



# BUNDESPATENTGERICHT

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

Verkündet am  
17. Dezember 2019

3 Ni 20/17 (EP)

---

(AktENZEICHEN)

...

In der Patentnichtigkeitsache

...

**betreffend das europäische Patent 1 033 407**

**(DE 699 41 594)**

hat der 3. Senat (Nichtigkeitssenat) des Bundespatentgerichts auf Grund der mündlichen Verhandlung vom 17. Dezember 2019 durch den Vorsitzenden Richter Schramm sowie die Richterinnen Martens und Dipl.-Chem. Dr. Münzberg, den Richter Dipl.-Chem. Dr. Jäger und die Richterin Dipl.-Chem. Dr. Wagner

für Recht erkannt:

- I. Das europäische Patent 1 033 407 wird mit Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland im Umfang der Patentansprüche 1 bis 5 für nichtig erklärt.
- II. Die Beklagte trägt die Kosten des Rechtsstreits.
- III. Das Urteil ist gegen Sicherheitsleistung in Höhe von 120 % des zu vollstreckenden Betrages vorläufig vollstreckbar.

**Tatbestand**

Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 22. September 1999 als internationale Patentanmeldung PCT/JP1999/005175 angemeldeten europäischen Patents 1 033 407 (Streitpatent), dessen Erteilung mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland beim Europäischen Patentamt am 28. Oktober 2009 bekannt gemacht wurde und das durch Ablauf seiner Schutzdauer am 22. September 2019 erloschen ist. Das Streitpatent, das die Prioritäten der japanischen Anmeldungen JP 27178698 und JP 27178798, jeweils vom 25. September 1998, in Anspruch nimmt, wird vom Deutschen Patent- und Markenamt unter der Nummer 699 41 594 geführt. Es trägt die Bezeichnung „CORYNEFORM BACTERIA FOR PRODUCING

L-GLU“ („Coryneforme Bakterien zur Herstellung von L-Glu“) und umfasst 6 Patentansprüche, von denen mit der Nichtigkeitsklage Patentanspruch 1 und die auf ihn rückbezogenen Unteransprüche 2 bis 5 angegriffen werden.

Patentanspruch 1 in der erteilten Fassung lautet wie folgt:

1. A method of producing an L-glutamic acid, comprising the step of culturing a coryneform bacterium expressing an enzyme encoded by an L-glutamic acid biosynthesizing gene selected from the group consisting of glutamate dehydrogenase (GDH), citrate synthase (CS), isocitrate dehydrogenase (ICDH), pyruvate dehydrogenase (PDH) and aconitase (ACO), and wherein a promoter sequence of the said L-glutamic acid biosynthesizing gene located on a chromosome of the bacterium contains at least one sequence selected from the group consisting of
  - i) TTGTCA, TTGACA or TTGCCA sequence in the  
- 35 region of the promoter sequence;
  - ii) TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; and
  - iii) a combination of (i) and (ii).

In deutscher Übersetzung nach der Streitpatentschrift EP 1 033 407 B1 lautet Patentanspruch 1:

1. Verfahren zur Herstellung von L-Glutaminsäure, umfassend das Kultivieren eines coryneformen Bakteriums, das ein Enzym exprimiert, das von einem L-Glutaminsäure-Biosynthesegen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Glutamatdehydrogenase (GDH), Citratsynthase (CS), Isocitratdehydrogenase (ICDH), Pyruvatdehydrogenase (PDH) und Aconitase (ACO) kodiert wird, wobei eine Promotorsequenz des L-Glutaminsäure-Biosynthesegens, das auf einem Chromosom des Bakteriums liegt, mindestens eine Sequenz enthält, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus
  - i) TTGTCA-, TTGACA- oder TTGCCA-Sequenz in der -35-Region der Promotorsequenz;
  - ii) TATAAT-Sequenz in der -10-Region der Promotorsequenz und
  - iii) einer Kombination von (i) und (ii).

Wegen des Wortlauts der Unteransprüche 2 bis 5 wird auf die Streitpatentschrift (EP 1 033 407 B1) Bezug genommen.

Mit ihrer Klage greift die Klägerin, die von der Beklagten u.a. wegen Verletzung des Streitpatents vor dem Landgericht Düsseldorf in Anspruch genommen wird, dieses im Umfang seiner Patentansprüche 1 bis 5 an und macht den Nichtigkeitsgrund der

mangelnden Patentfähigkeit sowohl wegen fehlender Neuheit als auch wegen fehlender erfinderischer Tätigkeit geltend. Sie stützt ihr Vorbringen unter anderem auf folgende Dokumente:

- NK1** EP 1 033 407 B1 (Streitpatent)
- NK5** EP 0 771 879 A1
- NK11** Pátek, M. et al., *Microbiology* 1996, 142, S. 1297 bis 1309
- NK13** Jaurin, B. et al., *The EMBO Journal* 1982, 1, S. 875 bis 881
- NK19** Inouye, S. und Inouye, M., *Nucleic Acids Research* 1985, 13, S. 3101 bis 3110
- NK23** Labarre, J. et al., *Journal of Bacteriology* 1993, 175, S. 1001 bis 1007
- NK28** Brosius, J. et al., *Journal of Biological Chemistry* 1985, 260, S. 3539 bis 3541
- NK29** Hui, Y. H. und Khachatourians, G. G. (Eds.), "Food Biotechnology: Microorganisms", VCH Publishers Inc., New York u.a., 1995, Kapitel 10 von Malumbres, M. et al., S. 423 bis 469
- NKÜ29** Auszugsweise deutsche Übersetzung der NK29, 4 Seiten
- NK31** JP H1-215280
- NK31b** Durch einen Übersetzer erstellte englische Übersetzung von NK31
- NK32** EP 1 010 755 A1
- NK36** Morinaga, Y. et al., *Journal of Biotechnology* 1987, 5, S. 305 bis 312
- NK56** Ikeda, M. und Katsumata, R., *Microbiology*, 1998, 144, S. 1863 bis 1868
- NK58** schematische Darstellungen zu den Beispielen 3, 6 und 2 des Streitpatents, überreicht in der mündlichen Verhandlung am 14. Mai 2019, 1 Seite.

Bei ihren Angriffen geht die Klägerin davon aus, dass im streitgegenständlichen Verfahren nicht nur mutierte Sequenzen der nativen Promotoren des GDH- bzw. CS-Gens, sondern auch heterologe Promotorsequenzen verwendet werden könnten. Denn sowohl gemäß dem Wortlaut der Patentansprüche als auch gemäß der Beschreibung des Streitpatents seien die Promotoren als funktionelle, die Expression steuernde Einheiten unabhängig von Genen und Mikroorganismen austauschbar. Ein Verständnis der beanspruchten Lehre dahingehend, dass in den Mutanten nicht die vollständige Promotorregion des GDH- und/oder CS-Gens ausgetauscht werde, sondern lediglich die Bereiche in der -10-Region und/oder -35-Region, führe daher zu einer unzulässigen Auslegung unterhalb des Wortlauts der Patentansprüche.

Vor diesem Hintergrund nehmen nach ihrer Meinung sowohl die NK5 als auch die NK32 die Alternative (ii) des Patentanspruchs 1 gemäß Hauptantrag neuheits-schädlich vorweg.

Das Vorliegen einer erfinderischen Tätigkeit hinsichtlich der das Enzym GDH betreffenden Alternative (i) des Patentanspruchs 1 bestreitet die Klägerin ausgehend von NK5 in Kombination mit dem Fachwissen auf dem Gebiet der L-Glutaminsäure-Produktion in coryneformen Bakterien, das sie anhand einer Reihe von Dokumenten, insbesondere anhand der NK11, belegt. Die dem Streitpatent zugrunde liegende Aufgabe sieht sie dabei in der Bereitstellung eines verbesserten Verfahrens zur Herstellung von L-Glutaminsäure ohne Verwendung eines Plasmids, wobei sie ausdrücklich darauf hinweist, dass die Ausnahme von Plasmiden kein Element der streitpatentgemäßen Lösung darstelle, sondern Teil der Lehre sei, von der das Streitpatent ausgehe.

