



BUNDESPATENTGERICHT

14 W (pat) 37/03

(Aktenzeichen)

Verkündet am
21. April 2006

...

BESCHLUSS

In der Beschwerdesache

betreffend die Patentanmeldung 199 60 225.5-41

...

hat der 14. Senat (Technischer Beschwerdesenat) des Bundespatentgerichts auf die mündliche Verhandlung vom 14. März 2006 unter Mitwirkung ...

beschlossen:

Der angefochtene Beschluss wird aufgehoben und das Patent erteilt.

Bezeichnung: Kristallines, in der asymmetrischen Einheit mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub-)Domaine eines humanen m-Calpains aufweisendes Polypeptid, Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen unter dessen Verwendung, Verfahren zu dessen Kristallisation und Verfahren zur Darstellung einer 3-dimensionalen Struktur dieses Peptids.

Anmeldetag: 14. Dezember 1999

Der Erteilung liegen folgende Unterlagen zugrunde:

Patentansprüche 1 bis 18,
überreicht in der mündlichen Verhandlung vom 14. März 2006,

Beschreibungsseiten 1, 5 bis 25, 29, 30, 33, 34, 38, 39 und 47,
eingegangen am 3. April 2006,

Beschreibungsseiten 2 bis 4, 26 bis 28, 31, 32, 35 bis 37, 40 bis 46 und 48 bis 56, eingegangen am 14. Dezember 1999,

Figuren 1 bis 12, eingegangen am 14. Dezember 1999.

Gründe

I.

Mit Beschluss vom 7. April 2003 hat die Prüfungsstelle für Klasse C 12 Q des Deutschen Patent- und Markenamtes die Patentanmeldung 199 60 225.5-41 mit der Bezeichnung

„Raum- oder Kristallform mindestens eines Polypeptids pro asymmetrischer Einheit, enthaltend mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub)-Domäne eines Calpains“

gemäß Hauptantrag und den Hilfsanträgen 1 bis 7 zurückgewiesen.

Die Zurückweisung ist im Wesentlichen damit begründet, dass die mit den jeweiligen Patentansprüchen 1 gemäß Hauptantrag und den Hilfsanträgen 1 bis 6 beanspruchten Raumformen keine Erfindung im Sinne des § 1 (1) und (2) i. V. m. § 9 Satz 2 Nr. 1 PatG darstellten und die mit den nebengeordneten Patentansprüchen 24 bis 33 und 42 bis 49 gemäß Hilfsantrag 7 beanspruchten Produkte nicht die Anforderungen des § 34 (4) PatG und § 5a (1) PatAnmV erfüllten.

Gegen diesen Beschluss richtet sich die Beschwerde der Anmelderinnen, mit der sie ihr Patentbegehren auf der Grundlage der in der mündlichen Verhandlung überreichten Patentansprüche 1 bis 18, einer hieran angepassten Beschreibung sowie Figuren weiterverfolgen. Die unabhängigen Patentansprüche 1, 5, 11, 13, 14 und 18 haben folgenden Wortlaut:

1. Kristallines Polypeptid, **dadurch gekennzeichnet**, dass die an der Katalyse beteiligte Calpain-Sub-Domäne IIa (Sequenzabschnitt T93 bis G209) und/oder IIb (Sequenzabschnitt G210 bis N342) des mindestens einen Polypeptids

pro asymmetrischer Einheit die Strukturkoordinaten nach Figur 10 für die vorgenannten Aminosäuren aufweist.

