

Interner Verteilerschlüssel:

- (A) Veröffentlichung im ABl.
(B) An Vorsitzende und Mitglieder
(C) An Vorsitzende
(D) Keine Verteilung

**Datenblatt zur Entscheidung
vom 6. Februar 2007**

Beschwerde-Aktenzeichen: T 0722/06 - 3.3.08

Anmeldenummer: 00974311.3

Veröffentlichungsnummer: 1144610

IPC: C12N 15/82

Verfahrenssprache: DE

Bezeichnung der Erfindung:

Verfahren zur gesteuerten Nach-Ernte-Produktion von Proteinen
in Wirtsorganismen

Anmelder:

MPB Cologne GmbH Molecular Plant & Protein

Einsprechender:

-

Stichwort:

Anaerobe Induktion/MPB COLOGNE

Relevante Rechtsnormen:

EPÜ Art. 83, 84, 54, 56, 123(2)

Schlagwort:

"Hauptantrag - Stützung durch Beschreibung (ja)"

"Klarheit (ja)"

"Neuheit (ja)"

"Erfinderische Tätigkeit (ja)"

"Ausführbarkeit (ja)"

Zitierte Entscheidungen:

-

Orientierungssatz:

-



Aktenzeichen: T 0722/06 - 3.3.08

ENTSCHEIDUNG
der Technischen Beschwerdekammer 3.3.08
vom 6. Februar 2007

Beschwerdeführer: MPB Cologne GmbH Molecular Plant & Protein
Biotechnology
Neurather Ring 1
D-51063 Köln (DE)

Vertreter: Schmitz, Georg
Kanzlei Huber & Schüssler
Truderinger Straße 246
D-81825 München (DE)

Angefochtene Entscheidung: Entscheidung der Prüfungsabteilung des
Europäischen Patentamts, die am 13. Dezember
2005 zur Post gegeben wurde und mit der die
europäische Patentanmeldung Nr. 00974311.3
aufgrund des Artikels 97 (1) EPÜ
zurückgewiesen worden ist.

Zusammensetzung der Kammer:

Vorsitzender: L. Galligani
Mitglieder: P. Julià
C. Heath

Sachverhalt und Anträge

I. Die Beschwerde der Patentanmelderin (nunmehr Beschwerdeführerin) richtet sich gegen die Entscheidung der Prüfungsabteilung vom 13. Dezember 2005, mit der die Europäische Patentanmeldung Nr. 00 974 311.3 (Internationale Veröffentlichungsnummer WO-A-01/38508 mit dem Titel "Verfahren zur gesteuerten Nach-Ernte-Produktion von Proteinen in Wirtsorganismen") zurückgewiesen wurde.

II. Die Prüfungsabteilung hatte die Patentanmeldung wegen mangelnder erfinderischer Tätigkeit (Artikel 56 EPÜ) und mangelnder Klarheit (Artikel 84 EPÜ) der Erfindung zurückgewiesen. Die Einwände der Prüfungsabteilung richteten sich gegen die Anmeldung mit einem am 27. Mai 2005 eingereichten Anspruchssatz (Ansprüche 1 bis 12), wovon Anspruch 1 lautete:

"1. Verfahren zur Gewinnung eines gewünschten Fremdproteins aus einer transgenen Pflanze, wobei die Expression des für dieses Fremdprotein codierende Gens erst nach der Ernte der Pflanze erfolgt, dadurch gekennzeichnet, daß:

- (a) die transgene Pflanze das für das gewünschte Fremdprotein codierende Gen derart enthält, das dessen Expression erst in Anwesenheit eines chemischen Induktors erfolgt; und
- (b) die Inkontaktbringen mit dem Induktor nach der Ernte der Pflanze oder Teilen davon in einem Reaktionsbehälter über die die Pflanze umgebende Gasphase erfolgt, wobei Schritt (b) eine Veränderung der Gasphase dahingehend umfaßt, daß die Raumluft im

Reaktionsbehälter schnell durch technischen Stickstoff oder Kohlendioxid verdrängt wird."

