



BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

Verkündet am
16. September 2009

3 Ni 22/08 (EU)

(Aktenzeichen)

...

In der Patentnichtigkeitsache

...

...

betreffend das europäische Patent 0 733 710
(DE 694 34 245)

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 16. September 2009 unter Mitwirkung der Vorsitzenden Richterin Dr. Schermer sowie des Richters Engels und der Richterinnen Dipl.-Chem. Dr. Proksch-Ledig, Dr. Schuster und Dipl.-Chem. Dr. Münzberg

für Recht erkannt:

1. Die Klage wird abgewiesen.
2. Die Klägerinnen tragen die Kosten des Rechtsstreits.
3. Das Urteil ist hinsichtlich der Kosten gegen Sicherheitsleistung in Höhe von 120 % des zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

Tatbestand

Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 28. November 1994 als internationale Patentanmeldung PCT/JP94/01994 angemeldeten, die Priorität der japanischen Patentanmeldung 30839793 vom 8. Dezember 1993 in Anspruch nehmen- den und u.a. mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland erteilten europäi-

schen Patents EP 0 733 710 B1 (Streitpatent), dessen Erteilung am 26. Januar 2005 veröffentlicht worden ist und das vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 694 34 245 geführt wird.

Das Streitpatent betrifft „Verfahren zur Herstellung von L-Lysin durch Fermentation“ und umfasst für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland 13 Patentansprüche. Die nebengeordneten Patentansprüche 1, 2, 11, 12 und 13 lauten in der deutschen Übersetzung folgendermaßen :

- „1. DNA, die für eine Dihydrodipicolinatsynthase aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* kodiert, die eine Mutation hat, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus einem Austausch des Alaninrestes 81 gegen einen Valinrest, einem Austausch des Histidinrestes 118 gegen einen Tyrosinrest und einem Austausch des Alaninrestes 81 gegen einen Valinrest und des Histidinrestes 118 gegen einen Tyrosinrest, gezählt vom N-Terminus der Aminosäuresequenz der in Sequenz ID NO: 3 des Sequenzprotokolls definierten Dihydrodipicolinatsynthase, besteht.
2. Bakterium der Gattung *Escherichia*, das durch Einführen einer DNA nach Anspruch 1 in seine Zellen transformiert ist und eine Aspartokinase enthält, die gegen Rückkopplungshemmung durch L-Lysin unempfindlich ist.
11. Bakterium der Gattung *Escherichia*, das die DNA nach Anspruch 1 enthält.
12. Verfahren zur Herstellung von L-Lysin, welches das Kultivieren eines Bakteriums der Gattung *Escherichia* nach einem der Ansprüche 2 bis 11 in einem geeigneten Medium umfasst.

13. Protein, das durch die DNA nach Anspruch 1 kodiert wird.“

Wegen des Wortlauts der auf Patentanspruch 2 unmittelbar oder mittelbar rückbezogenen Patentansprüche 3 bis 10 wird auf die Streitpatentschrift EP 0 733 710 B1 Bezug genommen.

Die Klägerinnen greifen das Streitpatent vollumfänglich an und stützen ihre Klage darauf, dass der Gegenstand des Streitpatents wegen mangelnder erfinderischer Tätigkeit nicht patentfähig sei und nicht so deutlich und vollständig offenbart sei, dass ein Fachmann diesen ausführen könne. Zur Begründung verweisen sie auf folgende Dokumente:

- NK5 M. Hermann et al., European Journal of Biochemistry, 1972, (30), S. 100 bis 106
- NK6 FR 2 511 032 A
- NK7 B. Dauce-Le Reverend et al., European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 1982, (15), S. 227 bis 231
- NK9 Internet-Seite:
www.dsmz.de/microorganisms/html/bacteria.genus/escherichia.html
- NK10 DE 30 27 922 A1
- NK11 J.-W. Oh et al., Biotechnology Letters, 1991, Vol. 13, (10), S. 727 bis 732
- NK12 Methods in Enzymology, 1991, Vol. 194, Kapitel „Making Mutants“, R.S. Sikorski and J.D. Boeke, „In Vitro Mutagenesis and Plasmid Shuffling: From Cloned Gene to Mutant Yeast“, S. 302 bis 318.

Die Klägerinnen beantragen:

das europäische Patent EP 0 733 710 mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig zu erklären.

Die Beklagte beantragt,

die Klage abzuweisen.

Sie tritt dem Vorbringen der Klägerinnen in allen Punkten entgegen und verweist dabei auf folgende Entgegenhaltungen:

- NB1 Escherichia coli and Salmonella, Cellular and Molecular Biology, 1987, (1), Kapitel 28: G.N. Cohen and I. Saint-Girons, „Biosynthesis of Threonine, Lysine and Methionine“, S. 429 bis 444
- NB2 Progress in industrial microbiology, Kodansha Ltd., Tokyo, 1986, (24), Biotechnology of amino acid production, Kapitel 14, O. Tosaka and K. Takinami, „Lysine“, S. 152 bis 172
- NB3 R.D. Brock et al., „The modification of amino acid composition of higher plants by mutation and selection“, 1973, S. 329 bis 338
- NB4 D.M. Halsall, Biochemical Genetics, 1975, (13), S. 109 bis 124, „Overproduction of Lysine by Mutant Strains of Escherichia coli with Defective Lysine Transport Systems.“
- NB5 Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants, American Society of Plant Physiologists, 1992, D.C. Bittel et al., „Characterization of a Lysine-Insensitive Form of Dihydrodipicolinate Synthase from Maize“, S. 322 und 323
- NB6 D.A. Frisch et al., Molecular & General Genetics, 1991, (228), S. 287 bis 293, „Direct genetic selection of a maize cDNA for dihydrodipicolinat synthase in an Escherichia coli daA auxotroph“.

