

REIVINDICACIONES

1. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 4 y por lo menos una sustitución en las posiciones 145 o 196, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 4.
2. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 1 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 4.
3. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 6 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 12/110/145/152, 12/145, 87/110/145, 87/110/145/194, 87/145/194, 110, 110/145/152/197, 110/145/194, 145, 145/152, 145/197/226, y 152, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 6.
4. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 3 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6.
5. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 80 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 17, 21, 46, 56, 72, 79, 95, 101, 110, 152, 162, 190, 198, 210, 211, y 227, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 80.
6. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 5 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 80.

7. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 80 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 17, 79, 157, 159, 190/191/194, 190/194, 191/194, 194, 198, y 211, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 80.
8. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 7 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 80.
9. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 104 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 17/46/190, 17/46/198/211, 17/96/194/198, 17/190/198, 46/190/194/198, y 46/194/198, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 104.
10. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 9 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 104.
11. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 172 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 45, 101, 179, 194, 204, 226, y 231, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 172.
12. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 11 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 172.

13. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 186 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 95/96/97/150/153/205, 95/96/150/153/205/206/211/249, 95/97/143/145/150/153/202/205, 95/97/143/145/150/153/249, 95/97/150/153, 95/97/150/153/202/205/206, 95/150/153/205/206/211, 95/150/153/205/211, 95/150/153/206/249, 96/150/153, 96/150/153/206, 97/150/153, 97/150/153/205, 97/150/153/205/211, 97/150/153/206, 143/144/145/150/153/202/205/249, 143/145/150/153, 144/145/150/153/205/206, 144/150/153, 144/150/153/202/205/206, 145/150/153/206/249, 145/153/211, 150/153/202/206/249, 150/153/205/211, 150/153/206/211, 150/153/211, y 150/153/249, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 186.

14. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 13 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 186.

15. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 186 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 7/147, 103/147, 110, 110/179/194, 147, y 249, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 186.

16. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 15 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 186.

17. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 194 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 7/12/54/110/150/153/194/205/211/249,

12/54/72/110/150/152/153/194/205/211/249, 12/72/101/103/110/152/249,
12/72/110/147/152/204, 45/54/72/110/152/194/204,
72/110/147/150/152/153/194/205/211/249, y 110/150/153/179/194/205/211/249,
donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 194.

18. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 17 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 194.

19. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 252 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 7/12/54/179/249, 7/152, 12/54/72/152/179/249, 40, 54/72, 72/147/152/179/249, y 249, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 252.

20. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 19 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 252.

21. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 270 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 92/93, 150/152, 150/152/153, y 194/195, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 270.

22. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 21 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 270.

23. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 272 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 92/93/95, 93, 93/95, 93/95/109, 93/95/109/114, 93/95/114, 93/109/114, y 114, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 272.

24. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 23 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 272.

25. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 286 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 12/45/72/109/249, 12/45/93/249, 12/45/249, 12/109/249, 45/72/249, 45/109/249, 45/249, 96, y 145/150, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 286.

26. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 25 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 286.

27. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 328 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 150, 150/151, 150/195, y 195, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 328.

28. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 27 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 328.

29. Una variante de cetorreductasa modificada que tiene la secuencia polipeptídica establecida en la SEQ ID NO: 330 y por lo menos una sustitución o un conjunto de sustitución que se selecciona entre 12/72/109/195, 17/73/200, 17/115, 68/72/101/152/205, 68/72/124, 68/72/124/152, 68/101/124/152/205, 68/124/205, 72/109/152/195, 72/109/195, 72/152, 72/152/195, 72/195, 73, 73/147, 79, 93, 93/95/145/195, 93/109/114/145/195, 93/195, 95/195, 96/108/147/200, 96/194/200, 101/205, 145/195, 147, 147/200, 192, 194, 194/200, 195, 198, y 200, donde dichas posiciones se han numerado con referencia a la SEQ ID NO: 330.

30. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 29 que tiene una secuencia polipeptídica con por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 330.

31. La variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, que comprende una secuencia polipeptídica con por lo menos 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 4, 6, 80, 104, 172, 186, 194, 252, 270, 272, 286, 328, y/o 330.

32. La variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-31, que comprende una secuencia polipeptídica con por lo menos 95% de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 4, 6, 80, 104, 172, 186, 194, 252, 270, 272, 286, 328, y/o 330.

33. La variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-32, que comprende una secuencia polipeptídica que se establece en las SEQ ID NO: 6, 80, 104, 172, 186, 194, 252, 270, 272, 286, 328, y/o 330.

34. La variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-33, donde dicha cetorreductasa modificada comprende una secuencia polipeptídica que se

selecciona entre las secuencias de numeración par que se establecen en las SEQ ID NO: 6, 8, 12, 16, 20, 22, 24 y 72 a 412.

35. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 1, donde el polipéptido cetorreductasa modificada es capaz de convertir un sustrato de iso- α -ácido en un producto dihidro-(rho)-iso- α -ácido correspondiente.

36. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 1 que es capaz de convertir un sustrato iso- α -ácidos en un producto dihidro-(rho)-iso- α -ácidos correspondiente con por lo menos 10 veces la actividad del polipéptido de referencia de la SEQ ID NO: 4.

37. La variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-36, donde dicha cetorreductasa modificada comprende una propiedad mejorada en comparación con la cetorreductasa de la SEQ ID NO: 4.

38. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 37, donde la propiedad mejorada comprende una actividad mejorada de conversión de iso- α -ácidos en los dihidro-(rho)-iso- α -ácidos correspondientes en comparación con la cetorreductasa de la SEQ ID NO: 4.

39. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 37, donde la propiedad mejorada comprende una actividad mejorada a altas concentraciones de sustrato en comparación con la cetorreductasa de la SEQ ID NO: 4.

40. La variante de cetorreductasa modificada de la reivindicación 37, donde la propiedad mejorada comprende una actividad mejorada a bajas concentraciones de cofactor en comparación con la cetorreductasa de la SEQ ID NO: 4.

41. Una secuencia polinucleotídica modificada que codifica la variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-40.

42. La secuencia polinucleotídica modificada de la reivindicación 41, donde dicha secuencia comprende una secuencia polinucleotídica que tiene por lo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad con una secuencia que se selecciona entre las secuencias de numeración impar que se establecen en las SEQ ID NO: 5, 7, 11, 15, 19, 21, 23 y 71 a 411.

43. Un vector que comprende la secuencia polinucleotídica modificada de las reivindicaciones 41 y/o 42.

44. El vector de la reivindicación 41, que además comprende por lo menos una secuencia de control.

45. El vector de las reivindicaciones 43 y/o 44, donde dicho vector comprende la SEQ ID NO: 413 o 414.

46. Una célula huésped para la expresión de polipéptidos modificados que comprende el vector de cualquiera de las reivindicaciones 43, 44, y/o 45.

47. Un método para producir la variante de cetorreductasa modificada de cualquiera de las reivindicaciones 1-40, que comprende cultivar dicha célula huésped de la reivindicación 46 en condiciones en las que dicha célula huésped produce dicha variante de cetorreductasa modificada.

48. El método de la reivindicación 47, que comprende además el paso de recuperar dicha variante de cetorreductasa modificada producida por dicha célula huésped.

49. El método de las reivindicaciones 47 y/o 48, donde la variante de cetorreductasa modificada es producida por una célula huésped que comprende el vector de las SEQ ID NO: 413 y/o 414.
50. Una composición que comprende una variante de cetorreductasa modificada que se provee en cualquiera de las reivindicaciones 1-40.