

Estado actual de las cutinasas en la problemática de la degradación de plásticos de un solo uso

Current state of cutinases in addressing the issue of single-use plastic degradation

Marcel de Jesús Arrieta-Fonseca¹

Arrieta-Fonseca, M.J. Estado actual de las cutinasas en la problemática de la degradación de plásticos de un solo uso. *Tecnología en Marcha*. Vol. 37, N° especial. 30 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología. Noviembre, 2024. Pág. 100-108.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v37i9.7615>

¹ Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
 m.arrieta@estudiantec.cr
 <https://orcid.org/0009-0003-1056-8994>

Palabras clave

Biodegradación; enzimas; hidrolasas; polietileno.

Resumen

El consumo generalizado de plásticos de un solo uso ha ocasionado una crisis ambiental debido a su sobreacumulación en los ecosistemas. Este artículo explora el estado actual de las cutinasas, uno de los principales tipos de enzimas con potencial para degradar plásticos de un solo uso. Las cutinasas (EC 3.1.1.74) son serina hidrolasas del grupo de las hidrolasas α/β capaces de catalizar reacciones que degradan polímeros, principalmente tereftalato de polietileno (PET) y polibutilenadipato-co-tereftalato (PBAT), y son producidas por bacterias, hongos filamentosos y levaduras. Cada enzima posee características diferentes según su microorganismo de origen, siendo las de hongos y levaduras más similares entre sí que las bacterianas. Las herramientas biotecnológicas, como la biología sintética, han demostrado ser estrategias innovadoras capaces de mejorar la eficiencia y estabilidad de las cutinasas en la degradación de plásticos, capaces de ofrecer una posible solución sostenible para la crisis ambiental causada por estos materiales.

Keywords

Biodegradation; enzymes; hydrolases; polyethylene.

Abstract

The widespread consumption of single-use plastics has caused an environmental crisis due to their overaccumulation in ecosystems. This article explores the current status of cutinases, one of the main types of enzymes with the potential to degrade single-use plastics. Cutinases (EC 3.1.1.74) are serine hydrolases of the group of α/β hydrolases capable of catalyzing reactions that degrade polymers, mainly polyethylene terephthalate (PET) and polybutylene adipate-co-terephthalate (PBAT), and are produced by bacteria, filamentous fungi and yeasts. Each enzyme has different characteristics depending on its microorganism of origin, with those of fungi and yeast being more similar to each other than those of bacteria. Biotechnological tools, such as synthetic biology, have proven to be innovative strategies capable of improving the efficiency and stability of cutinases in the degradation of plastics, capable of offering a possible sustainable solution to the environmental crisis caused by these materials.

Introducción

El plástico es un material polimérico sintético derivado del petróleo crudo, gas natural o carbón [1]. El empleo generalizado de plásticos de un solo uso surgió en el transcurso del siglo XX, con un incremento significativo a partir de la década de 1950, crecimiento que se le atribuye en gran medida al ser un material con amplia disponibilidad, versatilidad, durabilidad y resistencia al deterioro [2]. En el año 2014, solo en los Estados Unidos, fueron utilizadas más de 100 millones de bolsas de plástico que, con su potencial de reciclaje extremadamente bajo, pasan a ser en su mayoría fuente significativa de contaminación en ecosistemas terrestres y marinos [3]. Para el 2024, se estima que se han producido más de 9200 millones de toneladas métricas de plástico a nivel global [4]. Esto es equivalente a aproximadamente 1500 veces el volumen de la gran pirámide de Giza, o a cubrir la superficie entera del planeta con poco más de 60 cm de plástico. Las prácticas de gestión de residuos no son suficiente para lidiar con el impacto medioambiental que este material genera; datos del 2023 indican que del total de plástico

producido solamente se ha reciclado alrededor de un 9%, un 12% ha sido incinerado, y el 79% restante ha sido depositado en vertederos o liberado indiscriminadamente al medio ambiente [5].

