอย่างเหลือเฟือ เอนไซม์ทุกโมเลกุลจะอยู่ในสภาพเป็น ES และอัตราความเร็วของปฏิกริยาจะขึ้นถึงจุดสูงสุด อัตราความเร็วของปฏิกริยาภายใต้สภาพแวดล้อมทางกายภาพซึ่งเหมาะสมจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแต่ละอย่างสามอย่างคือ S, E และ P ปฏิกริยาในท้ายที่สุดจะเข้าสู่สมดุลย์คือ เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอีกต่อไป อย่างไรก็ตามถ้าผลผลิตที่เกิดขึ้นถูกกำจัดออกไปหลังจากที่เกิดขึ้นแล้วโดยอาจถูกใช้เป็นซับสเตรตของปฏิกริยาอื่น ความสมดุลย์ของปฏิกริยาก็จะไม่เกิดขึ้น ดังนั้นซับสเตรต S ก็จะถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นผลผลิต P ต่อไป ถ้าความเข้มข้นของผลผลิต P ถูกทำให้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของซับสเตรต S ปฏิกริยาจะค่อย ๆ หยุดลงหรือย้อนกลับคือ $P \longrightarrow S$

ปัจจุบันได้ปรากฏว่าปฏิกริยาที่ถูกเร่งโดยเอนไซม์ส่วนใหญ่มักยุ่งยากซับซ้อนกว่าที่แสดงไว้ข้างต้น ปฏิกริยาจะประกอบด้วยสารซับซ้อนสองหรือสามอย่างร่วมด้วย ดังลำดับต่อไปนี้

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EZ \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P$$

EZ = สถานะภาพซับซ้อนเปลี่ยนแปลงอย่างแท้จริง

EP = เอนไซม์-ผลผลิตซับซ้อน

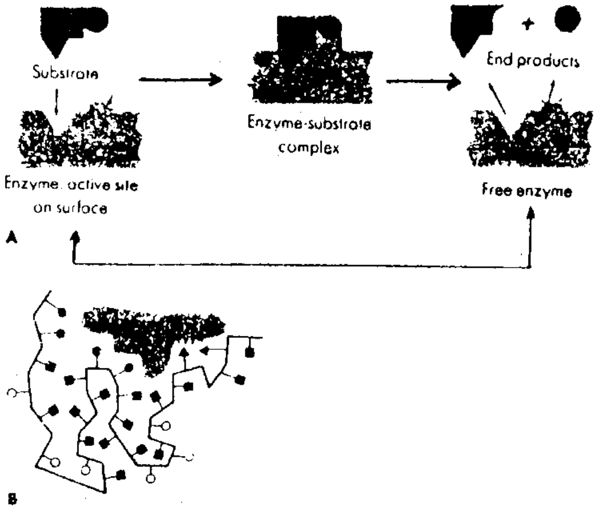
กลไกการทำงานของเอนไซม์

เนื่องจากคุณสมบัติในการเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์ร่วมกับบทบาทในขบวนการของชีวิตทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายท่านสนใจกลไกการทำงานของเอนไซม์มากแต่คำตอบอย่างชัดแจ้งเกี่ยวกับเอนไซม์นั้นยังไม่อาจทำได้เพียงแต่รู้ความจริงซึ่งนำไปสู่การปรับปรุงทฤษฎีต่าง ๆ เท่านั้น ทฤษฎีสามัญโดยทั่วไปเกี่ยวกับเอนไซม์คือ ความคิดเกี่ยวกับการถูกกระตุ้นของซับสเตรตแล้วตามมาด้วยการเกิดเอนไซม์-ซับสเตรตซับซ้อน (ES) การถูกกระตุ้นของซับสเตรตโมเลกุลเกิดขึ้นเนื่องจากการดูดดึงกันอย่างแรงทางเคมีหรือทางอีเล็กโทรนิคระหว่างโมเลกุลของซับสเตรตกับพื้นผิวบางแห่งของเอนไซม์เรียกว่าบริเวณกระตุ้น (active site) ทำให้เกิดการขึงตึงหรือฉีกขาดที่รอยเชื่อมต่อบางแห่งในโมเลกุลของซับสเตรตแล้วสลายตัว เมื่อโมเลกุลของซับสเตรตเปลี่ยนแปลงไปก็จะหมดแรงดึงดูดกับบริเวณกระตุ้นแล้วหลุดออกทำให้เอนไซม์เป็นอิสระเพื่อรวมตัวกับซับสเตรตโมเลกุลใหม่ และทำให้มีปฏิกริยาเกิดขึ้นอีก ดังในรูปที่ 9-2 นอกจากนี้การกระตุ้นของเอนไซม์ยังลดพลังงานซึ่งขวางกันไม่ให้ซับสเตรตกลายเป็นผลผลิตอีกด้วย ดังนั้นปฏิกริยาที่ถูกเร่งโดยเอนไซม์จึงต้องการพลังงานเพื่อการกระตุ้นน้อยมาก

อย่างไรก็ตามทฤษฎีนี้อาจใช้อธิบายเกี่ยวกับการสังเคราะห์หรือการสร้างสารประกอบโมเลกุลใหญ่จากสารโมเลกุลเล็กได้ คือ สารโมเลกุลเล็กสองโมเลกุลจะต้องถูกทำให้ใกล้ชิดติดกันบนผิวของเอนไซม์แล้วถูกกระตุ้นให้เกิดบอนด์ (bond) เชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลทั้งสอง เมื่อได้ผลผลิตเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่แล้วก็จะหมดแรงดึงดูดกับบริเวณกระตุ้นและหลุดออกมาเป็นอิสระ บริเวณกระตุ้นบนผิวของเอนไซม์เป็นบริเวณที่เล็กมาก ดังนั้นจึงหมายความว่าบริเวณส่วนใหญ่ของโปรตีนไม่ได้เกี่ยวข้องในการทำให้เกิดความเฉพาะเจาะจงหรือการทำงานของเอนไซม์ มีกรดอะมิโนเพียงไม่กี่ชนิดหรือกี่โมเลกุลซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับการทำงานของเอนไซม์ในบางครั้งอาจน้อยกว่าห้าโมเลกุล นอกจากนี้ความเหมาะเจาะเข้ากันได้พอดี