Die NK5 sei zur Lösung dieser Aufgabe ein geeigneter Ausgangspunkt, da diese Druckschrift die Erhöhung der L-Glutaminsäure-Produktion in einem coryneformen Bakterium durch Überexpression der Glutamatdehydrogenase (GDH) in einem Plasmid aufzeige. Davon ausgehend habe der Fachmann die chromosomale Expression des GDH-Gens vom Chromosom aus im Blick, da diese Methode

gegenüber der mit Nachteilen verbundenen Verwendung von Plasmiden bevorzugt sei. Die Verwendung eines heterologen Promotors mit den Sequenzen TATAAT und TTGTCA in den -10- und -35-Regionen ergebe sich insbesondere aus der Kombination der NK5 mit der NK11. NK5 offenbare die Erhöhung der GDH-Genexpression durch die Verwendung eines starken Promotors. Dabei verweise diese Druckschrift auch auf den *tac* Promotor von *E. coli*. In NK11 seien Konsensussequenzen für die -10- und -35-Region von *C. glutamicum* Promotoren gesucht und identifiziert worden. Als Ergebnis ihrer Untersuchungen schlussfolgerten die Autoren der NK11, dass die -10- und -35-Promotorregionen eine wichtige Rolle bei der Transkription in *C. glutamicum* spielten. Daher sei der Fachmann motiviert gewesen, eine stringente Mutationsanalyse des *tac* Promotors in dessen -10- und -35-Regionen durchzuführen, die zwangsläufig zu der in der Alternative (i) des Patentanspruchs 1 genannten Sequenz geführt habe. Dabei sei insbesondere zu berücksichtigen, dass der in NK5 aufgezeigte *tac* Promotor in der -10-Region keine einzige Abweichung zur streitpatentgemäßen Sequenz aufweise und sich lediglich in der -35-Region an einer Position von der beanspruchten -35-Region unterscheide. Für die Verwendung des *tac* Promotors mit dieser Sequenz bestehe auch eine angemessene Erfolgserwartung, da in NK11 die Konsensussequenzen für *C. glutamicum* identifiziert worden seien und der Fachmann durch das Wissen über die Rolle dieser Sequenzen bei anderen Bakterien zumindest eine taugliche Arbeitshypothese gehabt habe, zu testen, ob eine Korrelation zwischen der Homologie zu bekannten Konsensussequenzen und der Stärke des Promotors in *C. glutamicum* bestehe.

Auch die jeweiligen Patentansprüche 1 der Hilfsanträge 1 bis 4 beruhten nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die Patentansprüche 1 der Hilfsanträge 1 und 2 seien bezüglich der das GDH-Gen betreffenden Alternative (i) des Patentanspruchs 1 des Hauptantrags unverändert. Die im wortgleichen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 3 und 4 zusätzlich aufgenommene Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 betreffe nicht den Kern der Erfindung des Streitpatents, der in der Mutation der -10- und -35-Region des GDH-Promotors zur Aktivitätssteigerung des GDH-Gens liege. Das Streitpatent zeige keinerlei positive technische Effekte, welche mit einem GDH-Promotor einhergehen, der außerhalb der -35- und -10-Region die in der SEQ ID Nr. 61

dargestellte Sequenz enthalte. Somit handle es sich bei der Promotorsequenz mit der SEQ ID Nr. 61 lediglich um die willkürliche Auswahl eines GDH-Promotors, die eine erfinderische Tätigkeit nicht begründen könne.

Zudem sei der jeweilige Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 3 und 4 unzulässig erweitert. Aus den ursprünglich eingereichten Unterlagen gehe nicht hervor, dass die Spacer-Region sowie andere Sequenzen, die stromaufwärts oder -abwärts der -35- und -10-Region gelegen seien, Teil der angeblichen Erfindung seien. Außerdem werde die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 nur als Primer und nicht als GDH-Promotor offenbart, als der er nunmehr beansprucht werde.

Die Klägerin beantragt,

das europäische Patent 1 033 407 im Umfang der Patentansprüche 1 bis 5 mit der Wirkung für das Hoheitsgebiet der Bundesrepublik Deutschland für nichtig zu erklären.

Die Beklagte beantragt,

die Klage mit der Maßgabe abzuweisen, dass das Streitpatent im angegriffenen Umfang die Fassung des Hauptantrags, hilfsweise die Fassung des Hilfsantrags 1, beide gemäß Schriftsatz vom 14. August 2017, weiter hilfsweise die Fassung des Hilfsantrags 2 gemäß Schriftsatz vom 5. März 2019, weiter hilfsweise die Fassung der Hilfsanträge 3 oder 4 gemäß Schriftsatz vom 21. Oktober 2019, jeweils in der Verfahrenssprache, erhält.

Patentanspruch 1 in der Fassung nach dem Hauptantrag lautet wie folgt:

1. A method of producing an L-glutamic acid, comprising the step of culturing a coryneform bacterium expressing an enzyme encoded by an L-glutamic acid biosynthesizing gene selected from the group consisting of glutamate dehydrogenase (GDH) and citrate synthase (CS), and wherein
  - i) a promoter sequence of the GDH gene located on a chromosome of the bacterium contains TTGTCA sequence in the - 35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or
  - ii) a promoter sequence of the CS gene located on a chromosome of the bacterium contains TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or
  - iii) a combination of (i) and (ii).

Patentanspruch 1 in der Fassung nach dem Hilfsantrag 1 vom 14. August 2017 lautet wie folgt:

1. A method of producing an L-glutamic acid, comprising the step of culturing a coryneform bacterium expressing an enzyme encoded by an L-glutamic acid biosynthesizing gene selected from the group consisting of glutamate dehydrogenase (GDH) and citrate synthase (CS), and wherein
  - i) a promoter sequence of the GDH gene located on a chromosome of the bacterium contains TTGTCA sequence in the - 35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or

- ii) a promoter sequence of the CS gene located on a chromosome of the bacterium contains ATGGCT sequence in the -35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or
- iii) a combination of (i) and (ii).

In der Fassung nach dem Hilfsantrag 2 vom 5. März 2019 lautet Patentanspruch 1 wie folgt:

1. A method of producing an L-glutamic acid, comprising the step of culturing a coryneform bacterium expressing an enzyme encoded by the L-glutamic acid biosynthesizing gene glutamate dehydrogenase (GDH) wherein a promoter sequence of the GDH gene located on a chromosome of the bacterium contains TTGTCA sequence in the - 35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence.

Patentanspruch 1 in der Fassung nach dem Hilfsantrag 3 vom 21. Oktober 2019 lautet wie folgt:

1. A method of producing an L-glutamic acid, comprising the step of culturing a coryneform bacterium expressing an enzyme encoded by the L-glutamic acid biosynthesizing gene glutamate dehydrogenase (GDH) wherein a promoter sequence of the GDH gene located on a chromosome of the bacterium contains TTGTCA sequence in the - 35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence and wherein said -35 region and said -10 region of the promoter sequence of the GDH gene are contained in the nucleic acid  
ttgtttgtcattctgtgacactgctataatttgaacgtgagcagttaacagcc.

Bei Hilfsantrag 4 ist im Unterschied zur Fassung nach Hilfsantrag 3 lediglich der Unteranspruch 2 gestrichen.

Wegen des Wortlauts der auf Patentanspruch 1 der jeweiligen Fassung rückbezogenen Unteransprüche wird auf die Anlagen zum Schriftsatz vom 14. August 2017, vom 5. März 2019 und vom 21. Oktober 2019 Bezug genommen.

Die Beklagte tritt dem Vorbringen der Klägerin in allen Punkten entgegen. Zur Stütze ihres Vortrags legt sie folgende Dokumente vor:

- NB1** EP 1 033 407 A1 (= Offenlegungsschrift)
- NB2** Gutachten Prof. K... vom 9. August 2017, 8 Seiten,  
mit 7 Anlagen
- NB3** Cadenas, R. F. et al., Gene 1991, 98, S. 117 bis 121
- NB4** Gutachten Prof. P... aus dem parallelen Verletzungsstreit  
4b O 47/16 vor dem LG Düsseldorf inkl. "Exhibit List" vom  
24. November 2016, 32 Seiten
- NB4a** Übersetzung der NB4, 30 Seiten
- NB5** Klageerwiderung vom 28. November 2016 im parallelen  
Verletzungsstreit 4b O 47/16 vor dem LG Düsseldorf, 33 Seiten
- NB6** Duplik vom 8. Juni 2017 aus 4b O 47/16, 66 Seiten
- NB7** Gutachten Prof. K1... vom 9. August 2017, 5 Seiten und  
Anlage Lebenslauf
- NB8** Hara, Y., "Experimental Report" vom 4. März 2019, 10 Seiten
- NB9** Gutachten Prof. K1... vom 4. März 2019, 10 Seiten
- NB9a** US 3,971,701
- NB9b** US 3,164,531
- NB9c** EP 1 831 250 B1
- NB10** Wagner, R., Arch Microbiol. 1994, 161, S. 100 bis 109
- NB11** Tabelle "*C. glutamicum* Promotorsequenzen aus NK11", überreicht  
in der mündlichen Verhandlung am 17. Dezember 2019.

