

## REIVINDICACIONES

1. Proceso para preparar (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, caracterizado porque comprende convertir enzimáticamente (3E,7E)-homofarnesol (EEH) o una mezcla de isómeros de homofarnesol que comprende EEH en (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox usando una variante de la enzima SHC/HAC,

en donde la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos con respecto a la SEC ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 132, 224 y 432 de la SEC ID NO.: 1 que son M132R, A224V e I432T respectivamente, y

en donde la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en una posición correspondiente a la posición 557 de la SEC ID NO.: 1 y por lo menos una posición correspondiente a la posición 81, 431 o 613 de la SEC ID NO.: 1.

2. Proceso para preparar óxido de Ambra o una mezcla que comprende óxido de Ambra, caracterizado porque comprende convertir enzimáticamente (E,E)-bishomofarnesol (BisEEH) o una mezcla de isómeros de bishomofarnesol que comprende BisEEH en óxido de Ambra o una mezcla que comprende óxido de Ambra usando un variante de la enzima SHC/HAC,

en donde la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos con respecto a la SEC ID NO.: 1 en

las posiciones correspondientes a las posiciones 132, 224 y 432 de la SEC ID NO.: 1 que son M132R, A224V e I432T respectivamente, y

en donde la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en una posición correspondiente a la posición 557 de la SEC ID NO.: 1 y por lo menos una posición correspondiente a la posición 81, 431 o 613 de la SEC ID NO.: 1.

3. Variante de la enzima SHC/HAC caracterizada la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos con respecto a la SEC ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 132, 224 y 432 de la SEC ID NO.: 1 que son M132R, A224V e I432T respectivamente, y

en donde la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en una posición correspondiente a la posición 557 de la SEC ID NO.: 1 y por lo menos una posición correspondiente a la posición 81, 431 o 613 de la SEC ID NO.: 1.

4. El proceso o variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 557 y 431 de la SEC ID NO.: 1.

5. El proceso o variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la secuencia de

aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene alteraciones de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 557 y 613 de la SEC ID NO.: 1.

6. El proceso o variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con la reivindicación 4 o 5, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene una alteración adicional de aminoácidos en relación con la SEC ID NO.: 1 en una posición correspondiente a la posición 81 de la SEC ID NO.: 1.

7. El proceso o variante de enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque una o más de las alteraciones de aminoácido en las posiciones 81, 431, 557 o 613 son sustituciones, por ejemplo, sustituciones no conservadoras.

8. El proceso o variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque:

la alteración del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 557 de SEC ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEC ID NO.: 1 por un aminoácido hidrofílico neutro, por ejemplo, treonina; y/o

la alteración del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 81 de la SEC ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEC ID NO.: 1 por un aminoácido básico, por ejemplo histidina; y/o

la alteración del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 431 de la SEC ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEC ID NO.: 1 por un aminoácido hidrofóbico, por ejemplo, leucina; y/o

la alteración del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 613 de la SEC ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEC ID NO.: 1 por un

aminoácido hidrofílico neutro, por ejemplo serina.

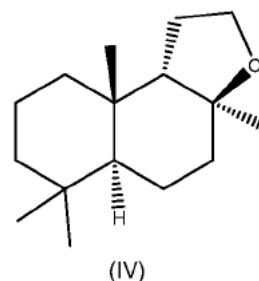
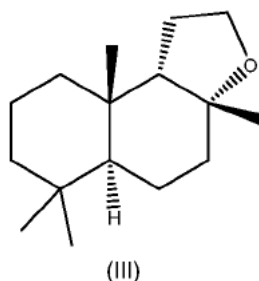
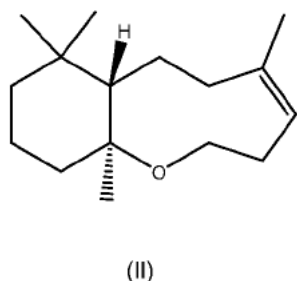
9. El proceso o variante de enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la variante de enzima SHC/HAC tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEC ID NO.: 2, SEC ID NO.: 3, SEC ID NO.: 4 y la SEC ID NO.: 5, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEC ID NO.: 2, SEC ID NO.: 4 y SEC ID NO.: 5.

10. El proceso de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la conversión enzimática tiene lugar a una temperatura en el intervalo de aproximadamente de 30°C a aproximadamente 50°C, por ejemplo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C, y/o a un pH en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.

11. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende cultivar una célula hospedera recombinante que produce la variante de la enzima SHC/HAC.

12. El proceso de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque las células hospederas recombinantes comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada de la SEC ID NO.: 6, SEC ID NO.: 7, SEC ID NO.: 8 o la SEC ID NO.: 9, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico de ácido seleccionada de la SEC ID NO.: 6, SEC ID NO.: 8 o la SEC ID NO.: 9.

13. El proceso de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque (-)-Ambrox se produce en mezcla con por lo menos uno o más de los subproductos (II), (III) y (IV),



14. El proceso o la variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la variante de la enzima SHC/HAC tiene una actividad enzimática aumentada en relación con la SEC ID NO.: 1 o en donde la variante de la enzima SHC/HAC proporciona una tasa aumentada de conversión de EEH sobre las primeras 6 horas o durante las primeras 8 horas o durante las primeras 12 horas de la reacción en comparación con la SEC ID NO.: 1 y/o la SEC ID NO.: 10.