



BUNDESGERICHTSHOF

IM NAMEN DES VOLKES

URTEIL

X ZR 15/19

Verkündet am:
17. Dezember 2020
Anderer
Justizangestellte
als Urkundsbeamtin
der Geschäftsstelle

in der Patentnichtigkeitssache

Der X. Zivilsenat des Bundesgerichtshofs hat auf die mündliche Verhandlung vom 17. Dezember 2020 durch den Richter Dr. Grabinski, die Richterinnen Dr. Kober-Dehm, Dr. Marx und Dr. Rombach sowie den Richter Dr. Rensen

für Recht erkannt:

Die Berufung gegen das Urteil des 3. Senats (Nichtigkeitssenats) des Bundespatentgerichts vom 2. Oktober 2018 wird auf Kosten der Klägerin zurückgewiesen.

Von Rechts wegen

Tatbestand:

1 Die Beklagte ist eingetragene Inhaberin des am 21. November 2002 angemeldeten und mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland erteilten europäischen Patents 1 449 918 (Streitpatent). Das Streitpatent nimmt die Prioritäten der russischen Anmeldungen 2001131571 und 2002121670 vom 23. November 2001 und 14. August 2002 in Anspruch. Es betrifft ein Verfahren zur L-Aminosäureproduktion und umfasst insgesamt neun Patentansprüche, von denen die Patentansprüche 2 bis 4 auf Patentanspruch 1 und die Patentansprüche 6 und 7 auf Patentanspruch 5 zurückbezogen sind. Die Patentansprüche 1 und 5 lauten in der Verfahrenssprache wie folgt:

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.

- 2 Die Klägerin, die mit ihrer Klage die Rechtsbeständigkeit des Streitpatents im Umfang der Patentansprüche 1 bis 7 angreift, sieht die streitpatentgemäße Lehre insoweit als nicht ausführbar offenbart an. Zudem gehe der Gegenstand des Streitpatents im angegriffenen Umfang über den Inhalt der Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinaus und beruhe nicht auf erfinderischer Tätigkeit.
- 3 Das Patentgericht hat die Klage abgewiesen. Dagegen wendet sich die Klägerin mit ihrer Berufung. Die Beklagte tritt dem Rechtsmittel entgegen und verteidigt das Streitpatent in der erteilten Fassung sowie mit fünf Hilfsanträgen.

Entscheidungsgründe:

4 Die Berufung ist zulässig, aber nicht begründet.

5 I. Das Streitpatent betrifft ein L-Aminosäuren herstellendes, modifiziertes Bakterium der Gattung *Escherichia coli* mit erhöhter L-Aminosäureproduktion im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm.

6 1. Für die industrielle Produktion von L-Aminosäuren durch Fermentation werden nach der Beschreibung in der Streitpatentschrift (SPS) native oder mutierte Mikroorganismen modifiziert, um die L-Aminosäure-Produktivität zu steigern (SPS Abs. 2). Insoweit sei bekannt, Mikroorganismen durch rekombinante DNA im Sinne einer gesteigerten Aktivität derjenigen Enzyme zu verändern, die an der Aminosäure-Biosynthese beteiligt sind. Alternativ könne eine Entkopplung der Zielenzyme von der Endprodukthemmung durch die hergestellten L-Aminosäuren stattfinden (SPS Abs. 3). Die Produktion von Aminosäuren könne aber auch dadurch angeregt werden, dass verstärkt Aminosäure ausgeschieden werde. So verfüge etwa das Lysin produzierende *Coryne*-Bakterium über eine erhöhte Expression des L-Lysin-Exkretions-Gens *lysE*, das wiederum für den Export von Lysin verantwortlich sei. Es seien zudem Gene bekannt, die Effluxproteine für das Ausscheiden bestimmter Aminosäuren kodierten (SPS Abs. 4).

7 Im Stand der Technik seien auch schon einige *Escherichia coli*-Gene beschrieben, die vermeintliche Membranproteine zur Erhöhung der Produktivität kodierten. Es sei etwa bekannt, dass zusätzliche Kopien bestimmter Gene die Resistenz eines Bakteriums gegenüber bestimmten L-Aminosäuren erhöhten und die Produktion bestimmter L-Aminosäuren steigerten (SPS Abs. 5). Das *rhtA*-Gen des *Escherichia*-Bakteriums kodiere ein Protein aus 295 Aminosäureresten. Eine Untersuchung der Nukleotidsequenz dieses Proteins habe zehn homologe

Proteine von *rhtA* ergeben, unter denen sich wiederum Proteine befänden, welche durch *YdeD*- und *YddG*-Gene kodiert würden. Zudem sei bekannt, dass das *YddG*-Gen möglicherweise ein Protein unbekannter Funktion kodiere (Abs.9).

8 2. Das Patentgericht hat das dem Streitpatent zugrundeliegende Problem darin gesehen, einen Mikroorganismus und ein verbessertes Verfahren für die Produktion von L-Phenylalanin und L-Tryptophan zur Verfügung zu stellen. Diese Definition der Aufgabenstellung ist zu eng, da Elemente, die zur erfindungsgemäßen Lösung gehören, bei der Bestimmung des der Erfindung zugrundeliegenden Problems nicht berücksichtigt werden dürfen (BGH, Urteil vom 11. November 2014 - X ZR 128/09, GRUR 2015, 356 Rn. 9 - Repaglinid).

9 Es mag zwar sein, dass die Streitpatentschrift, soweit sie sich mit einzelnen Aminosäuren befasst, vor allem die Produktion dieser beiden Aminosäuren im Blick hat. Das rechtfertigt es jedoch nicht, den Ausgangspunkt fachmännischer Bemühungen um eine Bereicherung des Stands der Technik ohne Kenntnis der Erfindung, dessen Bestimmung die Definition des technischen Problems im Nichtigkeitsverfahren dient, auf diese beiden Aminosäuren zu beschränken. Vielmehr ist das dem Streitpatent zugrundeliegende technische Problem allgemein dahin zu formulieren, dass ein Mikroorganismus oder ein Verfahren mit verbesserter Produktion einer oder mehrerer L-Aminosäuren zur Verfügung gestellt werden soll.