Nach Auffassung der Beklagten sei der Gegenstand des Streitpatents nicht in der Weise auszulegen, dass der native Promotor durch einen heterologen Promotor ersetzt werde. Vielmehr beschreibe das Streitpatent in sämtlichen Ausführungsformen Mutanten des nativen GDH- bzw. CS-Promotors. Die streitpatentgemäße Lehre sei somit nur auf die chromosomale homologe Mutation und nicht auf eine heterologe Modifikation gerichtet.

Damit unterscheide sich die streitpatentgemäße Lehre bereits von der NK5 und NK32, die beide heterologe Promotoren betreffen, und sei daher neu.

Das Streitpatent beruhe auch auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die Aufgabe des Streitpatentes sieht die Beklagte letztlich in der Bereitstellung eines verbesserten Verfahrens zur Glutamatproduktion durch Fermentation von coryneformen Bakterien. Der Hinweis "ohne ein Plasmid zu verwenden" sei rückschauend, da er auf ein Element der Lösung abstelle.

Der Stand der Technik gebe keinen Anlass, die Aktivitäten der Glutamatdehydrogenase zur Verbesserung der Glutamatproduktion zu steigern. Vielmehr zeige NK5, dass eine ca. 13-fache Steigerung der GDH Aktivität keine positive Auswirkung auf die Glutamatproduktion habe. Es bestehe auch keine Veranlassung, die anspruchsgemäßen Sequenzen im Promotor des GDH-Gens zu verwenden. Dabei sei zu beachten, dass Konsensussequenzen von *E. coli* und deren Einfluss auf die Glutamatproduktion nicht auf coryneforme Bakterien übertragbar seien, da die Promotoren strukturell und funktional unterschiedlich seien. Zudem sei eine Vorhersage der Promotorstärke in coryneformen Bakterien nicht möglich, weil in coryneformen Bakterien die Struktur-Funktionsbeziehung von Promotorsequenzen nicht ausreichend verstanden sei und in NK11 sogar erkannt worden sei, dass es keine Korrelation zwischen Promotorstärke und Ähnlichkeit mit den Konsensussequenzen gebe. Damit fehle es an einer angemessenen Erfolgserwartung. Ebenfalls zu beachten sei, dass kein einziges Dokument der Klägerin die -35-Sequenz des GDH-Promotors in coryneformen Bakterien beschreibe. So finde sich in der umfangreichen Übersicht über *C. glutamicum* Promotoren der NK11 weder die anspruchsgemäße

Sequenz TTGTCA in der -35-Region noch die anspruchsgemäße Sequenz TATAAT in der -10-Region. Die NK13 lehre sogar von der anspruchsgemäßen Sequenz TTGTCA weg, da dort für diese Sequenz eine 21-mal schwächere Wirkung für den Promotor beschrieben werde. Dasselbe gelte bezüglich des GDH-Promotors für den Austausch durch heterologe Promotoren.

Im Übrigen würden die anspruchsgemäßen Promotorsequenzen die Aktivitätssteigerung von GDH und CS gegenüber dem Stand der Technik verringern, weil das Streitpatent nicht das Konzept der Maximierung, sondern der Optimierung der Promotoraktivität verfolge. Daher lägen die Aktivitätssteigerungen im Streitpatent deutlich unter jenen, die im Stand der Technik berichtet würden. Aufgrund der Optimierung werde neben der verbesserten Glutamatsproduktion auch ein vorteilhaftes Verhältnis zur Nebenprodukt-Bildung erreicht. Im Stand der Technik habe es keinen Hinweis gegeben, dass eine Optimierung und nicht eine Maximierung der Promotoraktivität die Aufgabe des Streitpatents löse.

Die Hilfsanträge einschließlich der jeweiligen Patentansprüche 1 der Hilfsanträge 3 und 4 seien zulässig. Die darin als neues Merkmal aufgenommene Nukleinsäuresequenz entspreche der Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 in der Ursprungsoffenbarung und sei ausdrücklich in Beispiel 7 der Anmeldung und damit unmittelbar und eindeutig als Merkmal einer erfindungsgemäßen Ausführungsform offenbart. Dabei sei die Wortwahl im Patentanspruch zu beachten, nach der die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 im GDH-Promotor enthalten sein müsse, diesen aber nicht in der vollen (funktionellen) Sequenz wiedergebe. Im Übrigen habe der Fachmann angesichts der ausdrücklichen Offenbarung in Beispiel 7 keinerlei eigene, von seinem Fachwissen getragene Überlegungen anstellen müssen, um zum beanspruchten Gegenstand zu gelangen.

Die Patentfähigkeit der Gegenstände der Hilfsanträge werde durch dieselben Argumente gestützt, die bereits für den Hauptantrag vorgetragen worden seien. Dabei sei desweiteren zu beachten, dass die im jeweiligen Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 3 und 4 zusätzlich aufgenommene Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 im Stand

der Technik nicht offenbart sei. Auch gebe es im Stand der Technik keine Hinweise zu chromosomalen Veränderungen in Form von Punktmutationen, da Struktur-Funktionsbeziehungen für coryneforme Bakterien unbekannt seien. Insbesondere könne die NK5 keine Anregungen in Richtung des Gegenstands des Patentanspruchs 1 der Hilfsanträge 3 und 4 geben, da die NK5 an keiner Stelle eine Veränderung des Promotors zur Überexpression des GDH-Gens lehre, sondern lediglich die Verwendung des unveränderten endogenen GDH-Promotors auf einem Plasmid. Davon abgesehen führe auch keiner der vier in NK5 aufgezeigten "starken Promotoren" zu der Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61, zumal die NK5 keinerlei Sequenzinformationen zu den genannten Promotoren offenbare. Schließlich lehre die NK11 für die -35-Region eine von dem beanspruchten Hexamer unterschiedliche Konsensussequenz und es gebe keinen Anlass, ohne eigenständige technische Überlegungen das anspruchsgemäße Hexamer in Betracht zu ziehen. Dies gelte insbesondere auch für die gesamte Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61, zumal die GDH Promotorsequenz des Stammes AJ13029 zum Prioritätstag noch nicht bekannt gewesen sei.

### **Entscheidungsgründe**

Die auf den Nichtigkeitsgrund der mangelnden Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG i. V. m. Art. 138 Abs. 1 a) EPÜ) gestützte Klage ist im angegriffenen Umfang zulässig und erweist sich auch als begründet.

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

I.

1. Das Streitpatent betrifft die Herstellung von Glutaminsäure unter Verwendung gentechnisch veränderter coryneformer Bakterien (vgl. NK1 Patentanspruch 1 und Abs. [0001]).

In der Streitpatentschrift wird einleitend erläutert, dass es zwei Methoden zur Herstellung von mutierten Mikroorganismen gebe, die zur fermentativen Produktion von Aminosäuren geeignet seien: zum einen Zufallsmutationen innerhalb der DNS mit chemischen Mutagenen und zum anderen die gentechnische Rekombination, wobei zur gentechnischen Rekombination meist ein Plasmid verwendet werde, das unabhängig vom Chromosom in einer Zelle autonom repliziere. Allerdings bringe die Verwendung von Plasmiden Probleme mit sich, da der Grad der Anreicherung des gewünschten Gens abhängig von der Anzahl der Kopien des Plasmids sei. Zudem bestehe oft das Problem, dass das Plasmid wegen instabiler Replikation eliminiert werde. Im Stand der Technik werde ferner beschrieben, in einem Glutaminsäureproduzierenden coryneformen Bakterium die Glutamatdehydrogenase (GDH) anzureichern. Allerdings sei die Ausbeute an Glutaminsäure in einem solchen Bakterienstamm unbefriedigend. Auch die Verwendung einer rekombinanten DNS, die neben dem GDH-Gen ein ICDH-Gen enthält, sei bekannt. Schließlich werde darauf hingewiesen, dass die Promotoren von fünf isolierten *C. glutamicum* Genen in der -35- und -10-Region konservierte Sequenzen besitzen (vgl. NK1 Abs. [0002] bis [0008]).

2. Vor diesem Hintergrund liegt dem Streitpatent die Aufgabe zugrunde, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Glutaminsäure durch Verstärkung von Glutaminsäure-Biosynthesegenen in coryneformen Bakterien bereitzustellen, ohne ein Plasmid zu benutzen (NK1 Abs. [0009] bis [0011]).

