

**Code de distribution interne :**

- (A) [ ] Publication au JO  
(B) [ ] Aux Présidents et Membres  
(C) [X] Aux Présidents  
(D) [ ] Pas de distribution

**D E C I S I O N**  
**du 18 mars 2003**

**N° du recours :** T 0635/00 - 3.3.4  
**N° de la demande :** 91911286.2  
**N° de la publication :** 0486661  
**C.I.B. :** C12Q 1/68  
**Langue de la procédure :** FR

**Titre de l'invention :**

Procédé de détection d'une séquence nucléotidique selon la technique d'hybridation sandwich

**Titulaire du brevet :**

BIO MERIEUX, Société anonyme

**Opposant :**

Sangtec Medical  
Institut Pasteur

**Référence :**

Hybridation sandwich/BIO MERIEUX

**Normes juridiques appliquées :**

CBE Art. 54 et 56

**Mot-clé :**

"Nouveauté (oui)"  
"Activité inventive (oui)"

**Décisions citées :**

T 0056/87

**Exergue :**

-



N° du recours : T 0635/00 - 3.3.4

**D E C I S I O N**  
**de la Chambre de recours technique 3.3.4**  
**du 18 mars 2003**

**Partie de droit:** Sangtec Medical AB  
(Opposant 1) Bällstavägen 30  
Box 20045  
S-16102 Bromma (SE)

**Mandataire :** Fagerlin, Heléne  
Albihns Stockholm AB  
Box 5581  
S-114 85 Stockholm (SE)

**Requérant :** Institut Pasteur  
(opposant 2) 28, Rue du Docteur Roux  
F-75724 Paris Cédex (FR)

**Mandataire :** Gutmann, Ernest  
Ernest Gutmann - Yves Plasseraud S. A.  
3, rue Chauveau - Lagarde  
F-75008 Paris (FR)

**Intimée :** BIO MERIEUX  
(Titulaire du brevet) Société anonyme  
F-69280 Marcy l'Etoile (FR)

**Mandataire :** Tonnelier, Jean-Claude  
NONY & ASSOCIES  
3, rue de Penthièvre  
F-75008 Paris (FR)

**Décision attaquée :** Décision de la division d'opposition de l'Office européen des brevets signifiée par voie postale le 11 février 2000 par laquelle l'opposition formée à l'égard du brevet n° 0 486 661 a été rejetée conformément aux dispositions de l'article 102(2) CBE.

**Composition de la Chambre :**

**Président :** R. E. Gramaglia  
**Membres :** A. L. L. Marie  
S. U. Hommann

## Exposé des faits et conclusions

- I. L'opposant 2 (le requérant) a formé un recours contre la décision de la division d'opposition en date du 11 février 2000 rejetant, conformément aux dispositions de l'article 102 (2) CBE, les oppositions dirigées contre le brevet européen n° 0 486 661 ayant pour titre "Procédé de détection d'une séquence nucléotidique selon la technique d'hybridation sandwich".
- II. Les oppositions étaient fondées sur l'article 100(a) CBE pour manque de nouveauté (article 54 CBE) et d'activité inventive (article 56 CBE).
- III. La décision de la division d'opposition était basée sur un jeu de 62 revendications telles que délivrées, dont seule la revendication 1 était indépendante et était formulée ainsi :

"1. Procédé de détection d'une séquence nucléotidique cible simple brin dans un échantillon la contenant ou susceptible de la contenir, selon la technique d'hybridation sandwich, caractérisé par le fait qu'il comporte les étapes consistant :

- (a) à faire incuber l'échantillon :
- (i) avec une sonde de capture fixée sur un support solide, ledit support solide étant réalisé en un matériau hydrophobe et ladite sonde de capture étant constituée par un oligonucléotide capable de se fixer par adsorption sur ledit support solide ou par un oligonucléotide lié à une protéine par covalence, ledit oligonucléotide étant fixé par adsorption sur ledit support

solide soit directement soit par l'intermédiaire de ladite protéine lorsqu'elle est présente, ledit oligonucléotide ayant de 9 à 30 nucléotides, étant entendu que lorsque ladite sonde de capture est constituée par un oligonucléotide non lié à une protéine, l'oligonucléotide comporte au moins 11 nucléotides, et

- (ii) avec une sonde de détection marquée avec un marqueur non radioactif, les sondes de capture et de détection étant capable d'hybridation, respectivement, avec deux régions non chevauchantes de la séquence nucléotidique-cible recherchée, puis
- (b) à laver le support solide pour éliminer les réactifs non fixés par hybridation, et
- (c) à détecter la séquence cible à l'aide d'une réaction de révélation du marqueur fixé sur le support."

