

1

Εισαγωγή

- 1.1 Στόχοι του βιβλίου
- 1.2 Ιστορική αναδρομή
- 1.3 Αξιοσημείωτες ιδιότητες των ενζύμων ως καταλύτες
- 1.4 Συμπαράγοντες
- 1.5 Ονοματολογία και ταξινόμηση των ενζύμων
- 1.6 Τα περιεχόμενα του βιβλίου

1.1 Στόχοι του βιβλίου

Στο παρόν βιβλίο προσπαθήσαμε να δώσουμε μια ευρεία εικόνα της ενζυμολογίας και να αναδείξουμε τις προοπτικές της τρέχουσας γνώσης. Οι μελέτες στα ένζυμα έχουν ως απώτατο σκοπό την κατανόηση του κρίσιμου ρόλου που διαδραματίζουν αυτοί οι καταλύτες στις μεταβολικές διεργασίες των οργανισμών. Εξαιτίας της πολυπλοκότητας αυτών των διεργασιών, είναι τουλάχιστον απαραίτητο να κατανοήσουμε τις ιδιότητες των ενζύμων σε απλούστερα συστήματα, δηλαδή ως απομονωμένες οντότητες στον δοκιμαστικό σωλήνα ή στην κυψελίδα του φωτομέτρου. Τα κεφάλαια του βιβλίου ακολουθούν προοδευτικά τις ιδιότητες των απομονωμένων ενζύμων ως τη συμπεριφορά τους σε συστήματα αυξανόμενης πολυπλοκότητας φτάνοντας μέχρι το κύτταρο. Για να τονίσουμε ότι η ενζυμολογία δεν είναι ένα αμιγώς ακαδημαϊκό θέμα, αλλά έχει συνεχώς διευρυνόμενες εφαρμογές, έχουν συμπεριληφθεί θέματα για τη σημασία των ενζύμων στην ιατρική και τη βιομηχανία.

1.2 Ιστορική αναδρομή

Τα ένζυμα είναι καταλύτες (δηλαδή επιταχύνουν τον ρυθμό των αντιδράσεων χωρίς τα ίδια να υφίστανται μόνιμη αλλαγή). Κάθε αντίδραση που γίνεται στο κύτταρο καταλύεται από το δικό της ένζυμο, ώστε σε κάθε κύτταρο να υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων. Είναι δύσκολο να κάνουμε ακριβή εκτίμηση του αριθμού των διαφορετικών ενζύμων σε κάθε κύτταρο, αλλά ορισμένα δεδομένα αρχίζουν να αναδεικνύονται από αποτελέσματα γονιδιωματικής αλληλούχησης. Έτσι, το βακτήριο *Escherichia coli* κωδικοποιεί 4.288 πρωτεΐνες, από τις οποίες έχουν χαρακτηριστεί οι 2.656 (62%)· οι υπόλοιπες 1.632 έχουν καταταχθεί ως υποθετικές, μη ταξινομημένες, ή άγνωστες. Από τις χαρακτηρισμένες πρωτεΐνες, οι 1.701 (64%) είναι ένζυμα.^{1,2} Στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, ο αριθμός των ενζύμων είναι πιθανόν μεγαλύτερος κατά μία τάξη μεγέθους.

Χωρίς τα ένζυμα, οι περισσότερες αντιδράσεις του κυτταρικού μεταβολισμού δεν θα πραγματοποιούνταν ούτε με την πάροδο ετών, και η ζωή όπως τη γνωρίζουμε δεν θα υπήρχε.

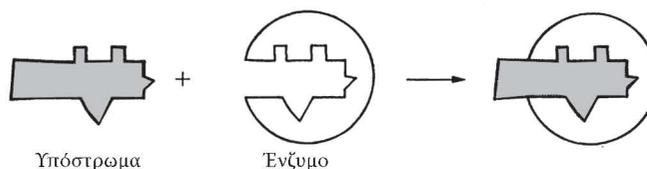
Η λέξη *ένζυμο* σημαίνει *μέσα στη ζύμη (εν ζύμη)*, και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Kùhne το 1878.*

Την εποχή εκείνη ο όρος χρησιμοποιούνταν για να διακρίνει μεταξύ «οργανικών

* Σημειώνεται από τον Fritton³ ότι ο όρος χρησιμοποιήθηκε τον δωδέκατο αιώνα μ.Χ. από τον Αρμένιο φιλόσοφο Θεοριανό, αν και προφανώς όχι με βιοχημικό περιεχόμενο.

