



# BUNDESPATENTGERICHT

21 W (pat) 22/08

Verkündet am  
11. Dezember 2014

---

(Aktenzeichen)

...

## BESCHLUSS

In der Beschwerdesache

**betreffend die Patentanmeldung 198 82 943.4-45**

...

hat der 21. Senat (Technischer Beschwerdesenat) des Bundespatentgerichts aufgrund der mündlichen Verhandlung vom 11. Dezember 2014 unter Mitwirkung des Vorsitzenden Richters Dipl.-Phys. Dr. Häußler sowie der Richter Dipl.-Phys. Dr. Müller, Dipl.-Ing. Veit und Heimen

beschlossen:

Die Beschwerde der Anmelderin wird zurückgewiesen.

## **Gründe**

### **I**

Die Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 82 943 T1 ist aus der internationalen Anmeldung PCT/US98/27909 (veröffentlicht als WO 99/33956 A1) hervorgegangen, welche am 31. Dezember 1998 unter Inanspruchnahme der Prioritäten US09/001394 vom 31. Dezember 1997 und US09/015454 vom 29. Januar 1998 mit der Bezeichnung „Sex-specific insemination of mammals with low number of sperm cells“ angemeldet wurde. In deutscher Übersetzung wurde die Anmeldung am 1. Februar 2001 mit der Bezeichnung „Geschlechtsspezifische Befruchtung von Säugetieren mit einer geringen Anzahl von Spermazellen“ veröffentlicht.

Im Prüfungsverfahren sind die Druckschriften

- D1** DE 690 28 526 T2
- D2** US 5 135 759
- D3** Johnson, L. A. et. al.: “Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting”, *Biology of Reproduction* 41, 199-203 (1989)
- D4** Seidel, G. E. Jr. et. al., “Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of nonfrozen and sexed spermatozoa”, *Theriogenology*, Vol. 48, No. 8, 1255-1264 (Dec. 1997)
- D5** WO 96/12171 A2
- D6** US 4 362 246
- D7** US 4 999 283

- D8** Hawk, H. W. et. al., « Fertilization rates in superovulating cows after deposition of semen on the infundibulum, near the uterotubal junction or after insemination with high numbers of sperm » Theriogenology, Vol. 29, No. 5, 1131-1142 (May 1988)
- D9** K. L. Macmillan and A. M. Day, « Prostaglandin F 2 $\alpha$  a fertility drug in dairy cattle ? » Theriogenology, Vol. 18, No. 3, 245-253 (Sept. 1982)

in Betracht gezogen worden.

In der Anmeldung sind u. a. noch folgende Druckschriften genannt:

- L6** "Production of Lambs by Low Dose Intrauterine Insemination With Flow Cytometrically Sorted and Unsorted Semen," D.G. Cran et. al., Theriogenology, Vol. 47, No. 1, 1. January 1997, Page 267;
- L8** "Effects of Egg Yolk-Citrate and Milk Extenders on Chromatin Structure and Viability of Cryopreserved Bull Sperm", D.S. Karabinus et. al., Journal of Dairy Science, Vol. 74, No. 11, 1991, Pages 3836-3848;
- L11** „Gender Preselection in Mammals: An Overview“, L. A. Johnson, Dtsch. tierärztl. Wschr. 103, Heft 8/9, August/September 1996, Seiten 288-291.

Die Prüfungsstelle für Klasse A 61 D hat mit Beschluss vom 19. Dezember 2007 die Anmeldung zurückgewiesen. Dem Beschluss lagen die mit Eingabe vom 6. Februar 2007 eingereichten Ansprüche 1-41 zugrunde. Zur Begründung ist in dem Beschluss ausgeführt, dass das Verfahren gemäß Anspruch 1 in Anbetracht der Druckschrift **D1** nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhe. Eine erneute Anhörung wurde mit der Begründung abgelehnt, dass eine Anhörung bereits

durchgeführt worden war und die Anmelderin auch anschließend ausreichend Gelegenheit zur Stellungnahme hatte.

Hiergegen richtet sich die Beschwerde der Anmelderin, die in der mündlichen Verhandlung vom 11. Dezember 2014 beantragt,

den Beschluss der Prüfungsstelle für Klasse A 61 D vom 19. Dezember 2007 aufzuheben, und das Patent gemäß Patentansprüchen 1-6 nach Hauptantrag gemäß in der mündlichen Verhandlung überreichten Fassung und daran angepasste Beschreibung zu erteilen.

