



BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

Verkündet am
2. Oktober 2018

...

3 Ni 57/16 (EP)

(Aktenzeichen)

In der Patentnichtigkeitsache

...

betreffend das europäische Patent 1 449 918

(DE 602 36 684)

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 2. Oktober 2018 durch den Richter Kätker als Vorsitzenden, die Richterin Dipl.-Chem. Dr. Münzberg, den Richter Dipl.-Chem. Dr. Jäger, die Richterin Dipl.-Chem. Dr. Wagner und den Richter Dr. Söchtig

für Recht erkannt:

- I. Die Klage wird abgewiesen.
- II. Die Klägerin trägt die Kosten des Rechtsstreits.
- III. Das Urteil ist gegen Sicherheitsleistung in Höhe von jeweils 120 % des zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

Tatbestand

Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 21. November 2002 beim Europäischen Patentamt in englischer Sprache angemeldeten und mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland erteilten Patents 1 449 918 (Streitpatent), das die Prioritäten der russischen Anmeldungen 2001131571 und 2002121670 vom 23. November 2001 und 14. August 2002 in Anspruch nimmt und vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 602 36 684 geführt wird. Das Streitpatent trägt die Bezeichnung „Process For Producing L-Amino Acid Using Escherichia“ („Verfahren zur L-Aminosäureproduktion mit Escherichia“) und umfasst neun Patentansprüche, deren nebengeordnete Patentansprüche 1 und 5 wie folgt lauten:

1. An L-amino acid producing bacterium belonging to the genus *Escherichia* wherein the L-amino acid production by said bacterium is enhanced as compared to an unmodified strain by enhancing the activity of a protein as defined in the following (A) or (B) in a cell of said bacterium, by transformation of said bacterium with DNA coding for the protein as defined in (A) or (B) or by introducing multiple copies of the DNA coding for a protein as defined in (A) or (B) into a bacterial chromosome, or the L-amino acid production by said bacterium is enhanced by locating said DNA under the control of an expression regulation sequence that is more potent than the sequence shown in SEQ ID NO:9:

(A) a protein which comprises the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:2 in Sequence listing;

(B) a protein which comprises an amino acid sequence including deletion, substitution, insertion or addition of one to 30 amino acids in the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:2 in Sequence listing, and which has an activity of making bacterium have resistance to L-phenylalanine, p-fluoro-phenylalanine or 5-fluoro-DL-tryptophan.

5. A method for producing L-tryptophan or L-phenylalanine, which comprises cultivating the bacterium according to any of claims 1 to 4 in a culture medium and collecting from the culture medium the L-amino acid to be produced and accumulated in the medium.

In deutscher Sprache lauten sie:

1. L-Aminosäure produzierendes Bakterium der Gattung *Escherichia*, wobei die L-Aminosäureproduktion durch das Bakte-

rium im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm erhöht ist, indem die Aktivität eines in (A) oder (B) definierten Proteins in einer Zelle des Bakteriums durch Transformation des Bakteriums mit für das in (A) oder (B) definierte Protein kodierender DNA oder durch Einführen mehrfacher Kopien von für das in (A) oder (B) definierte Protein kodierender DNA in ein Bakterienchromosom erhöht ist, oder die L-Aminosäureproduktion durch das Bakterium ist erhöht, indem die DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz, gestellt wird:

- (A) ein Protein, das die SEQ ID Nr. 2 des Sequenzprotokolls gezeigte Aminosäuresequenz umfasst;
- (B) ein Protein, das eine Aminosäuresequenz, einschließlich Deletion, Substitution, Insertion oder Addition von einer bis 30 Aminosäuren in der in SEQ Nr: 2 des Sequenzprotokolls gezeigten Aminosäuresequenz umfasst und die Fähigkeit hat, ein Bakterium gegen L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-tryptophan resistent zu machen.

5. Verfahren zur Produktion von L-Tryptophan oder L-Phenylalanin, welches das Kultivieren des Bakteriums nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in einem Kulturmedium und das Gewinnen der herzustellenden und in dem Medium anzuhäufenden L-Aminosäure aus dem Kulturmedium umfasst.

Wegen des Wortlauts der unmittelbar oder mittelbar auf Patentanspruch 1 und 5 rückbezogenen Patentansprüche wird auf die Patentschrift EP 1 449 918 verwiesen.

Die Klägerin, die das Streitpatent im Umfang seiner Patentansprüche 1 bis 7 angreift, macht die Nichtigkeitsgründe der mangelnden Patentfähigkeit, der mangelnden Ausführbarkeit und der unzulässigen Erweiterung geltend. Sie stützt ihr Vorbringen u.a. auf folgende Dokumente:

- | | |
|----------|---|
| NiK 1 | EP 1 449 918 B1 (Streitpatent) |
| NiK 2/P1 | RU Nr. 2001131571 vom 23. November 2001 |
| NiK 3/P2 | RU Nr. 2002121670 vom 14. August 2002 |
| NiK 5 | N.P. Zakataeva et al., The FASEB Journal, 1997, Abstracts 11(9), Seite A935, Nr. 457 |
| NiK 6 | N.P. Zakataeva et al., FEBS Letters 1999, 452, Seiten 228 bis 232 |
| NiK 7 | EP 1016710 B1 |
| NiK 8 | T. Daßler et al., Molecular Microbiology 2000, 36(5), Seiten 1101 bis 1112 |
| NiK 9 | C.A. Santiviago et al., Microbiology 2001, 147, Seiten 1897 bis 1907 |
| NiK 10 | A. Burkovski, R. Krämer, Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002, 58, Seiten 265 bis 274 |
| NiK 11 | C.A. Santiviago et al., Molecular Microbiology 2002, 46(3), Seiten 687 bis 698 |
| NiK 14 | A. Marin-Sanguino und N. V. Torres, Biotechnol. Prog 2000, 16, Seiten 133 bis 145 |
| NiK 15 | F.R. Blattner et al., Science, 5. September 1997, 277, Seiten 1453 bis 1462, einschl. 6 Seiten Sequenzprotokoll und einer Seite Bibliographie |
| NiK 20 | US 4,742,007 |
| NiK 21 | H. Aiba et al., DNA Research 1996, 3(6), Seiten 363 bis 377 |
| NiK 31 | englische Übersetzung der WO 03/044192 A1 |
| NiK 43 | Sequenzvergleich zu Escherichia coli-Stämmen (mit Suchparametern (NiK 43a) vom 27. September 2018, 24 Seiten |

- NiK 44 Sequenzvergleich zwischen SEQ ID NO: 9 und dem Genom von E. coli Nissle 1917, undatiert, 1 Seite
- NiK 45 M. Reister et al, Journal of Biotechnology 2014, 187, Seiten 106 bis 107
- NiK 45a Auszug aus NCBI Genbank, CP007799.1 (Escherichia coli Nissle 1917, complete genome) vom 27. September 2018, 1 Seite

Nach Auffassung der Klägerin betrifft Patentanspruch 1 allgemein ein L-Aminosäure produzierendes rekombinantes Bakterium ohne Beschränkung hinsichtlich der Art der Aminosäuren, etwa auf aromatische Aminosäuren.

Durch den Verweis auf Herstellungsverfahren für das anspruchsgemäße „L-Aminosäuren produzierende Bakterium“ handele es sich um einen Product-by-Process-Anspruch, so dass das Bakterium durch die körperlichen und funktionellen Eigenschaften definiert werde, die sich für einen Fachmann aus der Anwendung der Verfahren für seine Herstellung ergäben. Aus den Merkmalen sei u. a. zu folgern, dass das Bakterium nur eine spezifisch das yddG-Gen betreffende Veränderung, aber keine Änderungen anderenorts im Genom aufweise, und bei der genetischen Veränderung nach der dritten anspruchsgemäßen Verfahrensvariante das Bakterium einen bekannten starken Promotor anstatt der nativen Promotorregion des yddG-Gens aufweise. Die zur Verstärkung der yddG-Protein-Aktivität erforderlichen Verfahren seien limitierende Merkmale des Anspruchs, was auch der Verlauf des Erteilungsverfahrens zeige. Eine funktionsorientierte Auslegung des Anspruchswortlautes schließe damit zufallsgetriebene Verfahren, wie die genomweite Zufallsmutagenese, aus.

Das Streitpatent nehme beide Prioritäten nicht wirksam in Anspruch. Die Prioritäten seien zunächst in formalrechtlicher Hinsicht unwirksam, da die Rechtsnachfolge von der Voranmelderin A... auf die Beklagte als Nachanmelderin des Streitpatents nicht nachgewiesen worden sei. Die von der Beklagten geltend gemachte Übertragung sei nach dem hierfür maßgebenden intertemporalen Recht aus verschiedenen Gründen nicht wirksam gewesen. Zu Fragen der Wirksamkeit

der Übertragung des Prioritätsrechts nach russischem Recht bietet die Klägerin Sachverständigenbeweis im Sinne eines Rechtsgutachtens an.