Σ.τ.Μ.: Ο Θεοριανός ήταν Έλληνας θεολόγος που στάλθηκε στην Αρμενία από τον αυτοκράτορα Μανουήλ Κομνηνό το 1170 μ.Χ. στην προσπάθεια επανένωσης της αρμενικής με την ελληνική εκκλησία· χρησιμοποίησε τον όρο «ένζυμα» σε αντιδιαστολή με τα «άζυμα».

Εικόνα 1.1 Η υπόθεση «κλειδί-κλειδαριά» του Fischer για την εξήγηση της ενζυμικής εξειδίκευσης.



λιπασμάτων» (organized ferments) (ενν. ολόκληρους μικροοργανισμούς) και «μη οργανικών λιπασμάτων» (ενν. εκχυλίσματα ή εκκρίματα ολόκληρων οργανισμών). Έτσι, ο όρος *ένζυμο* επεδίωκε να δώσει έμφαση στο ότι η καταλυτική ιδιότητα ήταν «μέσα στη ζύμη», δηλ. μια ιδιότητα του εκχυλίσματος ή του εκκρίματος παρά ολόκληρου του οργανισμού. Αν και ο ορισμός χρησιμοποιήθηκε για τη ζύμη, εντούτοις θα χρησιμοποιούνταν για όλα τα «μη οργανικά λιπάσματα». Φυσικά, η καταλυτική δραστηριότητα των ενζύμων στους μικροοργανισμούς έχει χρησιμοποιηθεί από την ανθρωπότητα για πολλές χιλιάδες χρόνια σε διεργασίες όπως η ζύμωση και η παρασκευή τυριού, αλλά ήταν μια καθαρά πρακτική τους χρήση. Μόνο όταν φάνηκε ότι η ενζυμική δράση μπορεί να εκφραστεί χωρίς την παρουσία ακέραιης κυτταρικής δομής μπορούσε η μελέτη των ενζύμων να προχωρήσει με μεθόδους που ήδη χρησιμοποιούνταν από τη χημεία. Από αυτήν την άποψη γίνεται κατανοητή η πολύ σημαντική ανακάλυψη του Büchner (1897) ότι δημημάτα ζύμης μπορούσαν να καταλύσουν τη ζύμωση.

Ο Emil Fischer είχε εκπονήσει το 1894 ορισμένες κλασικές μελέτες σε ένζυμα μεταβολισμού υδατανθράκων, όπου έδειξε την εξειδίκευση ενός *ενζύμου* για το *υπόστρωμά* του (το μόριο στο οποίο ενεργεί το ένζυμο). Με βάση τα πειράματά του, ο Fischer πρότεινε την υπόθεση «κλειδί-κλειδαριά» για να περιγράψει αυτή την αλληλεπίδραση και για πολλά χρόνια ήταν ένας αποδοτικός τρόπος για να αποδώσει την πρόσδεση του ενζύμου στο υπόστρωμα (Εικόνα 1.1).