En el escenario actual, el uso masivo de plásticos de un solo uso se ha convertido en una amenaza ambiental al representar un 95.3% de la contaminación en tierra [6]. A pesar de los esfuerzos para gestionar los residuos, las alternativas actuales de degradación suelen tener como producto final plásticos secundarios y microplásticos, los cuales corresponden a partículas con menor trazabilidad que de igual forma representan una amenaza para la vida marina y terrestre [7].

Bajo este contexto, es necesario investigar cómo mejorar las estrategias de degradación de plásticos de un solo uso con el fin de que no generen subproductos contaminantes adicionales ni aumenten la huella de carbono, al mismo tiempo que presenten efectividad en costos y tiempos [8]. En este ámbito, la degradación ejecutada por microorganismos mediante enzimas ha surgido como una solución prometedora ante la crisis medioambiental que afecta el mundo [9]. Estas moléculas biológicas, gracias a su capacidad catalítica específica, pueden llegar a ser una alternativa real para solucionar la crisis global de los plásticos y alcanzar una economía plástica circular [10].

Diversos microorganismos producen enzimas con capacidad de degradación de plásticos, tales como las PETasas (degradan tereftalato de polietileno) [11]; las MEHTasas (descomponen mono-(2-hidroxietil) tereftalato, un producto de la degradación del PET) [12]; las enzimas degradadoras de poliuretano [13]; la cutinasas (degradan polímeros vegetales pero también pueden degradar PET) [14]; y las lacasas (degradan compuestos fenólicos como la lignina y pueden degradar plásticos con estructuras fenólicas) [15]. El presente artículo científico tiene como objetivo principal compilar la información más reciente respecto al potencial enzimático de diversos tipos de cutinasas para la degradación de plásticos de un solo uso.

Metodología

Se seleccionaron Scopus y PubMed como bases de datos académicas. Fue incluido todo artículo de investigación, publicado en un rango temporal no mayor a 5 años y revisado por pares, que abordase el tema específico de la cutinasa en la biodegradación de plásticos de un solo uso. Fueron utilizadas como palabras clave: “plásticos o microplásticos”, “polietileno”, “biodegradación”, “enzima” y “cutinasa”. Se excluyeron todos los artículos que no cumplieron con los criterios. Fueron encontrados 41 artículos vía Scopus y 20 mediante PubMed, de los cuales 52 se descartaron, resultando en 9 artículos recuperados. Durante la revisión de estos artículos, se referenciaron además otros artículos relacionados relevantes.

Resultados y discusión

Enzimas degradadoras de plástico

Yoshida *et al.* documentaron en 2016 el primer mecanismo de hidrólisis *in vivo* de tereftalato de polietileno (PET), en un sistema de degradación desarrollado a partir de la bacteria *Ideonella sakaiensis* con las enzimas PETasa y MHETasa [10]. La primera enzima funcionó para hidrolizar parcialmente el PET hasta sus monómeros estructurales del ácido mono (2-hidroxietil) tereftálico (MHET), la segunda enzima degrada el MHET hasta ácido tereftálico (TPA) y etilenglicol (EG) [16]. Estos compuestos tienen la posibilidad de ser incorporados en el metabolismo de *I.*

sakaiensis y *Pseudomonas putida*; el TPA y el EG pueden ser transportados al interior de la célula y ser convertidos en PCA que se integra directamente al ciclo del ácido tricarboxílico [17, 18].

Algunas de las enzimas degradadoras de plástico que se destacan en los artículos más recientes son las enzimas hidrolizadoras de PET (EC 3.1.1.101), las enzimas lipasas de triacilglicerol (EC 3.1.1.3) destacadas por su potencial degradador de polímeros de polietileno, las carboxilesterasas (EC 3.1.1.1.) y las cutinasas (EC 3.1.1.74.) [10, 19, 20, 21].