Auch in materiell-rechtlicher Hinsicht seien beide Prioritäten zu Unrecht in Anspruch genommen worden, denn die Prioritätsanmeldungen und das Streitpatent offenbarten entgegen Art. 87 Abs. 1 EPÜ nicht dieselbe Erfindung. Das Merkmal „eine Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz“ werde in beiden Prioritätsdokumenten P1 und P2 nicht offenbart.

Unabhängig davon werde das Verfahren zur Herstellung von L-Tryptophan nach den Ansprüchen 5 bis 7 erstmals in P2 offenbart.

Zudem sei der Gegenstand des Patentanspruchs 1 durch die Prioritätsanmeldungen jeweils nicht in ausführbarer Weise offenbart.

Da die zweite Prioritätsanmeldung inhaltlich der Anmeldung des Streitpatents entspreche und somit mangelnde Erfindungsidentität auch in Bezug auf die Patentanmeldung in ihrer ursprünglich eingereichten Fassung vorliege, sei zudem auch der weitere Nichtigkeitsgrund der unzulässigen Erweiterung gegeben.

Das Streitpatent sei ferner nicht über den gesamten Schutzbereich im Hinblick auf eine erhöhte Produktion einer jeden L-Aminosäure ausführbar. Hinsichtlich der Beispiele 3 bis 5 bestünden wegen der zweifelhaften statistischen Relevanz der Ergebnisse die gleichen Bedenken gegen die Ausführbarkeit wie bei den entsprechenden Beispielen der zweiten Prioritätsanmeldung. Auch das „Stellen des yddG-Gens unter die Kontrolle einer stärkeren Expressionsregulationssequenz“ sei unzureichend offenbart. Das Streitpatent identifiziere nicht die Sequenzen, welche das yddG-Gen regulierten, und gebe auch keine verallgemeinerbare Lehre zur Modifikation solcher Sequenzen, um sie „stärker“ zu machen. Weiterhin stelle es keinen Assay zum Messen der Stärke einer Expressionsregulationssequenz bereit, der eine Bewertung ihrer Stärke zulassen würde. Ebenso wenig gebe es eine Information über die erforderliche Erhöhung der Stärke, die für die Expressionsre-

gulationssequenz erforderlich sei, um in den Schutzbereich der Ansprüche zu fallen.

Nicht ausführbar sei insbesondere die Variante (B) des Patentanspruchs 1. Der Anspruch enthalte lediglich einen Verweis auf die Aminosäuresequenz des yddG-Proteins, von der bis zu 30 Aminosäuren beliebig verändert werden könnten. Dies bedeute eine unüberschaubare Menge an Sequenzen. Schon die Herstellung dieser Varianten stelle für den Fachmann einen unzumutbaren Aufwand dar. Weiterhin werde dem Fachmann keinerlei Korrelation zwischen der Struktur und der Funktion solcher Varianten angegeben, sodass ihm auch keine Anleitung bereitgestellt werde, welche Änderungen in SEQ ID Nr. 2 vorgenommen werden könnten, die zu Sequenzen mit der in Patentanspruch 1 genannten Funktion führten. Ihm werde auch kein Weg aufgezeigt, wie er resistente von nicht resistenten Varianten unterscheiden könne. Die Klägerin verweist insoweit auf die in Tabelle 1 des Streitpatents angegebenen Ergebnisse, die eine Abhängigkeit der Resistenz von der Konzentration des Substrats und dem verwendeten Plasmid aufzeigten. Um ein valides Testassay bereitstellen zu können, müsse der Fachmann erst herausfinden, mit welchem Vektor und bei welcher Konzentration man arbeiten müsse. Die hierfür nötigen Versuche würden aber den zumutbaren Aufwand deutlich übersteigen.

Die Lehre des Patentanspruchs 1 beruhe auch nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Am relevanten Prioritätstag seien bereits zahlreiche Proteine identifiziert worden, die am Export von Aminosäuren aus dem Cytoplasma beteiligt seien. Der Zusammenhang zwischen der Überexpression dieser Proteine und der Erhöhung der Aminosäure-Produktion eines Bakteriums sei bekannt gewesen.

Das Patent offenbare die Produktion von zwei Aminosäuren, worauf Patentanspruch 1 jedoch nicht beschränkt sei. Daher könne auch auf Stand der Technik zurückgegriffen werden, der allgemein die Produktion von L-Aminosäuren betreffe.

Ausgehend von NiK 7, die das Klonieren von Aminosäure-Exportern der LysE/RhtB-Familie angebe und zugleich zeige, dass die Überexpression der neu klonierten Gene in E.coli zu einer erhöhten L-Aminosäure-Produktion führe, bestehe für den Fachmann das objektive Problem, einen weiteren L-Aminosäure-Exporter für die Erhöhung der Aminosäure-Produktion in Bakterien bereitzustellen. Unter Berücksichtigung der Überlegungen in NiK 5 und NiK 6, die aufzeigten, dass Vertreter der rhtA- und der rhtB-Exporterfamilien identische Aminosäuren exportierten, während gemäß NiK 8 Exporter der rhtA-Familie gegenüber den rhtB-Exportern noch andere Aminosäuren ausschleusten, wäre der Fachmann bereits durch ein Homologiescreening auf yddG gestoßen, da yddG homolog zu rhtA sei. Darüber hinaus werde der Fachmann, je nachdem, welcher Zeitrang zugrunde zu legen sei, durch eine der Druckschriften NiK 9 oder NiK 11 angeregt, zur Lösung der vorliegenden Aufgabe das YddG-Protein aus E.coli in Betracht zu ziehen. Die Motivation, YddG als einen Exporter auszuwählen, sei durch NiK 20 noch verstärkt worden, wonach Paraquat-resistente Bakterien zur Produktion größerer Mengen von L-Tryptophan fähig seien, und in NiK 9 und NiK 11 jeweils eine eindeutige Verbindung zwischen YddG und der Paraquat-Resistenz hergestellt werde.

Auch ausgehend von der NiK 20, die lehre, dass Paraquat-resistente Mikroorganismen der Gattung Corynebacterium zur erhöhten Produktion von L-Tryptophan befähigt seien, habe der Fachmann mit dem Ziel, die L-Tryptophan-Produktion weiter zu steigern, einen Anreiz gehabt, diese Tryptophan produzierenden Stämme mit DNA zu modifizieren, die für eine Paraquat-Resistenz bekannt war. Eine solche DNA werde ihm mit NiK 9 bzw. NiK 11 in Form des yddG-Gens bereitgestellt, so dass er ohne erfinderische Überlegungen aufgrund der ihm bekannten Ähnlichkeit zwischen den Bakterienstämmen zum streitpatentgemäßen Verfahren gelange.

Ebenso wäre der Fachmann ausgehend von der NiK 14 zum Gegenstand des Streitpatents gelangt. Die Schrift lehre, Tryptophan mit Hilfe von Efflux-Proteinen aus der Zelle auszuschleusen und gebe zudem den Hinweis, dass eine Überexpression des Transporters zur Erhöhung des Tryptophan-Effluxes führe. Eine An-

regung für einen solchen Transporter gebe dem Fachmann die NiK 11, die ihm YddG nenne.

Für ihr gesamtes Vorbringen bietet die Klägerin Sachverständigenbeweis an.

Die Klägerin beantragt,

das europäische Patent 1 449 918 im Umfang der Patentansprüche 1 bis 7 mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig zu erklären.

Die Beklagte beantragt,

die Klage abzuweisen.

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

- | | |
|-------|---|
| NB 1 | Founders Agreement v. 9. Januar 1998, 22 Seiten |
| NB 2 | Research Agreements v. 1. April 2000 und 1. April 2002, jeweils 13 Seiten |
| NB 3 | Project Sheets, 10 Seiten, teilweise geschwärzt |
| NB 15 | Y. Nagai, N. Tonouchi (Ajinomoto), Experimental Report, Februar 2016, 13 Seiten |

Nach Auffassung der Beklagten beruht die Erfindung auf der Erkenntnis, dass das Protein YddG ein Aminosäureexporter für Tryptophan und Phenylalanin sei und eine verstärkte Expression des yddG-Gens zu einer gesteigerten Bildung dieser Aminosäuren führe. Die Art und Weise, wie diese Verstärkung erreicht werde, etwa durch bestimmte Eingriffsmethoden, wie gezielte gentechnologische Eingriffe, z.B. den vollständigen Austausch des Promotors unter Einfügung eines stärkeren heterologen Promotors oder ungerichtete Verfahren (wie Zufallsmuta-

genese) sei bei der gebotenen funktionsorientierten Auslegung nicht maßgebend. Jede Art der Verstärkung der Expression des yddG-Gens und nicht eine bestimmte Art und Weise, in der dies geschehe, sei zielführend. Anspruchsgemäß seien daher auch sämtliche Ausführungsformen mit umfasst, die eine im Vergleich zu der in SEQ ID Nr. 9 gezeigten Sequenz stärkere Expressionsregulationssequenz von yddG darstellten.

