



BUNDESPATENTGERICHT

14 W (pat) 40/02

(Aktenzeichen)

BESCHLUSS

In der Beschwerdesache

betreffend die Patentanmeldung 197 10 287.5-41

...

hat der 14. Senat (Technischer Beschwerdesenat) des Bundespatentgerichts in der Sitzung vom 23. Juni 2003 unter Mitwirkung des Vorsitzenden Richters Dr. Schröder, der Richter Dr. Wagner und Harrer sowie der Richterin Dr. Proksch-Ledig

beschlossen:

1. Der angefochtene Beschluß wird aufgehoben.
2. Die Sache wird zur weiteren Prüfung an das Deutsche Patent- und Markenamt zurückverwiesen.
3. Die Rückzahlung der Beschwerdegebühr wird angeordnet.

Gründe

I.

Mit dem angefochtenen Beschluß vom 20. Dezember 2001 hat die Prüfungsstelle für Klasse C 12 Q des Deutschen Patent- und Markenamtes die Patentanmeldung 197 10 287.5-41 mit der Bezeichnung

"Mikrobiologischer Biosensor, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung"

aus den Gründen des Bescheides vom 18. Juni 1999 zurückgewiesen.

Dem Beschluß liegen die am 7. Juli 1997 eingegangenen Patentansprüche 1 bis 13 zugrunde, von denen der Patentanspruch 1 wie folgt lautet:

"Mikrobiologischer Biosensor zur Bestimmung von Schwermetallionen und Substraten umfassend eine Hefetransformante eines Stammes der Art *Saccharomyces cerevisiae* und einen physikalischen Transducer."

Im Bescheid vom 18. Juni 1999 war der Patentanspruch 1 in Hinblick auf die Entgegenhaltungen

- (1) Chemical Abstracts 123.308255 zu:
Immobilized yeast cells biosensor for total toxicity testing
Campanella, L.; Favero, G.; Tomassetti, M. Sci. Total Environ. (1995), 171(1-3), Seiten 227 bis 234
- (2) Chemical Abstracts 120:37694 zu:
Overall toxicity test using an immobilized yeast cell biosensor
Campanella, L.; Favero, G.; Tomassetti, M. Metodi Anal. Acque (1992), 12(3), Seiten 23 bis 33
- (3) Chemical Abstracts 115:112761 zu:
Effekt of heavy metals on volatiles production in alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* Pons, Marie Noelle; Chanel, Simone J. Ferment. Bioeng. (1991), 72(1), Seiten 61 bis 63
- (4) Chemical Abstracts 113:19022 zu:
Rapid toxicity testing based on yeast respiratory activity Haubenstricker, M.E.; Meier, P. G.; Mancy, K. H.; Brabec, M. J. Bull. Environ. Contam. Toxicol. (1990), 44(5), Seiten 669 bis 674
- (5) Chemical Abstracts 107:91354 zu:
Biosensor of total toxicity Campanella, L.; Paoletti, A. M.; Tranchida, G. Chim. Oggi (1987), (3), Seiten 61 bis 63

aufgrund mangelnder Neuheit für nicht gewährbar erachtet worden. Darüber hinaus waren hinsichtlich der Erfüllung der patentrechtlichen Anforderungen bezüglich der Wiederholbarkeit biotechnologischer Erfindungen Bedenken geäußert worden, weil die im Rahmen der Anmeldung verwendeten Hefetransformanten nicht hinterlegt seien.

Gegen diesen Beschluß richtet sich die Beschwerde der Anmelderin. Sie verfolgt ihr Patentbegehren auf der Grundlage der am 26. Februar 2002 eingegangenen Patentansprüche 1 bis 10 weiter, die wie folgt lauten:

1. Mikrobiologischer Biosensor zur Bestimmung von Schwermetallionen und Substraten

umfassend einen physikalischen Transducer und eine Hefetransformante eines Stammes der Art *Saccharomyces cerevisiae*, die dadurch gewonnen wird, dass man in *Saccharomyces cerevisiae* DNA einbringt, auf der das aus *E.coli* stammende LacZ-Gen und ein Schwermetall-regulierbarer Transkriptionspromotor von *Saccharomyces cerevisiae* enthalten sind, und diese Expressionskassette in ein Plasmid integriert, das in *Saccharomyces cerevisiae* autonom replizierbar ist.