Las cutinasas

Inicialmente identificada en el año 1960, pero caracterizada a inicios de la década siguiente, la cutinasa proveniente del hongo filamentoso *Fusarium solani pisi* se convirtió en el primer modelo sistemático para el estudio de la estructura, la función y la reactividad de dicha enzima capaz de efectuar una respuesta por parte del microorganismo con el propósito de hidrolizar el polímero cutina presente como barrera protectora en organismos vegetales [22].

Las cutinasas (EC 3.1.1.74) son serina hidrolasas que pertenecen al gran conjunto de las hidrolasas α/β ; estas enzimas presentan una triada catalítica clásica SHD compuesta por Serina, Histidina y Aspartato; en la cual la serina actúa como catalizador en contacto con el sustrato (Figura 1) [23, 24]. A diferencia de las lipasas tradicionales, las cutinasas no cuentan con una cubierta hidrológica sobre la serina del sitio activo, sino que presenta un sitio activo amplio que le permite interactuar con sustratos de alto peso molecular, como lo es el caso de la cutina, e incluso con polímeros sintéticos [22]. Entre otras de sus capacidades, en sistemas acuosos pueden hidrolizar ésteres de bajo peso molecular y triacilgliceroles de cadena corta o larga; en sistemas no acuosos pueden catalizar procesos de esterificación o transesterificación [25].

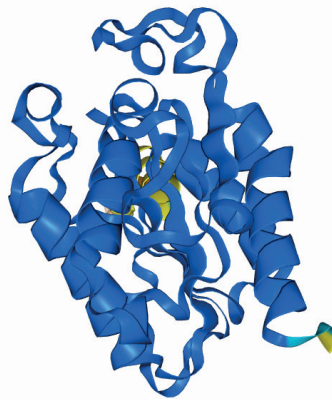


Figura 1. Estructura tridimensional de la enzima cutinasa de *F. solani pisi* (Elaborado en AlphaFold Server a partir del locus FSOCUT, accesión K02640, NCBI).

Según la información disponible en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), la enzima cutinasa de *F. solani pisi* se encuentra codificada a partir del locus FSOCUT (accesión K02640). Esta proteína se encuentra compuesta por 230 aminoácidos y 883 pares de bases; comienza con un péptido señal (de la base 79 a la 171) seguida del péptido maduro (de la base 172 a la 768); finalmente, la tríada catalítica de serina activa y un puente disulfuro (importante en el mantenimiento de la actividad catalítica) se encuentran presentes en los pares de bases 484 y 688, respectivamente [26, 27]. La cutinasa TfCut, proveniente de *Thermobifida fusca*, es estructuralmente similar con la cutinasa encontrada inicialmente en *F. Solani pisi*, pero posee mejor estabilidad [28].

Las cutinasas se podrían clasificar en dos grupos según sus temperaturas óptimas de actividad, a saber, las que trabajan a temperatura ambiente y las termofílicas. Por ejemplo, la TfCut2 de *T. fusca*, la HiC de *Humicola insolens*, y la LCC de compost de hojas (sintética), poseen termoestabilidad cercana a los 60 °C [28]. Por otro lado, se reportan variantes de la cutinasa que trabajan a temperatura ambiente, tales como la nueva cutinasa MtCut proveniente de *Marinactinospora thermotolerans*, un organismo que habita en el mar profundo y presenta una capacidad hidrolizante eficiente del PET a temperatura ambiente, de manera exotópica y que no posee afectación alguna ante la acumulación de producto [29].

El uso de las cutinasas abarca múltiples industrias: fabricación de detergentes, procesamiento de fibras textiles, tratamiento de cueros y fibras sintéticas; optimización de la producción de productos lácteos, deshidratación de frutas, extracción de ingredientes naturales a partir de la cutícula vegetal y recientemente sus aplicaciones han avanzado a la síntesis de productos químicos con centros quirales y la degradación de polímeros y moléculas tóxicas como los ésteres de ftalatos (ftalato de dimetilo, ftalato de bis(2-etilhexilo) y ftalato de bencilo butilo) [30].