Les revendications dépendantes 2 à 62 définissaient des caractéristiques supplémentaires dudit procédé, en particulier pour les revendications 19 à 62, les séquences de certaines cibles ou des sondes de capture ou de détection.

IV. Les documents suivants sont cités dans la décision présente :

- (1) WO 88/01302
- (14) US-4,794,073
- (21) C. Syvänen, Medical Biology, 1986, Vol. 64,

pages 1 à 12

- (22) R. Polsky-Cynin et al., *Clinical Chemistry*, 1985, Vol. 31(9), pages 1438 à 1443
- (24) M. J. Lacy et E. D. Voss, Jr., *Journal of Immunological Methods*, 1989, Vol. 116, pages 87 à 98
- (25) P. J. Nicholls et Alan D. B. Malcolm, *Journal of Clinical Analysis*, 1983, Vol. 3, pages 122 à 135
- (44) S.S. Gosh et G. F. Musso, *Nucleic Acids Research*, 1987, Vol. 15, No. 13, pages 5353 à 5372
- (45) A.R. Dunn et J. A. Hassell, *Cell*, 1977, Vol. 12, pages 23 à 36
- (46) M. Ranki et al., *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 1983, Vol. 104, pages 307 à 318
- (47) D. Gillespie et S. Spiegelman, *Journal of Molecular Biology*, 1965, Vol. 12, pages 829 à 842
- (48) US-4,486,539
- (49) "Gene Cloning. An introduction". T. A. Brown editor, Chapman and Hall, second edition, 1990, pages viii, ix, 162 à 169
- (50) "Molecular Cloning. A Laboratory Manual". T. Maniatis et al., editors, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982, page 335

V. L'argumentation du requérant présentée pendant la procédure orale et la phase écrite de la procédure de recours peut se résumer comme suit :

*Article 54 CBE*

- le document (1), à coté d'un enseignement spécifique faisant l'objet des revendications et portant sur une fixation covalente de la sonde nucléotidique sur un support solide par ses extrémités 5' ou 3', présentait aussi un enseignement plus général

définissant un procédé de détection par hybridation de type "sandwich" dans lequel la sonde de capture était courte (15 à 100 nucléotides) et pouvait être fixée sur le support solide (hydrophile ou hydrophobe) de manière non-covalente (page 15 (lignes 13 a 32)). De plus, l'Exemple X démontrait que lors de la préparation d'une sonde de capture résultant de la fixation covalente d'un oligonucléotide de 29 bases sur le Sephacryl S-500 environ 0,5% dudit oligonucléotide était fixé de manière non-covalente au support. Par ailleurs, l'Exemple VIII montrait que, lorsqu'un oligonucléotide était fixé de manière covalente sur du verre poreux portant des groupements alkylamines, 4 à 6% de celui-ci se fixaient de manière non-spécifique, malgré le blocage des groupes amines libres.

- le document (14), vu dans sa totalité, décrivait un test d'hybridation "sandwich" (colonne 14, lignes 40 à 56) utilisant des sondes courtes (colonne 4, lignes 49 à 53), pouvant contenir 19 nucléotides (Exemple 8), fixées de manière non-covalente sur des supports hydrophobes (colonnes 11 et 12) ou par l'intermédiaire de protéines (colonne 16, lignes 51 à 59).