ระหว่างส่วนของผิวเอนไซม์กับซับสเตรตก็ไม่คงที่แต่ค่อนข้างเปลี่ยนแปลงได้โดยซับสเตรตทำให้รูปร่างโมเลกุลของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงคล้ายกับถุงมือเปลี่ยนแปลงรูปร่างตามมือที่สวมใส่

รูปที่ 9-2 (A) Enzyme-substrate reaction, depicted schematically. The substrate is attracted to some site on the surface of the enzyme molecule. The chemical groupings of the substrate are strained by this attraction, and cleavage results. The cleavage products are released from the enzyme, and the enzyme is free to combine with more substrate and continue the process. (B) The drawing shows a schematic representation of an active site. Solid circles represent "contact" amino acid residues whose fit with substrate determines specificity; triangles are catalytic residues acting on substrate bond, indicated by a jagged line; open circles are nonessential residues on the surface; squares are residues whose interaction with each other maintains the three-dimensional structure of the protein. *(Redrawn from D. E. Koshland, Jr., "Correlation of Structure and Function in Enzyme Action," Science, 142:1533-1541, 1963.)*



ภาวะซึ่งมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์

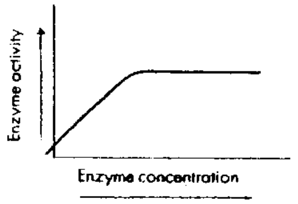
ภาวะซึ่งมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์มีดังต่อไปนี้

1. ความเข้มข้นของเอนไซม์
2. ความเข้มข้นของซับสเตรต
3. ความเป็นกรดเป็นด่าง (พีเอช)
4. อุณหภูมิ

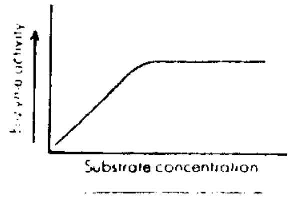
ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการย้อนกลับของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์อาจทำได้โดยอิทธิพลความเข้มข้นของซับสเตรตและผลผลิต

โดยทั่วไปอาจกล่าวได้ว่ามีความสัมพันธ์พอดีกันอยู่จุดหนึ่งระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และซับสเตรตซึ่งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ถึงจุดสูงสุด ดังรูปที่ 9-3 และ 9-4 ในทำนองเดียวกันเอนไซม์แต่ละชนิดมีการทำงานได้ดีที่สุดเฉพาะที่พีเอช (pH) และอุณหภูมิหนึ่งเท่านั้น ดังรูปที่ 9-5 และ 9-6 จากการแสดงเช่นนี้ก็ชัดแจ้งแล้วว่าถ้ามีการเปลี่ยนแปลงไปจากภาวะซึ่งเหมาะสมต่าง ๆ จะมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเป็นอย่างมาก ลักษณะเช่นนี้

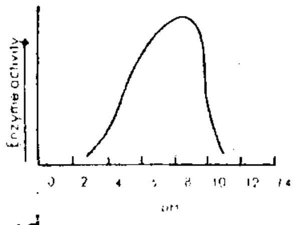
เป็นลักษณะประจำของเอนไซม์ทุกชนิด การเปลี่ยนแปลงพีเอชเป็นอย่างมากอาจมีผลในการทำลายเอนไซม์ และในทำนองเดียวกันที่อุณหภูมิสูงเช่นต้มเป็นเวลาสองสามนาทีจะทำลายเอนไซม์ส่วนใหญ่ ที่อุณหภูมิต่ำมากในการปฏิบัติเป็นการหยุดกิจกรรมของเอนไซม์แต่ไม่ทำลายเอนไซม์คือถ้าค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเอนไซม์ก็จะกลับทำงานได้ เอนไซม์หลายชนิดอาจเก็บรักษาไว้ได้โดยเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า



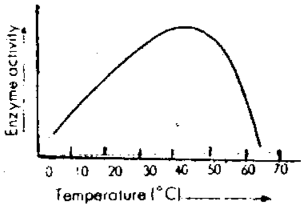
รูปที่ 9-3 **Effect of enzyme concentration on rate of activity. With highly purified enzymes there exists, within limits, a linear relationship between amount of enzyme and amount of activity.**



รูปที่ 9-4 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.



รูปที่ 9-5 Effect of pH on enzyme activity. Maximum activity occurs at a particular pH, and deviations from it cause decreased activity. (Note that not all enzymes exhibit the same pH for optimum activity as shown.)