Microorganismos productores de cutinasas con capacidad enzimática para la degradación de plásticos

Los principales microorganismos con capacidad degradadora de plástico son las bacterias, los hongos, y las levaduras, en ese orden de capacidad para la biodegradación (Figura 2) [1, 6, 7, 18, 28, 29].

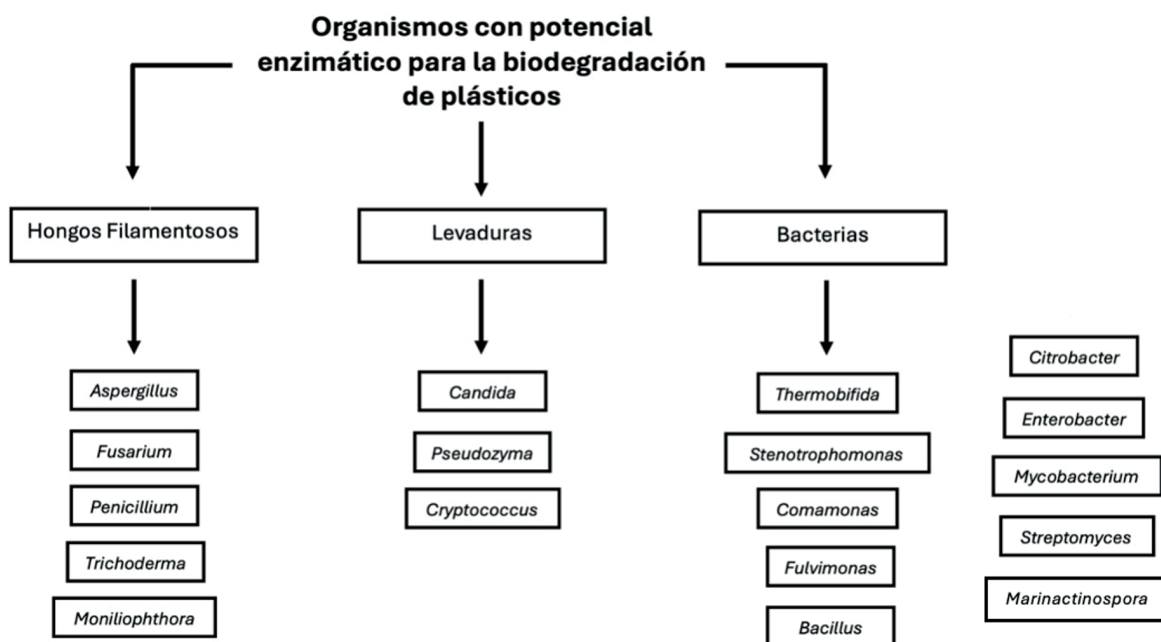


Figura 2. Algunos microorganismos que presentan potencial para la degradación de plásticos de un solo uso [1, 6, 7, 18, 28, 29].

Las cutinasas presentan diferencias estructurales según su origen. Las cutinasas de hongos y levaduras son más similares entre sí, con una menor proporción de hélices alfa respecto a las cutinasas bacteriana; estas diferencias estructurales reflejan adaptaciones específicas de cada enzima a su entorno natural (Figura 3) [24, 31, 32].

