



BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

Verkündet am
27. März 2008

3 Ni 53/05 (EU)

(Aktenzeichen)

...

In der Patentnichtigkeitsache

...

...

betreffend das europäische Patent 0 511 430
(DE 691 27 888)

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 27. März 2008 unter Mitwirkung der Vorsitzenden Richterin Dr. Schermer sowie des Richters Engels, der Richterin Dipl.-Chem. Dr. Proksch-Ledig, des Richters Dipl.-Chem. Dr. Gerster sowie der Richterin Dr. rer. nat. Schuster

für Recht erkannt:

1. Das europäische Patent 0 511 430 wird mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig erklärt.
2. Die Beklagte trägt die Kosten des Rechtsstreits.
3. Das Urteil ist hinsichtlich der Kosten gegen Sicherheitsleistung in Höhe von 120 % des zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

Tatbestand

Die Beklagte ist die eingetragene Inhaberin des am 2. Juli 1991 angemeldeten, mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland in der Verfahrenssprache Englisch erteilten europäischen Patents 0 511 430 (Streitpatent), das vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 691 27 888 geführt wird und die Bezeichnung „Konservierungslösung für Zellen“ trägt. Das Streitpatent nimmt die Priorität der US 694 452 vom 1. Mai 1991 in Anspruch. Es umfasst 10 Patentansprüche, die wie folgt lauten:

„1. Wäßrige Alkohol-Puffer-Lösung für eine im Wesentlichen bei Umgebungstemperatur stattfindende in-vitro-Konservierung von Säugerzellen für eine gewählte Dauer, wobei die Lösung umfaßt:

- A. einen mit Wasser mischbaren Alkohol in einer Menge, die ausreichend zur Fixierung der Säugerzellen ist;
- B. ein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel in einer Menge, die ausreichend ist, um zu verhindern, daß die Zellen in der Lösung verklumpen; und
- C. ein pufferndes Mittel, das die Lösung mit den Zellen für die Dauer bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 2 und etwa 7 hält.

2. Lösung nach Anspruch 1, worin der Alkohol gewählt ist aus der aus Ethanol, Isopropanol und Methanol bestehenden Gruppe.

3. Lösung nach den Ansprüchen 1 und 2, worin das gegen die Klumpenbildung gerichtete Mittel ein chelatisierendes Mittel ist, das aus der aus Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und deren Salzen bestehenden Gruppe gewählt ist.

4. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin der Alkohol 45 bis 55 %, vorzugsweise 50 %, der Lösung ausmacht.

5. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin der Alkohol etwa 20 % der Lösung ausmacht.

6. Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, worin das puffernde Mittel gewählt ist aus der aus PBS, Tris-Puffer, Natriumacetat, EDTA und ihren Salzen und Citronensäure und ihren Salzen bestehenden Gruppe.

7. Verfahren der in-vitro-Konservierung von Säuger-Gewebezellen über lange Zeit bei Umgebungsbedingungen, wobei das Verfahren die Schritte umfaßt, daß man

A. eine Probe von Säuger-Gewebezellen bereitstellt; und
B. innerhalb einer Zeit von dem Schritt des Bereitstellens der Probe die Zellen in einer Konservierungs-Lösung suspendiert, die umfaßt:

(i) einen mit Wasser mischbaren Alkohol in einer Menge, die ausreichend zur Fixierung der Zellen ohne Koagulation ist;

(ii) ein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel in einer Menge, die ausreichend ist, um zu verhindern, daß die Zellen zusammenklumpen; und

(iii) ein pufferndes Mittel, das die Lösung mit den Zellen bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 4 und etwa 7 hält.

8. Verfahren nach Anspruch 7, welches außerdem den Schritt umfaßt, daß man die Zellsuspension bei einer Temperatur im Bereich von etwa 4 bis etwa 38 °C hält.
9. Verfahren nach Anspruch 7 oder 8, worin gleichzeitig mit der in-vitro-Konservierung der Säuger-Zellen in der Zellsuspension Pathogene zerstört werden, die in der Lage sind, sich in Proben zu vermehren, die die Säugerzellen enthalten.
10. Verfahren nach Anspruch 9, worin die Pathogene gewählt sind aus der aus *C. albicans*, *A. niger*, *P. aeruginosa* und *S. aureus* bestehenden Gruppe.

Die Klägerinnen, welche das Streitpatent vollumfänglich angreifen, machen geltend, dass die Gegenstände sämtlicher Ansprüche des Streitpatents in der erteilten und hilfsweise verteidigten Fassung gegenüber dem Stand der Technik nicht mehr neu und nicht erfinderisch seien sowie hinsichtlich des nach dem Hilfsantrag 2 in Anspruch 1 hinzugefügten Merkmals „und-Gewebe“ eine unzulässige Erweiterung des Schutzbereichs vorliege. Sie stützen ihr Vorbringen ua auf die Druckschriften:

- N3: JP-A-63-168563,
- N3a: Englische Übersetzung der N3,
- N4: JP-A-63-168562,
- N4a: Englische Übersetzung der N4,
- N5: Husain, O.A.N. et al; „A ^Sample Preparation for Automated Cervical Cancer Screening“, Acta Cytologica, 1978, Vol. 22, No. 1, S. 15 bis 21,
- N6: Oud; P.S. et al; „The Development of a Cervical Smear Preparation P7rocedure for the BioPEPR Image Analysis System“, 1981, Analytical and Quantitative Cytology, Vol. 3, No. 1, S. 73 bis 80,
- N7: WO 91/02538 A1,
- N8: DE 38 04 141 C1,

- N9: EP 0 175 338 A2,
- N10: Donzanti, B.A. et al; „An improved and rapid HPLC-EC method for the isocratic separation of amino acid neurotransmitters from brain tissue and microdialysis perfusates“, *Life Sciences*, 1988, Vol. 43, S. 913 bis 922,
- N11: Kågedal, B. et al; „Automated high-performance liquid chromatographic determination of 5-S-cysteinyl-3,4-dihydroxyphenylalanine in urine“, 1989, *Journal of Chromatography*, 1989, 473, S. 359 bis 370,
- N12: Parinam, S. R. et al; „A Specific Sensitive HPLC Method for Determination of Plasma Dopamine“, *Chromatographia*, 1989, Vol. 28, No. 5/6, S. 307 bis 310,
- N13: James, I.T. et al; „Rapid assay for hard tissue collagen cross-links using isocratic ion-pair reversed-phase liquid chromatography“, *Journal of Chromatography*, 1990, 525, S. 43 bis 57,
- N14: Bai, Q.Y. et al; „Determination of adenine nucleotides in soil by ion-paired reverse-phase high-performance liquid chromatography“, *Journal of Microbiological Methods*, 1989, 9, S. 345 bis 351,
- N15: Kimura, M. et al; „Reaction of ethylenediaminetetraacetate with aquated chromium (III) ions in mixed solvents of water with methanol and with ethanol“, *J. Inorg. nucl. Chem.*, 1978, Vol. 40, S. 1085 bis 1088,
- N16: Shryock, J.C. et al; „Extraction of Adenine Nucleotides from Cultured Endothelial Cells“, *Analytical Biochemistry*, 1986, 159, S. 73 bis 81,
- N17: Votavova, H. et al; „Changes in Conformation, Stability and Condensation of DNA by Univalent and Divalent Cations in Methanol-Water Mixtures“, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 1986, Vol. 4, No. 3, S. 477 bis 489,
- N18: Chiori, C.O. et al; „A potentiating effect of EDTA on the bactericidal activity of lower concentrations of ethanol“, *International Journal of Pharmaceutics*, 1983, 17, S. 121 bis 128,
- N19: Darzynkiewicz, Z. et al; „Recognition of cells in mitosis by flow cytofluorometry“, *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1977, Vol. 25, No. 7, S. 875 bis 880,

- N20: Spencer, B., „A cytological basis for the biochemical study of bronchial epithelium“, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1958, Vol. 6, Nr. 2, S. 105 bis 111,
- N21: McGowan, P.F. et al; „Equilibrium Binding of Hoechst 33258 and Hoechst 33342 Fluorochromes with Rat Colorectal Cells“, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1988, Vol. 36, No. 7, Seiten 757 bis 762,
- N22: Darzynkiewicz, Z. et al; „DNA Denaturation in Situ: Effect of Divalent Cations and Alcohols“, The Journal of Cell Biology, 1976, Vol. 68, 1976, Seiten 1 bis 10.

Die Klägerinnen beantragen,

das europäische Patent 0 511 430 mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland im gesamten Umfang für nichtig zu erklären.

Die Beklagte beantragt,

die Klage abzuweisen,
hilfsweise verteidigt sie das Streitpatent mit den Patentansprüchen gemäß Hilfsanträgen 1 und 2, jeweils überreicht in der mündlichen Verhandlung,

wobei sich die Patentansprüche 1 bis 6 nach Hilfsantrag 1 und Hilfsantrag 2 von den erteilten Ansprüchen dadurch unterscheiden, dass sie als Verwendungsansprüche formuliert sind; in Patentanspruch 1 nach Hilfsantrag 2 ist ferner noch nach „Säuger-Zellen“ der Zusatz „und-Gewebe“ aufgenommen.

Zur Stützung ihres Vorbringens verweist sie auf folgende Druckschriften:

- A1: Tewari, B.B., „Electrophoretic studies on the chelating tendency of bioactive sulphur-containing amino acids: The metal-methylcysteine-cysteine system“, Journal of Chromatography A, 2002, Vol. 962, Seiten 233 bis 237,
- A2: Tewari, B.B., „Determination of Stability Constants of Metal-methylcysteine and Metal-methylcysteine-cysteine Complexes by Paper Ionophoretic Technique“, Croatica Chemica Acta, 2005, Vol. 78, No. 1, S. 49 bis 53,
- A3: Jander, G. et al; „Einführung in das anorganisch-chemische Praktikum“, S. Hirzel Verlag Stuttgart 1984, 12. Auflage, S. 322 bis 323,
- A4: Cornell, N. W. et al; „Stability Constant for the Zinc-Dithiothreitol Complex“, Analytical Biochemistry, 1972, Vol. 47, S. 203 bis 208 und
- A5: The American Heritage® Stedman's Medical Dictionary, S. 166.