รูปที่ 9-6 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. (Note that not all enzymes have the same temperature optimum ~~as shown.)~~

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้รับอิทธิพลจากภาวะแวดล้อมทางเคมีและทางกายภาพต่าง ๆ เนื่องจากเอนไซม์ถูกทำให้มีหน้าที่ในการเร่งปฏิกริยาซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการของชีวิต ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าภาวะซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตอื่นด้วย ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเฉพาะที่พีเอชและอุณหภูมิหนึ่งซึ่งเหมาะสมเท่านั้น เช่นเดียวกันกับเอนไซม์ซึ่งจะทำงานได้ดีที่สุดเฉพาะที่พีเอชและอุณหภูมิซึ่งเหมาะสมเท่านั้นและปริมาณของแต่ละเอนไซม์ที่เซลล์ผลิตขึ้นก็เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามไม่ได้หมายความว่าค่าต่าง ๆ ซึ่งเหมาะสมนั้นจะเหมือนกันทุกเอนไซม์ ในกรณีของการเจริญเติบโตเป็นกิจกรรมหรือการตอบสนองซึ่งถูกวัดอย่างรวม ๆ เป็นกิจกรรมทั้งหมดที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตเมื่อทุกเอนไซม์หรือระบบเอนไซม์ทำงานอย่างกลมกลืนกันภายในเซลล์ ดังนั้นภาวะซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจึงเป็นภาวะซึ่งเหมาะสมต่อเอนไซม์หรือระบบต่าง ๆ ทั้งหมดของเซลล์อย่างรวม ๆ ไม่ใช่เหมาะสมต่อเอนไซม์หรือระบบใดระบบหนึ่งโดยเฉพาะ ในการประเมินกิจกรรมของเอนไซม์บริสุทธิ์ที่คัดแยกได้โดยเฉพาะเป็นภาวะที่แตกต่างจากธรรมชาติโดยสิ้นเชิง เอนไซม์ไม่ได้อยู่ในสิ่งแวดล้อมปกติของตนเอีกต่อไปและไม่ได้รับอิทธิพลหรือร่วมเข้าไปอยู่ในหมู่ของปฏิกริยาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น ดังนั้นภาวะซึ่งเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์หนึ่งจึงไม่จำเป็นต้องเหมาะสมต่อเอนไซม์อื่นหรือต่อการทำงานทั้งหมดของเซลล์

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

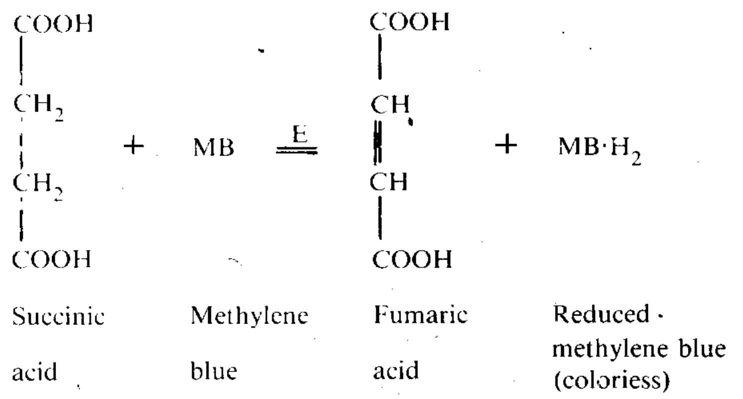
กิจกรรมของเอนไซม์อาจถูกยับยั้งได้ด้วยสารเคมีในวิถีทางต่าง ๆ แต่ที่น่าสนใจคือการยับยั้งด้วยสารเคมีอย่างมีเลศนัยกว่าการทำลายส่วนที่เป็นโปรตีนของเอนไซม์ ความรู้เฉพาะเกี่ยวกับกลวิธีการของสารเคมีในการยับยั้งเอนไซม์ช่วยทำให้ทราบถึงกลไกการทำงานของเอนไซม์และอาจมีประโยชน์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ อีกทั้งยังช่วยให้เข้าใจถึงขบวนการของชีวิต

การยับยั้งเอนไซม์แบ่งออกได้เป็นสองแบบคือ แบบกลับคืนเข้าสู่สภาพปกติได้ (reversible type) และแบบกลับคืนเข้าสู่สภาพปกติไม่ได้ (nonreversible type) แบบกลับคืนเข้าสู่สภาพปกติไม่ได้โดยทั่วไปมักเปลี่ยนแปลงหรือทำลายหมู่ซึ่งมีการทำงาน (functional group) ของเอนไซม์

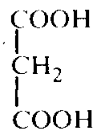
การยับยั้งแบบซึ่งกลับคืนเข้าสู่สภาพปกติได้อาจแบ่งออกได้เป็นสองแบบ คือ แบบแก่งแย่งแข่งขัน (competive) และแบบไม่แข่งขัน (noncompetitive) การยับยั้งแบบแก่งแย่งแข่งขัน

อาจทำให้กลับคืนเข้าสู่สภาพปกติได้โดยการเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรต ส่วนการยับยั้งแบบไม่แข่งขันไม่อาจทำได้โดยวิธีนี้

ตัวอย่างการยับยั้งแบบแก่งแย่งแข่งขันเช่น เอนไซม์ succinic dehydrogenase ซึ่งใช้ในการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนจากกรด succinic ไปให้แก่สารประกอบอื่นซึ่งเหมาะสม ปฏิกริยานี้อาจแสดงได้ดังสมการข้างล่างนี้โดยใช้สี methylene blue เป็นตัวรับไฮโดรเจน



ปฏิกริยานี้อาจถูกยับยั้งได้ด้วยสารเคมีมีโครงสร้างคล้ายกับกรด succinic เช่น กรด malonic เป็นต้น

