บทที่ 38 รายละเอียดข้อมูลสารเคมีชีวภาพประเภท เอนไซม์ (Enzyme)

1. ข้อมูลทั่วไป

เอนไซม์ (Enzyme) คือ กลุ่มของโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ ทั่วไป กล่าวคือ มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง เพื่อใช้ในการสังเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ และระบบการย่อยอาหาร เป็นต้น โดยเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อสารที่ทำปฏิกิริยาที่เรียกว่า “ซับสเตรต” (Substrate) และสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้

1.1 คุณสมบัติของเอนไซม์ ได้แก่

- เอนไซม์มีโครงสร้างทางเคมีเป็นโปรตีน ซึ่งประกอบไปด้วยพอลิเปปไทด์ (Polypeptide) เพียงสายเดียวหรือหลายสายที่ม้วนกันเป็นก้อนกลม มีโครงรูปที่จำเพาะ และถูกกำหนดมาโดยลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน และยังมีเอนไซม์อีกจำนวนมากที่มีสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีนรวมอยู่ด้วยจึงทำหน้าที่ได้ เอนไซม์เหล่านี้เรียกว่า “โฮโลเอนไซม์” (Holoenzyme) เฉพาะส่วนที่เป็นโปรตีนจะเรียกว่า “กลุ่มโพรสทีติก” (Prosthetic group) ซึ่งอาจจะเป็นไอออนของโลหะเรียกว่า “โคแฟกเตอร์” (Cofactor) และถ้าเป็นสารประกอบอินทรีย์จะเรียกว่า “โคเอนไซม์” (Coenzyme)
- มีเอนไซม์จำนวนมากจะไม่ทำงานถ้าไม่มีตัวช่วย นั่นคือ โคเอนไซม์และโคเอนไซม์ส่วนใหญ่จะเป็นวิตามินชนิดที่ละลายน้ำหรือเกลือแร่จำเป็นยางชนิด ซึ่งเกลือแร่จำเป็นน้ำบางครั้งจะเรียกว่า โคแฟกเตอร์ ซึ่งเอนไซม์ทำจากโปรตีน แต่โคเอนไซม์ไม่ใช่โปรตีน และเอนไซม์จะมีขนาดใหญ่มากกวาโคเอนไซม์ โดยในระห่างการทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีอยู่นั้น เอนไซม์จะกลีบคืนมาเป็นอิสระอย่างเดิม แต่โคเอนไซม์จะหมดเปลืองไปเรื่อย ๆ จึงจำเป็นต้องหามาเสริมจากที่ต่าง ๆ
- เอนไซม์แต่ละชนิดมีหน้าที่เฉพาะตัว เพราะจะทำปฏิกิริยาเคมีจำเพาะกับสารตั้งต้น หรือ ซับสเตรตที่ถูกกำหนดไว้เท่านั้น เช่น เอนไซม์ชนิดย่อยไขมันจะไม่ย่อยแป้ง และเอนไซม์ย่อยแป้งจะไม่ย่อยโปรตีน เป็นต้น
- เอนไซม์จะยังคงสภาพเดิมทั้งคุณสมบัติและปริมาณ ภายหลังการเกิดปฏิกิริยาแล้วจึงจะสามารถเร่งปฏิกิริยาต่อไปได้อีก
- เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามารถเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาโดยเป็นตัวลดพลังงานกระตุ้น
- เอนไซม์มีความไวต่อปฏิกิริยามาก แม้ในปริมาณเล็กน้อยก็สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ ถ้าไม่มีเอนไซม์ปฏิกิริยาเคมีทุกชนิดจะเกิดขึ้นช้ามาก จนชีวิตไม่สามารถรอดอยู่ได้
- การแช่แข็งจะไม่ทำลายความสามารถของเอนไซม์ส่วนใหญ่ แต่เอนไซม์จะถูกทำลายได้โดยง่ายที่ความร้อนสูงเกิน 45 องศาเซลเซียส
- เอนไซม์มีความจำเพาะเจาะเจาะจงต่อซับสเตรต หรือสารตั้งต้นที่จะเข้าทำปฏิกิริยาแต่ละชนิด จึงสามารถเร่งปฏิกิริยาใดปฏิกิริยาหนึ่งโดยเฉพาะเท่านั้น ยกเว้นเอนไซม์บางชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงน้อยจะเร่งปฏิกิริยาของสารเริ่มต้นที่คล้ายกันได้
- อัตราการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิ (อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานโดยทั่วไปของเอนไซม์อยู่ในช่วง 25-40 องศาเซลเซียส หากสูงเกินไปจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพโครงสร้าง ทำให้เข้าร่วมกับซับสเตรตไม่ได้), ความเป็นกรดเบส (โดยทั่วไปเอนไซม์จะทำงานได้ดีในช่วงค่า pH 6-7 แต่เอนไซม์หลายชนิดจะทำงานได้ดีในสภาพความเป็นกรดเบสแตกต่างกันออกไป เช่น ลิเพส ทำงานได้ดี

ที่สุดที่ค่า pH7 เพบซินที่ pH1.5-2.5, ทริบซินที่ pH 8-11 เป็นต้น), ปริมาณของเอนไซม์และซับสเตรต (อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะแปรผันตามความเข้มข้น ถ้ามากเกินพออัตราการเกิดปฏิกิริยาจะคงที่เนื่องจากไม่มีเอนไซม์และซับสเตรตเหลือพอที่จะทำปฏิกิริยา)

- เอนไซม์แต่ละชนิดที่ร่างกายผลิตขึ้นมาจะมีชีวิตหรืออายุได้เพียง 20 นาที และจะต้องมีเอนไซม์ใหม่เข้ามาทดแทนอยู่เรื่อย ๆ แต่ก็มีเอนไซม์บางชนิดสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นระยะเวลาหลายสัปดาห์ ก่อนที่มันจะหมดสภาพไป
- เอนไซม์ที่มีระดับต่ำในร่างกาย จะมีความสัมพันธ์กับโรคของความเสื่อมต่าง ๆ ถ้าเอนไซม์มีระดับต่ำมาก โรคแห่งความเสื่อมก็จะเกิดขึ้นมากตามไปด้วย
- สิ่งมีชีวิตทุกชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ขึ้นมาได้เอง ด้วยความสามารถในการผลิตที่ต่างกัน [1,2]

1.2 หน้าที่ของเอนไซม์ [1,2]

เอนไซม์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต เมื่ออาหารจะถูกส่งเข้าไปเลี้ยงในร่างกายจะต้องอาศัยเอนไซม์ในการกระบวนการย่อยอาหาร และจะต้องอาศัยวิตามิน แร่ธาตุ กรดอะมิโน สารไฟเตท ที่จำเป็นเป็นตัวประกอบสำคัญในการเสริมประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ร่างกายของประกอบไปด้วยเซลล์ขนาดเล็กหลายล้านเซลล์ สารอาหารจะต้องถูกย่อยโดยการทำงานของเอนไซม์จนมีขนาดเล็กในระดับไอออน จึงจะสามารถผ่านหนังของเซลล์ขนาดเล็กแต่ละเซลล์ได้ ร่างกายจึงจะดำรงชีวิตอยู่ได้ ในทางกลับกันถ้าสารอาหารไม่สามารถส่งไปถึงเซลล์ได้ การซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอก็ไม่สามารถทำได้ จึงทำให้ร่างกายเกิดภาวะเสื่อม ส่งผลทำให้ภูมิคุ้มกันทำหน้าที่ไม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เป็นโรคต่าง ๆ ดังนั้นหน้าที่หลักที่แท้จริงของเอนไซม์คือ ช่วยในการย่อยอาหาร โดยเอนไซม์มีหน้าที่เป็นตัวเร่งในการย่อยอาหารให้สมบูรณ์ ทำให้ร่างกายได้รับสารอาหารที่มีคุณภาพแล้วนำไปใช้ได้ นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีหน้าที่ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง ช่วยสร้างโปรตีนในกล้ามเนื้อ ช่วยทำให้กล้ามเนื้อหดตัว สลายสารพิษ ทำให้เลือดบริสุทธิ์ ช่วยกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากปอด และช่วยลดความเครียดของตับอ่อนและอวัยวะอื่น ๆ ภายในร่างกาย