5. Verfahren zur Identifizierung einer Verbindung mit der Eigenschaft, als Substrat, Pseudo-Substrat, Aktivator oder Inhibitor einer neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinase (Calpain) zu wirken, **dadurch gekennzeichnet**, dass die
 - (a) eine Raumform mindestens eines Polypeptids, wobei mindestens ein Polypeptid in der Raumform mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub)-Domäne eines Proteins aus der Familie der neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinasen (Calpaine) enthält, bereitgestellt wird,
 - (b) die Strukturkoordinaten der Raum- oder Kristallform dreidimensional dargestellt werden,
 - (c) sterische Eigenschaften und/oder funktionelle Gruppen einer Verbindung so gewählt werden, dass Wechselwirkungen zwischen der Verbindung und den Haupt- und/oder Seitenketten des Polypeptids in dem Bindungsbereich entstehen und
 - (d) die gemäß (c) erhaltene Verbindung in das aktive Zentrum der katalytischen Sub-Domäne(n) oder in einen für die Regulation des aktiven Zentrums relevanten Abschnitt des Polypeptids eingefügt wird.

11. Verfahren zur Identifizierung einer Verbindung mit der Eigenschaft als Substrat, Pseudosubstrat, Aktivator oder Inhibitor einer neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinase (Calpaine) zu wirken, **dadurch gekennzeichnet**, dass
 - (a) ein biologisches Testsystem für ein Substrat,

- Pseudosubstrat, Aktivator und/oder Inhibitor von Calpain etabliert wird,
- (b) eine als Substrat, Pseudosubstrat, Aktivator und/oder Inhibitor von Calpain wirkende Verbindung durch ein biologisches Testsystem gemäß (a) ermittelt wird,
 - (c) die Konformation der Verbindung bestimmt wird,
 - (d) die Strukturkoordinaten mindestens eines Polypeptids aus einer Raumform mindestens eines Polypeptids, wobei mindestens ein Polypeptid in der Raumform mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub)-Domäne eines Proteins aus der Familie der neutralen Ca-aktivierten Cysten-Proteinasen (Calpaine) enthält, dargestellt werden und
 - (e) die gemäß (b) und (c) erhaltene Struktur der Verbindung in die gemäß (d) erhaltene Struktur des aktiven Zentrums der katalytischen Sub-Domäne(n) oder eines für die Regulation des aktiven Zentrums relevanten Abschnitts des Polypeptids eingefügt wird.
13. Verfahren zur Herstellung eines Kristalls mit einer Kristallform mindestens eines humanen Polypeptids, wobei mindestens ein Polypeptid in der Kristallform mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub)-Domäne eines Proteins aus der Familie der neutralen humanen Ca-aktivierten Cystein-Proteinasen (Calpaine) enthält, **dadurch gekennzeichnet**, dass
- (a) das Polypeptid in einem Expressionssystem über exprimiert wird,
 - (b) das gemäß (a) Polypeptid in einem geeigneten Puffersystem gelöst wird und
 - (c) die Kristallisierung durch Dampfdiffusionsverfahren eingeleitet wird.

14. Verfahren zur Darstellung einer 3-dimensionalen Struktur eines Polypeptids oder eines Komplexes unbekannter Struktur, enthaltend mindestens ein Polypeptid, das mindestens eine an der Katalyse beteiligte Domäne eines Proteins aus der Familie der neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinasen (Calpaine) enthält, **dadurch gekennzeichnet**, dass die unbekannte Struktur des Polypeptids oder Komplexes auf der Basis einer bekannten Raum- oder Kristallform mindestens eines Polypeptids, wobei mindestens ein Polypeptid in der Raum- oder Kristallform mindestens eine an der Katalyse beteiligte (Sub)-Domäne eines Proteins aus der Familie der neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinasen (Calpaine) enthält, ermittelt wird.

18. Verfahren zur Identifizierung eines Substrats, Pseudosubstrats, Aktivators oder Inhibitors einer neutralen Ca-aktivierten Cystein-Proteinase (Calpain) unbekannter 3D-Struktur, **dadurch gekennzeichnet**, dass
 - (a) die unbekannte 3D-Struktur des Polypeptids nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 17 ermittelt wird und
 - (b) mit Hilfe eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 5 bis 12 eine Verbindung mit der Eigenschaft, als Inhibitor, Pseudosubstrat, Aktivator oder Substrat des Polypeptids unbekannter 3-Struktur zu wirken, ermittelt wird.

