

# 基于数据库挖掘与蛋白质工程的PET降解酶研究进展

王 剑

云南师范大学生命科学学院, 西南联合研究生院, 云南 昆明

收稿日期: 2026年3月23日; 录用日期: 2026年4月21日; 发布日期: 2026年4月29日

## 摘 要

聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)作为应用最广泛的合成塑料之一, 其难降解特性引发的“白色污染”已成为全球性环境难题, 生物降解法因绿色环保、条件温和成为PET回收的重要方向。PET水解酶的挖掘已形成天然环境筛选与数据库挖掘、宏基因组学等人工辅助技术并行的格局, 筛选获得IsPETase、LCC等代表性酶类; 通过理性设计、定向进化等蛋白质工程策略, 可有效提升PET水解酶的催化活性、热稳定性等工业适配性能。同时, BHETase与MHETase可有效降解PET酶促降解中间产物, 缓解其对PETase的竞争性抑制, 与PET水解酶协同作用实现PET完全降解。本文综述了当前PET塑料的主流降解方法, 重点聚焦生物降解法中PET水解酶的挖掘现状、蛋白质工程改造进展, 以及PET酶促降解过程中关键中间产物(BHET, MHET)水解酶的研究情况, 为高效、环保的PET生物降解技术开发提供关键酶资源和理论依据, 对推动塑料污染治理及资源循环利用具有重要意义。

## 关键词

基因挖掘, 聚对苯二甲酸乙二醇酯, 竞争性抑制, 理性设计

# Research Progress on PET Degrading Enzymes Based on Database Mining and Protein Engineering

Jian Wang

Southwest United Graduate School, School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming Yunnan

Received: March 23, 2026; accepted: April 21, 2026; published: April 29, 2026

## Abstract

Polyethylene terephthalate (PET) is one of the most widely used synthetic plastics, and the “white

pollution” caused by its recalcitrant degradation has become a global environmental problem. Biodegradation has emerged as an important direction for PET recycling due to its environmental friendliness and mild reaction conditions. The mining of PET hydrolases has formed a pattern of parallel development of natural environment screening and artificial auxiliary technologies such as database mining and metagenomics, resulting in the screening of representative enzymes including IsPETase and LCC. Rational design, directed evolution and other protein engineering strategies can effectively improve the industrial adaptability of PET hydrolases, such as catalytic activity and thermal stability. Meanwhile, BHETase and MHETase can effectively degrade the key intermediate products of PET enzymatic degradation, alleviate their competitive inhibition on PETase, and achieve complete degradation of PET through synergistic action with PET hydrolases. This review summarizes the current mainstream degradation methods of PET plastics, focusing on the mining status of PET hydrolases in biodegradation, the progress of protein engineering modification, and the research status of hydrolases for key intermediate products (BHET, MHET) during PET enzymatic degradation. It provides key enzyme resources and theoretical basis for the development of efficient and environmentally friendly PET biodegradation technologies, and is of great significance for promoting plastic pollution control and resource recycling.

## Keywords

Gene Mining, Polyethylene Terephthalate, Competitive Inhibition, Rational Design

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

从 20 世纪起, 合成类塑料由于其可塑性、耐用性在市场上迅速普及, 到目前为止已经深刻融入到现代工业和日常生活的各个方面。不管是医疗器械还是食品包装, 塑料制品已经成为社会发展的重要组成部分。目前为止, 全球累计塑料产量已超亿吨, 并且产量还在逐年上升[1]。塑料通常由高分子聚合物组成, 其结构稳定性带来了其卓越的耐久性, 最终使其在环境中持续存在。传统的塑料(如 PE、PP、PET)化学结构及性质十分稳定, 在自然界很难在自然条件下降解, 这导致塑料制品在陆地和海洋中持续存在, 并形成棘手的“白色污染”[2]。在过去七十多年的时间里, 伴随着人口数量的持续增长以及人们消费能力不断提高, 社会对于塑料的需求呈现出日益增长的态势, 全球塑料的产量也随之不断攀升。2021 年全球塑料产量达到 3.91 亿吨, 预计 2040 年以后将增至每年 8 亿吨[3]。然而, 只有不到 10%的塑料废弃物能被回收利用, 约 50%被填埋, 19%被焚烧, 而至少有超过 2200 万吨的塑料留存到水生和陆地环境中[4]。塑料垃圾由于长期在自然环境中存在, 有些在自然中逐渐形成微塑料, 研究证实其可通过自然食物链传递, 威胁生态系统稳定与生物安全[5]。在 2004 年, Thompson 等首次提出了微塑料的概念, 即粒径在 5 mm 之内、具有比表面积大、疏水性强等特点的塑料碎片和颗粒[6], 并且在自然环境中微塑料占全球海洋塑料垃圾的 92.4% [7]。