1.3 กลไกการทำงานของเอนไซม์

- การจับตัวระหว่างซับสเตรตกับเอนไซม์

เอนไซม์ประกอบไปด้วยบริเวณเร่งซึ่งเกิดจากการม้วนพับตัวของสายพอลิเพปไทด์ หากเทียบขนาดของบริเวณนี้กับทั้งโมเลกุลของเอนไซม์แล้ว พบว่า บริเวณเร่งมีขนาดเล็กมากและมักมีลักษณะเป็นร่อง (Cleft) ลึกลงไปจากพื้นผิวของเอนไซม์ เสมือนเป็นอาณาเขตที่จำเพาะสำหรับการเกิดปฏิกิริยาซึ่งแยกออกจากสภาพแวดล้อมที่มีน้ำและสารเคมีอื่น ๆ เอนไซม์ทำงานได้ดีมากน้อยเพียงใดขึ้นกับความสามารถทีบริเวณเร่งนี้จับกับซับสเตรตเกิดเป็นสารเชิงซ้อนเอนไซม์-ซับสเตรต (Enzyme-substrate complex) แรงยึดระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรตอาจเป็นได้ทั้งโคเวเลนซ์ พันธะไฮโดรเจน หรือแรงแวนเดอร์วาลส์

- การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์และรูปร่างของซับสเตรต

ในปี ค.ศ 1890 Emil Fisher ได้สร้างสมมุติฐาน "กุญแจและลูกกุญแจ" (Lock and key hypothesis)เพื่ออธิบายถึงสาเหตุทีเอนไซม์และซับสเตรตมีความจำเพาะสูง โดยเปรียบซับสเตรตและบริเวณเร่งของเอนไซม์เสมือนลูกกุญแจกับกุญแจ สมมุติฐานของ Fisher อธิบายว่า เอนไซม์และซับสเตรตมีรูปร่างคงที่ตลอดเวลา อย่างไรก็ตาม สมมุติฐานของ Fisher ได้ถูกเปลี่ยนแปลงไป

ทั้งนี้มาจากผลการศึกษาสมบัติทางฟิสิกส์และทางจลนศาสตร์ของเอนไซม์ซึ่งพบว่า เมื่อเอนไซม์และซับ-สเตรตเข้าจับตัวกันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ในหลาย ๆ กรณีจึงทำให้เกิดแบบจำลองที่รียกว่า การชักนำให้เข้ารูป (Induced fit model) การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยหมู่โซ่ข้างของ

กรดอะมิโนที่เข้าร่วมในการเร่งปฏิกิริยาถูกดึงเข้ามาอยู่ในทิศทางและตำแหน่งที่เหมาะสมโดยใช้พลังงานที่เรียกว่า พลังงานการจับตัวกัน (Binding energy) ปรากฏการณ์นี้ยังช่วยให้บริเวณเร่งมีสภาพเหมือนถุงที่ไม่ชอบน้ำมากขึ้น (Hydrophobic pocket) ซึ่งทำให้พันธะหรือแรงระหว่างเอนไซม์-ซับสเตรตแข็งแรงมากขึ้น ซับสเตรตเองก็อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ในขณะที่เข้าไปจับกับบริเวณเร่งของเอนไซม์เช่นกัน เช่น ในปฏิกิริยาการสลายพันธะไกลโคซิดิกของพอลิแซ็กคาไรด์โดยไลโซไซม์ เป็นต้น

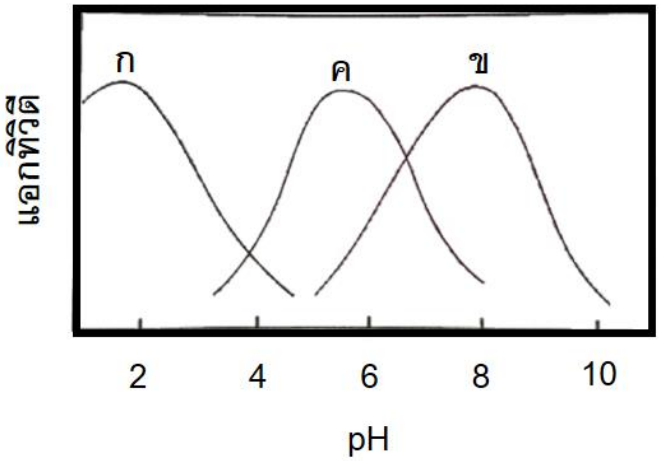
- วิธีการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

หลังจากซับสเตรตเข้าจับกับเอนไซม์แล้ว จะเกิดแล้ว จะเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างหมู่โซ่ข้างของกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์กับซับสเตรต เราเรียกหมู่เคมีที่ทำหน้าที่นี้ว่าหมู่เร่งปฏิกิริยา (Catalytic group) การเร่งปฏิกิริยาอาจจะเป็นแบบกรด-เบส (Acid-base catalysis) แบบโคเวเลนซ์ (Covalent catalysis) แบบที่ใช้โลหะ (Metalion catalysis) แบบไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Catalysis) หรืออื่นๆขึ้นกับธรรมชาติของหมู่เคมีที่บริเวณเร่งของเอนไซม์และซับสเตรต

1.4 สมบัติในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ [1,2]

- **เอนไซม์มีค่า pH ที่เหมาะที่สุด (Optimum pH)**

ที่ pH ต่าง ๆ กัน เอนไซม์ชนิดหนึ่ง ๆ จะทำงานได้ดีไม่เท่ากัน แต่มี pH อยู่ช่วงหนึ่งที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุด (ภาพที่ 1) สามารถเรียก pH ในช่วงนั้นว่า pH ที่เหมาะที่สุด ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดมี pH ที่เหมาะที่สุดแตกต่างกันไป สาเหตุหนึ่งที่ทำให้เอนไซม์แต่ละชนิดมี pH ที่เหมาะที่สุดคือ pH มีผลต่อการแตกตัวของหมู่โซ่ข้างของกรดอะมิโนในบริเวณเร่งที่จะต้องเข้าทำปฏิกิริยากับซับสเตรต ตัวอย่างเช่น ไลโซไซม์ ซึ่งมี pH ที่เหมาะที่สุดเป็น 5.8 (ภาพที่ 1 ค.) และมีกรดอะมิโนที่ขึ้นเป็นในการเร่งปฏิกิริยาสองตัวคือ Asp_{52} และ Giu_{35} ที่ pH 5.8 เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุด เพราะหมู่โซ่ข้างของ Asp อยู่ในรูป $-COO^{-}$ แต่ของ Glu อยู่ในรูป -COOH ถ้าหาก pH ต่ำกว่า 5.8 หมู่โซ่ข้าง Asp อยู่ในรูป -COOH หรือ pH สูงกว่า 5.8 หมู่โซ่ข้างของ Glu อยู่ในรูป -COO จะทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาได้เลวลง



ภาพที่ 1 ผลของ pH ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ต่างๆ ก.เพปซิน ซึ่งเร่งการสลายพันธะเพปไทด์ของโปรตีนในกระเพาะอาหารซึ่งมี pH อยู่ระหว่าง 1-2 ข.กลูโคส-6-ฟอสฟาเทลในเซลล์ตับซึ่งทำหน้าที่ปลดปล่อยกลูโคสออกมาในเลือด pH ในไซโทพลาซึมของเซลล์ตับมีค่าประมาณ 7.2 และ ค.ไลโซไซม์

นอกจากผลที่เกิดกับกรดอะมิโนในบริเวณเร่งแล้ว ในกรณีที pH ของสภาวะแวดล้อมสูงหรือต่ำมาก ๆ เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนอาจถูกทำให้เสียสภาพ (Denature) ไปเลย แอกทิวิตีจึงลดต่ำลงมาก นอกจากนี้ pH ยังมีผลกับการแตกตัวของหมู่เคมีของซับสเตรตที่เข้าสู่ปฏิกิริยาและการจับตัวกันระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรต ด้วยเหตุผลนี้จึงสามารถพยากรณ์ชนิดของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ โดยศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ

- **อุณหภูมิมีผลต่อเอนไซม์**

การเปลี่ยนอุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาและความเสถียรของเอนไซม์ สาเหตุประการหนึ่งคือ อุณหภูมิสามารถเปลี่ยนค่าคงที่ความเร็วของปฏิกิริยา (Rate contant, k) ได้ และอุณหภูมิอาจเปลี่ยนโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณเร่ง อุณหภูมิทีสูงมากทำให้เอนไซม์เสียสภาพอย่างถาวร ดังนั้น ในการเก็บรักษาเอนไซม์เพื่อใช้ในการศึกษาจึงนิยมเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