Die rückbezogenen Patentansprüche 2 bis 4, 6 bis 10, 12 sowie 15 bis 17 sind auf Weiterbildungen der jeweils in Bezug genommenen, vorstehend genannten unabhängigen Patentansprüche gerichtet.

Zur Begründung ihrer Beschwerde haben die Anmelderinnen vorgetragen, dass ein kristallines Polypeptid, wie es mit dem nunmehr geltenden Patentanspruch 1 angegeben werde, neu sei und seine Bereitstellung auch auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhe. Den Anmelderinnen sei es erstmals gelungen, ein Verfahren zur Herstellung solcher Kristalle von humanem m-Calpain in seinem aktivierten Zustand bereitzustellen, die für die Aufklärung der Tertiärstruktur geeignet seien. Zwar sei die Primärstruktur von humanem m-Calpain unstreitig bekannt gewesen. Unbekannt dagegen sei dessen Erscheinungsform als Kristall gewesen. Die Bereitstellung von geeigneten Kristallen, insbesondere von humanem m-Calpain in dessen aktiver Form, sei aber erforderlich, weil dieses Polypeptid ein interessantes Target für die medizinische Forschung zur Entwicklung von Arzneimitteln darstelle. Nachdem in keiner der Entgegenhaltungen

- (1) Lehninger, Nelson und Cox, Prinzipien der Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag GmbH (1998), 2. Aufl., S. 66 bis 67 und S. 177 bis 222
- (5) Acta Crystallographica Section D, D55, 1999, S. 1484 bis 1486
- (6) Nature Structural Biology 1997, Vol. 4, S. 532 bis 538
- (7) Nature Structural Biology, 1997, Vol. 4, S. 539 bis 547

ein Verfahren genannt werde, das dazu geeignet sei, im Falle des humanen m-Calpains zu verwertbaren Kristallen zu führen, handle es sich bei dem gemäß Anmeldung angewendeten Kristallisationsverfahren nicht um die einfache Übertragung an sich bekannter Verfahren. Vielmehr weise dieses erheblich vom Stand der Technik abweichende Bedingungen auf. So würden alleine schon gänzlich andere Ingredienzien zur Herstellung des Systems verwendet, aus dem die Kristallisation erfolge. Die aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren könnten auch deshalb nicht als Vorlage zur Kristallisation anderer Polypeptide dienen, weil be-

reits geringste Abweichungen in der Aminosäuresequenz eine Veränderung der Bedingungen erforderten.

Im Prüfungsverfahren waren darüber hinaus noch folgende Entgegnungen genannt worden:

- (2) WO 96/40907 A1
- (3) WO 00/23603 A2
- (4) Datenbank: Registry, CA auf STN: RN 104709-48-0 i. V. m. CA, AN:106:44884 und CA AN:105:166104
- (8) J. Mol. Biol., 1996, 261, S. 470 bis 489
- (9) J. Mol. Biol., 1995, 245, S. 43 bis 53

Die Anmelderinnen beantragen,

den angefochtenen Beschluss aufzuheben und das Patent auf der Grundlage der in der mündlichen Verhandlung überreichten Patentansprüche 1 bis 18 sowie den nachgereichten angepassten Beschreibungsunterlagen vom 31. März 2006 zu erteilen.

Wegen weiterer Einzelheiten wird auf den Akteninhalt verwiesen.

II.

Die Beschwerde der Anmelderinnen ist zulässig und führt zu dem im Tenor des Beschlusses angegebenen Ergebnis.

1. Die geltenden Patentansprüche sind zulässig. Die Patentansprüche 1 bis 4 gehen aus den ursprünglich eingereichten Patentansprüchen 20 bis 23 hervor. Die Patentansprüche 5 bis 18 gehen auf die ursprünglich eingereichten Patentansprü-

che 35 bis 42 und 44 bis 49 i. V. m. dem ursprünglich eingereichten Patentanspruch 1 zurück.