Soweit die Beklagte hiergegen einwendet, die Aufgabendefinition des Senats enthalte mit der Formulierung "ohne ein Plasmid zu benutzen" in unzulässiger Weise Lösungselemente, kann dies nicht überzeugen. Denn die Bestimmung des techni-

schen Problems dient nach ständiger BGH-Rechtsprechung dazu, den Ausgangspunkt der fachmännischen Bemühungen um eine Bereicherung des Standes der Technik ohne Kenntnis der Erfindung zu lokalisieren, um bei der anschließenden und davon zu trennenden Prüfung auf Patentfähigkeit zu bewerten, ob die dafür vorgeschlagene Lösung durch den Stand der Technik nahegelegt war oder nicht (vgl. BGH GRUR 2015, 356, Rn. 9 – Repaglinid; BGH GRUR 2015, 352, Rn. 11 – Quetiapin m.w.N.). Da die Streitpatentschrift in der Einleitung angibt, dass die dem Fachmann geläufige und häufig verwendete Methode der Genverstärkung mit selbstständig replizierenden Plasmiden mit Problemen behaftet und damit nachteilhaft sei (vgl. NK1 Abs. [0003] und [0004]), handelt es sich bei dem Ausschluss der Benutzung von Plasmiden nicht um eine Bereicherung des Standes der Technik und damit um ein Lösungselement der streitpatentgemäßen Aufgabe, sondern um einen Teil des Ausgangspunkts, von dem aus der Fachmann seine Bemühungen bei der Lösungssuche startet.

**3.** Gelöst wird diese Aufgabe u.a. durch ein Verfahren zur Herstellung von L-Glutaminsäure gemäß Patentanspruch 1 nach Hauptantrag, welches folgende Merkmale aufweist:

- 1 A method of producing an L-glutamic acid  
[Verfahren zur Herstellung von L-Glutaminsäure],
- 2 comprising the step of culturing a coryneform bacterium  
[umfassend das Kultivieren eines coryneformen Bakteriums],
- 3 expressing an enzyme encoded by an L-glutamic acid biosynthesizing gene selected from the group consisting of glutamate dehydrogenase (GDH) and citrate synthase (CS), and wherein  
[das ein Enzym exprimiert, das von einem L-Glutaminsäure-Biosynthesegen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Glutamatdehydrogenase (GDH) und Citratsynthase (CS) kodiert wird, wobei],

- 4.1 (i) a promoter sequence of the GDH gene located on a chromosome of the bacterium contains TTGTCA sequence in the -35 region of the promoter sequence and TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or  
[(i) eine Promotorsequenz des GDH-Gens, das auf einem Chromosom des Bakteriums liegt, die TTGTCA-Sequenz in der -35-Region der Promotorsequenz und die TATAAT-Sequenz in der -10-Region der Promotorsequenz enthält; oder]
- 4.2 (ii) a promoter sequence of the CS gene located on a chromosome of the bacterium contains TATAAT sequence in the -10 region of the promoter sequence; or  
[(ii) eine Promotorsequenz des CS-Gens, das auf einem Chromosom des Bakteriums liegt, die TATAAT-Sequenz in der -10-Region der Promotorsequenz enthält; oder]
- 4.3 a combination of (i) or (ii)  
[eine Kombination von (i) und (ii)]

4. Zuständiger Fachmann ist ein Biologe, Biochemiker oder Biotechnologe, der über einschlägige Berufserfahrung auf dem Gebiet der fermentativen Herstellung von Aminosäuren mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen verfügt.

## II.

Patentanspruch 1, mit dem das Patent gemäß Hauptantrag verteidigt wird, erweist sich mangels Patentfähigkeit als nicht bestandsfähig, weil dessen Gegenstand jedenfalls nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

1. Die streitpatentgemäße Lehre, die die Beklagte mit Patentanspruch 1 des Hauptantrags vom 14. August 2017 verteidigt, ist vor der Prüfung der Patentfähigkeit auszulegen.

Der Auslegung bedarf der Patentanspruch 1 dahingehend, ob das streitpatentgemäße Verfahren nach Patentanspruch 1 nur den homologen Austausch oder auch den heterologen Austausch der Promotorsequenz des GDH- bzw. CS-Gens umfasst.

Unter einem homologen Austausch versteht der Fachmann vorliegend den Austausch von Promotorensequenzen innerhalb der Gruppe der "coryneformen Bakterien". Gemäß der Streitpatentschrift gehören zu der Gruppe der "coryneformen Bakterien" Bakterien der Gattung *Corynebacterium* und der Gattung *Brevibacterium* (vgl. NK1 Abs. [0022]). In den Beispielen der Streitpatentschrift erfolgt jeweils der Austausch des CS- bzw. GDH-Promotors im *Brevibacterium*-Stamm AJ13029 durch einen aus dem *Brevibacterium*-Stamm ATCC13869 stammenden und mutierten Promotor (vgl. NK58 Flussdiagramme zu den Beispielen 3 und 6 iVm NK1 Beispiele 3 und 6). Demgegenüber handelt es sich um einen heterologen Austausch, wenn Promotorensequenzen aus einer anderen Bakteriengattung als den im Streitpatent angeführten Gattungen und insbesondere aus einer anderen Abteilung von Bakterien gemäß der systematischen Klassifikation wie z.B. aus *E. coli* oder *B. subtilis* eingebaut werden.

Eine eingehende Betrachtung der geltenden Anspruchsfassung nach Hauptantrag lässt erkennen, dass von der Lehre des Streitpatents sowohl ein homologer als auch ein heterologer Austausch der Promotorensequenz umfasst ist. Bereits der Wortlaut des Patentanspruchs 1 schließt den Austausch des Promotors des GDH- bzw. CS-Gens durch einen heterologen Promotor nicht aus. Denn dieser Patentanspruch bezieht sich auf Promotorensequenzen, die eine bestimmte Lokalisation aufweisen und bestimmte Sequenzabschnitte enthalten, nicht aber auf Promotorensequenzen einer bestimmten Herkunft. So wird im Patentanspruch 1 lediglich festgelegt, dass die im beanspruchten Verfahren eingesetzten Promotorensequenzen in das Chromosom des Bakteriums integriert sind und dass eine Promotorensequenz des GDH- bzw. CS-Gens die TATAAT-Sequenz in der -10-Region enthält. Für die Promotorensequenz des GDH-Gens wird zusätzlich spezifiziert, dass sie die TTGTCA-Sequenz in der -35-Region enthält. Die weitere Sequenz des Promotors ist somit völlig offen und

kann dementsprechend frei variiert werden, solange sie die Promotorfunktion für das GDH- bzw. CS-Gen und die beanspruchte Lokalisation auf dem Chromosom des Bakteriums aufweist, so dass auch Sequenzen heterologer Promotoren vom Patentanspruch umfasst sind, die diese Kriterien erfüllen. Eine Eingrenzung auf einen homologen Austausch würde demnach sogar zu einer unzulässigen Auslegung unterhalb des Wortlauts der Ansprüche führen (vgl. Schulte PatG, 10. Aufl., § 14 Rn. 32 le. Satz).

Diese Auslegung steht auch in Übereinstimmung mit der Beschreibung der Streitpatentschrift. Aus dieser geht hervor, dass der Schwerpunkt der streitpatentgemäßen Lehre in einer angemessenen Steigerung oder Steuerung der Expression der Ziel-Gene ohne die Verwendung eines Plasmids liegt, wobei dies sowohl durch Genrekombination als auch durch Genmutation erreicht wird (vgl. NK1 Abs. [0009]). Damit lehrt das Streitpatent neben der Einfügung von Mutationen auch die Verwendung der Genrekombination, um einen Promotor mit den beanspruchten Sequenzen in den -35- und -10-Regionen zu erhalten. Dies wird im Absatz [0017] der Streitpatentschrift nochmals näher ausgeführt, in dem explizit auf das Einführen einer Mutation in eine Promotorsequenz von Aminosäure-Biosynthesegenen auf einem Chromosom eines coryneformen Bakteriums und alternativ dazu auf das Einführen einer Änderung in einer Promotorsequenz eines Aminosäure-Biosynthesegens auf einem Chromosom eines coryneformen Bakteriums durch Genrekombination hingewiesen wird. Diese beiden alternativen Verfahrensmaßnahmen dienen den Angaben der Streitpatentschrift zur Folge dazu, die Promotorsequenz an eine Konsensus-Sequenz anzupassen (vgl. NK1 Abs. [0017] und [0024]). Unter einer "Konsensus-Sequenz" versteht das Streitpatent Sequenzen, die sehr häufig in vielfältigen Promotorsequenzen erscheinen und die beispielsweise aus *E. coli* und *B. subtilis* bekannt sind (vgl. NK1 Abs. [0025]). Durch diesen Verweis der Streitpatentschrift auf die Konsensus-Sequenzen und den Hinweis auf die bekannten Sequenzen aus anderen Bakterien wird deutlich, dass auch bekannte heterologe Promotorsequenzen im Blickfeld des Fachmanns liegen, die die beanspruchten Sequenzen in den -35- und -10-Regionen aufweisen. Aus fachlicher Sicht umfasst somit die Lehre des

Streitpatents sowohl einen homologen als auch einen heterologen Austausch der Promotorensequenz.