- III. Am 21. April 2006 legte die Beschwerdeführerin mit ihrer Beschwerdebegründung einen geänderten Anspruch 1 vor.
- IV. Die Prüfungsabteilung beschloss, der Beschwerde nicht abzuhelpfen (vgl. Artikel 109 (2) EPÜ) und legte sie der Beschwerdekammer vor.
- V. Am 12. September 2006 teilte die Kammer der Beschwerdeführerin mit einem Bescheid gemäß Artikel 11 Absatz 1 der Verfahrensordnung der Beschwerdekammern ihre vorläufige Auffassung mit und lud sie zur mündlichen Verhandlung.
- VI. Mit Schreiben vom 5. Januar 2007 reichte die Beschwerdeführerin einen Hauptantrag und zwei Hilfsanträge ein.
- VII. Am 6. Februar 2007 fand die mündliche Verhandlung statt. Im Laufe der mündlichen Verhandlung zog die Beschwerdeführerin alle vorherigen Anträge zurück und legte einen einzigen geänderten Hauptantrag vor.
- VIII. Anspruch 1 des Hauptantrages lautete wie folgt:
- "1. Verfahren zur Gewinnung eines gewünschten Fremdproteins aus einer transgenen Pflanze, wobei die Expression des für dieses Fremdprotein codierende Gens erst nach der Ernte der Pflanze erfolgt, dadurch gekennzeichnet, daß:

- (a) die transgene Pflanze das für das gewünschte Fremdprotein codierende Gen enthält, das mit einem induzierbaren Promotor funktionell verknüpft ist, wobei der Promotor ein unter aeroben Bedingungen inaktiver Promotor ist, sodass die Fremdproteinexpression erst durch eine anaerobe Induktion erfolgt; und
- (b) die Induktion der Expression unter anaeroben Bedingungen nach der Ernte der Pflanze oder Teilen davon in einem Reaktionsbehälter durch den Austausch der die Pflanze umgebende Gasphase erfolgt, wobei der Reaktionsbehälter ein Gaszufuhr- und ein Gasabfuhrventil aufweist, die Raumluft im Reaktionsbehälter durch schnelles Einleiten von Stickstoff oder Kohlendioxid verdrängt wird und die Fremdproteinexpression in einem vollständig anaeroben Milieu erfolgt."

Die Ansprüche 2 bis 4 waren auf besondere Ausführungsformen (GapC4 Promotor, Nutzpflanzen) des Verfahrens gemäß Anspruch 1 gerichtet.

IX. Folgende Dokumente werden in dieser Entscheidung erwähnt:

D2: L. Bülow et al., Molecular Plant-Microbe Interactions, März 1999, Band 12, Nr. 3, Seiten 182 bis 188;

D4: WO-A-95/03690 (Veröffentlichungstag: 9. Februar 1995);

D5: V. Germain et al., Plant Physiol., 1997, Band 114, Seiten 167 bis 175;

D11: EP-A-0 278 658 (Veröffentlichungstag: 17. August 1988).

- X. Die schriftlich sowie in der mündlichen Verhandlung von der Beschwerdeführerin vorgetragene Argumente lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Hauptantrag

Artikel 123(2) EPÜ

Anspruch 1 ist von der Beschreibung hinreichend gestützt. Insbesondere wird Beispiel 1 und der letzte Absatz auf Seite 10 der veröffentlichten Anmeldung zur Stützung der Offenbarung des Anspruchs 1 herangezogen. Die Änderungen gehen nicht über den Inhalt der ursprünglich eingereichten Anmeldung hinaus.

Artikel 84 EPÜ

In Anspruch 1 ist nun die Art und Weise der Induktion klargestellt. Es handelt sich um eine anaerobe Induktion, die durch einen Austausch der die Pflanze umgebenden Gasphase (in einem Reaktionsbehälter mit Ventileinrichtungen) durch schnelles Einleiten von Stickstoff oder Kohlendioxid erfolgt. Die Fremdproteinexpression erfolgt erst in einem vollständig anaeroben Milieu, d.h. unter vollständig anaeroben Bedingungen und ohne hypoxische Akklimatisierung.

Artikel 54 EPÜ

Dokument D2 offenbart ein Verfahren, bei dem in einem geschlossenen Behälter ("Anaerocult A") chemisch Sauerstoff gebunden und dabei Kohlendioxid freigesetzt

wird. Die Vorgangsweise gemäß Schritt (b) nach Anspruch 1, bei der Stickstoff oder Kohlendioxid in einen Reaktionsbehälter, der über ein Gaszufuhr- und ein Gasabfuhrventil verfügt, schnell eingeleitet wird, ist in Dokument D2 nicht offenbart. Darüber hinaus tritt die Expression des Fremdproteins in diesem Verfahren in einem hypoxischen Milieu auf, d.h. unter Anwesenheit eines Restsauerstoffgehalts. Im beanspruchten Verfahren erfolgt diese Expression nur in einem vollständig anaeroben Milieu, d.h. in einem anoxischen Milieu.