在众多塑料制品中, 聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)占据着极其重要的地位。PET 是一种合成聚合物, 属于聚酯家族中最常用的透明半结晶热塑性塑料。PET 的化学通式为 $(C_{10}H_8O_4)_n$ , 密度为  $1.38 \text{ g/cm}^3$ , 熔融温度约为  $250^\circ\text{C}$ , 玻璃转化温度为  $75^\circ\text{C}$  [8], 其合成是通过对苯二甲酸(TPA)与乙二醇(EG)进行脱水缩合反应而成[9] [10]。在 PET 的生产中, 不同的加工工艺会生产出不同的结晶度(DC)的 PET 产品, 一般结晶度越高的 PET 产品其结构更加紧密, 降解难度越大, 反之低结晶度的 PET 结构相对松散, 其降解难度

相对较低[11]。PET 的酯键是其主要的官能团,其结构如图 1 所示[12],酯键使 PET 具备严密的分子结构和化学惰性,这种特性使得其对水分、气体(如氧气和二氧化碳)以及许多化学试剂表现出较强的耐受性,从而确保了包装内容物的安全、纯度和长保质期。正是这一特性,让 PET 成为食品接触和精密包装材料不可或缺的材料。本文主要综述了当前降解塑料的各类主流方法,聚焦生物降解法降解 PET 的常用酶类,系统梳理了相关酶的分子改造思路,对其未来发展方向进行了展望。

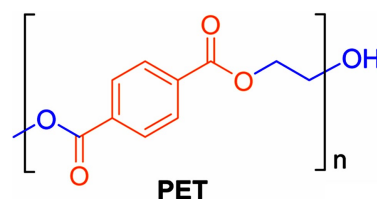


Figure 1. PET structural formula

图 1. PET 结构式

## 2. 现阶段 PET 回收的传统方法

全球塑料年产量已达数亿吨规模,废弃后带来的环境压力日益加剧。由于全球对于 PET 塑料制品的需求量日渐增长,大量的 PET 最后以废弃物的形式进入自然环境中,形成塑料垃圾[13]。解决 PET 塑料污染、实现资源可持续利用,关键在于构建高效的 PET 塑料循环体系。目前 PET 回收主要有四种策略,其中焚烧法是通过燃烧 PET 产生热能用于发电或供暖,但燃烧产物却再次回收利用,无法实现 PET 的循环利用,同时产生的温室气体和有害物质会加重环境负担。机械回收是处理大规模塑料固体废物的主要方式之一[14]。传统的机械回收是 PET 回收中应用最广的工艺,主要通过分拣、清洗、熔融再造粒实现塑料的再生。然而,其缺点也十分显著,机械回收的关键在于废塑料需要经过纯度分选和严格的预处理,混合的塑料会使机械回收的再生塑料品质大打折扣[15]。化学回收技术的原理是通过化学途径将 PET 解聚为低分子化合物[16],化学回收通过借助解聚、热裂解等化学反应将塑料废弃物转化为单体、低聚物的化工原料,在理论上能做到无限循环。不过这项技术在实际推广中仍面临不少难题,通常需要高温高压等苛刻的工业条件,能耗和投资极高;有些化学过程比如裂解工艺还可能释放有害物质,带来二次环境风险。整体来看,化学回收至今还没找到一个经济可行又绿色的普遍方案[17]。填埋法作为 PET 塑料的传统处理方式,是指将废弃的 PET 制品经收集、运输后,在符合规范的卫生填埋场中进行压实、覆土填埋,使其与生物圈隔离的处理过程。该方法利用地质稳定层和人工防渗系统阻隔污染物迁移,以长期物理封存方式实现废弃物处置。但由于 PET 稳定性良好、难以降解,会对环境或者水体造成长期污染[18]。

## 3. 生物降解回收 PET

生物法回收作为一种新兴绿色技术,近年备受学术界和工业界关注。PET 生物降解技术核心原理在于利用微生物分泌的专用酶类作为生物催化剂,通过水解作用选择性断裂 PET 聚合物链中的酯键。相比物理与化学方法,生物法具备三重环保优势:条件温和、能耗极低,契合“双碳”背景下的可持续发展理念;并且酶催化反应专一性强,可精准切断 PET 酯键生成高纯度单体或低聚物,便于后续回收再利用;此外生物降解全过程不产生有毒副产物,生物催化剂本身可降解,环境友好度高。目前利用生物技术处理 PET 废料正成为一种前景广阔且更为环保的解决方案[19]。近年来,研究表明,某些微生物能够只依赖塑料作为碳源来生存,并且能够在塑料废物上生长[20][21]。但尽管研究人员从堆肥、塑料垃圾填埋场、海洋环境等自然环境中分离出能够降解各种塑料的微生物。这些生物已被发现能够产生多种酶,如过氧化物酶、水解酶、羧酸酯酶[22]、脂肪酶和漆酶[23],但直到 2016 年,日本的科学家在海边的废弃塑料厂