Für das Patent seien die Prioritäten zu Recht in Anspruch genommen worden. In formalrechtlicher Hinsicht sei das Prioritätsrecht jeweils unmittelbar mit Entstehen der Rechte von der Voranmelderin „A...“, einem russischen Unternehmen, an dem die Beklagte beteiligt sei, auf die Beklagte als Nachanmelderin übertragen worden, so dass diese Rechtsnachfolgerin i. S. d. Art. 87 Abs. 1 EPÜ sei. Nach dem jeweiligen Art. 9 von jährlich gleichlautend abgeschlossenen Research Agreements seien alle gewerblichen Schutzrechte, die aus Forschungsprojekten hervorgegangen seien, damit auch die Prioritätsrechte für alle Länder der Welt außer Russland, von A... in das Eigentum der Beklagten übergegangen. Auch durch konkludentes Verhalten sei ein Übergang der Rechte bewirkt worden. Russisches Recht habe dem nicht entgegengestanden, wobei die Beklagte auf ein privates Rechtsgutachten verweist. Für die Richtigkeit ihrer Rechtauffassung zu russischem Recht im Zusammenhang mit der Übertragung von Prioritätsrechten bietet auch die Beklagte Sachverständigenbeweis an, wobei auch sie sich gegen die Beweislast verwehrt.

Die Prioritäten seien auch materiellrechtlich wirksam in Anspruch genommen worden. In den Prioritätsdokumenten sei dieselbe Erfindung offenbart. Insbesondere gehe daraus das Merkmal „Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz“, unmittelbar und eindeutig hervor. Im ersten Prioritätsdokument P1 sei bereits eine Verstärkung gegenüber der nativ vorhandenen upstream-Sequenz des yddG-Gens durch Einführung eines potenteren Promotors offenbart. Auch im zweiten Prioritätsdokument P2 sei in Anspruch 2 eine Expressionsregulationssequenz von yddG offenbart, die stärker sein müsse, als die im Ausgangsstamm vorhandene, um die in Anspruch 1 genannte Verstär-

kung der Aktivität von YddG zu erzielen. Die Konkretisierung der Expressionsregulationssequenz als SEQ ID Nr. 9 führe zu keiner neuen Lehre, da nach der Offenbarung der P2 die native Sequenz in der upstream-Region von yddG, also die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz, durch einen – gegenüber diesem Bezugspunkt – stärkeren Promoter ersetzt werde.

Die Lehren der Prioritätsdokumente seien auch ausführbar offenbart. In den Beispielen 3 bis 5 der Prioritätsdokumente würden gleich zwei exemplarische Wege aufgezeigt, Bakterien mit erhöhter Aminosäureproduktion zu erhalten. Etwaige Mängel, etwa hinsichtlich der statistischen Relevanz, habe die hierfür beweispflichtige Klägerin nicht belegt.

Dementsprechend liege auch keine unzulässige Erweiterung vor, die die Klägerin mit Verweis auf die Übereinstimmung der Anmeldung des Streitpatents mit dem Prioritätsdokument P2 begründet habe.

Der Gegenstand des Patentanspruchs 1 beruhe auch auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Sowohl zum Prioritätstag als auch zum Anmeldetag sei keinerlei Wissen zu Exportern der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tryptophan vorhanden gewesen, schon gar nicht im Zusammenhang mit dem Protein YddG. Insbesondere habe es keinerlei experimentelle Belege für die Existenz von Exportern für aromatische Aminosäuren gegeben.

Aufgabe des Streitpatents sei es, einen Mikroorganismus und ein Verfahren zur verbesserten Produktion von Phenylalanin bzw. Tryptophan zur Verfügung zu stellen. Die Wahl von Exportsystemen als technischem Mittel zur Verbesserung der Produktion von Phenylalanin bzw. Tryptophan sei damit bereits der Lösung zu zurechnen. Dementsprechend sei der von der Klägerin herangezogene Stand der Technik schon aufgrund der Fokussierung auf Exportsysteme für andere Aminosäuren rückschauend ausgewählt. Die NiK 7 sei mithin schon kein geeigneter Ausgangspunkt. Sie befasse sich nicht mit der Produktion von Phenylalanin oder

Tryptophan. Die dort aufgefundenen Gene seien den sog. LysE- und der YahN- (bzw. RhtB-) Proteinfamilien bzw. Superfamilien zuzuordnen. Diese hätten keine strukturelle Verwandtschaft mit yddG.

Selbst bei Berücksichtigung der NiK 7 als Ausgangspunkt wäre der Fachmann jedoch nicht zur Lösung des Streitpatents gelangt. NiK 7 gebe keine konkrete Anregung, gerade in der Überexpression von yddG eine Verbesserung der Phenylalanin- bzw. Tryptophanproduktion zu vermuten. Der Fachmann erhalte auch keine Anregung, ausgehend von NiK 7 zu einer solchen Überexpression von yddG zu gelangen, zumal das Membranprotein YddG kein Homolog der RhtB-Familie sei, wie NiK 6 und NiK 15 aufzeigten. Selbst bei Berücksichtigung der NiK 5 und der NiK 8 wäre der Fachmann aufgrund einer Homologiesuche nicht auf YddG gestoßen.

Eine Kombination der NiK 7 mit einer der Druckschriften NiK 9 oder NiK 11 sei wegen rückschauender Betrachtung unzulässig. NiK 9 befasse sich im Wesentlichen mit der Fähigkeit von Salmonella-Bakterien, zelltoxische Substanzen wie Methylviologen (Paraquat) aus der Zelle zu entfernen. Diese Giftstoffe seien aber chemisch nicht mit aromatischen Aminosäuren verwandt. Selbst wenn man die NiK 9 berücksichtige, so führe sie den Fachmann nicht zur Erfindung. Das yddG-Gen werde darin nur ganz am Rande erwähnt, da die biologischen Funktionen darin anderen Genen (smvA/ompD) zugewiesen würden. Der Export von Aminosäuren, insbesondere aromatischen, werde nicht erwähnt.

Selbst wenn die NiK 11 zum Stand der Technik zählen würde, hätte der Fachmann sie ebenfalls nicht herangezogen. Sie befasse sich nicht mit Aminosäureproduktion bzw. -export, sondern mit der Resistenz von Salmonella gegenüber toxischen quaternären Ammoniumverbindungen, insbesondere Methylviologen. Insofern der Fachmann sie doch herangezogen hätte, so wäre yddG darin im Hinblick auf erhebliche Sequenzabweichungen gerade nicht als Metabolit-Transporter erkannt worden. Der in NiK 11 festgestellte Export von Methylviologen oder Acriflavin durch YddG im Verbund mit OmpD lasse angesichts der fehlenden struktu-

rellen Verwandtschaft mit aromatischen Aminosäuren keine Rückschlüsse auf deren Export zu.

Auch ausgehend von der NiK 14, die nur eine rein theoretische Abhandlung basierend auf mathematischer Modellierung darstelle, ohne die Umsetzung in der Praxis aufzuzeigen, wäre der Fachmann nicht zur erfindungsgemäßen Lösung gelangt. Sie zeige keine experimentellen Belege zu Exportern für aromatische Aminosäuren. Die einzigen Dokumente, die einen Bezug zu yddG aufwiesen, seien NIK 9 und NiK 11, die aber weder den Transport von aromatischen Aminosäuren betreffen noch das Gebiet des Transports von Aminosäuren im Allgemeinen.

Ebenso erhalte der Fachmann mit NiK 20 als Ausgangspunkt in Kombination mit NiK 9 oder NiK 11 keine Anregung, die yddG-Expression in einem E. coli Bakterium zu steigern.

Die Lehre des Streitpatents sei auch ausführbar offenbart. Hierbei sei zu berücksichtigen, dass die Erfindung nicht bestimmte Techniken der Expressionssteigerung von yddG betreffe. Diese dienten lediglich dazu, das beanspruchte Bakterium zu definieren, wobei die Sequenz SEQ ID Nr. 9 nur den Bezugspunkt für die Abgrenzung des funktionalen Begriffs der „stärkeren Expressionsregulationssequenz“ darstelle. Tests zur Feststellung, ob bei einem Bakterium die SEQ ID Nr. 9 vorhanden sei und ob neue Promotoren stärker seien, gehörten zur Routine.