Der Verweis der Beklagten auf die Beispiele, in denen ein Austausch der Promotorensequenzen nur zwischen verschiedenen Stämmen von coryneformen Bakterien und damit ein homologer Austausch aufgezeigt sei, so dass die Beispiele keinen Ansatz dafür geben würden, dass heterologe Promotoren aus *E. coli* in der streitpatentgemäßen Lehre eine Rolle spielten, zumal die gesamte Streitpatentschrift keine heterologen Promotorensequenzen offenbare, führt zu keiner anderen Auslegung. Denn zum einen darf allein aus der Nichterwähnung einer bestimmten Ausführungsvariante in der Patentschrift nicht gefolgert werden, dass die betreffende Variante außerhalb des Patents liegt (vgl. Schulte PatG, 10. Aufl., § 14 Rn 41 2. Satz). Zum anderen erläutern Ausführungsbeispiele den Erfindungsgegenstand regelmäßig nur exemplarisch und daher nicht abschließend; aus ihnen dürfen deshalb grundsätzlich keine den weiter gefassten Patentanspruch einengenden Rückschlüsse gezogen werden (vgl. Schulte PatG, 10. Aufl., § 14 Rn 41 3. Satz). Dies trifft auf den Gegenstand des vorliegenden Patentanspruchs 1 zu. Denn – wie oben bereits dargestellt – ergibt sich aus dem Wortlaut des Patentanspruchs 1 und der Lehre im allgemeinen Teil der Streitpatentschrift, dass lediglich eine bestimmte Lokalisation und bestimmte kurze Sequenzabschnitte festgelegt sind. Ansonsten erlaubt insbesondere der Anspruchswortlaut sämtliche denkbaren Variationen in der Promotorensequenz und damit auch heterologe Promotorensequenzen, sofern sie die im Patentanspruch angeführten Bedingungen erfüllen.

Gegen diese Auslegung spricht auch nicht eine kombinierte Betrachtung der Anspruchsmerkmale "auf einem Chromosom des Bakteriums liegt" und "Kultivieren eines coryneformen Bakteriums". In dieser Kombination sieht die Beklagte eine Festlegung der Promotorensequenz auf eine homologe Sequenz und den expliziten Ausschluss von heterologen Sequenzen für den Austausch. Dem kann nicht gefolgt werden, weil das Merkmal "auf einem Chromosom des Bakteriums liegt" lediglich die Lokalisation der mutierten Promotorensequenz bestimmt. Mit diesem Merkmal erfolgt aber keine Spezifizierung der Herkunft der Promotorensequenz. Auch der

Bezug auf das Merkmal "Kultivieren eines coryneformen Bakteriums" führt zu keiner Festlegung der Promotorsequenz auf homologe Sequenzen. Denn dadurch wird lediglich beansprucht, dass das streitpatentgemäße Verfahren mit einem coryneformen Bakterium durchgeführt wird, nicht aber, dass das Chromosom des Bakteriums lediglich mutierte homologe Sequenzen aufweisen darf.

Schließlich kann die Argumentation, dass zusätzliche Punktmutationen im Spacer zwischen der -10- und der -35-Region ebenso wenig zu einer heterologen Promotorsequenz führten wie die Tatsache, dass der im Beispiel 3 eingesetzte Primer zwar die aus *E. coli* bekannte Konsensus-Sequenz TATAAT enthalte, sich aber ansonsten von den aus *E. coli* bekannten Promotorensequenzen unterscheidet, nicht durchgreifen. Der Patentanspruch 1 legt außer den Sequenzen für die -10-Region des Promotors des CS- bzw. GDH-Gens und für die -35-Region des Promotors des GDH-Gens weder weitere Sequenzabschnitte noch die Anzahl der Mutationen fest. Aufgrund dieser weitgehend offenen Definition der Promotorsequenzen des CS- bzw. GDH-Gens sind daher beliebig viele Mutationen möglich, wodurch die Promotorsequenzen auch so weit verändert werden können, dass sie heterologen Promotorsequenzen entsprechen.

**2.** Die Anspruchsfassung gemäß Hauptantrag ist zwar zulässig, allerdings ist die Anspruchsfassung gemäß Hauptantrag wegen fehlender Patentfähigkeit (Art. II § 6 Abs. 1 Nr. 1 IntPatÜG iVm Art. 138 Abs. 1 lit a EPÜ) nichtig.

Im Ergebnis kann es dahingestellt bleiben, inwiefern die von der Klägerin geltend gemachte mangelnde Neuheit gegeben ist, da jedenfalls die Bereitstellung des streitpatentgemäßen Verfahrens gemäß der angegriffenen Patentansprüche 1 bis 4 des Hauptantrags nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.

**2.1.** Vorliegend erweist sich die Druckschrift NK5 als geeigneter Ausgangspunkt für die Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit.

Die Patentanmeldung NK5 befasst sich mit der fermentativen Herstellung von L-Glutaminsäure und L-Lysin in coryneformen Bakterien (vgl. NK5 S. 2 Z. 5 bis 6 und Patentanspruch 2). In dem in NK5 beanspruchten coryneformen Bakterium ist das Gen, welches für  $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenase ( $\alpha$ -KGDH) codiert, oder dessen Promotor auf dem Chromosom verändert, wobei dies laut NK5 beispielsweise durch homologe Rekombination unter Verwendung von geeigneten Plasmiden erreicht werden kann (vgl. NK5 Patentanspruch 1, S. 5 Z. 58 bis S. 6 Z. 5). Damit erschöpft sich die Lehre der NK5 aber nicht. Denn diese Druckschrift offenbart als weitere Lehre, dass die L-Glutaminsäure-Produktion des coryneformen Bakteriums verbessert werden kann, indem Glutaminsäure-Biosynthesegene verstärkt werden. Als Beispiele für Glutaminsäure-Biosynthese-Gene werden in diesem Zusammenhang u.a. die Glutamatdehydrogenase (GDH) und die Citratsynthase (CS) genannt (vgl. NK5 S. 6, Z. 36 bis 42). Die NK5 betrifft somit wie das Streitpatent die Verbesserung der L-Glutaminsäure-Produktion in coryneformen Bakterien durch Verstärkung von Glutaminsäure-Biosynthesegenen, weshalb der Fachmann von einem solchen Dokument erwartet, dass er darin Angaben findet, die ihm bei der Lösung der streitpatentgemäßen Aufgabe – wie zuvor unter Punkt **I.2.** definiert – helfen.

Gegen die Wahl von NK5 als Ausgangspunkt spricht dabei nicht, dass die Ansprüche und damit nach Ansicht der Beklagten der Kern der Lehre dieser Patentanmeldung auf einer chromosomalen Veränderung des  $\alpha$ -KGDH-Gens oder auf dessen Promotor in coryneformen Bakterien gerichtet sei (vgl. NK5 Patentansprüche). Denn für den Inhalt einer Druckschrift aus dem Stand der Technik kommt es auf deren Gesamtinhalt an (vgl. Benkard PatG, 11. Aufl., 2015, § 4 Rn. 84 insbesondere le. Satz). In der NK5 beschränkt sich die Gesamtlehre der Patentanmeldung nicht nur auf Mutationen des  $\alpha$ -KGDH-Gens zur Verbesserung der fermentativen Glutaminsäureproduktion in coryneformen Bakterien, sondern umfasst ebenfalls solche Glutaminsäure-Biosynthesegene, wie sie auf Seite 6 der NK5 genannt sind. Auch die Ausführungsbeispiele 4, 7 und 8 sind auf die Mutation von einigen der auf Seite 6 der NK5 angeführten Glutaminsäure-Biosynthesegene und deren Auswirkung auf die Glutaminsäureproduktion gerichtet (vgl. NK5 S. 12 Z. 46 bis S. 16 Z. 25). Somit

beschreibt die NK5 mehrere Alternativen zur Verbesserung der Glutaminsäureproduktivität in coryneformen Bakterien, die der Fachmann sämtlich für seine Überlegungen berücksichtigt.

**2.2.** Um eine Verstärkung der Glutaminsäure-Biosynthesegene zu erreichen, beschreibt die NK5 drei verschiedene Mutationsverfahren, die sowohl homologe als auch heterologe Mutationen umfassen (vgl. NK5 S. 6 Z. 43 bis 53). Desweiteren lehrt die NK5, dass für den Fall, dass das Zielgen keinen Originalpromotor hat, die Expression des Zielgens durch Ligation mit einem starken Promotor erhöht werden kann. Als bevorzugte Beispiele für derartige starke Promotoren führt die NK5 die in coryneformen Bakterien ebenfalls wirkenden, heterologen *lac*-, *tac*- und *trp*-Promotoren aus *E. coli* sowie den homologen *trp*-Promotor aus einem coryneformen Bakterium an (vgl. NK5 S. 6 Z. 59 bis S. 7 Z. 8). Damit entnimmt der Fachmann der NK5, die Glutaminsäure-Biosynthesegene zum Zwecke der Verstärkung und damit zur Erhöhung der Glutaminsäureproduktion unter die Kontrolle eines starken homologen oder heterologen Promotors zu stellen.