Artikel 56 EPÜ

Aus dem Stand der Technik ist bekannt, dass sauerstofffreie Bedingungen inhibierend für die Proteinsynthese sind. Diese Lehre wird auch von Dokument D11 bestätigt, worin ein unter hypoxischen Bedingungen induzierbares "*anaerobic regulatory element*" beschrieben wird. Für eine erfolgreiche anaerobe Induktion muss etwas Sauerstoff verfügbar sein, da Pflanzengewebe unter vollständig anaeroben Bedingungen abstirbt. Somit enthält dieses Dokument nicht nur keinen Hinweis zu einer Proteinexpression in transgenen Pflanzen unter vollständig anaeroben Bedingungen, sondern rät sogar davon ab.

Dokument D2 beschreibt ein Verfahren, bei dem ähnlich wie in Dokument D11 die natürlichen Verhältnisse durch das Anaerocult A-System nachgebildet werden, da dem Reaktionsgefäß der Sauerstoff durch chemische Bindung langsam entzogen wird und dadurch das Pflanzenmaterial eine hypoxische Akklimatisierung durchläuft.

Weder Dokument D11 noch Dokument D2 ist ein Hinweis auf eine Induktion der Proteinexpression unter vollständig anaeroben Bedingungen gemäß Anspruch 1 zu entnehmen. Im Gegenteil, beide Dokumente führen von der erfindungsgemäßen Lösung weg, da sie der allgemeinen Lehrmeinung folgen und eine hypoxische Akklimatisierung durchführen bzw. unter hypoxischen Bedingungen die Expression des Fremdgens induzieren.

Dokument D4 beschreibt zahlreiche Induktoren, die für ein Nach-Ernte-Verfahren verwendbar sind. Dieses Dokument enthält aber keinen Hinweis auf eine anaerobe Induktion bzw. ein Nach-Ernte-Verfahren unter anaeroben Bedingungen. Ein Fachmann, dem die Aufgabe gestellt ist, ein Nach-Ernte-Verfahren zu entwickeln bzw. zu verbessern, erhält daher durch dieses Dokument keine Anregung für ein Verfahren unter anaeroben Bedingungen. Er hat deshalb keine Veranlassung dazu gehabt, das Dokument D4 mit Dokumenten D11 bzw. D2 zu kombinieren.

Selbst wenn ein Fachmann die Kombination der technischen Lehren von Dokument D4 mit den Dokumenten D2 bzw. D11 in Betracht gezogen hätte, wäre er nicht zum beanspruchten Verfahren nach Anspruch 1 gelangt, da weder Dokument D2 noch Dokument D11 eine Proteinexpression unter vollständig anaeroben Bedingungen nahelegen.

Es ist deshalb aus dem Stand der Technik nicht zu erwarten, dass trotz eines vollständig anaeroben Milieus eine signifikante Menge von einem Fremdprotein produziert wird. Im Gegenteil wäre es zu erwarten, dass die Auslösung eines Schockzustandes durch die Anoxie zu einer weitgehenden Inhibierung der Proteinproduktion führen würde.

Die Expression eines Fremdproteins unter vollständig anaeroben Bedingungen wird in Beispiel 1 der Anmeldung und in der Tabelle 1 der mit der Beschwerdebegründung eingereichten Vergleichsversuche eindeutig bewiesen. Diese Tabelle zeigt nicht nur, dass unter diesen vollständig anaeroben Bedingungen eine signifikante Proteinexpression stattfindet, sondern auch, dass diese Expression bei einer direkten, sauerstofffreien Behandlung deutlich stärker ist, als nach einer hypoxischen Vorbehandlung. Das Verfahren gemäß Anspruch 1 ist durch den Stand der Technik nicht nahegelegt und erfüllt somit es die Voraussetzungen des Artikels 56 EPÜ.

- XI. Die Beschwerdeführerin (Anmelderin) beantragte, die zurückweisende Entscheidung aufzuheben und ein Patent auf der Basis des Hauptantrages, eingereicht in der mündlichen Verhandlung, zu erteilen.

Entscheidungsgründe

Hauptantrag

Artikel 123(2) EPÜ

1. Der Gegenstand des Anspruchs 1 stützt sich insbesondere auf Seite 10, zweiter Absatz und Seite 16, letzter Absatz (Beispiel 1) der Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung (PCT-Veröffentlichung).
2. Auf Seite 10 wird der Promotor (GapC4-Promoter) als ein unter aeroben Bedingungen inaktiver Promotor beschrieben, der durch eine anaerobe Induktion (Sauerstoffentzug)

angeschaltet wird. Diese anaerobe Induktion wird durch die Einleitung von Stickstoff oder Kohlendioxid in den Reaktions- oder Lagerraum erreicht. Somit wird auch (innerhalb weniger Stunden) ein vollständig anaerobes Milieu erreicht, wodurch die Promotorinduktion und Fremdproteinexpression erfolgt.