Die Beklagte widerspricht der Auslegung des Patentanspruches 1 durch die Klägerinnen und ist der Ansicht, die Gegenstände der verteidigten Patentansprüche seien neu und erfinderisch. Insbesondere müsse berücksichtigt werden, dass der Gegenstand der beanspruchten Lehre durch das in Patentanspruch 1 aufgenommene Merkmal „in vitro-Konservierung“ sowie die beanspruchte Verhinderung einer Klumpenbildung sich vom Stand der Technik sowohl im Hinblick auf die Neuheit als auch die erfinderische Tätigkeit ausreichend abgrenze. Denn anders als im Stand der Technik werde durch das der Lösung hinzuzufügende Mittel gegen die Klumpenbildung, vorzugsweise ein chelatisierendes Mittel, vorzugsweise Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und Salze davon, nach der streitpatentgemäßen Lehre nur eine Klumpenbildung von Zellen verhindert, nicht aber eine bereits vorhandene Klumpenbildung von Zellen bzw. Gewebe beseitigt bzw. abgebaut, was auch dem Begriff „Konservierung“ immanent sei. Insoweit bestehe auch die objektive Aufgabe des Patents in einer so verstandenen Konservierung von Zellen und Gewebe.

Hinsichtlich des weiteren Vorbringens der Parteien sowie des Wortlauts der Patentansprüche gemäß Hilfsanträgen 1 und 2 wird auf den Akteninhalt verwiesen.

Entscheidungsgründe

I

Die Klage ist zulässig und begründet. Der geltend gemachte Nichtigkeitsgrund fehlender Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG, Art. 138 Abs. 1 lit a EPÜ) führt zur Nichtigklärung des Streitpatents, da der Patentgegenstand gemäß Anspruch 1 nach Hauptantrag nicht neu ist und nach den Hilfsanträgen 1 und 2 gegenüber dem Stand der Technik nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

1. Das Streitpatent betrifft nach Angaben der Streitpatentschrift eine Lösung und ein Verfahren für die in-vitro-Konservierung von Säuger-Zellen bei Umgebungstemperaturen für sich später anschließende cytologische oder histologische Untersuchungen (Übersetzung der europäischen Patentschrift DE 691 27 888 T2 (N1a) S. 1, Z. 2 bis 4 und S. 3, Z. 9 bis 12), wobei gemäß Beschreibung die wässrige Alkohol-Puffer-Lösung für die in vitro-Konservierung bei Umgebungsbedingungen nach der Erfindung einen mit Wasser mischbaren Alkohol in Kombination mit einem gegen die Klumpenbildung gerichteten Mittel und einem puffernden Mittel umfasst. Die Alkohol-Komponente ist in einer Menge enthalten, die zur Fixierung der Säuger-Zellen oder des Säuger-Gewebes ausreichend ist, während das gegen die Klumpenbildung gerichtete Mittel in einer Menge vorhanden ist, die ausreichend ist, um zu verhindern, dass die Zellen in der Lösung zusammenklumpen, und das puffernde Mittel hält die Zellen für die Dauer bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 2 und etwa 7 (S. 3, Z. 22 bis 30 i. V. m. Patentanspruch 1 der N1a).

Bei einer cytologischen oder histologischen Untersuchung werden geeignet aufbereitete Zellproben hinsichtlich ihrer inneren Zellstrukturen und ihrer morphologischen Differenzierung lichtmikroskopisch untersucht. Das Untersuchungsmaterial stammt aus Zell(verbänd)en im Abstrich- oder Punktionsmaterial von Körpergeweben bzw. aus dem Zellausstrich von Körperflüssigkeiten. Bewertet wird in der

cytologischen Diagnostik vor allem die Struktur der Einzelzelle zum Nachweis krankhafter Zellmerkmale, z. B. als Hinweis auf ein Malignom. Feingewebliche - histologische - Diagnosen lassen sich schon an winzigen Gewebestückchen, z.B. Probeexcisionen aus einem Muttermal oder Biopsien aus Magengewebe, erstellen. Die zur cytologischen oder histologischen Analyse erforderliche Aufbereitung der Zellen und Gewebe, insbesondere das Einbringen in ein Konservierungsmedium, entfernt die Zellen aus ihrer physiologischen Umgebung. Da Zellen außerhalb ihres natürlichen physiologischen Kontextes auf Grund anderer osmotischer Verhältnisse, anderer Konzentrationen an anorganischen und organischen Verbindungen und fehlender zellsteuernder Signale in ihrer Überlebensfähigkeit stark beeinträchtigt sind, wäre es wünschenswert, die cytologische oder histologische Untersuchung direkt an die Probeentnahme anzuschließen (vgl. S. 1, Z. 5 bis 11). In der Regel erfolgen die cytologischen oder histologischen Untersuchungen jedoch nicht durch den die Probe nehmenden Arzt, sondern durch einen Spezialisten, zu dem die entnommenen Proben angeliefert werden müssen (vgl. S. 1, Z. 23 bis S. 2, Z. 2). Sowohl für die cytologische als auch für die histologische Begutachtung einer Patientenprobe müssen die Proben in der Regel im Labor gefärbt werden, wobei insbesondere die Begutachtung einer Gewebeprobe umfangreiche Vorbereitungsschritte, wie Fixierung, Entwässerung, Paraffinierung und Schnittherstellung erfordert.