*Article 56 CBE*

- la revendication 1 du brevet en litige correspondait en fait à deux "inventions" distinctes : dans un premier cas, la sonde de capture était fixée directement par adsorption sur le support solide et, dans le deuxième cas, de manière covalente par son extrémité 5' ou 3' à une protéine, elle-même attachée de manière non-covalente à un support solide. Pour

ces deux "inventions", l'état de la technique le plus proche était représenté par le document (1). Le problème technique à résoudre était, dans les deux cas, de mettre à la disposition de l'homme du métier une alternative au procédé défini dans le document (1). Contrairement aux assertions de l'intimé, il n'existait pas de préjugé contre la fixation de sondes courtes de manière non-covalente au prétexte qu'elles pouvaient perdre leur capacité à "capturer" la séquence cible, dans la mesure où la fixation sur le support se faisait, selon les documents (49) et (50) par l'intermédiaire de forces de Van der Waals entre le squelette hydrocarboné de l'oligonucléotide et le support, laissant ainsi les bases libres pour l'appariement avec la séquence cible. La combinaison du document (49), représentant les connaissances générales de l'homme du métier, avec le document (1) conduisait à la première "invention" du brevet en litige, surtout au vu du document (24) montrant l'avantage d'employer une fixation directe de l'acide nucléique sur le support hydrophobe. Dans le cas de la deuxième "invention", la combinaison des enseignements des documents (1), (14), (22) et (24) résultait dans le remplacement de la liaison covalente de l'oligonucléotide au support du document (1) par la liaison covalente avec une protéine (document (24)), fixée elle-même par adsorption sur le support dans un test d'hybridation "sandwich" (document (22)).

- le document (24) montrait la capacité des protéines à s'adsorber sur les supports solides hydrophobes et pouvait aussi être considéré comme l'état de la technique le plus proche et conduisait à la deuxième "invention" de la revendication 1 du brevet en litige

par combinaison avec le document (1).

- d'autres combinaisons de documents basées sur les documents (1), (14) ou (22) comme état de la technique le plus proche avec les documents (11), (12), (13), (17), (18), (21), (25) ou (44) pouvaient aussi être utilisées contre la fixation de l'oligonucléotide par adsorption directe sur le support.

VI. L'intimé (titulaire du brevet) a argumenté comme suit :

*Article 114 (2) CBE*

- il ne devait pas être tenu compte des documents (49) et (50), car ils étaient soumis tardivement et ne concernaient pas des sondes oligonucléotidiques, mais le clonage de gènes. Une requête similaire était faite à l'encontre du document (46) qui n'était pas considéré comme pertinent.

*Article 54 CBE*

- l'enseignement du document (1) éloignait de l'invention décrite dans le brevet en litige dans la mesure où il préconisait une fixation covalente par les extrémités 5' ou 3' pour que la sonde soit totalement disponible pour la capture de la cible. En outre, dans l'Exemple X du document (1) les oligonucléotides fixés par adsorption au support et qui représentaient 0,5% du total n'étaient pas définis comme des sondes de capture. D'autre part, le Sephacryl S-500 était un support hydrophile, contrairement à ce que requérait la revendication 1 du brevet en litige. En outre, il n'était pas



possible de prendre arbitrairement des fragments isolés du document (1) et de les combiner ensemble pour arriver à un enseignement en désaccord avec l'enseignement général du document (1). Référence était faite a la décision T 56/87 (20 septembre 1988).

- le document (14) n'était pas pertinent, car il concernait un problème différent (la détection d'une séquence cible), l'Exemple 8 ne décrivait pas une sonde de capture et le requérant avait rassemblé de manière arbitraire des phrases retirées de leur contexte.

*Article 56 CBE :*

- le brevet en litige surmontait un préjugé contre l'utilisation des sondes de capture courtes fixées par adsorption sur un support solide. En effet, la force d'adsorption étant proportionnelle à la longueur de la sonde impliquait l'emploi de sondes longues, l'hybridation, provoquant une modification spatiale de la sonde (reformation de la double hélice), diminuait d'autant l'adsorption de la sonde de capture sur le support et la fixation de la séquence cible augmentait la susceptibilité du complexe sonde de capture-séquence cible aux forces déstabilisantes dues à l'agitation désordonnée du milieu. Ce préjugé pouvait être déduit des documents (1), (25) et (44).
- aucun des documents (1), (14), (21), (25) et (44) ne suggéraient un procédé de type sandwich utilisant des sondes courtes fixées par adsorption sur un support solide hydrophobe. Le document (1) préconisait en

effet la fixation covalente et le document (14) ne concernait pas un problème de capture comme le brevet en litige, mais un problème de détection.