- **เอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรต (Substrate specificity)**

จากความสามารถที่ทำให้เอนไซม์มีสมบัติเหนือตัวเร่งสังเคราะห์อื่นๆ คือ เอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับ-สเตรต อย่างไรก็ตามเอนไซม์ต่างชนิดกันต่างก็มีระดับของความจำเพาะไม่เท่ากัน เอนไซม์บางชนิดมีความจำเพาะต่อซับสเตรตในรูปสเตอริโอไอโซเมอร์ (Stereoisomer) ที่แตกต่างกัน เช่น ทริปซิน (Trypsin) ย่อยสลายเพปไทด์ที่เกิดจากกรดอะมิโนรูป L เท่านั้น แต่ไม่สลายเพปไทด์ที่เกิดจากกรดอะมิโนรูป D เอนไซม์ในวิถีเมแทบอลิซึมของกลูโคสก็จำเพาะกับกลูโคสที่เป็นรูป D เท่านั้น ลักษณะความจำเพาะแบบนี้ เรียกว่า ความจำเพาะสเตอริโอ (Stereospecificity) ความจำเพาะต่อซับสเตรตอีกรูปแบบหนึ่งของเอนไซม์ที่เรียกว่า ความจำเพาะเรขาคณิต (Geometric Specificity) หมายถึง ความจำเพาะระหว่างตำแหน่งของหมู่เคมีของซับสเตรตกับของเอนไซม์ อย่างไรก็ตาม เอนไซม์แต่ละชนิดมีความจำเพาะแบบนี้ในระดับที่แตกต่างกันไป กล่าวคือ เอนไซม์จำนวนหนึ่งมีความจำเพาะเรขาคณิตสูงมาก โดยเร่งปฏิกิริยาของซับสเตรตเพียงชนิดเดียว ขณะที่เอนไซม์บางชนิดมีความจำเพาะที่กว้างขึ้น เช่น แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcoholdehydrogenase; ADH) ในยีสต์ ซึ่งเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนเอทานอลซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ให้เป็นแอซีแทลดีไฮด์ซึ่งเป็นแอลดีไฮด์ พบว่า ADH สามารถใช้สับสเตรตได้หลายตัว เช่น เมทานอล (Methanol) เอทานอล (Ethanol) และไอโซโพรพานอล (Isopropanol) แต่ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วสุดเมื่อใช้เอทานอล ส่วนเมทานอลและไอโซโพรพานอลเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าประมาณ 2.5 และ 25 เท่าตามลำดับ ทั้งๆที่ซับสเตรตทั้ง 3 ตัว มีความแตกต่างกันที่หมู่เมทิลีน (-CH2-) เท่านั้น

มีเอนไซม์จำนวนหนึ่งที่มีความจำเพาะเรขาคณิตต่อซับสเตรตค่อนข้างต่ำและเร่งปฏิกิริยาซับสเตรตหลายตัวที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันได้ ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ในตระกูลที่ ย่อยสลายโปรตีน เช่น ไคโมทริปซิน (Chymotrypsin) ซึ่งเร่งการสลายพันธะเพปไทด์ภายในสาย โปรตีนที่ตำแหน่งจำเพาะหลังกรดอะมิโนชนิดแอโรแมติก ส่วนทริปซินสลายพันธะเพปไทด์ภายในสายโปรตีนเช่นกัน แต่ที่ตำแหน่งหลังกรดอะมิโนชนิดเบสคือ อาร์จินีน (Arginnine) และไลซีน (Lysine) คาร์บอกซิเพปทิเดส (Carboxypeptidase) A และ B ตัดพันธะเพปไทด์เฉพาะ ปลายทางด้านคาร์บอกซิล สำหรับคาร์บอกซิเพปทิเดส A ตัดพันธะเพปไทด์ได้ดีเมื่อกรดอะมิโนบนปลายนี้เป็นกรดอะมิโนชนิดแอโรแมติก ส่วนคาร์บอกซิเพปทิเดส B จะจำเพาะกับกรดอะมิโนชนิดเบสที่ปลายนี้

- **โคแฟกเตอร์ (Cofactor)**

เอนไซม์หลายชนิดทำงานได้ในสภาพที่เป็นสายพอลิเพปไทด์อิสระ เช่น ไรโบนิวคลีเอสจากตับอ่อน (Pancreatic ribonuclease) แต่มีเอนไซม์อีกหลายชนิดที่เร่งปฏิกิริยาได้เฉพาะเมื่อมีสารอื่นๆที่มีความจำเพาะต่อตัวมันมาช่วยทำงานด้วยเท่านั้น เรียกสารเหล่านี้โดยรวมๆว่าโคแฟกเตอร์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามชนิดของสารเคมี ประเภาทหนึ่งเป็นสารอนินทรีย์ เช่น Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} และ Cu^{2+} อีกประเภทหนึ่งเป็นสารปรกอบอินทรีย์ ซึ่งมีโครงสร้างแบบต่างๆ โคแฟกเตอร์ประเภทหลังนี้อาจเรียกรวม ๆ ว่า โคเอนไซม์ (Coenzyme) เอนไซม์บางชนิดต้องใช้โคแฟกเตอร์ประเภทสารอนินทรีย์ บางชนิดใช้โคเอนไซม์ หรือบางชนิดใช้โคแฟกเตอร์ทั้งสองประเภทในปฏิกิริยาเดียวกัน โคแฟกเตอร์เหล่านี้ได้รับมาจากอาหารชนิดต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าสารอนินทรีย์ดังกล่าวเป็นแร่ธาตุที่จำเป็น และโคเอนไซม์ส่วนมากก็เป็นหรือเปลี่ยนแปลงมาจากวิตามินที่ละลายน้ำได้บางชนิด ตัวอย่างเช่น วิตามิน B2 หรือไรโบเฟลวิน (riboflavin) ซึ่งร่างกายสามารถเปลี่ยนให้เป็นโคเอนไซม์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ เฟลวินแอดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Flavin adenine dinucleotide; FAD) และเฟลวินมอนอนิวคลีโอไทด์ (Flavin mononucleotide; FMN) แต่จะพบว่าวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน เช่น วิตามิน A หรือวิตามิน D ไม่ได้มีหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาเคมี

โคแฟคเตอร์เหล่านี้บางชนิดจับกับเอนไซม์อย่างหลวมๆ และจับเฉพาะขณะที่เกิดปฏิกิริยาเท่านั้น แต่บางชนิดจับกับเอนไซม์อย่างแข็งแรงด้วยพันธะโคเวเลนซ์ซึ่งเราเรียกโคแฟกเตอร์ชนิดหลังนี้ว่าเป็นหมู่โพรสเทติก (Prosthetic group) ของเอนไซม์ เอนไซม์ที่มีโคแฟกเตอร์อยู่และเร่งปฏิกิริยาได้อย่างสมบูรณ์ สามารถเรียกว่า ฮอโลเอนไซม์ (Holoenzyme) แต่เมื่อเราแยกเอาโคแฟกเตอร์ออกจนเหลือแต่ส่วนที่เป็นสายพอลิเพปไทด์ ส่วนที่เหลือนี้ เรียกว่า แอโพเอนไซม์ (Apoenzyme) ซึ่งทำงานไม่ได้หรือได้บ้างแต่ไม่ดีเท่าเดิม โดยทั่ว ๆ ไป หน้าที่ของโคแฟกเตอร์อาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1) เปลี่ยนโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์หรือของซับสเตรต เพื่อให้ปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรตเกิดได้ดีที่สุด
2) ทำหน้าที่เสมือนว่าเป็นซับสเตรตอีกตัวหนึ่ง โดยเฉพาะโคเอนไซม์ที่เป็นสารอินทรีย์ และทำหน้าที่เคลื่อนย้ายหมู่เคมีของสาร เช่น $-COO^-$, $-CH_3$, $-NH_2$ หรืออิเล็กตรอน ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยา

2. กระบวนการสังเคราะห์ [3]

เนื่องจากเอนไซม์คือโปรตีนชนิดหนึ่ง ดังนั้นการทำให้ได้โปรตีนที่มีคุณสมบัติตามต้องการเพื่อใช้เป็นเอนไซม์ ต้องอาศัยปัจจัยที่ส่งผลต่อสภาพธรรมชาติของโปรตีน โดยขั้นตอนที่ใช้ในการสกัดแยก โปรตีนมีดังนี้

