



# BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

3 Ni 21/08 (EU)

---

(Aktenzeichen)

Verkündet am  
21. Juli 2009

...

In der Patentnichtigkeitssache

...

...

**betreffend das europäische Patent 0 733 712**  
**(DE 694 29 452)**

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 21. Juli 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. Das europäische Patent 0 733 712 wird mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland dadurch teilweise für nichtig erklärt, dass seine Patentansprüche folgende Fassung erhalten:

- „1. Verfahren zur Herstellung einer L-Aminosäure, deren Biosynthese reduziertes Nicotinamidadeninucleotidphosphat erfordert, durch einen Mikroorganismus, welches folgende Stufen umfasst:
- Kultivierung eines Mikroorganismus in einer Kultur, um die L-Aminosäure zu produzieren und in dem Kulturmedium anzu-

häufen, und Gewinnen der L-Aminosäure aus dem Kulturmedium,

wobei der Mikroorganismus so modifiziert worden ist, dass die Fähigkeit des Mikroorganismus, reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat aus reduziertem Nicotinamidadenindinucleotid herzustellen, erhöht ist, wodurch die Produktivität des Mikroorganismus für reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat erhöht ist.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die L-Aminosäure aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus L-Threonin, L-Lysin, L-Glutaminsäure, L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin und L-Phenylalanin besteht.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei der Mikroorganismus zur Gattung *Escherichia* gehört.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei der Mikroorganismus ein coryneformes Bacterium ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Fähigkeit des Mikroorganismus, reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat aus reduziertem Nicotinamidadenindinucleotid herzustellen, durch Erhöhen der Enzymaktivität von Nicotinamidnucleotidtranshydrogenase in einer Zelle des Mikroorganismus erhöht ist.
6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die Fähigkeit des Mikroorganismus, reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat aus reduziertem Nicotinamidadenindinucleotid herzustellen durch Erhöhen der exprimierten Menge eines

Gens, welches für Nicotinamidnucleotidtranshydrogenase kodiert, in der Zelle des Mikroorganismus erhöht ist.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei die Fähigkeit des Mikroorganismus, reduziertes Nicotinamidadeninucleotidphosphat aus reduziertem Nicotinamidadeninucleotid herzustellen, durch Erhöhen der Anzahl der Kopien des Gens, das für Nicotinamidnucleotidtranshydrogenase kodiert, in der Zelle des Mikroorganismus erhöht ist.“

Im Übrigen wird die Klage abgewiesen.

2. Die Klägerinnen tragen 2/3, die Beklagte trägt 1/3 der Kosten des Rechtsstreits.

3. Das Urteil ist hinsichtlich der Kosten gegen Sicherheitsleistung in Höhe von 120 % des jeweils zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

### **Tatbestand**

Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 26. Oktober 1994 als internationale Patentanmeldung PCT/JP94/01791 angemeldeten, die Priorität der japanischen Patentanmeldung 27082893 vom 28. Oktober 1993 in Anspruch nehmen und u. a. mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland erteilten europäischen Patents EP 0 73 712 B1 (Streitpatent), dessen Erteilung am 12. Dezember 2001 veröffentlicht worden ist und das vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 694 29 452 geführt wird.

Das Streitpatent betrifft „Herstellungsverfahren einer Substanz“ und umfasst 10 Patentansprüche. Die nebengeordneten Patentansprüche 1 und 10 lauten in der deutschen Übersetzung folgendermaßen:

„1. Verfahren zur Herstellung einer Zielsubstanz durch einen Mikroorganismus, welches folgende Stufen umfasst:

Kultivierung eines Mikroorganismus in einer Kultur, um die Zielsubstanz zu produzieren und in dem Kulturmedium anzuhäufen, und Gewinnen der Zielsubstanz aus dem Kulturmedium, wobei der Mikroorganismus so modifiziert worden ist, dass die Fähigkeit des Mikroorganismus, reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat aus reduziertem Nicotinamidadenindinucleotid herzustellen, erhöht ist, wodurch die Produktivität des Mikroorganismus für reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat erhöht ist.

10. Modifizierter Mikroorganismus mit erhöhter Fähigkeit, reduziertes Nicotin-amidadenindinucleotidphosphat herzustellen, und mit erhöhter Produktivität für reduziertes Nicotinamidadenindinucleotidphosphat.“

Die Parteien haben den Rechtsstreit übereinstimmend hinsichtlich des Patentanspruchs 10 in der Hauptsache für erledigt erklärt, nachdem die Beklagte auf diesen nach Zustellung der Klage am 9. Juli 2008 durch Erklärung gegenüber dem Deutschen Patent- und Markenamt mit Schriftsatz vom 8. August 2008 verzichtet hat und gleichzeitig mit Schriftsatz vom selben Tag diesbezüglich auch gegenüber den Klägerinnen den Verzicht auf alle Forderungen für die Vergangenheit erklärt hat.