Unter den in NK5 explizit aufgezeigten Promotoren ist dem Fachmann wiederum bekannt, dass der *tac*-Promotor in coryneformen Bakterien der mit Abstand stärkste *E. coli* Promotor ist. Dies findet er u.a. in dem in NK5 in diesem Zusammenhang zitierten Aufsatz von Morinaga bestätigt, der als NK36 vorgelegt worden ist (vgl. NK5 S. 7 Z. 5 iVm NK36 S. 310 Tab. 2, S. 311 Abs. 1 erster Satz, Abs. 2 drittle. und vorle. Satz). Es hat somit die Veranlassung bestanden, sich bei den in NK5 aufgezählten Promotoren insbesondere dem *tac*-Promotor zuzuwenden.

**2.3.** In einem Ausführungsbeispiel offenbart die NK5 weiterhin, dass durch die Überexpression des GDH-Gens, zumindest bei gemeinsamer Überexpression mit weiteren Glutaminsäurebiosynthesegenen wie CS (in NK5 als GLTA bezeichnet), ICD (Isocitrat-Dehydrogenase) oder PPC (Phosphorendolpyruvat-Carboxylase), die Glutaminsäureproduktion in einem coryneformen Bakterium erhöht werden kann (vgl. NK5 S. 15/16 Bsp. 8, Tab. 9 drittle. und vorle. Eintrag). Der Fachmann hat sich

daher näher mit der Verstärkung des GDH-Gens zur Lösung der ihm gestellten Aufgabe beschäftigt.

Dabei berücksichtigt der Fachmann, dass die chromosomale Überexpression des GDH-Gens im Vergleich zu einer Überexpression unter Einsatz eines extrachromosomalen Plasmids – wie im Ausführungsbeispiel 8 der NK5 durchgeführt – den Vorteil mit sich bringt, dass das mutierte GDH-Gen stabil erhalten bleibt. Denn der Fachmann ist bei seinen Überlegungen davon ausgegangen, dass Plasmide mit Nachteilen verbunden sind (vgl. NK1 Abs. [0003], [0004]). Daher ist es gemäß seinem Fachwissen vorteilhaft, das mutierte Gen in das Wirts-Chromosom zu integrieren, weshalb bei molekularbiologischen Ansätzen in coryneformen Bakterien ein Schwerpunkt auf der chromosomalen Integration liegt (vgl. Fachbuch NK29 S. 459 le. Abs. Z. 1 bis 7 bzw. NKÜ29 S. 3 Abs. 3 Z. 1 bis 8; NK56 S. 1863 spaltenübergr. Abs.; NK31b S. 3 Z. 17 bis 21 und S. 4 Z. 12 bis 19; NK23, S. 1001 li. Sp. Z. 9 bis 13). Der Fachmann war somit motiviert, die chromosomale Überproduktion von GDH für die Lösung der streitpatentgemäßen Aufgabe heranzuziehen.

Gegen eine Berücksichtigung einer chromosomalen Veränderung der DNS eines coryneformen Bakteriums spricht auch nicht, dass NK5 die Verstärkung des GDH-Gens in den Ausführungsbeispielen lediglich durch Anwendung extrachromosomaler Plasmide näher erläutert (vgl. NK5 S. 12 bis S. 16 Ausführungsbeispiele 4, 7 und 8). Denn zum einen geht der Fachmann – wie bereits dargestellt – im Wissen der Nachteile der Anwendung von Plasmiden bei der Suche der streitpatentgemäßen Lösung von der Vermeidung einer Plasmidverwendung aus. Zum anderen lehrt die NK5 nicht nur die Anwendung von extrachromosomalen Plasmiden zur Überexpression von Glutaminsäure-Biosynthesegenen. Vielmehr erwähnt die NK5 auch die Verwendung der homologen Rekombination als bekanntes Verfahren zur Modifizierung des Chromosoms (vgl. NK5 S. 5/6 seitenübergr. Abs.). Dieser Absatz ist als separater Absatz formuliert und enthält somit keinen direkten Bezug zum  $\alpha$ -KGDH-Gen. Der Fachmann versteht ihn somit als allgemeine Lehre, die auch für die auf den Seiten 6 und 7 der NK5 angesprochene Mutation der Glutaminsäure-Biosynthesegene gültig ist, zumal in der Textpassage auf den Seiten 6 und 7 *expressis*

*verbis* keine Ausführungen über die Methode der Mutation zu finden sind (vgl. NK5 S. 6 Z. 36 bis S. 7 Z. 8).

**2.4.** Nachdem der Fachmann aus der NK5 gelernt hat, zur Lösung der streitpatentgemäßen Aufgabe die Glutaminsäure-Biosynthesegene und dabei insbesondere das GDH-Gen sowie hierfür geeignete Promotoren heranzuziehen, gehört es zu seinem üblichen Vorgehen, sich nunmehr mit den Sequenzen der Promotoren und damit ausgehend von NK5 insbesondere mit der Sequenz des *tac*-Promotors zu beschäftigen.

Im Zusammenhang mit der Analyse der Gensequenz des *tac*-Promotors stößt der Fachmann im Stand der Technik auf die NK11. Diese Druckschrift beschäftigt sich mit der Klonierung, molekularen Analyse und Suche nach Konsensusmotiven in Promotoren von *Corynebacterium glutamicum* (vgl. NK11 S. 1297 Titel). Einleitend geben die Autoren der NK11 an, dass die Sequenzen in den -35- und -10-Region von *E. coli* Promotoren konserviert und von großer Bedeutung für deren Funktion sind (vgl. NK11 S. 1297 re. Spalte 2. vollst. Satz). Demgegenüber sind die Kenntnisse über die Promotoren in *C. glutamicum* gering und eine typische Konsensussequenz wie bei *E. coli* noch nicht definiert (vgl. NK11 S. 1298 li. Sp. Abs. 2). Für ihre Untersuchungen gehen die Autoren daher von der Hypothese aus, dass die generelle Struktur der Promotoren von *C. glutamicum* ähnlich zu der Struktur der *E. coli* Promotoren ist (vgl. NK11 S. 1305/1306 seitenübergr. Abs.). Als Ergebnis ihrer Studien stellen sie fest, dass es auch in *C. glutamicum* Konsensussequenzen in der -10-Region und in der -35-Region gibt und dass diese vergleichbar sind zu den aus *E. coli* bekannten Konsensussequenzen. Dies wird mit der Tatsache begründet, dass der *tac* Promotor aus *E. coli* sehr wirksam in *C. glutamicum* ist und eine Mutation im Hexamer der -10-Region des *E. coli lac* Promotors von TATGTT zu TATATT und damit in Richtung zu einer höheren Ähnlichkeit zur *E. coli* Konsensussequenz TATAAT eine bessere Wirksamkeit dieses Promotors in *C. glutamicum* bewirkt (vgl. NK11 S. 1306 li. Sp. Abs. 2 insbesondere ab Z. 16). Aufgrund dieser Lehre der NK11 und insbesondere wegen des nochmaligen Hinweises auf die hohe Wirksamkeit des *tac* Promotors in *C. glutamicum* wird sich der Fachmann vor allem

dem *tac* Promotor zuwenden. In der Tabelle 2 der NK11 findet er dann die bekannten Sequenzen des *tac* Promotors in der -10- und der -35-Region (vgl. NK28 S. 3540 Fig. 1b) und zugleich den Hinweis, dass in *C. glutamicum* das vierte Nukleotid in der -35-Region gegenüber der Konsensussequenz aus dem *tac* Promotor abweicht (vgl. NK11 S. 1307 Tab. 2 und die mit einem Sternchen markierte Anmerkung darunter).