Wegen der weiteren Einzelheiten des Vorbringens der Parteien wird auf den Akteninhalt Bezug genommen.

Entscheidungsgründe:

I.

Die gegen den deutschen Teil des Streitpatents EP 0 733 710 gerichtete und auf den Nichtigkeitsgrund fehlender Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG, Art. 138 Abs. 1 Buchst. a) EPÜ), sowie fehlender Ausführbarkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 2 IntPatÜG, Art. 138 Abs. 1 Buchst. b) EPÜ) gestützte Klage ist zulässig, aber unbegründet und deshalb abzuweisen.

1. Das Streitpatent betrifft ein Verfahren zur Herstellung von L-Lysin durch Fermentation (vgl. NK 1, Abs. [0001] bzw. NK 1a, Abs. [0001]).

Wie einleitend in der Streitpatentschrift ausgeführt wird, werden für die großtechnische Produktion der Aminosäure L-Lysin Fermentationsverfahren verwendet, in denen native Mikroorganismenstämme, aber auch davon abgeleitete, künstlich mutierte Mikroorganismenstämme zum Einsatz kommen. Bakterien der Gattung *Escherichia* sind hierfür aufgrund ihres schnellen Wachstums, sowie der damit verbundenen schnellen L-Lysin-Produktion besonders geeignet. Da die Biosynthese von L-Lysin in diesen Mikroorganismen u. a. durch die Enzyme Aspartokinase III (kurz AKIII) und Dihydrodipicolinatsynthase (kurz DDPS) kontrolliert wird, wurden für die L-Lysin-Produktion *Escherichia*-Stämme generiert, in denen z. B. die Expression der nativen DDPS verstärkt ist. Die Wildtyp-DDPS dieser Stämme unterliegt jedoch einer Rückkopplungshemmung durch L-Lysin, so dass mit diesen Stämmen keine zufriedenstellende L-Lysin-Produktion möglich war. Daraufhin wurden *Escherichia*-Stämme erzeugt, in die das Gen für DDPS aus Bakterien der Gattung *Corynebacterium* eingeführt wurde, da die DDPS dieser Bakterien von Natur aus einer Rückkopplungshemmung durch L-Lysin gegenüber unempfindlich ist. Die Expression eines Gens aus einem heterologen Organismus ist allerdings

stets mit Nachteilen verbunden. So besteht dabei einerseits die Gefahr, dass das Expressionsprodukt vom exprimierenden Organismus enzymatisch abgebaut wird; andererseits wird es als nachteilig angesehen, dass die für den exprimierenden Mikroorganismus üblichen Kultivierungsbedingungen an das heterologe Gen angepasst werden müssen. Darüber hinaus gelten für den Einsatz einer rekombinanten DNA mit einem heterologen Gen striktere Regulierungen, als für eine rekombinante DNA, die ein homologes Gen enthält. Ferner (vgl. NK1, Abs. [0002] bis [0009] bzw. NK1a, Abs. [0002] bis [0012]).

2. Ausgehend von diesen Angaben bezeichnet es die Streitpatentschrift als Aufgabe, DDPS und AKIII aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* mit ausreichend desensibilisierter Rückkopplungshemmung durch L-Lysin zu erhalten und ein Verfahren zur Herstellung von L-Lysin durch Fermentation bereitzustellen, das im Vergleich zum Stand der Technik verbessert ist (vgl. NK1, Abs. [10] bzw. NK1a, Abs. [13]).

3. Gelöst wird diese Aufgabe nach der Lehre des verteidigten Patentanspruchs 1 durch eine DNA mit folgenden Merkmalen:

- (1) DNA,
- (2) die für eine Dihydrodipicolinatsynthase aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* kodiert;
- (3) wobei die DNA eine Mutation besitzt,
- (4) die aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus
 - a) einem Austausch des Alaninrestes 81 gegen einen Valinrest,
 - b) einem Austausch des Histidinrestes 118 gegen einen Tyrosinrest und
 - c) einem Austausch des Alaninrestes 81 gegen einen Valinrest und des Histidinrestes 118 gegen einen Tyrosinrest,jeweils gezählt vom N-Terminus der Aminosäuresequenz der in Sequenz ID NO:3 des Sequenzprotokolls definierten Dihydrodipicolinatsynthase, besteht.

Darüber hinaus wird die Aufgabe jeweils durch das im Patentanspruch 2 und im Patentanspruch 11 genannte Bakterium der Gattung *Escherichia* gelöst.

Eine weitere Lösung der gestellten Aufgabe stellt das im Patentanspruch 12 angegebene Verfahren zur Herstellung von L-Lysin dar.