Die Klägerinnen stützen ihre Klage darauf, dass der Gegenstand des Streitpatents wegen fehlender Neuheit bzw. mangelnder erfinderischer Tätigkeit nicht patentfähig sei und verweisen zur Begründung auf folgende Druckschriften:

- NK1 EP 0 733 712 B1 (Streitpatentschrift)
- NK1a DE 694 29 452 T2 (deutsche Übersetzung der Streitpatentschrift)
- NK5 Clarke D.M. et al., Journal of Bacteriology, 1985, 162 (1), S. 367 bis 373

- NK6 Bragg P.D. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications, 1972, 47 (5), S. 1248 bis 1255
- NK7 Houghton R.L. et al., Archives of Biochemistry and Biophysics, 1976, 176, S. 747 bis 752
- NK8 Liang A. et al., Journal of Bacteriology, 1981, 146 (3), S. 997 bis 1002
- NK9 Stryer L., "Biochemie" 1991, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, New York, S. 333 und 603 bis 605
- NK10 Hoek J.B. et al., Biochemical Journal, 1988, 254, S. 1 bis 10

Die Klägerinnen stellen den Antrag,

das europäische Patent mit Wirkung für das Hoheitsgebiet Deutschland im Umfang der Patentansprüche 1 bis 9 für nichtig zu erklären.

Die Beklagte verteidigt das Streitpatent im Umfang der mit Schriftsatz vom 23. März 2009 eingereichten Patentansprüche 1 bis 7, die hinsichtlich ihres Wortlautes den im Urteilstenor genannten Patentansprüchen 1 bis 7 entsprechen und beantragt insoweit,

die Klage abzuweisen.

Sie tritt dem Vorbringen der Klägerinnen entgegen und verweist auf die Druckschriften:

- NB1 Progress in industrial microbiology, Edited by Aida K. et al., 1986, Vol. 24: „Biotechnology of amino acid production“, Kodansha Ltd., Tokyo, S. 152 bis 172
- NB2 Gerolimos B. et al., Journal of Bacteriology, 1978, 134 (2), S. 394 bis 400

- NB3 Csonka L.N. et al., The Journal of Biological Chemistry, 1977, 252 (10), S. 3382 bis 3391
- NB4 Hanson R.L. et al., Journal of Bacteriology, 1980, 141, S. 401 bis 404
- NB5 Vallino J.J. et al., Biotechnology and Bioengineering, 1993, 41, S. 633 bis 646
- NB6 Clarke D.M. et al., Abstract PA-110: „Pyridine nucleotide transhydrogenase of Escherichia coli: physiological role and purification“, 1983, S. 68

Wegen weiterer Einzelheiten des Vorbringens der Parteien wird auf den Akteninhalt Bezug genommen. Die Fassung des Urteilstenors entspricht dem Berichtigungsbeschluss des Senats vom 22. Juli 2009.

### **Entscheidungsgründe**

#### **I.**

Die gegen den deutschen Teil des Streitpatents EP 0 733 712 gerichtete und auf den Nichtigkeitsgrund fehlender Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG, Art. 138 Abs. 1 Buchst. a) EPÜ) gestützte Klage ist zulässig, aber nur teilweise begründet, soweit die Beklagte das Patent infolge zulässiger Selbstbeschränkung nicht verteidigt hat und dieses deshalb ohne Sachprüfung im Umfang des Urteilsausspruches für nichtig zu erklären war; im Übrigen ist die Klage unbegründet und deshalb abzuweisen.

**1.** Das Streitpatent betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer Zielsubstanz unter Verwendung eines Mikroorganismus (vgl. NK1, S. 2 Abs. [0001] bzw. NK1a, S. 1 Abs. 1).