Bereits die Experimente des Streitpatents, im Übrigen auch die Nacharbeitung gemäß der NB 15, belegten die Ausführbarkeit, zumal hierfür schon das Aufzeigen eines gangbaren Wegs ausreichend sei. Für das Gegenteil habe die insoweit beweispflichtige Klägerin keinen Nachweis erbracht. Im Übrigen hätten dem Fachmann auch weitere Möglichkeiten zur Verfügung gestanden, mit denen er mit Hilfe seines Fachwissens die Lehre des Streitpatents hätte ausführen können. So sei der Fachmann in Kenntnis der Streitpatentschrift bereits zum Prioritätstag ohne weiteres in der Lage gewesen, den Promotor des yddG-Gens innerhalb von SEQ ID Nr. 9 zu identifizieren und gezielt so zu verändern, dass er eine stärkere

Expressionsregulationssequenz darstelle. Dem Fachmann hätten zusätzlich verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung gestanden, durch Zufallsmutagenese, auch durch genomweite Zufallsmutagenese, eine Verstärkung der yddG-Expression zu erzielen.

Ausführbar sei auch die Variante (B) des Patentanspruchs 1, für deren Realisierung der Fachmann aus dem Streitpatent und dem Fachwissen ausreichend Hinweise erhalte, wie etwa das Auffinden von Varianten aufgrund natürlicher Diversifizierung oder Mutagenisierung. Für die danach erforderliche Überprüfung, ob die Bakterien eine Resistenz gegenüber Tryptophan bzw. Phenylalanin aufwiesen, zeige das Streitpatent in Beispiel 2 einen Test, dessen Durchführung für den Fachmann keinen unzumutbaren Aufwand darstelle.

Auch die Beklagte bietet für ihr gesamtes Vorbringen Sachverständigenbeweis an.

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. Insbesondere ist die mit Schriftsatz der Klägerin vom 24. November 2017 erfolgte Klageerweiterung auf den Klagegrund der unzulässigen Erweiterung schon deshalb zulässig, weil die Beklagte sich hierauf eingelassen hat (§ 267 ZPO).

In der Sache bleibt die Klage erfolglos.

I.

1. Das Streitpatent betrifft ein biotechnologisches Verfahren zur Herstellung von L-Phenylalanin und L-Tryptophan durch Fermentation und ein modifiziertes Bakterium der Gattung *Escherichia coli*, das zu einer erhöhten Produktion von L-Phenylalanin und L-Tryptophan befähigt ist (vgl. NiK 1, S. 3 [0001]).

Einleitend berichtet das Streitpatent, dass bei der industriellen Produktion von L-Aminosäuren durch Fermentation native Mikroorganismen oder Mutanten verwendet würden, die eine erhöhte L-Aminosäureproduktion aufwiesen (vgl. NiK 1 S. 3 [0002]). Die Mikroorganismen würden dabei durch rekombinante DNA transformiert. Diese Techniken basierten auf der Steigerung der Aktivität der Enzyme, die an der Aminosäure-Biosynthese beteiligt seien und/oder der Entkopplung der Zielenzyme von der Endprodukthemmung durch die hergestellten L-Aminosäuren (vgl. NiK 1 S. 3 [0003]). Darüber hinaus könne eine erhöhte Aminosäureausscheidung die Produktivität des L-Aminosäure produzierenden Stammes anregen. Das Lysin produzierende *Corynebacterium* verfüge über eine erhöhte Expression des L-Lysin Exkretionsgens *lysE*, welches für den Export von Lysin verantwortlich sei. Darüber hinaus seien weitere Gene bekannt, die Effluxproteine für die Ausscheidung von L-Cystein, L-Cystin, L-Acetylserin oder Thiazolidin-Derivaten kodierten (vgl. NiK 1 S. 3 [0004]). Zum Anmeldetag seien bereits einige *Escherichia coli* Gene beschrieben, die vermeintliche Membranproteine zur Erhöhung der Aminosäureproduktion kodierten. So führten zusätzliche Kopien des *rhtB* Genes dazu, dass ein Bakterium resistenter gegenüber L-Homoserin sei. Gleichzeitig werde die Produktion von L-Homoserin, L-Threonin, L-Alanin, L-Valin und L-Isoleucin erhöht. Dagegen steigerten zusätzliche Kopien des *rhtC*-Gens die Resistenz des Bakteriums gegenüber L-Homoserin und L-Threonin und führte zu einer erhöhten Produktion von L-Homoserin, L-Threonin und L-Leucin. Hingegen führten zusätzliche Kopien der Gene *yahN*, *yeaS*, *yfiK* und *yggA* zur gesteigerten Produktion von L-Glutaminsäure, L-Lysin, L-Threonin, L-Alanin, L-Hystidin, L-Prolin, L-Arginin, L-Valin und L-Isoleucin (vgl. NiK 1 S. 3 [0005]).

Das Streitpatent führt weiter aus, dass das *rhtA* Gen aus *E. coli* ein Protein aus 295 Aminosäureresten kodiere, das zehn postulierte Transmembransegmente aufweise. Gemäß einer PSI-Blast Recherche der Nukleotidsequenz dieses Proteins ergäben sich zehn homologe Proteine von *rhtA*. Darunter befänden sich Proteine, die durch *ydeD* und *yddG* Gene kodiert würden. Das *yddG* Gen sei als vermeintliche „codierende Sequenz“ (kurz CDS) bekannt, die ein Protein unbekannter Funktion kodiere (vgl. NiK 1, S. 3 [0009]).

2. Vor diesem Hintergrund hat das Streitpatent die Aufgabe, einen Mikroorganismus und ein Verfahren zur verbesserten Produktion von L-Phenylalanin bzw. L-Tryptophan zur Verfügung zu stellen.

Der Klägerin kann nicht zugestimmt werden, dass die Aufgabe allgemein in der Suche nach neuen Aminosäure-Exportern bestehe, da die gesamte Patentschrift sich ausschließlich mit der Produktion von L-Tryptophan und L-Phenylalanin befasst und hierfür ein Exporter zur Verfügung gestellt werden soll (vgl. NIK 1, S. 3 [0001] und [0010]).

3. Gelöst wird diese Aufgabe gemäß Patentanspruch 1 durch die Bereitstellung eines Bakteriums gemäß Patentanspruch 1 und durch ein Verfahren gemäß Patentanspruch 5 mit folgenden Merkmalen:

Patentanspruch 1

1. L-Aminosäure produzierendes Bakterium der Gattung *Escherichia*, wobei
2. die L-Aminosäureproduktion durch das Bakterium im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm erhöht ist,
 - 2.1 indem die Aktivität eines Proteins (A), das die gezeigte Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 des Sequenzprotokolls umfasst, in einer Zelle des Bakteriums durch Transformation des Bakteriums mit für das Protein (A) kodierender

DNA oder durch Einführen mehrfacher Kopien von für das definierte Protein (A) kodierender DNA in ein Bakterienchromosom erhöht ist oder

- 2.2 indem die Aktivität eines Proteins (B), das eine Aminosäuresequenz, einschließlich Deletion, Substitution, Insertion oder Addition von einer bis 30 Aminosäuren gemäß SEQ ID Nr. 2 des Sequenzprotokolls umfasst und die Fähigkeit hat, ein Bakterium gegen L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-tryptophan resistent zu machen, in einer Zelle des Bakteriums durch Transformation des Bakteriums mit für das Protein (B) kodierender DNA oder durch Einführen mehrfacher Kopien von für das definierte Protein (B) kodierender DNA in ein Bakterienchromosom erhöht ist oder
- 2.3 indem die für das Protein A und B kodierende DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr.9 gezeigte Sequenz, gestellt wird.

Patentanspruch 5

5. Verfahren zur Produktion von L-Tryptophan oder L-Phenylalanin,
- 5.1 welches das Kultivieren des Bakteriums nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in einem Kulturmedium und
- 5.2 das Gewinnen der herzustellenden und in dem Medium anzuhäufenden L-Aminosäure aus dem Kulturmedium umfasst.
4. Bei dem vorliegend zuständigen Fachmann handelt es sich um einen promovierten Biotechnologen, der über eine mehrjährige Berufserfahrung auf dem Gebiet der fermentativen Herstellung von Aminosäuren mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen verfügt.

II.

Die erteilten Patentansprüche 1 bis 7 erweisen sich als bestandsfähig.

1. Nach geltender Rechtsprechung erfordert die Prüfung der Patentfähigkeit die Auslegung des Patentanspruchs, bei der dessen Sinngehalt in seiner Gesamtheit und der Beitrag, den die einzelnen Merkmale zum Leistungsergebnis der Erfindung liefern, zu bestimmen sind.

Die an diesen Grundsatz orientierte Auslegung führt zu folgendem Ergebnis:

a) Der Begriff „L-Aminosäure produzierendes Bakterium der Gattung Escherichia“ in Patentanspruch 1 enthält keine Definition der Aminosäuren, die das Bakterium produziert. Die zwischen den Parteien streitige Frage, ob der Patentanspruch damit alle 20 natürlichen Aminosäuren umfasse, ist unter Berücksichtigung der Beschreibung des Streitpatents zu verneinen.