Der geltende Patentanspruch 1 lautet danach gegliedert:

- M0** Verfahren zur Herstellung einer künstlichen nach Geschlecht sortierten Befruchtungsprobe eines nicht-menschlichen Säugtiers, das die folgenden Schritte umfasst:
- M1** a) Sammeln von Rinderspermienzellen;
- M2a** b) Sortieren dieser Spermazellen nach ihrem Geschlecht mit Hilfe von Flußzytometrie und
- M2b** mit einer Hüllflüssigkeit, die Citrat enthält und
- M3** c) Sammeln der Rinderspermazellen mit der gewünschten Geschlechtscharakteristik, wobei die Sammelflüssigkeit eine Citrat-Sammelflüssigkeit ist, die etwa 6 % Eidotter vor dem Beginn des Sammelstrettes enthält.

Wegen der rückbezogenen Patentansprüche 2 bis 6 wird auf den Akteninhalt verwiesen.

## II

1. Die Beschwerde der Anmelderin ist zulässig; sie hat aber keinen Erfolg, da sich das Verfahren nach Patentanspruch 1 für den Fachmann aus dem Stand der Technik in naheliegender Weise ergibt. Dabei kann dahinstehen ob der geltende Patentanspruch 1 gegenüber den ursprünglichen Unterlagen unzulässig erweitert ist.

2. Die Anmeldung betrifft gemäß der Beschreibung (vgl. Offenlegungsschrift, S. 1, Abschnitt „I. Technisches Gebiet“) die Geschlechtsauswahl des Nachwuchses von Säugetieren anhand niedrig dosierter künstlicher Befruchtung.

In der Beschreibung ist weiter ausgeführt, dass die Trennung von X- und Y-chromosomhaltigen Spermien mit Hilfe der Flusszytometriechnik erfolgen kann (S. 2 letzt. Abs.). Diese Technik konnte durch die Verwendung von Hochgeschwindigkeitsflusszytometern weiter verbessert werden. Da Spermien zeitkritische Zellen sind, welche ihre Effektivität verlieren, je länger sie ungenutzt bleiben, und die Sortierungsgeschwindigkeit bei der industriellen Anwendung eine hohe kommerzielle Bedeutung hat, werden jedoch immer kürzere Sortierungszeiten gewünscht (S. 3 erst. Abs.). Weiterhin ist gewünscht den Prozess der Sortierung zu vereinfachen und ihn möglichst effizient und so robust wie möglich zu machen (S. 3. letzt. Abs. bis S. 4 erst. Abs.). Da Spermien extrem empfindliche Zellen sind, besteht weiterhin das Problem, dass sie durch den Sortierprozess mittels Flusszytometrie so beansprucht werden, dass sie im Befruchtungsprozess nicht mehr optimal angewendet werden können (S. 4 erst. Abs.). Ein weiteres Problem ist das Erzielen einer Befruchtung bei niedriger Dosierung der geschlechtsspezifischen Spermien, unbeachtlich der angewendeten Trennungstechnik (S. 4 letzt. Abs.). Ein weiteres Problem liegt darin, dass die künstliche Befruchtung mit hohen Erfolgsraten ein Prozess von statistischer Natur ist, bei dem eine Vielzahl von Faktoren zusammenspielen (S. 5 letzt. Abs.).

Mit der vorliegenden Erfindung sollen die Auswirkungen des Sortierens und die Beanspruchung der Spermazellen minimiert werden (S. 6 letzt. Abs.).

Gemäß Beschreibung ist eine Aufgabe der Erfindung, geschlechtsspezifische Befruchtungen mit niedrigerer Dosierung in einer Weise zu erreichen, welche unter realistischen kommerziellen Umständen funktioniert. Eine Aufgabe ist auch, bessere Sortierungen für Substanzen wie Spermazellen zu erreichen. Ein damit zusammenhängendes Ziel ist, den Einfluss, den die Sortierungsfunktion als solche auf die Zellen oder andere empfindliche Gegenstände, welche sortiert werden können, hat, zu minimieren. Für eine Flußzytometrie-Sortierungstechnik ist ein spezielles Ziel, den Einfluss, den die Hüllflüssigkeit auf die Zellen ausübt, zu minimieren und potentiell eine Hüllflüssigkeit bereitzustellen, die in positiver Weise den Zellen bei der Verarbeitung der verschiedenen Beanspruchungen hilft (S. 8 zweit. Abs.).