Wie einleitend in der Streitpatentschrift ausgeführt wird, können unter Einsatz von Mikroorganismen verschiedenste Substanzen auf biotechnologischem Weg her-

gestellt werden. Ein typisches Beispiel hierfür ist die fermentative Synthese von L-Aminosäuren. Die dabei eingesetzten Mikroorganismen weisen gegenüber den Wildtypmikroorganismen einen gentechnisch veränderten Biosyntheseweg für L-Aminosäuren auf, der die Mikroorganismen dazu veranlasst L-Aminosäuren in erhöhtem Maße zu produzieren. Für die Herstellung dieser gentechnisch veränderten Mikroorganismen werden die Techniken der rekombinanten DNA-Technologie eingesetzt. Dabei wird z. B. im Mikroorganismus die Regulation der Aminosäurebiosynthese durch das Endprodukt, oder durch eine andere während der Biosynthese der Aminosäuren gebildete Substanz, aufgehoben. Ein anderer gentechnischer Ansatz verfolgt die Anreicherung von Genen im Wirtsorganismus, die für ein oder mehrere Enzyme kodieren, die am Biosyntheseweg der L-Aminosäuren beteiligt sind und die Aminosäurebiosynthese beschleunigen. Eine wichtige Substanz im natürlichen Biosyntheseweg vieler L-Aminosäuren ist das reduzierte Nicotinamidadeninukleotidphosphat (im Folgenden als NADPH abgekürzt). NADPH fungiert als zelleigenes Reduktionsmittel und ist aufgrund seiner Interaktion mit Enzymen wie z. B. der Glutamatdehydrogenase an der Biosynthese zahlreicher L-Aminosäuren, wie der L-Glutaminsäure, beteiligt. Ein Zusammenhang zwischen der Verfügbarkeit von NADPH und der Herstellung von L-Aminosäuren in Mikroorganismen wurde bisher allerdings nicht berichtet. Gezeigt wurde lediglich, dass an der Bildung von NADPH in verschiedenen Mikroorganismen u. a. die Nicotinamidinukleotidtranshydrogenase (im Folgenden als Transhydrogenase abgekürzt) beteiligt ist. Die Transhydrogenase katalysiert dabei die reversible Umwandlung von reduziertem Nicotinamidadeninukleotid (im Folgenden als NADH abgekürzt) in NADPH. Eine physiologische Funktion konnte für die Transhydrogenase bisher allerdings nicht nachgewiesen werden, da Mikroorganismen, denen dieses Enzym fehlt, keine phänotypischen Veränderungen aufweisen (vgl. NK1, S. 2 Abs. [0002] bis S. 2/3 übergreifender Abs. [0009] bzw. NK1a, S. 1 Abs. 2 bis S. 5 Abs. 2).

2. Ausgehend davon liegt dem Streitpatent die Aufgabe zugrunde, die Produktivität für eine Zielsubstanz unter Einsatz eines Mikroorganismus zu verbessern (vgl. NK1, S. 3 Abs. [0010] bzw. NK1a, S. 5 Abs. 3).



3. Gelöst wird diese Aufgabe gemäß verteidigtem Patentanspruch 1 durch

1. ein Verfahren zur Herstellung einer L-Aminosäure
  - 1.1. deren Biosynthese NADPH erfordert
2. durch einen Mikroorganismus,
  - 2.1. der so modifiziert worden ist, dass dessen Fähigkeit NADPH aus NADH herzustellen erhöht ist,
  - 2.2. wodurch die Produktivität des Mikroorganismus für NADPH erhöht ist,
3. umfassend die Kultivierung des Mikroorganismus in einer Kultur,
  - 3.1. um die Aminosäure zu produzieren und im Kulturmedium anzuhäufen,
4. und Gewinnen der L-Aminosäure aus dem Kulturmedium.

4. Der zuständige Fachmann ist ein in der Industrie tätiger Biochemiker oder Chemiker mit fundiertem biochemischen Wissen und mehrjähriger Erfahrung in der großtechnischen, fermentativen Herstellung von Stoffen. Er verfügt somit über spezielle Kenntnisse auf dem Gebiet der Biotechnologie, aber auch auf dem Gebiet der Zell- und Molekularbiologie und ist in der Lage anhand der ihm zur Verfügung stehenden Literatur für den jeweiligen Zweck geeignete Mikroorganismen auszuwählen. 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 in dem aus dem Urteilstenor ersichtlichen Umfang als bestandsfähig. Die Klägerinnen haben den Senat nicht vom Vorliegen des Nichtigkeitsgrundes mangelnder Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 (a) EPÜ) überzeugen können.

1. Die geltenden Patentansprüche 1 bis 7 sind zulässig.

Der Patentanspruch 1 geht auf die erteilten Patentansprüche 1 bis 3 zurück. Die auf den Patentanspruch 1 rückbezogenen Patentansprüche 2 bis 7 entsprechen den erteilten Patentansprüchen 4 bis 9 im Wortlaut. Die geltende Anspruchsfassung weist somit keine unzulässige Erweiterung auf, was von den Klägerinnen auch nicht bestritten worden ist.