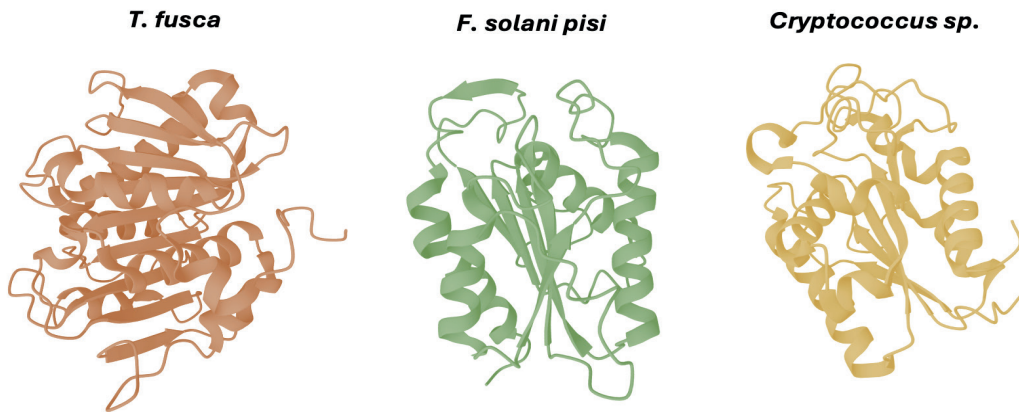


Figura 3. Comparación de la estructura tridimensional de algunas cutinasas según su microorganismo de origen. Adaptado de [19, 31, 32].

La plasticidad de estas enzimas para funcionar en diversas condiciones es esencial para obtener una degradación de plásticos eficiente; cada proteína posee cualidades específicas y diferentes entre sí que les permite actuar sobre distintos sustratos (Cuadro 1) [1].

Cuadro 1. Descripción de algunas cutinasas para la degradación de plásticos de un solo uso.

Enzima	Especie	Tipo de Enzima	Plástico que degrada	Temperatura Óptima	Producto final	Fuente
TfCut2	<i>Thermobifida fusca</i>	Cutinasa	PET	~60°C	TPA, MHET, BHET	[29]
MtCut	<i>Marinactinospora thermotolerans</i>	Cutinasa	PET	~35°C	TPA, MHET	[29]
TfCut	<i>Thermobifida fusca</i>	Cutinasa	PBAT	~65°C	TPA	[33]
AnCut2	<i>Aspergillus nidulans</i>	Cutinasa	N/A	N/A	N/A	[1, 34]
FsC	<i>Fusarium solani pisi</i>	Cutinasa	PET	N/A	TPA - MHET	[35]
TcCut	<i>Thermobifida cellulolytica</i>	Cutinasa	PBS, PHBV, PET	~60°C	TPA	[33, 36]
Cut	<i>Thielavia terrestris</i> NRRL 8126	Cutinasa	PVAC, PCL	N/A	N/A	[36]
Cut	<i>Thermobifida alba</i> AHK119	Cutinasa	PLA	N/A	N/A	[30]
Cut	<i>Amycolatopsis mediteranei</i>	Cutinasa	PBS, PCL	N/A	N/A	[30]

PET, tereftalato de polietileno; PBAT, polibutileno adipato-co-tereftalato; PBS, succinato de polibutileno; PHBV, poli(3-hidroxi-butilato-co-3-hidroxi-valerato); PVAC, acetato de polivinilo; PCL, policaprolactona; PLA, ácido poliláctico; MHET, mono (2-hidroxietil) tereftálico; TPA, ácido tereftálico; BHET, ácido bis(2-hidroxietil) tereftálico.

Herramientas biotecnológicas para el uso de las cutinasas

La aplicación biotecnológica de la enzima cutinasa como una herramienta novedosa en el área de la biología sintética merece una mayor investigación, y el uso de herramientas relacionadas a la ingeniería genética puede ofrecer opciones valiosas para el mejoramiento de estas enzimas con la finalidad de obtener cutinasas más robustas, con mayor eficiencia y estabilidad [29].

Un ejemplo en este ámbito es la enzima ThcCut1 de *Thermomyces cellulosilytica*; esta cutinasa fue fusionada con dos módulos de unión para mejorar la adsorción y consecuentemente el proceso de hidrólisis, los módulos provenían de la enzima celobiohidrolasa I de *Hypocrea jecorina* (CBM) y de una polihidroxicanoato depolimerasa de *Alcaligenes faecalis* (PBM); las proteínas fueron expresadas en *Escherichia coli* [18].