10 3. Zu dessen Lösung schlägt das Streitpatent in Patentanspruch 1 ein Bakterium mit den folgenden Merkmalen vor:

1	<i>An L-amino acid producing bacterium belonging to the genus Escherichia</i>	<i>Ein L-Aminosäure produzierendes Bakterium der Gattung Escherichia,</i>
---	---	---

2	<i>wherein the L-amino acid production by said bacterium is enhanced as compared to an unmodified strain</i>	<i>wobei die L-Aminosäureproduktion durch das Bakterium im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm erhöht ist,</i>
2.1	<i>by enhancing the activity of a protein (A) or (B) in a cell of said bacterium,</i>	<i>indem die Aktivität eines Proteins (A) oder (B) in einer Zelle des Bakteriums erhöht ist,</i>
2.1.1	<i>by transformation of said bacterium with DNA coding for the protein (A) or (B) or</i>	<i>durch Transformation des Bakteriums mit für das Protein (A) oder (B) codierender DNA oder</i>
2.1.2	<i>by introducing multiple copies of the DNA coding for a protein (A) or (B) into a bacterial chromosome,</i>	<i>durch Einführen mehrfacher Kopien von für ein Protein (A) oder (B) kodierender DNA in ein Bakterienchromosom</i>
2.2	<i>or the L-amino acid production of 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.</i>	<i>oder die L-Aminosäureproduktion durch das Bakterium ist erhöht, indem die DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz gestellt wird, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz ist.</i>
3	<i>Protein (A) comprises the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:2 in Sequence listing.</i>	<i>Protein (A) umfasst die in SEQ ID Nr. 2 des Sequenzprotokolls gezeigte Aminosäuresequenz.</i>
4	<i>Protein (B) comprises</i>	<i>Protein (B) umfasst</i>

4.1	<i>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</i>	<i>eine Aminosäuresequenz, einschließlich Deletion, Substitution, Insertion oder Addition von einer bis 30 Aminosäuren gemäß SEQ ID Nr. 2 des Sequenzprotokolls und</i>
4.2	<i>has an activity of making bacterium have resistance to L-phenylalanine, p-fluoro-phenylalanine or 5-fluoro-DL-tryptophan.</i>	<i>hat die Fähigkeit, ein Bakterium gegen L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-tryptophan resistent zu machen.</i>

11 4. Mit dem Patentgericht ist als Fachperson ein wissenschaftlich ausgewiesener Biotechnologe mit mehrjähriger Berufserfahrung auf dem Gebiet der Produktion von Aminosäuren im Wege der Fermentation unter Verwendung von genetisch veränderten Mikroorganismen anzusehen.

12 5. Aus der Sicht einer solchen Fachperson ist Patentanspruch 1 wie folgt auszulegen:

13 a) Gegenstand des Patentanspruchs 1 ist ein L-Aminosäure produzierendes Bakterium der Gattung Escherichia (Merkmal 1), mithin ein solches Bakterium, das fähig ist, eine L-Aminosäure in einem Medium zu erzeugen und zu akkumulieren, wenn das Bakterium in dem Medium kultiviert wird. Die Fähigkeit, L-Aminosäuren zu produzieren, kann das Bakterium als Eigenschaft eines Wildstamms besitzen oder sie kann durch eine Züchtung sowie eine Veränderung beliebiger Art und Weise verliehen oder gesteigert worden sein (SPS Abs. 16).

14 Als von dem Bakterium erzeugbare L-Aminosäure kommen insbesondere L-Phenylalanin und L-Tryptophan in Betracht. In der Beschreibung wird ein L-Phenylalanin oder L-Tryptophan produzierendes Bakterium der Gattung

Escherichia als "bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bakteriums" bezeichnet (SPS Abs. 17: "Preferred embodiment of the bacterium of the present invention ..."). Damit sind aber Escherichia-Bakterien, die andere L-Aminosäuren erzeugen können, nicht von vornherein von der Lehre des Patentanspruchs 1 ausgeschlossen.

15 Für ein solches Verständnis spricht auch Patentanspruch 5, der ein Verfahren zur Produktion allein von "L-Tryptophan und L-Phenylalanin" unter Schutz stellt. Demgegenüber wird in Patentanspruch 1 als Schutzgegenstand allgemein "ein L-Aminosäure produzierendes Bakterium" genannt und finden L-Tryptophan und L-Phenylalanin auch sonst keine Erwähnung.

16 Das Patentgericht hat zwar zutreffend darauf hingewiesen, dass sich die Beschreibung vor allem mit der Produktion von L-Tryptophan und L-Phenylalanin befasst. Das rechtfertigt es jedoch nicht, den Gegenstand von Patentanspruch 1 auf Escherichia-Bakterien zu beschränken, die diese L-Aminosäuren erzeugen können. Denn eine solche Beschränkung hat im Patentanspruch 1 bei Berücksichtigung gerade auch der beschreibungsgemäßen Definition "eines L-Aminosäure produzierenden Bakteriums" keinen Niederschlag gefunden.

17 b) Bei dem erfindungsgemäßen Escherichia-Bakterium muss die Produktion einer L-Aminosäure im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm erhöht sein (Merkmal 2) und zwar infolge einer Erhöhung der Aktivität des Proteins (A) oder (B) in einer Zelle des Bakteriums.

18 c) Die Erhöhung der Aktivität des Proteins (A) oder (B) und damit die Fähigkeit des Escherichia-Bakteriums zu einer insoweit erhöhten Produktion der L-Aminosäure muss auf einer der folgenden drei Veränderungen des Bakteriums im Vergleich zu einem nicht modifizierten Stamm beruhen:

- aa) Transformation des Bakteriums mit DNA, die das Protein (A) oder (B) kodiert (Merkmal 2.1.1),
- bb) Einführung mehrfacher Kopien der DNA, die das Protein (A) oder (B) kodiert, in ein Bakterienchromosom (Merkmal 2.1.2) oder
- cc) Stellung der DNA, die das Protein (A) oder (B) kodiert, unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker ist als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz (Merkmal 2.2).

19 d) Nach der Variante des Merkmals 2.2 weist das Bakterium eine - im Vergleich zu dem nicht modifizierten Stamm - veränderte Expressionsregulationssequenz auf, die zwei Voraussetzungen erfüllen muss: Die Sequenz muss derart relativ zu der für ein Protein (A) oder (B) kodierenden DNA positioniert sein, dass deren Expressionsverhalten unter die Kontrolle der Sequenz gestellt ist bzw. von dieser "reguliert" wird. Diese Regulation muss zu einer stärkeren Genexpression führen als es bei der in SEQ ID Nr. 9 gezeigten Sequenz der Fall ist. Weitere Vorgaben sieht Merkmal 2.2 weder hinsichtlich einer Veränderung im Zusammenhang mit der DNA noch die Wirkung der Veränderung betreffend vor.

20 aa) Patentanspruch 1 enthält damit zumindest in der Variante des Merkmals 2.2 keine Verfahrensmerkmale, sondern stellt das Escherichia-Bakterium in einem gegenüber dem nicht modifizierten Stamm - im vorgenannten Sinne - veränderten Zustand unter Schutz. Selbst wenn jedoch in der Veränderung des Bakteriums gegenüber dem nicht modifizierten Stamm im Hinblick auf den Wortlaut des Merkmals 2.2 ("by locating") ein Verfahrensschritt zu sehen sein sollte, ergeben sich daraus jedenfalls keine körperlichen oder funktionalen Eigenschaften des veränderten Bakteriums, die über die genannten beiden Voraussetzungen hinausgehen (vgl. BGH, Urteil vom 19. Juni 2001 - X ZR 159/98, GRUR 2001, 1129, 1133 - zipfelfreies Stahlband).