Das Streitpatent lehrt, dass das verwendete Bakterium der Gattung Escherichia grundsätzlich die Fähigkeit haben muss, L-Aminosäuren herstellen zu können bzw. ihm diese Eigenschaft verliehen wird (vgl. NiK 1, S. 5 [0016]). Letztere Variante ist für den Fachmann gleichbedeutend mit einer gentechnologischen Veränderung des Wildtyps des Escherichia-Bakteriums, die das Bakterium erst befähigt, L-Aminosäuren zu exprimieren. Das Bakterium wird weiter dahingehend spezifiziert, dass es sich um L-Phenylalanin- bzw. L-Tryptophan-produzierende Bakterien der Gattung Escherichia handelt (vgl. NiK 1 S. 4, [0010], [0011], S. 6 [0032] und [0033]).

Weitergehende Angaben, die einen Rückschluss auf weitere zu produzierende L-Aminosäuren bzw. alle verbleibenden 18 natürlich vorkommenden Aminosäuren zuließen, kann der Fachmann dem Streitpatent aber nicht entnehmen. Folglich ist unter dem streitigen Begriff ein Bakterium der Gattung Escherichia zu verstehen, das die Aminosäuren L-Tryptophan und L-Phenylalanin erzeugt.

b) Einer Auslegung bedarf ebenfalls die im Patentanspruch 1 genannte Formulierung „die DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz, gestellt wird“. Mit diesem

Merkmal wird zum Ausdruck gebracht, dass das yddG-Gen, statt seiner natürlichen „Expressionsregulationssequenz“ gemäß SEQ ID Nr. 9 eine stärkere „Expressionsregulationssequenz“ aufweist. Nach der Beschreibung des Streitpatents ist dies gleichbedeutend mit der Einführung eines potenteren Promotors anstelle des nativen Promotors (vgl. NiK 1, S. 6, [0028], erster Satz). Unter stärkeren Promotoren versteht der Fachmann solche Promotoren, die zu einer erhöhten Expression des yddG-Gens führen. Exemplarisch nennt das Streitpatent in Patentanspruch 3 bzw. in Absatz [0028] bekannte Promotoren, wie den P_L-Promotor des Lambda-Phagen sowie die Promotoren *lac*, *trp* und *trc*. Nachdem aber erst in Patentanspruch 3 die „Expressionsregulationssequenz“ auf diese bekannten Promotoren eingeschränkt wird, ergibt sich folglich für den Begriff „Expressionsregulationssequenz“ im Patentanspruch 1 ein weiterer Sinngehalt. Um dessen Bedeutungsumfang zu ermessen wird der Fachmann wiederum auf die Beschreibung zurückgreifen, aus der er erfährt, dass die aus der Publikation von Deuschle, U. et al., EMBO J. 1986, 5, 2987 bis 2994 bekannten Promotoren gleichfalls geeignet sind (vgl. NiK 1, S. 6 [0028]). In der in Bezug genommenen Publikation werden sowohl heterologe wie homologe Promotoren von *Escherichia coli* genannt (vgl. S. 2988, Tab. I). Somit wird der Fachmann unter dem Begriff „Expressionsregulationssequenz“ gemäß Patentanspruch 1 sowohl bekannte heterologe Promotoren als auch bekannte homologe Promotoren von *Escherichia* verstehen.

Anhaltspunkte dafür, dass von der in Rede stehenden Formulierung zum Prioritäts- bzw. Anmeldetag auch neue homologe Promotoren erfasst sind, die durch eine site-directed Mutagenese der SEQ ID Nr. 9 oder durch eine genomweite Zufallsmutagenese erhalten werden, finden sich in der Streitpatentschrift jedoch nicht. Die in Abschnitt [0020] des Streitpatents genannte Veränderung der „Expressionsregulationssequenz“ („*alteration of expression regulation sequence*“) bezieht sich zwar auf die Veränderung der Expressionsregulationssequenz des yddG-Gens, jedoch wird in der Streitpatentschrift nicht erwähnt, dass diese Veränderung durch eine Mutagenese bewirkt wird. Die Mutagenese wird im Streitpatent nur im Zusammenhang mit der Veränderung der Sequenz SEQ ID Nr. 1 des yddG-Gens genannt (vgl. NiK 1 S. 5 [0021] bis S. 6 [0023]). Die Einbeziehung ei-

ner genomweiten Zufallsmutagenese oder der sited-directed Mutagenese zur Erzeugung neuer homologer Promotoren würde somit vielmehr eine unzulässige Ergänzung der Offenbarung des Streitpatents durch das Fachwissen bedeuten, da das Streitpatent keinerlei technische Informationen hierzu liefert und der Leistungsbeitrag des Streitpatents diese auch nicht erfasst.

2. Im Ergebnis kann es dahingestellt bleiben, ob die von der Klägerin geltend gemachte nicht wirksame Inanspruchnahme der Prioritäten P1 und P2 vorliegt und ob die Lehre des Streitpatents zum Zeitpunkt der Prioritätsanmeldungen ausführbar war. Denn die Lehre des Streitpatents ist jedenfalls zum Anmeldetag ausführbar und beruht selbst bei Berücksichtigung der im Prioritätsintervall veröffentlichten Druckschriften NiK 10 bzw. NiK 11 auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die angegriffenen Patentansprüche 1 bis 7 sind darüber hinaus auch ursprünglich offenbart.

2.1 Die angegriffenen Patentansprüche 1 bis 7 sind nicht unzulässig erweitert. Der Gegenstand des erteilten Patentanspruch 1 geht auf die ursprünglich eingereichten Ansprüche 1 bis 4 in Verbindung mit Seite 5, Zeilen 3 bis 8, Seite 7, 3. und 4. Abs., Seite 8, 2. und 3. Abs., Seite 21, Zeilen 5 bis 20, Anhang S. 4/5, SEQ ID No. 9 der ursprünglich eingereichten Beschreibung gemäß NiK 31 zurück.

Die erteilten Patentansprüche 2 bis 7 basieren auf den ursprünglich eingereichten Ansprüchen 3 und 5 bis 9, sowie Seite 7, 3. Abs. und Seite 12, Zeilen 4 bis 7 gemäß NiK 31.

Entgegen der Auffassung der Klägerin ist auch das Merkmal, dass „die DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz, gestellt wird“, in den ursprünglich eingereichten Anmeldeunterlagen offenbart. Im ursprünglich eingereichten Anspruch 2 wird angegeben, dass die Aktivität der Proteine durch eine veränderte Expressionsregulationssequenz erhöht werden kann. Als native Expressionsregulationssequenz des yddG-Gens offenbaren die ursprünglichen Unterlagen die Sequenz SEQ ID

Nr. 9, welche durch eine einen stärkeren bekannten Promotor kodierende Sequenz substituiert wird (vgl. NiK 31, S. 11/12 übergr. Abs.). Gemäß Beispiel 4 der ursprünglichen Anmeldeunterlagen wird die native Expressionsregulationssequenz durch eine künstliche DNA gemäß SEQ ID No. 14 bestehend aus einem P_L-Promotor und der SD-Sequenz des *lacZ* Gens ersetzt (vgl. NiK 31, S. 21 bis 24, Beispiel 4, Anhang, S. 4/5, SEQ ID No. 9 und 14, Fig. 1). Die Transformation von L-Tryptophan bzw. L-Phenylalanin produzierenden *E. coli* Bakterien mit dieser Sequenz i. V. m. *yddG* führt zu einer erhöhten Produktion der betreffenden Aminosäure in den modifizierten Bakterien im Vergleich zum Parenteralstamm (vgl. NiK 31 S. 7, 1. Abs., S. 7/8 übergr. Abs.). Somit entnimmt der Fachmann den ursprünglichen Anmeldeunterlagen, dass das *yddG*-Gen durch die Einführung einer neuen Expressionsregulationssequenz eine stärkere Expression als unter der nativen Sequenz SEQ ID No. 9 erfährt. Mithin bedeutet „die DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz,... gestellt wird“, dass diese neue Expressionsregulationssequenz im upstream-Bereich des *yddG*-Gens eingeführt wird.

2.2 Die Erfindung ist auch so deutlich und vollständig offenbart, dass sie ein Fachmann ausführen kann.

Eine Erfindung ist ausführbar, wenn ein Fachmann anhand der im Streitpatent enthaltenen Angaben unter gleichzeitigem Einsatz seines Fachwissens in der Lage ist, die offenbarte technische Lehre praktisch zu verwirklichen, wobei die Erfindung nicht buchstabengetreu realisierbar sein muss, sondern es ausreicht, dass der Fachmann anhand der Offenbarung das erfindungsgemäße Ziel in praktisch ausreichendem Maße erreichen kann (vgl. Schulte, PatG, 9. Auflage, § 34 Rdn. 338, 349, 350).

a) Das Streitpatent gibt dem Fachmann für das Stellen der DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die native Sequenz gemäß SEQ ID Nr. 9, geeignete Promotoren an die Hand, die zu einer erhöhten Expression des *yddG*-Gens führen. Dabei handelt es sich insbesondere um den P_L-Promotor des Lambda-Phagen und die Promotoren *trp*, *trc* sowie *lac*, sowie

weitere bekannte heterologe bzw. homologe Promotoren, wie sie in der Publikation Deuschle, U. et al., EMBO J. 1986, 5, 2987-2994 beschrieben sind (vgl. NiK 1, Patentanspruch 3, S. 6, [0028]). Gemäß Beispiel 4 wird die native upstream-Region des yddG-Gens durch den P_L-Promotor und die SD-Sequenz des lacZ-Gens von E. coli mit üblichen Techniken ersetzt. Damit wird dem Fachmann zumindest ein gangbarer Weg aufgezeigt, wie er den nativen Promotor des Bakteriums durch einen stärkeren Promotor ersetzen kann.