Una de las dificultades es la localización que posee la enzima dentro de las células, lo que se advierte como un factor limitante para el contacto directo con el sustrato; afortunadamente, la solución radica en el desarrollo de sistemas donde la proteína se excrete fuera de las células [18].

También se han explorado estrategias de fusión de proteínas, como por ejemplo la fusión con el Dermaseptin SI (DSI) al extremo amino de TfCut2, lo cual resultó en una mejor actividad en la degradación del PET, de manera que se alcanza una tasa de descomposición con mayor efectividad al compararla con la presentada por la TfCut2 basal [37].

La TfCut basal también se ha utilizado para generar cepas mejoradas derivadas de *T. fusca* como la TFH, TfU_0882 y TfCut2, las cuales presentan una eficiencia superior en la degradación de PET en comparación a su enzima silvestre [38].

Conclusiones

El estudio de las cutinasas es crucial para avanzar en las tecnologías de degradación del plástico debido a su notable capacidad para descomponer los polímeros sintéticos, en particular el tereftalato de polietileno (PET), que prevalece en los desechos globales. Estas enzimas, originalmente desarrolladas para degradar la cutina natural en los tejidos vegetales, han demostrado una eficacia prometedora para romper los enlaces éster del PET y otros plásticos, lo que lleva a su descomposición en moléculas más pequeñas y manejables. Comprender y optimizar las cutinasas para la degradación del plástico no solo proporciona una posible solución biotecnológica para mitigar la contaminación ambiental, sino que también se alinea con prácticas sostenibles al promover el desarrollo de procesos de reciclaje ecológicos. En consecuencia, la exploración de las cutinasas representa un paso vital para abordar el apremiante problema de los residuos plásticos y mejorar la eficiencia del reciclaje de una manera más responsable con el medio ambiente.

Referencias

- [1] T. Anunobi, "Hazardous effects of plastic wastes on land biodiversity: A review", *The Zoologist*, vol. 20, no. 1, pp. 80–86, Nov. 2022, doi: 10.4314/tzool.v20i1.10.
- [2] Y. Chen, A. K. Awasthi, F. Wei, Q. Tan, y J. Li, "Single-use plastics: Production, usage, disposal, and adverse impacts", *Science of The Total Environment*, vol. 752, p. 141772, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141772.
- [3] T. P. Wagner, "Reducing single-use plastic shopping bags in the USA", *Waste Management*, vol. 70, pp. 3–12, 2017, doi: 10.1016/j.wasman.2017.09.003.
- [4] N. Singh y T. R. Walker, "Plastic recycling: A panacea or environmental pollution problem", *npj Materials Sustainability*, vol. 2, no. 1, p. 17, 2024, doi: 10.1038/s44296-024-00024-w.