Ferner wird die Aufgabe durch das im Patentanspruch 13 beschriebene Protein gelöst, das durch die DNA nach Patentanspruch 1 codiert wird.

4. Der zuständige Fachmann ist ein Biochemiker oder Chemiker mit einem fundierten biochemischen Grundlagenwissen, der über mehrjährige Erfahrung in der großtechnischen, fermentativen Herstellung von Stoffen verfügt. Er besitzt demzufolge spezielle Kenntnisse auf dem Gebiet der Biotechnologie, aber auch auf dem Gebiet der Mikro- und Molekularbiologie. Dieser Fachmann kennt die Primär- und Sekundärliteratur in den oben erwähnten Wissenschaftsfeldern und weiß darüber hinaus über die Probleme der einschlägigen Verfahren im Stand der Technik Bescheid.

II.

Das Streitpatent erweist sich als bestandsfähig. Die Klägerinnen haben den Senat weder vom Vorliegen des Nichtigkeitsgrundes mangelnder Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 Buchst. a) EPÜ), noch vom Vorliegen des Nichtigkeitsgrundes der fehlenden Ausführbarkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 2 IntPatÜG, Art. 138 Abs. 1 Buchst. b) EPÜ) überzeugen können.

1. Soweit die Klägerinnen mangelnde Ausführbarkeit der patentgemäßen Lehre geltend machen, da die Ausführungsbeispiele der Streitpatentschrift ausschließlich mit Bakterien vom Typ *E.coli* durchgeführten wurden und daher nicht geeignet seien, um die im Streitpatent offenbarte technische Lehre in ihrer gesamten beanspruchte Breite zu stützen, vermag sich der Senat dieser Auffassung nicht anzuschließen.

Zum einen wird mit den in der Streitpatentschrift genannten Beispielen 3 bis 5 (vgl. NK1a, S. 25 bis S. 28, Beispiel 3 bis 5) ein gangbarer Weg für die Verwirklichung der im Streitpatent offenbarten technischen Lehre aufgezeigt und damit den in den BGH-Entscheidungen „Taxol“ bzw. „Kupplungsvorrichtung II“ festgelegten Erfordernissen ausreichend Rechnung getragen (vgl. BGH GRUR 2001, 813, 817 IV. - Taxol und BGH GRUR 2003, 223, 225 I.4 - Kupplungsvorrichtung II). Zum anderen reichen die von den Klägerinnen geäußerten Zweifel daran, dass alle Bakterien innerhalb der Gattung *Escherichia* exakt gleiche DNA-Sequenzen für Wildtyp- und Mutanten-Gene sowie -Proteine enthalten, nicht aus, um die Ausführbarkeit der im Streitpatent offenbarten technischen Lehre zu verneinen, da der Senat aufgrund der im Streitpatent beschriebenen Ausführungsbeispiele ohne Vorlage von anders lautenden Versuchsergebnissen keinerlei Veranlassung hat, an der Nacharbeitbarkeit der patentgemäßen Lehre zu zweifeln. Vergleichsversuche, die die von den Klägerinnen geäußerten Zweifel bestätigen, wurden jedoch nicht vorgelegt. Mit der Vorlage der NK9 belegen die Klägerinnen lediglich, dass der Gattung *Escherichia* 10 verschiedene Spezies angehören, nicht aber inwieweit sich die einzelnen Spezies in ihren genetischen Eigenschaften voneinander unterscheiden. Im Übrigen stellt die von den Klägerinnen angesprochene Anspruchsbreite keinen Grund dar, das Streitpatent für nichtig zu erklären. Denn selbst wenn die Patentansprüche über einen der Erfindung angemessenen Umfang hinausgehen sollten, füllt dies für sich gesehen keinen der gesetzlichen Nichtigkeitsgründe aus (vgl. BGH GRUR 2004, 47 (III6)- blasenfreie Gummibahn I).

2. Auch kann dem Streitpatent nach Überzeugung des Senats die Neuheit der Gegenstände des Streitpatents nicht abgesprochen werden; sie wurde von Seiten der Klägerinnen im Ergebnis auch nicht bestritten.

2.1. Eine DNA gemäß Patentanspruch 1 des Streitpatents, die für eine Dihydrodipicolinatsynthase aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* codiert und stoffliche Eigenschaften wie unter Merkmal 4 des Patentanspruchs 1 angegeben aufweist, ist in keiner der im Verfahren genannten Druckschriften beschrieben (vgl. Merkmalsanalyse und I.3.).

In der NK5 wird zwar auf eine mutierte Dihydrodipicolinatsynthase hingewiesen, die aufgrund ihrer Mutation gegenüber einer Rückkopplungshemmung durch L-Lysin unempfindlich ist (vgl. NK5, Abstract, Punkt 4). Abgesehen von dieser funktionellen Definition erfolgt in der NK5 allerdings keine stoffliche Charakterisierung dieser Mutante - weder auf der Ebene der für diese Mutante kodierenden Nukleinsäure, noch auf der Ebene des als Dihydrodipicolinatsynthase aktiven Proteins. Zudem wurde die in der NK5 genannte DDPS-Mutante nur in einer Spezies der Bakteriengattung *Pseudomonas*, nicht aber in einem Bakterium der Gattung *Escherichia* nachgewiesen (vgl. NK5, S. 103, re. Sp., erster Abs. dritter und vierter vollständiger Satz sowie S. 105, re. Sp., erster vollst. Abs.). Eine DNA wie sie im Patentanspruch 1 des Streitpatents definiert ist, wird in der Entgegenhaltung NK5 demzufolge nicht beschrieben.