Wie die Beklagte zutreffend ausgeführt hat, ist es in dem durch die Trennung der Probeentnahme von der cytologischen oder histologischen Untersuchung verursachten Zwischenzeitraum daher notwendig, die entnommenen Proben zu konservieren bzw. zu „fixieren“, d. h. zu verhindern, dass sich die zu untersuchenden zellulären Strukturen im Laufe des Transportes und/oder einer Lagerung verändern oder gar absterben. Der Zeitraum zwischen Probennahme und cytologischer bzw. histologischer Untersuchung kann aber mitunter eine Woche oder länger betragen, da es aus Gründen der Praktikabilität im Labor zur besseren Geräteauslastung üblich ist, auflaufende Proben solange zu lagern, bis sich eine ausreichende Anzahl an Proben für eine cytologische oder histologische Untersuchung angesammelt hat. Unter Zellkonservierung bzw. -fixierung im Sinne des Streitpa-

tents ist folglich zu verstehen, dass die zu untersuchenden Zellstrukturen für einen geeignet langen Zeitraum zwischen Probeentnahme und anschließender Färbung und Diagnostik keine Veränderungen erfahren, die ihre Auswertung unter dem Lichtmikroskop beeinträchtigt oder gar unmöglich macht.

In der Streitpatentschrift wird zum Stand der Technik ausgeführt, dass zur Konservierung von Zellproben in der Zwischenzeit zwischen Zellentnahme und Fixierung und/oder Analyse bereits einige Konservierungsmedien, wie Kochsalz-Lösung oder andere ausgewogene Salzlösungen, im Handel erhältlich sind. Dies sind z.B. die ausgewogene Salzlösung nach Hanks, die eine modifizierte Ringer-Lösung mit Glucose als Energiequelle ist, ein minimale essentielle Komponenten enthaltendes Gewebekulturmedium (minimal essential tissue culture medium (MEM)) und das Produkt Polisal[®]. Die hohen Kosten für einige der genannten Medien, z. B. für die Salzlösung nach Hanks und für das MEM-Medium, verhinderten deren Anwendung im Routine-Bereich (S. 2, Z. 4 bis 11). Auch verlören die Zellen ihre Lebensfähigkeit nach Aufbewahrung von über 20 Minuten in der Hanks-Lösung, was eine cytopathologische Analyse beeinträchtigt (S. 2, Z. 25 bis 27). Eine sich über eine längere Zeit erstreckende Konservierung von Proben in Polisal[®], einer ausgewogenen Elektrolytlösung, die physiologisch äquivalent zu menschlichem Blutplasma ist, sei nicht möglich, da die Lösung bakterielles Wachstum nicht inhibiert (S. 2, Z. 16 bis 19).

2. Vor diesem Hintergrund liegt nach den Angaben in der Patentschrift dem Streitpatent die Aufgabe zu Grunde, eine Lösung zur Konservierung und zum Fixieren von Zellen sowie ein Verfahren zu schaffen, mit dem/denen Zellen und Gewebe für eine anschließende cytologische oder histologische Analyse konserviert werden können (S. 3, Z. 9 bis 12).

Gelöst werden soll diese Aufgabe gemäß Anspruch 1 mit einer Lösung, die folgende Merkmale aufweist:

1. Wässrige Alkohol-Puffer-Lösung
2. für eine im Wesentlichen bei Umgebungstemperatur stattfindende in-vitro-Konservierung von Säugerzellen für eine gewählte Dauer, umfassend
3. einen mit Wasser mischbaren Alkohol in einer Menge, die ausreichend zur Fixierung der Säugerzellen ist;
4. ein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel in einer Menge, die ausreichend ist, um zu verhindern, dass die Zellen in der Lösung verklumpen und
5. ein pufferndes Mittel, das die Lösung mit den Zellen für die Dauer bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 2 und etwa 7 hält.

Bei dem zur Lösung der Aufgabe beanspruchten Verfahren gemäß Anspruch 7 des Hauptantrags und der Hilfsanträge 1 und 2 werden die Säuger-Gewebezellen nach Bereitstellen der Probe in einer Lösung mit den Merkmalen 1 bis 4 suspendiert, wobei im Unterschied zum Anspruch 1 das puffernde Mittel, die Zellen bei einem pH-Wert zwischen etwa 4 und etwa 7, anstelle von etwa 2 bis etwa 7, hält.

3. Der zuständige Fachmann ist ein Pathologe, klinischer Mediziner, Mikrobiologe oder ein Pharmazeut mit besonderen Kenntnissen cytologischer oder histologischer Untersuchungsmethoden.

II.