中分离出一种能够利用 PET 作为碳源生长的细菌 *Ideonella sakaiensis* (IsPETase), 并从该菌株中发现了首个能够有效降解 PET 的水解酶[21], 此外研究人员还挖掘出枝叶堆肥角质酶 LCC [24]、PHL7 [25]、Hic [26]、Tfcut2 [27]等高效的 PET 水解酶, 极大丰富了 PET 生物降解的酶资源体系。PET 酶解过程如图 2 所示[28], PET 水解酶能够识别并结合 PET 表面, 通过其催化三联体(Ser-His-Asp)发挥水解活性, 在温和条件下将长链 PET 聚合物逐步降解为中间产物苯二甲酸单羟乙酯(MHET)和苯二甲酸双羟乙酯(BHET) [29], 并发现该菌株还存在另外一个 MHET 水解酶, 能将中间产物 MHET 进一步降解成对苯二甲酸(TPA)和乙二醇(EG) [28] [30]。

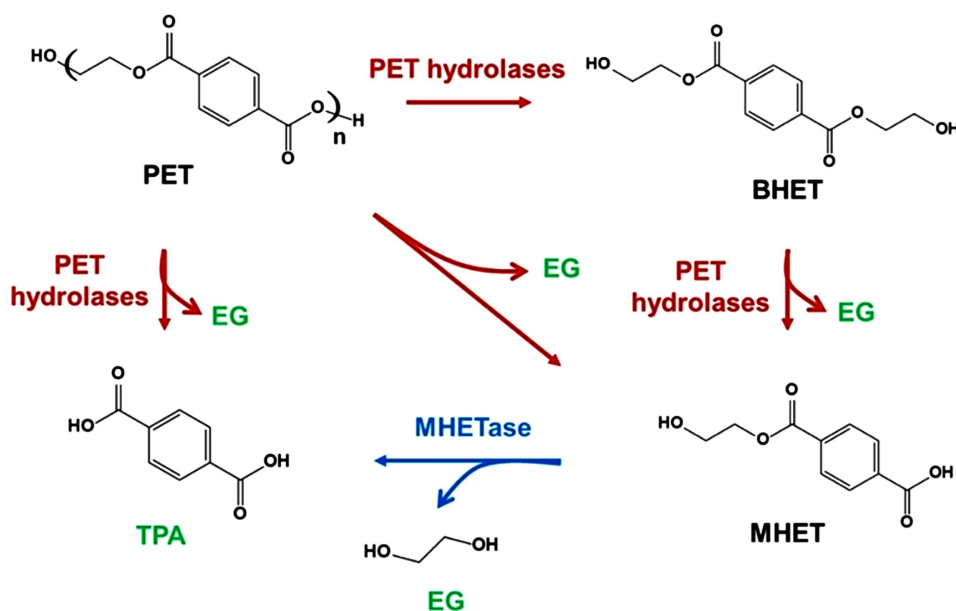


Figure 2. PET enzymatic degradation process  
图 2. PET 酶促降解流程

#### 4. PETase 的挖掘

从自然界中未被开发利用的微生物资源中筛选出符合要求的酶资源是最基础、最传统的搜寻方法。该方法利用了微生物在物种、代谢、遗传等方面的多样性和繁殖快等优点。首先通过采样、富集培养、筛选获得目的菌种, 再使用分子生物学技术克隆与鉴定相关基因, 或者通过提取、分离、组学分析鉴定活性酶蛋白。大多数 PET 降解酶是从天然微生物中筛选出来的, 如来自 *Thermobifida fusa* DSM43793 的 TjH [31], 来自 *Humicola insolens* 的 Hic [26], 来自 *Saccharomonospora viridis* AHK190 的 Cut190 [32], 来自 *Ideonella sakaiensis* 201-F6 的 IsPETase [21]。最近 Qiao 等基于荧光激活液滴分选技术开发了一种高通量筛选 PET 降解微生物或酶的方法[33], 并成功从纺织厂污水中筛选出 9 个不同属的 PET 降解物种。然而菌株筛选方法存在盲目、开发周期长等缺点, 并且大部分微生物不能在实验室中进行标准化培养, 对基于微生物筛选培养技术开发利用酶资源的方法造成了巨大的限制。随着人工智能的快速发展与蛋白质数据库的不断完善为酶资源挖掘和开发提供了全新的思路, 通过构建和挖掘大规模酶序列与功能数据库, 直接从基因和蛋白序列数据中虚拟挖掘潜在的新型酶, 将酶资源探索范围从可培养微生物扩展至整个生物圈[34] [35]。目前已有多个数据库收录了酶的基因序列、蛋白质序列和结构信息, 为生物催化剂挖掘提供了丰富资源[36]-[40]。目前经改造获得的最接近工业使用的 PET 降解酶 LCC 突变体, 其野生型就是在 2014 年通过从数据库中筛选得到的一种新型角质酶[41]。近期 Xi 等在 *B. subtilis* 中高水平分泌表达了一