Εκείνη την εποχή (1890) η χημική φύση των ενζύμων δεν ήταν ξεκάθαρη. Αυτή ξεκαθαρίστηκε αρκετά χρόνια αργότερα, όταν μια σειρά ενζύμων είχε κρυσταλλωθεί και αποδείχτηκε ότι αποτελούνται εξ ολοκλήρου από πρωτεΐνη (δηλαδή απαρτίζονται από αμινοξέα συνδεδεμένα με πεπτιδικούς δεσμούς, βλ. Κεφάλαιο 3, Ενότητα 3.3). Το πρώτο ένζυμο που κρυσταλλώθηκε (το 1926 από τον Sumner) ήταν η ουρεάση, η οποία καταλύει την υδρόλυση της ουρίας σε διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία. Στην πραγματικότητα, αν ο Sumner είχε πιο ακριβείς μεθόδους ανάλυσης, θα είχε βρει ότι το παρασκεύασμα περιείχε μικρή ποσότητα νικελίου (περίπου 0,1% κατά βάρος, δύο Ni^{2+} ανά ενεργό κέντρο), το οποίο είναι απαραίτητο για την κατάλυση (Εικόνα 1.2).^{4,5} Ίσως εκ των υστέρων να ήταν καλό το ότι δεν διέθετε τόσο ευαίσθητες μεθόδους, διότι αλλιώς η φύση των ενζύμων μπορεί να μην είχε αποδεκτή για πολλά χρόνια ακόμη.

Η ανάπτυξη της υπερφυγοκέντρωσης από τον Svedberg (επίσης στη δεκαετία του 1920) επέτρεψε τη δημιουργία πολύ υψηλών φυγοκεντρικών πεδίων για την καθίζηση μακρομορίων.* Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες σε διάλυμα απαρτίζονται γενικά από ομογενή μόρια καθορισμένης M_r (για τα ένζυμα η M_r κυμαίνεται από 10^4 ως 10^7) παρά από κολλοειδή εναιωρήματα. Η περιγραφή των δομών των ενζύμων με ακριβείς χημικούς όρους έγινε δυνατή το 1960, όταν ανακοινώθηκε η αλληλουχία των αμινοξέων της ριβονουκλεάσης⁷ (ένα ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση ριβονουκλεϊκού οξέος). Το 1965 αποκαλύφθηκε η τρισδιάστατη δομή της λυσοζύμης (ενός ενζύμου που διασπά κυτταρικά τοιχώματα συγκεκριμένων βακτηρίων) με την τεχνική της κρυσταλλογραφίας ακτίνων X (βλ. Κεφάλαιο 3, Ενότητα 3.4.1), και για πρώτη φορά μπορούσε να προταθεί ένας μηχανισμός δράσης με ακριβείς χημικούς και δομικούς όρους. Γνωρίζουμε πλέον την αλληλουχία των αμινοξέων και την τρισδιάστατη δομή πολλών χιλιάδων ενζύμων, που μπορούν να οδηγήσουν σε γενικεύσεις και συγκρίσεις μεταξύ τους (βλ. Κεφάλαιο 3, Ενότητες 3.3.2.11 και 3.4.4.6).

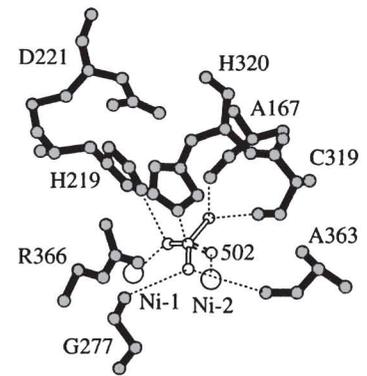
* Ο όρος μακρομόριο χρησιμοποιείται γενικά για μόρια με σχετική μοριακή μάζα (M_r) > 10.000 · παρ' όλα αυτά, η μικρότερη γνωστή ενζυμική πολυπεπτιδική αλυσίδα (αυτή της ταυτομεράσης του 4-οξαλοκροτονικού με M_r 6.811) πρέπει να θεωρείται ως μακρομόριο.⁶