Die Entgegenhaltungen NK6 und NK7 offenbaren *E.coli*-Mutanten, in denen stets das native, für die Dihydrodipicolinatsynthase kodierende *dapA*-Gen überexprimiert wird (vgl. NK6, S. 5, Z. 20 bis 32 i. V. m. Ansprüchen 1 und 5 bzw. NK7, S. 227, li. Sp., „Summary“ und S. 228 re. Sp. letzter Abs. bis S. 229, li. Sp., zweiter Abs. bis Satz 3). Mutationen des *dapA*-Gens bzw. des davon abgeleiteten, als Dihydrodipicolinatsynthase aktiven Enzyms werden in diesen Entgegenhaltungen folglich nicht genannt. Demzufolge handelt es sich weder bei der NK6, noch bei der NK7 um Stand der Technik, der die im Patentanspruch 1 des Streitpatents genannte DNA neuheitsschädlich vorwegnimmt.

Für die fermentative Herstellung von L-Lysin wird in der NK 10 ein gentechnisch veränderter *E.coli* Stamm verwendet, in den zusätzlich ein Hybridplasmid eingebracht wird, welches die genetische Information für die L-Lysin-Synthese enthält, die aus einem gegen L-Lysin-Analoga resistenten Mikroorganismus stammt (vgl. NK10, Patentanspruch 1 i. V. m. S. 5, dritter Abs. und Beispiel 1, S. 8 bis 11). Der Druckschrift NK10 ist allerdings weder zu entnehmen, welche Gene in dem eingesetzten *E.coli* Stamm mutiert sind, noch welche Mutationen die eingesetzte Hybrid-DNA enthält. Demzufolge sind auch in der Druckschrift NK10 keine DNA-Mut-

anten mit den im Patentanspruch 1 des Streitpatents genannten Merkmalen angegeben.

Derartige Mutanten werden auch in der NK11 nicht offenbart. Denn die darin beschriebene L-Lysin-Überproduktion basiert auf einem E.coli-Stamm, in dem das native dapA-Gen aus dem Corynebacterium glutamicum in erhöhter Menge exprimiert wird (vgl. NK11, S. 727, Summary). Ein gentechnisch verändertes, homologes dapA-Gen, das aus dem Bakterium Escherichia coli stammt, ist in der NK11 daher nicht offenbart.

Die NK12 vermag die Neuheit der im Patentanspruch 1 beschriebenen DNA schon deshalb nicht in Frage zu stellen, weil das Dokument ausschließlich mit der in vitro Mutagenese von Hefezellen befasst ist und mutierte Bakteriengene darin somit nicht beschrieben werden.

2.2 Die in den nebengeordneten Patentansprüchen 2 und 11 beschriebenen Bakterien sind gegenüber dem zitierten Stand der Technik ebenfalls neu, da diese die DNA nach Patentanspruch 1 enthalten.

2.3 Dies gilt gleichermaßen für das Verfahren nach Patentanspruch 12, da in diesem die Bakterien der Patentansprüche 2 und 11 verwendet werden.

2.4 Auch das im Patentanspruch 13 beschriebene Protein, das von der im Patentanspruch 1 genannten DNA codiert wird, ist im Hinblick auf den entgegengehaltenen Stand der Technik neu. Denn wie vorstehend zum Patentanspruch 1 des Streitpatents ausgeführt, wird in keiner der Entgegenhaltungen eine aus einem Bakterium der Gattung Escherichia stammende und für eine Dihydrodipicolinatsynthese codierende DNA beschrieben, die die unter Merkmal 4 des Patentanspruchs 1 genannten Mutationen aufweist.

3. Die Gegenstände des Streitpatents beruhen auch auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Die Bereitstellung einer mutierten, für eine Dihydrodipicolinatsynthase aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* codierenden DNA wie im Patentanspruch 1 des Streitpatents angegeben, wird durch den im Verfahren genannten Stand der Technik nicht nahe gelegt.

3.1 Bei der Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit ist von der dem Streitpatent objektiv zugrunde liegenden Aufgabe auszugehen, eine effiziente Produktion von L-Lysin in Bakterien der Gattung *Escherichia* ohne den in der Streitpatentschrift als nachteilig geschilderten Einsatz heterologer Gene zu ermöglichen. Soweit in der Streitpatentschrift der Erhalt der Enzyme DDPS und AK III aus einem Bakterium der Gattung *Escherichia* in die Formulierung der Aufgabe mit einbezogen ist (vgl. NK1, Abs. [10] bzw. NK1a, Abs. [13]), handelt es sich um Lösungsmerkmale, die bei der Aufgabe nicht zu berücksichtigen sind. Es ist gerade die Leistung der Erfindung, dass mit den patentgemäßen *E.coli*-Bakterien homologe Gene für die Enzyme DDPS und AK III eingesetzt werden, mit denen - obwohl sie bei der L-Lysinbiosynthese normalerweise limitierende Faktoren darstellen - L-Lysinmengen produziert werden können, die sonst nur mit *E.coli*-Bakterien erreicht werden, die heterologe Gene für die DDPS und/oder AK III enthalten.