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist, eine niedrig dosierte, sortierte Befruchtung auf einem Niveau und mit Erfolgsraten zu erreichen, die mit denen von typischen geschlechtsunspezifischen hochdosierten künstlichen Befruchtungen vergleichbar sind (S. 8 letzt. Abs.).

Zur Lösung der vorstehend beschriebenen Probleme gibt die Anmeldung das Verfahren nach dem geltenden Patentanspruch 1 an.

Bei diesem Verfahren geht es um die geschlechtsspezifische Sortierung von Spermazellen für eine künstliche Befruchtung von nicht-menschlichen Säugetieren. Zum Sortieren der Spermazellen wird ein sog. Flusszytometer verwendet.

Die Durchflusszytometrie beschreibt ein Messverfahren, das in der Biologie und in der Medizin zur Anwendung kommt (vgl. <http://de.wikipedia.org/wiki/Durchflusszytometrie>). Es erlaubt die Analyse von Zellen, die in hohem Tempo einzeln an einer elektrischen Spannung oder einem Lichtstrahl vorbei fließen. Je nach Form, Struktur und/oder Färbung der Zellen werden unterschiedliche Effekte erzeugt, aus denen die Eigenschaften der Zelle abgeleitet werden können. Das Prinzip der Untersuchung beruht auf der Emission von optischen Signalen seitens der Zelle, wenn diese einen Laserstrahl passiert. Durch einen Hüllstrom fokussiert, tritt die Probe in den Mikrokanal einer hochpräzisen Küvette aus Glas oder Quarz ein, sodass jede Zelle einzeln nacheinander durch den Messbereich eines Laserstrahls geführt wird. Das dabei entstehende Streulicht oder Fluoreszenzsignal wird von einem Detektor ausgewertet. Das Ergebnis sind quantitative Informationen über jede einzelne analysierte Zelle. Durch die Analyse einer großen Anzahl von Zellen innerhalb eines sehr kurzen Zeitintervalls (>1000 Zellen/sec) sind schnell repräsentative Informationen über Zell-Populationen zu erhalten (vgl. a. a. O.).

Bei einer Form der Durchflusszytometrie werden fluoreszenz-markierte Zellen je nach Färbung in unterschiedliche Reagenzgefäße sortiert. Entsprechende Geräte werden als flow sorter (auf deutsch: Fluss-Sortierer) oder als FACS (= fluorescence-activated cell sorting) bezeichnet (vgl. a. a. O.). Ein FACS-Gerät besitzt neben den Fluoreszenzdetektoren zusätzlich einen Vibrator zur Unterteilung des Flüssigkeitsstroms in kleine Tröpfchen (hydrodynamische Fokussierung) und einen elektrostatischen Sortiermechanismus. Die Tröpfchengröße ist so gewählt, dass nur wenig mehr als eine Zelle hineinpasst, was zu einer Vereinzelung führt. An der Elektrode des Sortiermechanismus wird der Tropfen bei einer zu sortierenden Zelle umgekehrt polarisiert und fällt durch ein elektrisches Feld in ein anderes Gefäß als nicht zu sortierende Zellen (vgl. a. a. O.). Die Durchflusszytometrie wird u. a. in der Biotechnologie verwendet, z. B. um Spermazellen mit dem Geschlechtschromosom X und solche mit dem Chromosom Y voneinander zu trennen. Somit kann man das Geschlecht eines durch In-vitro-Fertilisation erzeugten

Embryos bestimmen, indem vor der In-vitro-Fertilisation die Spermien mit einem X und einem Y-Chromosom getrennt werden (vgl. a. a. O.).

Der Aufbau eines Flusszytometersystems ist in Figur 1 der Anmeldung gezeigt:

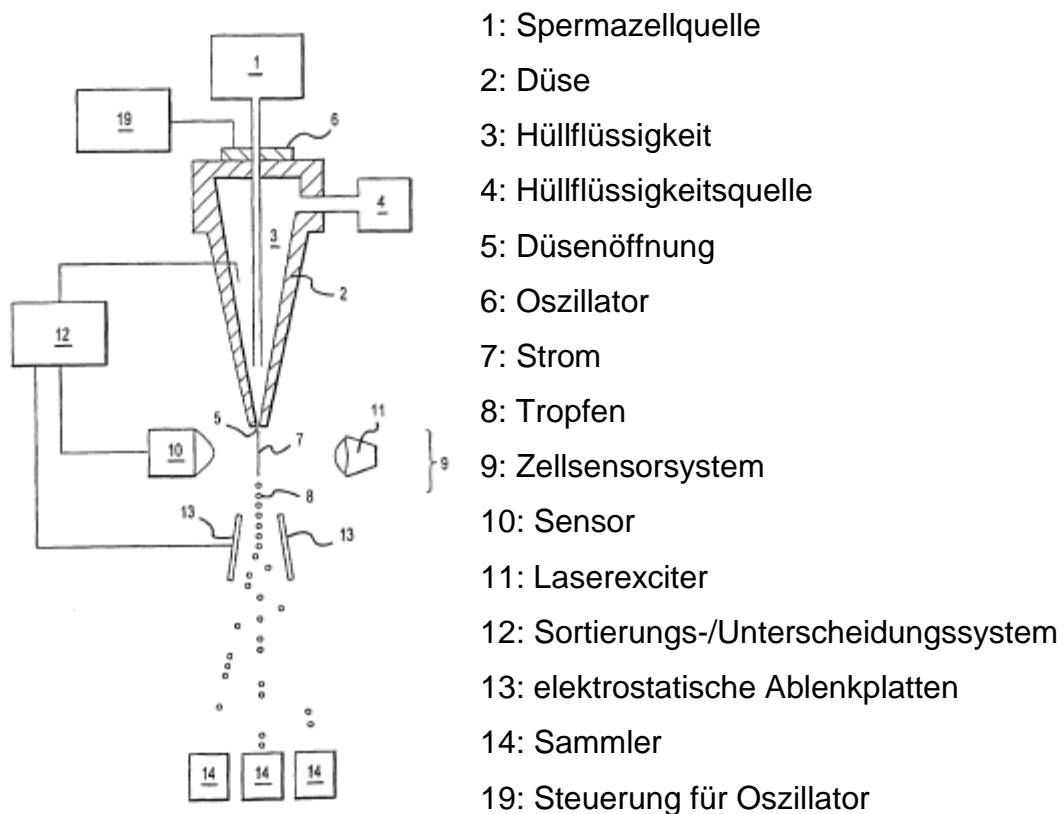


FIG 1

Die verschiedenen Längen des X-Chromosoms und des Y-Chromosoms verursachen verschiedene Grade der Einfärbung der jeweiligen Spermazellen. Daher kann durch die Bestimmung des Grades an Farbstoff zwischen X-tragenden und Y-tragenden Spermien mit Hilfe ihrer unterschiedlichen Emissionsgrade unterschieden werden. Dies erfolgt mittels eines Zellsensorsystems 9, welches einen Sensor 10 und einen Laserexciter 11 zur Anregung eines Farbstoffes in den Spermazellen aufweist, und das den Grad der Einfärbung der Spermazellen registriert (Offenlegungsschrift, S. 11 zweiter Abs.).



Das X-Chromosom enthält mehr DNA als das Y-Chromosom. Da der Farbstoff an die DNA gebunden wird, nimmt das X-Chromosom mehr Farbstoff auf und gibt bei Laseranregung mehr Fluoreszenzlicht ab als das Y-Chromosom (vgl. **D1**, S. 5 Z. 13-22).

Die vom Sensor erhaltenen Signale werden einem Sortierungs- / Unterscheidungssystem 12 zugeführt, welches jeden einzelnen Tropfen, je nachdem, ob die gewünschte Zelle innerhalb dieses Tropfens existiert oder nicht, unterschiedlich aufladen kann. Die elektrostatischen Ablenkungsplatten 13 lenken die aufgeladenen Tropfen 8 je nach Aufladung unterschiedlich ab, so dass diese in den entsprechenden Sammlern 14 landen (Offenlegungsschrift, S. 11 letzter Abs.). Bspw. werden die X-tragenden Spermientropfen positiv aufgeladen und daher in die eine Richtung abgelenkt, während die Y-tragenden Spermientropfen negativ aufgeladen und in die andere Richtung abgelenkt werden (Offenlegungsschrift, S. 12 erster Abs.).