- [5] R. Prieto, "Contaminación ambiental por plásticos durante la pandemia y sus efectos en la salud humana", *Revista Colombiana de Cirugía*, vol. 38, no. 1, pp. 22–29, Jan. 2023, doi: 10.30944/20117582.2203.
- [6] M. J. Valarezo Ulloa y L. Ruiz Virgen, "El reciclaje de plásticos, un reto para lograr una economía circular", *CEDAMAZ*, vol. 12, no. 2, 2022, doi: 10.54753/cedamaz.v12i2.1265.
- [7] A. P. Singh y A. S. Devi, "Microplastics and single use plastics: A curse of over consumerism", *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*, vol. 4, no. 4, pp. 384–388, 2019, ISSN: 2455-6378.
- [8] J. Sandoval y D. Bermúdez, "Degradación del polietilentereftalato por medio de microorganismos", *Informador Técnico*, vol. 85, no. 2, pp. 219–229, 2021, doi: 10.23850/22565035.3592.
- [9] N. Mohanan, Z. Montazer, P. K. Sharma, y D. B. Levin, "Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics", *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, 2020, doi: 10.3389/fmicb.2020.580709.
- [10] V. Tournier *et al.*, "Enzymes' Power for Plastics Degradation", *Chemical Reviews*, vol. 123, no. 9, pp. 5612–5701, 2023, doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00644.
- [11] S. Yoshida *et al.*, "A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)", *Science*, vol. 351, no. 6278, pp. 1196–1199, Mar. 2016, doi: 10.1126/science.aad6359.
- [12] S. Yoshida, K. Hiraga, I. Taniguchi, y K. Oda, "Chapter Nine - *Ideonella sakaiensis*, PETase, and MHETase: From identification of microbial PET degradation to enzyme characterization", *Methods in Enzymology*, vol. 648, pp. 187–205, 2021, doi: 10.1016/bs.mie.2020.12.007.
- [13] G. T. Howard, "Biodegradation of polyurethane: a review", *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 49, no. 4, pp. 245–252, 2002, doi: 10.1016/S0964-8305(02)00051-3.
- [14] T. F. Pio y G. A. Macedo, "Cutinases: properties and industrial applications", *Advances in Applied Microbiology*, vol. 66, pp. 77–95, 2009, doi: 10.1016/S0065-2164(08)00804-6.
- [15] K. Ramamurthy *et al.*, "Is Laccase derived from *Pleurotus ostreatus* effective in microplastic degradation? A critical review of current progress, challenges, and future prospects", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 276, p. 133971, 2024, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133971.
- [16] P. Pérez-García, D. Danso, H. Zhang, J. Chow, y W. R. Streit, "Exploring the global metagenome for plastic-degrading enzymes", *Methods in Enzymology*, vol. 648, pp. 137–157, 2021, doi: 10.1016/bs.mie.2020.12.022.
- [17] S. Hachisuka, J. F. Chong, T. Fujiwara, A. Takayama, Y. Kawakami, y S. Yoshida, "Ethylene glycol metabolism in the poly(ethylene terephthalate)-degrading bacterium *Ideonella sakaiensis*", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 106, no. 23, pp. 7867–7878, 2022, doi: 10.1007/s00253-022-12244-y.
- [18] Y. Yang *et al.*, "Complete bio-degradation of poly(butylene adipate-co-terephthalate) via engineered cutinases", *Nature Communications*, vol. 14, no. 1, pp. 1645–023-37374–3, Mar. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-37374-3.
- [19] F. Hasan, A. A. Shah, y A. Hameed, "Industrial applications of microbial lipases", *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 39, no. 2, pp. 235–251, 2006, doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.10.016.
- [20] A. Gricajeva, A. K. Nadda, y R. Gudiukaite, "Insights into polyester plastic biodegradation by carboxyl ester hydrolases", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 97, no. 2, pp. 359–380, 2022, doi: 10.1002/jctb.6745.
- [21] P. J. Baker, C. Poultney, Z. Liu, R. Gross, y J. K. Montclare, "Identification and comparison of cutinases for synthetic polyester degradation", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 93, no. 1, pp. 229–240, 2012, doi: 10.1007/s00253-011-3402-4.
- [22] S. Chen, L. Su, J. Chen, y J. Wu, "Cutinase: Characteristics, preparation, and application", *Biotechnology Advances*, vol. 31, no. 8, pp. 1754–1767, 2013, doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.09.005.
- [23] X. Liang y H. Zou, "Biotechnological Application of Cutinase: A Powerful Tool in Synthetic Biology", *SynBio*, vol. 1, no. 1, p. 64, 2023, doi: 10.3390/synbio1010004.
- [24] C. Martinez, P. De Geus, M. Lauwereys, G. Matthyssens and C. Cambillau, "'*Fusarium solani* cutinase is a lipolytic enzyme with a catalytic serine accessible to solvent", *Nature*, vol. 356, no. 6370, pp. 615–618, 1992, doi: 10.1038/356615a0.
- [25] S.-J. Won, J. H. Yim, y H. K. Kim, "Synthesis of Short-Chain Alkyl Butyrate through Esterification Reaction Using Immobilized *Rhodococcus* Cutinase and Analysis of Substrate Specificity through Molecular Docking", *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 33, no. 2, pp. 268–276, Feb. 2023, doi: 10.4014/jmb.2211.11022.
- [26] National Center for Biotechnology Information, "*F. solani pisi* (fungus) cutinase mRNA, complete cds, Accession No. K02640", *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, 1993, Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/K02640>.