种来自细菌 HR29 的 PET 降解酶(BhrPETase), 该酶的熔融温度高达 101°C, 是迄今为止表征的最耐热的细菌 PETase [42]。其中 BhrPETase 序列即是 Shingo 组在针对未培养嗜热菌的宏基因组数据库中研究中获得的, 该酶是与 LCC 具有 94%序列同一性的密切同源物[43]。

## 5. PETase 的蛋白质工程研究进展

天然的 PET 水解酶在催化活性、底物特异性及环境耐受性等方面有待提升, 尚不能直接满足工业生产中的严苛要求[44]。因此, 蛋白质工程通过分子水平的定向改造, 突破天然蛋白性能的种种限制, 从而合理、可控地开发目标蛋白质。*Is*PETase 在温和条件下具有较高的活性, 但酶活性和热稳定性仍限制了其在塑料回收处理中的应用。因此许多研究人员采用理性设计、半理性设计、定向进化等蛋白质工程尝试对 *Is*PETase 定向改造, 以提升其活性和热稳定性。例如 2020 年 Hyeoncheol 等人基于生物信息学的蛋白质工程对 *Is*PETase 进行酶底物结合位点优化, 通过将 R280A 引入 S121E/D186H 突变, 形成新的氢键稳定  $\beta 6\sim\beta 7$  环, 构建出具有更高的热稳定性和活性的突变体 Thermo-PETase [45]。近期, Lee 等人通过一种集中蛋白表达、热稳定性和催化活性为一体的蛋白质工程对 *Is*PETase 进行定向改造, 获得突变体 Z1-PETase, 其解链温度( $T_m$ 值)达 74°C, 并能够高效降解 90%消费后有颜色的 PET 粉末[46]。使用 CNN(3D 自监督卷积神经网络)学习氨基酸的局部化学微环境生成的 FAST-PETase 能够在 50°C 下几乎完全降解未经处理的消费后 PET 塑料[47], 此外, Cui 等人构建的 DuraPETase 以多位点协同突变方式实现热稳定性及催化效率的同步提高[48], 为塑料的生物转化提供了一个极具前景的途径。

## 6. BHETase

PET 的酶促降解并不能一步直接解聚成最终产物 TPA 和 EG, 而是先经过 PETase 初步降解成低聚物 BHET 和 MHET, 再分别由 BHETase 和 MHETase 将中间产物解聚成 TPA 和 EG [49]。其中 BHET 作为 PET 解聚生成的重要寡聚物, 在 PET 解聚的过程中, BHET 大量生成, 与 PETase 竞争性结合到 PETase 中, 阻碍 PET 水解酶的高效作用。BHETase 能够专一性地识别和降解 BHET, 生成 MHET 和 EG, 从而与能够与 PET 水解酶[21] [24] (如 *Is*PETase、LCC 等)构成双酶体系, 加快 PET 的解聚[24] [50] [51]。BHETase 在 PET 解聚中通过解聚 BHET, 使反应持续高效地进行。近期 Li 等人通过在垃圾填埋场采集 50 份 PET 碎片及土壤样品, 并以对苯二甲酸二乙酯(Diethyl Terephthalate, DET)作为碳源进行富集, 最终筛选到两种能够高效降解 BHET 的新型酶——*Bs*Est 和 *Chry*BHETase [50]。目前多种 PET 水解酶虽已得到广泛研究和改造, 但针对 BHETase 的催化效率、底物特异性、与 PET 水解酶的协同等相关研究仍存在瓶颈。深入探究 BHETase 的酶学性质、催化机理对设计和构建高效完整的 PET 生物循环系统具有重要意义与应用价值。

## 7. MHETase

在 PET 的酶促降解中, PET 经过 PETase 的酶促降解后, 其主要的产物是对苯二甲酸单羟乙酯(MHET), MHET 也被视作 PET 水解过程中的关键中间产物, 其大量积累会竞争性结合到 PETase 中, 抑制上游 PETase 的进一步发挥作用, 从而成为限制整个生物催化过程效率与完全性的关键瓶颈[21]。MHET 水解酶作为水解 MHET 为 TPA (对苯二甲酸)和 EG (乙二醇)的专一水解酶, 在 PET 的酶促降解中扮演者重要角色。PET 水解酶负责将 PET 初步降解, 进而使 MHET 水解酶水解 MHET, 两者共同作用, 共同构成 PET 完全降解成小分子产物的基础[24]。MHETase 通常与 PET 水解酶(如 *Is*PETase)来源于同一微生物系统, 例如在著名的 PET 降解菌 *Ideonella sakaiensis* 201-F6 中, *Is*MHETase 与 *Is*PETase 共同发挥作用, 组成双酶降解体系, 由 *Is*PETase 将 PET 解聚成小分子 MHET, 进入到细胞内由 *Is*MHETase 将 MHET 解聚成 TPA 和 EG。*Is*MHETase 是一个典型的  $\alpha\beta$  水解酶, 活性中心内有一个深且疏水的底物结合口袋, 是