1. Zulässigkeit der Ansprüche

Die verteidigten Patentansprüche in der erteilten Fassung und der Fassung gemäß Hilfsantrag 1 sind zulässig, insbesondere auch der in Hilfsantrag 1 enthaltene Kategoriewechsel vom Erzeugnis zum einschränkenden Verwendungsanspruch (vgl. hierzu BGH GRUR 1988, 287 - Abschlussblende; BGH GRUR 1990, 508, 509 - Spreizdübel; Rogge in Benkard PatG 10. Aufl., § 22 Rn. 54), nicht jedoch die gemäß Hilfsantrag 2 durch die Hinzufügung „und -Gewebe“ geänderte Fassung von Patentanspruch 1. Dabei kann hier dahingestellt bleiben, ob in dem zusätzlichen Merkmal „und (Säuger-)Gewebe“ eine unzulässige Erweiterung des Schutzbereichs des Streitpatents zu sehen ist (vgl. dazu BGH GRUR 2005, 145 - Elektronisches Modul), wie die Klägerinnen meinen, oder ob es sich, wie die Beklagte geltend macht, nur um eine Klarstellung handelt, mit der zum Ausdruck gebracht werden soll, dass mit „Konservierung“ die Erhaltung bestehender Klumpen - auch eines Gewebes - bei gleichzeitiger Vermeidung der Entstehung neuer Klumpen gemeint ist, im Unterschied zu dem Stand der Technik, bei dem erst nach mechanischem oder chemischem Aufbrechen eines Zellverbandes eine Reaggregation der Zellen durch die streitpatentgemäß verwendete Lösung vermieden werden soll. Auch eine erläuternde Klarstellung von Merkmalen des Patentanspruchs, die für die dem Verletzungsgericht vorbehaltene Bestimmung des Schutzzumfangs maßgeblich sein kann, ist in dem auf die Prüfung der geltend gemachten Nichtigkeitsgründe gerichteten Nichtigkeitsverfahren nicht zulässig (vgl. BGH GRUR 1988, 757, 760 - Düngerstreuer).

2. Zur Auslegung der Ansprüche und zum Gegenstand der beanspruchten technischen Lehre

a) Die Beklagte hat mehrfach darauf hingewiesen, dass die Formulierung der Patentansprüche dahingehend zu verstehen sei, dass mit der beanspruchten Lehre ausschließlich Lösungen mit Mitteln gegen Klumpenbildung beansprucht werden,

die die Proben *völlig unverändert* konservieren, d. h. vorhandene Klumpen sollen durch die Lösung nicht aufgelöst werden und gleichzeitig die Bildung neuer Klumpen verhindert werden. Diese Eigenschaft unterscheidet die beanspruchte Konservierungslösung von dem Stand der Technik, der auf eine Lyse des Probenmaterials abstelle.

b) Maßgebliche Grundlage dafür, was durch das europäische Streitpatent unter Schutz gestellt ist, ist gem. Art. 69 I 1 EPÜ der Inhalt der Patentansprüche in der jeweiligen Verfahrenssprache und durch Auslegung zu ermitteln. Es ist deshalb grundsätzlich erforderlich, dass zunächst der Gegenstand des Patentanspruchs ermittelt wird, indem der Wortlaut des Patentanspruchs unter Heranziehung von Beschreibung und Zeichnungen aus der Sicht des von der Erfindung angesprochenen Fachmanns ausgelegt wird (BGH GRUR 2002, 515 - Schneidmesser I; BGH GRUR 1988, 896 - Ionenanalyse), wobei die Auslegung nicht nur der Behebung etwaiger Unklarheiten, sondern auch zur Erläuterung der darin verwendeten technischen Begriffe sowie zur Klärung der Bedeutung und Tragweite der Erfindung dient (Keukenschrijver in Busse PatG 6. Aufl., § 14 Rn. 43) und der Gesamtzusammenhang nicht aus dem Auge verloren werden darf, da Feststellungen zum Inhalt einzelner Merkmale stets nur dazu dienen, schrittweise den allein maßgeblichen Wortsinn des Patentanspruchs als eine Einheit zu ermitteln (BGH GRUR 2006, 311 - Baumscheibenabdeckung - unter Hinweis auf BGH GRUR 2004, 845 - Drehzahlermittlung).

c) Bei Anwendung vorstehender Grundsätze auf den Inhalt der vorliegenden Patentansprüche besteht kein Anlass für die Annahme, die Lehre des Streitpatents werde von dem Fachmann so verstanden, dass das bei einem Abstrich oder einer Probeexcision gewonnene Probenmaterial bestehend aus einzelnen Zellen und winzigen Gewebestückchen bis zu der zum Zweck der cytologischen oder histologischen Beurteilung erforderlichen Übertragung auf einen Objektträger unverändert erhalten bleibt, dh also eine vorhandene Agglomeration nicht aufgelöst und zugleich die Entstehung weiterer Agglomerationen verhindert wird. Für eine solche Auslegung der beanspruchten Lehre findet sich in der Patentschrift kein einziger

Hinweis, insbesondere kein Beispiel oder eine Erläuterung. Vielmehr wird in der Patentschrift ausgeführt, dass innerhalb eines vorbestimmten oder speziell angegebenen Zeitrahmens im Anschluss an die Biopsie die Zellen in einer Konservierungslösung des beschriebenen Typs *suspendiert* werden (S. 4, Z. 19 bis 22). Eine *Suspendierung* von Zellen bedeutet aber die Verteilung bzw. Vereinzeln der Zellen in einer Flüssigkeit, mithin eine Veränderung der Proben; dies ist - wie einleitend erörtert - ein Ziel der Probenaufbereitung bei der Herstellung eines Ausstrich-Präparates, da ein Mono-Layer-Präparat kaum Interpretationsprobleme wegen sich überlagernder Zellen in der Diagnostik schafft und eine optimale Auswertung auch weniger Zellen hinsichtlich ihrer Kern-Morphologie ermöglicht. Insofern kann sich die Beklagte nicht darauf berufen, dass allein dem Begriff „Konservierung“ bereits die Lehre inhärent sei, dass das Probenmaterial völlig unverändert bleiben müsse. Die Klägerinnen haben in der mündlichen Verhandlung daher zutreffend darauf hingewiesen, dass die Beklagte hier eine Scheindiskussion führe, weil Zellen nicht in verklumptem Zustand zu untersuchen seien.