<u>ขั้นตอนแรก</u> สกัดโปรตีนออกมาจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการ เช่น พืชหรือจุลินทรีย์ โดยวิธีการที่นิยมใช้ เช่น การปั่นทำลายเซลล์ (Grinding) การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonication) และการแช่แข็ง-ทำละลาย (Freeze-thaw) เป็นต้น โปรตีนที่ถูกสกัดออกมาจะอยู่ในรูปของสารละลาย จะเรียกว่า “Crude extract”

<u>ขั้นตอนต่อมา</u> ทำการตกตะกอนโปรตีนออกมาจากสารละลาย โดยการตกตะกอนโปรตีน เป็นการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์ได้บางส่วน เรียกว่า การทำบริสุทธิ์บางส่วน (Partial purification) ซึ่งวิธีการต่างๆ ที่นิยมใช้ เช่น

- การเติมเกลือโดยเกลือที่เติมลงไปจะละลายในสารละลายโปรตีน ซึ่งตอนแรกโปรตีนจะละลายได้ดีขึ้นเนื่องจากค่า Ionic strength ยังคงต่ำอยู่ เรียก “Salting in” แต่เมื่อเติมเกลือเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ค่า Ionic strength จะสูงขึ้น ทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลง เกิดการจับรวมตัวกันเองของโปรตีน ตกตะกอนลงมา เรียก “Salting out” ซึ่งโปรตีนที่ตกตะกอนออกมาได้สามารถนำกลับมาละลาย ใหม่ได้เมื่อกำจัดเกลือออก ซึ่งยังคง

รักษาสภาพธรรมชาติไว้ได้ ซึ่งเกลือที่นิยมใช้ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) เป็นต้น

- การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) หรือ พอลิเมอร์ธรรมชาติ (Organic polymer) โดยสารเหล่านี้จะไปลดค่า Dielectric constant ของสารละลายโปรตีน ทำให้เกิดการจับรวมตัวกันเองของโปรตีนตกตะกอนลงมาได้ง่ายขึ้น แต่ว่าวิธีการนี้อาจทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ ได้บางส่วน เช่น เอทานอล อะซีโตน และพอลิ- เอทีลีนไกลคอล (Polyethylene glycol; PEG)
- การปรับพีเอชของสารละลาย โดยการเติมกรดหรือเบส เพื่อให้โปรตีนตกตะกอนที่จุด Isoelectric pH (pI) ซึ่งที่จุดนี้โปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุด เนื่องจากมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ ดังนั้น โปรตีนจึงเคลื่อนที่เข้าหากัน เนื่องจากเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุตรงข้าม เกิดการรวมตัวตกตะกอนลงมา โดยโปรตีนที่ตกตะกอนลงมาสามารถนำกลับมาละลายใหม่ได้ในสารละลายบัฟเฟอร

<u>*ขั้นตอนต่อมา*</u> เป็นการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟ (Chromatography) โครมาโทกราฟที่นิยมใช้ ตัวอย่างเช่น โครมาโทกราฟแบบเจลฟวเทรชัน (Gel filtration chromatography) โครมาโทกราฟแบบแลกเปลี่ยนประจุ (Ionexchange chromatography) โครมาโทกราฟแบบดูดซับ (Absorption chromatography) และโครมาโทกราฟแบบสัมพรรคภาพ (Affinity chromatography) เป็นต้น เมื่อทำให้โปรตีนบริสุทธิ์ขึ้นแล้ว ต่อมาเป็นการตรวจสอบหาปริมาณโปรตีน โดยอาศัยคุณสมบัติการดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต (UV) ของกรดอะมิโนชนิดที่เป็นอะโรมาติก ซึ่งเป็นหน่วยโครงสร้างของโปรตีนโดยตรง โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ซึ่งค่า 1 หน่วยของการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร จะมีปริมาณโปรตีนประมาณ 1 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร และอีกวิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีน คือ วิธีการของ Lowry (Lowry’s method) โดยการใช้สาร Folinciocalteau ทำปฏิกิริยากับหมู่ฟนอลิก (Phenolic group) ของกรดอะมิโนซึ่งเป็นหน่วยย่อยของโปรตีน ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำเงินม่วง สามารถวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงได้ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร โดยเทียบปริมาณกับสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ทราบความแน่นอนแล้ว เช่น สารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine serum albumin ซึ่งวิธีการนี้สามารถหาปริมาณโปรตีนได้ที่ความเข้มข้นระดับไมโครกรัม และนอกจากการตรวจสอบหาปริมาณโปรตีนแล้วยังสามารถตรวจสอบหน้าที่ทางชีวภาพได้อีกด้วย เนื่องจากว่าโปรตีนที่สกัดออกมานั้นมีสมบัติเป็นเอนไซม์จึงใช้การตรวจสอบการทำงานของเอนไซม (Enzyme activity) โดยการหาอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่มีเอนไซมเป็นตัวเร่งเทอมของสารตั้งต้น (Substrate) ที่มีปริมาณลดลงหรือเทอมของผลิตภัณฑ์ (Product) ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งค่าที่ได้นั้นสามารถบอกปริมาณเอนไซมได้ในหน่วยมาตรฐานสากล ดังนี้ 1) Enzyme activity มีหนวยเปน International Unit (I.U.) หรือ Unit (U) โดยที่ 1 หน่วยของเอนไซม เทากับปริมาณเอนไซมที่เปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้ภาวะที่กำหนด 2) Specific activity มีหน่วยเป็นยูนิตของเอนไซมทั้งหมดต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมด จากแต่ละขั้นตอนของการสกัดแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของโปรตีนนั้น อาจจะมีการสูญเสียสภาพธรรมชาติไปบ้างบางส่วน ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณของโปรตีนหรือเอนไซมที่ได้มาว่าเสียสภาพธรรมชาติไปมากน้อยเพียงใดจากการเทียบกับโปรตีนหรือเอนไซมตอนตั้งต้นซึ่งคือ Crude extract นั่นเอง

3. บริษัทผู้ผลิตและจัดจำหน่าย

3.1 บริษัทผู้ผลิต Enzyme

3.1.1 ภายในประเทศไทย แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายชื่อบริษัทผู้ผลิต Enzyme ภายในประเทศ

บริษัทผู้ผลิต	ที่อยู่	เบอร์โทร	ประเทศ	เว็บไซต์
บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)	เลขที่ 313 อาคารซีพีทาวเวอร์ ถนนสีลม แขวงสีลม เขตบางรัก กรุงเทพฯ 10500	+66 (0) 2625 8000	ไทย	http://www.cpfworldwide.com/th/
บริษัท เอเชียสตาร์ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน)	9 ซอยประดิพัทธ์, ถนนประดิพัทธ์ สามเสนใน กรุงเทพ 10400	+ 66 (2)-618-4311-3	ไทย	http://www.asah.co.th/
บริษัท ซันฟีด จำกัด	เลขที่ 1/97-98 ถนนพหลโยธิน ซอย 40 แขวงเสนานิคม เขตจตุจักร กรุงเทพฯ	(66) 2561-1455	ไทย	http://www.sungroup.co.th/bu-group.php?id=1
บริษัท ปูนซิเมนต์ไทย จำกัด (มหาชน)	10800 2 ซอย ปูนซีเมนต์ไทย แขวง บางซื่อ เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร 10800	02-586-4444	ไทย	http://www.scg.co.th/
บริษัท ไออาร์พีซี จำกัด (มหาชน)	299 หมู่ 5 ถนนสุขุมวิท ตำบลเชิงเนิน อำเภอเมืองระยอง จังหวัดระยอง	(038) 611333, 613571-80	ไทย	http://www.irpc.co.th/th/

3.1.2 ต่างประเทศ แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายชื่อบริษัทผู้ผลิต Enzyme ในต่างประเทศ

Manufacturers	Address	Contact	Country	Website
ENZYMASE INTERNATIONAL S.A.	33 rue Jean-Baptiste BAECK - bte 3 B - 1190 Brussels	+ 32 2 647.04.70	Belgium	http://www.enzymase.com/
SPL International	Poole Hall Industrial Estate, Ellesmere Port CH66 1ST	+44 (0)151 356 5985	US	http://www.spl-int.com/
BIENCA	Dendermondsesteenweg 48A-001 B-9000 Ghent	+32 9 218 93 00	Belgium	http://www.bienca.com/