2. Biosensor nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, dass

die Hefetransformante ein Plasmid YEp352/FUSI darstellt, welches konstruiert ist, indem man den Promotorbereich des CUP1-Gens von *Saccharomyces cerevisiae* mittels PCR vom Plasmid pJW9 amplifiziert, vor das LacZ-Gen des Bam HI/SmaI restringierten Plasmides pDE3 einbaut, die Expressionskassette CUP1-Promoter-LacZ-Gen-trpC-Terminator isoliert, in das Bam HI/Hind III restringierte Plasmid YEp352 einbaut, dieses entstandene Plasmid YEp352/FUSI in einen Hefestamm *Saccharomyces cerevisiae* transformiert und die Hefetransformante *Saccharomyces cerevisiae* YEp352/FUSI selektiert.

3. Biosensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Hefetransformante ein Plasmid pYe(LacZ)1/CUP1 darstellt, welches konstruiert ist, indem man den Promotorbereich des CUP1-Gens von *Saccharomyces cerevisiae* mittels PCR vom Plasmid pJW9 amplifiziert, vor das LacZ-Gen des BamHI/SmaI restringierten Plasmides pYe(LacZ)1 einbaut, dieses entstandene Plasmid pYe(LacZ)1/CUP1 in einen Hefestamm *Saccharomyces cerevisiae* transformiert und die Hefetransformante *Saccharomyces cerevisiae* pYe(LacZ)1/CUP1 selektiert.

4. Biosensor nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Transducer eine Sauerstoffelektrode ist, auf der sich eine mit der Hefetransformante beschichtete mikrostrukturierte Kapillarporenmembran befindet, oder ein Chip ist.

5. Verfahren zur Herstellung eines mikrobiologischen Biosensors zur Bestimmung von Schwermetallionen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß man die Hefetransformante von einem Stamm der Art *Saccharomyces cerevisiae* nach ihrer Kultivierung mit einem Polymer mischt, die entsprechende Suspension auf eine mikrostrukturierte Kapillarporenmembran auftropft, trocknet und ggf elektrodenseitig mit einer gaspermeablen Schicht abdeckt.

6. Verfahren zur Herstellung eines mikrobiologischen Biosensors zur Bestimmung von Schwermetallionen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4,

dadurch gekennzeichnet, daß

man die Hefetransformante von einem Stamm der Art *Saccharomyces cerevisiae* nach ihrer Kultivierung mit einem Polymer mischt und die entsprechende Suspension auf einen Chip auftröpfet.

7. Verwendung eines mikrobiologischen Biosensors nach den Ansprüchen 1-4 zur Bestimmung von Schwermetallionen anhand eines veränderten Sauerstoffsverbrauchs durch Differenzmessung mit einem Substratvergleichssignal, indem die Meßflüssigkeit als Substrat Laktose oder Glucose und Laktose enthält.

8. Verwendung nach Anspruch 7,

dadurch gekennzeichnet, daß

nach Ermittlung des Signals der Meßflüssigkeit, die in reinen Puffer verdünnte Meßprobe mit dem Sensor inkubiert wird, anschließend diese durch die ursprüngliche Meßflüssigkeit (ohne Meßprobe) ersetzt wird und hiervon das Meßsignal erneut ermittelt wird.

9. Verwendung eines mikrobiologischen Biosensors nach den Ansprüchen 1-4 zur Bestimmung von Galaktosekonzentrationen anhand eines veränderten Sauerstoffsverbrauchs durch Differenzmessung mit dem Probensignal vor und nach Induktion des Biosensors mit Galaktose.

10. Verwendung eines mikrobiologischen Biosensors nach den Ansprüchen 1-4 zur Bestimmung von Laktosekonzentrationen anhand eines veränderten Sauerstoffsverbrauchs durch Differenzmessung mit dem Probensignal vor und nach Inkubation mit Kupferionen.