- dans le cadre de la solution impliquant la fixation covalente de la sonde de capture sur la protéine, elle-même fixée de manière non-covalente au support, le problème technique résolu par rapport au document (1) représentant l'état de la technique le plus proche était une simplification du procédé, car la fixation d'une sonde par covalence sur un support solide est une réaction en phase hétérogène et donc plus délicate que la fixation de la sonde sur une protéine qui est une réaction en phase homogène. Par ailleurs, le but visé par le document (24) était différent de celui du brevet en litige et du document (1), puisqu'il avait trait à la détection d'anticorps anti-ADN. Le document (24) utilisait un ADN très long provenant du thymus de veau qui n'était pas comparable aux sondes courtes du brevet en litige en ce qui concerne les interactions avec la protéine. De plus, l'homme du métier aurait été dissuadé de combiner les documents (1) et (24), car la fixation de l'ADN sur la sérum albumine provoquait selon le document (24) un changement dans l'antigénicité de l'ADN, sous-entendant un changement structural.

VII. L'opposant 1, qui ne s'est jamais manifesté durant la procédure de recours, est partie de droit au sens de l'article 107 CBE, car il n'a pas retiré son opposition.

VIII. Une procédure orale s'est tenue le 18 mars 2003, en l'absence de l'opposant 1.

IX. Le requérant a demandé l'annulation de la décision

contestée et la révocation du brevet européen n° 0 486 661.

X. L'intimé a demandé le rejet du recours.

### **Motifs de la décision**

#### *Article 114 CBE*

1. L'intimé a requis que les documents (46), (49) et (50) ne soient pas pris en considération selon l'article 114 (2) CBE, car soumis tardivement, ne correspondant pas à l'objet du brevet en litige et/ou n'étant pas pertinents.
2. Le requérant a soumis les documents (45) à (48) avec le mémoire exposant les motifs du recours (lettre du 21 Juin 2000) et les documents (49) et (50) avec son courrier du 17 janvier 2003. De son côté, l'intimé a soumis trois documents en annexe de son courrier du 18 février 2003.
3. Tous ces documents ont été soumis après le délai d'opposition prévu à l'article 99 CBE. En ce sens, ils doivent être considérés comme ayant été soumis tardivement. La Chambre, faisant usage du pouvoir d'appréciation qui lui est conféré par l'article 114(1) CBE, décide de les admettre, car, d'une part, les parties ont eu assez de temps pour les étudier et y répondre et, d'autre part, l'admission de ces documents ne retarde en rien la procédure de recours.

#### *Article 54 CBE*

4. Les documents (1) et (14) ont été cités à l'encontre de

la nouveauté de la revendication 1 du brevet en litige dont, selon le requérant, ils enseignent toutes les caractéristiques. L'intimé les considère sans valeur, car ils éloignent du brevet en litige ou servent au requérant uniquement à faire des combinaisons arbitraires d'éléments isolés contredisant l'enseignement général de ces documents.

5. Le document (1) décrit, dans le chapitre "Summary of the invention" (page 3, ligne 23 à page 8, ligne 35), la préparation de sondes de capture pour un test d'hybridation de type "sandwich". Ces sondes de capture courtes (15 à 100 nucléotides) sont attachées de manière covalente au support par leur extrémités 5' ou 3' (page 3, lignes 24 à page 4, ligne 4). Le support peut être hydrophile ou hydrophobe (page 4, ligne 5 à page 5, ligne 6), les supports préférés étant le Sephacryl S-500 et le verre poreux portant des groupements carboxyles ou alkylamines (page 5, lignes 7 à 24). La sonde de détection peut comporter un marqueur radioactif ou non-radioactif, comme la biotine (page 22, ligne 10 à page 23, ligne 2). L'exemple VIII décrit la préparation d'une sonde de capture composée d'un oligonucléotide attaché de manière covalente par l'une de ses extrémités à du verre poreux portant des groupements alkylamines à longue chaîne. La longueur de l'oligonucléotide n'est pas précisée, mais devrait être voisine de 17 ou 25 nucléotides, car les rendements de fixation sont donnés pour des oligonucléotides de telles longueurs (page 31, lignes 6 à 9). Dans cet exemple, bien que les groupes aminés libres n'ayant pas réagi avec l'oligonucléotide aient été bloqués par traitement au N-hydroxysuccinimide, il y a encore 4 à 6% de fixation non-spécifique. Enfin l'Exemple X, décrivant la fixation covalente d'un oligonucléotide par son extrémité 5' sur

