

### REIVINDICACIONES

1. Una variante de la enzima SHC/HAC que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene, con respecto a la SEQ ID NO: 1:

(a) las sustituciones de aminoácidos M132R, A224V e I432T, y

(b) una sustitución de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 557 de la SEQ ID NO: 1 y al menos una sustitución adicional de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 81, 431 o 613 de la SEQ ID NO: 1, en donde:

(i) la modificación de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 557 de la SEQ ID NO: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO: 1 por un aminoácido neutro e hidrofílico;

(ii) la modificación de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 81 de la SEQ ID NO: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO: 1 por un aminoácido básico;

(iii) la modificación de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 431 de la SEQ ID NO: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO: 1 por un aminoácido hidrofóbico; o

(iv) la modificación de aminoácido en una posición correspondiente a la posición 613 de la SEQ ID NO: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO: 1 por un aminoácido neutro e hidrofílico.

2. La 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 modificaciones de aminoácidos en relación con la SEQ ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 557 y 431 de la SEQ ID NO.: 1.

3. La 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 modificaciones de aminoácidos en relación con la SEQ ID NO.: 1 en las posiciones correspondientes a las posiciones 557 y 613 de la SEQ ID NO.: 1.

4. La variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con la reivindicación 2

o 3, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos de la variante de la enzima SHC/HAC tiene una modificación adicional de aminoácidos en relación con la SEQ ID NO.: 1 en una posición correspondiente a la posición 81 de la SEQ ID NO.: 1.

5. La variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque:

la modificación del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 557 de SEQ ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO.: 1 por treonina; y/o

la modificación del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 81 de la SEQ ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO.: 1 por histidina; y/o

la modificación del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 431 de la SEQ ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO.: 1 por leucina; y/o

la modificación del aminoácido en una posición correspondiente a la posición 613 de la SEQ ID NO.: 1 sustituye el aminoácido de la SEQ ID NO.: 1 por serina.

6. La variante de enzima SHC/HAC de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la variante de la enzima SHC/HAC tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO.: 2, SEQ ID NO.: 3, SEQ ID NO.: 4 y la SEQ ID NO.: 5.

7. Un proceso para preparar (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, que comprende la conversión enzimática de (3E,7E)-homofarnesol (EEH) o una mezcla de isómeros de homofarnesol que comprende EEH en (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox utilizando una variante de la enzima SHC/HAC, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

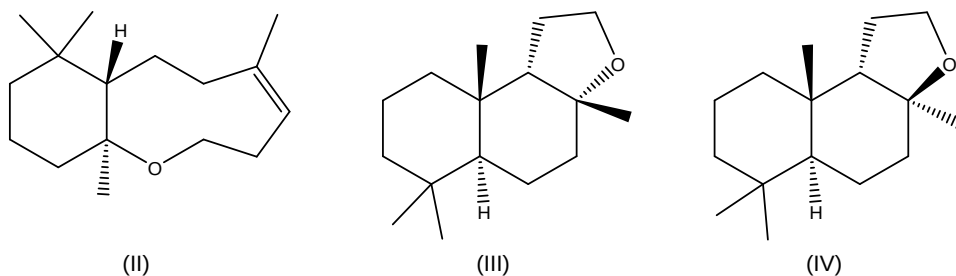
8. Un proceso para preparar óxido de Ambra, que comprende la conversión enzimática de (3E,7E)-homofarnesol (EEH) o una mezcla de isómeros de homofarnesol que comprende EEH en óxido de (-)-Ambra o una mezcla que comprende óxido de Ambra utilizando una variante de la enzima SHC/HAC, como

se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

9. El proceso de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado porque la conversión enzimática tiene lugar a una temperatura en el intervalo de 30°C a 50°C,

10. El proceso de conformidad con las reivindicaciones 7 u 8, caracterizado porque las células hospederas recombinantes comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada de la SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8 o la SEQ ID NO.: 9.

11. El proceso de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque (-)-Ambrox se produce en mezcla con por lo menos uno o más de los subproductos (II), (III) y (IV),



12. La variante de la enzima SHC/HAC de conformidad con las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque la variante de la enzima SHC/HAC tiene una actividad enzimática aumentada en relación con la SEQ ID NO.: 1 o en donde la variante de la enzima SHC/HAC proporciona una tasa aumentada de conversión de EEH durante:

- las primeras 6 horas,
- las primeras 8 horas, o
- las primeras 12 horas

de la reacción, en comparación con la SEQ ID NO.: 1 y/o la SEQ ID NO.: 10.

13. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en donde la conversión enzimática emplea una célula completa recombinante que produce

P-2022/14956 (NC2022/0008659)

Reivindicaciones modificadas en respuesta a Oficio No. 20344

Febrero 16, 2026

una enzima SHC/HAC.