Κατά τα τέλη της δεκαετίας του 1950 και τις αρχές αυτής του 1960, ένας αριθμός παρατηρήσεων έδειξε ότι τα ένζυμα έχουν αξιοσημείωτη ελαστικότητα. Το 1958, ο Koshland⁸ πρότεινε τη θεωρία της «επαγωγίμης προσαρμογής» (induced fit) για να ερμηνεύσει την καταλυτική ισχύ και εξειδίκευση των ενζύμων (βλ. Κεφάλαιο 5, Ενότητα 5.6). Ήταν επίσης σαφές ότι η καταλυτική δράση συγκεκριμένων ενζύμων μπορούσε να αποκριθεί σε αλλαγές των φυσιολογικών καταστάσεων. Ο Monod και οι συνεργάτες του^{9,10} πρότειναν το «αλλοστερικό μοντέλο» τους για να εξηγήσουν ποσοτικά πώς η δραστηριότητα ορισμένων ενζύμων μπορούσε να ρυθμιστεί από την πρόσδεση μικρών μορίων (τελεστές, *effectors*), παρέχοντας έτσι τη βάση για την κατανόηση πολλών χαρακτηριστικών της ρύθμισης των ενζύμων στο κύτταρο. Ένα χαρακτηριστικό μοντέλων για τα αλλοστερικά ένζυμα γενικά είναι πώς υποθέτουν ότι η πρόσδεση των τελεστών στα ένζυμα επάγει δομικές αλλαγές στα ένζυμα (Κεφάλαιο 6, Ενότητα 6.2.2).

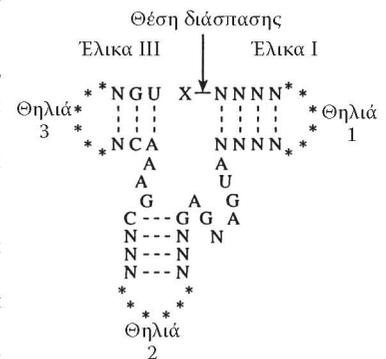
Η πρώτη χημική σύνθεση ενός ενζύμου (ριβονουκλεάση) από αμινοξέα ανακοινώθηκε το 1969.¹¹ Αν και ήταν ένα αξιοσημείωτο επίτευγμα, πρέπει να σημειωθεί πως τόσο η χημική καθαρότητα όσο και η καταλυτική δραστηριότητα του παρασκευάσματος ήταν χαμηλές. Θα μπορούσε πιθανόν να λεχθεί πως η χημική σύνθεση δίνει την τελική απόδειξη ότι τα ένζυμα δεν διαφέρουν σε τίποτε από άλλους μη βιολογικούς καταλύτες.

Η εφαρμογή των τεχνικών ανασυνδυασμένου DNA στη μελέτη των ενζύμων έδωσε μερικές νέες εντυπωσιακές προοπτικές (βλ. Κεφάλαιο 3, Ενότητα 3.3.1, και Κεφάλαιο 5, Ενότητες 5.4.5 και 5.5). Έτσι, η εισαγωγή μεταλλάξεων σε καθορισμένες θέσεις με κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση απέδειξε πως ήταν δυνατόν να αλλαχθεί η καταλυτική δραστηριότητα και η εξειδίκευση με ένα λογικό τρόπο. Αυτό βοήθησε στην κατανόηση των μηχανισμών της ενζυμικής δραστηριότητας και άνοιξε τις προοπτικές σχεδιασμού ενζύμων με εξειδικευμένες απαιτούμενες ιδιότητες.¹² Για παράδειγμα, η εξειδίκευση της αφυδρογονάσης του γαλακτικού άλλαξε σε αυτή της αφυδρογονάσης του μηλικού με την εισαγωγή τριών μεταλλάξεων στο δραστικό κέντρο (βλ. Κεφάλαιο 5, Ενότητα 5.5.4.5). Επίσης, γίνονται προσπάθειες να χειραγωγηθεί η δραστηριότητα των ενδοουκλεασών περιορισμού, ώστε να αυξηθεί ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που αναγνωρίζεται από το δραστικό κέντρο (π.χ. από έξι νουκλεοτίδια σε οκτώ).¹³