3.2 บริษัทผู้จัดจำหน่าย Enzyme

3.2.1 ภายในประเทศ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 รายชื่อบริษัทผู้จำหน่าย Enzyme ภายในประเทศ

บริษัทผู้จำหน่าย	ที่อยู่	เบอร์โทร	ประเทศ	เว็บไซต์
บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)	เลขที่ 313 อาคารซีพีทาวเวอร์ ถนนสีลม แขวงสีลม เขตบางรัก กรุงเทพฯ 10500	+66 (0) 2625 8000	ไทย	http://www.cpfworldwide.com/th/
บริษัท เอเชียสตาร์ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน)	9 ซอยประดิพัทธ์, ถนนประดิพัทธ์ สามเสนใน กรุงเทพ 10400	+ 66 (2)-618-4311-3	ไทย	http://www.asah.co.th/
บริษัท ซันฟีด จำกัด	เลขที่ 1/97-98 ถนนพหลโยธิน ซอย 40 แขวงเสนานิคม เขตจตุจักร กรุงเทพฯ	(66) 2561-1455	ไทย	http://www.sungroup.co.th/bu-group.php?id=1
บริษัท ปูนซิเมนต์ไทย จำกัด (มหาชน)	10800 2 ซอย ปูนซีเมนต์ไทย แขวง บางซื่อ เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร 10800	02-586-4444	ไทย	http://www.scg.co.th/
บริษัท ไออาร์พีซี จำกัด (มหาชน)	299 หมู่ 5 ถนนสุขุมวิท ตำบลเชิงเนิน อำเภอเมือง ระยอง จังหวัดระยอง	(038) 611333, 613571-80	ไทย	http://www.irpc.co.th/th/

3.2.2 ต่างประเทศ แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 รายชื่อบริษัทผู้จัดจำหน่าย Enzyme ในต่างประเทศ

Manufacturers	Address	Contact	Country	Website
ADARE PHARMACEUTICALS SRL	Princeton Pike Corporate Center 1200 Lenox Drive, Suite 100 Lawrenceville, New Jersey 08648	+1 (609) 450-1312	USA	https://www.adarepharma.com/

Manufacturers	Address	Contact	Country	Website
INDIS	Emiel Hullebroecklaan 112630 Aartselaar	+32 (0)3 844 30 00	Belgium	http://www.indis.be/
CBS CUSTOMIZED BREWING SOLUTIONS	CBS BREWING PRODUCTION SITE 87 BROEKSTRAAT 1745 OPWIJK	+32 2 478 56 18	Belgium	http://www.cbsbrew.com/
BEIJING GEYUANTIANRUN BIO-TECH CO., LTD	Add :No.3 Tianfu Road,Daxing Bio-medicine Industry Park,Beijing,China.102 609	+86-10-60279131	China	http://www.bjgytr.com/
CREATIVE ENZYMES	45-1 Ramsey Road, Shirley, NY 11967	1-631-562-8517	USA	http://www.creative-enzymes.com/
DIREVO INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY GMBH	Nattermannallee 1D - 50829 Köln (Cologne)	+49 221-47448-0	Germany	http://www.direvo.com/
STERNENZYM GMBH & CO. KG	Kurt-Fischer-Straße 5522926 Ahrensburg	+49 / (0) 41 02 / 202-002	Germany	http://www.sternenzym.de/
SAS PLANETCLEAN	Z .F.E. 36 rue Salvador ALLENDE 60000 BEAUVAIS	09 63 44 21 52	France	http://www.planetclean-france.com/
BIOFIRST	Drève Richelle 161 B41410 Waterloo	+32 2 353 00 28	Belgium	http://www.biofirst.be/
Ingredis tunisie	GP1, Seltene, Fondouk Jedid ‘ Grombalia 8012	(+216) 72 399 262	Tunisie	http://www.ingredistunisie.com/
Sinorey food Co., Ltd.	100, Jinxi Road, Wuxi, JiangSu	+86-570-4017550	China	http://www.sinorey-foods.com/
Amano Enzyme Inc.	2-7, 1-chome, Nishiki, Naka-ku, Nagoya 460-8630	81-(0)52-211-3032	Japan	http://www.amano-enzyme.co.jp/aee/
Chr. Hansen Holding A/S	Boege Alle 10-12 2970 Hoersholm	+45 45 74 74 74	Danmark	http://www.chr-hansen.com/fr

Manufacturers	Address	Contact	Country	Website
BIOFIREST	Drève Richelle 161 B41410 Waterloo	+32 2 353 00 28	Belgium	http://www.biofirst.be/
BIENCA	Dendermondsesteenweg 48A-001 B-9000 Ghent	+32 9 218 93 00	Belgium	http://www.bienca.com/
Mühlenchemie GmbH & Co. KG	Kurt-Fischer-Straße 55, 22926 Ahrensburg	+49 4102 2234615	Germany	http://muehlenchemie.de/
Industrial Tecnica Pecuaria SA	Av. de Roma, 157, 08011 Barcelona	+34 934 52 03 30	Spain	http://www.itpsa.com/es/

4. การประยุกต์ใช้ Enzyme ในอุตสาหกรรม

4.1 การใช้งานเอนไซม์ในอุตสาหกรรมต่างๆ [1,4-8]

4.1.1 การประยุกต์เอนไซม์ทางการแพทย์

ปัจจุบันนี้มีการผลิตมากมายหลากหลายชนิดจากโรงงานอุตสาหกรรมและบริษัทต่างๆเพื่อการค้าและการนำไปประยุกต์ในงานต่างๆ เช่น งานวิจัยวิทยาศาสตร์ อุตสาหกรรม การแพทย์ เป็นต้น งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพนำเอนไซม์หลายตัวมาใช้เพื่อต่อยอดการศึกษาในระดับที่สูงขึ้น อุตสาหกรรมนำเอาเอนไซม์มาช่วยในกระบวนการผลิตเป็นเวลานานแล้วโดยมีจุดมุ่งหมายฆให้ได้ผลิตภัณฑ์สูงสุดและมีค่าใช้จ่ายต่ำ ผลิตภัณฑ์บางชนิดมีเอนไซม์เป็นส่วนประกอบ สำคัญอีกด้วย นอกจากนี้ ยังได้นำเอนไซม์มาช่วยในการกำจัดของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น การใช้กลูโคสไอโซเมอเรส (Glucose isomerase) เปลี่ยนกลูโคส (Glucose) ให้เป็นฟรุกโทส (Fructose) ในอุตสาหกรรมาน้ำอัดลม ใช้โพรทีเอส (Protease) ในอุตสาหกรรมอาหาร การผสมโพรทีเอสในผงซักฟอก การใช้เอนไซม์ร่วมกับจุลินทรีย์เพื่อกำจัดของเสียจากโรงงาน เป็นต้น

ที่สำคัญมากอันหนึ่งคือ การประยุกต์ทางการแพทย์ เพราะจะมีผลต่อสุขภาพโดยรวมของมนุษย์ ในทางการแพทย์ มีการใช้เอนไซม์ 3 ลักษณะ ได้แก่ การใช้เอนไซม์เป็นรีเอเจนต์ (Reagent) เพื่อตรวจวัดปริมาณสารต่าง ๆ จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ เลือด และปัสสาวะ เป็นต้น การใช้เอนไซม์เป็นดัชนีประกอบการวินิจฉัยโรค และการใช้เอนไซม์เป็นยารักษาโรค (Therapeutic agent) นอกจากนี้ยังใช้ความเข้าใจเอนไซม์ในระดับพื้นฐานมาช่วยในการพัฒนายาชนิดใหม่ ๆ ขึ้นอีกด้วย

4.1.2 การประยุกต์เอนไซม์เป็นดัชนีประกอบการวินิจฉัยโรค

การตรวจเอนไซม์ในตัวอย่างชีวภาพ เช่น เลือด ปัสสาวะ และอุจจาระสามารถใช้เป็นดัชนีแสดงความผิดปกติของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายได้ การตรวจพบเอนไซม์แสดงว่ามีการปลดปล่อยเอนไซม์จากเนื้อเยื่อเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตและระบบขับถ่าย และคาดได้ว่า เนื้อเยื่อของอวัยวะอาจถูกทำลายจากภาวะผิดปกติต่างๆ เช่น เนื้อเยื่อเป็นแผลจากเซลล์ที่ตายเนื่องจากขาดออกซิเจนหรือได้รับสารพิษ การเกิดเนื้องอกการหลั่งเอนไซม์จากอวัยวะผ่านท่อผิดปกติ เป็นต้น