Die modifizierten Escherichia-Bakterien muss der Fachmann dann dahingehend testen, ob sie eine erhöhte Expression des Exporterproteins YddG aufweisen, indem er die Menge an produzierter Aminosäure im Vergleich zum Ausgangsstamm bestimmt. Das Streitpatent lehrt den Fachmann mit Beispiel 5 einen Aktivitätstest, bei dem der L-Tryptophan-produzierende E. coli Ausgangsstamm SV164 (pGH5) mit dem modifizierten SV164 P_L-yddG (pGH5) Stamm hinsichtlich der produzierten Menge an Tryptophan verglichen wird (vgl. NiK 1, S. 10/11 Beispiel 5). Mit diesem Assay wird dem Fachmann ein Testszenario aufgezeigt, mit dem er die modifizierten Bakterien auf ihre gesteigerte YddG-Expression überprüfen kann. Die Konzipierung der einzelnen Testszenarien für die modifizierten L-Phenylalanin- bzw. L-Tryptophan-produzierenden Bakterien gehört zur Routinetätigkeit des Fachmanns auf dem Gebiet der Biotechnologie.

Entgegen der Argumentation der Klägerin sind die Ergebnisse von Beispiel 5 insoweit aussagekräftig als sie eine mittlere Steigerung der L-Tryptophankonzentration um 12 % aufzeigen. Die angegebenen Mittelwerte der L-Tryptophankonzentrationen unter Einbeziehen ihrer Standardabweichung für den nativen Stamm mit $3,72 \pm 0,13$ g/l und den modifizierten Stamm mit $4,17 \pm 0,35$ g/l deuten zwar daraufhin, dass bei den gemessenen Konzentrationen des modifizierten Stamms im Vergleich zum nativen Stamm eine größere Streuung der gemessenen Werte vorlag, die zu einer erhöhten Standardabweichung geführt hat. Allerdings ist hieraus nicht ableitbar, dass die angegebenen Mittelwerte identisch sind und folglich keine Aktivitätssteigerung nachgewiesen worden ist. Die Klägerin hat im Übrigen

auch trotz der ihr obliegenden Beweislast nicht nachgewiesen, dass die Werte identisch sind.

Die ausführbare Offenbarung rechtfertigt nicht nur den Schutz von Bakterien, die bekannte heterologe Promotoren anstelle der Sequenz SEQ ID Nr. 9 aufweisen, sondern auch von solchen Bakterien, in denen das yddG mit einer homologen Expressionsregulationssequenz von anderen bekannten Escherichia-Stämmen verbunden ist, insofern sie eine erhöhte Expression des YddG-Proteins zeigen. Denn mit dem Auffinden der Sequenz SEQ ID Nr. 9 und ihrer Funktion zur Regulation der YddG-Expression geben die Erfinder die Richtung vor, in der der Fachmann weiter arbeiten kann, um mit stärkeren Expressionsregulationssequenzen den erfindungsgemäßen Erfolg zu erzielen. Auch wenn der Fachmann erst diejenigen homologen Sequenzen durch Versuche ermitteln muss und diese einen Aufwand erfordern, der bereits dem erfinderischen Bemühen zuzuordnen ist, so gebührt den Erfindern dennoch ein umfassender Schutz, der nicht schon deshalb leerläuft, weil Ausführungsformen der Erfindung erst noch weiterentwickelt werden müssen. Voraussetzung für die Ausführbarkeit ist nur, dass die offenbarte Ausführungsform überhaupt praktisch brauchbar ist; dies ist, wie ausgeführt, hier der Fall (vgl. BGH GRUR 2017, 493, Rn. 34 bis 36 – Borrelioseassay).

Auch das weitere Argument der Klägerin, dass nicht alle Escherichia-Bakterien eine Expressionsregulationssequenz gemäß der Sequenz SEQ ID Nr. 9 aufwiesen und der Fachmann erst im Rahmen von unzumutbar aufwändigen Tests feststellen müsse, welche Escherichia-Bakterien die Sequenz enthielten, kann nicht überzeugen. Denn wie die Klägerin selbst aufzeigt, lassen sich geeignete Escherichia-Bakterien, die eine Expressionsregulationssequenz gemäß der SEQ ID Nr. 9 aufweisen, mittels einer computergestützten Recherche im Vorfeld bestimmen (vgl. NiK 43 S. 1 bis 6, bis einschl. Eintrag 16). Damit wird aber der eigentliche Testaufwand auf eine begrenzte Anzahl an zu testenden Bakterien eingeschränkt.

Auch die Tatsache, dass es Escherichia-Bakterien geben mag, die keine Sequenz SEQ ID Nr. 9 enthalten, führt nicht dazu, dass die Lehre des Patentanspruch 1 als

nicht ausreichend offenbart anzusehen wäre. Die nachveröffentlichte NiK 45 deckt zwar auf, dass das seit Anfang des letzten Jahrhunderts bekannte Bakterium *Escherichia Nissle 1917* keine Expressionsregulationssequenz gemäß SEQ ID Nr. 9 enthält, allerdings handelt es sich bei diesem Bakterium um ein probiotisches Bakterium (vgl. NiK 45 S. 106, li. Sp., Satz 1). Ein derartiges, den Darm besiedelndes Bakterium wird der Fachmann aber vorliegend ausklammern, da ein solches Bakterium aus gesundheitlichen Gründen nicht in der industriellen Fermentation eingesetzt werden darf.

b) Auch die Varianten des YddG-Proteins der Alternative (B) in Patentanspruch 1, die als strukturelle Merkmale eine Abweichung der YddG-Sequenz von der nativen Sequenzen gemäß SEQ ID Nr. 2 im Umfang von 1 bis 30 Aminosäuren aufgrund von Deletion, Substitution, Insertion oder Addition umfassen und die funktionell dazu führt, dass das Bakterium gegen L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-Tryptophan resistent ist, erweisen sich als ausführbar.

Für das Herstellen dieser Varianten lehrt das Streitpatent den Fachmann, die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des *yddG*-Gens einer Mutagenese zu unterziehen, wobei konventionelle Verfahren, wie das Behandeln der DNA-Sequenz mit Hydroxylamin, UV-Licht oder Reagenzien wie N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin oder salpetriger Säure verwendet werden können (vgl. NiK 1 S. 5 [0021], [0022]). Die natürlichen Varianten des *yddG*-Gens können aus verschiedenen Stämmen der Gattung *Escherichia* in üblicher Weise durch stringente Hybridisierung identifiziert werden. Hierfür können von der Sequenz SEQ ID Nr. 1 abgeleitete Primer verwendet werden (vgl. NiK 1, S. 5/6 [0023]).

Zur Evaluation geeigneter Bakterien wird der Fachmann die modifizierten Bakterien auf ihre Resistenz gegenüber den Substanzen L-Phenylalanin, p-Fluor-Phenylalanin oder 5-Fluor-DL-Tryptophan untersuchen. Für diese Tests nennt das Streitpatent dem Fachmann allgemeine Konzentrationsbereiche von 10 bis 25 mg/ml für L-Phenylalanin, von 0,1 bis 5,0 mg/ml für p-Fluor-Phenylalanin und von 0,2 bis 20 µg/ml für 5-Fluor-DL-tryptophan (vgl. NiK 1, S. 5, [0019], S. 8 Ta-

belle 1). Ausgehend davon wird der Fachmann im Rahmen von Routineversuchen geeignete Hemmstoffkonzentrationen für die zu testenden Bakterien bestimmen. Eine Resistenz liegt laut Streitpatent dann vor, wenn der modifizierte Stamm im Vergleich zum Ausgangsstamm wächst oder schneller wächst (vgl. NiK 1, S. 5 [0019]).

Anders als von der Klägerin angenommen, fordert der Wortlaut von Patentanspruch 1 weder einen bestimmten Grad der Resistenz noch, dass der hybridisierte Stamm gegenüber allen genannten Substanzen resistent ist. Es ist vielmehr ausreichend, wenn der Stamm nur gegenüber einem der genannten Stoffe L-Phenylalanin, p-Fluor-Phenylalanin bzw. 5-Fluor-DL-Tryptophan resistent ist.