- 21 bb) Die Steigerung der Genexpression kann dadurch erreicht werden, dass die DNA unter die Kontrolle eines stärkeren als des nativen Promotors (Promotor, den das nicht im Sinne des Streitpatents veränderte Bakterium aufweist) gebracht wird. Dabei wird die Stärke des Promotors durch die Häufigkeit der Initiation der RNA-Synthese bestimmt (SPS Abs. 28).
- 22 cc) In der Beschreibung wird im Hinblick auf Verfahren zur Bewertung der Stärke des Promotors und Beispiele für starke Promotoren auf einen Beitrag von Deuschle et al. Bezug genommen (Deuschle/Kammerer/Gentz/Bujard, Promotors of Escherichia coli: a hierarchy of in vivo strength indicates alternate structures, EMBO Journal 1985, S. 2987 ff.; NiK50). Darin werden nach den Feststellungen des Patentgerichts heterologe und homologe Promotoren von Escherichia coli genannt (vgl. S. 2988, Tab I).
- 23 dd) Entgegen der Ansicht des Patentgerichts kommen als Expressionsregulationssequenz im Sinne der Erfindung auch zum Prioritätszeitpunkt noch nicht bekannte homologe Promotoren in Betracht, die auf eine ortsspezifische ("site-directed") Mutagenese der SEQ ID Nr. 9 oder eine genomweite Zufallsmutagenese zurückgehen. Denn eine Beschränkung der durch Merkmal 2.2 unter Schutz gestellten Erfindungsvariante auf zum Prioritätszeitpunkt bekannte heterologe oder homologe Promotoren als Expressionsregulationssequenz ist weder Patentanspruch 1 noch der Beschreibung zu entnehmen. In der Beschreibung wird lediglich erwähnt, dass eine Steigerung der Genexpression erreicht werden "kann", wenn die DNA unter die Kontrolle eines stärkeren Promotors anstatt des nativen Promotors gebracht wird (SPS Abs. 28).
- 24 ee) Diesem Verständnis steht auch nicht entgegen, dass in den auf Patentanspruch 1 zurückbezogenen Patentansprüchen 2 und 3 ein Bakterium unter Schutz gestellt wird, bei dem die Transformation mittels eines die DNA enthal-

tenden Mehrkopienvektors durchgeführt oder für die Expressionsregulationssequenz ein PL-Promotor, ein lac-Promotor, ein trp-Promotor oder ein trc-Promotor ausgewählt worden ist. Denn insofern handelt es sich nur um spezielle Ausführungsformen der Erfindungsvariante des Merkmals 2.2.

25 ff) Entgegen der Ansicht der Klägerin und ihres Privatgutachters (NiK34/34a, Rn. 56 ff.; NiK36/36a Rn. 19) ist dem Wortlaut des Merkmals 2.2 auch keine Beschränkung der Lehre des Streitpatents auf nicht native Promotoren zu entnehmen. Mit der Formulierung "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" ist ausschließlich zum Ausdruck gebracht, dass die Nukleotidsequenz der nativen Expressionsregulationssequenz verändert worden ist. Hingegen ist es in das Belieben der Fachperson gestellt, ob sie diese Veränderung durch Ersetzen des nativen durch einen anderen Promotor oder durch eine andere Veränderung der Nukleotidsequenz des nativen Promotors verwirklicht. Entscheidend ist nur, dass es zu einer Änderung der Nukleotidsequenz des Promotors kommt, die zu einer Steigerung der Genexpression im Vergleich mit der SEQ ID Nr. 9 führt (vgl. SPS Abs. 28).

26 gg) Einem solchen Verständnis stehen auch die Äußerungen der Anmelderin im Erteilungsverfahren nicht entgegen. Nach der Rechtsprechung des Senats können solche Äußerungen zwar als Indiz dafür herangezogen werden, wie ein Fachmann den Gegenstand des Patents zum Prioritätszeitpunkt verstanden hat (BGH, Urteil vom 5. Juni 1997 - X ZR 73/95, NJW 1997, 3377, 3380 - Weichvorrichtung II; Urteil vom 14. Juni 2016 - X ZR 29/15, BGHZ 211, 1 Rn. 39 - Pemetrexed). In der Eingabe der Beklagten vom 30. Juni 2009 zur Beantwortung des Bescheides der Prüfungsabteilung des Europäischen Patentamtes vom 6. Februar 2009, finden sich unter der Überschrift "II. Clarity" neben Änderungen des Patentanspruchs 1, die zu den drei oben genannten Varianten geführt haben, auch Hinweise zu im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Erhöhen der

Genexpression durch Lokalisieren von DNA unter der Kontrolle von potenten Promotoren. Dass die Beklagte Merkmal 2.2 dahin verstanden hat, dass sich dieses allein auf die Promotoren als Expressionsregulationssequenz beschränkt, die in diesem Stand der Technik offenbart sind, ist der Eingabe jedoch nicht zu entnehmen.

27 e) Die DNA, die für die Modifizierung des anspruchsgemäßen Bakteriums verwendet wird, kann für ein Protein mit L-Aminosäureexkretionsaktivität kodieren. Die DNA wird durch das YddG-Gen repräsentiert. Das YddG-Gen kann beispielsweise durch PCR unter Verwendung von Primern basierend auf der Nukleotidsequenz in SEQ ID Nr. 1 (SPS Abs. 67) erhalten werden (SPS Abs. 21).

28 II. Das Patentgericht hat seine Entscheidung im Wesentlichen wie folgt begründet:

29 Die Patentansprüche 1 bis 7 seien nicht unzulässig erweitert, da deren Gegenstand auf den Offenbarungsgehalt der Ursprungsanmeldung zurückgehe. Ursprünglich offenbart sei insbesondere auch Merkmal 2.3. Anspruch 2 der Ursprungsanmeldung sehe die Erhöhung der Aktivität der Proteine durch eine veränderte Expressionsregulationssequenz vor. Als native Expressionsregulationssequenz des YddG-Gens werde die Sequenz SEQ ID Nr. 9 offenbart, welche wiederum durch eine einen stärkeren bekannten Promoter kodierende Sequenz substituiert werde. Der Fachmann entnehme den ursprünglichen Anmeldeunterlagen mit Blick auch auf Beispiel 4, dass das YddG-Gen durch die Einführung einer neuen Expressionsregulationssequenz eine stärkere Expression als unter der nativen Sequenz SEQ ID Nr. 9 erfahre.