Die Figur 2 der Anmeldung zeigt in vergrößerter Darstellung den Bereich des freien Falls der Spermazellen durch das Flusszytometer:

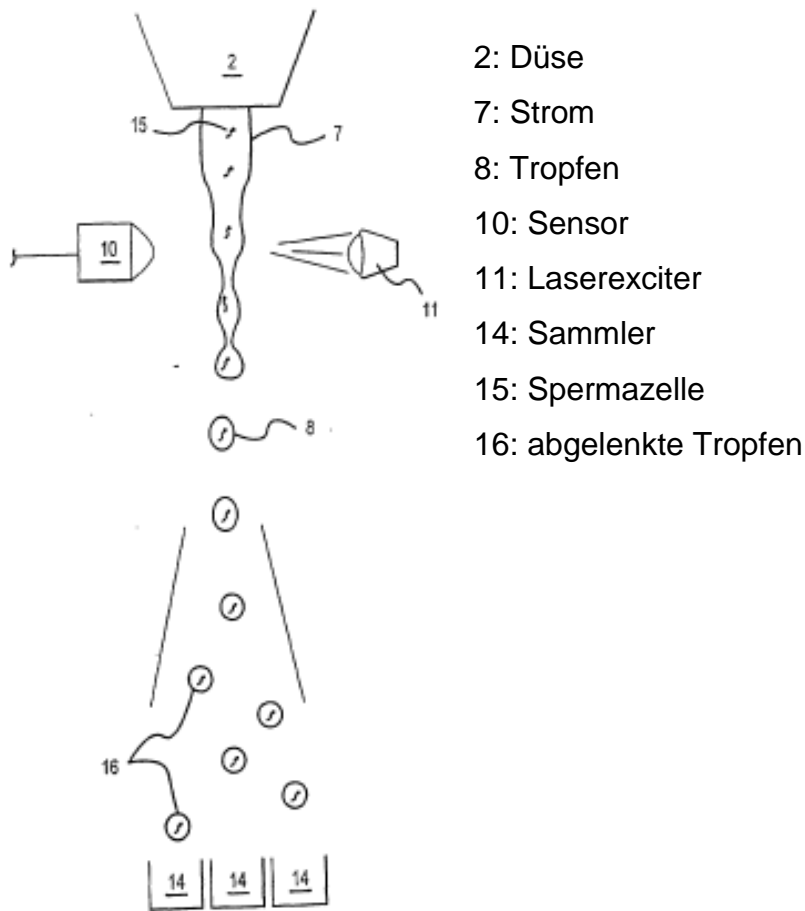


FIG 2

Für die kommerzielle Spermiasortierung ist die Verwendung von Hochgeschwindigkeitsflusszytometern als Zellsortierer besonders wichtig. Bekannte Cytometer arbeiten mit Oszillatorfrequenzen von größer als 5 kHz und können bis in den 50 kHz-Bereich betrieben werden. Damit sind Sortiergeschwindigkeitsraten von mehr als 500 Sortierschritten pro Sekunde erreichbar. Bei der Hochgeschwindigkeitssortierung sind die Zellen hohen Drücken ausgesetzt. Limitierender Faktor sind die Beanspruchungsgrenzen der speziellen Zellen. Diese hängen vom Zelltyp und der Vor- und Nachbehandlung der betreffenden Zellen ab (Offenlegungsschrift, S. 12 letzter Abs. und S. 13). Gemäß der Anmeldung ist dazu die Hüllflüssigkeit spezifisch ausgewählt und auf die Vorsortierungszellflüssigkeitsumgebung bzw. Nachsortierungszellflüssigkeitsumgebung abgestimmt. Die Wahl der richtigen Flüssigkeitsumgebung, bspw. Zitrat für Rinderspermien bzw. HEPES-Puffer für

Pferdespermien, beugt hohen Beanspruchungen der Zellen durch hohe Sortiergeschwindigkeiten vor (S. 14 und S. 15 erster Abs.).

Damit die Spermazellen nicht geschädigt werden, ist es weiterhin notwendig, dass die Sammelbehälter 14 (vgl. Figur 4) groß genug sind, insbesondere über eine weite Öffnung verfügen, um ein Zusammenprallen der Zellen mit der Behälterwandung zu vermeiden (S. 18 letzter Abs.). Die Sammlerflüssigkeit sollte ausreichend Nährstoffe beinhalten. Bspw. für Rindersperma 6 % Eidotterzytratlevel (S. 20).