Πρόσφατα, έγινε προφανές ότι καταλυτική δραστηριότητα μπορεί να δείχθει σε περιορισμένο βαθμό από άλλα βιολογικά μόρια εκτός των «κλασικών» ενζύμων. Κατά τη διάρκεια της ενζυμικής κατάλυσης, τα υποστρώματα μετατρέπονται σε προϊόντα μέσω μιας μεταβατικής κατάστασης υψηλής ενέργειας (βλ. Κεφάλαιο 5, Εικόνα 5.1). Ένας αριθμός πειραμάτων έχει δείξει πως αντισώματα έναντι σταθερών αναλόγων των μεταβατικών καταστάσεων ενός αριθμού αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα (βλ. Κεφάλαιο 5, Ενότητα 5.3.8) μπορούν να δράσουν ως αποτελεσματικοί καταλύτες γι' αυτές τις αντιδράσεις.¹⁴⁻¹⁶ Το 1986 ο Cech ανακάλυψε ότι το RNA μπορεί να δρα ως καταλύτης για αντιδράσεις υδρόλυσης RNA και πως μπορούν να επιτευχθούν επιταχύνσεις έως και 10¹¹.^{17,18} Μετά την αρχική ανακάλυψη, αποκαλύφθηκε ένας αριθμός διαφορετικών αντιδράσεων που καταλύονται από RNA· αυτοί οι καταλύτες RNA είναι γνωστοί ως ριβοένζυμα. Τα ριβοένζυμα καταλύουν τον αυτοματισμό (self-splicing) ιντρονίων, την ωρίμαση tRNA και το μάτισμα γονιδιωμάτων ιικών RNA. Όλα τα φυσικά ριβοένζυμα που είναι γνωστά μέχρι σήμερα καταλύουν είτε αντιδράσεις μεταφοροφωσφοστεροποίησης είτε υδρόλυσης φωσφορικών εστέρων,¹⁸ αλλά έχουν αναπτυχθεί ριβοένζυμα που έχουν δραστηριότητα πεπτιδυλ-μεταφοράς ανάλογη με αυτή των ριβοσωμάτων.¹⁹ Τα θραύσματα RNA που εμπλέκονται στην κατάλυση έχουν ταυτοποιηθεί, και όλα απαιτούν την παρουσία μεταλλικών ιόντων. Η ριβονουκλεάση Ρ είναι ένα ριβοένζυμο που καταλύει την υδρόλυση ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού στο πρόδρομο tRNA. Αποτελείται από δύο συστατικά: ένα μόριο RNA 337 νουκλεοτιδίων και ένα πρωτεϊνικό μέρος από 119 αμινοξέα. Η θέση της κατάλυσης βρίσκεται στο μόριο RNA.^{20,21} Πρόσφατα, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον μια ομάδα ικρών ριβοενζύμων γνωστών ως σφυροκέφαλα ριβοένζυμα. Αυτά αποτελούνται από περίπου 30 νουκλεοτίδια που αναδιπλώνονται σε ένα σχήμα κεφαλής σφυριού και μπορούν να επάγουν την ειδική τμήση ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού (Εικόνα 1.3).



Εικόνα 1.2 Το δραστικό κέντρο της ουριάσης, όπου δείχνονται οι θέσεις του υποστρώματος (ουρία), τα αμινοξέα (με συμβολισμό ενός γράμματος· βλ. Κεφάλαιο 3, Πίνακας 3.1) που σχηματίζουν το ενεργό κέντρο, τα δύο άτομα Νί και το ένα άτομο οξυγόνου του H₂O (502) που ενυδατώνει το Νί-2.⁵



Εικόνα 1.3 Απεικόνιση δύο διαστάσεων του σφυροκέφαλου ριβοενζύμου. Το βέλος δείχνει τη θέση της διάσπασης του φωσφοδιεστερικού δεσμού. Ν, οποιοδήποτε νουκλεοτίδιο· Χ δηλώνει Α, C ή U· οι αστερίσκοι δείχνουν θηλιές RNA που μπορεί να έχουν μήκος 100–200 νουκλεοτίδια.²⁰