其能高效降解 MHET 的基础[52]。研究显示, *IsMHETase* 对 MHET 的水解活性远高于其对二聚体 BHET 或原始聚合物 PET 的活性, 体现了高度的底物专一性[53]。到目前为止, 已经有多种能够降解 MHET 的酶被挖掘报道出来, 在这些酶中, *IsMHETase* 因其高效的酶活性和专一性而备受关注。该酶位于 *Ideonella sakaiensis* 细胞质外膜, 其分子量约 65 kDa, 能在细胞周质空间将 PET 水解产物 MHET 进一步分解为 TPA 和 EG。Palm 等人解析了 *IsMHETase* 的晶体结构(PDB ID: 6JTT), 如图 3 所示[52], *IsMHETase* 类似于阿魏酸酯酶, 由水解结构域和“盖子”结构域组成, 并且残基 F495、G132、A494、F415、L254 和 W397 与底物疏水相互作用[52]。现有研究表明, MHETase 不仅是天然 PET 降解系统高效运转的关键, 也是人工设计高效水解酶系的重要元件[53] [54]。体外实验证实, 将 *IsPETase* 与 *IsMHETase* 融合表达或联用可显著提升 PET 完全降解为终产物 TPA 的效率并减少中间产物积累[24] [55]。通过蛋白质工程改造 MHETase, 包括优化其与 PETase 的协同界面、提升催化效率或热稳定性, 已经成为提高 PET 水解酶性能的热点方向[47]。因此深入解析 MHETase 的结构与功能关系、催化动力学及其与各类 PET 水解酶的适配性, 对构建高效 PET 生物回收工艺具有重要的应用价值。

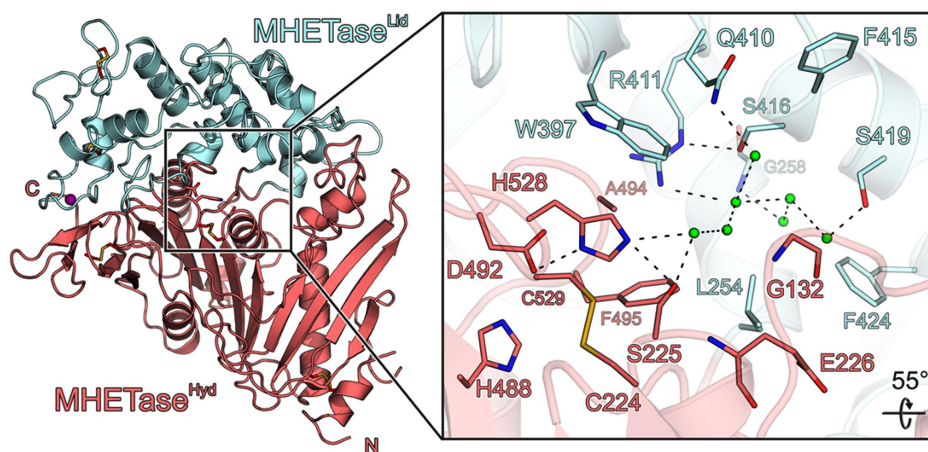


Figure 3. *IsMHETase* structure  
图 3. *IsMHETase* 结构

## 8. 展望

结合当前 PET 降解酶的研究现状及存在的瓶颈, 未来 PET 降解酶及相关生物降解技术的研究应聚焦以下核心方向, 推动其从实验室研究向工业化应用转型。在酶资源挖掘方面, 应突破现有同源筛选的局限, 依托机器学习与宏基因组学、元转录组学技术的深度融合, 构建更精准的酶类预测模型, 拓展挖掘范围至深海、极端热环境等未充分探索的生境, 重点挖掘新型酶支架, 丰富 PET 降解酶资源多样性, 破解酶资源结构单一的难题。在酶分子改造方面, 应强化蛋白质工程与合成生物学的协同应用, 结合理性设计、定向进化及高通量筛选技术, 针对性优化 PET 水解酶的催化活性、热稳定性及底物特异性, 同时改善酶的异源表达效率, 降低酶制剂的生产成本, 解决当前酶产量低、表达条件苛刻的问题。在降解体系构建方面, 需深入探究 PET 水解酶与 BHETase、MHETase 等中间产物水解酶的协同作用机制, 优化酶类配比, 构建高效协同降解体系, 缓解中间产物的竞争性抑制, 实现 PET 塑料的完全降解。此外, 还应加强酶制剂规模化生产工艺的研发与优化, 完善 PET 生物降解技术的产业化应用路径, 推动其与现有塑料回收体系的融合, 同时建立标准化的酶活性检测与评价体系, 为 PET 生物降解技术的推广应用提供保障。未来, 随着多学科技术的交叉融合, PET 降解酶的研究将朝着更高效、更经济、更具工业适配性的方向发展, 为全球性“白色污染”治理及资源循环利用提供重要的技术支撑与理论参考。

