



BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

Verkündet am
20. November 2018

3 Ni 45/16 (EP)

(Aktenzeichen)

...

In der Patentnichtigkeitssache

...

betreffend das europäische Patent 1 090 129
(DE 699 29 886)

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 20. November 2018 durch den Richter Kätker als Vorsitzenden sowie die Richterinnen Kirschneck, Dipl.-Chem. Dr. Münzberg, den Richter Dipl.-Chem. Dr. Jäger und die Richterin Dipl.-Chem. Dr. Wagner

für Recht erkannt:

- I. Das europäische Patent 1 090 129 wird mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig erklärt.
- II. Die Beklagte trägt die Kosten des Rechtsstreits.
- III. Das Urteil ist gegen Sicherheitsleistung in Höhe von 120 % des zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

Tatbestand

Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 23. Juni 1999 als PCT-Anmeldung WO 1999/067398 in englischer Sprache angemeldeten und vom Europäischen Patentamt u. a. mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland erteilten Patents 1 090 129 (Streitpatent), das die Priorität der amerikanischen Anmeldung US 104769 vom 25. Juni 1998 in Anspruch nimmt und vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 699 29 886 geführt wird. Das Streitpatent, das in beschränktem Umfang gemäß Hauptantrag und hilfsweise beschränkt mit 16 Hilfsanträgen verteidigt wird, trägt die Bezeichnung „Overexpression of Phytase Genes in Yeast Systems“ („Überexpression von Phytase in Hefesystemen“) und umfasst 32 Patentansprüche, deren nebengeordnete Patentansprüche 1, 13, 18,

24 und 30 in der vom Europäischen Patentamt beschränkt aufrecht erhaltenen Fassung wie folgt lauten:

1. A method of producing phytase in yeast comprising:
providing an appA gene isolated from bacterial cells, which appA gene encodes a protein or polypeptide with phytase activity, expressing said appA gene in a yeast strain, and isolating the expressed protein or polypeptide.

13. The protein or polypeptide obtainable by a method according to claim 1 having phytase activity with optimum activity in a temperature range of 57 - 65°C and at a pH of 2.5 to 3.5 or 5 to 5.5.

18. A yeast strain comprising:
an appA gene isolated from bacterial cells, which appA gene encodes a protein or polypeptide with phytase activity and which is functionally linked to a promoter capable of expressing phytase in yeast, wherein said protein or polypeptide has increased thermostability when expressed in a yeast host cell as compared to that of said protein or polypeptide expressed in a non-yeast host cell.

24. A vector comprising:
an appA gene isolated from bacterial cells, which gene encodes a protein or polypeptide with phytase activity; a promoter functionally linked to the appA gene, said promoter capable of initiating transcription in yeast; and an origin of replication capable of maintaining the vector in yeast, wherein said protein or polypeptide has increased thermostability when expressed in a yeast host cell as compared to that of said protein or polypeptide expressed in a non-yeast host cell.

30. A method of converting phytate to inositol and inorganic phosphorus comprising:

providing an appA gene isolated from bacterial cells; expressing a protein or polypeptide with phytase activity from said gene in a yeast host cell; and contacting the protein or polypeptide with phytate to catalyze the conversion of phytate to inositol and inorganic phosphorus.

In deutscher Fassung lauten sie:

1. Ein Verfahren zur Erzeugung einer Phytase in Hefen, umfassend:

Hervorbringen eines von bakteriellen Zellen isolierten appA Gens, ein appA Gen, das ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität kodiert, Expression dieses appA Gens in einem Hefestamm und Isolierung des exprimierten Proteins oder Polypeptids.

13. Das Protein oder das Polypeptid, das über ein Verfahren nach Anspruch 1 erhältlich ist, welches Phytase-Aktivität aufweist, mit einer optimalen Aktivität in einem Temperatur-Intervall von 57-65°C und mit einem pH von 2,5 bis 3,5 oder von 5 bis 5,5.

18. Ein Hefestamm umfassend:

ein appA Gen, das ausgehend von bakteriellen Zellen isoliert wurde, appA Gen, das ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität kodiert, und welches funktionell an einen Promotor gebunden ist, der in der Lage ist, die Phytase in Hefe zu exprimieren und wobei dieses Protein oder Polypeptid eine im Vergleich zu diesem, in einer Wirtszelle, die nicht aus Hefe besteht, exprimierten Protein oder Polypeptid erhöhte Thermostabilität aufweisen soll.

24. Ein Vektor umfassend:

ein appA Gen, das ausgehend von bakteriellen Zellen isoliert wurde, dessen Gen ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität kodiert

einem Promotor, der auf funktionelle Weise mit dem appA Gen verbunden ist, wobei dieser Promotor in der Lage ist, die Transkription bei Hefe in Gang zu setzen, sowie einem Replizierungsursprung, der in der Lage ist, den Vektor bei der Hefe zu halten, wobei dieses Protein oder Polypeptid eine im Vergleich zu diesem in einer Wirtszelle, die nicht aus Hefe besteht, exprimierten Protein oder Polypeptid erhöhte Thermostabilität aufweisen soll.

30. Ein Verfahren, um Phytat in Inositol und anorganisches Phosphor zu verwandeln, welches umfassen soll: ein appA Gen herzubringen, das ausgehend von bakteriellen Zellen isoliert wurde; das Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität ausgehend von diesem Gen in einer Wirtszelle aus Hefe zu exprimieren; sowie das Protein oder Polypeptid mit Phytat in Kontakt zu bringen, um die Umwandlung von Phytat in Inositol und anorganisches Phosphor zu katalysieren.

Wegen des Wortlauts der unmittelbar oder mittelbar auf die o. g. unabhängigen Patentansprüche rückbezogenen weiteren Patentansprüche wird auf die Patentschrift EP 1 090 129 (= K1) bzw. auf deren deutsche Übersetzung DE 699 29 886 (= K2) verwiesen.

Die Klägerin, die das Streitpatent in vollem Umfang angreift, macht die Nichtigkeitsgründe der mangelnden Patentfähigkeit, der mangelnden Ausführbarkeit sowie der unzulässigen Erweiterung geltend. Sie stützt ihr Vorbringen im Wesentlichen auf folgende Dokumente:

- D1 WO 99/08539 A1
- D3 J. Dassa et al., Journal of Bacteriology, Vol. 172, S. 5497 bis 5500, 1990
- D4 E. Dassa et al., The Journal of Biological Chemistry, Vol. 257, S. 6669 bis 6676, 1982
- D5 "Feed manufacturing in Southern Europe: New challenges", P. Morand-Fehr (Hrsg.), Zaragoza: CIHEAM, Cahiers Options Méditerranéennes, No. 26, S. 135 bis 147, 1997
- D6 Mitchell et al., Microbiology, Vol. 143, S. 245 bis 252, 1997
- D7 GB 2 316 082 A
- D8 Greiner et al., Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 303, S. 107 bis 113, 1993
- D8a Wodzinski und Ullah, "Phytase", Advances in applied Microbiology, Vol. 42, 1996, 263 bis 302
- D9 EP 0 699 762 A2
- D10 WO 97/35017A1
- D11 WO 97/48812 A2
- D12 Ostanin et al., The Journal of Biological Chemistry, Vol. 267, S. 22830 bis 22836, 1992
- D13 Romanos, Current Opinion in Biotechnology, Vol. 6, S. 527 bis 533, 1995
- D14 Vegarud und Christensen, Biotechnology and Bioengineering, Vol. XVII, S. 1391 bis 1397, 1975
- D15 Curry et al., Appl. and Env. Microbiol., Vol. 54, S. 476 bis 484, 1988
- D16 Olsen und Thomsen, J. of Gen. Microbiol., Vol. 137, S. 579 bis 585, 1991
- D17 Sun, „Cloning and Expression of Calpain and Phytase Genes for the Improvement of Animal Growth and Nutrition“, Dissertation, Purdue University, Dezember 1996, Titelblatt bis Seite V, S. 59 bis 80 und 160 bis 184

Zur Auslegung des streitpatentgemäßen Merkmals „appA Gen“ trägt die Klägerin vor, dass die bloße Nomenklatur des Gens als „appA“ willkürlich sei, da der Begriff zum Prioritätszeitpunkt in der Fachwelt weder mit definierten DNA-Sequenzen noch mit bestimmten Proteinen in Verbindung gebracht worden sei. Der zum Prio-

ritätszeitpunkt des Streitpatents verfügbare Stand der Technik habe daher als „appA“ bezeichnete Gene nicht grundsätzlich mit Proteinen enthaltend das Motiv „RHGXRX“ (Abkürzung für die Abfolge von 7 Aminosäuren, wobei R für Arginin, H für Histidin, G für Glycin, P für Prolin und X für eine beliebige Aminosäure steht) (kurz: RHG-Motiv) in Verbindung gebracht. Der Fachmann verstehe unter dem patentgemäß verwendeten Begriff „appA Gen“ demzufolge ein aus Bakterien stammendes natives Gen, welches ein Protein mit Phytase-Aktivität kodiere.

Ausgehend von diesem Wortsinn des Begriffs „appA Gen“ sei das Verfahren zur Herstellung einer Phytase nach Patentanspruch 1 durch jede der Druckschriften D1, D7, D9 oder D11 neuheitsschädlich vorweggenommen. Das Protein des Product-by-Process-Anspruchs 13 in der Fassung gemäß Hauptantrag weise gegenüber jeder der Druckschriften D3, D8 oder D11 ebenfalls nicht die erforderliche Neuheit auf. Darüber hinaus würden die Gegenstände der Patentansprüche 18, 24 und 30 jeweils von der Druckschrift D1 neuheitsschädlich getroffen. Dem Verfahren zur Umwandlung von Phytat in Inositol nach Patentanspruch 30 stehe überdies der Inhalt der Druckschrift D11 neuheitsschädlich entgegen.

Die Gegenstände des Streitpatents beruhen auch nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die Aufgabe des Streitpatents liege in der Bereitstellung einer neuen Phytase. Die patentgemäße Lösung dieser Aufgabe durch das Verfahren des Patentanspruchs 1 sei durch eine Kombination der Druckschrift D7 mit einer der Druckschriften D8, D9, D11, oder D13 nahegelegt. Des Weiteren lege eine Zusammenschau der Druckschriften D8 und D10 das Protein des geltenden Patentanspruchs 13 nahe. Der Hefestamm gemäß Patentanspruch 18 sowie der Vektor des Patentanspruchs 24 lägen durch eine Kombination der Druckschrift D7 mit der Druckschrift D8 oder der Druckschrift D3 ebenfalls im Blickfeld des Fachmanns. Auch das Umwandlungsverfahren gemäß Patentanspruch 30 beruhe nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Es sei durch eine Kombination der Druckschriften D8 und D10 nahegelegt.