Auch von einer Aufgabe, wie sie in der mündlichen Verhandlung von den Klägerinnen, aber auch der Beklagten formuliert wurde, nämlich einer Verbesserung im Sinne einer Steigerung der L-Lysinproduktion in *E.coli*, kann nicht ausgegangen werden, da eine Produktivitätssteigerung im Streitpatent weder ausdrücklich erwähnt, noch in den patentgemäßen Ausführungsbeispielen zahlenmäßig belegt wird. So wird in der Streitpatentschrift für die patentgemäßen *E.coli*-Stämme eine Produktivität angegeben, die im Bereich der Produktivität bekannter Lysinproduzierender *E.coli*-Stämme liegt (vgl. NK1a, S. 27, Tabelle 6 und vgl. z. B. NK11, S. 731, Tabelle 3, letzte Zeile). Die Aufgabe, vor die sich der Fachmann angesichts des Standes der Technik und der hinsichtlich der Expression eines Gens aus einem heterologen Organismus geschilderten Nachteile gestellt sah, liegt vielmehr in der Bereitstellung einer weiteren Möglichkeit der effizienten Produktion

von L-Lysin in Bakterien der Gattung *Escherichia* unter Vermeidung heterologer Gene.

3.2. Für die Lösung dieser Aufgabe durch die Lehre des Streitpatents, die in ihrem wesentlichen Gedanken darauf beruht, dass eine effiziente Produktion von L-Lysin mit Bakterien der Gattung *Escherichia* unter den für diese Bakterien vorteilhaften Kultivierungsbedingungen möglich ist, wenn die Bakterien ausschließlich homologe Mutanten der Enzyme AK III und DDPS enthalten, die keiner Rückkopplungshemmung durch L-Lysin unterliegen (vgl. NK1, Abs. [0009], dritter Satz bzw. NK1a, Abs. [0012], dritter Satz), findet sich im gesamten aufgeführten Stand der Technik kein Vorbild.

Einen Ausgangspunkt zur Lösung der Aufgabe stellt das Dokument NK11 dar. Dieses Dokument ist mit der Verbesserung der L-Lysin-Produktion in *E.coli*-Bakterien befasst (vgl. NK11, Titel). Im Hinblick auf diese Zielsetzung wurde von den Autoren der NK11 ein *E.coli*-Stamm entwickelt, der eine Aspartokinase III (AK III) sowie eine Dihydrodipicolinatsynthase (DDPS) besitzt, die beide gegenüber einer Hemmung durch L-Lysin unempfindlich sind (vgl. NK11, S. 731, Tabelle 3, *E.coli*-Stamm TF1 mit Plasmid pDHDP5812). Die L-Lysin-Unempfindlichkeit der AK III geht in diesem Mikroorganismus auf eine nicht näher definierte Mutation im homologen, für die Aspartokinase III codierenden *lysC*-Gen zurück (vgl. NK11, S. 731, erster Abs.). Dagegen basiert die L-Lysin-Unempfindlichkeit der DDPS in diesem *E.coli*-Stamm darauf, dass das homologe, für die DDPS codierende *dapA*-Gen durch das *dapA*-Gen aus *Corynebacterium glutamicum* (*C.glutamicum*) ersetzt wurde (vgl. NK11, S. 730, zweiter Abs.). Damit weisen die Autoren der NK11 zwar darauf hin, dass nicht nur eine L-Lysin-Unempfindlichkeit der AK III, sondern auch der DDPS bei der fermentativen Herstellung von L-Lysin in *E.coli* eine entscheidende Rolle spielt. Um die *E.coli*-Bakterien mit einer entsprechend unempfindlichen Dihydrodipicolinatsynthase auszustatten, setzen die Autoren der NK11 im Unterschied zur streitpatentgemäßen Lehre allerdings nicht wie im Falle der AK III auf ein gentechnisch verändertes homologes Gen, sondern auf das heterologe *dapA*-Gen aus *C.glutamicum*, welches für eine DDPS codiert, die von Natur aus