30 Die Erfindung sei auch so deutlich und vollständig offenbart, dass ein Fachmann sie auszuführen vermöge.

31 Das Streitpatent gebe dem Fachmann für das Stellen der DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, die stärker sei als die native Sequenz gemäß SEQ ID Nr. 9, geeignete Promotoren an die Hand, indem es bestimmte Promotoren ausdrücklich benenne, die im Übrigen auch in der NiK50 beschrieben seien. Nach Beispiel 4 werde die native Aufwärtsstromregion des YddG-Gens durch den PL-Promotor und die SD-Sequenz des lacZ-Gens von Escherichia coli mit üblichen Techniken ersetzt. Damit werde dem Fachmann ein gangbarer Weg der Ersetzung aufgezeigt. Die modifizierten Escherichia-Bakterien müsse der Fachmann auf eine erhöhte Expression des Exporterproteins YddG testen. Das Streitpatent sehe in Beispiel 5 einen entsprechenden Aktivitätstest vor. Dessen Ergebnisse seien insoweit aussagekräftig als sie eine mittlere Steigerung der L-Tryptophankonzentration um 12 % aufzeigten. Die angegebenen Mittelwerte der L-Tryptophankonzentrationen deuteten zwar auf eine größere Streuung bei den gemessenen Konzentrationen des modifizierten Stamms im Vergleich zum nativen Stamm hin. Daraus folge aber nicht, dass die angegebenen Mittelwerte identisch seien und folglich keine Aktivitätssteigerung nachgewiesen worden sei. Die ausführbare Offenbarung rechtfertige nicht nur den Schutz von Bakterien, die bekannte heterologe Promotoren anstelle der Sequenz SEQ ID Nr. 9 aufwiesen, sondern auch solcher Bakterien, in denen das YddG-Gen mit einer homologen Expressionsregulationssequenz anderer bekannter Escherichia-Stämme verbunden sei.

32 Ausführbar seien auch die Varianten des YddG-Proteins der Alternative (B) in Patentanspruch 1. Für das Herstellen der hier vorgesehenen Varianten lehre das Streitpatent den Fachmann, die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des YddG-Gens einer Mutagenese zu unterziehen, wobei konventionelle Verfahren verwendet werden könnten. Zur Evaluation werde 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

nenne das Streitpatent dem Fachmann in der Beschreibung und in Tabelle 1 allgemeine Konzentrationsbereiche. Ausgehend davon werde der Fachmann mittels üblicher Versuche geeignete Hemmstoffkonzentrationen für die zu testenden Bakterien bestimmen. Zwar hingen die Resistenz und der Umsatz auch von dem verwendeten Vektor ab. Das Streitpatent zeige aber exemplarisch acht Mehrfachkopienvektoren, die sich für die Aminosäureproduktion in Escherichia-Bakterien eigneten. Den produktionsstärksten Vektor könne der Fachmann danach im Rahmen eines routinemäßigen Screenings ermitteln.

33 Auch Variante (B) gehe nicht über die dem Fachmann in der Beschreibung an die Hand gegebene Lösung hinaus. Der Fachmann könne im Rahmen eines ihm bekannten Bibliotheksscreenings Varianten ermitteln und diese auf eine verstärkte Produktion der L-Aminosäuren in üblichen Expressionsversuchen testen. Der dazu erforderliche Aufwand übersteige den auf dem einschlägigen Fachgebiet zumutbaren Rahmen nicht. Das Streitpatent müsse auch kein Ausführungsbeispiel für Variante (B) zeigen. Denn eine Erfindung sei schon dann ausführbar offenbart, wenn die in dem Streitpatent enthaltenen Angaben dem fachmännischen Leser so viel an technischer Information vermittele, dass er die Erfindung ausführen könne. Das sei der Fall, weil das Streitpatent dem Fachmann mit den beispielhaft genannten Mutagenese-Bedingungen, den genannten Vektoren sowie dem Assay in Beispiel 2 ausreichende Informationen an die Hand gebe.

34 Der Gegenstand des Streitpatents beruhe auf erfinderischer Tätigkeit.

35 NiK14 (Martin-Sanguino/Torres, "Optimization of Tryptophan in Bacteria. Design of a Strategy for Genetic Manipulation of the Tryptophan Operon for Tryptophan Flux Maximization", Biotechnol. Prog. 2000, 16, 133-145), die das hier maßgebliche Fachgebiet betreffe, habe eine Untersuchung der Tryptophan-Biosynthese in Escherichia coli mittels einer Methode unter Variieren der vier mit Tryptophan zusammenhängenden Schlüsselparameter zum Gegenstand. Der

Vorveröffentlichung zufolge bestehe die einzige Möglichkeit zur Steigerung des Tryptophan-Efflux in einer Überexpression des für den Transport von Tryptophan durch die Cytoplasmamembran verantwortlichen Transporter-Proteins, das als Exporter für L-Tryptophan fungiere. In NiK14 fänden sich aber weder Hinweise auf ein Exporter-Gen für ein solches Exporter-Protein noch darauf, wie eine Überexpression des Gens praktisch realisiert werden könne. Der Fachmann werde daher weiter nach Exporter-Genen für aromatische Aminosäuren und Techniken für deren Überexpression suchen. Insoweit habe sich aber weder aus NiK9 (Santiviago et al., "A chromosomal region surrounding the ompD porin gene marks a genetic difference between *Salmonella typhi* and the majority of *Salmonella* serovars", *Microbiology* 2001, 147, 1897-1907) noch aus der im Prioritätsintervall veröffentlichten NiK11 (Santiviago et al., "The *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* smvA, yddG and ompD (porin) genes are required for the efficient efflux of methyl viologen", *Molecular Microbiology* 2002, 46(3), 687-698) ergeben, dass YddG als Exporter für die aromatischen Aminosäuren L-Tryptophan und L-Phenylalanin eingesetzt werden könne.

36 NiK20 (US-amerikanisches Patent 4 742 007) lehre ein Verfahren zur Produktion von L-Tryptophan durch Fermentation mittels Corynebakterien, die gegen Methylviologen resistent seien. Aus der Resistenz gegen Methylviologen könne aber weder geschlossen werden, dass ein Exporter für das Ausschleusen des Gifts aus der Zelle verantwortlich sei, noch, dass ein solcher Exporter die Produktion von L-Tryptophan fördere.

37 Aus NiK7 (europäisches Patent 1 016 710) seien die Exportergene YeaS, YfiK, YahN und YggA bekannt, deren Überexpression zu einer Erhöhung der L-Aminosäuren-Produktion in *Escherichia*-Bakterien führe. Da sich die Lehre von NiK7 aber nur auf die Produktion nicht-aromatischer Aminosäuren beziehe, ergäben sich keine Hinweise auf Exporter-Gene für die Produktion aromatischer Aminosäuren.

38 III. Die Beurteilung des Patentgerichts hält der Überprüfung im Beru-
fungsverfahren im Ergebnis stand.

39 1. Der Gegenstand von Patentanspruch 1 geht auch in Bezug auf das
Merkmal 2.2 nicht über den Inhalt der ursprünglichen Anmeldung hinaus.

40 a) Wie das Patentgericht zutreffend ausgeführt hat, ist in Anspruch 2
der Ursprungsanmeldung offenbart, dass die Aktivität der Proteine (A) oder (B)
durch eine Veränderung der Expressionsregulationssequenz der DNA auf dem
Chromosom des Bakteriums gesteigert werden kann (NiK31: "... said activities
of proteins as defined as (A) or (B) is enhanced ... by alteration of expression
regulation sequence of said DNA on the chromosome of the bacterium.").