Eine erfinderische Tätigkeit fehle auch den Gegenständen der Unteransprüche.

Des Weiteren ist die Lehre des Patentanspruchs 1 nach Ansicht der Klägerin nicht im gesamten beanspruchten Bereich ausführbar offenbart, da die Beschreibung des Streitpatents anhand der Beispiele 10 und 11 selbst aufzeige, dass die Expression eines bakteriellen appA-Gens in einem Hefeexpressionssystem nicht zwangsläufig zu einem Protein mit Phytaseaktivität führe. Hinzu komme, dass das Streitpatent nur eine einzige Sequenz für ein bakterielles appA-Gen offenbare. Die Lehre des Patentanspruchs 4 sei hingegen technisch nicht sinnvoll, da das bakterielle Genom keine Introns enthalte und somit auch kein Splicevorgang erforderlich sei. Durch seinen Rückbezug auf Patentanspruch 1 sei ferner die Lehre des Patentanspruchs 13 nicht ausführbar, zumal das Streitpatent keine Angaben dazu enthalte, wie die im geltenden Patentanspruch 13 genannten Parameter zu bestimmen seien. Auch die Lehren der Patentansprüche 18 und 24 seien nicht ausführbar offenbart, da das Streitpatent selbst Hefezellen offenbare, mit denen unter Einsatz des Vektors pYES2 kein Protein exprimiert werden könne, welches Phytaseaktivität aufweise. Das Verfahren des Patentanspruchs 30 sei ebenfalls nicht ausführbar, da bei einer Umwandlung von Phytat in Inositol in Gegenwart von Phytase zwar anorganisches Phosphat aber kein elementarer Phosphor erhalten werde. Im Übrigen liege durch die Einbeziehung einer enzymatisch aktiven Phytase in das Verfahren des Patentanspruchs 30 der Offenbarungsmangel des Patentanspruchs 1 auch beim Gegenstand des Patentanspruchs 30 vor. Die von der Beklagten eingereichte deutsche Fassung der Patentansprüche gemäß Hauptantrag unter Ersetzung des Begriffs „Phosphor“ durch „Phosphorverbindung“ in Anspruch 30 sei der Versuch einer unzulässigen Klarstellung. Andernfalls sei diese als Schutzbereichserweiterung unzulässig.

Zudem gingen die Gegenstände der nebengeordneten Patentansprüche 1, 13, 18, 24 und 30 über den Inhalt der ursprünglich eingereichten Fassung hinaus. Die im Patentanspruch 1 enthaltene verallgemeinernde Erstreckung des Begriffs „appA Gen“ auf jegliche bakterielle Zelle als Ursprungsorganismus für das Gen werde von den Ursprungsunterlagen nicht gestützt. Damit seien auch die Patentansprü-

che 13, 18, 24 und 30 unzulässig erweitert. Außerdem werde in den ursprünglichen Unterlagen eine erhöhte Thermostabilität nur für eine einzige, in Hefe rekombinant hergestellte Phytase nachgewiesen. Demzufolge führe eine verallgemeinernde Erstreckung der erhöhten Thermostabilität gleichfalls zu einer unzulässigen Erweiterung der geltenden Patentansprüchen 18 und 24.

Die Hilfsanträge der Beklagten seien weitgehend unzulässig. Jedenfalls beruhen ihre Gegenstände nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit, denn die damit zusätzlich eingefügten Merkmale betreffend das pH-Optimum und/oder die Thermostabilität der Phytase seien bereits aus dem Stand der Technik bekannt bzw. stellten sich als sekundär vermessene Parameter zwangsläufig ein.

Die Klägerin beantragt,

das europäische Patent 1 090 129 mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig zu erklären.

Die Beklagte beantragt,

die Klage mit der Maßgabe abzuweisen, dass das Streitpatent die Fassung des Hauptantrags gemäß Schriftsatz vom 6. Dezember 2016,

hilfsweise eines der Hilfsanträge 1 bis 16 gemäß Schriftsatz vom 21. September 2018 (jeweils in der Verfahrenssprache) erhält.

Die Patentansprüche gemäß Hauptantrag entsprechen den Patentansprüchen in der beschränkt aufrecht erhaltenen Fassung mit dem Unterschied, dass im Patentanspruch 13 die zweite Alternative („or 5 to 5.5“) gestrichen wird.

Im Hilfsantrag 1 wird gegenüber dem Hauptantrag in die unabhängigen Patentansprüche 1, 18, 24 und 30 jeweils nach den Wörtern „... with phytase activity“ das zusätzliche Merkmal „and histidine acid phosphatase activity“ eingefügt. Außerdem wird in den Patentansprüchen 15 bis 17 jeweils vor dem Wort „activity“ das Wort „phytase“ eingefügt.

Hilfsantrag 2 entspricht Hilfsantrag 1 mit dem Unterschied, dass das in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 18, 24 und 30 jeweils nach den Wörtern „... with phytase activity“ eingefügte Merkmal Fall lautet: „and acid phosphatase activity“.

Hilfsantrag 3 entspricht Hilfsantrag 2 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 18, 24 und 30 jeweils folgendes weiteres Merkmal betreffend das pH-Optimum angehängt wird:

„ ... wherein the protein or polypeptide has a phytase activity with optimum activity at a pH of 2.5 to 3.5 or 5 to 5.5“.

Hilfsantrag 4 entspricht Hilfsantrag 1 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 18, 24 und 30 jeweils folgender Disclaimer angefügt wird:

„... wherein the appA gene does not encode a polypeptide comprising SEQ ID NO. 13“.

Hilfsantrag 5 entspricht Hilfsantrag 2 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 18, 24 und 30 der Disclaimer gemäß Hilfsantrag 4 angefügt wird.

Hilfsantrag 6 entspricht Hilfsantrag 3 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 18, 24 und 30 der Disclaimer gemäß Hilfsantrag 4 ein-

gefügt wird und im Merkmal betreffend das pH-Optimum die Alternative „or 5 to 5.5“ gestrichen wird.

Hilfsantrag 7 entspricht Hilfsantrag 1 mit den Unterschieden, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 des Hilfsantrags 7 jeweils folgendes, die Thermostabilität definierende Merkmal angefügt wird:

„wherein the expressed protein or polypeptide has a phytase activity, wherein the protein or polypeptide retains at least 60 % of its phytase activity after heating the protein or polypeptide for 15 min. at 60° C”

und dass die Patentansprüche 15 bis 17 nach Hilfsantrag 1 gestrichen werden. Die Nummerierung und die Rückbezüge der weiteren Patentansprüche werden angepasst.

Hilfsantrag 8 entspricht Hilfsantrag 7 mit dem Unterschied, dass das in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 jeweils nach den Wörtern „... with phytase activity“ eingefügte Merkmal - wie in Hilfsantrag 2 - lautet: „and acid phosphatase activity“.

Hilfsantrag 9 entspricht Hilfsantrag 8 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 jeweils das im Hilfsantrag 6 genannte zusätzliche Merkmal betreffend das pH-Optimum angefügt wird.

Hilfsantrag 10 entspricht Hilfsantrag 7 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 jeweils der im Hilfsantrag 4 genannte Disclaimer angefügt wird.

Hilfsantrag 11 entspricht Hilfsantrag 8 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 jeweils der im Hilfsantrag 4 genannte Disclaimer angefügt wird.

Im Hilfsantrag 12 wird gegenüber dem Hauptantrag in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 17, 22 und 27 des Hilfsantrags 12 der Ausdruck „an appA gene isolated from bacterial cells“ ersetzt durch „providing an E.coli appA gene“. Zusätzlich wird in den unabhängigen Patentansprüchen jeweils der Disclaimer des Hilfsantrags 4 angefügt. Außerdem werden die Patentansprüche 10, 19, 29 und 32 der beschränkt aufrecht erhaltenen Fassung gestrichen. Die Nummerierung und die Rückbezüge der weiteren Patentansprüche werden angepasst.

Hilfsantrag 13 entspricht Hilfsantrag 12 mit den Unterschieden, dass zum einen in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 14, 19 und 24 des Hilfsantrags 13 statt des Disclaimers jeweils das Thermostabilitäts-Merkmal des Hilfsantrags 7 angefügt wird. Zum anderen werden im Hilfsantrag 13 die Ansprüche 15, 16 und 17 des Hilfsantrags 12 gestrichen.

Im Hilfsantrag 14 wird gegenüber dem Hauptantrag in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 14, 19 und 24 des Hilfsantrags 14 jeweils folgendes Merkmal eingefügt:

„wherein the appA gene is isolated from E.coli“.

Zusätzlich wird in die unabhängigen Patentansprüche jeweils das Thermostabilitäts-Merkmal aus Hilfsantrag 7 sowie der Disclaimer des Hilfsantrags 4 aufgenommen. Außerdem werden die Patentansprüche 10, 15 bis 17, 19, 29 und 32 gemäß Hauptantrag gestrichen. Die Nummerierung und die Rückbezüge der weiteren Patentansprüche werden angepasst. Des Weiteren werden zusätzlich folgende Unteransprüche angefügt:

26. The method according to claim 30, wherein the appA gene is the appA gene with Genebank accession No.: M58708.

27. The method according to any of claim 1 - 11, wherein the appA gene is the appA gene with Genebank accession No.: M58708.

28. The protein of claim 12 or 13, wherein the appA gene is the appA gene with Genebank accession No.: M58708.

29. The yeast strain of any of claims 14 to 18, wherein the appA gene is the appA gene with Genebank accession No.: M58708.

30. The vector of any of claims 19 to 23, wherein the appA gene is the appA gene with Genebank accession No.: M58708.

Hilfsantrag 15 entspricht dem Hauptantrag mit den Unterschieden, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 des Hilfsantrags 15 jeweils das Thermostabilität-Merkmal aus Hilfsantrag 7 sowie das im Hilfsantrag 3 genannte Merkmal betreffend ein pH-Optimum ohne den alternativen Bereich „or 5 to 5.5“ angefügt werden. Außerdem werden die Patentansprüche 15 bis 17 nach Hauptantrag gestrichen. Die Nummerierung und die Rückbezüge der weiteren Patentansprüche werden angepasst.

Hilfsantrag 16 entspricht Hilfsantrag 15 mit dem Unterschied, dass in den unabhängigen Patentansprüchen 1, 15, 21 und 27 des Hilfsantrags 16 zusätzlich jeweils der Disclaimer aus dem Hilfsantrag 4 angefügt wird.