du Sephacryl S-500, indique (page 34, lignes 2 à 12) que 0.5% de l'oligonucléotide est fixé de manière non-covalente. Par ailleurs, à la page 15 (lignes 18 à 32), le document (1) indique que l'oligonucléotide employé comme sonde de capture peut être fixé de trois manières différentes sur le support, la première faisant appel à des interactions non-covalentes.

6. Le requérant a donc conclu du passage de la page 15 sur les modes de fixation de l'oligonucléotide que l'enseignement du document (1) englobe aussi des sondes de capture dans lesquelles l'oligonucléotide est fixé au support par interactions non-covalentes et il en a vu une confirmation dans les Exemples VIII et X.
7. La décision T 56/87 (cf supra) stipule que l'enseignement technique d'un document de l'art antérieur doit être considéré dans sa totalité. L'homme du métier ne peut donc pas isoler arbitrairement de leur contexte certains passages pour en dériver un enseignement différent ou même en contradiction avec l'enseignement global du dit document.
8. La Chambre considère que l'enseignement global du document (1) a trait à des sondes de capture dans lesquelles l'oligonucléotide est fixé de manière covalente par son extrémité 5' ou 3' au support. Le passage de la page 15 (lignes 18 à 32) n'est qu'un rappel général de l'état de la technique. Des sondes de capture mettant en jeu des modes de fixation non covalents sont *de facto* exclus du cadre du document (1), dans la mesure où le but recherché est une grande qualité de sensibilité et de spécificité (page 2, lignes 26 à 32) et où les sondes obtenues par fixation non-covalente de l'oligonucléotide sont dites (page 3,

- ligne 28 à page 4, ligne 4) avoir une disponibilité pour la séquence cible sensiblement réduite ou même éliminée et ne conduisent donc pas au but recherché dans le document (1).
9. Considérer, dans ces conditions, comme le suggère le requérant, que le passage de la page 15 (lignes 18 à 32) étend l'enseignement du document (1) à des sondes de capture avec fixation non-covalente de l'oligonucléotide revient donc à isoler arbitrairement de son contexte un aspect particulier du document (1) et à bâtir ainsi un enseignement contredisant l'enseignement général du dit document (1). Ceci est en désaccord avec la décision T 56/87, dont la Chambre ne voit, dans le cas présent, aucune raison de dévier.
  10. Par ailleurs, la revendication 1 du brevet en litige a trait à un procédé de détection et non à une sonde de capture. Or, rien ne permet de conclure du document (1) que les 0.5% d'oligonucléotides fixés de manière non-covalente de l'Exemple X ou les 4 à 6% de l'Exemple VIII aient été utilisés dans un procédé de détection ou puissent y participer, surtout si leur disponibilité est éliminée, comme le suggère le document (1) lui-même.
  11. Le document (14) a pour but la détection d'hybrides d'acides nucléiques par chemoluminescence (colonne 1, lignes 6 et 7) quel que soit le type de test d'hybridation utilisé, par exemple test "sandwich" (colonne 13, ligne 61 à colonne 15, ligne 39), test en phase solide (colonne 11, ligne 60 à colonne 13, ligne 59) ou test en phase liquide (colonne 15, ligne 40 à colonne 17, ligne 36). La fixation est faite par liaison covalente ou non-covalente, selon les méthodes connues (colonne 12, ligne 68 à colonne 13, ligne 60).

Seul l'Exemple 8 a trait à une sonde courte et décrit la préparation d'un oligonucléotide contenant 19 bases codant pour la partie de l'hémoglobine dans laquelle se produit la mutation conduisant à l'anémie falciforme. A cet oligonucléotide est attachée de la biotine pour qu'il puisse servir de sonde de détection s'hybridant à la séquence d'ADN se trouvant dans le sang des personnes atteintes de cette anémie. Dans cet exemple c'est l'ADN du sang qui est immobilisé au préalable sur un papier de nitrocellulose. Cette sonde de détection comporte aussi un groupement cyclique décrit à la colonne 29, lignes 20 à 33. Cette sonde, par la présence de la biotine et du groupement cyclique, est structurellement différente de la sonde de capture de la revendication 1 du brevet en litige et n'exerce pas la même fonction, puisqu'elle sert à la détection et non pas à la capture de la séquence cible.