Ein weiterer Aspekt der Anmeldung ist die Verwendung von niedrig dosierten Mengen von Sperma für die künstliche Befruchtung. Bei einer natürlichen Befruchtung sind Milliarden von Spermien beteiligt. Eine typische künstliche Befruchtung wird bspw. mit Millionen von Rinderspermien bzw. Hunderten von Millionen Pferdespermien durchgeführt. Mit niedriger Dosierung soll gemäß der Anmeldung gemeint sein, dass weniger als die Hälfte bzw. weniger als 10 % der Spermienanzahl für eine typische künstliche Befruchtung verwendet wird (S. 23 letzter Abs.). Laut Beschreibung sind im Stand der Technik niedrige Dosierungen von etwa 300.000 Spermien pro 0,184 ml erreichbar (S. 26 vorletzter Abs.).

### 3. Zulässigkeit der geltenden Patentansprüche

#### a) Patentanspruch 1

Der geltende Anspruch 1 ist aus dem ursprünglichen Anspruch 1 hervorgegangen.

Im Merkmal **M0** ist der geltende Anspruch 1 nun nicht mehr wie der ursprüngliche Anspruch 1 auf ein „Verfahren zur Herstellung eines Säugetiers mit vorherbestimmten Geschlecht“ gerichtet, sondern auf ein „Verfahren zur Herstellung einer künstlichen nach Geschlecht sortierten Befruchtungsprobe eines nicht-menschlichen Säugetiers“. Die Einschränkung auf ein „nicht-menschliches Säugetier“ ist ursprünglich offenbart (vgl. ursprünglicher Anspruch 3: „... aus der Gruppe von Rin-

dern und Pferden ...“) und somit zulässig. Auch die Änderung im Merkmal **M0**, wonach nun nicht mehr wie ursprünglich im Anspruch 1 angegeben, ein Säugetier mit vorbestimmten Geschlecht mit dem beanspruchten Verfahren hergestellt werden soll, sondern eine künstliche nach Geschlecht sortierte Befruchtungsprobe, ist zulässig. Hierzu wurden die Verfahrensschritte e und f des ursprünglichen Anspruchs 1, die sich auf die künstliche Befruchtung beziehen, weggelassen. Dies ist zulässig, da die Herstellung einer Befruchtungsprobe ein auch ursprünglich offener Zwischenschritt (vgl. Anspruch 1, Verfahrensschritt d); S. 23 letzter Abs.) auf dem Weg zur Herstellung eines Säugetierabkömmlings ist.

Die Einschränkung im Merkmal **M1** (Verfahrensschritt a) auf Rinderspermienzellen ist im ursprünglichen Anspruch 3 („... ausgewählt aus der Gruppe von Rindern ...“) sowie in der ursprünglichen Beschreibung (S. 8 zweiter Abs.: „... für Rinderspermazellen, ...“; ab S. 30 letzter Abs. bis S. 32 vorletzter Abs.: „Beispiel 1“) offenbart.

Das Merkmal **M2a** („Sortieren dieser Spermazellen nach ihrem Geschlecht mit Hilfe von Flußzytometrie“) geht auf die Verfahrensschritte b und c des ursprünglichen Anspruchs 1 (= Sortieren dieser Spermazellen nach ihrem Geschlecht) sowie auf die ursprüngliche Beschreibung (S. 7 letzter Abs.: „... Sortierung von Spermazellen zur Bestimmung ihres Geschlechts durch die Flußzytometer-Trennungstechnik ...“; S. 10 zweiter Absatz: „... mittels Gebrauch der Flußzytometrie ...“) zurück.

Das Merkmal **M2b** („... und mit einer Hüllflüssigkeit, die Citrat enthält“) ist in der ursprünglichen Beschreibung (S. 14 Z. 9 [von unten] bis S. 15 zweiter Abs.: „... Zitrat-Konstanzen für Rinderspermazellen ...“) offenbart.

Das Merkmal **M3** (Citrat-Sammelflüssigkeit mit 6 % Eidotter vor dem Beginn des Sammelschrittes) schließlich ist im ursprüngliche Anspruch 23 (Schritt e) sowie in der ursprüngliche Beschreibung (S. 19 Z. 5 [von unten] bis S. 20 Z. 5 [von unten]): „Daher existiert vor dem Beginn des Sortierungsprozesses die Sammlerflüssigkeit mit einem 6 % Eidottergehalt in der Zytratlösung ...“ offenbart.