Die Beklagte tritt dem Vorbringen der Klägerin in allen Punkten entgegen. Sie verweist im Wesentlichen auf folgende Dokumente:

- G2 Van Etten et al., J. Biol. Chem., Vol. 266, S. 2313 bis 2319, 1991
- G11 Cregg et al., Bio/Technology, Vol. 11, S. 905 bis 910, 1993
- G12 Dassa und Bouquet, Mol Gen Genet., Vol. 200, S. 68 bis 73, 1985

- G15 Beschluss vom 17. April 2018 im Beschwerdeverfahren vor dem EPA betreffend das Patent EP 1 688 500, Application No. 06 075 318.3, 26 Seiten
- G17 Kerovuo et al., Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, S. 2079 bis 2085, 1998
- G19 Ostanin u. Van Etten, The Journal Of Biological Chemistry, Vol. 268, S. 20778 bis 20784, 1993
- G21 Vincent et al., TIBS, Vol. 17, S. 105 bis 110, 1992

Nach Auffassung der Beklagten kommt dem Begriff „appA Gen“ zum Prioritätszeitpunkt des Streitpatents eine etablierte technische Bedeutung zu. Der Begriff bezeichnet aus ihrer Sicht Gene, die Phytasen mit saurer Histidin-Phosphatase-Aktivität kodieren, da zur Offenbarung der streitpatentgemäßen Lehre auch die in der Beschreibung der Streitpatentschrift in Bezug genommene Literatur gehöre. Demzufolge könne der Begriff „appA Gen“ nicht unabhängig von dem für saure Histidin-Phosphatasen typischen RHG-Motiv gesehen werden. Diese von der Einspruchsabteilung des Europäischen Patentamts geteilte Auslegung werde durch die nachveröffentlichte Fachliteratur gestützt.

Die Gegenstände der unabhängigen Patentansprüche seien neu. Die Dokumente D7, D9 und D11 offenbarten Gene, die keine sauren Phosphatasen mit RHG-Motiv kodierten. Auch D8 offenbare eine Phytase, von der nicht bekannt gewesen sei, dass sie das RHG-Motiv aufweise. Außerdem offenbarten die Dokumente D1, D3, D7, D8, D9 und D11 kein in einem Hefestamm exprimiertes appA-Gen.

Darüber hinaus beruhten die Gegenstände des Streitpatents auf einer erfindnerischen Tätigkeit. Die Aufgabe des Streitpatents liege in der Bereitstellung eines Enzyms, das in seiner Thermostabilität verbessert sei und in der Folge als Futtermittelzusatzmittel verwendbar sei. Die nach der patentgemäßen Lehre gezielte Auswahl von appA als Phytase kodierendem Gen und Hefe als Expressionssystem zur Bereitstellung einer Phytase mit verbesserter Thermostabilität sei durch keine der von der Klägerin angeführten Druckschriften, auch nicht in ihrer Zusammenschau,

nahegelegt worden. Soweit die Klägerin etwa die Druckschrift D8 als Ausgangspunkt anführe, fehle es bereits an einer Motivation die darin schlecht charakterisierte Phytase P2 als Phytase der Wahl zu erachten. Dies gelte umso mehr, als das pH-Optimum dieser Phytase deutlich außerhalb der Werte liege, die für die Futtermittelindustrie relevant sei.

Gegenteiliges könnten auch die von der Klägerin vorgelegten, teilweise nachveröffentlichten Dokumente nicht belegen. Zudem habe es keinerlei Erkenntnisse gegeben, dass das appA-Gen der D3 eine Phytase kodiere und, dass diese oder das Enzym P2 der D8 bei Expression in einem Hefe-Wirtsorganismus kommerziellen Phytasen überlegen sein könnten.

Der Fachmann habe ohne rückschauende Betrachtung überdies keinen Grund für die Auswahl von Hefe als heterologem Expressionssystem gehabt. D9 offenbare ein homologes Hefe-Expressionssystem, bei dem das für eine Phytase codierende Gen aus Hefe selbst stamme. Demzufolge gebe auch die D9 keine Anregungen, die in Richtung der patentgemäßen Lehre weisen würden. In D7 und D10 werde Hefe nur als eines von vielen Expressionssystemen erwähnt. Aber weder D7 bzw. D10 noch die weiteren von der Klägerin vorgelegten Druckschriften D14 bis D17 wiesen darauf hin, dass durch die Expression eines bakteriellen appA-Gens in einem Hefewirt eine Phytase mit verbesserter Thermostabilität erhalten werde.

Die Ausführbarkeit der patentgemäßen Lehre sei gegeben, da der Fachmann bei der Expression von prokaryontischen Genen in Eukaryonten – wie Hefe – selbstverständlich hierfür geeignete Expressionselemente, einschließlich der erforderlichen Signalsequenz zum Ausschleusen des Proteins aus der Wirtszelle, vorsehe. Entgegen der Auffassung der Klägerin sei das in Unteranspruch 4 angesprochene „Splicing“ in einem eukaryontischen Hefeexpressionssystem technisch durchaus sinnvoll und für den Fachmann auch selbstverständlich.

Auch die Lehre des Patentanspruchs 13 sei ausführbar, da die Bestimmung von pH- und Temperatur-Optima bei Phosphatasen, einschließlich Phytasen, unter Standardbedingungen zum Prioritätszeitpunkt üblich und dem Fachmann bekannt gewesen sei. Die in Anspruch 13 genannten Parameter könnten daher vom Fachmann ohne weiteres bestimmt werden.

Ausführbar offenbart sei auch die Lehre des Patentanspruchs 30. Mit „inorganic phosphorous“ sei erkennbar nicht Phosphor als Element sondern Phosphat gemeint. Hierzu reicht die Beklagte deutsche Fassungen von den Patentansprüchen gemäß Haupt- und Hilfsanträgen ein, in denen der entsprechende Begriff „anorganische Phosphorverbindung“ lautet.

Eine unzulässige Erweiterung liege nach Ansicht der Beklagten ebenfalls nicht vor, da die ursprünglichen Unterlagen eindeutig erkennen ließen, dass das aus E.coli stammende appA-Gen darin nur als ein repräsentatives Beispiel für die Expression eines appA-Gens bakteriellen Ursprungs verwendet worden sei, welches Phytaseaktivität aufweise. In der ursprünglichen Anmeldung werde zudem mehrfach ausdrücklich darauf hingewiesen, dass es sich hierbei nur um eine bevorzugte Ausführungsform handle und somit zweifelsfrei dargelegt, dass die ursprünglich offenbarte Lehre weiter gefasst sei.

Auch die Gegenstände des Streitpatents in den Fassungen gemäß den vorsorglich vorgelegten Hilfsanträgen seien ursprünglich offenbart und patentfähig.

Entscheidungsgründe

Die auf die Nichtigkeitsgründe der mangelnden Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 a) EPÜ), der mangelnden Ausführbarkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 2 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 b) EPÜ) und der unzulässigen Erweiterung (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 3 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 c) EPÜ) gestützte Klage ist zulässig und erweist sich auch als begründet.

Soweit das Streitpatent im Wege der zulässigen Selbstbeschränkung nicht mehr verteidigt wird, war es mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland ohne Sachprüfung für nichtig zu erklären (zur st. Rspr. im Nichtigkeitsverfahren vgl. z. B. BGH GRUR 2007, 404, 405 - Carvedilol II; Busse/Keukenschrijver, PatG, 8. Aufl., § 82 Rn. 119 m. w. Nachw.; Schulte/Voit, PatG, 10. Aufl., § 81 Rdn. 127).

Die Klage hat im Übrigen auch Erfolg, da die Gegenstände des Streitpatents in den verteidigten Fassungen jedenfalls nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhen.

I.

1. Das Streitpatent betrifft die rekombinante Herstellung einer Phytase bakteriellen Ursprungs in Hefezellen.

Das Streitpatent geht einleitend von der allgemeinen Fachkenntnis aus, dass es sich bei Phytasen um eine spezifische Gruppe von Monoester Phosphatasen handelt, die je nach Phytase-Typ an einer bestimmten Position des Substrats Phosphatgruppen (PO_4^{3-}) hydrolytisch abspaltet. Es führt weiter aus, dass das Substrat aller Phytasen – wie der Name schon sagt – die Phytinsäure ist, die in der Natur meist in ihrer anionischen Form als Phytat vorkommt. Neben Phosphat wird durch die enzymatische Wirkung einer Phytase auf Phytat folglich auch Inositol freigesetzt.

Das Streitpatent führt des Weiteren aus, dass Phytinsäure/Phytat in der Natur die Hauptspeicherform von Phosphor in Pflanzen wie Hülsenfrüchten, Getreide oder Ölsaaten ist. Wirtschaftliche Bedeutung kommt den Phytasen – wie im Streitpatent angegeben – deshalb zu, weil viele Nutztiere keine Enzyme mit Phytaseaktivität in ihrem Magen-Darm-Trakt produzieren und das über die Nahrung aufgenommene Phytat somit nicht als wertvolle Phosphatquelle nutzen können. Der Zusatz von Phytasen zu Futtermitteln bietet demzufolge den Vorteil, Nutztiere besser mit Phosphat versorgen zu können, ohne dem Futter teures Phosphat zusätzlich in größeren Mengen hinzuzufügen zu müssen.

Den Angaben in der einleitenden Beschreibung des Streitpatents zur Folge sind ferner für Phytasen kodierende Gene aus verschiedenen Pilzen und Bakterien bekannt. Auch die rekombinante Expression solcher Gene in entsprechenden Ex-

pressionssystemen setzt das Streitpatent als bekannt voraus. Das Streitpatent weist dabei insbesondere auf Hefen, wie *Pichia pastoris*, als geeignete Expressionssysteme sowie ihre prinzipiellen Vorzüge als eukaryontische Expressionssysteme hin. Außerdem erwähnt das Streitpatent, dass Hefen in der Lebensmittelindustrie gut angenommen werden, da sie wirksame und verlässliche Erzeuger von Lebensmitteln sind (vgl. K2, Abs. [0002 bis 0007]).

2. Vor diesem Hintergrund stellt sich das Streitpatent die Aufgabe, ein effizientes und einfaches System bereitzustellen, um Phytase preiswert für ihre Anwendung in der Lebensmittel- und Futterindustrie herstellen zu können (vgl. K2, Abs. [0008]).