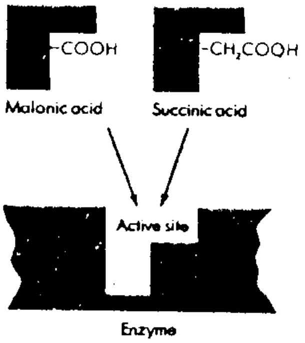


Malonic acid

เนื่องจากโครงสร้างซึ่งคล้ายกับกรด succinic เช่น กรด malonic สามารถเกาะติดกับเอนไซม์ตรงตำแหน่งที่กรด succinic เคยเกาะอยู่ได้ทำให้กรด succinic ถูกขวางกัน (blocked out) ไม่ให้เกาะติดกับเอนไซม์ แต่กรด malonic ไม่อาจถูกกระตุ้นให้เกิดปฏิกริยาได้ด้วยเอนไซม์นี้จึงไม่มีปฏิกริยาเกิดขึ้น ตัวอย่างนี้แสดงถึงการแข่งขันเพื่อเกาะติดกับเอนไซม์ที่ตำแหน่งเดียวโดยสองโมเลกุลซึ่งแตกต่างกัน ดังรูปที่ 9-7 การยับยั้งเอนไซม์แบบนี้หมายถึงการยับยั้งแบบแก่งแย่งแข่งขัน

ในกรณีของการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน สารเคมีบางอย่างมีความดึงดูดกับไออ้อนของโลหะสูงมากและรวมตัวกันเป็นสารประกอบซับซ้อน ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าเอนไซม์หลายชนิดต้องการไออ้อนของโลหะเพื่อการทำงาน สารประกอบพวกไซยาไนด์เป็นสารยับยั้งซึ่งแรงมากสำหรับเอนไซม์ซึ่งมีธาตุเหล็กประกอบอยู่โดยไซยาไนด์จะดึงดูดธาตุเหล็กซึ่งเป็นองค์ประกอบ

สำคัญให้หลุดออกจากเอนไซม์ เช่นเดียวกันกับพวกฟลูออไรด์ซึ่งยับยั้งเอนไซม์ที่ต้องการธาตุแคลเซี่ยมและแม็กนีเซี่ยมโดยรวมตัวโลหะเหล่านี้ แต่ฟรูออไรด์จำนวนเล็กน้อยในน้ำซึ่งใช้ดื่มเพื่อรักษาเคลือบฟันไม่เป็นผลในการยับยั้งเอนไซม์ การยับยั้งเอนไซม์แบบนี้หมายถึงการยับยั้งแบบไม่แข่งขันเนื่องจากสารยับยั้งไม่แก่งแย่งกับซับสเตรตเพื่อเกาะติดกับบริเวณกระตุ้นที่ผิวของเอนไซม์ การยับยั้บแบบไม่แข่งขันในกรณีนี้อาจทำให้กลับคืนสู่สภาพปกติได้โดยเติมไออ้อนของโลหะให้มีความเข้มข้นมาก

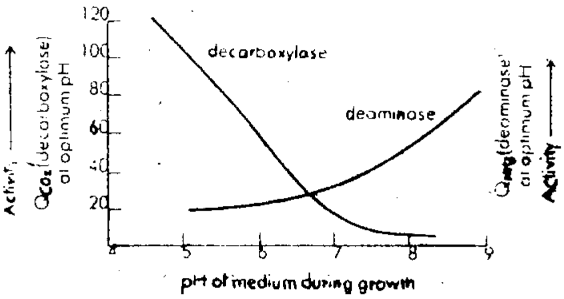


รูปที่ 9-7 Competitive inhibition (schematic) between malonic acid and succinic acid. Note that each molecule has a structurally similar fragment. Since this portion of either molecule can fit or combine with a site on the enzyme surface, there is competition between the two substrates for this site. 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.

ภาวะซึ่งมีผลต่อการเกิดเอนไซม์

ปริมาณของเอนไซม์ภายในเซลล์สัตว์ชั้นสูงมักค่อนข้างคงที่เนื่องจากอยู่ในร่างกายซึ่งมีสภาพแวดล้อมทั้งทางเคมีและกายภาพเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่เซลล์ของแบคทีเรียมักต้องประสพกับการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมอยู่เสมอ ตัวอย่างเช่น **Eacherichia coli** อาจเจริญเติบโตในอาหารซึ่งมีสภาพเป็นกรดหรือด่าง (พีเอช 4.5 ถึง 9.5) ที่อุณหภูมิห้องหรือที่สูงกว่าอุณหภูมิร่างกาย ในสภาพที่มีหรือไม่มีอ๊อกซิเจน เซลล์ของ *E. coli* ซึ่งเจริญเติบโตในสภาพซึ่งแตกต่างกันหมดจะมีองค์ประกอบของเอนไซม์แตกต่างกันทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ ดังรูปที่ 9-8 อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมถึงแม้ว่ามีอิทธิพลต่อการเกิดเอนไซม์แต่ก็ไม่ได้หมายความว่าสิ่งมีชีวิตไม่มีเอนไซม์เป็นแบบฉบับซึ่งคงที่ สิ่งมีชีวิตแสดงการเปลี่ยนแปลงสนองตอบสภาพ-แวดล้อมได้ในขอบเขตจำกัดเท่านั้น เป็นเรื่องที่สำคัญมากในการตรวจสอบจุลินทรีย์จะต้องคำนึงถึงความสามารถในการแสดงความเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในการตรวจสอบลักษณะของจุลินทรีย์จะต้องกระทำภายใต้ภาวะซึ่งกำหนดให้รวมทั้งส่วนประกอบของอาหารซึ่งเซลล์เจริญเติบโตเช่นเดียวกันกับภาวะทางกายภาพตลอดระยะเวลาการบ่ม

รูปที่ 9-8 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, New York, 1952.)*



ด้วยพื้นฐานของการมีซับสเตรตและการเกิดเอนไซม์ เอนไซม์ของแบคทีเรียอาจแบ่งออกได้เป็นสองพวกจากการบรรยายของ Karstrom ในปี 1930 ดังต่อไปนี้คือ