Im geltenden Anspruch 1 wurde gegenüber dem ursprünglichen Anspruch 1 das Teilmerkmal, wonach die Befruchtungsprobe eine geringe Anzahl von Spermien im Vergleich zu einer Dosierung bei einer typischen künstlichen Befruchtung enthalten soll (= niedrig dosierte Befruchtungsprobe; vgl. Verfahrensschritt d), weggelassen. Da dieses Merkmal jedoch sowohl im ursprünglichen Anspruchssatz (vgl. bspw. die ursprünglichen Ansprüche 1, 48, 63, 72, 121, 137, 148, 157, 162, 174) als auch in der ursprünglichen Beschreibung (S. 7 zweiter und dritter Abs., S. 8 letzter Abs., S. 23 letzter Abs.) ein zentraler Aspekt der vorliegenden Anmeldung ist, hat der Senat große Zweifel ob die Streichung dieses Merkmals nicht zu einer unzulässigen Erweiterung des geltenden Anspruchs 1 führt. Dies kann jedoch dahingestellt bleiben, da der geltende Anspruch 1 jedenfalls nicht patentfähig ist.

#### **b) Unteransprüche 2-6**

Die Unteransprüche 2 bis 4 gründen auf den ursprünglichen Ansprüchen 16, 17 und 20. Der Unteranspruch 5 ist auf Seite 18 letzter Abs. der ursprünglichen Beschreibung offenbart. Der Unteranspruch 6 gründet auf dem ursprünglichen Anspruch 29.

#### **4. Patentfähigkeit der geltenden Patentansprüche**

Als hier zuständigen Fachmann sieht der Senat einen Zellbiologen mit Universitätsabschluss und beruflicher Erfahrung auf dem Gebiet der Flusszytometrie, wie auch der Vertreter der Anmelderin zutreffend ausgeführt hat.

a) Das Verfahren nach dem geltenden Patentanspruch 1 ist dem Fachmann aus der Zusammenschau der Druckschriften **D4** und **L8** nahegelegt.

Aus der **D4** ist ein Verfahren zur Herstellung einer künstlichen nach Geschlecht sortierten Befruchtungsprobe eines nicht-menschlichen Säugetiers bekannt (vgl. S. 1257 und 1258, Abschnitt „Experiment 2: Flow Cytometrically Sorted Sperm“; = Merkmal **M0**) bekannt, bei dem Rinderspermienzellen gesammelt werden (S. 1257 vorletzter und letzter Abs.: „Semen from 7 Holsten bulls ... and 1 Angus bull ... was used in Experiment 2“, „Semen was collected via artificial vagina, ...“; = Merkmal **M1**) und mit Hilfe von Flusszytometrie nach ihrem Geschlecht sortiert werden (S. 1257 vorletzter Abs.: „... spermatozoa were sorted based on the DNA content of the X- and Y- chromosome ...“, S. 1258 erster Abs.: „The sperm cells were sorted based on their DNA content using a modified Epics V/750 series flow cytometer/cell sorter ...“; = Merkmal **M2a**). Die gesammelten Rinderspermienzellen werden vor dem Sortieren mit einer Flüssigkeit verdünnt, die HEPES-Puffer enthält (S. 1257 letzter Abs.: „Semen was ..., diluted 1:4 in a HEPES-buffered diluent ...“). Nach dem Anfärben (S. 1258 erster Abs.: „Hoechst 33342 (7.12 µM) was added ...“) und Durchlaufen des Flusszytometers werden die nach Geschlecht sortierten Spermienzellen in Röhrchen aufgefangen, die eine Sammelflüssigkeit mit 20 % Eigelb enthalten (S. 1258 erster Abs.: „... microcentrifuge tubes ... containing 100 µl of Test-yolk (20 %) extender ...“).

Der Fachmann kennt auch die Druckschrift **L8** in der verschiedene Flüssigkeiten auf ihre Geeignetheit zur Verdünnung von Spermaproben von Rindern untersucht und miteinander verglichen werden (vgl. S. 3836, Abschnitt „ABSTRACT“: „Semen from four Holstein bulls was evaluated to compare effects of four extender treatments on postthaw semen quality“). Zwar werden die Spermienzellen in der **L8** nach der Verdünnung eingefroren (S. 3837, Abschnitt: „Extender Treatments“: „Extended semen was packaged in straws and frozen after 4 h of equilibration at 5°C“). Der Fachmann, der auf der Suche nach einer möglichst gut geeigneten Verdünnungsflüssigkeit für Rinderspermienzellen ist, wird aber auch Verdünnungs-