## 参考文献

- [1] Geyer, R., Jambeck, J.R. and Law, K.L. (2017) Production, Use, and Fate of All Plastics Ever Made. *Science Advances*, **3**, e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- [2] Shilpa, Basak, N. and Meena, S.S. (2022) Microbial Biodegradation of Plastics: Challenges, Opportunities, and a Critical Perspective. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, **16**, Article No. 161. <https://doi.org/10.1007/s11783-022-1596-6>
- [3] Lebreton, L. and Andrady, A. (2019) Future Scenarios of Global Plastic Waste Generation and Disposal. *Palgrave Communications*, **5**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
- [4] Pereyra-Camacho, M.A. and Pardo, I. (2024) Plastics and the Sustainable Development Goals: From Waste to Wealth with Microbial Recycling and Upcycling. *Microbial Biotechnology*, **17**, e14459. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14459>
- [5] Wright, S.L. and Kelly, F.J. (2017) Plastic and Human Health: A Micro Issue? *Environmental Science & Technology*, **51**, 6634-6647. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00423>
- [6] Thompson, R.C., Moore, C.J., vom Saal, F.S., *et al.* (2009) Plastics, the Environment and Human Health: Current Consensus and Future Trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **364**, 2153-2166. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053>
- [7] Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borerro, J.C., *et al.* (2014) Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLOS ONE*, **9**, e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- [8] Dhaka, V., Singh, S., Anil, A.G., Sunil Kumar Naik, T.S., Garg, S., Samuel, J., *et al.* (2022) Occurrence, Toxicity and Remediation of Polyethylene Terephthalate Plastics. a Review. *Environmental Chemistry Letters*, **20**, 1777-1800. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01384-8>
- [9] Carr, C.M., Clarke, D.J. and Dobson, A.D.W. (2020) Microbial Polyethylene Terephthalate Hydrolases: Current and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, **11**, Article ID: 571265. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.571265>
- [10] Nguyen, H.T.H., Qi, P., Rostagno, M., Feteha, A. and Miller, S.A. (2018) The Quest for High Glass Transition Temperature Bioplastics. *Journal of Materials Chemistry A*, **6**, 9298-9331. <https://doi.org/10.1039/c8ta00377g>
- [11] Rwei, S., Lin, W. and Wang, J. (2012) Synthesis and Characterization of Biodegradable and Weather-Durable PET/PEG/NDC Copolymers. *Colloid and Polymer Science*, **290**, 1381-1392. <https://doi.org/10.1007/s00396-012-2662-6>
- [12] Guo, Z., Wu, J. and Wang, J. (2025) Chemical Degradation and Recycling of Polyethylene Terephthalate (PET): A Review. *RSC Sustainability*, **3**, 2111-2133. <https://doi.org/10.1039/d4su00658e>
- [13] Soong, Y.V., Sobkowicz, M.J. and Xie, D. (2022) Recent Advances in Biological Recycling of Polyethylene Terephthalate (PET) Plastic Wastes. *Bioengineering*, **9**, Article 98. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9030098>
- [14] Garcia, J.M. and Robertson, M.L. (2017) The Future of Plastics Recycling. *Science*, **358**, 870-872. <https://doi.org/10.1126/science.aag0324>
- [15] Ragaert, K., Delva, L. and Van Geem, K. (2017) Mechanical and Chemical Recycling of Solid Plastic Waste. *Waste Management*, **69**, 24-58. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.044>
- [16] Siddiqui, M.N., Redhwi, H.H., Al-Arfaj, A.A. and Achilias, D.S. (2021) Chemical Recycling of PET in the Presence of the Bio-Based Polymers, PLA, PHB and PEF: A Review. *Sustainability*, **13**, Article 10528. <https://doi.org/10.3390/su131910528>
- [17] Cheng, L., Chen, X., Gu, J., Kobayashi, N., Yuan, H. and Chen, Y. (2025) Chemical Recycling of Waste Plastics: Current Challenges and Perspectives. *Fundamental Research*, **5**, 919-922. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.12.023>
- [18] Wojnowska-Baryła, I., Bernat, K. and Zaborowska, M. (2022) Plastic Waste Degradation in Landfill Conditions: The Problem with Microplastics, and Their Direct and Indirect Environmental Effects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **19**, Article 13223. <https://doi.org/10.3390/ijerph192013223>
- [19] 骆苑蓉, 钱义谦, 齐雅楠. 聚乙烯微塑料的微生物降解研究进展[J]. *环境科学*, 2022, 43(11): 4869-4875.
- [20] Austin, H.P., Allen, M.D., Donohoe, B.S., Rorrer, N.A., Kearns, F.L., Silveira, R.L., *et al.* (2018) Characterization and Engineering of a Plastic-Degrading Aromatic Polyesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **115**, E4350-E4357. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718804115>
- [21] Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., *et al.* (2016) A Bacterium That Degrades and Assimilates Poly(Ethylene Terephthalate). *Science*, **351**, 1196-1199. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>
- [22] Danso, D., Chow, J. and Streit, W.R. (2019) Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, **85**, e01095-19. <https://doi.org/10.1128/aem.01095-19>