Η τρισδιάστατη δομή καθορίστηκε με σκέδαση ακτίνων X και συνίσταται από τρεις έλικες συζευγμένες με δεσμούς βάσεων οι οποίες συνδέονται με δύο μονόκλωνες περιοχές, ενώ έχει καθοριστεί και το σημείο τομής.²² Λόγω του μικρού τους μεγέθους, τα σφυροκέφαλα ένζυμα είναι ιδανικά για τον σχεδιασμό νέων ριβοενζύμων και έχουν θεραπευτική δυναμική. Η παρατήρηση αυτών των «ριβοενζύμων» έχει σημαντικούς υπαινιγμούς για θεωρίες που αφορούν στην εξέλιξη της καταλυτικής δράσης.²³

Για περισσότερες λεπτομέρειες στην ιστορία της ενζυμολογίας σας παραπέμπουμε στις Βιβλιογραφικές παραπομπές 24 και 25.

1.3 Αξιοσημείωτες ιδιότητες των ενζύμων ως καταλύτες

Τα ένζυμα έχουν πολλές αξιοσημείωτες ιδιότητες όταν συγκρίνονται με καταλύτες άλλου τύπου. Οι τρεις πιο σημαντικές είναι η υψηλή καταλυτική ισχύς, η εξειδίκευση του, και το εύρος στο οποίο μπορεί να ρυθμιστεί η καταλυτική τους δράση από μια ποικιλία φυσικών ενώσεων. Αυτές οι τρεις ιδιότητες παρουσιάζονται παρακάτω.

1.3.1 Καταλυτική ισχύς

Τα ένζυμα μπορούν να αυξήσουν τον ρυθμό μιας αντίδρασης μέχρι και κατά 10^{17} φορές. Δεν υπάρχουν πολλά παραδείγματα άμεσης σύγκρισης μεταξύ των ρυθμών μιας αντίδρασης που καταλύεται από ένζυμα και της ίδιας αντίδρασης σε όμοιες συνθήκες (θερμοκρασία, pH, κ.λπ.), αλλά απουσία του ενζύμου. Αυτό διότι οι ρυθμοί των αντιδράσεων απουσία του ενζύμου είναι πολύ χαμηλοί ώστε να μετρηθούν εύκολα. Όπου έγινε αυτή η σύγκριση βρέθηκαν πολύ υψηλές αυξήσεις των ρυθμών,^{26,27} π.χ. η εξοκινάση αύξησε τον ρυθμό της αντίδρασης κατά $> 10^{10}$, η φωσφορυλάση $> 3 \times 10^{11}$, η αφυδρογονάση της αλκοόλης $> 2 \times 10^8$, η ισομεράση της φωσφορικής τριόζης $> 10^9$, καρβοξυπεπτιδάση $> 10^{11}$, και η ουριάση $> 10^{14}$. Σε άλλες περιπτώσεις, όπου συγκρίνονται ενζυμικοί και μη ενζυμικοί καταλύτες, οι πρώτοι καταλύουν με πολύ μεγαλύτερους ρυθμούς και σε ορισμένες περιπτώσεις σε σημαντικά χαμηλότερες θερμοκρασίες (Πίνακας 1.1). Οι βέλτιστες συνθήκες για ενζυμική κατάλυση είναι συνήθως μέτριες θερμοκρασίες και τιμές pH κοντά στο 7, αν και ένζυμα από έναν αριθμό αρχαιοβακτηρίων λειτουργούν σε πολύ ακραίες συνθήκες.²⁸ Η αντίθεση μεταξύ μιας ενζυμικά καταλυόμενης αντίδρασης και μιας αντίδρασης που καταλύεται από έναν μη-ενζυμικό καταλύτη απεικονίζεται πολύ καλά από τη διεργασία της δέσμευσης του αζώτου (δηλαδή της αναγωγής του N_2 σε αμμωνία). Η νιτρογενάση* καταλύει αυτή την αντίδραση σε θερμοκρασία περίπου 300 K (~ 26,8°C) σε pH 7. Το ένζυμο είναι ένα πολύπλοκο σύστημα που συνίσταται από δύο διαχωριζόμενα πρωτεϊνικά συστατικά, ένα από τα οποία περιέχει σίδηρο και το άλλο σίδηρο και μολυβδαίνιο.²⁹ Μερικά μόρια ATP υδρολύονται κατά την αναγωγή, αν και η ακριβής στοιχειομετρία δεν είναι καθορισμένη. Αντιθέτως, στη βιομηχανική σύνθεση της αμμωνίας από άζωτο και υδρογόνο οι συνθήκες που χρησιμοποιούνται είναι: θερμοκρασίες μεταξύ 700 και 900 K (427–627 °C), πιέσεις μεταξύ 100 και 900 ατμοσφαιρών, και παρουσία ενός καταλύτη σιδήρου, συνήθως προωθούμενη από παρουσία ιχνών οξειδίων άλλων μετάλλων.³⁰ Η βάση της καταλυτικής δύναμης συζητείται στο Κεφάλαιο 5, Ενότητα 5.3.