2. Der Gegenstand des Streitpatentes in seiner verteidigten Fassung ist neu.

Ein Verfahren zur Herstellung von L-Aminosäuren gemäß Patentanspruch 1, bei dem Mikroorganismen - aufgrund ihrer Fähigkeit NADPH aus NADH in erhöhtem Maße herzustellen - L-Aminosäuren in einer solchen Menge produzieren, dass diese ins Kulturmedium sezerniert, dort angereichert und daraus gewonnen werden können, ist dem im vorliegenden Verfahren zitierten Stand der Technik nicht zu entnehmen. Der Neuheit des Verfahrens nach Patentanspruch 1 steht auch die Druckschrift NK5 nicht entgegen, welche von den Klägerinnen im Bezug auf die Neuheit des Verfahrens gemäß dem erteilten Patentanspruch 1 diskutiert worden ist.

Die Entgegenhaltung NK5, ein wissenschaftlicher Artikel der Autoren Clarke D.M. und Bragg P.D. im Journal of Bacteriology von 1985, betrifft die Klonierung und Expression des im Bakterium Escherichia coli (im Folgenden als E.coli abgekürzt) vorkommenden Transhydrogenasegens. Ziel dieser Veröffentlichung ist es, die Polypeptidstruktur des Enzyms Transhydrogenase aufzuklären. Hierfür werden gentechnisch veränderte E.coli-Zellen hergestellt, die die Transhydrogenase überexprimieren (vgl. NK5, S. 367 li. Sp. letzter Abs. bis re. Sp. erster Abs. sowie Abstract). Da die Transhydrogenase in Mikroorganismen wie E.coli die reversible Umwandlung von NADH in NADPH katalysiert, weisen die in der NK5 beschriebenen E.coli-Zellen zugleich auch eine erhöhte Produktivität für NADPH auf (vgl. NK5, S. 367 li. Sp. Abs. 1). Somit offenbart dieses Dokument zwar Mikroorganismen, die die Merkmale 2, 2.1, 2.2 und 3 (vgl. Merkmalsanalyse

unter I.3.) des Patentanspruchs 1 aufweisen. Allerdings handelt es sich dabei nicht um einen gentechnisch veränderten Mikroorganismus der - wie die Merkmale 3.1 und 4 des Patentanspruchs 1 es fordern - L-Aminosäuren in einer solchen Menge produziert, dass diese im Kulturmedium angehäuft und daraus gewonnen werden können. Vielmehr wird die in der NK5 gezielt überexprimierte Transhydrogenase in den Membranen der Zellen angehäuft und der Kulturüberstand verworfen (vgl. NK5, S. 367 re. Sp. Abschnitt „Materials and Methods“, Abs. 2). Auch enthält die Druckschrift NK5 an keiner Stelle Hinweise dahingehend, dass die Überproduktion der Transhydrogenase mit einer gleichzeitigen Überproduktion von L-Aminosäuren gekoppelt ist.

**3.** Die Bereitstellung des beanspruchten Verfahrens zur Herstellung einer L-Aminosäure beruht auch auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Das Dokument NB1 stellt einen Überblick über das Wissen des Fachmanns zum Prioritätstag des Streitpatentes bezüglich der biotechnologischen Produktion von Aminosäuren dar (vgl. NB1, S. 163 bis 168). Dieses Wissen bildet somit die Grundlage, von der der Fachmann ausgehen wird, wenn er vor die Aufgabe gestellt ist, Verfahren zur Herstellung von L-Aminosäuren unter Einsatz von Mikroorganismen zu verbessern. Dem Fachmann ist es folglich bekannt, dass für eine fermentative Aminosäureproduktion der natürliche Biosyntheseweg der jeweiligen Aminosäure im Mikroorganismus dereguliert werden muss (vgl. NB1, S. 163, erster Abs.). Es liegt ferner im allgemeinen Können und Wissen des Fachmanns, eine solche Deregulation z. B. mit Hilfe rekombinanter DNA Techniken durch die Erhöhung der Anzahl derjenigen Gene im Mikroorganismus herbeizuführen, die für ein oder mehrere Enzyme kodieren, die an der Biosynthese der L-Aminosäure beteiligt sind und zugleich einen der geschwindigkeitsbestimmenden Schritte im Biosyntheseweg dieser L-Aminosäure katalysieren (vgl. NB1, S. 166, letzter Abs. bis S. 167, erster Abs.). Im Dokument NB1 wird zwar davon berichtet, dass mit dieser Technik der Genamplifikation bereits verschiedene, am Biosyntheseweg von L-Lysin beteiligte Enzyme auf ihre Eignung für eine L-Lysin Überproduktion getestet worden sind (vgl. NB1, S. 167, 2. Abs). Hinweise dahingehend, dass auch die