41 b) Aus der Beschreibung der Ursprungsanmeldung geht zudem her-
vor, dass die Steigerung der Genexpression durch Stellen der DNA unter die
Kontrolle eines stärkeren Promotors als des nativen Promotors erreicht werden
kann (NiK31, S. 11 unten: "... the enhancement of gene expression can be achie-
ved by locating the DNA of the present invention under control of more potent
promoter instead of the native promoter"). Die insoweit in der Ursprungsanmel-
dung verwendete Formulierung "by locating ... under control of" ist identisch mit
der Formulierung in Merkmal 2.2. Wie bereits in Zusammenhang mit der Ausle-
gung von Patentanspruch 1 des Streitpatents erläutert, ist mit dieser Formulier-
ung ausschließlich der Umstand angesprochen, dass die DNA der Kontrolle
eines veränderten Promotors bzw. im Hinblick auf Anspruch 2 der Ursprungsan-
meldung einer veränderten Expressionsregulationssequenz unterstellt wird, mit-
hin von diesem bzw. dieser reguliert wird. In diesem Sinne erfolgt die Regulation
des Genexpressionsverhalten durch den potenteren Promotor anstelle ("instead
of") des nativen Promotors. Sowohl nach der Ursprungsanmeldung als auch nach
Merkmal 2.2 tritt demnach nicht ein bestimmter Promotor an die Stelle eines an-

deren, sondern die Wirkung des nativen Promotors wird durch eine stärkere Wirkung ersetzt. Auch insoweit ist Merkmal 2.2 ursprungsoffenbart. Die weiterhin in der Beschreibung konkret angegebenen Promotoren werden ausdrücklich nur als Beispiele für bekannte potente Promotoren aufgeführt (NiK31, S. 11 letzter Abs., letzter Satz bis S. 12, Ende Abs. 1).

42 c) Schließlich ergibt sich im Zusammenhang mit der Beschreibung des Beispiels 4 der Ursprungsoffenbarung, dass die nukleotide Sequenz der stromaufwärts des YddG-Gens befindlichen substituierten nativen Region der SEQ ID Nr. 9 entspricht, so dass deren Expressionsverhalten aus fachlicher Sicht auch ohne weiteres als Vergleichsmaßstab für die Stärke des Expressionsverhaltens des veränderten Promotors bzw. der veränderten Expressionsregulationssequenz in Betracht kommt.

43 2. Die Erfindung nach Patentanspruch 1 ist im Streitpatent so deutlich und vollständig offenbart, dass ein Fachmann sie ausführen kann.

44 a) Eine für die Ausführbarkeit ausreichende Offenbarung ist gegeben, wenn der Fachmann ohne erfinderisches Zutun und ohne zumutbare Schwierigkeiten in der Lage ist, die Lehre des Patentanspruchs aufgrund der Gesamtoffenbarung der Patentschrift in Verbindung mit dem allgemeinen Fachwissen so zu verwirklichen, dass der angestrebte Erfolg erreicht wird. Dabei reicht es aus, wenn dem Fachmann ein allgemeines Lösungsschema an die Hand gegeben wird. Der Patentanspruch muss nicht alle zur Ausführung der Erfindung erforderlichen Angaben enthalten (BGH, Urteil vom 25. Februar 2010 - Xa ZR 100/05, GRUR 2010, 414 Rn. 23 - Thermoplastische Zusammensetzung; Urteil vom 13. Juli 2010 - Xa ZR 126/07, GRUR 2010, 916 Rn. 17 - Klammernahtgerät).

45 Es ist auch nicht erforderlich, dass alle denkbaren unter den Wortlaut des Patentanspruchs fallenden Ausgestaltungen ausführbar offenbart sind. Ausrei-

chend ist, wenn zumindest ein nacharbeitbarer Weg zur Ausführung der Erfindung offenbart worden ist (BGH, Urteil vom 1. Oktober 2002 - X ZR 112/99, GRUR 2003, 223 [225] - Kupplungsvorrichtung II; Urteil vom 11. Mai 2010 - X ZR 51/06, GRUR 2010, 901 Rn. 36 - Polymerisierbare Zementmischung; Urteil vom 3. Februar 2015 - X ZR 76/13, GRUR 2015, 472 Rn. 34 - Stabilisierung der Wasserqualität).

46 Ob die Fassung eines Patentanspruchs, die eine Verallgemeinerung enthält, dem Erfordernis einer ausführbaren Offenbarung genügt, richtet sich danach, ob damit ein Schutz beansprucht wird, der sich im Rahmen dessen hält, was dem Patent aus Sicht des Fachmanns unter Berücksichtigung der Beschreibung und der darin enthaltenen Ausführungsbeispiele als allgemeinste Form der technischen Lehre zu entnehmen ist, durch die das der Erfindung zugrundeliegende Problem gelöst wird (BGH, Beschluss vom 11. September 2013 - X ZB 8/12, GRUR 2013, 1210 Rn. 31 - Dipeptidyl-Peptidase-Inhibitoren; Urteil vom 12. März 2019 - X ZR 32/17, GRUR 2019, 713 Rn. 42 - Cer-Zirkonium-Mischoxid I).

47 b) Nach diesen Grundsätzen ist die Erfindung im Streitfall ausführbar offenbart.

48 aa) Das gilt zunächst für die in Merkmal 2.2 unter Schutz gestellte Variante des Escherichia-Bakteriums.

49 (1) Nach den Feststellungen des Patentgerichts gibt das Streitpatent 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.

- 50 (a) Als verfügbare Promotoren werden in der Beschreibung der P_L-Promotor des Lambda-Phagen und die Promotoren trp, trc sowie lac sowie weitere aus der NiK50 bekannte heterologe oder homologe Promotoren genannt (SPS Abs. 28).
- 51 (b) In Beispiel 4 des Streitpatents ist beschrieben, dass die native Stromaufwärtsregion (upstream region) des YddG-Gens (SEQ ID Nr. 9) durch einen P_L-Promotor und die Shine-Dalgarno-Sequenz des lacZ-Gens mit den üblichen Techniken ersetzt wurde (SPS Abs. 52 ff.).
- 52 (c) In Beispiel 5 des Streitpatents ist ein Test beschrieben, mit dem die Wirkung der gesteigerten YddG-Genexpression auf die Tryptophan-Produktion gemessen werden kann. Dafür wurde der in dem US-amerikanischen Patent 6 180 373 und dem europäischen Patent 662 143 vorbeschriebene L-Tryptophan-produzierende Escherichia coli Ausgangsstamm SV164 (pGH5) und der modifizierte Stamm SV164 PL-yddG (pGH5) für 18 Stunden unter Schütteln bei 37° C in einer 3 ml Nährlösung, ergänzt um 20µg/ml Tetracyclin als Marker für pGH5 Plasmid, kultiviert und anschließend 0,3 ml der erhaltenen Kultur in 3 ml eines Fermentationsmediums enthaltend Tetracyclin (20 µg/ml) in einem 20 x 200 mm Teströhrchen inokuliert und für 48 Stunden bei 37°C in einem Rotationschüttler bei 250 min⁻¹ kultiviert. Sodann wurde die Menge an Tryptophan bestimmt, die sich im Medium angesammelt hatte. Im Falle des Stamms SV164 (pGH5) ergab sich eine Menge an Tryptophan (g/l) von 3,72 +/- 0,13 und im Falle des Stamms SV164 PL-yddG (pGH5) eine Menge von 4,17 +/- 0,35 (SPS Abs. 60 ff.; Tabelle 4).
- 53 (d) Im Streitpatent ist damit ein nacharbeitbarer Weg zur Ausführung der in Merkmal 2.2 unter Schutz gestellten Variante des Escherichia-Bakteriums offenbart. Den Messergebnissen des Beispiels 5 kann eine mittlere Steigerung der L-Tryptophankonzentration um 12 % entnommen werden. Daran ändert auch