III

1. Die Neuheit der wässrigen Alkohol-Puffer-Lösung nach Anspruch 1 des Hauptantrags ist nicht gegeben. Jede der Entgegenhaltungen N10 bis N14 nimmt eine Lösung mit den Merkmalen 1 und 3 bis 5 des Anspruchs 1 für sich neuheits-schädlich vorweg.

Die wässrige Alkohol-Puffer-Lösung gemäß Anspruch 1 des Hauptantrags umfasst

- A. einen mit Wasser mischbaren Alkohol,
- B. ein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel und
- C. ein pufferndes Mittel, das die Lösung bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 2 und etwa 7 hält.

Nach der streitpatentgemäßen Definition des als gegen die Klumpenbildung gerichteten Mittels gemäß Merkmal B. handelt es sich dabei insbesondere um ein

chelatisierendes Mittel, das aus der aus Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und deren Salzen bestehenden Gruppe gewählt ist (Patentanspruch 3 i. V. m. S. 6, Z. 14 bis 21 der N1a).

Eine wässrige Alkohol-Puffer-Lösung dieser Zusammensetzung mit einem pH-Wert innerhalb des angegebenen Bereichs ist in der Druckschrift N10 bereits beschrieben. Sie umfasst dort 28 % Methanol, d. h. einen mit Wasser mischbaren Alkohol gemäß Merkmal A. Ferner umfasst die bekannte Lösung 0,13mM des Dinatriumsalzes von EDTA entsprechend dem streitpatentgemäß definierten Merkmal B und als pufferndes Mittel fungiert der Natriumphosphatpuffer, dessen pH-Wert gemäß der N10 auf 6.00 oder 6.40 eingestellt ist (S. 915, Abs. 4).

Auch aus den Druckschriften N11 bis N14 gehen jeweils Lösungen dieser Zusammensetzung mit einem pH-Wert im angegebenen Bereich bereits hervor (N11: S. 359, Abstract und S. 360, Abs. 5; N12: S. 308, li. Sp. RP-4[10]; N13: S. 46, Abs. 1; N14: S. 347, Abs. 1). Die stoffliche Zusammensetzung vermag somit die streitpatentgemäße Lösung nicht als neues Erzeugnis zu kennzeichnen.

Auch der in Merkmal 2 angegebene Verwendungszweck kann dem Erzeugnis keine Neuheit verleihen. Soweit die Beklagte insoweit geltend gemacht, die Zweckangabe limitiere den Erzeugnisanspruch im Sinne einer körperlich-räumlichen Ausgestaltung, kann ihr nicht gefolgt werden. Denn im vorliegenden Fall handelt es sich nicht um eine Kennzeichnung des Gegenstandes selbst, sondern lediglich um die Angabe einer Verwendungsmöglichkeit der streitpatentgemäßen Lösung, für die erkennbar eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten existiert ohne den hiermit die Beschaffenheit der Lösung beschrieben wird (Schulte PatG, 7. Aufl., § 1 Rn. 213 und Rn. 218 i. V. m. § 14 Rn. 72 m. w. H.).

2. Auch in der Fassung der Hilfsanträge 1 und 2 hat Patentanspruch 1 - unabhängig von der Unzulässigkeit des letzteren - keinen Bestand. Anspruch 1 nach Hilfsantrag 1 soll die Verwendung der wässrigen Alkohol-Puffer-Lösung für eine im wesentlichen bei Umgebungstemperatur stattfindende in vitro-Konservie-

nung von Säugerzellen für eine gewählte Dauer umfassen. Nach Hilfsantrag 2 soll sich die Verwendung zudem noch auf Säuger-Zellen-Gewebe erstrecken.

Die Verwendung der wässrigen Alkohol-Puffer-Lösung für eine im Wesentlichen bei Umgebungstemperatur stattfindende in vitro-Konservierung von Säuger-Zellen (und -Gewebe) für eine gewählte Dauer sieht der Senat durch den Stand der Technik jedoch als nahegelegt an, so dass es zu ihrer Bereitstellung einer erfindetrischen Tätigkeit nicht bedurft hat.