12. En résumé, aucun des documents (1) et (14) ne décrit un procédé tel que défini dans la revendication 1 du brevet en litige qui, comme les revendications 2 à 62 qui en dépendent, remplit les conditions de brevetabilité définies par l'article 54 CBE.

#### *Activité inventive*

13. La jurisprudence constante des Chambres de recours de l'Office européen des brevets (4ème édition, 2001, pages 117 à 121) indique que l'état de la technique le plus proche est un document se rapportant au même problème technique et dont la solution qu'il propose vise à atteindre le même objectif ou à obtenir le même effet que le brevet en litige.

14. L'obtention d'une grande spécificité et d'une bonne sensibilité, qui est le but recherché dans le brevet en litige (page 2, lignes 44 à 46), est aussi le but que désire atteindre le document (1) (page 2, lignes 26 à 32) que la Chambre considère donc, comme le requérant et l'intimé, être l'état de la technique le plus proche.
15. L'enseignement que l'homme du métier peut retirer du document (1) a déjà été défini plus haut (cf supra point 5) dans le cadre de la discussion sur la nouveauté. Le problème technique à résoudre au vu du document (1) peut être défini comme la mise à la disposition de l'homme du métier d'une alternative au procédé de détection défini dans le document (1) dans lequel l'oligonucléotide de la sonde de capture est fixé au support par son extrémité 5' ou 3'.
16. La Chambre, partageant l'avis du requérant, qui n'a d'ailleurs pas été contredit par l'intimé, considère que la revendication 1 du brevet en litige propose deux "solutions" différentes : fixation directe de l'oligonucléotide de la sonde de capture par adsorption sur le support ou fixation covalente dudit oligonucléotide par ses extrémités 5' ou 3' sur une protéine, elle-même fixée par adsorption sur le support. L'élément commun reliant ces deux "solutions" est le fait que les oligonucléotides sont courts : de 9 à 30 nucléotides dans le premier cas ou de 11 à 30 nucléotides dans le deuxième cas. Les exemples, en particulier les exemples 2 et 5, montrent que chacune de ces solutions a bien été réalisée.
17. La question est de savoir si l'homme du métier partant du document (1) serait arrivé à ces solutions (ou à l'une d'entre elles) de manière évidente en utilisant



ses connaissances générales ou en combinant le document (1) avec d'autres documents de l'art antérieur.

18. La Chambre est d'avis que cette question doit recevoir une réponse négative et ce pour les raisons suivantes.
  
19. Il est pour la Chambre incontestable que le document (1), par son enseignement négatif sur les possibilités des sondes de capture dans lesquelles l'oligonucléotide est fixé sur le support par adsorption (page 3, ligne 28 à page 4, ligne 4) quant à leur disponibilité pour la capture de la séquence cible, éloigne de la solution décrite dans le brevet en litige faisant appel à la fixation de l'oligonucléotide par adsorption. Le requérant a conclu des documents (49) et (50) que les sondes courtes, comme celles du brevet en litige, sont, malgré leur fixation par adsorption, disponibles pour interagir avec les séquences cibles. Ces documents indiquent que dans le cas de la fixation par interaction hydrophobe sur la nitrocellulose (document (50)) les molécules d'ADN sont attachées au support par leurs composants sucres-phosphates (document (49), page 164), ceci résultant dans l'accessibilité des bases pour l'appariement avec la séquence cible. La Chambre ne partage pas l'avis du requérant, car ces documents ont trait à des ADNs longs et ne suggèrent aucunement que cet enseignement pourrait aussi être valable pour des oligonucléotides courts. Ces documents n'invalident donc pas l'enseignement du document (1) éloignant de la possibilité d'utiliser des sondes de capture courtes fixées par adsorption sur le support.
  