Diese Aufgabenstellung gibt das technische Problem, das für den Fachmann erkennbar durch die Gegenstände der nebengeordneten Patentansprüche 1, 13, 18, 24 und 30 gelöst wird, objektiv wieder und ist somit nicht zu beanstanden.

Nach dem Vortrag der Beklagten sollte die Aufgabenstellung zusätzlich die Angabe beinhalten, dass die bereitgestellten Phytasen eine erhöhte Thermostabilität aufweisen müssen, um nicht nur die Temperaturen beim Pelletieren des Futtermittels unbeschadet überstehen zu können, sondern auch um ihre maximale enzymatische Aktivität bei der Körpertemperatur des Tieres entfalten zu können. Zudem sollte nach Ansicht der Beklagten in der Aufgabenstellung erwähnt werden, dass die Phytasen für ihre enzymatische Aktivität im stark sauren Milieu des Magens von Tieren stabil sein sollten.

Die ausdrückliche Aufnahme der von der Beklagten angesprochenen Eigenschaften in die patentgemäße Aufgabenstellung ist für eine zutreffende und damit objektive Formulierung der Aufgabe allerdings nicht erforderlich. Dies liegt darin begründet, dass die in der Streitpatentschrift formulierte Aufgabenstellung bereits die Eignung der Phytasen für die Lebens- bzw. Futtermittelindustrie vorsieht. Die Einbeziehung dieser Zweckangabe in die Aufgabenstellung des Streitpatents berücksichtigt somit, dass die in Rede stehenden Phytasen ihre Aktivität auch unter den

bei der Erzeugung von Lebens- bzw. Futtermittel herrschenden Bedingungen sowie unter den Bedingungen im Verdauungstrakt von Mensch und Tier beibehalten müssen. Die Formulierung einer Aufgabenstellung, die von der in der Streitpatentschrift vorgegebenen Aufgabenstellung abweicht, ist daher nicht geboten.

3. Gelöst wird die patentgemäße Aufgabe u. a. durch das Verfahren des geltenden Patentanspruchs 1, welches in deutscher Sprache folgende Merkmale aufweist:

- M1.1 Ein Verfahren zur Erzeugung einer Phytase in Hefen, umfassend
- M1.2 das Bereitstellen eines aus bakteriellen Zellen isolierten appA-Gens, wobei
- M1.3 das appA-Gen ein Protein oder ein Polypeptid mit Phytase-Aktivität kodiert,
- M1.4 die Expression dieses appA-Gens in einem Hefestamm und
- M1.5 die Isolierung des exprimierten Proteins oder Polypeptids.

4. Bei dem vorliegend zuständigen Fachmann handelt es sich um einen wissenschaftlich tätigen Biologen mit Schwerpunkt Biochemie oder einen Biochemiker, jeweils mit Erfahrung in der rekombinanten Expression von Enzymen.

II.

1. Strittig ist zwischen den Verfahrensbeteiligten die Bedeutung des patentgemäß verwendeten Begriffes „appA Gen“ sowie des damit eng verbundenen Begriffes „Phytase-Aktivität“.

Eine eingehende Betrachtung der geltenden Anspruchsfassung nach Hauptantrag lässt erkennen, dass in keinem der darin genannten Patentansprüche der Begriff „appA-Gen“ mit einer Nukleotidsequenz in Verbindung gebracht wird. Dies verdeutlicht bereits, dass es der Lehre des Streitpatents nicht auf ein einziges, stoff-

lich exakt definiertes Gen ankommt. Für die in sämtlichen nebengeordneten Patentansprüchen beschriebene Lehre ist es - unabhängig davon, ob darin ein Verfahren, ein Protein, ein Hefestamm oder ein Vektor definiert wird - vielmehr von Bedeutung, dass das patentgemäße „appA Gen“ aus einer bakteriellen Zelle isoliert wird. Aber selbst dabei ist für die Lehre des Streitpatents erst in zweiter Linie von Interesse, aus welchem Bakterium das Gen stammt. Dies ergibt sich aus dem Umstand, dass das Bakterium *Escherichia coli* erstmals in den Unteransprüchen als bevorzugtes Bakterium genannt wird (siehe Unteransprüche 10, 19, 29 und 32). In Übereinstimmung damit wird auch in der Beschreibung der Streitpatentschrift die Lehre zunächst anhand bakterieller „appA Gene“ in allgemeiner Form beschrieben und erst danach anhand des konkreten appA-Gens aus *E.coli* beispielhaft näher erläutert (vgl. K2, Abs. [0009 und 0041 sowie 0060 und 0095]). Eine Beschränkung des Ausdrucks „appA Gen“ auf das einzige in der Streitpatentschrift konkret offenbarte „appA Gen“ mit der GeneBank Zugangsnummer M58708, welches aus dem Bakterium *Escherichia coli* stammt, wäre daher nicht zutreffend, da dies zu einer unzulässigen Auslegung des patentgemäß verwendeten Begriffs „appA Gen“ unterhalb dessen technischen Wortsinns führen würde (vgl. BGH GRUR 2007, 309, 1. Ls – Schussfädentransport). Aus fachlicher Sicht steht der Begriff „appA Gen“ im Streitpatent daher in allgemeiner Form für eine Gruppe von Genen bakteriellen Ursprungs, ohne Einschränkung der Nukleinsäuresequenz der Gene oder der Art des Bakteriums aus dem die Gene stammen.

Eng verbunden mit dem patentgemäßen Begriff „appA Gen“ ist vorliegend ferner die Funktion des davon abgeleiteten Expressionsproduktes. Diese wird im Streitpatent als „Phytase-Aktivität“ bezeichnet (vgl. K2, Abs. [0009]). Da mit dem Begriff „Phytase-Aktivität“ somit das patentgemäße „appA Gen“ weiter charakterisiert wird, ist überdies zu klären, was der Fachmann unter dem patentgemäßen Merkmal *„appA Gen kodierend für ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität“* versteht.

Aus der geltenden Anspruchsfassung gemäß Hauptantrag erhält der Fachmann diesbezüglich gleichfalls keine weiterführenden Informationen (vgl. Patentansprü-

che 1, 15 bis 18, 24 und 30). Auch die Beschreibung der Streitpatentschrift führt ergänzend zum Inhalt der Patentansprüche lediglich aus, dass es sich bei Phytasen um eine spezifische Gruppe der Monoester Phosphatasen handelt, die Phosphat aus Phytat (Myoinositol Hexaphosphat) freisetzen (vgl. K2, Abs. [0002] und [0038], jeweils erster Satz). Mit dieser allgemeinen Klassifizierung wird die Gruppe der patentgemäßen Phytasen allerdings weder eingeschränkt noch näher definiert. Selbst auf stofflicher Ebene und damit im Bereich der Aminosäuresequenzen hält das Streitpatent für den Fachmann keinerlei Angaben zu den patentgemäßen Phytasen parat. Das Streitpatent verliert daher kein Wort darüber, ob die patentgemäßen Phytasen ein RHG-Motiv in ihrer Aminosäuresequenz enthalten oder eine zusätzliche enzymatische Aktivität als saure Histidin-Phosphatase aufweisen. Eine funktionsorientierte sachgerechte Würdigung des patentgemäß verwendeten Begriffs „Phytase-Aktivität“ führt unter Berücksichtigung der Patentansprüche sowie der diese erläuternden Beschreibung demzufolge dazu, dass der Fachmann darunter alle von bakteriellen appA Genen kodierten Enzyme versteht, die eine Phytase-Aktivität aufweisen.

Der von der Beklagten vertretenen Auffassung, der Fachmann interpretiere die patentgemäßen, von bakteriellen appA Genen kodierten Enzyme als Phytasen, die neben ihrer Phytase-Aktivität auch eine Aktivität als saure Histidin-Phosphatase aufweisen würden und in ihrer Aminosäuresequenz daher das RHG-Motiv enthielten, kann sich der Senat infolgedessen nicht anschließen.

Zutreffend ist zwar, dass – wie von der Beklagten vorgetragen wurde – in die Beschreibung des Streitpatents durch die darin enthaltene Zitierung von Literaturstellen betreffend Veröffentlichungen der Forschergruppen um J. Dassa et al. (vorliegend als D3 bezeichnet) und Ostanin et al. (vorliegend als D12 bezeichnet) die Lehre dieser Veröffentlichungen in den Offenbarungsgehalt der Streitpatentschrift mit einzubeziehen sind (vgl. K2, Abs. [0041]). Zu den Angaben in der Streitpatentschrift gehören infolgedessen auch die in den genannten Literaturstellen getroffenen Aussagen, dass das aus E.coli stammende appA Gen eine saure Phosphatase mit einem optimalen pH-Wert von 2,5 kodiert und diese als „EcAP“

(= Abkürzung für *E.coli alkaline phosphatase*) bezeichnete Phosphatase im N-terminalen Bereich ihrer Aminosäuresequenz das konservierte RHGXRXP-Motiv aufweist, so dass „EcAP“ der Gruppe der sauren Histidin-Phosphatasen zuzurechnen ist (vgl. K2, Abs. [0041] und [0095] i. V. m. D3, Titel i. V. m. Abstract und D12, Abstract). Diese für eine singuläre, aus dem Bakterium *Escherichia coli* stammende Phytase getroffene Feststellung, sowie deren Berücksichtigung im patentgemäßen Beispiel 10 bietet – entgegen der Auffassung der Beklagten – allerdings keine Grundlage für eine prinzipielle Verallgemeinerung der patentgemäßen Phytasen dahingehend, dass alle von einem bakteriellen *appA* Gen codierten Phytasen das RHG-Motiv und eine damit verbundene saure Histidin-Phosphatase-Aktivität aufweisen.

Hiergegen spricht zum einen, dass sich diese Aussage nur auf eine einzige Ausführungsform des Streitpatents, nämlich das aus *E.coli* stammende *appA*-Gen mit der GeneBank Nummer M58708 bezieht. Wie jedoch bereits zuvor unter Verweis auf die BGH-Entscheidung „Schussfädentransport“ ausgeführt, darf die breiter gefasste Lehre der nebengeordneten Patentansprüche 1, 13, 18, 24 und 30 auf diese Ausführungsform nicht beschränkt werden (vgl. BGH „Schussfädentransport“ a. a. O.).