3. Weitere Einzelheiten des Verfahrens werden in Beispiel 1 auf Seite 16, letzter Absatz, erwähnt. Insbesondere für die Nach-Ernte-Produktion des Fremdproteins wird das Ernteprodukt der transgenen Pflanzen (Kartoffel-Knollen) in einen Reaktionsbehälter verbracht, der ein Gaszufuhr- und Gasabführventil aufweist. Die Raumluft im Behälter wird schnell von Stickstoff oder Kohlendioxid verdrängt. Durch Vergleich von Proben vor und nach Sauerstoffentzug konnte es gezeigt werden, dass vor der Verdrängung kein Fremdprotein, danach jedoch signifikante Menge davon produziert wurden.
4. Die abhängigen Ansprüche sind ebenso von der ursprünglichen Offenbarung gestützt (siehe insbesondere den Absatz zwischen den Seiten 6 und 7 und die ursprünglichen Ansprüche 16 und 17). Somit erfüllt der beanspruchte Gegenstand die Erfordernisse des Artikels 123 (2) EPÜ.

Artikel 84 EPÜ

5. Der von der Prüfungsabteilung erhobene Einwand mangelnder Klarheit richtete sich gegen das Wort "schnell", da dieser Begriff nach ihrer Meinung eine relative, von der Sichtweise des Betrachters bzw. Lesers abhängige Bedeutung hatte (siehe Seite 9, zweite Absatz der angefochtenen Entscheidung).

6. Der neue Anspruch 1 ist im Vergleich zu der von der Prüfungsabteilung zurückgewiesenen Fassung durch mehrere Merkmale beschränkt worden. Der Text des jetzigen Anspruchs 1 verdeutlicht, dass die Induktion eine anaerobe Induktion ist, die durch Einleiten von Stickstoff oder Kohlendioxid erfolgt. Der vorliegende Anspruch 1 enthält auch ein wesentliches technisches Merkmal des beanspruchten Verfahrens, nämlich ein unter aeroben Bedingungen inaktiver Promotor, der unter anaeroben Bedingungen aktiv ist. Ferner sind einige Eigenschaften des Reaktionsbehälters angesprochen. Obwohl der in Anspruch 1 aufgenommene Ausdruck "*in einem vollständig anaeroben Milieu*" in der Beschreibung der Anmeldung nicht definiert ist, lässt er sich aus dem Stand der Technik entnehmen und ist auch dem Fachmann wohl bekannt (siehe z.B. Dokument D11, Spalte 8, Zeilen 43 bis 45 "*Since plant cells and tissue will not survive under completely anaerobic conditions some oxygen must be supplied*", Hervorhebung durch Unterstreichen von der Kammer hinzugefügt).
7. Die Beschwerdekammer ist der Meinung, dass die Interpretation des Begriffs "*schnelles*" durch die neu in Anspruch 1 aufgenommenen Merkmale, nämlich "*die Fremdproteinexpression in einem vollständig anaeroben Milieu erfolgt*" und "*die Fremdproteinexpression erst durch eine anaerobe Induktion erfolgt*" (Hervorhebung durch Unterstreichen von der Kammer hinzugefügt), verdeutlicht wird und keine relative oder unklare Bedeutung hat. Aus der Kombination dieser zwei Merkmale und aus der Gesamtheit der Beschreibung geht im Einzelnen hervor, was im Rahmen der Erfindung unter dem Begriff "*schnelles Einleiten*" zu verstehen ist, nämlich

die Vermeidung einer hypoxischen Akklimatisierung und die Expression des Fremdproteins erst durch einen Anoxie-Schock (in einem vollständig anaeroben Milieu).

8. Der beanspruchte Gegenstand erfüllt folglich die Erfordernisse des Artikels 84 EPÜ.

Artikel 54 EPÜ

9. Die Neuheit des Anmeldegegenstands wurde in der angefochtenen Entscheidung nicht beanstandet und daher anerkannt. Die Beschwerdekammer schließt sich dieser Beurteilung an. Keines der im Prüfungsverfahren zitierten Dokumente offenbart einen Gegenstand mit allen Merkmalen des Anspruchs 1 gemäß dem Hauptantrag. In der im Prüfungsverfahren zitierten Literatur ist eine hypoxische Akklimatisierung (ein schrittweise langsamer Sauerstoffentzug und Anwesenheit eines Restsauerstoffgehalts) immer ausdrücklich genannt. Somit ist der beanspruchte Gegenstand im Sinne von Artikel 54 (1), (2) EPÜ neu.