Die Anmelderin macht sinngemäß geltend, daß die Prüfungsstelle die Argumentation in ihrer Eingabe vom 18. November 1999 nicht berücksichtigt habe und im Beschluß vom 20. Dezember 2001 keine zurückweisungsbe gründenden Ausführungen gegeben worden seien. Sie vertritt im weiteren die Auffassung, daß sich die vom Deutschen Patent- und Markenamt geforderte Hinterlegung der in der Patentanmeldung als bevorzugt genannten *Saccharomyces cerevisiae* Stämme erübrige, da die im Patentanspruch 1 genannten Hefetransformanten reproduzierbar, unter Anwendung von dem Fachmann bekannten Techniken aus jedem *S. cerevisiae*-Stamm herstellbar seien und Stämme der Art *S. cerevisiae* in verschiedenen Kultursammlungen frei zugänglich seien. Auch die Neuheit der nunmehr geltenden Patentansprüche sollte nach ihrer Auffassung ohne Zweifel gegeben sein, da in keinem der von der Prüfungsstelle entgegengehaltenen Dokumente Biosensoren mit immobilisierten plasmidischen Hefetransformanten beschrieben seien. Die erfinderische Tätigkeit sieht sie darin begründet, daß mit dem beanspruchten Biosensor erstmalig die Messung von Schwermetallionenkonzentrationen und dies mit hoher Genauigkeit ermöglicht werde. Mit der im Patentanspruch 1 angegebenen Transformation würden nämlich Hefe-Transformanten erhalten, die das aus *E.Coli* stammende LacZ-Gen in Abhängigkeit von der Konzentration der Schwermetallionen, hier von Kupferionen, exprimierten. Die Höhe dieser Expression ergebe sich sodann über die vom LacZ-Gen exprimierte β -Galaktosidase, ein Vorgang der mit einer über die Erhöhung des Sauerstoffverbrauches des Gesamtsystems meßbaren Sauerstoffaktivität verbunden sei. Da dieser Meßwert proportional mit der Schwermetallionenkonzentration steige, lasse sich diese Bestimmung auch von einer Toxizitätsbestimmung abgrenzen, die nämlich mit einer Abnahme der Stoffwechselaktivität verbunden sei. Die Vorteile des von ihr angemeldeten Bio-

sensors sieht die Anmelderin daher darin, daß sich je nach Wahl des Promotors ein bestimmtes Schwermetallion messen lasse und dessen Konzentration bereits in einem für die Zelle noch nicht toxischen Bereich meßbar sei.

Die Anmelderin beantragt sinngemäß,

den angefochtenen Beschluß aufzuheben und das Patent auf der Basis der mit Schriftsatz vom 21. Februar 2002 eingereichten Patentansprüche 1 bis 10 zu erteilen.

Wegen weiterer Einzelheiten wird auf den Akteninhalt verwiesen.

II.

Die Beschwerde der Anmelderin ist zulässig. Sie konnte jedoch nur zur Aufhebung des angefochtenen Beschlusses und zur Zurückverweisung der Patentanmeldung zur Fortsetzung des Prüfungsverfahrens an das Deutsche Patent- und Markenamt führen.

1. Der vorliegende Beschluß läßt nicht erkennen, inwiefern sich die Prüfungsstelle mit den Argumenten der Anmelderin auseinandergesetzt hat und wie sie diese bewertet hat. Obwohl das Vorbringen der Anmelderin - dargelegt in ihrem Schriftsatz vom 18. November 1999, eingegangen am 24. November 1999 - bereits zwei Jahre vor Abgang des angefochtenen Beschlusses vom 20. Dezember 2001 vorlag, nennt die Zurückweisung nur die Gründe des Bescheides vom 18. Juni 1999. Eine Begründung muß aber die tragenden Erwägungen für die getroffene Entscheidung enthalten und sich auf alle für die Entscheidung maßgeblichen Punkte erstrecken. Dazu gehört auch eine Auseinandersetzung mit allen von den Beteiligten schlüssig vorgetragenen Einwendungen, wobei zu dem gesamten Vorbringen, das bei Erlaß des Beschlusses vorgelegen hat, Stellung genommen werden muß (vgl. Benkard 9. Aufl. § 47 Rdn 7 bis 10). Durch den fehlerhaften Beschluß, der sich mit

der vor dessen Erlaß bereits vorliegenden Argumentation der Anmelderin nicht auseinandersetzt, ist somit das Recht der Patentanmelderin auf Berücksichtigung ihres Vorbringens verletzt worden. Der angefochtene Beschluß ist damit entgegen § 47 Abs 1 PatG nicht ordnungsgemäß begründet.