2. Das die Calpain-Sub-Domänen IIa (Sequenzabschnitt T93 bis G209) und/oder IIb (Sequenzabschnitt G210 bis N342) aufweisende kristalline Polypeptid gemäß Patentanspruch 1 ist neu. In keiner der Entgegenhaltungen wird humanes m-Calpain in kristalliner Form beschrieben.

Gemäß ständiger Rechtsprechung, sind Stoffe besonderer Beschaffenheit dann gegenüber anderen Stoffen gleicher chemischer Konstitution als neu anzusehen, wenn sie bis dahin für den Fachmann nicht ohne weiteres herstellbar waren (vgl. Benkard 9. Aufl. § 1 Rdn. 86, BPatGE 20, 6 sowie Hirsch GRUR 1978 263 bis 269). Dieses trifft im vorliegenden Fall zu. Wie im einleitenden Teil der geltenden Beschreibung S. 5 Abs. 3 im Zusammenhang mit der Veröffentlichung von Masamoto et al., J. Biochem 1998, 124, S. 957 bis 961 ausgeführt wird und darüber hinaus auch von den Anmelderinnen im Rahmen der mündlichen Verhandlung eingeräumt worden ist, waren im Zusammenhang mit humanem m-Calpain zum Anmeldetag dessen Primärstruktur bekannt. Mit dieser Veröffentlichung sind jedoch keine Angaben hinsichtlich einer Methode zur Kristallisation dieses Polypeptides in seiner aktiven Form verbunden. Die Anmelderinnen haben ferner für den Senat in glaubhafter Weise dargelegt, dass dem Fachmann die Herstellung solcher Kristalle auf Grund seines Fachwissens nicht ohne weiteres möglich gewesen sei. Demnach sei es auch mit keinem der in den Entgegenhaltungen (5) bis (8) angegebenen Kristallisationsverfahren, die die Herstellung von Kristallen des Ratten-m-Calpains und der Ca^{2+} -bindenden Domänen VI bzw. dVI von Ratten-m-Calpain bzw. Schweine-Calpain betreffen, gelungen, Kristalle des humanen m-Calpains zu erhalten, die für eine Röntgenstrukturanalyse geeignet gewesen seien.

Die Herstellung des mit Patentanspruch 1 angegebenen kristallinen Polypeptids erfolgt auch nicht ausgehend von einer gegebenenfalls im fachmännischen Können liegenden Abwandlung der in diesen Dokumenten angegebenen Verfahren,

wie ein Vergleich mit der in der Patentanmeldung beschriebenen Vorgehensweise zur Kristallisation des in Rede stehenden Proteins zeigt. Keine von den im Stand der Technik beschriebenen Methoden nennt nämlich alleine schon unabhängig von der Vorgehensweise Lösungen, die die in der Anmeldung genannten Komponenten wie ua Polyethylenglycol 10 000, Isopropanol und Guanidiniumchlorid aufweisen. Haben sich in diesen Fällen doch Lösungen als geeignet erwiesen, die neben Polyethylenglycol 6000 bzw 8000 Mercaptoethanol und NaCl, Cacodylat und/oder CaCl_2 enthalten (vgl. (5) S. 1485 mi. Sp. Abs. 4, (6) S. 537 li. Sp. Abs. 3, (7) S. 546 li. Sp. Abs. 2 sowie Erstunterlagen S. 49 „2. Proteinkristallisierung“).

Die weiteren im Verfahren genannten Entgegenhaltungen nehmen den Gegenstand des Patentanspruches 1 ebenfalls nicht neuheitsschädlich vorweg. Wird mit diesen, soweit sie überhaupt humanes m-Calpain betreffen, doch lediglich deren Aminosäuresequenz wiedergegeben.