Zum anderen herrscht in der Fachwelt zu dem für das Streitpatent relevanten Zeitrang keineswegs die einhellige Meinung, dass alle von bakteriellen *appA*-Genen codierten Enzyme mit Phytaseaktivität in ihrer Aminosäuresequenz das konservierte RHG-Motiv aufweisen und aufgrund dessen automatisch der Gruppe der sauren Histidin-Phosphatasen zuzuordnen sind. Einen Beleg hierfür liefern auch die von der Beklagten zitierten Dokumente G2, G12, G17, G19 und G21 nicht:

- In der Druckschrift G2 berichten Van Etten et al. u.a. davon, dass sie das konservierte aus 7 Aminosäuren bestehende RHGXRXP-Motiv bei sauren Phosphatasen unabhängig davon nachweisen konnten, ob die Phosphatasen aus menschlichem Prostatagewebe, aus Lysosomen (*spezielle Zellorganellen in menschlichen und tierischen Zellen*), aus dem Bakterium *Escherichia coli* oder aus

Hefen stammten (vgl. G2, S. 2313, Abstract, dritter Satz von unten i. V. m. S. 2317, Fig. 4, grau unterlegte Spalte „Analogous“). Daraus resultiert jedoch allenfalls die Erkenntnis, dass es sich bei dem RHG-Motiv um eine in verschiedenen Spezies konservierte (= *keinerlei Mutationen unterworfen*) Aminosäuresequenz handelt, die für die Klasse der sauren Phosphatasen typisch ist. Die Übertragbarkeit dieser Erkenntnis auf eine spezielle Untergruppe der Phosphatasen, wie die Phytasen und dabei wiederum speziell die Gruppe der bakteriellen Phytasen, die obendrein ausschließlich von appA Genen codiert werden, lehren Van Etten et al. in G2 jedoch mit keiner Silbe. Aus G2 lässt sich somit kein Postulat dahingehend ableiten, dass sämtliche von bakteriellen appA Genen kodierte Enzyme das RHG-Motiv enthalten und demzufolge nicht nur als Phytasen sondern auch als saure Histidin-Phosphatasen aktiv sind.

- Ein solcher Lehrsatz findet sich auch in der Druckschrift G12 nicht. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Druckschrift G12 ausschließlich mit der Identifikation von appA als dem strukturell verantwortlichen Gen für die „pH 2,5 saure Phosphatase“ des Bakteriums *Escherichia coli* befasst ist und die Druckschrift somit von vornherein keine verallgemeinerbare Lehre enthält, die auf alle von bakteriellen appA Genen kodierten Enzyme übertragbar ist (vgl. G12, S. 68, Summary).

- Der Inhalt der Druckschrift G17 zeigt ebenfalls keine systematische Verbindung zwischen dem konservierten RHG-Motiv und bakteriellen appA-Phytasen auf. Die Wissenschaftler der G17 - Kerovuo et al. - berichten von einer neuen Phytase aus dem Bakterium *Bacillus subtilis*, die von einem phyC Gen und somit nicht von einem patentgemäßen appA Gen kodiert wird. Diese Phytase weist den Angaben in der G17 zur Folge keine Homologien (= *Maß der Ähnlichkeit von Aminosäuresequenzen aufgrund identischer chemischer Bausteine in mehr oder weniger ausgedehnten Teilbereichen*) zu den Sequenzen anderer Phytasen oder zu den Sequenzen bekannter Phosphatasen auf. Kerovuo et al. stellen in G17 zwar fest, dass die bakterielle phyC-Phytase kein RHG-Motiv in ihrem aktiven enzymatischen Zentrum aufweist, wie dies aus ihrer Sicht bei anderen bekannten Phytasen jedoch der Fall ist und kommen daher zu dem Schluss, dass die phyC-Phytase aus *Bacillus subtilis* nicht der Subfamilie der sauren Histidin-Phosphatasen

angehört (vgl. G17, S. 2079, Abstract i. V. m. S. 2084, re. Sp., erster vollständiger Abs., letzter Satz).

Damit liefern Kerovuo et al. allerdings keine Stütze für die von der Beklagten für den patentgemäßen Begriff „Phytase-Aktivität“ angenommene Bedeutung. Die in G17 getroffenen Aussagen machen vielmehr einerseits deutlich, dass die Familie der bakteriellen Phytasen nicht einheitlich aufgebaut ist, sondern sich in verschiedene Unterfamilien aufteilt, wobei die Mitglieder aller Unterfamilien zwar Phytase-Aktivität aufweisen, aber nicht alle Mitglieder der verschiedenen Unterfamilien eine saure Histidin-Phosphatase-Aktivität besitzen. Andererseits verknüpfen die Autoren der G17 ihre allgemeine Aussage, dass das RHG-Motiv eine konservierte Sequenz im aktiven Zentrum von mehreren bekannten bereits klonierten Phytasen ist, mit der Referenznummer (35), die auf die Veröffentlichung von Wodzinski & Ullah aus dem Jahr 1996 Bezug nimmt und vorliegend als D8a bezeichnet wird. Wodzinski & Ullah lehren in D8a jedoch lediglich, - wie im Übrigen auch alle anderen Forschergruppe vor dem Prioritätszeitpunkt des Streitpatents - dass einige der bisher untersuchten Phytasen im Bereich ihres aktiven Zentrums Sequenzhomologien zu den sauren Histidin-Phosphatasen aufweisen und somit gleichfalls das konservierte RHG-Motiv enthalten (vgl. D8a, S. 284/285, Absatz C). Dies wird im Zusammenhang mit der vorliegenden Auslegung des patentgemäß verwendeten Begriffs „Phytase Aktivität“ auch nicht bestritten. Der Beklagten kann allerdings nicht soweit gefolgt werden, dass die Fachwelt das RHG-Motiv aufgrund dieser Kenntnis bereits als Charakteristikum für sämtliche bakteriellen appA-Phytasen angesehen hat. Hierfür liefern die Aussagen von Wodzinski & Ullah sowie die gleichlautend in der gesamten übrigen Fachliteratur zu einzelnen Phytasen zum Zeitrang des Streitpatents offenbarten Angaben keine Veranlassung. Wie Wodzinski & Ullah war nämlich auch die Fachwelt zu diesem Zeitpunkt noch damit beschäftigt, Phytasen bzw. saure Phosphatasen, die von diversen Genen in den unterschiedlichsten Ursprungsorganismen wie Pilzen, Bakterien oder dem tierischen bzw. menschlichen Organismus kodiert werden, zu isolieren und charakterisieren. Die Autoren der D8a gewinnen dadurch zwar die Erkenntnis, dass das RHG-Motiv bei 14 Mitgliedern aus der Gruppe der sauren Phosphatasen, einschließlich Phytasen, unabhängig von ihrem Ursprungsorganismus als konser-

vierte Aminosäuresequenz aufzufinden ist. Aufgrund der Diversität der von Wodzinski & Ullah untersuchten Organismen sowie der in diesen Organismen für Phytasen bzw. sauren Phosphatasen kodierenden Genen, bieten die in D8a gezeigten Ergebnisse jedoch keine Grundlage für die allgemeine Feststellung, dass das RHG-Motiv und die damit verbundene Aktivität als saure Histidin-Phosphatase das zentrale Merkmal sämtlicher bakterieller appA-Phytasen ist.

- Auf eine ortsspezifische Mutation in der vom appA Gen aus *Escherichia coli* kodierten sauren Phosphatase (EcAP) sind wiederum die in der Druckschrift G19 offenbarten Forschungen von Ostanin und Van Etten fokussiert (vgl. G19, Titel i. V. m. S20778, Abstract). Infolgedessen beschäftigt sich dieser Artikel, wie schon die Veröffentlichung G12, gezielt mit der Phytase aus *E. coli*. Durch die Fokussierung auf eine spezielle bakterielle Phytase ist somit auch in G19 kein Hinweis darauf zu finden, dass es sich bei allen von bakteriellen appA Genen kodierten Phytasen um saure Histidin-Phosphatasen mit dem RHG-Motiv in ihrem aktiven Zentrum handelt.

- Die Druckschrift G21 stellt schließlich einen Übersichtsartikel betreffend die Hydrolyse von Phosphatmonoestern mittels Phosphatasen dar, in dem u.a. auf das Vorkommen des konservierten RHG-Motivs in diversen sauren Phosphatasen hingewiesen wird (vgl. G21, Titel i. V. m. S. 108, li. Sp., erster Abs.). Folglich wird auch in der Druckschrift G21 das konservierte RHG-Motiv und die damit verbundene Aktivität des entsprechenden Enzyms als saure Histidin-Phosphatase in allgemeiner Form nur mit der Klasse der Phosphatasen in Verbindung gebracht, jedoch ohne einen Hinweis darauf, dass das RHG-Motiv auch in speziellen Untergruppen der Phosphatasen, wie den Phytasen und dabei wiederum den Phytasen bakteriellen Ursprungs, die von einem appA Gen kodiert werden, zu finden ist.

Die Druckschriften G2, G12, G17, G19 und G21 bieten aus den zuvor genannten Gründen somit keine Grundlage für die von der Beklagten vertretene Annahme, die Fachwelt assoziiere sämtliche von bakteriellen appA Genen kodierten Phytasen automatisch mit einer Aktivität als saure Histidin-Phosphatase und damit mit einem RHG-Motiv in der Aminosäuresequenz der Phytasen.

Zu einer solchen Auslegung des patentgemäßen Merkmals „*appA Gen kodierend für ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität*“ geben auch die weiteren im vorliegenden Verfahren genannten Druckschriften keinen Anlass. Dies ist zum einen darauf zurückzuführen, dass die Druckschriften entweder keine bakteriellen Phytasen betreffen (vgl. D6, D9 und D10), nur mit der bakteriellen Phytase aus *E.coli* oder einem anderen spezifischen Bakterium befasst sind (vgl. D3, D4, D7, D8 und D12) oder bakterielle Phytasen zwar im Allgemeinen ansprechen, dabei aber die An- oder Abwesenheit des RHG-Motivs in der Aminosäuresequenz dieser Phytasen nicht thematisieren (vgl. D5 und D11).

Es kann somit keine Rede davon sein, dass es sich bei „*appA*“ um eine in der Fachwelt etablierte „Gattungsbezeichnung“ für Gene handelt, die allesamt saure Histidin-Phosphatasen mit dem konservierten RHG-Motiv im N-terminalen Bereich ihrer Aminosäuresequenz kodieren. Im Übrigen kommt es bei der Auslegung des patentgemäßen Merkmals „*appA Gen kodierend für ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität*“ nicht darauf an, welchen Sinngehalt die Fachwelt einem solchen Merkmal zum Prioritätszeitpunkt des Streitpatents zuordnet, da das Streitpatent stets sein eigenes maßgebliches Lexikon darstellt (vgl. BGH GRUR 1999, 909, 2. Ls - Spannschraube).