Transhydrogenase - die die reversible Umwandlung von NADH in NADPH katalysiert - geeignet ist, um die fermentative Überproduktion von L-Lysin oder anderen L-Aminosäuren in Mikroorganismen zu ermöglichen, finden sich in der Druckschrift NB1 allerdings nicht. Es mag - wie von den Klägerinnen in der mündlichen Verhandlung vorgetragen wurde - zutreffend sein, dass sich dem Fachmann beim aufmerksamen Studium der in der NB1 gezeigten Figuren 14-1. und 14-2. das Coenzym NADPH als eine wichtige Substanz in der Aminosäurebiosynthese von L-Lysin erschließt, da das NADPH die einzige Substanz ist, die sowohl im bakteriellen Biosyntheseweg von L-Lysin gemäß Fig. 14-1., als auch im davon abweichenden L-Lysin-Biosyntheseweg der Hefen, Pilze oder Algen wie in Figur 14-2. gezeigt, vorkommt (vgl. NB1, S. 154 bis 157, Figuren 14-1. und 14-2. i. V. m. S. 152 letzter Abs. bis S. 153 erster Abs.). Aus den gezeigten Aminosäurebiosynthesewegen geht jedoch weder hervor, dass das darin verbrauchte NADPH über die Transhydrogenase gebildet wurde, noch dass die Transhydrogenase einen geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bei der Biosynthese von L-Lysin katalysiert. Somit kann der Inhalt der NB1 kein Verfahren zur Herstellung von L-Aminosäuren nahelegen, bei dem wie im Verfahren des geltenden Patentanspruchs 1 Mikroorganismen eingesetzt werden, die aufgrund einer Überexpression der Transhydrogenase die Fähigkeit besitzen NADPH aus NADH in erhöhtem Maße herzustellen und demzufolge in der Lage sind L-Aminosäuren in einer solchen Menge zu produzieren, welche sie veranlasst, die L-Aminosäuren ins Kulturmedium auszuschleusen (vgl. Merkmalsanalyse unter I.3., Merkmale 2.1 und 2.2).

Eine entsprechende Lehre wird dem Fachmann auch nicht durch eine Zusammenschau der NB1 mit den von den Klägerinnen genannten Entgegenhaltungen NK5 bis NK10 vermittelt.

Die Klägerinnen vertreten zwar die Auffassung, dass die wissenschaftliche Arbeit der Autoren Liang A. und Houghton R.L. im Journal of Bacteriology von 1981 (= NK8) dem Fachmann Anregungen dafür liefere, dass die Transhydrogenase an der Bereitstellung von NADPH für die Aminosäurebiosynthese beteiligt sei. Sie

stützen ihr Vorbringen auf die in der NK8 geäußerte Vermutung, dass koordinierte Veränderungen von Transhydrogenase und Glutamatdehydrogenase auf eine Beteiligung der Transhydrogenase bei der Biosynthese von Glutamat hinweisen könnten (vgl. NK8, S. 1001, re. Sp. Abschnitt „Discussion“, dritter Satz). Nach Ansicht der Klägerinnen werde durch die in der NK8 gefundene Coregulation von Transhydrogenase und Glutamatdehydrogenase belegt, dass die Glutamatdehydrogenase das von der Transhydrogenase gebildete NADPH bei der Synthese von Glutamat benötige, was wiederum beweise, dass die Transhydrogenase in die Biosynthese von Aminosäuren involviert sei. Dieser Argumentation der Klägerinnen kann sich der Senat allerdings nicht anschließen.

Eine Coregulation von Transhydrogenase und Glutamatdehydrogenase wurde in der NK8 lediglich in Verbindung mit Untersuchungen zur Stickstoff-Assimilation in verschiedenen Enterobakterien festgestellt, wofür die Mikroorganismen während ihres Wachstums einem Stickstoffmangel ausgesetzt worden sind (vgl. NK8, Abstract, erster und zweiter Satz, sowie letzter Satz i. V. m. S. 998, re. Sp. Abschnitt „Results“, erster und zweiter Satz). Die Autoren der NK8 kommen folglich zu dem Schluss, dass die Transhydrogenase die Bildung von NADPH aus NADH unter Stickstoffmangelbedingungen katalysiert, es aber nicht möglich ist, der Transhydrogenase eine Beteiligung bei der generellen Bereitstellung von NADPH in *E.coli* nachzuweisen (vgl. NK8, S. 1001 re. Sp. Abschnitt „Discussion“, vierter Satz).