Der Fachmann entnimmt somit der Lehre der NK11, dass es auch bei den Promotoren der Glutaminsäure-Biosynthesegene in coryneformen Bakterien im Bereich der -10- und die -35-Region Konsensussequenzen gibt, die zu einer erhöhten Expression der Biosynthesegene führen. Da zudem die Angleichung der nativen Promotorsequenz eines Gens an Konsensussequenzen zum fachüblichen Vorgehen gehört, wenn eine Erhöhung der Expression des Gens angestrebt wird, ist der Fachmann motiviert, bei seinen Überlegungen ausgehend von NK5 die Ausstattung des GDH-Gens mit einem Promotor zu berücksichtigen, der die Konsensussequenzen des bekanntermaßen besonders wirksamen *tac* Promotors TATAAT in der -10-Region und TTGACA in der -35-Region aufweist, wobei er das vierte Nukleotid in der -35-Region noch zu optimieren hat. Mit dem Hinweis in Tab. 2 der NK11 auf die Variabilität dieses Nukleotids erfordert eine Punktmutation an dieser Position zum Auffinden eines Promotors, der zu einer verstärkten Expression des GDH-Gens für eine erhöhte Glutaminsäureproduktion in coryneformen Bakterien führt, dann keine Maßnahmen mehr, die über das allgemeine Können und Wissen des Fachmanns hinausgehen, so dass damit keine erfinderische Tätigkeit begründet werden kann. Das Verfahren des Patentanspruchs 1 gemäß Hauptantrag hat somit ausgehend von NK5 in Zusammenschau mit der NK11 nahegelegen, so dass dieser Patentanspruch keinen Bestand hat.

**2.5.** Zu einer anderen Beurteilung der Sachlage geben die weiteren Einwendungen der Beklagten keinen Anlass.

**a)** So kann die Argumentation nicht durchgreifen, die NK5 gebe keinen Hinweis auf die streitpatentgemäße "moderate" Steigerung der Glutaminsäureproduktion bei

gleichzeitig geringerer Nebenproduktbildung, weshalb der Fachmann keinen Anlass gehabt habe, die Lösungsvorschläge der NK5 zu berücksichtigen. Denn der Patentanspruch 1 ist lediglich auf ein Verfahren zur Herstellung von L-Glutaminsäure durch Kultivieren eines coryneformen Bakteriums gerichtet, ohne eine Steigerung der Glutaminsäureproduktion oder deren Ausmaß zu beanspruchen. Das Streitpatent betrifft zudem gemäß den Angaben in der Beschreibung die Herstellung von Glutaminsäure in einer hohen Ausbeute (vgl. NK1 Abs. [0001]). Daher ist die Aufgabe nicht auf eine gemäßigte Steigerung der Glutaminsäureproduktion unter gleichzeitig geringerer Nebenproduktbildung gerichtet, sondern auf ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Glutaminsäure durch Verstärkung von Glutaminsäure-Biosynthesegenen in coryneformen Bakterien (vgl. I.2.). Zur Lösung dieser Aufgabe braucht es eine Veranlassung, die in NK5 offenbarten Verfahrensmaßnahmen heranzuziehen. Diese Veranlassung ergibt sich aus der NK5, da diese Druckschrift – wie bereits ausgeführt – zeigt, dass durch die Überexpression des GDH-Gens, zumindest bei gemeinsamer Überexpression des GLTA-, des ICD-Gens oder des PPC-Gens, die Glutamatproduktion erheblich gesteigert wird (vgl. NK5 S. 16 Tab. 9 drittle. und vorle. Eintrag). Der Einwand der Beklagten, dass die NK5 in Tab. 9 nicht zeige, dass die Überexpression von GDH allein zu einer Steigerung der Glutaminsäureproduktion führe, überzeugt dabei nicht. Denn zum einen wird in der Variante (iii) des Patentanspruchs 1 auch eine gemeinsame Überexpression von GDH mit einem weiteren Glutaminsäurebiosynthesegen beansprucht und zum anderen sind auch die Verfahrensvarianten (i) und (ii) des Patentanspruchs 1 aufgrund der Formulierung "enthält" nicht abschließend formuliert, so dass hiervon auch die gemeinsame Überexpression von drei Glutaminsäure-Biosynthesegenen mitumfasst ist.

**b)** Zu NK11 führt die Beklagte aus, die Kernaussage dieser Druckschrift sei, dass es bestimmte Promotoren gebe, die zwischen *E. coli* und coryneformen Bakterien austauschbar seien, weil sie in beiden funktionierten. Es gebe aber auch solche Promotoren, die nicht in beiden Bakterien funktionierten. Der Fachmann könne daher keine verlässlichen Vorhersagen über die Wirksamkeit heterologer Promotoren in coryneformen Bakterien machen. Zudem sei die Lehre, dass in *E. coli* die

Nähe der Promotorsequenz zur Konsensussequenz mit der Stärke des Promotors korreliere, nicht übertragbar auf die Verhältnisse in coryneformen Bakterien. Auch werde für coryneforme Bakterien nur eine moderate Konservierung in der -35- und der -10-Region beobachtet und die Erkennungsspezifität der wichtigsten RNA-Polymerase sei für diese im Vergleich zu anderen Bakterien am geringsten. Schließlich seien die an die Promotorsequenzen bindenden Sigma-Faktoren in coryneformen Bakterien nicht bekannt. Diese aber ermöglichten erst die Aufklärung von Struktur-Funktionsbeziehungen, ohne die eine Vorhersagbarkeit der Beziehung zwischen Promotorsequenz und Promotorstärke nicht möglich sei. Der Einsatz einer bestimmten Promotorsequenz wäre somit bestenfalls ein Forschungsprojekt ohne ausreichende Erfolgsaussicht, weshalb die NK11 keine Anregung dahingehend geben könne, die Expression des GDH-Gens durch Punktmutationen in der Promotorsequenz gezielt zu erhöhen.

Aus der Sicht des Senats ist der Fachmann bei der Lösung des streitpatentgemäßen Problems aber weder an der Aufklärung der Struktur noch der Struktur-Funktionsbeziehung von Promotoren in coryneformen Bakterien interessiert. Vielmehr geht es ihm nur um die Steigerung der Produktivität bei der fermentativen Glutaminsäureproduktion in diesen Bakterien. Er stört sich daher nicht an den unbekanntem Sigma-Faktoren in coryneformen Bakterien und daran, dass die NK11 im letzten Absatz ein Forschungsprojekt zu dieser Problematik anregt. Für ihn ist zum einen entscheidend, dass die NK11 auch für Promotoren von *C. glutamicum* Konsensussequenzen im Bereich der -35- und -10-Region findet (vgl. NK11 S. 1306 li. Sp. Abs. 2 Z. 1 bis 9). Diese Erkenntnis finden die Autoren der NK11 so wichtig, dass sie diese sogar in das Abstract der Druckschrift, das üblicherweise als eine Art Leitsatz zu verstehen ist, aufgenommen haben (vgl. NK11 S. 1297 Abstract vorle. Satz). Zum anderen ist für ihn die Lehre von großer Bedeutung, dass der in NK5 bereits explizit genannte *tac* Promotor in *C. glutamicum* sehr wirksam ist (vgl. NK11 S. 1306 li. Sp. Abs. 2 Z. 26 bis 35). Mit diesen Informationen verbindet der Fachmann eine hinreichende Erfolgserwartung, die Konsensussequenz des *tac* Promotors bei seinen Überlegungen zu berücksichtigen. Davon bringt ihn auch nicht das ebenfalls in NK11 offenbarte Ergebnis ab, dass im Gegensatz zu den Promotoren in *E. coli* bei

Promotoren in coryneformen Bakterien keine Korrelation zwischen der CAT-Aktivität (CAT = Chloramphenicol-Acetyltransferase – ein Test zur Bestimmung der Stärke eines Promotors) und der Ähnlichkeit zu den -35- und -10-Konsensushexameren gefunden wird. Denn die NK11 gibt für diese mangelnde Korrelation mehrere plausible Erklärungen, die dieses Ergebnis in seiner Bedeutung relativieren (vgl. NK11 S. 1306 re. Sp. unten bis S. 1307 li. Sp. Z. 23). Auch der Hinweis in der NK11, dass bei *C. glutamicum* Promotoren insbesondere in der -35-Region eine geringere Konservierung beobachtet wird und die Erkennungsspezifität zur wichtigsten RNA-Polymerase gering ist, führt zu keiner anderen Erkenntnis (vgl. NK11 S. 1297 Abstract le. Satz, S. 1306 li. Sp. Abs. 2 Z. 14 bis 16, re. Sp. Abs. 2). Vielmehr wird der Fachmann durch diese Aussage dazu angeregt, das Hexamer der -35-Region nicht als feststehend zu betrachten, sondern durch Mutation die optimale Sequenz für den Promotor des GDH-Gens zu suchen. Als Ansatzpunkt dafür findet er in Tab. 2 – wie oben bereits dargestellt – den Hinweis, sich auf die Position 4 des Hexamers der -35-Region zu konzentrieren, da sich die Konsensussequenz in *C. glutamicum* in dieser Position von derjenigen in anderen Bakterien unterscheidet (vgl. NK11 S. 1307 Tab. 2 mit Fußnote). Darüber hinaus gehört die schrittweise Punktmutation der Hexamere in der -35- und der -10-Region von Promotoren zum Auffinden der Konsensussequenzen zur typischen Vorgehensweise des Fachmanns (vgl. z.B. NK19 Abstract, S. 3105 Tab. 2). Somit stellt das Auffinden der streitpatentgemäßen Sequenzen für den -35- und -10-Bereich des GDH-Promotors in der Zusammenschau der NK5 und der NK11 das Ergebnis einer zielgerichteten Vorgehensweise des Fachmanns und nicht das Ergebnis eines zufallsgetriebenen Forschungsprojektes dar.