ในการวินิจฉัยโรค หากพบแอกทิวิตีของกลูทามิกออกแซโลแอซีติกแทรนส์แอมิเนส (Serum glutamic oxaloacetic transaminase; SGOT) และกลูทามิกไพรูวิกแทรนส์แอมิเนส (Serum glutamic pyruvic transaminase; SGPT) ในซีรัมสูงกว่าปกติ จะเป็นข้อบ่งชี้ให้เห็นถึงความผิดปกติของตับ หัวใจ

กล้ามเนื้อ และไต โดยเฉพาะตับซึ่งมักตรวจพบความผิดปกติในคนที่ดื่มสุรามาเป็นเวลานานหรือในปริมาณมาก คนที่เป็นพาหะของไวรัสตับอักเสบ B คนที่ทานยาบางชนิดที่มีผลต่อตับ ฯลฯ หากมีการตรวจชนิดของไอโซไซม์ด้วยจะช่วยการวินิจฉัยอวัยวะทีผิดปกติได้แม่นยำยิ่งขึ้น

เอนไซม์บางชนิดถูกยับยั้งได้ด้วยสารพิษที่ได้รับจากภายนอก จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้โรคนั้นได้เช่น เซรูโลพลาสมิน (Ceruloplasmin; CP) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในซีรัมที่มีแอกทิวิตีของ เฟอร์โรออกซิเคส (Ferrooxidase) สามารถเร่งการออกซิไดส์เหล็กได้ โมเลกุลของ CP มีทองแดงอยู่หลายอะตอม ระดับ CP ในคนปกติมีค่า 280 ถึง 570 หน่วย ในผู้ป่วยโรคพิษตะกั่ว อะตอมของทองแดงในโมเลกุลของเอนไซม์จำนวนหนึ่งถูกแทนที่ด้วยตะกั่วซึ่งส่งผลให้แอกทิวิตีของเฟอร์โรออกซิเดสลดลง จึงสามารถใช้แอกทิวิตีของ CP ในซีรัมที่ลดลงนี้ประกอบการวินิจฉัยโรคพิษจากโลหะหนักได้

4.1.3 การประยุกต์เอนไซม์เป็นยารักษาโรค (Therapeutic agent)

เอนไซม์หลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ แสดงดังตารางที่ 6 เช่น เอนไซม์ไฟบริโนไลซิน (Fibrinolysin) และดีออกซิไรโบนิวคลีเอส (Deoxyribonuclease) สามารถใช้กำจัดไฟบริน (Fibrin) หรือฝีหนอง (Purulent) จากบาดแผลที่ติดเชื่อหรือเนื้อตาย (Necrosis) ได้และเอนไซม์ไพรทีเอสหลายชนิดใช้ช่วยย่อยอาหารในคนไข้ที่มีระบบย่อยอาหารผิดปกติ เป็นต้น

ตารางที่ 6 ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้เป็นยารักษาโรค

เอนไซม์	การใช้เป็นยา
- α-ไคโมทริปซิน (α-chymotrypsin) ทริปซิน (Trypsin) โบรมีเลน (Bromelain) แพเพน (Papain) ไฟบริโนไลซิน (Fibrinolysin) - ดอร์เนสจากตับอ่อน (Pancreatic dornase) สเตร็ปโทเดอร์เนส (Streptodornase)	รักษาฝี แผลไหม้ติดเชื้อ แผลเปื่อย (Ulcer) ติดเชื้อคอมดลูกอักเสบ (Cervicitis) ช่องคลอดอักเสบ (Vaginitis)
- สเตร็ปโทไคเนสและสเตร็ปโทตอร์เนส (Streptokinase plus streptodornase)	สลายการยึดติดเนื่องจากไฟเบริน
- เพปซิน (Pepsin) ทริปซิน (Trypsin) เพปทิเดส (Peptidase) ไลเพส (Lipase) แอมิเลส (Amylase) นิวคลีเอส (Nuclease) อีแลสเทส (Elastase) เซลลูเลส (Cellulase)	ระบบย่อยอาหารผิดปกติ ตับอ่ออักเสบเรื้อรัง (Chronic pancreatitis) เอนไซม์บกพร่อง
- ไฮยาลูโรนิเดส (Hyaluronidase)	เสริมการฉีดของเหลวเข้ากล้ามเนื้อ (Intradermal injection) กระจายของเหลวที่คั่งในบาดแผล

4.1.4 การประยุกต์เอนไซม์ในการพัฒนายา

เราสามารถนำความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวกับเอนไซม์มาใช้ในการพัฒนายาได้ ตัวอย่างเช่น ยาแก้ปวดบางชนิด โดยปกติร่างกายสังเคราะห์โพรสทาแกลนดิน (prostaglandin) เพื่อตอบสนองต่อการบาดเจ็บ ทำให้มีอาการปวดและอักเสบ เอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์นี้คือ ไซโคลออกซิเจีเนส (Cyclooxygenase; COX) ยาแอสไพรินและยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตอรอยด์ (Non-steroidal anti-inflammatory drug;

NSAID) หลายชนิดรักษาอาการปวดนี้โดยยับยั้งการทำงานของ COX จึงทำให้ระดับโพรสทาแกลนดินที่ทำให้เกิดอาการปวดและอักเสบลดลง แต่ปัญหาที่ตามมาคือ ผู้ป่วยมักเกิดอาการเลือดออกในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากระดับโพรสทาแกลนดินชนิดที่เป็นปัจจัยดูแลเยื่อบุทางเดินอาหารลดลงด้วย

COX เป็นไอโซไซม์ มีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ COX-1 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นตลอดเวลา (Constitutive enzyme) และสังเคราะห์โพรสทาแกรนดินชนิดที่ใช้ปกป้องเยื่อบุทางอาหาร และ COX-2 ซึ่งเป็นเอนไซม์เหนี่ยวนำ (Inducible enzyme) ที่ถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยสารตัวกลางจากภาวะอักเสบ ยาแอสไพรินยับยังเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ เมื่อศึกษาบริเวณเร่งของเอนไซม์ทั้งสองพบว่ามีกรดอะมิโนตำแหน่งหนึ่งที่ต่างกันคือ ใน COX-2 เป็น Val แต่ใน COX-1 เป็น Ile ซึ่งมีขนาดของหมู่โซ่ข้างใหญ่กว่าของ Val ความแตกต่างนี้เองที่ทำให้เราสังเคราะห์ยา VIOXX™ ที่ยับยั้งเฉพาะ COX-2 ได้ แต่เป็นที่น่าเสียดายว่าแม้ VIOXX™ สามารถทำหน้าที่ข้างต้นได้อย่างจำเพาะ แต่กลับสร้างผลข้างเคียงอื่นอันไม่พึงประสงค์กับหัวใจ ปัจจุบันจึงไม่มีการจำหน่าย VIOXX™ แล้ว

4.1.5 การประยุกต์เอนไซม์เป็นรีเอเจนต์

การแพทย์ใช้เอนไซม์แทนสารเคมีเพื่อเป็นรีเอเจนต์สำหรับตรวจวัดปริมาณสารที่อยู่ในตัวอย่างชีวภาพ เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรต (Substrate specificity) และมีความไว (Sensitivity) ที่เหนือกว่าสารเคมีมาก เช่น การวัดระดับไนโตรเจนจากยูเรียในเลือด (Blood urea nitrogen; BUN) โดยอาศัยเอนไซม์ยูรีเอส (Urease) เร่งปฏิกิริยาการสลายยูเรีย แล้วใช้เอนไซม์ ตัวที่สองมาช่วยในการติดตาม ตัวอย่างเช่น เอนไซม์กลูทาเมตดีไฮโดรจีเนส