1. Constitutive Enzyme คือ เอนไซม์ที่เซลล์ผลิตขึ้นอยู่ตลอดเวลาโดยไม่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของอาหารที่เซลล์เจริญเติบโต

2. Adaptive (induced) Enzyme คือ เอนไซม์ที่เซลล์ผลิตขึ้นเพื่อตอบสนองต่อกาซับสเตรตเฉพาะชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้นหรือหมายถึงเอนไซม์ที่ถูกผลิตขึ้นเมื่อเซลล์ต้องการ Karstrom ใช้คำว่า adaptive enzyme เพื่อให้มีความหมายเกี่ยวข้องกับขบวนการปรับตัวของสิ่งมีชีวิต แต่ในปัจจุบันมักนิยมใช้คำว่า induced enzyme หมายถึงเอนไซม์ที่เซลล์ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นมาได้ ขบวนการกระตุ้นให้สร้างเอนไซม์ถูกเรียกว่า enzyme induction และซับสเตรตหรือสารที่มีโครงสร้างคล้ายซับสเตรตซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ถูกเรียกว่า inducer

ในแง่ของความเป็นจริงเกี่ยวกับเรื่องนี้ Induced enzyme ก็ใช่ว่าจะไม่มีอยู่ในเซลล์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้นเลยแต่เชื่อว่ามีอยู่บ้างในปริมาณที่น้อยมากและ Constitutive enzyme ก็อาจถูกกระตุ้นให้สร้างมากขึ้นได้ด้วยการปรากฏของซับสเตรตเฉพาะกลวิธีการกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ชนิดใหม่โดยใช้ inducer ต่าง ๆ มีประโยชน์ในการศึกษาวิจัยเพื่อแสดงถึงกลไกในการเกิดเอนไซม์

การควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์

ในเซลล์ซึ่งมีชีวิตหนึ่ง ๆ มีเอนไซม์หลายร้อยชนิดแตกต่างกัน ดังที่ทราบมาแล้วว่าเอนไซม์แต่ละชนิดมีผลในการเร่งปฏิกริยาได้เพียงหนึ่งหรือสองปฏิกริยาเท่านั้น แต่เอนไซม์ทั้งหมดจะกระทำร่วมกันอย่างมีระเบียบจนกระทั่งกิจกรรมทางเคมีทั้งหมดในเซลล์เกิดขึ้น

อย่างกลมเกลียวเป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน ที่เห็นได้ชัดอย่างหนึ่งก็คือ เซลล์จะไม่สังเคราะห์หรือย่อยสลายสารมากเกินกว่าที่จำเป็นเพื่อการเจริญเติบโตและการเมตาโบลิซึ่มตามปกติ ทุกเซลล์มีกลไกควบคุมการเมตาโบลิซึ่มของตนเองอย่างเที่ยงตรง โดยแท้จริงแล้วขบวนการเมตาโบลิซึ่มหลักทุกอย่างมีความสามารถในการควบคุมตัวเองได้

การควบคุมการเมตาโบลิซึ่มของเซลล์ที่แท้จริงก็คือการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ในเซลล์ของจุลินทรีย์เช่นแบคทีเรียมีกลไกควบคุมตนเองซึ่งสำคัญมากเนื่องจากการทำงานในเซลล์ของจุลินทรีย์ขาดการควบคุมจากภายนอกต่างจากการทำงานในเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ชั้นสูงซึ่งจะได้รับการควบคุมบางส่วนจากส่วนอื่นของร่างกาย เช่น จากต่อมผลิตฮอร์โมนต่าง ๆ เป็นต้น

โดยทั่วไปอาจกล่าวได้ว่าเอนไซม์สามารถควบคุมหรือกำหนดระเบียบได้ในสองวิถีทางคือ (1) ควบคุมโดยกลไกทางพันธุกรรม และ (2) ควบคุมโดยกลไกการทำงานของเอนไซม์โดยตรง การควบคุมโดยกลไกในระดับเป็น (gene) หรือพันธุกรรมได้แก่การกระตุ้น (induction) ให้สร้างและการสกด (repression) การสร้างเอนไซม์ การควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์โดยตรงอาจทำได้โดยกลไกในการเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์เองหรือโดยการคู่ควบกับกลไกในการเร่งปฏิกริยาของขบวนการอื่น การควบคุมโดยตรงในกรณีแรกเป็นการควบคุมอย่างง่ายซึ่งเกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของซับสเตรตหรือสารที่ทำปฏิกริยาอาจแสดงให้เห็นได้โดยลักษณะของปฏิกริยาซึ่งถูกกำหนดโดยการเคลื่อนไหว (kinetic) ต่าง ๆ ของเอนไซม์ ตัวอย่างเช่น ในขณะที่ความเข้มข้นของซับสเตรตสูงขึ้น อัตราความเร็วของปฏิกริยาจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงค่าความจำกัดอันหนึ่ง นอกจากนี้ในขณะที่ผลผลิตของปฏิกริยาถูกสะสมมากขึ้น อัตราความเร็วของปฏิกริยาจะลดลง สารที่ทำปฏิกริยาอื่นเช่นโคเอนไซม์และโคแฟคเตอร์ก็สามารถใช้ในการควบคุมซึ่งมีอิทธิพลต่อทั้งเซลล์ได้ การควบคุมโดยตรงของกลไกกรเร่งปฏิกริยาเองยังสามารถทำให้เกิดขึ้นได้โดยการแยกเอนไซม์ไว้ต่างหากจากส่วนอื่น ๆ ของเซลล์อีกด้วย เช่น เอนไซม์บางอย่างถูกห่อหุ้มไว้โดยโครงสร้างต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้แก่เยื่อหุ้มพิเศษและสารประกอบโมเลกุลใหญ่ต่าง ๆ ทำให้เอนไซม์ไม่มีโอกาสได้สัมผัสกับซับสเตรตโดยตรง

การควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์โดยตรงโดยการคู่ควบกับขบวนการอื่นปกติมักหมายถึงการกำหนดระเบียบโดยสารควบคุมที่เรียกว่า ligand ซึ่งสามารถรวมตัวกับเอนไซม์หนึ่งได้ Ligand เป็นสารซึ่งไม่ได้มีส่วนร่วมในขบวนการเร่งปฏิกริยาโดยตรง และมีโครงสร้างไม่ได้สัมพันธ์กับซับสเตรต การควบคุมเอนไซม์โดยวิธีนี้อาจแบ่งออกได้เป็นหลายแบบดังต่อไปนี้

1. Precursor activation คือการที่สารปฏิกริยาแรกของลำดับปฏิกริยา (pathway) หนึ่งทำหน้าที่เป็น ligand ควบคุมการทำงานของเอนไซม์โดยกระตุ้นให้เอนไซม์ในลำดับปฏิกริยาต่อมาทำงานได้

2. Polymerization-depolymerization หรือ association-dissociation reaction ของเอนไซม์ซึ่งมีหลายหน่วยย่อยและเอนไซม์หลายอย่างซึ่งทำงานรวมกันหรือต่อเนื่องกัน ปฏิกริยาเหล่านี้อาจถูกสับเปลี่ยนให้ทยอยเกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงการจับติดของ ligand กับเอนไซม์ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไป

3. Energy-link control คือการกำหนดระเบียบโดย ligand ซึ่งเป็นสารพวก adenylate เช่น ATP หรือ พวก purine หรือ pyrimidine mucleotide ต่าง ๆ

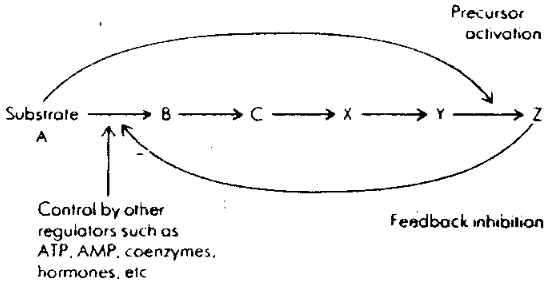
4. Hormone control คือการกำหนดระเบียบด้วย ligand ซึ่งเป็นสารพวกฮอร์โมน ฮอร์โมนมักควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ด้วยกลไกซึ่งซับซ้อน จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตซึ่งไม่มีฮอร์โมนยกเว้นพวกโปรโตซัวบางชนิดเท่านั้น

5. Activating enzyme คือเอนไซม์ซึ่งมีซับสเตรตเป็นเอนไซม์อีกชนิดหนึ่ง ดังนั้นจึงสามารถควบคุมการทำงานของเอนไซม์ซึ่งเป็นซับสเตรตได้โดยเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือโครงสร้างของเอนไซม์

6. Feedback inhibition คือการที่ผลผลิตสุดท้ายของลำดับปฏิกริยาเมตาโบลิซึมทำหน้าที่เป็น ligand ระงับการสังเคราะห์ตนเองขึ้นโดยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์หนึ่งในตอนเริ่มต้นของเส้นทางการสังเคราะห์ การยับยั้งโดยย้อนกลับแบบนี้มีหลายอย่างแตกต่างกันและเป็นตัวอย่างสำคัญแสดงถึงความก้าวหน้าทางวิทยาการด้านความรู้เกี่ยวกับการควบคุมของเซลล์

แผนภูมิในรูปที่ 9-9 แสดงถึงกลไกบางอย่างในการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์

รูปที่ 9-9 **Scheme showing some mechanisms for the regulation of enzyme activity by direct control through a coupling of the catalytic mechanism with other processes. (See text for fuller explanation.)**



คุณสมบัติของเอนไซม์ซึ่งควบคุมได้

เอนไซม์ไม่ใช่ทุกชนิดที่ถูกควบคุมได้ แต่เอนไซม์เหล่านั้นอาจถูกควบคุมโดยร่วมอยู่ในกิจกรรมของระบบเอนไซม์ซับซ้อนซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์หลายอย่าง เอนไซม์ซึ่งถูกควบคุมได้โดยทั่วไปมักมีขนาดใหญ่ ทั้งยังซับซ้อนและถูกทำให้บริสุทธิ์ได้ยาก เอนไซม์ที่ถูกควบคุมได้ทุกชนิดมีเส้นโพลีเพ็บไทด์มากกว่าหนึ่งเส้นบางชนิดก็มีหลายเส้น ทุกชนิดมีหลายหน่วยย่อยที่จำเป็นต่อการควบคุม

เอนไซม์ที่ถูกควบคุมได้จะถูกกระทำโดยสารปฏิกริยาเพื่อการควบคุมซึ่งเรียกว่า effector, modifier หรือ modulator Modulator จะเปลี่ยนแปลงสัมพันธภาพระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรตและส่วนอื่นของปฏิกริยาก็มักถูกเปลี่ยนแปลงด้วย เมื่อมี *positive effector* ซึ่งมักเรียกว่า *activator* ปรากฏอยู่จะทำให้เอนไซม์มีสัมพันธภาพกับซับสเตรตสูงขึ้นแต่เมื่อมี *inhibitor* หรือ *negative effector* จะทำให้สัมพันธภาพระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรตลดลง ในกรณีหลังนี้ผลหมายถึงว่าเมื่อมี *negative effector* หรือ *modulator* ปรากฏอยู่จำเป็นจะต้องทำให้ความเข้มข้นของซับสเตรตสูงขึ้นจึงจะได้อัตราความเร็วของปฏิกริยาเท่ากับเมื่อไม่มี *modulator* ปรากฏอยู่