Artikel 56 EPÜ

10. Dokument D11 beschreibt ein Verfahren zur Expression von Struktur-Genen (Fremdproteine codierende Gene) in Pflanzen selektiv unter anaeroben Bedingungen. Dieses Verfahren erfolgt durch den Einsatz von anaeroben Regulationselementen (Promotoren), die eine anaerobe Induzierbarkeit an den Fremdgenen übertragen. Das Dokument bezieht sich auf eine bekannte Methode zum Transferieren des eingebrachten Fremdgens aus der ursprünglich transformierten Pflanze in kommerziell nützliche Kulturformen (siehe Dokument D11, Spalte 15,

Zeilen 37 bis 42). Pflanzen, Pflanzenzellen und Pflanzengewebe, die diese Fremdgene enthalten, sind als Ziel der Erfindung des Dokuments angegeben (siehe Spalte 9, Zeilen 15 bis 18). Die transformierten Pflanzengewebe können sich in planta oder in Organ-, Gewebe- oder Zellkultur befinden (siehe Spalte 14, Zeilen 16 bis 17). Wichtig ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass die Vorteile einer Nach-Ernte-Produktion von Fremdproteinen in Nutzpflanzen durch induzierbare Promotoren dem Fachmann längst bekannt waren (siehe z.B. Dokument D4, Seite 26, Zeile 30 bis Seite 32, Zeile 6 und Seite 44, Zeilen 24 bis 33).

11. Der Gegenstand des Anspruchs 1 unterscheidet sich von diesem nächstkommenden Stand der Technik dadurch, dass die Fremdproteinexpression in einem vollständig anaeroben Milieu (vollständig Sauerstoffentzug bzw. Anoxie) erfolgt. In Dokument D11 wird das Verfahren ausdrücklich in einem anaeroben Milieu mit einem Sauerstoffgehalt von etwa 1%, bevorzugt 5%, stattfinden (siehe Dokument D11, Spalte 8, Zeilen 39 bis 58).
12. Ausgehend von diesem Stand der Technik sieht die Beschwerdekammer die objektive Aufgabe der vorliegenden Anmeldung darin, ein alternatives Verfahren zur Verfügung zu stellen. Dass diese bestehende technische Aufgabe durch den Gegenstand des Anspruchs 1 gelöst wird, zeigen das Beispiel 1 der Anmeldung und die mit der Beschwerdebegründung eingereichten Versuchsergebnisse.
13. Diese Versuchsberichte bestätigen die Ergebnisse des Beispiels 1 der Anmeldung und sie zeigen einen technischen Effekt, der nach dem Stand der Technik nicht

zu erwarten war. Gemäß diesem Stand der Technik ist die Produktion von Proteinen in Pflanzen - einschließlich die Produktion eines gewünschten Fremdproteins - unter vollständig anaeroben Bedingungen zu vermeiden, da Pflanzenzellen unter diesen Bedingungen rasch absterben (siehe Dokument D11, Spalte 8, Zeilen 39 bis 58 und Spalte 14, Zeilen 30 bis 32; Dokument D5, Seite 171, linke Spalte, erster Absatz). In dieser Hinsicht geht das beanspruchte Verfahren nicht nur in eine andere Richtung als die aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren, sondern sogar in eine gegenteilige. Aus alledem folgt, dass es einer erfinderischen Tätigkeit bedurfte, um zum Gegenstand des Anspruchs 1 zu gelangen.

14. Daher erfüllt der beanspruchte Gegenstand die Erfordernisse des Artikels 56 EPÜ.

Artikel 83 EPÜ

15. In der angefochtenen Entscheidung hat die Prüfungsabteilung die Ausführbarkeit der technischen Lehre der Anmeldung nach Artikel 83 EPÜ nicht beanstandet. Im Hinblick auf den Stand der Technik und die allgemeinen Angaben in der Anmeldung sieht die Beschwerdekammer keine Veranlassung, von der Beurteilung der Prüfungsabteilung abzuweichen.

Entscheidungsformel

Aus diesen Gründen wird entschieden:

1. Die angefochtene Entscheidung wird aufgehoben.

2. Die Sache wird an die Vorinstanz mit der Maßgabe zurückverwiesen, ein Patent auf der Basis des Hauptantrages, eingereicht in der mündlichen Verhandlung, und einer entsprechend angepassten Beschreibung zu erteilen.

Der Geschäftsstellenbeamte:

Der Vorsitzende:

A. Wolinski

L. Galligani