ปริมาณ NADH ที่ลดลง สามารถติดตามได้ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร ซึ่งนำมาคำนวณหาค่า BUN ได้ คนปกติมีค่า BUN ประมาณ 8-19 มก./100มล. มีการนำเอาเอนไซม์มาใช้เป็นรีเอเจนต์ในเทคนิค ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) ใช้กันอย่างกว้างขวางเพื่อการตรวจวัดโปรตีนที่จำเพาะในตัวอย่างชีวภาพด้วยแอนติบอดี (Antibody; Ab) ที่จำเพาะกับโปรตีนแอนติเจน (Antigen; Ag) นั้น ๆ โดยติดฉลาก Ab ด้วยเอนไซม์ ที่เร่งปฏิกิริยาให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเพื่อทำให้สามารถติดตาม Ag ได้ เช่น การตรวจหาเชื้อ เป็นต้น

ไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องของมนุษย์ (Human immunodeficiency virus; HIV) ที่ใช้ Ab ที่จำเพาะกับโปรตีนห่อหุ้ม (Coat protein) ของไวรัสซึ่งเตรียมจากกระต่าย มาจับกับไวรัสในตัวอย่างเลือด แล้ว ใช้ Ab ตัวที่สองจากแพะมาติดตาม Ab ตัวแรก Ab ตัวที่สองถูกเชื่อมให้ติดอยู่กับเอนไซม์บางชนิด เช่น เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ดังนั้น เมื่อเติมซับสเตรตของเพอร์ออกซิเดสลงไป ซับสเตรตจะถูกเปลี่ยนให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีขึ้นมาซึ่งติดตามตรวจวัดได้ ความเข้มของสีจะแปรผันกับปริมาณ เพอร์ออกซิเดสซึ่งเท่ากับปริมาณโปรตีนหุ้มของ HIV นั่นเอง

4.2 ตัวอย่างการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆ [1,9-13]

- ออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase)

ออกซิโดรีดักเทสเร่งปฏิกิริยาที่มีการให้และรับอิเล็กตรอน (Oxidation-reduction) ในระหว่างซับสเตรต ดังนั้น ซับสเตรตตัวหนึ่งจะถูกออกซิไดส์ และอีกตัวหนึ่งถูกรีดิวซ์ในช่วงเวลาเดียวกัน เอนไซม์เหล่านี้ ได้แก่ ดีฮโดรจีเนส (Dehydrogenase) ซึ่งเร่งการเปลี่ยนพันธะเดี่ยวเป็นพันธะคู่ ออกซิเดา (Oxidase) ซึ่งใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ซึ่งใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นซับสเตรต และออกซิจีเนส (Latate dehydrogenase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยารีดักชันของไพรูเวต (Pyruvate) ให้เป็นแลกเทต (Lactate)

- แทรนส์เฟอเรส (Transferase)

แทรนส์เฟอเรสเร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่เคมีต่างๆ เช่น หมู่เมทิล หมู่แอลดีไฮด์ หมูคีโท หมู่อะมิโน และหมู่ฟอสฟอริลจากซับสเตรตตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่ง เช่น ครีเอทีนฟอสโฟแทรนส์เฟอเรส (Creatine phosphotransferase) เร่งปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก ATP ไปยังครีเอทีน (Creatine)

- ไฮโดรเลส (Hydrolase)

ไฮโดรเลสเร่งปฏิกิริยาสลายพันธะเดี่ยว เช่น C-C, C-O, C-N และ P-O เป็นต้น โดยใช้น้ำ เช่น เพปทิเดส (Peptidese) เอสเทอเรส (Esterase) ไกลโคซิเดส (Glycosidase) และฟอสฟาเทส (Phosphatase) เป็นต้น กลูโคส-6-ฟอสฟาเทส (Glucose-6-phosphatase) เป็นตัวอย่างของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ ซึ่งเร่งปฏิกิริยาสลายพันธะ P-O

- ไลเอส (Lyase)

ไลเอสเร่งปฏิกิริยาสลายพันธะโดยไม่ใช้น้ำ แต่ใช้วิธีสร้างพันธะคู่หรือวงแหวนขึ้นมาแทน ซึ่งรวมถึงปฏิกิริยาผันกลับด้วย เช่น ดีคาร์บอกซิเลส (Decarboxylase) แอลโดเลส (Aldolase) และดีไฮดราเทส (Dehydratase) เป็นต้น ตัวอย่างเช่น แอลโดเลสที่เร่งปฏิกิริยาสลาย D-ฟรุกโทส-1,6บิสฟอสเฟต (D-fructose-1,6-bisphosphate) ซึ่งมีอะตอมของคาร์บอน 6 ตัว ไปเป็นโมเลกุลที่มีอะตอมคาร์บอน 3 ตัว คือ ไดไฮดรอกซิแอซีโทนฟอสเฟต (Dihydroxyacetone phosphate) และ D-กลีเซอแรลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (D-glyceraldehyde-3-phosphate)

- ไอโซเมอเรส (Isomerase)

ไอโซเมอเรสเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนชนิดของไอโซเมอร์ (Isomer) หรือไอโซเมอไรเซชัน (Isomerization) ระหว่าง cis-trans L-D กับ แอลดีไฮด์ (Aldehyde) คีโทน (Ketone) เช่น ไอโซเมอเรส (Isomerase) เรซีเมส (Racemase) อีพิเมอเรส (Epimerase) และมิวเทส (Mutase) เป็นต้น ปฏิกิริยาที่แสดงเป็นตัวอย่างข้างล่างนี้เร่งโดยไทรโอสฟอสเฟตไอโซเมอเรส (Triosephosphate isomerase) ซึ่งเปลี่ยนสารคีโทน คือ ไดไฮดรอกซิแอซีโทนฟอสเฟตไปเป็แอลดีไฮด์ คือ D-กลีเซอแรลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต

- ไลเกส (Ligase)

ไลเกสเร่งปฏิกิริยาที่มีการเชื่อมสองโมเลกุลเข้าด้วยกัน โดยควบคู่กับปฏิกิริยาที่มีการสลาย ATP หรือ นิวคลีโอไซด์ไทรฟอสเฟตอื่นๆ เช่น อาร์เอ็นเอไลเกส (RNA ligase) ซึ่งเชื่อมสาย อาร์เอ็นเอสองสายเข้าด้วยกันพร้อมๆ กับเกิดการสลาย ATP ขึ้นด้วยปฏิกิริยาที่แสดงในตัวอย่างเป็นการเชื่อมกลูทาเมต (Glutamate) กับแอมโมเนีย (Ammonia) โดยกลูทามีนซินทีเทส (Glutaminesynthetase) ได้เป็นกลูทามีน (Glutamine)

5. ความรู้และข่าวสารใหม่ๆ

- “ระบบเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาเคมีโดยกลไกทางชีวภาพและอุตสาหกรรมเคมีชีวภาพ” (Enzymes Systems Biocatalysis and Biorefinery) จากงานวิจัยเรื่อง “การศึกษาการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์” พบว่า เอนไซม์ที่ศึกษาสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ รวม 4 ด้าน ประกอบด้วย 1) กลุ่มเอนไซม์ที่มีประโยชน์ในการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ทางยาหรือสารเคมีที่มีมูลค่าสูง ซึ่งจะช่วยให้กระบวนการผลิตใช้เทคโนโลยีสะอาด 2) กลุ่มเอนไซม์ที่มีประโยชน์ในกระบวนการเปลี่ยนผลผลิตเหลือใช้จากการเกษตรให้เป็นสารเคมีหรือพลังงานที่มีประโยชน์ เพื่อเพิ่มความยั่งยืนของภาคการผลิตในประเทศไทย และยังเป็นแหล่ง