der Umstand nichts, dass sich die gemessenen Werte im Streubereich leicht überschneiden. Denn daraus lässt sich, wie bereits das Patentgericht zutreffend ausgeführt hat, nicht ableiten, dass die angegebenen Mittelwerte identisch sind und folglich keine Aktivitätssteigerung nachgewiesen wurde. Das Patentgericht hat in diesem Zusammenhang auch zu Recht darauf hingewiesen, dass der Klägerin die nähere Darlegung und der Nachweis der Identität beider Werte obliegen hätte (vgl. BGH, Urteil vom 11. Mai 2010 - X ZR 51/06, GRUR 2010, 901 Rn. 31 - Polymerisierbare Zementmischung), sie dem aber nicht nachgekommen ist.

54 (2) Die ausführbare Offenbarung rechtfertigt nicht nur den Schutz von Bakterien der Gattung *Escherichia*, bei denen die L-Aminosäureproduktion des Bakteriums dadurch erhöht wird, dass das YddG-Protein (Protein A) oder eine strukturelle Variante desselben (Protein B) kodierende DNA unter die Kontrolle eines der in der Beschreibung (SPS Abs. 28) genannten stärkeren Promotoren gestellt worden ist, sondern auch den Schutz von *Escherichia*-Bakterien, bei denen die L-Aminosäureproduktion des Bakteriums dadurch erhöht wird, dass die das YddG-Protein oder eine strukturelle Variante desselben kodierende DNA unter die Kontrolle einer anderen Expressionsregulationssequenz gestellt wurde, die stärker als die in SEQ ID Nr. 9 gezeigte Sequenz ist. Denn der Beitrag der Lehre aus Patentanspruch 1 zum Stand der Technik liegt - in seiner allgemeinsten Form, mit der das dem Anspruch zugrundeliegende Problem, einen Mikroorganismus mit verbesserter Produktion einer L-Aminosäure zur Verfügung zu stellen, gelöst wird - darin, dass die Möglichkeit aufgezeigt wird, die Produktion einer L-Aminosäure in *Escherichia*-Bakterien durch eine gesteigerte Aktivität des YddG-Proteins oder einer strukturellen Variante desselben zu erhöhen, indem die das YddG-Protein oder die strukturelle Variante desselben kodierende DNA in einer der drei in den Merkmalen 2.1 bis 2.2 genannten Varianten gegenüber ihrem nicht-mutierten Zustand verändert wird.

- 55 (3) Insofern ist es auch unerheblich, ob unter die Variante des Merkmals 2.2 auch Escherichia-Bakterien fallen, bei denen die das YddG-Protein oder eine strukturelle Variante desselben kodierende DNA unter die Kontrolle einer Expressionsregulationssequenz, wie etwa homologe Promotoren, die auf eine ortsspezifische ("site-directed") Mutagenese der das YddG-Protein kodierenden DNA oder eine genomweite Zufallsmutagenese zurückgehen, gestellt wird, die zum Prioritätszeitpunkt noch nicht bekannt gewesen ist und für deren Auffinden es erfinderischer Tätigkeit bedurft hätte. Soweit durch die Verwendung solcher Expressionsregulationssequenzen von der Erfindung in ihrer allgemeinsten Form Gebrauch gemacht wird, begegnet die Erfassung auch solcher Escherichia-Bakterien keinen Bedenken, die nicht ohne erfinderisches Bemühen aufgefunden werden konnten (vgl. BGH, Beschluss vom 11. September 2013 - X ZB 8/12, GRUR 2013, 1210 Rn. 19 - Dipeptidyl-Peptidase-Inhibitoren).
- 56 bb) Zu Recht hat das Patentgericht entschieden, dass die Erfindung auch hinsichtlich der Varianten des YddG-Proteins der Alternative (B) in Patentanspruch 1, die als strukturelle Merkmale eine Abweichung der YddG-Sequenz von der nativen Sequenz 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, ausführbar ist.
- 57 (1) Die Streitpatentschrift enthält zwar kein Ausführungsbeispiel für Escherichia-Bakterien mit einem YddG-Protein der Alternative (B). Das ist aber auch nicht zwingend erforderlich. Es ist hinreichend, wenn die in dem Streitpatent enthaltenen Angaben der Fachperson so viele technische Informationen vermitteln, dass sie mit ihrem Fachwissen und Fachkönnen in der Lage ist, die Erfindung auch insoweit auszuführen (BGH, Urteil vom 13. Juli 2010 - Xa ZR 126/07, GRUR 2010, 916 Rn. 17 - Klammernahtgerät). Das ist hier der Fall.

58 (2) Das YddG-Protein der Alternative (B) ist dadurch bestimmt, dass es eine Abweichung von SEQ ID Nr. 2 von einer bis 30 Aminosäuren aufweist und das Bakterium gegen L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-tryptophan resistent ist.

59 (a) Soweit die Klägerin einwendet, dass über 82 Sextilliarden verschiedene Möglichkeiten unter die Definition der Proteinvariante (B) fielen und dem Fachmann insofern keine Daten zur Verfügung gestellt würden, um aus diesem Kreis an Möglichkeiten eine geeignete Auswahl durchzuführen, liegt dem die nicht näher begründete Annahme zugrunde, dass die Fachperson sämtliche Möglichkeiten in Betracht zu ziehen und auch zu prüfen hätte. Dem steht jedoch die Feststellung des fachkundig besetzten Patentgerichts entgegen, dass die Fachperson im Rahmen eines ihr bekannten Bibliotheksscreenings Varianten ermitteln und diese auf eine verstärkte Produktion der L-Aminosäuren in üblichen Expressionsversuchen testen kann. Insoweit kann die erforderliche weitere Prüfung zielführend beschränkt werden und übersteigt der erforderliche Aufwand den auf dem Fachgebiet der Biochemie zumutbaren Rahmen nicht.

60 (b) Hinsichtlich der Herstellung von Varianten lehrt das Streitpatent die Fachperson am Beispiel der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des YddG-Gens, diese einer Mutagenese zu unterziehen, wofür konventionelle Verfahren benannt werden (SPS Abs. 21 f.).