1.3.2 Εξειδίκευση

Τα περισσότερα ένζυμα είναι πολύ εξειδικευμένα, τόσο σε σχέση με τη φύση του υποστρώματος (ή υποστρωμάτων) που χρησιμοποιούν, όσο και με την αντίδραση που καταλύουν. Το εύρος εξειδίκευσης ποικίλλει μεταξύ των ενζύμων. Υπάρχουν ένζυμα με

* Μόνο συγκεκριμένοι προκαρυωτικοί οργανισμοί μπορούν να πραγματοποιήσουν τη δέσμευση του αζώτου και μπορεί να είναι είτε συμβιωτικοί είτε μη συμβιωτικοί οργανισμοί. Σε χειροαία οικοσυστήματα, η συμβιωτική δέσμευση φαίνεται να υπερβαίνει τη μη συμβιωτική και το πιο ξεχωριστό παράδειγμα συμβιωτικής δέσμευσης είναι αυτό μεταξύ βακτηρίων του γένους *Rhizobium* και των ριζών οσπρίων.

Πίνακας 1.1 Παραδείγματα καταλυτικής ισχύος ενζύμων

Υπόστρωμα	Καταλύτης	Θερμοκρασία	Σταθερά ρυθμού αντίδρασης k (mol/l) ⁻¹ s ⁻¹
Αμίδιο (υδρόλυση)	H ⁺	52	$2,4 \times 10^{-6}$
βενζαμίδιο	OH ⁻	53	$8,5 \times 10^{-6}$
βενζοϋλ-L-τυροσυναμίδιο	α -χυμοτριψίνη	25	14,9
Ουρία (υδρόλυση)	H ⁺	62	$7,4 \times 10^{-7}$
	ουριάση	21	$5,0 \times 10^6$
2H ₂ O ₂ → 2H ₂ O + O ₂	Fe ²⁺	22	56
	καταλάση	22	$3,5 \times 10^7$

Οι πληροφορίες έχουν αντληθεί από τη Βιβλιογραφική παραπομπή 31.

σχετικά χαμηλή εξειδίκευση (*εξειδίκευση δεσμού*), π.χ. ορισμένες πεπτιδάσες, φωσφατάσες και εστεράσες, οι οποίες θα χρησιμοποιήσουν ένα μεγάλο εύρος υποστρωμάτων με την προϋπόθεση ότι περιέχουν τον κατάλληλο χημικό δεσμό, δηλαδή πεπτιδικό, φωσφοεστερικό και καρβοξυεστερικό, αντίστοιχα. Η χαμηλή εξειδίκευση απαντάται συνήθως σε αποδομητικά ένζυμα, αλλά παρατηρείται πολύ σπάνια σε βιοσυνθετικά ένζυμα. Ο ρόλος των πρώτων μπορεί να είναι στη διεργασία της πέψης, όπου η ευρεία εξειδίκευση θα ήταν πιο οικονομική. Μια ενδιαμέση ομάδα ενζύμων έχουν *εξειδίκευση ομάδας*, π.χ. η εξοκινάση. Το ένζυμο θα καταλύσει τη φωσφορυλίωση ενός εύρους σακχάρων δεδομένου ότι αυτά είναι αλδοεξόζες. Παρ' όλα αυτά, πολλά ένζυμα έχουν *απόλυτη ή σχεδόν απόλυτη εξειδίκευση*, δηλαδή θα καταλύσουν μόνο μια αντίδραση σε έναν ικανοποιητικό ρυθμό με ένα υπόστρωμα (ή ένα ζεύγος υποστρωμάτων σε μια διμοριακή αντίδραση)· π.χ. η ουριάση θα καταλύσει την αντίδραση υδρόλυσης μόνο με ουρία, ενώ την ίδια αντίδραση με πολύ όμοια ανάλογα θα την κάνει σε πολύ χαμηλότερους ρυθμούς (το αμέσως καλύτερο υπόστρωμά της είναι το ημικαρβαζίδιο που αποδομείται με ρυθμό > 10³ φορές βραδύτερα).⁵ Ο ποσοτικός καθορισμός της εξειδίκευσης με όρους κινητικής περιγράφεται στο Κεφάλαιο 4, Ενότητα 4.3.1.3.