2. Ob eine unzulässige Erweiterung vorliegt, das Verfahren des geltenden Patentanspruchs 1 nach Hauptantrag ausführbar ist und/oder ob das Verfahren die erforderliche Neuheit aufweist, muss im vorliegenden Fall nicht geklärt werden, da das Verfahren zur Erzeugung einer bakteriellen *appA*-Phytase in Hefen gemäß dem geltenden Patentanspruch 1 nach Hauptantrag jedenfalls nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

2.1 Der Fachmann, der nach einer Lösung für die patentgemäße Aufgabe sucht, ist mit der Entwicklung auf dem Gebiet der rekombinanten Produktion von Phytasen vertraut (siehe Abschnitt I.4). Er kennt daher alle bis zu dem für das Streitpatent maßgeblichen Zeitrang in diesem Fachbereich veröffentlichten Forschungsergebnisse. Bei seinen Recherchen lässt der Fachmann somit auch die

von Greiner et al. im Jahr 1993 veröffentlichten Ergebnisse, die vorliegend als Dokument D8 bezeichnet werden, nicht außer Acht. Zumal die Ergebnisse der D8 vor dem Hintergrund zu sehen sind, dass Greiner et al. Phytasen als wichtige Enzyme für die Futtermittelindustrie erachten, die dazu beitragen die Bioverfügbarkeit von Phosphat zu erhöhen und gleichzeitig die Phosphatbelastung in landwirtschaftlichen Regionen mit intensiver Tierhaltung zu reduzieren (vgl. D8, S. 107, re Sp., zweiter Abs.). Unter diesem Gesichtspunkt charakterisieren Greiner et al. zwei Phytasen aus dem Bakterium *Escherichia coli*. Über die als P2 bezeichnete Phytase berichten Greiner et al. in D8, dass es sich hierbei um eine 6-Phytase (= *Phytase, die in erster Linie an Position 6 des Substrats eine Phosphatgruppe abspaltet*) handelt, die bei einem pH-Wert von 4,5 aktiv ist. Die Autoren der D8 informieren die Fachwelt in ihrer Veröffentlichung zudem darüber, dass die Phytase P2 Übereinstimmungen mit der von E. Dassa et al. bereits im Jahr 1982 beschriebenen „pH 2,5 sauren Phosphatase“ aufweist (vgl. D8, S. 107, Abstract). Der zitierte Artikel von E. Dassa et al. wird vorliegend als Druckschrift D4 geführt.

Die von Greiner et al. gefundenen Übereinstimmungen zwischen Phytase P2 und „pH 2,5 saurer Phosphatase“ machen den Fachmann neugierig. Denn sie rücken die Möglichkeit in das Blickfeld des Fachmanns, dass die Phytase P2 nicht nur im moderat sauren Milieu bei einem pH von 4,5 aktiv ist, sondern bei noch niedrigeren pH-Werten. Dies wiederum rückt die Eignung der Phytase P2 als Futtermittelzusatz in den Rahmen des Möglichen, da hierfür nur Enzyme verwendet werden können, die im sauren Milieu des Magens der Tiere aktiv sind. Dass Greiner et al. diese Möglichkeit als sehr hoch einschätzen, ist daraus ersichtlich, dass sie einen direkten Vergleich von verschiedenen Parametern der Phytase P2 mit denjenigen der „pH 2,5 sauren Phosphatase“ durchführen. Aufgrund dieses Vergleiches gelangen Greiner et al. zu dem Schluss, dass nahezu alle von ihnen getesteten Parameter der Phytase P2 eine hohe Ähnlichkeit mit den Parametern der von E. Dassa et al. beschriebenen „pH 2,5 sauren Phosphatase“ aufweisen (vgl. D8, S. 112, li. Sp., letzter Abs. i. V. m. Tabelle V). Nachdem eine zusätzliche Homologiesuche nach der N-terminalen Aminosäuresequenz der Phytase P2 in der EMBL-Datenbank darüber hinaus Übereinstimmungen mit der „pH 2,5 sauren

Phosphatase“ aus E.coli bestätigt, gehen die Autoren der D8 sogar soweit, dass sie die Identität der von ihnen untersuchten Phytase P2 und der von E. Dassa et al. beschriebenen „pH 2,5 sauren Phosphatase“ annehmen und daher vorschlagen die „pH 2,5 saure Phosphatase“ aus E.coli besser als Phytase zu klassifizieren (vgl. D8, S. 113, li. Sp., dritter Abs.).

Das Argument der Beklagten, der Fachmann achte beim Studium der in D8 vermittelten Lehre vielmehr auf die Unterschiede, die sich aus einem Vergleich der beiden Enzyme ergäben sowie das für die Futtermittelindustrie ungeeignete pH-Optimum von 4,5 für die Phytase P2, vermag nicht zu überzeugen. Zum einen handelt es sich bei der Druckschrift D8 um die wissenschaftliche Veröffentlichung einer renommierten Forschungseinrichtung, die sich intensiv mit der Nahrungsmittelphysiologie beschäftigt und damit auf dem für das Streitpatent relevanten Fachgebiet tätig ist. Der Fachmann hat somit keinen Grund die von Greiner et al. in D8 veröffentlichten Ergebnisse als unglaubwürdig zu verwerfen. Zum anderen ist die Kernaussage der D8 – wie bereits zuvor ausgeführt – gerade nicht darauf ausgerichtet, dass es sich bei der Phytase P2 und der „pH 2,5 sauren Phosphatase“ um zwei völlig verschiedene Enzyme aus dem Bakterium Escherichia coli handelt. Die zentrale Aussage der D8 besteht vielmehr darin, dass es sich hierbei um ein und dasselbe Enzym handeln könnte, welches als Phytase mit einem pH-Optimum bei 2,5 zu klassifizieren ist. Greiner et al. liefern mit der dreifach höheren Reinheit des von ihnen untersuchten Enzyms Phytase P2 gegenüber der von E. Dassa et al. in D4 untersuchten „pH 2,5 sauren Phosphatase“ darüber hinaus eine Erklärung für die bisher beobachteten Unterschiede zwischen den beiden Enzymen betreffend deren Aminosäuresequenz, pH-Optima sowie deren spezifische Aktivitäten (vgl. D8, S. 113, li. Sp., dritter Abs., Sätze 3 bis 5 von unten). Aufgrund dieser für den Fachmann plausiblen Erklärung sowie der Tatsache, dass ein renommiertes Forscherteam von der Identität der Phytase P2 und der „pH 2,5 sauren Phosphatase“ ausgeht – eine Annahme an der im Übrigen auch noch drei Jahre später andere Forscherteams festhalten (vgl. D8a, S. 281, erster Abs., letzter Satz) – bestärkt den Fachmann darin, die Phytase P2 weiter zu untersuchen. Für einen solchen Anreiz spricht auch der Umstand, dass Greiner et al. ihre For-

schungsarbeiten zur Phytase P2 in D8 nicht als abgeschlossen ansehen, sondern weitere Untersuchungen diesbezüglich in Aussicht stellen (vgl. D8, S. 113, li. Sp., dritter Abs., letzter Satz).

Außer der grundlegenden Arbeit D4 von E. Dassa et al. aus dem Jahr 1983, auf der die Veröffentlichung D8 von Greiner et al. im Jahr 1993 aufbaut, ist dem einschlägig tätigen Fachmann selbstverständlich auch die zwischenzeitlich im Jahr 1990 veröffentlichte Publikation bekannt, die aus dem gleichen Forschungsinstitut stammt, in dem auch E. Dassa et al. tätig sind. Diese Publikation wird vorliegend als D3 bezeichnet. Die Autoren der Druckschrift D3, unter denen sich mit P.L. Boquet ein Mitglied aus derjenigen Forschergruppe befindet die die Publikation D4 veröffentlicht hat, präsentieren u.a. die vollständige Nukleotidsequenz des appA-Gens aus *Escherichia coli*. Den Angaben in der D3 zur Folge kodiert das appA-Gen die „periplasmatische Phosphoranhydrid Phosphorhydrolase“, deren pH-Optimum bei 2.5 liegt. Im Titel sowie in der Beschreibung geben die Wissenschaftler der D3 durch Querverweise auf die D4 jedoch deutlich zu erkennen, dass es sich bei dem von ihnen als „Phosphorhydrolase“ bezeichneten Enzym um die von E. Dassa et al. in D4 beschriebene „pH 2,5 saure Phosphatase“ aus *E.coli* handelt (vgl. D3, Titel i. V. m. S. 5497, Abstract und re. Sp., mittlerer Abs. mit Referenznummer (6)).

Ausgehend von D8 ist dem Fachmann unter Einbeziehung seiner allgemeinen Fachkenntnis somit nicht nur geläufig, dass das appA Gen aus dem Bakterium *Escherichia coli* die „pH 2,5 saure Phosphatase“ kodiert (vgl. D3 und D4), sondern es liegt für ihn auch die Annahme nahe, dass es sich bei dieser sauren Phosphatase um die Phytase P2 handelt. Da bekannt ist, dass Phytasen in nahezu allen Organismen vorkommen und damit – wie einleitend auch in der Streitpatentschrift angegeben – in den verschiedensten Bakterienarten, liegt es für den Fachmann ferner auf der Hand, dass außer dem Bakterium *Escherichia coli* auch andere Bakterien ein für eine bakterielle Phytase kodierendes appA Gen enthalten (vgl. D17, S. 60/61, seitenübergreifender Satz und K2, Abs. [0003], Zeilen 4 bis 10 von unten). In Anbetracht dieser Sachlage kann in demjenigen Teil der Lösung der

patentgemäßen Aufgabe, der entsprechend den Merkmalen M1.2 und M1.3 des Patentanspruchs 1 gemäß Hauptantrag auf die Expression bakterieller appA-Phytasen und damit auf das Produkt des Herstellungsverfahrens abstellt, keine erfinderische Tätigkeit gesehen werden.

2.2 Aber auch die in den patentgemäßen Merkmalen M1.1, M1.4 und M1.5 zusammengefasste Erkenntnis, für das Verfahren des Patentanspruchs 1 gemäß Hauptantrag ein Hefesystem zur Expression von bakteriellen appA-Phytasen einzusetzen, vermag keine erfinderische Tätigkeit zu begründen.