flüssigkeiten in Betracht ziehen, die zum Einfrieren von Spermazellen geeignet sind. Denn der Einfrierprozess stellt ebenso wie der Sortierprozess mittels eines Flusszytometers eine große mechanische Belastung für die Spermienzellen dar, wobei die Verdünnungsflüssigkeit die Spermazellen vor dieser Belastung möglichst gut schützen soll. In der **L8** ist angegeben, dass mit einer Verdünnungsflüssigkeit, die Eigelb und Citrat enthält, die besten Ergebnisse erzielt werden (ab S. 3846, rechte Spalte, Abschnitt „CONCLUSIONS“: „The results of this initial study show that ... in demonstrating the potential benefit of extender containing egg yolk-citrate ...“). Der Fachmann wird diese Citrat enthaltende Verdünnungsflüssigkeit daher auch bei dem in der **D4** angegebenen Verfahren zum Sortieren von Rinderspermienzellen mittels Flusszytometrie in Betracht ziehen. Da dieser Verdünnungsflüssigkeit vor dem Sortierprozess lediglich noch ein Farbstoff (Hoechst 33342; vgl. S. 1258 erster Abs.) zugegeben wird, stellt diese dann auch die Hüllflüssigkeit für das Sortieren der Spermienzellen dar [= Merkmal **M2b**]. Der Fachmann wird im Rahmen orientierender Versuche diese in der **L8** als am geeignetsten bewertete Citrat und Eigelb enthaltende Verdünnungsflüssigkeit (vgl. S. 3837, rechte Spalte, Abschnitt „Extender Treatments“: „... 20 % (vol/vol) egg yolk in 2.9 % (wt/vol) sodium citrate dihydrate (egg yolk-citrate)“) auch für das Sammeln der nach Geschlecht sortierten Spermazellen verwenden. Das Vorsehen von 6 % Eidotter in dieser Flüssigkeit anstatt wie in der **L8** angegeben 20 % Eidotter ist eine rein fachmännische Maßnahme. Denn der Fachmann wird Versuche zum Auffinden des optimalen Eidottergehalts durchführen und dabei im Rahmen dieser Versuche selbstverständlich auch einen Eidottergehalt von 6 % vor dem Beginn des Sammelschrittes in Betracht ziehen [= Merkmal **M3**].

Damit ist der Fachmann aber bereits in naheliegender Weise beim Verfahren des Patentanspruchs 1 angelangt.

**b)** Da der Gegenstand des geltenden Patentanspruchs 1 nicht patentfähig ist, fallen aufgrund der Antragsbindung notwendigerweise auch die jeweils auf den Patentanspruch 1 direkt bzw. indirekt rückbezogenen Unteransprüche 2 bis 6 (vgl. BGH GRUR 1997, 120 ff. - elektrisches Speicherheizgerät).

### III

#### **Rechtsmittelbelehrung**

Gegen diesen Beschluss steht den am Beschwerdeverfahren Beteiligten das Rechtsmittel der Rechtsbeschwerde zu, wenn gerügt wird, dass

1. das beschließende Gericht nicht vorschriftsmäßig besetzt war,
2. bei dem Beschluss ein Richter mitgewirkt hat, der von der Ausübung des Richteramtes kraft Gesetzes ausgeschlossen oder wegen Besorgnis der Befangenheit mit Erfolg abgelehnt war,
3. einem Beteiligten das rechtliche Gehör versagt war,
4. ein Beteiligter im Verfahren nicht nach Vorschrift des Gesetzes vertreten war, sofern er nicht der Führung des Verfahrens ausdrücklich oder stillschweigend zugestimmt hat,
5. der Beschluss aufgrund einer mündlichen Verhandlung ergangen ist, bei der die Vorschriften über die Öffentlichkeit des Verfahrens verletzt worden sind, oder
6. der Beschluss nicht mit Gründen versehen ist.

Die Rechtsbeschwerdeschrift muss von einer beim Bundesgerichtshof zugelassenen Rechtsanwältin oder von einem beim Bundesgerichtshof zugelassenen Rechtsanwalt unterzeichnet und innerhalb eines Monats nach Zustellung des Beschlusses beim Bundesgerichtshof, Herrenstraße 45a, 76133 Karlsruhe eingereicht werden. Die Frist ist nur gewahrt, wenn die Rechtsbeschwerde vor Fristablauf beim Bundesgerichtshof eingeht. Die Frist kann nicht verlängert werden.

Dr. Häußler

Dr. M. Müller

Veit

Heimen