gegenüber L-Lysin unempfindlich ist (vgl. NK11, S. 730, letzter Satz oberhalb von Tabelle 2). Selbst im Hinblick auf die gegenüber L-Lysin unempfindliche Aspartokinase III erachten es die Autoren der NK11 als nachteilig hierfür ein mutiertes, homologes lysC-Gen zu verwenden, da sie eine bessere L-Lysin-Produktion in E.coli erwarten, wenn an Stelle des homologen lysC-Gens das lysC-Gen aus C.glutamicum im E.coli-Stamm exprimiert wird (vgl. NK11, S. 731/732, seitenübergreifender Satz). Demzufolge steht die in der Entgegenhaltung NK11 vermittelte technische Lehre im diametralen Gegensatz zum Streitpatent. Denn in der NK11 wird es als vorteilhaft angesehen, für eine L-Lysin-Überproduktion einen E.coli-Stamm zu verwenden, der ein oder mehrere heterologe Gene aus C.glutamicum enthält, während die Lehre des Streitpatents auf Mutationen in den homologen Genen des L-Lysin produzierenden E.coli-Stammes basiert. Demzufolge wird in der NK11 weder ein mutiertes E.coli dapA-Gen angesprochen, noch erhält der Fachmann darin einen Hinweis, dass durch die Mutation dieses Gens die L-Lysin-Produktion in E.coli verbessert werden kann. Das Dokument NK11 vermag dem Fachmann somit keine Anregung dahingehend zu vermitteln, zur Lösung der dem Streitpatent zugrunde liegenden Aufgabe eine DNA bereitzustellen, die für eine Dihydrodipicolinatsynthase aus einem Bakterium der Gattung Escherichia codiert und die die im Patentanspruch 1 des Streitpatents unter Merkmal 4 genannten Mutationen aufweist.

Eine entsprechende Lehre wird dem Fachmann auch durch eine Zusammenschau der NK11 mit den weiteren im Verfahren genannten Entgegenhaltungen nicht vermittelt.

Für eine Überproduktion von L-Lysin werden in der NK5 u.a. sogenannte Doppelmutanten des Bakteriums Pseudomonas acidovorans (P.acidovorans) verwendet, deren Aspartokinase und Dihydrodipicolinatsynthase gegenüber einer Rückkopplungshemmung durch L-Lysin unempfindlich sind (vgl. NK5, S. 100, Abstract, Punkt 4). Die Aufhebung der Rückkopplungshemmung dieser beiden Enzyme wird in der NK5 als wichtig angesehen, da beide Enzyme bei der L-Lysin-Biosynthese entscheidende Kontrollpunkte darstellen (vgl. NK5, S. 105, re. Sp., Abschnitt „Dis-

cussion“, Z. 1 bis 13). In diesem Zusammenhang wird zwar darauf hingewiesen, dass die Dihydrodipicolinatsynthase nicht nur in Bakterien der Gattung *Pseudomonas* einer solchen L-Lysin-Rückkopplungshemmung unterliegt, sondern auch in anderen, ebenfalls gram-negativen Bakterien wie z. B. *E.coli* (vgl. NK5, S. 105, re. Sp., Abschnitt „Discussion“, Z. 11 bis 17). Weitere Schlüsse werden aus dieser Information in der NK5 jedoch nicht gezogen. Auch Untersuchungen, in denen an Stelle eines Bakteriums der Gattung *Pseudomonas* ein Bakterium aus der Gattung *Escherichia* verwendet worden wäre, liegen in der NK5 nicht vor.

Nach Ansicht der Klägerinnen liefern die Aussagen in der NK5 dem Fachmann jedoch eine Anregung dahingehend, dass für eine fermentative L-Lysin-Produktion nicht nur die in der NK5 beschriebenen Doppelmutanten des Bakteriums *P.acidovorans* als vorteilhaft anzusehen seien, sondern auch entsprechende *E.coli* Doppelmutanten.

Dieser Argumentation der Klägerinnen kann sich der Senat nicht anschließen. Denn wie der Druckschrift NB2 zu entnehmen ist, sind die Biosynthesewege für L-Lysin in Bakterien, die unterschiedlichen Gattungen angehören, zwar stets identisch, nicht aber die Regulation dieser Biosynthesewege (vgl. NB2, S. 160). Somit wird der Fachmann die in der NK5 enthaltenen Aussagen für *P.acidovorans* nicht 1:1 auf *E.coli* übertragen. Er wird dies auch deshalb nicht in Betracht ziehen, weil die beiden in der NK5 untersuchten Bakterien vom Typ *P.acidovorans* und *P.putida* - die der gleichen Gattung angehören - im Bezug auf die Inhibition ihrer Aspartokinase bereits ein unterschiedliches Verhalten aufweisen. So wird die Aspartokinase in *P.putida* von der Aminosäure Lysin bzw. Threonin gehemmt, wohingegen die Aspartokinase in *P.acidovorans* nur durch eine Kombination von Lysin und Threonin gehemmt wird (vgl. NK5, S. 102, li. Sp., Abschnitt „Results“, erster Abs. i. V. m. Tabelle 1). Die NK5 bietet dem Fachmann folglich keine Grundlage dafür, die in dieser Entgegnung für das Bakterium *P.acidovorans* beschriebenen Erkenntnisse auf Bakterien der Gattung *Escherichia* zu übertragen, weshalb die Angaben in der NK5 den Fachmann - auch unter Berücksichtigung

der Ausführungen in der NK11 - nicht dazu veranlassen werden, eine DNA wie im Patentanspruch 1 des Streitpatents beschrieben, bereitzustellen.