ในกรณีของเอนไซม์ซึ่งถูกควบคุมได้แบบ *homotropic* ซับสเตรตซึ่งถูกกระทำโดยเอนไซม์นั้นจะทำหน้าที่เป็น *modulator* ด้วย ส่วนเอนไซม์ซึ่งถูกควบคุมได้แบบ *heterotropic* จะมี *modulator* ซึ่งไม่ใช่ซับสเตรตของตนเอง แต่เอนไซม์ซึ่งถูกควบคุมได้แบบ *homotropic-heterotropic* จะถูกควบคุมหรือเปลี่ยนแปลงได้ด้วยทั้งซับสเตรตของตนเองและ *modulator* อื่น

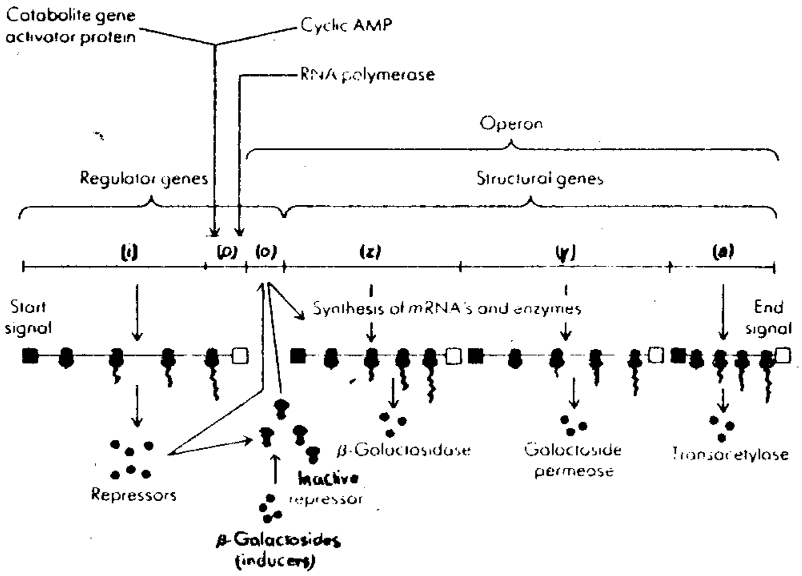
การกระตุ้นและการสกดการสร้างเอนไซม์

ดังที่กล่าวมาแล้วว่าเอนไซม์อาจถูกควบคุมได้ด้วยกลไกซึ่งเกี่ยวข้องกับพันธุกรรม และได้กล่าวมาแล้วว่าการกระตุ้น *(induction)* และการสกด *(repression)* การสังเคราะห์เอนไซม์เป็นการกระทำในระดับยีน *(gene)* หรือพันธุกรรม

ในการสังเคราะห์เอนไซม์เฉพาะชนิดใดชนิดหนึ่งสิ่งมีชีวิตจะต้องมียีนโครงสร้าง *(structural gene)* เพื่อการสังเคราะห์เอนไซม์นี้บนเส้นโครโมโซม ยีนโครงสร้างเป็นตัวกำหนดโครงสร้างของเอนไซม์ในรูปของลำดับของกรดอะมิโนในเส้นโพลีเพ็บไทด์ แต่ยีนโครงสร้างไม่ได้ควบคุมอัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ อัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนควบคุม *(regulator gene)*

ในแบคทีเรียหลายชนิดยีนโครงสร้างซึ่งควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เพื่อใช้ในการทำให้เกิดลำดับปฏิกิริยาการเมตาโบลิซึ่มเฉพาะอย่างหนึ่งจะเรียงต่อกันอยู่ในเส้นโครโมโซมเป็นลำดับเช่นเดียวกันกับลำดับปฏิกิริยาในเส้นทางการเมตาโบลิซึ่ม *(metabolic pathway)* ดังนั้นจึงหมายความว่าลำดับปฏิกิริยาในเส้นทางการเมตาโบลิซึ่มถูกกำหนดโดยโครโมโซม หมู่ของลำดับยีนซึ่งมีการทำงานอยู่ในหน่วยเดียวกันเช่นนี้ถูกเรียกว่า *operon* โดย *Francois Jacob* และ *Jacques Monod*

เมื่อมีสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำบางอย่างอาจเป็นซับสเตรตหรือสารที่ใกล้เคียงกับซับสเตรต *(inducer)* ของปฏิกิริยาการเร่งด้วยเอนไซม์ปรากฏขึ้นในเซลล์เพื่อกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ ขบวนการนี้ถูกเรียกว่า induction แต่สำหรับสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำอย่างอื่นอาจเป็นผลผลิตของปฏิกิริยาหรือสารที่ใกล้เคียงซึ่งสามารถกระทำหน้าที่เป็น corepressor โดยป้องกันการสังเคราะห์เอนไซม์ของยีนโครงสร้าง ปรากฏการณ์นี้ถูกเรียกว่า repression Corepressor มีการทำงานโดยจับตัวกับ repressor กลายเป็นสารซับซ้อนว่องไวจับตัวกับ operator gene ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไปได้ จึงเป็นการป้องกันไม่ให้มีการสังเคราะห์ m RNA (messenger ribonucleic acid) Repressor เป็นผลผลิตของยีนควบคุมและเป็นสารประกอบพวกโปรตีน สามารถรวมตัวกับ inducer กลายเป็นสารซับซ้อนซึ่งไม่อาจทำงานได้ ในกรณีเช่นนี้การสังเคราะห์ m RNA ก็จะเกิดขึ้นได้ ดังรูปที่ 9-10



รูปที่ 9-10 The Jacob-Monod model of gene control. In the absence of inducer, the *i* gene product reacts with the operator locus and prohibits the transcription of the genetic information encoded in the complete operon. In the presence of inducer, the *i* gene product can no longer combine with the operator gene locus. The *lac* operon is no longer repressed, and transcription and translation of the genes take place. (See text for further explanation.)