- [27] National Center for Biotechnology Information, "Cutinase [*Fusarium solani*], Accession No. AAA33334", *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, 1993, Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAA33334>.
- [28] B. Sui *et al.*, "Recent advances in the biodegradation of polyethylene terephthalate with cutinase-like enzymes", *Frontiers in Microbiology*, vol. 14, p. 1265139, Oct. 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1265139.
- [29] Y. Liu *et al.*, "Catalytic Features and Thermal Adaptation Mechanisms of a Deep Sea Bacterial Cutinase-Type Poly(Ethylene Terephthalate) Hydrolase", *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 10, 2022, doi: 10.3389/fbioe.2022.865787.
- [30] X. Liang y H. Zou, "Biotechnological Application of Cutinase: A Powerful Tool in Synthetic Biology", *SynBio*, vol. 1, no. 1, p. 64, 2023, doi: 10.3390/synbio1010004.
- [31] Y. Yang, P. Jiang, J. Huang, C. Chen, y R. Guo, "The structure of engineered TfCut S130A in complex with MHET", *Protein Data Bank (PDB)*, 2023, doi: 10.2210/pdb7xtt/pdb.
- [32] K. Masaki, N.R. Kamini, H. Ikeda, H. Iefuji, H. Kondo, M. Suzuki y S. Tsuda, "A novel cutinase-like protein from *Cryptococcus* sp.", *Protein Data Bank (PDB)*, 2006, doi: 10.2210/pdb2czq/pdb.
- [33] Y. Yang *et al.*, "Complete bio-degradation of poly(butylene adipate-co-terephthalate) via engineered cutinases", *Nature communications*, vol. 14, no. 1, p. 1645, 2023, doi: 10.1038/s41467-023-37374-3.
- [34] D. Castro-Ochoa *et al.*, "ANCUT2, an Extracellular Cutinase from *Aspergillus nidulans* Induced by Olive Oil", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 166, no. 5, pp. 1275–1290, 2012, doi: 10.1007/s12010-011-9513-7.
- [35] K. N. Hellesnes, S. Vijayaraj, P. Fojan, E. Petersen, y G. Courtade, "Biochemical Characterization and NMR Study of a PET-Hydrolyzing Cutinase from *Fusarium solani pisi*", *Biochemistry*, vol. 62, no. 8, pp. 1369–1375, 2023, doi: 10.1021/acs.biochem.2c00619.
- [36] D. Martín-González, C. de la Fuente Tagarro, A. De Lucas, S. Bordel, y F. Santos-Beneit, "Genetic Modifications in Bacteria for the Degradation of Synthetic Polymers: A Review", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 25, no. 10, p. 5536, May 2024, doi: 10.3390/ijms25105536.
- [37] Z. Liu, Y. Zhang, y J. Wu, "Enhancement of PET biodegradation by anchor peptide-cutinase fusion protein", *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 156, 2022, doi: 10.1016/j.enzmictec.2022.110004.
- [38] Q. Li *et al.*, "Computational design of a cutinase for plastic biodegradation by mining molecular dynamics simulations trajectories", *Computational and structural biotechnology journal*, vol. 20, pp. 459–470, 2022, doi: 10.1016/j.csbj.2021.12.042.