Οι όροι *εξειδίκευση ομάδας* και *απόλυτη εξειδίκευση* μπορούν να γίνουν αντιληπτοί σε σχέση με υποστρώματα μικρής M_r , αλλά όταν αναφερόμαστε σε μακρομοριακά υποστρώματα τα πράγματα είναι κάπως διαφορετικά, μια και το δραστικό κέντρο του ενζύμου μπορεί να αλληλεπιδρά μόνο με ένα μέρος του μακρομορίου. Αυτό οφείλεται απλά στις σχετικές διαστάσεις του δραστικού κέντρου και του μακρομορίου. Μια ομάδα ενζύμων που έχουν μελετηθεί διεξοδικά είναι οι ενδονουκλεάσες περιορισμού (*restriction endonucleases*). Τα ένζυμα αυτά αναγνωρίζουν γενικά μια αλληλουχία τεσσάρων έως έξι ζευγών βάσεων DNA και κατόπιν διασπούν τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς και των δύο αλυσίδων, αλλά όχι απαραίτητα σε αντικριστές θέσεις. Είναι γνωστά τουλάχιστον 1.900 από αυτά τα ένζυμα και έχουν διαφορετικό εύρος εξειδίκευσης όσον αφορά στην αλληλουχία που αναγνωρίζουν.³² Κατά μία έννοια, κάθε ένζυμο έχει απόλυτη εξειδίκευση για μια περιοχή του υποστρώματος που είναι σε επαφή με το δραστικό του κέντρο, παρόλο που μπορεί να δρα σε κάθε μόριο DNA ή θραύσμα που περιέχει την κατάλληλη αλληλουχία.

Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό πολλών αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα είναι η *στερεοεξειδίκευση*. Αυτή γίνεται καλά αντιληπτή στην περίπτωση των αφυδρογονάσεων που απαιτούν NAD⁺ και NADP⁺. Με χρήση κατάλληλα σημασμένων υποστρωμάτων έχει δείχθει ότι οι αφυδρογονάσες καταλύουν τη μεταφορά υδρογόνου από το υπόστρωμα σε μια καθορισμένη θέση του νικοτιναμίδιικού δακτυλίου· αυτές αναφέρονται ως αφυδρογονάσες Α- και Β-θέσης (Εικόνα 1.4). Επιπλέον, σχεδόν όλες οι αφυδρογονάσες δρουν είτε σε NAD⁺ είτε σε NADP⁺. Ο λόγος αυτών των εξειδικεύσεων είναι σαφής στην περίπτωση των αφυδρογονάσεων που είναι γνωστή η τρισδιάστατη δομή τους, π.χ. της ηπατικής αφυδρογονάσης της αλκοόλης, της αφυδρογονάσης του γαλακτικού και της αφυδρογονάσης της 3-φωσφορικής γλουταραλδεϋδης, και συζητούνται περαιτέρω στο Κεφάλαιο 5,³⁴ Ενότητα 5.5.4.3.