Gegen die Ausführbarkeit spricht dabei auch nicht, dass der Stamm TG1 (pYDDG2), welcher kein erhöhtes sondern nur ein schwaches Wachstum in Gegenwart von 20 mg/l L-Phenylalanin gezeigt hat, für die Phenylalanin-Produktion ausgewählt worden ist. Denn die für den Resistenztest gewählte L-Phenylalaninkonzentration liegt im maximalen Bereich des in Absatz [0019] empfohlenen Konzentrationsbereichs von 10 bis 25 mg/l, sodass der Fachmann mit Sicherheit davon ausgehen konnte, wie im übrigen auch in Beispiel 3 gezeigt wird, dass der modifizierte Stamm unter Produktionsbedingungen über eine ausreichende Resistenz verfügt (vgl. NiK 1, S. 8 Z. 46 bis S. 9, Z. 28).

Der Klägerin ist zwar insoweit zu zustimmen, als die Resistenz und der Umsatz auch von dem verwendeten Vektor abhängen. Allerdings führt diese Abhängigkeit nicht dazu, dass die Variante B) des Patentanspruchs 1 für den Fachmann nicht in praktisch ausreichendem Maß realisierbar ist, da er eine vermeintlich nicht überschaubare Anzahl an Vektoren auf deren Brauchbarkeit zu testen hat. Das Streitpatent lehrt ihn exemplarisch acht Mehrfachkopienvektoren, die sich für die Aminosäureproduktion in Escherichia-Bakterien eignen. Die Ermittlung der produktionsstärksten Vektoren wird der Fachmann daher im Rahmen eines routinemäßigen Screenings ermitteln. Somit gibt das Streitpatent dem Fachmann mehrere Vektoren vor, mit denen er die Bakterienvariante B) in praktisch ausreichenden

Maß in die Hand bekommen kann (vgl. Schulte, Patentgesetz 10. Aufl. § 34, Rn. 350).

Auch das Argument, dass durch die beliebige Mutation von 30 Aminosäuren eine immens hohe Anzahl an Proteinen entsprechend der Variante (B) beansprucht werde, deren Bereitstellung ein eigenes Forschungsprojekt fordere und somit den zumutbaren Aufwand übersteige, vermag nicht zu überzeugen. Die mit Patentanspruch 1 geschützte Variante (B) geht nicht über die dem Fachmann in der Beschreibung an die Hand gegebenen Lösung hinaus. Der Fachmann kann im Rahmen eines ihm bekannten Bibliotheksscreenings Varianten ermitteln und diese auf eine verstärkte Produktion der L-Aminosäuren in üblichen Expressionsversuchen testen. Der erforderliche Aufwand übersteigt somit den auf dem vorliegenden Fachgebiet der Biochemie zumutbaren Rahmen nicht (vgl. Schulte, Patentgesetz, 10. Aufl., § 34, Rn. 356, 358, 382; vgl. BGH GRUR 2013, 1210, 2. Ls. und Rn. 21 – Dipeptidyl-Peptidase-Inhibitoren).

Es ist auch nicht erforderlich, dass das Streitpatent ein Ausführungsbeispiel für Variante B) aufweist. Denn eine Erfindung ist auch dann ausführbar offenbart, wenn die in dem Streitpatent enthaltenen Angaben dem fachmännischen Leser so viel an technischer Information vermitteln, dass er mit seinem Fachwissen und seinem Fachkönnen in der Lage ist, die Erfindung auszuführen. Dies ist hier der Fall, da das Streitpatent dem Fachmann mit den beispielhaft genannten Mutagenese-Bedingungen und den genannten Vektoren, sowie dem Testassay gemäß Beispiel 2 ausreichende Informationen an die Hand gibt, mit denen er in die Lage versetzt wird, das beanspruchte Bakterium gemäß Variante B) zu erzeugen (vgl. BGH GRUR 2010, 916, Ls., Rn. 17 – Klammernahtgerät).

2.3 Die Bereitstellung der Gegenstände der Patentansprüche 1 bis 4 beruht auch auf einer erfinderischen Tätigkeit.

a) Bei der Bewertung der erfinderischen Tätigkeit ist zunächst zu klären, was die Erfindung tatsächlich gegenüber dem Stand der Technik leistet (vgl. BGH

GRUR 2003, 693 – Hochdruckreiniger) und ob der Fachmann Veranlassung hatte, diesen Stand der Technik zu ändern. Dabei besteht bei der Wahl des Ausgangspunktes kein Vorrang des „nächstkommenden“ Standes der Technik als alleiniger Ausgangspunkt. Vielmehr bedarf es bei der Auswahl des Ausgangspunktes der Rechtfertigung, die in der Regel in dem Bemühen des Fachmanns zu sehen ist, für einen bestimmten Zweck eine andere Lösung zu finden, als sie der bekannte Stand der Technik zur Verfügung stellt. Um die Lösung des technischen Problems auf dem Weg der Erfindung zu suchen, bedarf es daher über die Erkennbarkeit des technischen Problems hinaus ausreichender Anstöße, Anregungen, Hinweise oder sonstiger Anlässe (vgl. (vgl. BPatG GRUR 2004, 317 – Programmmitteilung; BGH GRUR 2009, 382 – Olanzapin; BGH GRUR 2009, 746 – Betrieb einer Sicherheitseinrichtung; BGH GRUR 2009, 1039 – Fischbissanzeiger).

Unter Berücksichtigung dieser Maßgaben hat der Fachmann, der mit der Suche nach einer Lösung der streitpatentgemäßen Aufgabe betraut ist, seinen Fokus auf die mit der Optimierung der Tryptophan-Biosynthese in *Escherichia coli* befasste Druckschrift NiK 14 gerichtet, die somit auf demselben Fachgebiet wie das Streitpatent liegt. In der NiK 14 wird die Tryptophan-Biosynthese in *Escherichia coli* mit der „indirect optimization method“ (IOM) durch Variation der vier Schlüsselparameter, die mit dem Tryptophan-Efflux zusammenhängen, untersucht. Dabei ist gemäß NiK 14 herausgefunden worden, dass die einzige Möglichkeit den Tryptophan-Efflux zu steigern, die Überexpression eines Transporter-Proteins ist (vgl. NiK 14 S. 133, Abstract, S. 133, re. Sp. letzt. Abs. bis S. 134 li. Sp. 1. Zeile, S. 142, re. Sp. 1. Abs. letzt. Satz). Dieses Protein dient in NiK 14 als Vehikel für den Transport von Tryptophan durch die Cytoplasmamembran (vgl. NiK 14 S. 142, li. Sp. erster vollst. Abs. Zeile 9 bis 19 i. V. m. re. Sp. 1. Abs. letzter Satz). Folglich erkennt der Fachmann, dass das Transporter-Protein als Exporter für L-Tryptophan fungiert. In der NiK 14 finden sich aber weder Hinweise auf ein Exportergen für ein solches Exporter-Protein noch darauf, wie eine Überexpression des Gens praktisch realisiert werden kann. Folglich wird sich der Fachmann weiter im Stand der Technik nach Exporter-Genen für aromatische Aminosäuren und Techniken zu deren Überexpression umsehen.

Konkrete Angaben zu einem Exporter-Gen für die aromatischen Aminosäuren L-Tryptophan und L-Phenylalanin findet der Fachmann aber weder in der NiK 9 noch in der im Prioritätsintervall veröffentlichten Publikation NiK 11. Aus NiK 9 ist lediglich bekannt, dass das yddG-Gen neben den Genen smvA und ompD Bakterien vom Typ Salmonella eine Methylviologen-Resistenz verleiht (vgl. NiK 9, S. 1905, li. Sp. 1. vollst. Abs. i. V. m. spaltenübergr. Abs.). Darüber hinaus wird YddG in NiK 11 als erstes Innenmembranprotein der „drug/metabolite exporter“ (DME) Familie mit dem vermutlichen dazu korrespondierenden Außenmembranpartner OmpD beschrieben, welche ausschließlich für den Efflux von Methylviologen verantwortlich sind (vgl. NiK 11, S. 694, li. Sp. erster voll. Satz und spaltenübergr. Abs. i. V. m. Fig. 6). Damit erfährt der Fachmann zwar aus NiK 9 bzw. NiK 11, dass YddG-Protein ein selektiver Exporter für das toxische Methylviologen ist, jedoch entnimmt er den Publikationen keinen Hinweis darauf, dass das YddG auch als Exporter für die aromatischen Aminosäuren L-Tryptophan und L-Phenylalanin fungiert.

