

# Streszczenie

Odpady plastikowe, w tym poliuretan (PUR), stanowią istotne wyzwanie środowiskowe ze względu na ich powszechne zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu oraz odporność na naturalny rozkład. Ponieważ tradycyjne metody recyklingu plastiku pozostają mało efektywne, alternatywne podejścia, takie jak degradacja enzymatyczna, oferują obiecujące, ekologiczne rozwiązanie. Jednak badania nad enzymami zdolnymi do degradacji PUR są nadal ograniczone. Niniejsza dysertacja koncentruje się na badaniu enzymu kutynazy bakteryjnej z organizmu *Thermobifida fusca* (*TfCut2*) i jego potencjału w degradacji PUR, przy użyciu Impranilu DLN jako modelowego substratu do analizy aktywności katalitycznej enzymu.

W badaniach zastosowano kombinację metod obliczeniowych i eksperymentalnych w celu zidentyfikowania molekularnych determinantów zaangażowanych w wiązanie substratu i katalizę. Przeprowadzono dokowanie molekularne oraz symulacje dynamiki molekularnej w celu zbadania interakcji pomiędzy *TfCut2* a Impranilem DLN, identyfikując kluczowe aminokwasy odgrywające rolę w zdolności enzymu do wiązania substratu PUR. Ponadto, narzędzia do projektowania białek zostały wykorzystane do zaprojektowania mutacji w *TfCut2* mających na celu zwiększenie wiązania białko-ligand oraz wydajności katalitycznej enzymu.

Eksperymentalna walidacja zaprojektowanych mutantów wykazała, że trzy warianty punktowe, mianowicie G62A, T61V i T207D, osiągnęły znacząco zwiększone szybkości degradacji, przy czym G62A wykazał ponad dwukrotną poprawę aktywności w porównaniu z enzymem typu dzikiego. T207D również wykazał wyraźny wzrost wydajności produkcji, co dodatkowo podkreśla potencjał racjonalnej inżynierii enzymów. Wyniki te sugerują, że projektowanie mutacji może znacząco zwiększyć efektywność katalityczną *TfCut2* w degradacji PUR.

Praca podkreśla złożoność modelowania i eksperymentalnej oceny degradacji PUR, biorąc pod uwagę heterogeniczność struktur PUR i ich produktów degradacji. Pomimo tych wyzwań, badanie to ustanawia ramy do dostosowywania kutynaz do degradacji polimerów syntetycznych, dostarczając wglądu w sposoby wiązania substratów oraz potencjalne etapy ograniczające szybkość reakcji. Uzyskane wyniki stanowią wkład w szerszy cel opracowania efektywnych i zrównoważonych rozwiązań dla recyklingu polimerów i redukcji odpadów plastikowych.

## ***Słowa kluczowe***

Biodegradacja tworzyw sztucznych, Degradacja enzymatyczna, Poliuretan, Kutynaza, Inżynieria enzymatyczna, Modelowanie molekularne, Dynamika molekularna, Projektowanie białek