61 (c) Zur Evaluation geeigneter Bakterien im Hinblick auf ihre Resistenz gegenüber L-Phenylalanin, p-Fluorphenylalanin oder 5-Fluor-DL-tryptophan anhand von Tests benennt das Streitpatent 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, vorzugsweise 2 bis 5 µg/ml im Falle von 5-Fluor-DL-Tryptophan (SPS Abs. 19, Tabelle 1). Aus der

Streitpatentschrift ergibt sich zudem, dass eine Resistenz vorliegt, wenn der modifizierte Stamm im Vergleich zum Ausgangsstamm wächst oder schneller wächst (SPS Abs. 19). Nach den Feststellungen des Patentgerichts ist die Fachperson nach Kenntnisnahme dieser Anleitungen im Rahmen von Routineversuchen in der Lage, geeignete Hemmstoffkonzentrationen für die zu testenden Bakterien zu bestimmen.

62 (d) Nach den weiteren Feststellungen des Patentgerichts hängt die Resistenz und die Produktivität auch von dem verwendeten Vektor (zur Übertragung einer Fremd-Nukleinsäure in eine lebende Empfängerzelle eingesetztes Vehikel) ab. Die Klägerin macht insoweit geltend, dass das Streitpatent in Bezug auf die Alternative (B) keine hinreichenden Angaben zur Auswahl des Vektors enthalte. Dem steht jedoch entgegen, dass die Streitpatentschrift nicht nur die (bevorzugte) Verwendung eines Mehrfachkopien-Vektors (SPS Abs. 11, 12, 25, 44, 45, 48 sowie Anspruch 2) erwähnt, sondern auch acht konkrete Beispiele hierfür benennt und allgemein auf vergleichbare Vektoren verweist (SPS Abs. 25, 44, 45, 48). Davon ausgehend ist die Fachperson nach den Feststellungen des Patentgerichts im Rahmen ihres routinemäßigen Vorgehens in der Lage, einen möglichst produktionsstarken Vektor durch Screening zu ermitteln.

63 cc) Entgegen der Ansicht der Klägerin ist es für die Ausführbarkeit der Erfindung nicht erforderlich, dass in der Streitpatentschrift für das anspruchsgemäße Bakterium eine erhöhte Produktion hinsichtlich aller L-Aminosäuren offenbart wird.

64 (1) Patentanspruch 1 umfasst nur solche Escherichia-Bakterien, deren L-Aminosäureproduktion durch Erhöhung der YddG-Aktivität gesteigert wird. Es ist nicht erforderlich, dass eine Veränderung des YddG-Gens bei allen L-Aminosäuren zu einer Produktionssteigerung führt. Vielmehr reicht es aus, wenn dies

zumindest bei einer L-Aminosäure der Fall ist. In diesem Umfang ist die Erfindung anhand zweier Beispiele ausführbar offenbart.

65 (2) Ein nacharbeitbarer Weg zur Erlangung eines Escherichia-Bakteriums der Variante nach Merkmal 2.2 mit erhöhter Produktion der L-Aminosäure L-Tryptophan ist, wie oben dargelegt, in den Beispielen 4 und 5 des Streitpatents offenbart.

66 (3) Ein weiterer nacharbeitbarer Weg ist in Beispiel 3 des Streitpatents hinsichtlich der Erlangung eines Escherichia-Bakteriums der Variante nach Merkmal 2.1.1 mit erhöhter Produktion der L-Aminosäure L-Phenylalanin offenbart (SPS Abs. 47 ff.).

67 3. Der Gegenstand von Patentanspruch 1 beruht auf erfinderischer Tätigkeit.

68 a) Er wird nicht durch NiK7 (europäisches Patent 1 016 710) nahegelegt.

69 aa) NiK7 lehrt, die L-Aminosäureproduktion von Escherichia-Bakterien durch eine Überexpression der Exporter-Gene YeaS, YfiK, YahN und YggA zu steigern (NiK7, Abs. 39; Ausführungsbeispiele 2 bis 8; Ansprüche 1 bis 8). In der Entgegenhaltung wird erläutert, dass die Erfinder zunächst rhtB und rhtC als Threonin-Ausscheidungsproteingene eines Escherichia-Bakteriums identifiziert und dann Datenbanken nach Aminosäureausscheidungsproteinen mit einer ähnlichen Funktion wie rhtB durchsucht hätten. Aus einer ersten Auswahl von mehr als 60 aufgefundenen Sequenzen seien YeaS, YfiK, YahN und YggA verblieben, bei denen sich in weiteren Untersuchungen offenbart habe, dass Proteine, die von diesen Genen kodiert würden, eine verstärkende Wirkung auf die Aminosäureanreicherung hätten (NiK7, Abs. 39).

70 bb) Dem konnte der Fachmann keinen Hinweis auf das YddG-Gen als Exporter-Gen entnehmen. Das YddG-Gen wird in der NiK7 an keiner Stelle erwähnt und zwischen den Parteien ist unstreitig, dass das YddG-Gen keine strukturelle Homologie zu rhtB bzw. YeaS, YfiK, YahN und YggA aufweist, so dass die Fachperson dieses auch nicht auf dem in NiK7 beschriebenen Weg auffinden konnte.

71 cc) Soweit die Klägerin geltend macht, NiK7 offenbare in Beispiel 5 mit rhtA bereits ein enges Homolog zu YddG, ist es zwar zutreffend, dass rhtA im Zusammenhang mit dem Beispiel erwähnt wird. Dies betrifft aber lediglich die Konstruktion des Empfängerstamms VL2054 (NiK7 Abs. 67). Nach Beispiel 5 wurde der erhaltene Stamm VL2054 anschließend mit den Plasmiden pYeaS und pYfiK sowie mit dem Vektor pUC21 transformiert und nach Kultivierung der daraus hervorgegangenen E. coli-Stämme die Produktionsergebnisse hinsichtlich der Produktion von Threonin, Alanin, Valin und Isoleucin untersucht (Abs. 70 ff.; Tabelle 5). RhtA steht damit nicht in Zusammenhang mit der Funktion eines Exporters zur Steigerung der L-Aminosäureproduktion. Als solcher werden in Beispiel 5 vielmehr YeaS und YfiK eingesetzt (NiK7 Abs. 68). NiK7 gab der Fachperson daher auch in diesem Beispiel keine Veranlassung, homologe Strukturen auch zu rhtA zu identifizieren und auf ihre Eignung als Aminosäure-Exporter zu untersuchen, so wie dies für rhtB und rhtC beschrieben ist.

72 b) Eine Anregung im Anschluss an NiK7 YddG als weiteres Exporter-Protein für die gesteigerte Aminosäureproduktion in Betracht zu ziehen, ergab sich auch nicht aus NiK9 und (der im Prioritätsintervall veröffentlichten) NiK11.