Dem Fachmann, der es sich zum Ziel gesetzt hatte, eine Lösung zur Konservierung und zum Fixieren von Zellen zu schaffen, mit der Zellen und Gewebe für eine anschließende cytologische oder histologische Analyse konserviert werden können (EP 0 511 430 B1 = N1: S. 2, Z. 37/38 und N1a: S. 3, Z. 9 bis 12), war die Druckschrift N6 bekannt. Diese beschreibt die Entwicklung eines automatischen Verfahrens zur cytologischen Auswertung von Cervix-Abstrichmaterial (S. 73, li./re. Sp. Brückenabs.). Der Beschreibung entnimmt er, dass für eine in vitro-Konservierung von Säuger-Zellen (und -Gewebe) für eine gewählte Dauer eine wässrige Alkohol-Puffer-Lösung verwendet wird, die einen mit Wasser mischbaren Alkohol in einer Menge - hier 10 oder 20 % Ethanol - enthält, die ausreichend zur Fixierung der Säuger-Zellen und des Gewebes ist und die ferner ein pufferndes Mittel - einen Phosphatpuffer - umfasst, das die Lösung mit den Zellen für die Dauer bei einem pH-Wert im Bereich von etwa 2 und etwa 7 - hier bei pH 6,7 bis 7,0 - hält. In dieser Lösung sind die Proben bei 4 °C bis zu 30 Tagen ohne nennenswerte Veränderungen ihrer Morphologie lagerfähig (S. 74, li. Sp. letzt. Abs. bis re. Sp. Abs. 1). Er entnimmt der Druckschrift N6 darüber hinaus, dass die anschließende weitere Aufbereitung der Proben, d. h. die Vereinzelung der Zellen, in der wässrigen Alkohol-Puffer-Konservierungslösung auch in Gegenwart von EDTA erfolgen kann, ohne dass es trotz der Einwirkung von Scherkräften auf die Zellen durch das wiederholte Aufziehen der das Probenmaterial enthaltenden Konservierungslösung durch eine Kanüle zu einer weiteren Zunahme von Einzelzellen kommt (S. 76, re. Sp. Abs. 2 i. V. m. Tab. I). Es kommt aber - wie aus der Tabelle I ersichtlich - auch nicht zu einer Verringerung der Anzahl der Einzel-

zellen, obwohl regelmäßig bei dem mechanischen Aufbrechen der Zellverbände mit freiwerdenden Calciumionen gerechnet werden muss, die eine Reaggregation der Zellen, d. h. eine Verklumpung, nach sich ziehen können (vgl. auch N5: S. 15 re. Sp. Abs. 2).

Davon ausgehend besteht nach den Ausführungen in der Streitpatentschrift das Problem bei der Lagerung der Zellproben über eine längere Zeit darin, dass in herkömmlichen Konservierungslösungen Bakterien wachsen (Übersetzung der Streitpatentschrift: S. 3, Abs. 2). Diese Gefahr besteht erfahrungsgemäß insbesondere dann, wenn das Probenmaterial, wie im Streitpatent angegeben, im Wesentlichen bei Umgebungstemperatur gehandhabt wird. Der Gefahr könnte zwar, wie dem Fachmann bekannt, entgegengewirkt werden, indem die Konzentration des Alkohols in der Konservierungslösung erhöht wird. Der Fachmann weiß jedoch, wie auch in der Patentschrift allgemein festgestellt wird, dass die Alkoholkonzentration nicht zu hoch sein darf, da die Zellen in der Konservierungslösung ansonsten klumpen bzw. zur Koagulation neigen, was ihre anschließende Färbung stört (S. 5, Z. 25 bis 29; ferner z. B. auch N4a: S. 11, Abs. 2). Der Fachmann wird daher versuchen, eine Lösung zu finden, die das Bakterienwachstum unter den gegebenen Konservierungsbedingungen effektiv verhindert.

Eine Anregung hierzu liefert ihm das Dokument N18. Daraus weiß er, dass der Zusatz von EDTA zu einer alkoholischen Lösung deren bakterizide Wirkung verstärkt. Angesichts der vorliegenden Aufgabe ist es daher als naheliegend anzusehen, dieses Mittel einer alkoholischen Lösung, wie sie in N6, Seite 74, linke Spalte, letzter Absatz angegeben wird, ebenfalls dann zuzusetzen, wenn die Konservierung von Säuger-Zellen und -Gewebe insbesondere bei Umgebungstemperatur verbessert werden soll (S. 121, Summary und S. 122, Abs. 3 i. V. m. Tab. 1). Dabei gab es keinen Grund für ihn anzunehmen, dass sich das Zusammenwirken des Alkohols mit EDTA negativ auf die Konservierung der Zellen in dem Sinne auswirkt, dass es zu einer Veränderung des Probenmaterials kommt (vgl. N6, S. 76 re. Sp. Abs. 2). Denn anders als die Beklagte in der mündlichen Verhandlung geltend gemacht hat, halten die Erkenntnisse der Druckschrift N6 hinsichtlich

des Zusatzes von EDTA, wie vorstehend ausgeführt, den Fachmann nicht davon ab, der daraus bekannten Konservierungslösung ein anerkanntes Mittel gegen die Klumpenbildung, EDTA, zuzusetzen, welches zugleich die bakterizide Wirkung des Alkohols verstärkt, und damit eine Konservierungslösung zu schaffen, die Säuger-Zellen und -Gewebe für eine gewählte Dauer bei im Wesentlichen Umgebungstemperatur in vitro konserviert.