3. Die Bereitstellung des die Calpain-Sub-Domänen IIa (Sequenzabschnitt T93 bis G209) und/oder IIb (Sequenzabschnitten G210 bis N342) aufweisenden kristallinen Polypeptids gemäß Patentanspruch 1 beruht auch auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Der Anmeldung liegt die Aufgabe zugrunde, Kristalle von humanem m-Calpain in seiner aktiven Form zur Verfügung zu stellen, die eine Struktur-/Funktionsuntersuchung möglich machen (vgl. geltende Beschreibung S. 5/6 übergreifender Absatz). Gelöst wird diese Aufgabe durch das im geltenden Patentanspruch 1 angegebene kristalline Polypeptid, dessen Calpain-Sub-Domäne IIa (Sequenzabschnitt T93 bis G209) und/oder IIb (Sequenzabschnitt G210 bis N342) pro asymmetrische Einheit die Strukturkoordinaten nach Figur 10 aufweisen. Die Bereitstellung der in Rede stehenden Kristalle ist im Hinblick auf den Stand der Technik als erfinderisch anzusehen. Wie vorstehend bereits dargelegt, werden mit den Entgegenhaltungen (5), (6) oder (7) zwar Methoden zur Kristallisation von Calpain oder Domänen davon der Ratte oder des Schweines angege-

ben. Wie von den Patentanmelderinnen jedoch glaubhaft dargelegt worden ist, waren mit diesen Verfahren keine für die Röntgenstrukturanalyse geeigneten, stabilen Kristalle des humanen m-Calpains in seiner aktiven Form zu erhalten. Darüber hinaus vermögen diese Dokumente auch keine Anregungen dahingehend zu vermitteln, das Kristallisationsverfahren so, wie es in den Beschreibung Seite 49 unter „2. Proteinkristallisierung“ angegeben worden ist, auszugestalten. Werden doch mit keiner dieser Druckschriften Systeme genannt, die neben Polyethylenglycol 10 000 und dem Puffersystem HEPES/NaOH auch Isopropanol und Guanidiniumchlorid enthalten. Diese Maßnahmen führt aber zu einer Verbesserung der Kristallgröße und des Kristallwachstums, und damit schlussendlich zur Bildung von Kristallen des humanen m-Calpains in seiner aktivierten Form, die einer Röntgenstrukturanalyse zugänglich sind und damit die strukturelle Analyse der für die katalytische Aktivität des Calpains beteiligten aktiven Zentren, nämlich der Sub-Domäne IIa (Sequenzabschnitt T93 bis G209) und der Sub-Domains IIb (Sequenzabschnitt G210 bis N342), ermöglichen.

Der weitere im Verfahren genannte Stand der Technik geht nicht über den Inhalt der vorstehend abgehandelten Druckschriften (5), (6) und (7) hinaus und vermittelt dem Fachmann daher auch keine weitergehenden Anregungen.

Die Bereitstellung des kristallinen Proteins gemäß geltendem Patentanspruch 1 beruht somit auf einer erfinderischen Tätigkeit.

4. Nach alledem weist das kristalline Polypeptid nach geltendem Patentanspruch 1 alle Kriterien der Patentfähigkeit auf. Gleichfalls gewährbar sind die besondere Ausführungsformen des kristallinen Polypeptids betreffenden Patentansprüche 2 bis 4.

5. Die geltenden Patentansprüche 5 bis 18 stimmen in ihrem Inhalt mit den Patentansprüchen überein, die dem Beschluss der Prüfungsstelle vom 7. April 2003 als 8. Hilfsantrag zugrunde gelegen haben. In diesem Beschluss ist

festgestellt worden, dass Neuheit und erfinderische Tätigkeit gegenüber den im Verfahren genannten Entgegenhaltungen (1) bis (9) gegeben sind. Den diesbezüglichen Ausführungen in diesem Beschluss schließt sich der Senat an (vgl. BGH GRUR 1993, 896 - „Leistungshalbleiter“).

gez.

Unterschriften