Entsprechende Hinweise finden sich auch im Dokument NK7 nicht, bei dem es sich um einen wissenschaftlichen Beitrag der Autoren B. Dauce-Le Reverend et al. im *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* aus dem Jahr 1982 handelt. Denn die Autoren dieser Entgegnung vertreten den Standpunkt, dass es für eine effiziente L-Lysin-Produktion nicht darauf ankommt, die L-Lysin-Inhibition der beiden Enzyme AK III und DDPS aufzuheben. Ihrer Ansicht nach ist es ausreichend nur die L-Lysin-Empfindlichkeit des ersten Enzyms im L-Lysin-Biosyntheseweg aufzuheben - nämlich der AK III - während sie es im Zusammenhang mit der DDPS als vorteilhaft ansehen, die Konzentration dieses Enzym trotz seiner vorhandenen L-Lysin-Empfindlichkeit zu erhöhen (vgl. NK7, 227, Summary i. V. m. S. 228, re. Sp., Abschnitt „Results“ bis S. 229, li. Sp., erster Abs.). Demzufolge liefert die NK7 dem Fachmann keinerlei Anregungen dahingehend, das für die DDPS codierende *dapA*-Gen in irgendeiner Form gentechnisch zu verändern. Derartige Anregungen finden sich in der NK7 auch deshalb nicht, weil darin trotz einer erhöhten Aktivität der nativen *E.coli* DDPS eine L-Lysin-Überproduktion erreicht werden konnte, was die Autoren der NK7 darauf zurückführen, dass die Effizienz der L-Lysin-Inhibition bei der DDPS *in vivo* nicht so stark ausgeprägt ist, wie ursprünglich angenommen (vgl. NK7, S. 230, re. Sp., erster Abs., vorletzter Satz). Darüber hinaus weisen die Autoren der NK7 darauf hin, dass alle bis dato unternommenen Versuche eine Mutante des *dapA*-Gens zu isolieren, die für eine gegenüber der L-Lysin-Inhibition unempfindliche *E.coli* DDPS codiert, gescheitert sind (vgl. NK7, S. 230, re. Sp., erster Abs., letzter Satz). Nach Überzeugung des Senats geht somit auch von dieser Entgegnung keinerlei Anregung in Richtung der Lehre des Streitpatents aus.

Nicht überzeugend ist für den Senat der Einwand der Klägerinnen, eine Zusammenschau der Druckschriften NK5 und NK7 vermittele bereits die Lehre, dass die Enzyme DDPS und AK III nicht nur in *Pseudomonas*-Bakterien, sondern auch in *E.coli* einer Rückkopplungshemmung durch gebildetes L-Lysin unterlägen und es

in Kenntnis dessen für den Fachmann unter Heranziehen seines allgemeinen Fachwissens auf dem Gebiet der Mutagenese und Selektionstechniken somit naheliegend sei E.coli-Mutanten zu erzeugen, in denen aufgrund ihrer genetischen Information die Rückkopplungshemmung der AK III und DDPS durch L-Lysin eliminiert sei.

Es mag zwar zutreffend sein, dass die Maßnahmen, die im Streitpatent ergriffen worden sind, um die Gen-Mutanten nach Patentanspruch 1 bereitzustellen, durchaus dem Wissen und Können des Fachmanns zuzurechnen sind (vgl. NK1a, Abs. [0172] bis [0191]). Wie in der NK7 angesprochen, war es dem Fachmann bis zum Jahr 1982 allerdings dennoch nicht gelungen derartige Mutanten zu isolieren (vgl. NK7, S. 230, re. Sp., erster Abs., letzter Satz), obwohl ihm zu diesem Zeitpunkt bereits die im Streitpatent angewandte Selektionsstrategie bekannt war, die auf dem Einsatz des L-Lysin-Analogons Aminoethylcystein (AEC) basiert und mit der in der NK5 Pseudomonas Doppelmutanten, die sowohl eine L-Lysin unempfindliche Aspartokinase als auch Dihydrodipicolinatsynthase enthielten, nachgewiesen werden konnten (vgl. NK5, S. 102, li. Sp., Absatz „Analog-Resistant Mutants“). In der 2 Jahre vor dem Prioritätstag des Streitpatents und damit im Jahr 1991 veröffentlichten Druckschrift NK11 wird diese AEC-basierte Selektionsstrategie ebenfalls eingesetzt, um E.coli-Mutanten mit einer gegenüber L-Lysin desensibilisierten AK III zu identifizieren (vgl. NK11, S. 728, Abschnitt „Materials and Methods“, erster Abs.). Entsprechend desensibilisierte DDPS-Mutanten wurden mit dieser Methode dabei allerdings nicht gefunden, weshalb die Autoren der NK11 bei der L-Lysin-Überproduktion nach wie vor nicht auf E.coli-Stämme mit einer homologen DDPS setzen, deren Rückkopplungshemmung durch L-Lysin gentechnisch eliminiert wurde, sondern auf E.coli-Stämme, in denen das für die DDPS codierende *dapA*-Gen aus einem heterologen Organismus stammt (vgl. NK 11, Titel). Demzufolge vermittelt der Stand der Technik dem Fachmann keine hinreichenden Erfolgsaussichten in E.coli enthaltene *dapA*-Genmutanten, die für eine gegenüber L-Lysin desensibilisierte DDPS codieren, tatsächlich bereitstellen zu können. Darüber hinaus wird der Fachmann die in der NK5 für Pseudomonas-Bakterien offenbarten Erkenntnisse aus den bereits zuvor genannten Gründen nicht auf Bakterien

der Gattung *Escherichia* übertragen. Eine DNA wie im Patentanspruch 1 des Streitpatents beschrieben, lässt sich somit auch aus der gemeinsamen Lehre der Druckschriften NK5 und NK7 nicht ableiten, da diese Dokumente dem Fachmann keinerlei Veranlassung liefern, eine solche DNA als vorteilhaft anzusehen.