พลังงานทางเลือก 3) กลุ่มเอนไซม์ที่มีประโยชน์ในการประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดชีวภาพ ได้แก่ เอนไซม์ Luciferase จากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio Campbellii* และ *Photobacterium Leiognathi* ที่แยกได้จากทะเลไทย มีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจวัดและการวินิจฉัยการแสดงออกของยีน และ 4) กลุ่มเอนไซม์ที่เป็นเป้าหมายใหม่สำหรับยาต้านเชื้อมาลาเรีย เพื่อคัดเลือกหาตัวยับยั้งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพ อาจสามารถนำไปสู่การค้นพบยาต้านมาลาเรียตัวใหม่ นักวิจัยคิดค้นนวัตกรรมที่มีประโยชน์กับนักวิจัยไทย โดยผลิตภัณฑ์แรกที่ได้จากกลุ่มวิจัย คือ โปรตีนมาร์คเกอร์ โดยโปรตีนมาร์คเกอร์เป็นโปรตีนมาตรฐานที่มีความจำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ งานวิเคราะห์คุณภาพอาหาร และงานทางการแพทย์ที่มีการศึกษาและวิเคราะห์โปรตีน ซึ่งที่ผ่านมาโปรตีนมาร์คเกอร์เป็นหนึ่งในสินค้าที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมดผ่านตัวแทนจำหน่ายในไทย ทำให้มีราคาสูงและต้องใช้ระยะเวลานานในการสั่งซื้อ ส่งผลกระทบต่อการศึกษาและวิจัย นอกจากนี้บริษัท เอนซมาร์ท ไบโอเทค จำกัด ยังมีแผนในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับงานทางด้านวิจัย เช่น ชุดตรวจวิเคราะห์เอนไซม์เพื่อนักวิจัยไทยและต่างชาติ

"โปรตีนมาร์คเกอร์เป็นผลงานประดิษฐ์ชิ้นแรกของบริษัท เอนซมาร์ท ไบโอเทค จำกัด จึงเป็นตัวอย่างของการดำเนินการวิจัยพื้นฐานที่นำไปสู่ความต้องการของตลาดวิจัยไทยที่สามารถนำไปใช้ได้จริงและเป็นส่วนหนึ่งในการส่งเสริมให้มีการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมาพัฒนาต่อยอดสร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจให้ประเทศ ส่งเสริมการพึ่งพาตนเอง ลดการนำเข้า ทำให้เกิดการจ้างงาน อีกทั้งยังส่งเสริมการเป็นผู้ประกอบการในหมู่นักวิจัยรุ่นใหม่ อันเป็นส่วนหนึ่งของการส่งเสริมนโยบายประเทศไทย 4.0 ของรัฐบาลปัจจุบัน" [14]

- เอนไซม์สามารถรักษามะเร็งเม็ดเลือด

เมื่อกินอาหารปรุงสุกจะมีผลในการเพิ่ม Leucocyte ในร่างกายให้เพิ่มสูงขึ้นโรคมะเร็งในเม็ดเลือดขาวเป็นโรคที่ร่างกายสร้าง Leucocyte จำนวนมากผิดปกติ เม็ดเลือดขาวจะมีเอนไซม์บรรจุอยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมากและจะถูกส่งไปที่บริเวณกระเพาะอาหาร เพื่อช่วยในการย่อยสลายเมื่อเรากินอาหารที่มีปริมาณเอนไซม์ไม่เพียงพอ ดังนั้นการกินอาหารสดจะช่วยเสริมเอนไซม์ในการย่อยสลาย และลดการสร้างเม็ดเลือดขาวลงผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวหลายราย ประสบผลสำเร็จในการรักษาโดยการกินอาหารสดซึ่งมีผลจากการวิจัยชี้ให้เห็นว่าอาหารสดจะไม่มีผลในการกระตุ้นการเพิ่มของเม็ดเลือดขาว ส่วนในอาหารที่ปรุงสุกโดยใช้ความดันจะเป็นสาเหตุให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้นได้มากกว่าอาหารที่ปรุงสุกปกติ และเครื่องดื่มประเภทไวน์ น้ำส้มสายชู น้ำตาลทรายขาว รวมถึงเนื้อปรุงสุก เนื้อรมควัน และเนื้อเค็ม จะส่งเสริมให้เกิดการสร้างเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้นจากการศึกษาของแพทย์พบว่า การเสริมเอนไซม์ โปรติเอส (Protease Enzyme) ในปริมาณสูงจะช่วยในการรักษาสมดุลของเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในร่างกายได้ [15]

- เอนไซม์ในการผลิตสิ่งทอ

ในอุตสาหกรรมสิ่งทอมักจะใช้สารเคมีในปริมาณมากก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมอย่างรุนแรง โดยเฉพาะในการเคลือบแป้งเพื่อให้เส้นด้ายมีความแข็งแรง การลอกแป้งและกำจัดสิ่งสกปรกก่อนนำไปย้อมสี ซึ่งใช้เวลาและพลังงานสูง จึงมีการคิดค้นและพัฒนา "เอนไซม์เอนอีซ" มาใช้ในกระบวนการดังกล่าว จากเดิมที่จะต้องทำกันคนละขั้นตอนก็สามารถลอกแป้งและกำจัดสิ่งสกปรกได้ในขั้นตอนเดียว ใช้เวลาเร็วขึ้นจาก 3 ชั่วโมงเหลือเพียงแค่ 1 ชั่วโมง อีกทั้งยังทำให้ผ้ามีคุณภาพดีขึ้นมากกว่าการใช้สารเคมี ศูนย์ไบโอเทค สวทช. ได้ร่วมกับผู้ประกอบการสิ่งทอทำการทดลองมาอย่างต่อเนื่องจนได้เป็นเอนไซม์อัจฉริยะดังกล่าวเพื่อผลิตและใช้ในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ ศูนย์ไบโอเทค สวทช. ได้เล็งเห็นคุณค่าของมรดกภูมิปัญญาไทยด้านสิ่งทอ จึงได้ดำเนินการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้เอนไซม์เอนอีซให้กับผู้ประกอบการ วิสาหกิจชุมชนต่างๆ เพื่อเป็นการลด

ใช้สารเคมี ช่วยรักษาสิ่งแวดล้อม ประหยัดเวลาและพลังงาน ลดต้นทุน เพิ่มประสิทธิภาพการผลิต ทำให้มีรายได้มากขึ้น สอดคล้องกับนโยบายไทยแลนด์ 4.0 ในการนำเอานวัตกรรมมาใช้ [16]

เอกสารอ้างอิง

[1] สุกัญญา สุนทรส และ วิเชียร ริมพณิชยกิจ, ชีวโมเลกุล, พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[2] https://medthai.com/เอนไซม์/ [เข้าถึงข้อมูล: 18 กรกฎาคม 2560]

[3] การสกัดแยกโปรตีนจากพืชบางชนิด : http://e-book.ram.edu/e-book/t/TN312(L)51/TN312-7.pdf [เข้าถึงข้อมูล: 18 กรกฎาคม 2560]

[4] Maenaka, K., Matsushima, M., Song, H., Sunada, F., Watanabe, K., and Kumagai, L. (1995) Dissection of protein-carbohydrate interactions in mutant hen egg-white lysozyme complexes and their hydrolytie activity. J. Mol. Biol. 247: 281-293.

[5] Christiason, D. W., and Lipscomb, W.N. (1986). X-ray crystallographic investigation of substrate binding to carboxypeptidase A at subzero temperature. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 7568-7572.

[6] Rees, D. C., Lewis, M., and Lipscomb, W. N. (1983). Refined crystal structure of carboxypeptidase A at 1.54 A resolution. J. Mol. Biol. 168, 367-387.

[7] Vocadio, D. J., Davies, G J., Laine, R., and Withers, S. G. (2001). Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate. Nature 412: 835-838.

[8] Leelakunakorn, W., Sriworawit, R., and Soontaros, S. (2005). Ceruloplasmin oxidase activity as a biomarker of lead exposure. J. Occup. Heaith 47: 56-60.

[9] Bohinski, Robert C. (1987) Modern concepts in biochemistry. 5th Edition. Boston: Allyn and Bacon.

[10] Orten, J. M., and Neuhaus, O. W. (1982). Human Biochemistry. 10th Edition. St. Louis: The C. V. Mosby Company

[11] Berg, J. W., Tymoczko, J. L., and Stryer, L. (2002). Biochemistry. 5th Edition. New York: W.H. Freeman and Company.

[12] Voet, D. M., and Voet, J. G. (2004). Biochemistry. 3th Edition. John Wiley and Sons.

[13] Devlin, T. M. (2006). Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation. 6th Edition. John Wiley and Sons.

[14] http://www.thailandindustry.com/indust_newweb/onlinemag_preview.php?cid=1493 [เข้าถึงข้อมูล: 19 กรกฎาคม 2560]

[15] http://www.enzymebiotic.com/enzyme_blood_cancer.html [เข้าถึงข้อมูล: 19 กรกฎาคม 2560]

[16] http://nwnt.prd.go.th/CenterWeb/News/NewsDetail?NT01_NewsID=WNICT6007200010001 [เข้าถึงข้อมูล: 19 กรกฎาคม 2560]