2. Die in den Bescheiden vom 3. April 1997 und 18. Juni 1999 in Frage gestellte Erfüllung der patentrechtlichen Anforderungen bezüglich der Wiederholbarkeit biotechnologischer Erfindungen durch die Patentanmelderin sind gegeben. Eine Hinterlegung von Mikroorganismen ist nämlich dann nicht erforderlich, wenn die Anmelderin einen nacharbeitbaren Weg aufzeigt, wie der zu verwendende Mikroorganismus erzeugt oder beschafft werden kann, ohne daß der Fachmann genötigt ist, ihn unter erfinderischem Aufwand selbst zu erzeugen. Ferner müssen Vektoren, wie zB Plasmide, nicht hinterlegt werden, wenn entweder ein wiederholbares Herstellungsverfahren oder eine vollständige Sequenz angegeben werden (vgl Benkard 9. Aufl § 2 Rdn 23, 26 b und § 35 Rdn 37). Im vorliegenden Fall ist ein Verfahren zur Herstellung der Transformanten und der Aufbau der zur Transformation bestimmten Sequenzen in den eingereichten Unterlagen angegeben worden. Ferner kann nach Darlegung der Patentanmelderin jeder beliebige *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm verwendet werden, wobei diese Ausführungsform auch ursprünglich offenbart ist (vgl Ansprüche 1, 6, 7 und 9 iVm Erstunterlagen S 7 Abs 2 und 3). Nach Auffassung des Senates sind daher ausreichend Angaben gemacht worden, die einen Fachmann ohne weiteres in die Lage versetzen, die im geltenden Anspruch 1 angegebenen Hefetransformanten in die Hand zu bekommen (vgl Erstunterlagen S 8 Abs 4 bis S 9 Abs 1, S 10 Beispiel 1 bis S 12 Abs 2 iVm mit den Abbildungen 1 und 2).

3. Mit der Beschwerdebegründung ist auch ein geändertes Patentbegehren vorgelegt worden, dessen ursprüngliche Offenbarung anzuerkennen ist. Der geltende Patentanspruch 1 basiert auf den ursprünglich eingereichten Patentansprüchen 1 und 9. Die geltenden Patentansprüche 2 bis 10 sind aus den ursprünglich einge-

reichten Patentansprüchen 10, 11, 4 mit 5, 6, 7 und 12 bis 15 iVm Erstunterlagen S 7 Abs 2 und 3 herleitbar.

4. Mit dem geltenden Patentanspruch 1 wird ein Biosensor beansprucht, der gegenüber dem im Prüfungsverfahren genannten Stand der Technik neu ist. Keinem dieser Dokumente sind nämlich Hinweise dahingehend zu entnehmen, daß als zu verwendender Mikroorganismus eine transformierte Hefe in Betracht gezogen worden sein könnte. Eingesetzt werden gemäß den dort beschriebenen Verfahren entweder ausdrücklich wilde Stämme von *Saccharomyces cerevisiae* (vgl (1) S 228 re Sp Abs 2; (4) S 670 Abs 2 und (5) S 61 mi Sp Abs 2), oder kommerziell angebotene, nicht näher gekennzeichnete Stämme (vgl (3) S 61 li Sp Abs 2), oder es werden wie in der Entgegnhaltung (2) über die Nennung der Bezeichnung *Saccharomyces cerevisiae* hinaus keine weiteren Angaben zur Herkunft des dort verwendeten Mikroorganismus gemacht (vgl (2) S 24 "4. Crescita della coltura cellulare").

5. Nachdem sich die Prüfungsstelle aber bisher - wie vorstehend dargelegt - nicht zu den von der Patentanmelderin vorgetragenen Argumenten geäußert hat, auch die erfinderische Tätigkeit - zu deren Beurteilung nach Vorlage des geänderten Patentbegehrens eventuell die dem Senat zwischenzeitlich zur Kenntnis gekommene

(6) Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng. (1995), 2504, 221 bis 230

eine Rolle spielen könnte bzw eine weitere Recherche erforderlich sein könnte - nicht Gegenstand des Prüfungsverfahrens war und ohne ausreichende Begründung dem Patentgericht die Grundlage für die Nachprüfung eines Beschlusses fehlen (vgl Benkard 9. Aufl § 47 Rdn 7), kam bei der geschilderten Sach- und Rechtslage eine Patenterteilung durch den Senat nicht in Frage. Vielmehr war lediglich der angefochtene Beschluß aufzuheben und die Sache zur weiteren Prüfung auf der Grundlage der am 26. Februar 2002 eingegangenen Ansprüche 1 bis

10 an das Deutsche Patent- und Markenamt zurückzuverweisen. Die Beschwerdegebühr ist bei der aufgezeigten Sachlage gemäß § 80 Abs 3 PatG zurückzuzahlen, da dies der Billigkeit entspricht.

Schröder

Wagner

Harrer

Proksch-Ledig

Pü