Auch der Inhalt der NK6 lässt keine über den Inhalt der NK7 hinausgehenden, zur beanspruchten DNA hinführenden Gesichtspunkte erkennen, da drei Autoren der NK7 die Entgeghaltung NK6 nur zwei Jahre vor der NK7 verfasst haben, so dass die beiden Dokumente nahezu inhaltsgleich sind. Demzufolge führen die Ausführungen in der NK6 zu keiner anderen Beurteilung der Sachlage.

Bei der NK10 handelt es sich um eine Patentanmeldung der Beklagten aus dem Jahr 1980, in der lediglich ein L-Lysin bildender Mikroorganismus vom Typ *E.coli* beschrieben wird, in den ein Hybridplasmid eingeführt wurde, welches von einem Donorstamm abgeleitet ist, der gegenüber L-Lysin-Analogen eine Resistenz aufweist (vgl. NK10, Ansprüche 1 bis 17). Demnach vermag auch diese Entgeghaltung eine DNA wie im Patentanspruch 1 beschrieben, nicht nahe zu legen.

Auch die Berücksichtigung der NK12 bleibt ohne Auswirkungen auf die Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit. Denn wie bereits unter Punkt II. 2.1.1 ausgeführt, ist diese Entgeghaltung mit den Techniken der *in vitro* Mutagenese bei Hefezellen befasst, so dass darin die Bakteriengenetik und damit die Genetik von Prokaryonten wie *E.coli* keine Rolle spielt.

Angesichts dieses Standes der Technik hatte der Durchschnittsfachmann somit keine Veranlassung DNA-Mutanten bereitzustellen, die für eine gegenüber L-Lysin unempfindliche *E.coli*-DDPS codieren, da diese im Stand der Technik ohne Vorbild sind. Denn im Stand der Technik kommen entweder native *dapA*-Gene aus heterologen Organismen zum Einsatz, die für eine von Natur aus gegenüber einer Rückkopplungshemmung durch L-Lysin unempfindliche DDPS codieren, oder die Enzymkonzentration der nativen Dihydrodipicolinatsynthase, die nach wie vor ei-

ner L-Lysin-Inhibition unterliegt, wird im Mikroorganismus durch eine Plasmid-gestützte Amplifikation des homologen *dapA*-Gens erhöht.

Um zu der im Patentanspruch 1 des Streitpatents beschriebenen DNA zu gelangen, musste der Fachmann somit erfinderisch tätig werden. Der Gegenstand gemäß Patentanspruch 1 wird daher vom Stand der Technik nicht nahe gelegt. Der Patentanspruch ist demzufolge rechtsbeständig.

3.3. Für die erfinderische Tätigkeit der in den nebengeordneten Patentansprüchen 2 und 11 beschriebenen Bakterien gelten die im einzelnen zur DNA nach Patentanspruch 1 dargelegten Gründe entsprechend, da diese Bakterien mit der patentgemäßen DNA transformiert wurden. Die auf den Patentanspruch 2 rückbezogenen Patentansprüche 3 bis 10 haben mit diesem Bestand.

3.4. Die vorangegangenen Ausführungen zur DNA nach Patentanspruch 1 gelten sinngemäß auch für das im Patentanspruch 12 beschriebene Verfahren, sowie das im Patentanspruch 13 genannte Protein, welches von der DNA nach Patentanspruch 1 codiert wird.

Im Hinblick auf die Patentfähigkeit des Verfahrens nach Patentanspruch 12 kann es entgegen der Auffassung der Klägerinnen dahinstehen, ob mit diesem Verfahren die L-Lysin-Produktivität im Vergleich zu den bekannten Fermentationsverfahren gesteigert werden konnte oder nicht. Denn die Bereitstellung dieses Verfahrens stellt einen Beitrag zum Stand der Technik dar, auf Grund dessen eine L-Lysin-Produktion in *Escherichia*-Bakterien möglich geworden ist, bei der die im Stand der Technik bekannten Nachteile, die auftreten, wenn Mikroorganismen mit heterologer DNA für die L-Lysin-Produktion verwendet werden, nicht mehr auftreten (vgl. NK1a, Abs. [0012]). Demzufolge basiert auch das Herstellungsverfahren nach Patentanspruch 12 auf erfinderischer Tätigkeit.

III.

Die Kostenentscheidung beruht auf § 84 Abs. 2 Satz 2 1. Halbs. PatG i. V. m. § 91 Abs. 1 ZPO, die Entscheidung über die vorläufige Vollstreckbarkeit folgt aus § 99 Abs. 1 PatG i. V. m. § 709 Satz 1 und Satz 2 ZPO.

Dr. Schermer Engels Dr. Proksch-Ledig Dr. Schuster Dr. Münzberg

prä