

# PET lebontó rekombináns enzimek termelése és aktivitásának meghatározása

## Production and activity of PET-degrading recombinant enzymes

NAGY Blanka-Eszter<sup>1</sup>, BOROS Krisztina<sup>1</sup>, Dr. BENCZE László Csaba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Enzimológia és Alkalmazott Biokatalízis Kutatóközpont, Kémia és Vegyésztechnológiai kar, Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Arany János utca 11, RO-400028 Kolozsvár

### ABSTRACT

The presence of large-scale environmental waste requires an increasingly urgent solutions for its decomposition. Environmentally friendly organic waste degradation approaches, fulfilling the requirements of green chemistry has been emerged over the last few years. Among them, enzymatic procedures for plastic degradation, especially of polyethylene terephthalate polymer (PET) into its monomers, employing hydrolases and cutinases, gained high interest, providing significant advances in the plastic recycling technologies.

Within the design and development of an efficient PET-degrading biocatalyst, precise (of high sensitivity, specificity, and reproducibility) enzyme activity tests and efficient recombinant expression systems are requested. As PET-ase activity tests two methods the, UV-Vis spectroscopy[1] and HPLC-based method[2], were employed an optimized monitoring the activity of one of the most efficient PET degrading enzyme, the leaf branch compost cutinase (LCC)[2]. In our experiments, we developed an efficient expression system for the production of recombinant PET-degrading enzyme (testing different expression vectors and host cells) and improved the accuracy of existing analytical methods.

**Keywords:** PET (polyethylene terephthalate), enzymatic degradation, leaf branch compost cutinase, biocatalysis, internal standard

### ÖSSZEFOGLALÓ

Környezetünket megfigyelve láthatjuk, hogy a nagy léptékű hulladék jelenléte egyre sürgetőbb megoldást igényel annak lebontására. Környezetbarát módon való megközelítése ezen problémának az elmúlt pár évben számos kutatás célja volt. A polietilén tereftalát (PET – polyethylene terephthalate) polimer monomerjeire való bontására számos enzimmel végeztek kísérleteket, köztük hidrolázokkal és kutinázokkal.

Egy hatékony PET lebontó biokatalizátor kidolgozásához a megfelelő expressziós rendszer feltérképezése mellett fontos, hogy az adott enzim aktivitását, illetve a reakció során képződő termékek képződését is nyomon tudjuk követni. Ehhez az irodalomban is használt két módszerre alapozva, UV-Vis spektroszkópia[1], illetve HPLC[2] segítségével vizsgáltuk a jelenleg ismert, egyik legmagasabb PET-degradáló aktivitással rendelkező kutináz, a levélágkomposztban fellelhető kutináz (leaf branch compost cutinase-t, LCC-t[2]). Kísérleteink során céljaink közé tartozott egy hatékony expressziós rendszer kidolgozása a rekombináns PET lebontó enzim termelésére (különböző expressziós vektorokat és gazdasejteket alkalmazva), illetve az említett analitikai módszerek pontosságának növelése. A megfelelő expressziós rendszer alkalmazásával sikerült kinyerni az aktív LCC enzimet, illetve az újítások bevezetésének köszönhetően sikerült az említett módszerek precizitását növelnünk.

**Kulcsszavak:** PET (polietilén tereftalát), enzimatikus lebontás, LCC (levélágkomposzt kutináz), biokatalízis, belső standard

1. E. Z. L. Zhong-Johnson, C. A. Voigt, A. J. Sinskey, *Scientific Reports An absorbance method for analysis of enzymatic degradation kinetics of poly(ethylene terephthalate) films*, 2021, **11**, 928.
2. V. Tournier, C. M. Topham, A. Gilles, B. David, C. Folgoas, E. Moya-Leclair, E. Kamionka, M. L. Desrousseaux, H. Texier, S. Gavalda, M. Cot, E. Guemard, M. Dalibey, J. Nomme, G. Cioci, S. Barbe, M. Chateau, I. Andre, S. Duquesne, A. Marty, *Nature An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles*, 2020, **580**, 216-219.