Eine fermentative Produktion von L-Aminosäuren in Mikroorganismen setzt jedoch eine optimale Versorgung der Mikroorganismen mit Nährstoffen voraus, so dass die Lehre in der NK8 dem Fachmann keine Anregungen dahingehend vermittelt, hierfür Mikroorganismen zu verwenden, die entsprechend den Merkmalen 2.1 und 2.2 des geltenden Patentanspruchs 1 eine erhöhte Produktivität für das über die Transhydrogenase aus NADH gebildete NADPH aufweisen. Denn den Angaben in der NK8 zufolge wird ein unter Normalbedingungen kultivierter Mikroorganismus bei der Aminosäurebiosynthese das durch die katalytische Wirkung der Transhydrogenase bereitgestellte NADPH nicht nutzen (vgl. NK8, S. 1001, Abschnitt „Discussion“, vierter Satz). Die in der NK8 geäußerte Vermutung über eine

eventuelle Beteiligung der Transhydrogenase an der Biosynthese von Glutamat kann aber auch deshalb keine Anregung in Richtung des im Patentanspruch 1 beschriebenen Verfahrens vermitteln, da die Autoren der NK8 selbst darauf hinweisen, dass die Wirkungsweise der Transhydrogenase nach wie vor Gegenstand von Untersuchungen ist und damit aufzeigen, dass auch die Ergebnisse der NK8 noch weitere Untersuchungen erfordern (vgl. NK8, S. 1001, re. Sp. letzter, seitenübergreifender Satz).

Eine Beteiligung der Transhydrogenase an der Aminosäurebiosynthese wird im Übrigen auch von anderen Forschungsteams ausgeschlossen. So haben Csonka L.N. und Fraenkel D.G. in ihrem Artikel im Journal of Biological Chemistry von 1977 (= NB3) verschiedene Wege für die Bildung von NADPH in E.coli untersucht und dabei festgestellt, dass die Transhydrogenase nur eine unwesentliche NADPH-Quelle darstellt (vgl. NB3, S. 3382, re. Sp. erster vollständiger Satz). Die Autoren der NB3 kommen zu diesem Ergebnis, da ihre Untersuchungen gezeigt haben, dass Zellen, die während ihres Wachstums allein auf die von der Transhydrogenase bereitgestellten Reduktionsäquivalente angewiesen sind, ein nur sehr geringes Wachstum zeigen (vgl. NB3, S. 3390, re. Sp. zweiter Abs.).

Dieses aus dem Jahr 1977 stammende Ergebnis bildet für die Autoren der NK8 vier Jahre später nach wie vor die Grundlage für ihre Arbeit, was daran zu erkennen ist, dass sie auf Publikationen Bezug nehmen, in denen von mutierten Mikroorganismen ohne aktive Transhydrogenase berichtet wird, die ein ganz normales Wachstumsverhalten zeigen, während Mutanten mit einem inhibierten Pentosephosphatweg ein deutlich reduziertes Wachstum aufweisen, was den Pentosephosphatweg als essentielle NADPH-Quelle für die Aminosäurebiosynthese nach wie vor bestätigt (vgl. NK8, S. 997, re. Sp. Sätze 3 und 4).

Der Inhalt der NK8 vermittelt dem Fachmann daher weder Hinweise dahingehend, dass das von der Transhydrogenase gebildete NADPH für die Biosynthese von L-Aminosäuren von Bedeutung ist, noch dass die Transhydrogenase einen geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bei der Aminosäurebiosynthese katalysiert,

über den eine verbesserte L-Aminosäureproduktion erreicht werden kann, indem die Menge an Transhydrogenase im Mikroorganismus erhöht wird.

Auch die von den Klägerinnen im Zusammenhang mit dem Einwand der mangelnden erfinderischen Tätigkeit in die Diskussion mit einbezogenen Druckschriften NK6 und NK7 sind nicht dazu geeignet, zu einer anderen Beurteilung der Sachlage zu führen.