Selbst die zusätzliche Berücksichtigung der Lehre der NiK 20, welche ein Verfahren zur Produktion von L-Tryptophan durch Fermentation mittels Corynebakterien angibt, die gegenüber Paraquat (Methylviologen) resistent sind (vgl. NiK 20 Patentanspruch 1, Sp. 1 Z. 36 bis 48; vgl. NiK 9, S. 1905 li. Sp. erster vollst. Abs.) führt nicht dazu, dass der Fachmann YddG als L-Tryptophan-Exporter in Betracht zieht. Die Corynebakterien werden durch genomweite Zufallsmutagenese dahingehend verändert, dass sie eine erhöhte L-Tryptophan-Produktion aufweisen (vgl. NiK 20 Sp. 2 Z. 14 bis 20). Die Selektionierung der produktionsstärkeren mutagenen Bakterien erfolgt über deren Methylviologen-Resistenz (vgl. NiK 20 Sp. 2 Z. 6 bis 34). Aus der Methylviologen-Resistenz kann jedoch weder geschlossen werden, dass ein Exporter für das Ausschleusen des Giftstoffs aus der Zelle verantwortlich ist, noch kann gefolgert werden, dass ein solcher Exporter die Produktion von L-Tryptophan fördert.

Auch die weiteren Druckschriften NiK 5 bis NiK 8, NiK 10 und NiK 21 können YddG als Exporter für aromatische Aminosäuren nicht in das Blickfeld des Fachmanns rücken.

Wenngleich aus NiK 7 auch die Exportergene *yeaS*, *yfiK*, *yahN* und *yggA* bekannt sind, deren Überexpression für eine Erhöhung der L-Aminosäureproduktion in *Escherichia*-Bakterien sorgt, so kann der Fachmann der Druckschrift dennoch keine Hinweise auf Exportergene für aromatische Aminosäuren entnehmen, da sich die Lehre der NiK 7 ausschließlich auf die Produktion von nicht-aromatischen Aminosäuren bezieht (vgl. NiK 7 Patentansprüche 1 bis 8, S. 7 bis 12 Beispiele 2 bis 8).

Selbst wenn der Fachmann vor dem Hintergrund der weiteren Druckschriften NiK 5, NiK 6 und der NiK 8 eine Homologiesuche in Betracht zieht, so hätte ihn diese nicht zu YddG geführt. Denn er gewinnt damit lediglich die Erkenntnis, dass in *E.coli* die Aminosäuren Threonin und Homoserin sowohl von Exportern der *rhtA*- wie auch von Exportern der *rhtB*-Proteinfamilie exportiert werden (vgl. NiK 5, A 935, Abstract Nr. 457, letzt. Abs; vgl. NiK 6, S. 229, re. Sp. 2. Abs. bis S. 230, li. Sp. 1. Abs., S. 231 li. Sp 3. Abs. bis re. Sp.. 1. Abs.), während eine weitere Aminosäure, Cystein, mit einem anderen Exporter der *rhtA*-Familie, aus *E.coli* ausgeschleust wird (vgl. NiK 8 S. 1102 li. Sp. 1. Abs. letzt. Satz, S. 1106, re. Sp. 2. Abs. bis S. 1107 2. Abs.). Der Cystein-Exporter *YdeG* ist gemäß NiK 8 zwar im Rahmen einer Homologiesuche aufgefunden worden (vgl. NiK 8 S. 1107, Fig. 7), allerdings hat diese Suche keine Hinweise auf einen Exporter für aromatische Aminosäuren erbracht. Folglich führt eine Homologiesuche allein den Fachmann nicht automatisch zu YddG.

Die ebenfalls im Prioritätsintervall publizierte NiK 10 betrifft die industrielle Produktion von Aminosäuren in *Corynebacterium glutamicum* und *Escherichia coli*. Für das Bakterium *C. glutamicum* wird in NiK 10 angenommen, dass die Ausscheidung von Phenylalanin aus der Zelle durch passive Diffusion ohne Exporter erfolgt (vgl. NiK 10 S. 265, Abstract, S. 270 spaltenübergr. Abs.). Dagegen ist für *E. coli*

nur bekannt, dass das *aroP*-Gen einen Importer für L-Phenylalanin und L-Tryptophan kodiert. Über die Existenz von Exportern, die eine aktive Ausschleusung dieser aromatischen Aminosäuren bewirken, wird dagegen in der Publikation nur insoweit eine Aussage getroffen, als diese für die industrielle Produktion von großem Vorteil wären, da so eine Kristallisation der Aminosäuren in der Zelle vermieden werden könnte (vgl. NiK 10, S. 271 re. Sp. 2. Abs. i. V. m S. 266, Tab. 1). Hinweise auf solche Exporter finden sich in der NiK 10 aber nicht.

Nachdem in der Druckschrift NiK 21 *YddG* nur als hypothetisches Protein in der *fdnG* 5'-Region des *E. coli* K12-Genoms bezeichnet wird (vgl. NiK 21 S. 371 drittletzter Eintrag), ohne ihm jedoch eine Funktion zu zuordnen, liefert diese Druckschrift dem Fachmann gleichfalls keine Veranlassung, *YddG* als Exporter für die Aminosäuren L-Tryptophan und L-Phenylalanin in Erwägung zu ziehen.

Der erteilte Patentanspruch 1 hat daher Bestand. Mit ihm haben die darauf rückbezogenen, vorteilhaften Ausführungsformen des Patentanspruchs 1 betreffenden Patentansprüche 2 bis 4 ebenfalls Bestand.

2.4. Der nebengeordnete Patentanspruch 5 ist auf ein Verfahren zur Produktion von L-Tryptophan oder L-Phenylalanin gerichtet, in dem Bakterien nach einem der Ansprüche 1 bis 4 kultiviert werden. Bezüglich der erfinderischen Tätigkeit gelten aufgrund der Identität der Merkmale die bereits zu Patentanspruch 1 dargelegten Gründe gleichermaßen, sodass auch Patentanspruch 5 Bestand hat. Mit Patentanspruch 5 haben ebenso die rückbezogenen, vorteilhaften Ausführungsformen des Patentanspruchs 5 betreffenden Patentansprüche 6 und 7 Bestand.

3. Der Senat hat davon abgesehen, entsprechend den Anträgen der Parteien ein Gutachten eines gerichtlich bestellten Sachverständigen über Fragen zu verschiedenen Aspekten des Fachwissens, des Verständnisses des Fachmanns und des technischen Hintergrunds einzuholen. Der Sachverständigenbeweis dient dazu, dem Gericht Fachwissen zur Beurteilung von Tatsachen zu vermitteln oder entscheidungserhebliche Tatsachen festzustellen, soweit hierzu besondere Sach-

kunde erforderlich ist. Im Verfahren vor dem Bundespatentgericht ist ein solcher Beweis in der Regel nicht erforderlich, da die Nichtigkeitsenate und die technischen Beschwerdesenate mit sachverständigen Richtern besetzt sind (vgl. BGH GRUR 2014, 1235 Ls. 1, Rn. 8 – Kommunikationsrouter; Schulte, PatG, 10. Aufl., § 81 Rn. 157; Busse, PatG, 8. Aufl., § 87 Rn. 23, § 88 Rn. 11). Insbesondere bedarf es eines Sachverständigenbeweises nicht, wenn sich das Gericht die erforderlichen Sachkenntnisse etwa durch Studium der Fachliteratur selbst beschaffen kann (vgl. Thomas/Putzo, ZPO, 37. Aufl., Vorbem. § 402 Rn. 3). Nach diesen Grundsätzen war vorliegend kein Beweis durch Sachverständige zu erheben, da der Senat aufgrund seiner Fachkenntnisse in der Lage ist, anhand der Fachliteratur, insbesondere der von den Parteien umfangreich zur Verfügung gestellten Literatur, einschließlich mehrerer Privatgutachten, das darin wiedergegebene Fachwissen zur Tatsachenbeurteilung zur Kenntnis zu nehmen und damit den gegebenen Sachverhalt umfassend zu erkennen und zu würdigen.

Soweit die Parteien darüber hinaus sinngemäß beantragt haben, auch zur Auslegung des Patentanspruchs 1 des Streitpatents Sachverständigenbeweis zu erheben, ist darauf hinzuweisen, dass die Auslegung des Patentanspruchs eine Rechtsfrage darstellt, die nicht dem gerichtlichen Sachverständigen überlassen werden darf (vgl. BGH GRUR 2008, 779, Ls. 1, Rn. 30 – Mehrgangnabe).

Auch die Frage der Ausführbarkeit ist dem Sachverständigenbeweis grundsätzlich nicht zugänglich (vgl. BGH GRUR 2015, 472, Ls. 1, Rn. 34 – Stabilisierung der Wasserqualität).

4. Der nach Schluss der mündlichen Verhandlung eingereichte Schriftsatz der Klägerin vom 18. Oktober 2018 gibt keinen Anlass zur Wiedereröffnung der mündlichen Verhandlung und bleibt daher unberücksichtigt (§§ 296a, 156 ZPO i. V. m. § 99 Abs. 1 PatG).

III.

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.

IV.

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

Dr. Münzberg

Dr. Jäger

Dr. Wagner

Dr. Söchtig

Pr