73 aa) In NiK9 wird erwähnt, dass das von Escherichia-Bakterien bekannte YddG-Gen OmpD-Bakterien des Typs Salmonella eine Methylviologen-Resistenz verleiht (NiK9 S. 1905 li. Sp. Abs. 2 bis re. Sp.). Die aus demselben Forschungsinstitut stammende NiK11 weist insofern in die gleiche Richtung, als sich

daraus entnehmen lässt, dass YddG als erstes Innenmembranprotein der drug/metabolite exporter-Familie (DME-Familie) beschrieben und ihm eine Mitverantwortlichkeit für den Efflux von Methylviologen zugeschrieben wird (NiK11, 693 re. Sp. letzter Abs. bis 694 re. Sp.).

74 bb) Weder NiK9 noch NiK11 zeigen damit eine Bedeutung des YddG-Proteins als L-Aminosäureexporter auf. Den Entgegenhaltungen ist kein Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen einer Methylviologen-Resistenz einerseits und einem Aminosäure-Export andererseits zu entnehmen. Auch Ausführungen zu einer etwa aus der Lage des YddG-Proteins an der Innenmembran folgenden, auch Aminosäuren betreffenden, über Methylviologen hinausreichenden Exporter-Funktion des YddG-Proteins ergeben sich daraus nicht. Dass solche Schlüsse nicht ohne weiteres nahelagen, hat das Patentgericht in Bezug auf NiK20 festgestellt.

75 c) Der von der Klägerin in der mündlichen Verhandlung weiterhin herangezogenen NiK21 (Aiba et al., "A 570-kb DNA of the Escherichia coli K-12 Genome Corresponding to the 28.0-40.1 Sequence min Region on the Linkage Map, DNA Research 1996, 3, 363-377) ist in Bezug auf YddG lediglich ein Hinweis auf ein hypothetisches Protein-Fragment in der fdnG-Region zu entnehmen (NiK21 S. 371), nicht hingegen eine Angabe zur Kodierung eines für den Export von Aminosäuren verantwortlichen Proteins durch das YddG-Gen, so dass sich auch daraus keine relevante Anregung ergab.

76 d) Die (im Prioritätsintervall veröffentlichte) NiK10 (Burkovski/Krämer, "Bacterial amino acid transport proteins: occurrence, functions, and significance for biotechnological applications", Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002, 58, 265-274) offenbart E. coli-Bakterien zwar hinsichtlich der Kodierung eines Importers für L-Phenylalanin und L-Tryptophan. Im Hinblick auf Exporter-Proteine ergibt sich aus NiK10 dagegen lediglich der Hinweis, dass solche bisher nicht identifiziert

worden seien, und wird über das Vorhandensein von Multiple-Efflux-Pumpen und deren Bedeutung spekuliert (NiK10 S. 271 re. Sp. Abs. 2 und S. 266 Tabelle 1).

77 e) NiK14 befasst sich mit Möglichkeiten zur Maximierung der Tryptophan-Biosynthese in Escherichia-Bakterien (NiK14 S. 133 Abstract, S. 133, re. Sp. letzter Abs. bis S. 134 li. Sp., Z. 1). Man habe herausgefunden, dass die einzige Möglichkeit für eine Steigerung der Produktion von Tryptophan in der Überexpression des Transporter-Proteins liege (NiK14 S. 142 re. Sp., Abs. 1 letzter Satz; vgl. auch S. 142 li. Sp. Abs. 1). Für den Fachmann ergab sich daraus zwar, dass dem Transporter-Protein eine entscheidende Bedeutung als Exporter für L-Tryptophan zukommt. Der NiK14 ist aber kein Hinweis auf das für die Bereitstellung des Transporter-Proteins zuständige Exporter-Gen zu entnehmen. Zudem fehlen Ausführungen dazu, wie die gewünschte Überexpression des betreffenden Gens erzielt werden soll. NiK14 offenbart damit weder ein im Sinne des Streitpatents genetisch verändertes Escherichia-Bakterium, noch geht daraus eine Anregung hervor, die in diese Richtung weist.

78 Daran ändert sich auch dann nichts, wenn mit der Klägerin angenommen wird, dass die Fachperson anknüpfend an Ähnlichkeiten zu bekannten Transportern nach neuen Transportern gesucht hat, ohne zu wissen, welche L-Aminosäuren diese transportieren. Denn NiK14 enthält auch bei einem solchen Ansatz keine Hinweise auf Verbesserungsmöglichkeiten durch genetische Veränderungen, sondern betrifft die mögliche Einstellung der Schlüsselparameter und ihre Folgen sowie die in der Kombination optimale Einstellung.

79 f) Auch unter Berücksichtigung von NiK20 hatte die Fachperson keine Veranlassung, YddG als L-Tryptophan-Exporter in Betracht zu ziehen. Die Entgegenhaltung befasst sich mit der Gewinnung von L-Tryptophan durch Fermentation unter Verwendung von Corynebakterien, die u.a. gegen Methylviologen (Paraquat) resistent sind (NiK20 S. 5 Claim 1, Sp. 1, Z. 36 bis 48). Wie bereits

das Patentgericht ausgeführt hat, kann aus der Methylviologen-Resistenz 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.

80 g) Wie sich aus den Ausführungen des Patentgerichts ergibt, lagen die weiteren Entgegenhaltungen NiK5 (Zakataeva et al, Characterization of a pleiotropic mutation that confers upon escherichia coli cells resistance to high concentrations of homoserine and threonine, The FASEB Journal 1997, Abstracts 11(9), A935, Nr. 457), NiK6 (Zakataeva et al., The novel transmembrane escherichia coli proteins involved in the amino acid efflux, FEBS Letters 1999, 452 228-232) und NiK8 (Daßler et al., Identification of a major facilitator protein from escherichia coli involved in the metabolites of the cysteine pathway, Molecular Microbiology 2000, 36(5) 1101-1112) noch weiter weg von der Erfindung und gaben der Fachperson daher ebenfalls keine Veranlassung, YddG als Exportergen für eine Erhöhung der L-Aminosäureproduktion in Betracht zu ziehen.

81 h) Da keiner der vorstehend erörterten Entgegenhaltungen ein Hinweis auf einen Export von Aminosäuren durch das YddG-Gen zu entnehmen war und die betreffenden Entgegenhaltungen der Fachperson zudem keine Hinweise auf einen beschreibbaren Weg gaben, der zu YddG geführt hätte, lässt sich auch einer Kombination mehrerer der vorstehend erörterten Entgegenhaltungen keine ausreichende Anregung entnehmen.

82 4. Da die Angriffe der Klägerin gegen die Rechtsbeständigkeit des nebengeordneten Patentanspruchs 5 inhaltlich über die Angriffe gegen die Rechtsbeständigkeit des Patentanspruchs 1 nicht hinausgehen, gelten die vorstehenden Ausführungen insoweit entsprechend.

83 IV. Die Kostenentscheidung beruht auf § 121 Abs. 2 PatG und § 97 Abs. 1 ZPO.

Grabinski

Kober-Dehm

Marx

Rombach

Rensen

Vorinstanz:

Bundespatentgericht, Entscheidung vom 02.10.2018 - 3 Ni 57/16 (EP) -