Wie die Druckschriften D7 und D11 zeigen, stehen dem Fachmann für die Expression von Phytasen bakteriellen Ursprungs zwar prinzipiell diverse prokaryontische und eukaryontische Wirtszellen zur Verfügung (vgl. D7, Ansprüche 18 bis 21 und D11, Ansprüche 22 bis 25). Der Beklagten ist daher insoweit zuzustimmen, als dass der Fachmann bei der Suche nach einem geeigneten Expressionssystem aus einer Vielzahl von Möglichkeiten eine Auswahl treffen muss. Diese Auswahl geht aus folgenden Gründen allerdings nicht über das allgemeinen Können und Wissen des Fachmanns hinaus:

Wie aus der Druckschrift D8 und anderen mit Phytasen befassten Dokumenten, wie z. B. der D8a, hervorgeht, spielt für kommerziell in der Futtermittelindustrie eingesetzte Phytasen nicht nur die bereits zuvor wiederholt angesprochene Aktivität bei möglichst niedrigen pH-Werten eine große Rolle, sondern auch deren Thermostabilität. Denn die thermische Stabilität bewahrt die Phytasen davor, durch die bei der Futtermittelherstellung entstehenden hohen Temperaturen Aktivitätsverluste zu erleiden (vgl. D8, S. 110, spaltenübergreifender Abs. oder D8a, S. 275, Tabelle V, letzte Spalte). Für den mit der rekombinanten Herstellung von Phytasen betrauten Fachmann ist daher von grundlegender Bedeutung, dass das eingesetzte Expressionssystem die thermische Stabilität der exprimierten Phytasen unterstützt oder sogar weiter verbessert. In diesem Zusammenhang ist dem Fachmann seit langem bekannt, dass die Glykosylierung zur thermischen Stabilisierung von Enzymen einen entscheidenden Beitrag leistet (vgl. D14, S. 1391, Titel und erster Abs.). Darüber hinaus gehört es zur allgemeinen Fachkenntnis, dass

in bakteriellen Expressionssystemen eine solche Glykosylierung der Expressionsprodukte nicht erfolgt. Aufgrund dessen konzentriert sich der Fachmann vorliegend bei seiner Suche nach einem geeigneten Expressionssystem für bakterielle appA-Phytasen von vornherein ausschließlich auf eukaryontische Systeme, da diese aufgrund der Glykosylierung ihrer Expressionsprodukte deren Thermostabilität verbessern. Für den Fachmann naheliegende Druckschriften, wie die Druckschriften D15 und D16, richten dessen Augenmerk dabei u.a. auf Expressionssysteme, in denen die Hefezellen *Saccharomyces cerevisiae* als Wirtszellen eingesetzt werden. In beiden Druckschriften wird davon berichtet, dass ein in diesen Hefezellen heterolog (= *in einem fremden Organismus*) exprimiertes bakterielles Enzym im Vergleich zum nativen Enzym eine wesentlich höhere Thermostabilität aufweist, während die enzymatische Aktivität sowie das pH-Optimum des heterolog exprimierten Enzyms im Vergleich zum nativen Enzym unverändert bleibt (vgl. D15 und D16, jeweils Titel i. V. m. Abstract). Die Hefezellen *Saccharomyces cerevisiae* berücksichtigt der Fachmann bei seinen Überlegungen aber auch aus einem anderen Grund. Denn in der für ihn interessanten Fachliteratur finden sich auch Dokumente, in denen darüber berichtet wird, dass aus Pilzen stammende Phytasen in *Saccharomyces cerevisiae* exprimiert werden (vgl. D17, S. 160, Titel). Aber auch Hefesysteme, in denen andere Hefezellen als *Saccharomyces cerevisiae* zum Einsatz kommen, sind für den Fachmann von Interesse. So erfährt der Fachmann aus dem relevanten Stand der Technik, dass das auf den Hefezellen *Pichia pastoris* basierende Expressionssystem kontinuierlich weiterentwickelt worden ist und inzwischen vielseitig einsetzbar ist, sehr gute Ausbeuten liefert und eine schnelle Expression ermöglicht (vgl. D13 und G11, jeweils Titel i. V. m. Abstract). In Hefezellen erkennt der Fachmann demzufolge aufgrund seiner allgemeinen Fachkenntnis ein für die rekombinante Herstellung bakterieller appA-Phytasen geeignetes Expressionssystem.

Es steht außer Frage, dass hefebasierte Expressionssysteme auch Unwägbarkeiten mit sich bringen. Die Beklagte weist in diesem Zusammenhang darauf hin, dass bei einem Einsatz von Hefezellen z.B. nicht vorhergesagt werden könne, ob durch die in den Hefezellen stattfindende Glykosylierung nicht auch Cystein-Reste

blockiert würden, die an der Bildung von Disulfidbrücken beteiligt seien. Infolgedessen bestehe ihrer Ansicht nach die Gefahr, dass in Hefen als heterologen Wirtszellen exprimierte Enzyme eine veränderte Tertiärstruktur (= *dreidimensionale bzw. räumliche Struktur*) aufweisen würden und dadurch ihre enzymatische Aktivität verlieren würden. In Anbetracht dessen ziehe es der Fachmann nach Ansicht der Beklagten eher vor, nach neuen, für die Futtermittelindustrie geeigneten Phytase-Mutanten zu suchen, wie dies in der Druckschrift D11 beispielsweise anhand einer Selektion beschrieben werde (vgl. D11, S. 20 ff., Beispiel 2).

Dieses Argument vermag aus mehrerlei Gründen nicht durchzugreifen. Zum einen hat der Fachmann mit der Phytase P2 aus E.coli gerade erst eine vielversprechende Alternative zu den bekannten, bisher aus Pilzen - wie *Aspergillus niger* - isolierten Phytasen, die sich als Futtermittelzusatz jedoch nicht bewährt haben, gefunden (vgl. K2, S. 2/56, seitenübergreifender Satz bis Ende Abs. [0004]). Zum anderen ist dem Fachmann wohlbekannt, dass jedes Expressionssystem sowohl Vor- als auch Nachteile mit sich bringt und er anhand von Routinetests stets ermitteln muss, welches Expressionssystem im Einzelfall am besten geeignet ist. Aus fachlicher Sicht liegen daher trotz allem Routinetests mit einem etablierten, weit verbreiteten Expressionssystem, wie dem Hefesystem, sowohl aus Kosten- als auch aus Zeitgründen näher, als die völlig ergebnisoffene Suche nach neuen Phytase-Mutanten.

Selbst eine Berücksichtigung der Entscheidung des Europäischen Patentamtes (vgl. G15), die zu einem parallelen Patent zu dem vorliegenden Streitpatent ergangen ist und in der das Vorliegen einer erfinderischen Tätigkeit bejaht worden ist, führt zu keiner anderen Beurteilung der Sachlage. Dies begründet sich einerseits damit, dass der Gegenstand des parallelen Patents die spezifische Verwendung von bakteriellem appA betrifft und somit kein rekombinantes Verfahren zur Herstellung bakterieller appA-Phytasen wie im vorliegenden Fall. Andererseits erfolgte die Beurteilung der Patentfähigkeit im parallelen Einspruchsverfahren auf der Basis einer anderen Aufgabenstellung als sie im hiesigen Nichtigkeitsverfahren zugrunde gelegt worden ist. Eine Übertragbarkeit der im parallelen Verfahren

vor dem Europäischen Patentamt getroffenen Einschätzung auf das hiesige Nichtigkeitsverfahren scheidet daher von vornherein aus.

Die Anspruchsfassung des geltenden Hauptantrags hat aus den zuvor genannten Gründen somit keinen Bestand, da das Herstellungsverfahren des Patentanspruchs 1 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

III.

Aber auch die beschränkte Verteidigung der Anspruchsfassung gemäß den Hilfsanträgen 1 bis 16 führt nicht zum Erfolg.

Im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 1 bis 16 werden die bakteriellen appA-Phytasen gegenüber denjenigen, die mit dem Verfahren des Patentanspruchs 1 nach Hauptantrag hergestellt werden, durch ein oder mehrere zusätzliche Merkmale weiter charakterisiert.

Die erste Gruppe der zusätzlich aufgenommenen Merkmale betrifft die enzymatische Aktivität der exprimierten Phytasen bzw. den Ursprungsorganismus, aus dem das für die jeweiligen Phytasen kodierende appA Gen stammt. So weisen die

- in den Hilfsanträgen 1, 4, 7 und 10 mit dem Verfahren des jeweiligen Patentanspruchs 1 exprimierten appA-Phytasen neben ihrer Aktivität als Phytase auch eine Aktivität als saure Histidin-Phosphatase auf,
- im Verfahren des jeweiligen Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 2, 3, 5, 6, 8, 9 und 11 besitzen die exprimierten appA-Phytasen eine zusätzliche Aktivität als saure Phosphatase und
- im Verfahren des jeweiligen Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 12, 13 und 14 stammt das für eine bakterielle Phytase kodierende appA Gen aus dem Bakterium Escherichia coli.

Im Zusammenhang mit diesen zusätzlichen Merkmalen bedarf es keiner weiteren Erklärung dafür, dass der Fachmann Phosphatasen als eine Enzymfamilie kennt, deren Mitglieder in der Lage sind, Phosphatgruppen von einem Substrat abzuspalten. Die einzelnen Phosphatasen werden außerdem in fachüblicher Weise unter verschiedenen Gesichtspunkten weiter unterteilt. So wird in Abhängigkeit vom pH-Bereich, in dem die jeweiligen Phosphatasen ihre maximale enzymatische Aktivität entfalten, regelmäßig zwischen sauren und alkalischen Phosphatasen unterschieden. Bekannt ist des Weiteren eine Unterteilung der Phosphatasen basierend auf dem Substrat, an dem die jeweilige Phosphatase angreift. Die Fachwelt kennt in diesem Zusammenhang neben den unabhängig von der chemischen Struktur des Substrates aktiven sauren Phosphatasen auch substratspezifische saure Phosphatasen, wie die Phytasen. Bei ihnen handelt es sich um eine spezifische Gruppe der Monoester Phosphatasen, die die gezielte Freisetzung von Phosphat aus Phytat in Gang setzen (vgl. K2, Abs. [0002], erster Satz). Phylogenetische Untersuchungen der Phosphatasen haben darüber hinaus ergeben, dass eine spezielle Klasse von sauren Phosphatasen existiert, deren Mitglieder alle eine ausgeprägte Homologie in ihrem aktiven Zentrum zeigen. Die am stärksten konservierte Sequenz besteht dabei aus dem Aminosäuretriplett „RHG“. Entsprechend dem in der Mitte dieses Motivs befindlichen Histidin-Rest, dem die Funktion des Phosphat-Carriers zugeschrieben wird (vgl. D8a, S. 284/285, Abschnitt C), wird diese spezielle Klasse der sauren Phosphatasen als „Histidin-Phosphatasen“ bezeichnet. Es hat sich gezeigt, dass auch bekannte z. B. aus Pilzen isolierte Phytasen dieses konservierte RHG-Motiv aufweisen und daher ebenfalls der Klasse der sauren „Histidin Phosphatasen“ zuzurechnen sind (vgl. D8a, S. 284/285, Abschnitt C). Die zuvor gezeigten phylogenetischen Zusammenhänge von Phytase-Aktivität und einer weiteren enzymatischen Aktivität als saure Phosphatase bzw. saure „Histidin-Phosphatase“ sind daher als bekannt vorauszusetzen. Hinzu kommt, dass die Kodierung der Phytase des Bakteriums *Escherichia coli* durch das *appA* Gen - wie bereits zuvor im Abschnitt II.2.1 dargelegt - für den Fachmann in Kenntnis der Druckschrift D8 unter Einbeziehung seines allgemeinen Fachwissens auf der Hand liegt. Der zitierte Stand der Technik belegt somit, dass es für einen einschlägig tätigen Fachmann naheliegend ist, bakterielle *appA*-Phy-

tasen auf ihre zusätzliche enzymatische Aktivität, sei es als saure Phosphatase oder „Histidin Phosphatase“ zu untersuchen, da die Phytasen erklärtermaßen der „Superfamilie“ der Phosphatasen angehören.