3. Mit den Patentansprüchen 1 nach Haupt- und Hilfsanträgen sind auch die auf ihn rückbezogenen abhängigen Unteransprüche 2 bis 6, die weitere Ausgestaltungen der Konservierungslösung und ihrer Verwendung für nichtig zu erklären, nachdem der Senat keinen eigenen erfinderischen Gehalt erkennen kann und die Beklagte einen solchen auch nicht geltend gemacht hat.

4. Die Neuheit des Verfahrens der in-vitro-Konservierung von Säuger-Gewebezellen über lange Zeit bei Umgebungsbedingungen nach den verteidigten Ansprüchen 7 aller Anträge kann dahingestellt bleiben, es beruht nach Überzeugung des Senats jedenfalls nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Das Verfahren umfasst folgende Schritte:

A. Eine Probe von Säuger-Gewebezellen wird bereitgestellt; und

B. innerhalb einer Zeit von dem Schritt des Bereitstellens der Probe werden die Zellen in einer Konservierungs-Lösung suspendiert, die umfasst:

(i) einen mit Wasser mischbaren Alkohol in einer Menge, die ausreichend zu einer Fixierung der Zellen ohne Koagulation ist;

(ii) ein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel in einer Menge, die ausreichend ist, um zu verhindern, dass die Zellen zusammenklumpen; und

(iii) ein pufferndes Mittel, das die Lösung mit den Zellen bei einem pH-Wert im Bereich zwischen etwa 4 und etwa 7 hält.

Diese Verfahrensschritte werden im Wesentlichen bereits in der Entgegenhaltung N6 beschrieben. Dort wird gemäß Schritt A eine Probe bereitgestellt (S. 74, li./re. Sp. Brückenabs.). Es können unterschiedliche Alkoholkonzentrationen, hier 10 bzw. 20 %, in Abhängigkeit von der Zeit, von dem Schritt des Bereitstellens der Probe bis zu deren weiteren Verarbeitung verwendet werden, so dass die Menge ausreichend ist, die Fixierung der Zellen ohne Koagulation sicherzustellen. Die Probe wird allerdings im Unterschied zum Verfahren des Streitpatents in einer Konservierungslösung aufbewahrt und/oder transportiert, die kein gegen die Klumpenbildung gerichtetes Mittel in einer Menge enthält, die ausreichend ist, um zu verhindern, dass die Zellen zusammenklumpen (S. 74, li. Sp. Z. 42 bis 48).

Sodann werden jedoch gemäß Entgegenhaltung N6 die Zellen innerhalb einer Zeit von dem Schritt des Bereitstellens der Probe vereinzelt, d. h. in der Lösung - entsprechend Schritt B - suspendiert (S. 76, li. Sp. Abs. 3), wobei diese Lösung einen mit Wasser mischbaren Alkohol, EDTA und einen Puffer entsprechend den Merkmalen (i), (ii) und (iii) enthält (S. 74, li./re. Sp. Brückenabs. i. V. m. S. 76, li. Sp. Abs. 3 bis re. Sp. Abs. 2 und Tab. I). Wie der Fachmann im Zusammenhang dann der Tabelle I der N6 entnimmt, hat die Gegenwart von EDTA in der zur Suspendierung der Zellen herangezogenen Konservierungslösung keine Auswirkung auf die Zahl der suspendierten Einzelzellen, mithin tritt, wie vorstehend erläutert, nach deren mechanischer Vereinzelnung auch keine Verklumpung ein (S. 76, Tab. I).

Nachdem ihm aber aus dem Stand der Technik N18 auch bekannt ist, dass der Zusatz von EDTA zu einer alkoholischen Lösung deren bakterizide Wirkung verstärkt, lag es für ihn nahe, der Konservierungslösung das EDTA von vornherein zuzusetzen, um damit die Konservierung von Säuger-Zellen und -Gewebe insbesondere bei Umgebungstemperatur, hier 25 ± 1 °C, zu verbessern (S. 121, Summary und S. 122, Abs. 3 i. V. m. Tab. 1). Einer erfinderischen Tätigkeit bedurfte es zur Bereitstellung des Verfahrens nach Anspruch 7 daher nicht.

Patentanspruch 7 nach Hauptantrag und den Hilfsanträgen 1 und 2 hat daher keinen Bestand.

Die darauf rückbezogenen Patentansprüche 8 bis 10 aller Anträge betreffen die weitere Ausgestaltung des Verfahrens nach Anspruch 7; auch sie weisen nach Überzeugung des Senats keinen eigenen erfinderischen Gehalt auf (vgl. N6: S. 74 re. Sp. Abs. 1; N18: S. 122 Abs. 3 und Tab. I). Die Beklagte hat einen solchen nicht geltend gemacht. Sie sind daher ebenfalls für nichtig zu erklären.

IV.

Die Kostenentscheidung beruht auf § 84 Abs. 2 PatG i. V. m. §§ 91 Abs. 1 ZPO, die Entscheidung über die vorläufige Vollstreckbarkeit auf § 99 Abs. 1 PatG i. V. m. § 709 Satz 1 und Satz 2 ZPO.

Dr. Schermer Engels Dr. Proksch-Ledig Dr. Gerster Dr. Schuster

Pr