**3.** Die weiteren angegriffenen Ansprüche 2, 3 und 4 des Hauptantrags bedürfen keiner isolierten Prüfung, weil die Beklagtenvertreter in der mündlichen Verhandlung erklärt haben, dass sie die Antragsstellung nach Haupt- und Hilfsanträgen als geschlossene Anspruchssätze verstehen (vgl. BGH GRUR 2007, 862 – Informationsvermittlungsverfahren II; BGH GRUR 1997, 120 – Elektrisches Speicherheizgerät; BPatG GRUR 2009, 46 – Ionenaustauschverfahren).

Das Streitpatent gemäß Hauptantrag ist damit im angegriffenen Umfang nicht bestandsfähig.

### III.

Der Gegenstand des Streitpatents erweist sich im angegriffenen Umfang auch in keiner der hilfsweise verteidigten Fassungen nach den Hilfsanträgen 1 bis 4 als patentfähig.

1. Der Patentanspruch 1 des Hilfsantrags 1 unterscheidet sich vom Patentanspruch 1 des Hauptantrags lediglich dadurch, dass in der die Promotorsequenz des CS-Gens betreffenden Alternative (ii) auch die Sequenz in der -35-Region festgelegt worden ist. Die die Promotorsequenz des GDH-Gens betreffende Alternative (i) wird unverändert beansprucht. Dasselbe gilt für den Patentanspruch 1 gemäß Hilfsantrag 2, in dem gegenüber dem Patentanspruch 1 des Hauptantrags lediglich die Alternative (ii) und als Folge davon die Alternative (iii) gestrichen worden sind.

Da sich somit der jeweilige Patentanspruch 1 dieser Hilfsanträge hinsichtlich der die Promotorsequenz des GDH-Gens betreffenden Alternative nicht von der Alternative (i) des Patentanspruchs 1 des Hauptantrags unterscheidet, gelten die vorangegangenen Ausführungen zur erfinderischen Tätigkeit auch für die Gegenstände des jeweiligen Patentanspruchs 1 dieser Hilfsanträge, so dass das Streitpatent auch in der Fassung der Hilfsanträge 1 und 2 im angegriffenen Umfang keinen Bestand hat.

2. Der Patentanspruch 1 des Hilfsantrags 3 und der wortgleiche Patentanspruch 1 des Hilfsantrags 4 ist gegenüber dem Patentanspruch 1 des Hilfsantrags 2 durch das Merkmal beschränkt, dass die besagte -35-Region und die besagte -10-Region der Promotorsequenz des GDH Gens in der Nukleinsäure ttgttgctattctgtgacactgctataatttgaacgtgagcagtaacagcc (= SEQ ID Nr. 61) enthalten sind.

**2.1.** Es ist nicht entscheidungserheblich, inwieweit der jeweilige Patentanspruch 1 der Hilfsanträge 3 und 4 zulässig ist, weil die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 jedenfalls nicht in der Lage ist, die erfinderische Tätigkeit des angegriffenen Gegenstands gegenüber der Zusammenschau der NK5 und der NK11 zu begründen.

Der Kern der streitpatentgemäßen Lehre liegt darin, durch Festlegung der Hexamersequenz in der -35- und -10-Region des Promotors die Aktivität des GDH-Gens und damit die Produktivität der Glutaminsäureproduktion in coryneformen Bakterien zu steigern. Die Streitpatentschrift stellt dabei durchgehend nur auf diese beiden Regionen ab (vgl. NK1 Abs. [0015] le. Satz, [0016], [0018], [0032], Bsp. 1). Die weiteren Sequenzabschnitte, die von der Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 neben den beiden Hexamersequenzen mitumfasst sind und die sich vom Ausgangsstamm des *Brevibacterium lactofermentum* AJ13029 herleiten, mögen zwar zum Prioritätstag des Streitpatents noch nicht bekannt gewesen sein. Sie haben aber gemäß den Angaben in der Streitpatentschrift keine technische Funktion. Denn das Streitpatent beschäftigt sich weder mit der Aufklärung der über die Hexamerbereiche hinausgehenden Struktur des GDH-Promotors und deren Funktion, noch sind laut Streitpatent die Sequenzabschnitte außerhalb der -10- und -35-Region für die Aktivität des Promotors von Bedeutung (vgl. NK1 Abs. [0031] und [0032]). Aus diesen Gründen leistet die nunmehr in den Patentanspruch 1 aufgenommene Sequenzfolge abgesehen von den beiden Hexameren keinen Beitrag zur technischen Lehre des Streitpatents, so dass die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 die erfinderische Tätigkeit des beanspruchten Verfahrens nicht begründen kann.

Die Argumentation, dass es für die Wirksamkeit der Promotoren auf die Sigma-Faktoren ankomme, weshalb auch die weiteren Sequenzabschnitte außerhalb der -10- und der -35-Region für die Aktivität der im streitpatentgemäßen Verfahren verwendeten Promotoren erfindungswesentlich seien, überzeugt nicht. Die Streitpatentschrift lässt völlig offen, welche Sigma-Faktoren für die Aktivität des GDH-Promotors verantwortlich sind. Sie konzentriert sich allein auf die Optimierung der beiden

Hexamersequenzen. Der Fachmann kann ihr daher weder Informationen dahingehend entnehmen, dass es für die streitpatentgemäße Lösung auf die weiteren Sequenzbereiche ankommt, noch an welchen Strukturen er sich bei der Entwicklung und Optimierung der weiteren Sequenzabschnitte orientieren soll.

Im Übrigen kommt es nicht darauf an, ob die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 eine Primer- oder eine Promotorsequenz darstellt. Denn dadurch wird lediglich festgelegt, zu welchem Zeitpunkt der Mutation bzw. mit welcher Methode diese Sequenz in das Chromosom eingeführt wird. Im Ergebnis unterscheidet sich das resultierende Chromosom nicht.

Der Einwand, dass man nur durch eine *ex post*-Betrachtung vom *tac* Promotor der NK5 auf die im beanspruchten Verfahren verwendete Promotorsequenz enthaltend die Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 gelangen kann, zumal der Fachmann keinen Anlass gehabt habe, sich von dem starken und gut funktionierenden *tac* Promotor abzuwenden, kann ebenfalls nicht durchgreifen. Wie bereits dargestellt, handelt es sich bei der Sequenz mit der SEQ ID Nr. 61 um eine Sequenz, bei der es streitpatentgemäß lediglich auf die Hexamere in der -35- und in der -10-Region ankommt. Bei diesen beiden Hexameren ist aber die Sequenz in der -10-Region identisch zu der Sequenz in der -10-Region des *tac* Promotors. In der -35-Region unterscheidet sich die streitpatentgemäße Sequenz lediglich in einem Nukleotid, dessen Variabilität in coryneformen Bakterien aber – wie ebenfalls bereits dargelegt (vgl. II.2.4. 1e. Abs.) – bekannt gewesen ist. Es bedurfte somit lediglich einer im Wissen und Können des Fachmanns liegenden Punktmutation dieses Nukleotids zum Auffinden eines Promotors, der zu einer verstärkten Expression des GDH-Gens für eine erhöhte Glutaminsäureproduktion in coryneformen Bakterien führt, wobei überdies lediglich ein Austausch von Adenin gegen die komplementäre Base Thymin durchzuführen ist, die bekanntermaßen nur eine schwache Veränderung der DNS-Struktur zur Folge hat. Eine erfinderische Tätigkeit wird dadurch nicht begründet.

**3.** Die weiteren angegriffenen Ansprüche 2 bis 4 der jeweiligen Hilfsanträge 1 und 2 bzw. der weitere Anspruch 2 des Hilfsantrags 3 bedürfen keiner isolierten

Prüfung, da die Antragsstellung der Hilfsanträge wie bereits ausgeführt als geschlossene Anspruchssätze zu verstehen sind (vgl. II.3.).

#### IV.

Die Kostenentscheidung beruht auf § 84 Abs. 2 PatG i. V. m. § 91 Abs. 1 ZPO.

Die Entscheidung über die vorläufige Vollstreckbarkeit folgt aus § 99 Abs. 1 PatG i. V. m. § 709 Satz 1 und Satz 2 ZPO.

#### V.

Gegen dieses Urteil ist das Rechtsmittel der Berufung gegeben.

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

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

Schramm

Martens

Dr. Münzberg

Dr. Jäger

Dr. Wagner