THE lac OPERON

เมื่อสารกระตุ้น (inducer) เช่น lactose หรือ β -galactoside อื่น ๆ ถูกเติมลงในอาหารเพาะเชื้อ *E. coli* จะทำให้อัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ β -galactosidese (ไฮโดรเจนแลคโตสเป็นกลูโคสและกาแลคโตส), β -galactoside permease (ลำเลียงน้ำตาลแลคโตสเข้าสู่เซลล์) และ thiogalactoside transacetylase (มีการทำงานทางสรีรวิทยาซึ่งยังไม่ทราบ) เพิ่มขึ้นถึง 1,000 เท่า ยีนเพื่อการสังเคราะห์โปรตีนทั้งสามชนิดนี้อยู่เชื่อมติดต่อกันในเส้นโครโมโซมของ *E. coli* ดังรูปที่ 9-12 คือ ยีน z, y และ a ซึ่งกำหนดระหัสการสังเคราห์เอนไซม์ β -galactosidase, galactoside permease และ transacetylase ตามลำดับ ในกรณีที่ปราศจากการควบคุมอัตราการสร้างเอนไซม์ก็ควรจะคงที่และขึ้นอยู่กับยีนโครงสร้าง (เช่น x, y และ a) ความเข้มข้นของกรดอะมิโนเอนไซม์ซึ่งใช้ในการกระตุ้นและสารอื่น ๆ เท่านั้น อย่างไรก็ตามอัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนควบคุมในที่นี้คือยีน i, p และ o ดังแสดงในรูปที่ 9-12 i คือ repressor gene, p คือ promoter gene และ o คือ operator gene ยีน i มีระหัสกำหนดการสังเคราะห์ repressor protein เพื่อรวมตัวกับ DNA ของ operator gene (O) จึงเป็นการยับยั้งการสังเคราะห์ m RNA (transcription), Promoter gene (P) เป็นตำแหน่งบนเส้น DNA ซึ่งมีเอนไซม์ RNA polymerase เพื่อการสังเคราะห์ m RNA เกาะติดอยู่ ดังนั้นจึงเป็นตำแหน่งเริ่มต้นของการสังเคราะห์ m RNA การทำงานของ Jacob-Monod model ในการควบคุมยีนอาจอธิบายได้ดังนี้

1. ยีนทำหน้าที่เป็นแม่พิมพ์ (template) เพื่อการสังเคราะห์ m RNA (transcription) และกลไกการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์จะแปลความหมายจาก m RNA เป็นเส้นโพลีเพ็บไทด์

2. ยีน z, y และ a จะเข้าจัดการขบวนการ transcription คล้ายเป็นหน่วยเดียวกันโดยเริ่มต้นที่ p

3. ขบวนการ transcription ของ operon ถูกควบคุมทั้งในทางบวกและลบ การควบคุมในทางลบเกิดขึ้นโดย lac repressor เกาะติดที่ยีน o โดยเฉพาะจึงเป็นการป้องกันการ transcription สารกระตุ้น (inducer) เช่น น้ำตาลแลคโตสจะกระตุ้นการสังเคราะห์ lac m RNA โดยรามกับ repressor และลดการดึงดูดกับอำนาจหรือการแสดงออกของ operon จะถูกสกดเมื่อมีแหล่งของธาตุคาร์บอนเพียงพอ เช่นมีน้ำตาลกลูโคสปรากฏอยู่ในอาหาร ในบางวิถีทางการเมืองมีน้ำตาลกลูโคสปรากฏอยู่มีผลทำให้ความเข้มข้นของ cyclic AMP (adenosine-3′, 5′-monophosphate) ภายในเซลล์ลดลง Cyclic AMP มีความจำเป็นต่อการแสดงออกอย่างมีประสิทธิภาพของ lac operon เนื่องจาก cyclic AMP ทำหน้าที่กระตุ้นโปรตีนซึ่งเรียกว่า catabolite gene

activator protein (CAP) ซึ่งมีผลในการกระตุ้น transcription ของ lac m RAN โดยเอนไซม์ RNA polymerase ที่ promoter site (gene)

ทั้ง cyclic AMP และสารกระตุ้นเฉพาะมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์ inducible enzyme หลายชนิดใน **E. coli** ถ้าอย่างหนึ่งอย่างใดขาดไปจะทำให้สังเคราะห์เอนไซม์ได้น้อย สารกระตุ้นเฉพาะจะกระตุ้นแต่เฉพาะเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเมตาโบลิซึ่มของตนเท่านั้น แต่ cyclic AMP จะควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนได้หลายชนิด ใน lac operon, cyclic AMP จะกระทำที่ promoter site เพื่ออำนวยความสะดวกในการเริ่มต้นของการ transcription กิจกรรมนี้จำเป็นต้องใช้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า catabolite gene activator protein (CAP) หรือเรียกว่า cyclic AMP receptor protein.