Die Tatsache, dass sich nicht alle bakteriellen Phytasen als „Histidin Phosphatasen“ erweisen (vgl. G17, S. 2079, Abstract) oder in einzelnen wissenschaftlichen Abhandlungen die vom appA Gen aus E.coli kodierte periplasmatische saure Phosphatase zwar als „Histidin Phosphatase“ nicht aber als Phytase klassifiziert wird, steht dazu nicht im Widerspruch (vgl. D12, S. 22830, re. Sp., zweiter Abs., Sätze eins bis drei). Dies liefert vielmehr einen Beweis dafür, dass auch innerhalb der Superfamilie der Phosphatasen eine genetische Varianz existiert, die dazu führt, dass selbst das konservierte RHG-Motiv in dieser „Superfamilie“ keinesfalls omnipräsent ist. Außerdem machen die zuvor zitierten Aussagen im Stand der Technik deutlich, dass die Unterteilung der Phosphatasen nicht nach einem starren Schema erfolgt, sondern aufgrund des steten wissenschaftlichen Fortschrittes einem kontinuierlichen Wandel unterliegt. Auch oder gerade deshalb gehört es für den Fachmann zu den üblichen Routineuntersuchungen in jedem Einzelfall festzustellen, ob eine zusätzliche enzymatische Aktivität als saure Phosphatase oder „Histidin Phosphatase“ zu den inhärenten Eigenschaften einer bakteriellen appA-Phytase gehört. Mithin erweist sich weder die im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 1 bis 11 zusätzlich berücksichtigte enzymatische Aktivität der bakteriellen appA-Phytasen als saure (Histidin-) Phosphatase, noch die Wahl von appA aus E.coli als ein für ein Protein oder Polypeptid mit Phytase-Aktivität kodierendes Gen – wie im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 12 bis 14 vorgesehen – als erfindungsbegründendes Merkmal.

Das zweite zusätzlich aufgenommene Merkmal ist auf die Thermostabilität der nach dem patentgemäßen Verfahren exprimierten bakteriellen appA-Phytasen gerichtet. Im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 7 bis 11 und 13 bis 16 wird die Thermostabilität der erzeugten Phytasen als eine mindestens 60%ige Phytase-Aktivität definiert, die das Protein beibehält, wenn es 15 Minuten lang auf 60°C erhitzt wurde. Zunächst ist festzustellen, dass das intrinsische Temperatur-Optimum der Phytase P2 aus E.coli, wie in der Druckschrift D8 beschrieben, bei

55°C liegt (vgl. D8, S. 110, re. Sp., erster vollständiger Satz). Hinzu kommt, dass es - wie bereits zuvor im Abschnitt II.2.2 erläutert - zum allgemeinen Können und Wissen des einschlägig tätigen Fachmanns gehört, Hefezellen zur Expression von Proteinen gerade dann einzusetzen, wenn deren Thermostabilität verbessert werden soll. Die Steigerung der Thermostabilität eines von Haus aus bis zu 55°C thermostabilen Enzyms auf eine Thermostabilität von 60°C durch den alleinigen Einsatz von Hefezellen ist demnach naheliegend. Weitere Maßnahmen zur Steigerung der Thermostabilität sieht weder das darauf gerichtete zusätzliche Merkmal vor, noch sind in der Beschreibung des Streitpatents hierfür weitere technische Maßnahmen angegeben, wie z. B. die artifizielle Einführung weiterer Glykosylierungsstellen in die patentgemäßen bakteriellen appA-Phytasen. Es ist somit davon auszugehen, dass sich die angegebene Thermostabilität im Verfahren des Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 7 bis 11 und 13 bis 16 bei der Expression eines bakteriellen appA-Gens in einem Hefesystem zwangsläufig einstellt. Dies bedeutet letztendlich aber nichts anderes, als dass das patentgemäße Verfahren durch das „Thermostabilitäts-Merkmal“ keine zusätzliche technische Charakterisierung erfährt und das Merkmal somit auch keinen Beitrag zur Begründung einer erfinderischen Tätigkeit leisten kann.

Entsprechendes gilt für das dritte der zusätzlich aufgenommenen Merkmale. Mit ihm definiert die Beklagte das pH-Optimum der mit dem Verfahren des jeweiligen Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 3, 6, 9, 15 und 16 hergestellten bakteriellen appA-Phytasen als pH-Bereich von 2,5 bis 3,5.

Hierzu ist vorab festzustellen, dass die in sämtlichen unabhängigen Patentansprüchen des Hilfsantrags 3 sowie im unabhängigen Patentanspruch 27 des Hilfsantrags 15 beibehaltene zweite Alternative, welche ein pH-Optimum von 5 bis 5,5 („or 5 to 5.5“) vorsieht, im Hinblick auf den Inhalt des Schriftsatzes der Beklagten vom 21. September 2018, Ziff. 1, als redaktioneller Fehler anzusehen ist. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass dieses pH-Optimum nur in der englischen Fassung der genannten Hilfsanträge zu finden ist, nicht aber in deren deutscher Version. Es ist daher davon auszugehen, dass diese Alternative auch in den Hilfsanträgen 3 und 15 nicht mehr erfasst sein soll.

Im Übrigen vermag das Argument der Beklagten, der Fachmann ziehe ein pH-Optimum von 2,5 bis 3,5 bei Phytasen nicht in Betracht, da sich hierfür im Stand der Technik keine Offenbarung finde, nicht durchzugreifen. Hiergegen spricht, wie im Abschnitt II.2.1 bereits ausführlich dargelegt, dass im Stand der Technik von mehreren Forscherteams die Annahme geteilt wird, dass es sich bei der vom appA Gen kodierten „pH 2,5 sauren Phosphatase“ aus E.coli bei genauerer Betrachtung aller Fakten eher um eine Phytase handelt (vgl. D8, S. 107, Abstract, die letzten beiden Sätze und S. 113, li. Sp., dritter Abs. i. V. m. D3, Titel und D8a, S. 281, erster Abs.). Es ist daher nicht zutreffend, dass sich im Stand der Technik kein Anreiz dafür findet, nach einer Phytase mit einem pH-Optimum im Bereich von 2,5 bis 3,5 zu suchen. Darüber hinaus sind den Angaben im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 3, 6, 9, 15 und 16 zur Folge außer der Expression eines bakteriellen appA Gens in einem Hefesystem keine weiteren technischen Maßnahmen für das Erreichen des patentgemäßen pH-Optimums erforderlich. Das patentgemäße pH-Optimum stellt sich somit, ähnlich wie schon die patentgemäße Thermostabilität zuvor, bei der Expression eines appA Gens in Hefe zwangsläufig ein. Infolgedessen erfordert auch das dritte der zusätzlich aufgenommenen Merkmale kein erfinderisches Zutun.

Der in den jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 4 bis 6, 10 bis 12, 14 und 16 zusätzlich aufgenommene Disclaimer dient der Abgrenzung der patentgemäßen Lehre von der Lehre der nachveröffentlichten Druckschrift D1. Diese ist für die Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit jedoch nicht von Bedeutung, so dass der Disclaimer unbeachtlich bleiben kann.

Aufgrund gleichlautender technischer Merkmale teilen das Schicksal des jeweiligen Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 1 bis 16 auch die übrigen nebengeordneten Patentansprüche in den genannten Hilfsanträgen und zwar unabhängig davon, ob die Patentansprüche auf ein Protein/Polypeptid, einen Hefestamm, einen Vektor oder ein Verfahren zur Umwandlung von Phytat in Inositol gerichtet sind.

Ein bestandsfähiger Rest ist für den Senat auch nicht in den Gegenständen der jeweils nachgeordneten Patentansprüche zu erkennen. Die Beklagte hat nicht vorgetragen, dass ihnen ein eigenständiger patentfähiger Gehalt zukäme. Ein solcher ist auch für den Senat nicht ersichtlich. Die jeweils nachgeordneten Patentansprüche in den Hilfsanträgen 1 bis 16, deren selbständiger erfinderischer Gehalt von der Klägerin unter Angabe von Gründen in Abrede gestellt wurde, fallen daher ebenfalls der Nichtigkeit anheim.

IV.

Die Kostenentscheidung beruht auf § 84 Abs. 2 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.

V.

Gegen dieses Urteil ist das Rechtsmittel der Berufung gegeben.

Die Berufungsschrift muss von einer in der Bundesrepublik Deutschland zugelassenen Rechtsanwältin oder Patentanwältin oder von einem in der Bundesrepublik Deutschland zugelassenen Rechtsanwalt oder Patentanwalt unterzeichnet und innerhalb eines Monats beim Bundesgerichtshof, Herrenstraße 45a, 76133 Karlsruhe eingereicht werden. Die Berufungsfrist beginnt mit der Zustellung des in vollständiger Form abgefassten Urteils, spätestens aber mit dem Ablauf von fünf Monaten nach der Verkündung.

Die Berufungsschrift muss die Bezeichnung des Urteils, gegen das die Berufung gerichtet wird, sowie die Erklärung enthalten, dass gegen dieses Urteil Berufung eingelegt werde.

Kätker

Kirschneck

Dr. Münzberg

Dr. Jäger

Dr. Wagner

Pr