Das beanspruchte Verfahren zur Herstellung einer L-Aminosäure gemäß dem strittigen Patentanspruch 1 wird durch den Hinweis der Klägerinnen auf die im Dokument NK7 enthaltene Aussage, dass die Biosyntheseaktivität von E.coli-Zellen in enger Verbindung mit der Aktivität der Transhydrogenase steht, nicht nahegelegt (vgl. NK7, S. 747, re. Sp. mittlerer Abs.). Denn zum einen setzten die Autoren der NK7 die Biosyntheseaktivität mit der de novo Proteinbiosynthese gleich, die sich jedoch grundlegend von der Aminosäurebiosynthese unterscheidet, weshalb der Fachmann die Angaben in der NK7 auch nicht ohne Weiteres auf die Aminosäurebiosynthese übertragen wird (vgl. NK7, S. 748 re. Sp. Abschnitt „Results and Discussion“, zweiter Satz). Zum anderen wird der Fachmann in der NK7 nicht nur die von den Klägerinnen zitierte Textstelle, sondern das gesamte Dokument lesen. Dabei erschließen sich ihm auch Informationen, die ihn davon abhalten, für eine fermentative Herstellung von L-Aminosäuren Mikroorganismen mit den Merkmalen 2.1 und 2.2 des geltenden Patentanspruchs 1 zu verwenden.

Denn das in der Figur 1 der NK7 graphisch dargestellte Experiment bestätigt, dass eine gesteigerte Transhydrogenaseaktivität in E.coli zu einem erhöhten Energieverbrauch führt, da NADPH aus NADH unter Verbrauch von Energie gebildet wird (vgl. NK7, S. 748, Figur 1). Im natürlichen Biosyntheseweg der L-Aminosäuren verläuft die Bereitstellung von NADPH über den Pentosephosphatweg dagegen ohne zusätzlichen Energieaufwand (vgl. NB3, S. 3383, Fig. 1 und 2). Folglich wird der Fachmann die Herstellung von L-Aminosäuren in Mikroorganismen, in denen die Bereitstellung von NADPH aus NADH mit einem zusätzlichen Energieverbrauch verbunden ist, nicht als erfolgversprechend ansehen. Bei genauerer Betrachtung der Figur 1 in der NK7 ist zudem zu erkennen, dass bei einer erhöh-

ten Transhydrogenaseaktivität dreimal mehr NADH gebildet wird als NADPH (vgl. NK7, S. 748, Figur 1, 200 nmol NADPH/min x mg und 700 nmol NADH/min x mg). Daraus ergibt sich, dass eine große Menge an NADPH, die über die Transhydrogenase bereitgestellt wird, in den Zellen dazu führt, dass das NADPH zu Gunsten von NADH wieder abgebaut wird, so dass davon auszugehen ist, dass die Produktivität des Mikroorganismus für NADPH durch eine Überexpression der Transhydrogenase letztendlich nicht erhöht werden kann.

Im Übrigen ist für den Fachmann - der auf der Suche nach Verbesserungen bei der fermentativen Aminosäureherstellung ist - nur der in der Figur 1 der NK7 zum Zeitpunkt „Null“ gezeigte Kurvenverlauf von Bedeutung. Denn nur zu diesem Zeitpunkt weisen die Zellen einen Stoffwechsel auf, wie er sich bei einem ausgewogenen Nährstoffangebot in einem üblichen Kulturmedium einstellt, da die Zellen nur bis zu diesem Zeitpunkt in einem Hefeextrakthaltigen Medium kultiviert wurden, wie es auch bei der fermentativen Aminosäureherstellung verwendet wird (vgl. NK1a, S. 22 Tabelle 2, S. 24 Tabelle 4 und S. 26 Tabelle 6 im Vergleich zu NK7, S. 748, re. Sp. Abschnitt „Results and Discussion“, erster Satz). Zu diesem Zeitpunkt ist die für die Bildung von NADPH verantwortliche, energie-abhängige Transhydrogenaseaktivität allerdings nahezu Null, während über die energie-unabhängige Transhydrogenaseaktivität NADH in einer Menge von etwa 100 nmol/min x mg weiterhin gebildet wird. Darin ist ein weiterer Beleg dafür zu sehen, dass die Transhydrogenase in Zellen wie E.coli unter Normalbedingungen kein NADPH bereitstellt, welches der Organismus für die Aminosäurebiosynthese und das damit verbundene Zellwachstum benötigt. In der Druckschrift NK7 findet sich somit kein Hinweis dafür, dass sich unter normalen Zellkulturbedingungen, wie sie bei der fermentativen Produktion von L-Aminosäuren eingehalten werden, mit Hilfe von Mikroorganismen, die in der Lage sind, NADPH aus NADH in erhöhtem Maße herzustellen, eine verbesserte Produktion von L-Aminosäuren erreichen lässt.