- [23] Liu, T., Xin, Y., Liu, X., *et al.* (2021) Advances in Microbial Degradation of Plastics. *Journal of Bioengineering*, **37**, 2688-2702.
- [24] Tournier, V., Topham, C.M., Gilles, A., David, B., Folgoas, C., Moya-Leclair, E., *et al.* (2020) An Engineered PET Depolymerase to Break down and Recycle Plastic Bottles. *Nature*, **580**, 216-219. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2149-4>
- [25] Sonnendecker, C., Oeser, J., Richter, P.K., Hille, P., Zhao, Z., Fischer, C., *et al.* (2022) Low Carbon Footprint Recycling of Post-Consumer PET Plastic with a Metagenomic Polyester Hydrolase. *ChemSusChem*, **15**, e202101062. <https://doi.org/10.1002/cssc.202101062>
- [26] Carniel, A., Gomes, A.d.C., Coelho, M.A.Z. and de Castro, A.M. (2021) Process Strategies to Improve Biocatalytic Depolymerization of Post-Consumer PET Packages in Bioreactors, and Investigation on Consumables Cost Reduction. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **44**, 507-516. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02461-y>
- [27] Li, Q., Zheng, Y., Su, T., Wang, Q., Liang, Q., Zhang, Z., *et al.* (2022) Computational Design of a Cutinase for Plastic Biodegradation by Mining Molecular Dynamics Simulations Trajectories. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **20**, 459-470. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.12.042>
- [28] Gao, R., Pan, H. and Lian, J. (2021) Recent Advances in the Discovery, Characterization, and Engineering of Poly(Ethylene Terephthalate) (PET) Hydrolases. *Enzyme and Microbial Technology*, **150**, Article 109868. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109868>
- [29] Zhang, J., Shan, R., Li, X., *et al.* (2023) Enzymatic Properties and Degradation Characterization of a Bis(2-Hydroxyethyl) Terephthalate Hydrolase from *Saccharothrix* Sp. *Chinese Journal of Biotechnology*, **39**, 2027-2039.
- [30] Mrigwani, A., Pitaliya, M., Kaur, H., Kasilingam, B., Thakur, B. and Guptasarma, P. (2023) Rational Mutagenesis of *thermobifida Fusca* Cutinase to Modulate the Enzymatic Degradation of Polyethylene Terephthalate. *Biotechnology and Bioengineering*, **120**, 674-686. <https://doi.org/10.1002/bit.28305>
- [31] Thomsen, T.B., Radmer, T.S. and Meyer, A.S. (2024) Enzymatic Degradation of Poly(Ethylene Terephthalate) (PET): Identifying the Cause of the Hypersensitive Enzyme Kinetic Response to Increased PET Crystallinity. *Enzyme and Microbial Technology*, **173**, Article 110353. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110353>
- [32] Kawai, F., Oda, M., Tamashiro, T., Waku, T., Tanaka, N., Yamamoto, M., *et al.* (2014) A Novel Ca<sup>2+</sup>-Activated, Thermostabilized Polyesterase Capable of Hydrolyzing Polyethylene Terephthalate from *Saccharomonospora Viridis* Ahk190. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **98**, 10053-10064. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5860-y>
- [33] Qiao, Y., Hu, R., Chen, D., Wang, L., Wang, Z., Yu, H., *et al.* (2022) Fluorescence-Activated Droplet Sorting of PET Degrading Microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*, **424**, 127417. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127417>
- [34] Handelsman, J. (2004) Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **68**, 669-685. <https://doi.org/10.1128/mnbr.68.4.669-685.2004>
- [35] Zallot, R., Oberg, N. and Gerlt, J.A. (2019) The EFI Web Resource for Genomic Enzymology Tools: Leveraging Protein, Genome, and Metagenome Databases to Discover Novel Enzymes and Metabolic Pathways. *Biochemistry*, **58**, 4169-4182. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.9b00735>
- [36] Bateman, A., Martin, M.-J., Orchard, S. and Magrane, M. (2023) UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research*, **51**, D523-D531.
- [37] Baskaran, K. (2019) Protein Data Bank: The Single Global Archive for 3D Macromolecular Structure Data. *Nucleic Acids Research*, **47**, D520-D528.
- [38] Cooper, P.S., Lipshultz, D., Matten, W.T., McGinnis, S.D., Pechous, S., Romiti, M.L., *et al.* (2010) Education Resources of the National Center for Biotechnology Information. *Briefings in Bioinformatics*, **11**, 563-569. <https://doi.org/10.1093/bib/bbq022>
- [39] Hauenstein, J., Jeske, L., Jäde, A., Krull, M., Dümmer, K., Koblitz, J., *et al.* (2026) BRENDA in 2026: A Global Core Biodata Resource for Functional Enzyme and Metabolic Data within the DSMZ Digital Diversity. *Nucleic Acids Research*, **54**, D527-D534. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf1113>
- [40] Mistry, J., Chuguransky, S., Williams, L., Qureshi, M., Salazar, G.A., Sonnhammer, E.L.L., *et al.* (2020) Pfam: The Protein Families Database in 2021. *Nucleic Acids Research*, **49**, D412-D419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913>
- [41] Sulaiman, S., You, D., Kanaya, E., Koga, Y. and Kanaya, S. (2014) Crystal Structure and Thermodynamic and Kinetic Stability of Metagenome-Derived LC-Cutinase. *Biochemistry*, **53**, 1858-1869. <https://doi.org/10.1021/bi401561p>
- [42] Xi, X., Ni, K., Hao, H., Shang, Y., Zhao, B. and Qian, Z. (2021) Secretory Expression in *Bacillus subtilis* and Biochemical Characterization of a Highly Thermostable Polyethylene Terephthalate Hydrolase from Bacterium Hr29. *Enzyme and Microbial Technology*, **143**, Article 109715. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109715>
- [43] Kato, S., Sakai, S., Hirai, M., Tasumi, E., Nishizawa, M., Suzuki, K., *et al.* (2018) Long-Term Cultivation and

- Metagenomics Reveal Ecophysiology of Previously Uncultivated Thermophiles Involved in Biogeochemical Nitrogen Cycle. *Microbes and Environments*, **33**, 107-110. <https://doi.org/10.1264/jisme2.me17165>
- [44] Bornscheuer, U.T., Huisman, G.W., Kazlauskas, R.J., Lutz, S., Moore, J.C. and Robins, K. (2012) Engineering the Third Wave of Biocatalysis. *Nature*, **485**, 185-194. <https://doi.org/10.1038/nature11117>
- [45] Son, H.F., Joo, S., Seo, H., Sagong, H., Lee, S.H., Hong, H., *et al.* (2020) Structural Bioinformatics-Based Protein Engineering of Thermo-Stable Petase from Ideonella Sakaiensis. *Enzyme and Microbial Technology*, **141**, Article 109656. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109656>
- [46] Lee, S.H., Seo, H., Hong, H., Park, J., Ki, D., Kim, M., *et al.* (2023) Three-Directional Engineering of IsPETase with Enhanced Protein Yield, Activity, and Durability. *Journal of Hazardous Materials*, **459**, Article 132297. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132297>
- [47] Lu, H., Diaz, D.J., Czarnecki, N.J., Zhu, C., Kim, W., Shroff, R., *et al.* (2022) Machine Learning-Aided Engineering of Hydrolases for PET Depolymerization. *Nature*, **604**, 662-667. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04599-z>
- [48] Cui, Y., Chen, Y., Liu, X., Dong, S., Tian, Y., Qiao, Y., *et al.* (2021) Computational Redesign of a PETase for Plastic Biodegradation under Ambient Condition by the GRAPE Strategy. *ACS Catalysis*, **11**, 1340-1350. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c05126>
- [49] Kawai, F. (2021) The Current State of Research on PET Hydrolyzing Enzymes Available for Biorecycling. *Catalysts*, **11**, Article 206. <https://doi.org/10.3390/catal11020206>
- [50] Li, A., Sheng, Y., Cui, H., Wang, M., Wu, L., Song, Y., *et al.* (2023) Discovery and Mechanism-Guided Engineering of BHET Hydrolases for Improved PET Recycling and Upcycling. *Nature Communications*, **14**, Article No. 4169. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39929-w>
- [51] Miao, R., Xu, G., Ding, Y., Ding, Z., Woodard, J., Tu, T., *et al.* (2024) Engineering Dual-Functional and Thermophilic BMHETase for Efficient Degradation of Polyethylene Terephthalate. *Bioresource Technology*, **414**, Article 131556. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131556>
- [52] Palm, G.J., Reisky, L., Böttcher, D., Müller, H., Michels, E.A.P., Walczak, M.C., *et al.* (2019) Structure of the Plastic-Degrading *Ideonella sakaiensis* Mhetase Bound to a Substrate. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1717. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09326-3>
- [53] Knott, B.C., Erickson, E., Allen, M.D., Gado, J.E., Graham, R., Kearns, F.L., *et al.* (2020) Characterization and Engineering of a Two-Enzyme System for Plastics Depolymerization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **117**, 25476-25485. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006753117>
- [54] von Haugwitz, G., Han, X., Pfaff, L., Li, Q., Wei, H., Gao, J., *et al.* (2022) Structural Insights into (Tere)Phthalate-Ester Hydrolysis by a Carboxylesterase and Its Role in Promoting PET Depolymerization. *ACS Catalysis*, **12**, 15259-15270. <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c03772>
- [55] Erickson, E., Gado, J.E., Avilán, L., Bratti, F., Brizendine, R.K., Cox, P.A., *et al.* (2022) Sourcing Thermotolerant Poly(Ethylene Terephthalate) Hydrolase Scaffolds from Natural Diversity. *Nature Communications*, **13**, Article No. 7850. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35237-x>