Auch der Hinweis der Klägerinnen auf die NK6, in der die Vermutung geäußert wird, dass die energie-abhängige Transhydrogenaseaktivität bei der Bereitstellung



von NADPH für die Biosynthese von Aminosäuren beteiligt ist, kann nicht durchgreifen (vgl. NK6, S. 1253 vollständiger Abs. unterhalb der Tabelle, letzter Satz), da diese Hypothese auch knapp 10 Jahre später in der NK8 aus den bereits zuvor genannten Gründen noch nicht bestätigt wurde. Eine Stütze dieser Hypothese findet sich auch im wissenschaftlichen Artikel von Hoek J.B. und Rydström J. im *Biochemical Journal* von 1988 (= NK10) nicht, der etwa 16 Jahre nach der NK6 veröffentlicht wurde. Denn die Autoren der NK10 haben bei ihren Untersuchungen der physiologischen Rolle der Transhydrogenase ähnlich wie die Autoren der NK8 lediglich festgestellt, dass die Transhydrogenase NADPH in der Zelle nur dann bereitstellt, wenn es während einer Krisensituation in der Zelle zu einem Mangel an NADPH kommt (vgl. NK10, S. 9, li. Sp. „Summary“).

Die Entgegenhaltung NK5 ist, wie bereits unter Punkt II.2. ausgeführt, mit der Aufklärung der Proteinstruktur des Transhydrogenasegens in *E.coli* befasst, ohne jedoch auf die Funktion der Transhydrogenase im Stoffwechsel der Zelle näher einzugehen. Bei der NK9 handelt es sich lediglich um einen Auszug aus einem Biochemielehrbuch, in dem die Stickstoffassimilation während der Aminosäurebiosynthese erläutert wird. Demnach geht auch von diesen Entgegenhaltungen keinerlei Anregung in Richtung der Lehre des Streitpatents aus.

Angesichts dieses Standes der Technik musste der Fachmann erfinderisch tätig werden, um das mit dem Patentanspruch 1 beanspruchte Verfahren zur Herstellung einer L-Aminosäure bereitzustellen. Der Gegenstand gemäß dem Patentanspruch 1 wird daher vom Stand der Technik nicht nahegelegt. Der Patentanspruch ist demzufolge rechtsbeständig.

**4.** Die auf den Patentanspruch 1 unmittelbar rückbezogenen Patentansprüche 2 bis 7 haben mit diesem Bestand.

### III.

Die Kostenentscheidung beruht auf § 84 Abs. 2 Satz 2 1. Halbs. PatG i. V. m. § 92 Abs. 1 ZPO i. V. m. §§ 91a, 93 ZPO, wonach die Kosten entsprechend dem anteiligen Obsiegen und Unterliegen zu verteilen waren. Hierbei waren den Klägerinnen hinsichtlich des in der Hauptsache von den Parteien übereinstimmend für erledigt erklärten Patentanspruchs 10 auch die hierauf entfallenden und gem. § 84 Abs. 2 Satz 2 1. Halbs. PatG i. V. m. § 91a ZPO in die gemischte Kostenentscheidung einzubeziehenden Kosten aufzuerlegen, da die Beklagte insoweit keine Veranlassung zur Klage gegeben hat und innerhalb der einmonatigen Widerspruchsfrist des § 82 Abs. 1 PatG auf diesen Patentanspruch durch Erklärung gegenüber dem Deutschen Patent- und Markenamt gem. § 20 Abs. 1 Nr. 1 PatG unter Einbeziehung etwaiger Ansprüche für die Vergangenheit verzichtet hat, mithin § 93 ZPO entsprechend anwendbar ist (vgl. Kühnen in Schulte PatG 8. Aufl., § 84 Rdn. 44 - m. w. N.). Die Beklagte ist nämlich von den Klägerinnen vor Klageerhebung weder zum Verzicht auf das Streitpatent bzw. auf Patentanspruch 10 aufgefordert worden noch haben diese sonstige Umstände geltend gemacht, welche eine derartige Aufforderung vor Klageerhebung als entbehrlich erscheinen lassen könnten, zumal zwischen den Parteien zum Zeitpunkt der Klageerhebung nicht einmal ein Verletzungsrechtsstreit bzgl. des streitgegenständlichen Patents anhängig war.

Die Entscheidung über die vorläufige Vollstreckbarkeit folgt aus § 99 Abs. 1 PatG  
i. V. m. § 709 Satz 1 und Satz 2 ZPO.

Dr. Schermer Richter Engels Dr. Proksch-Ledig Dr. Schuster Dr. Münzberg  
ist in Urlaub  
und daher ge-  
hindert zu  
unterschreiben.

Dr. Schermer

Pr