20. Dans ces conditions, la possibilité de combiner le document (1) avec un autre document dans le but de montrer que cette solution du brevet en litige n'est pas

inventive est à exclure. En effet, ce deuxième document devrait avoir un enseignement diamétralement opposé à celui du document (1) pour pouvoir en renverser le jugement négatif, or, la jurisprudence constante des Chambres de recours de l'Office européen des brevets (4ème édition 2001, pages 141 et 142) indique que la combinaison de deux documents doit être évidente pour l'homme du métier, ce qui ne peut être le cas de deux documents diamétralement opposés.

21. En conséquence, il ne peut être conclu sur la base d'aucune des combinaisons (cf supra, paragraphe V) suggérées par le requérant et mettant en jeu le document (1) que la revendication indépendante 1 et les revendications 2 à 62, qui en dépendent, dans la mesure où elles se rapportent à la fixation de l'oligonucléotide de la sonde de capture par adsorption directe sur le support, ne remplissent pas les conditions de brevetabilité définies à l'article 56 CBE .
22. Le cas de la solution préconisée par le brevet en litige selon laquelle la fixation de l'oligonucléotide de la sonde de capture fait appel à une interaction covalente avec une protéine, qui à son tour est adsorbée sur le support, est différent, dans la mesure où cette solution est beaucoup plus proche de celle du document (1). En fait, il ne s'agit que de remplacer l'agent de liaison entre le support et l'oligonucléotide du document (1) (page 3, ligne 5 à page 5, ligne 6) par une protéine. Donc le document (1) n'éloigne pas de cette solution.
23. Le document le plus à même d'être considéré en vue d'une combinaison avec le document (1) est, selon la Chambre, le document (24) qui s'intéresse à la détection

d'anticorps anti-ADN et décrit un procédé de détection mettant en jeu un ADN fixé sur un support solide. Parmi les différents modes de fixation évoqués, l'un d'eux ("DNA-BSA") correspond à la fixation covalente de l'ADN sur la sérum albumine de boeuf suivie par l'adsorption du complexe sur le support. La Chambre considère, toutefois, que l'homme du métier ne serait pas arrivé à la solution proposée dans le brevet en litige par la combinaison des documents (1) et (24), car le document (24) montre que la fixation de l'ADN sur la sérum albumine se traduit par un changement dans l'antigénicité (page 95, colonne de gauche, premier paragraphe) et le comportement dudit ADN dans l'interaction avec les anticorps anti-ADN (Fig. 7) et suggère ainsi l'existence de modifications structurales non déterminées qui auraient éveillé les doutes de l'homme du métier défini dans la jurisprudence constante des Chambres de recours de l'Office européen des brevets (4ème édition, 2001, page 128) comme adoptant une attitude prudente. Par ailleurs, le document (24) concerne la fixation d'un ADN total provenant de thymus de veau (page 88, deuxième colonne, premier paragraphe) qui, en raison de sa longueur beaucoup plus importante, n'offre que peu de similitude avec un oligonucléotide de 9 à 30 nucléotides dans son comportement vis-à-vis de la sérum albumine bovine. En effet, la sérum albumine est une protéine ayant une structure tri-dimensionnelle complexe et portant des groupements chargés susceptibles d'interagir de manière non-covalente avec, par exemple, les groupements phosphates de l'oligonucléotide, d'entraîner l'oligonucléotide dans un repli de la molécule et de modifier ainsi sa disponibilité pour l'hybridation avec la séquence cible.

24. Le document (14), qui a été cité par le requérant dans la procédure écrite comme une alternative au document (1) en tant qu'état de la technique le plus proche, évoque la fixation de protéines sur un support solide (colonne 16, lignes 51 à 63) en termes très généraux. Ceci n'est, toutefois, pas en relation avec la fixation d'un oligonucléotide sur un support, mais avec la fixation d'une protéine susceptible d'interagir avec un des éléments ayant réagi dans le test d'hybridation "sandwich" pour en permettre la détection, comme par exemple un anticorps réagissant avec un haptène ou un antigène ou l'avidine faisant de même avec la biotine. Par ailleurs, exactement comme dans le cas du document (24), rien n'est dit dans le document (14) sur les effets de l'interaction avec la protéine sur la structure et les propriétés de l'oligonucléotide.
25. Le document (22), qui avait été aussi cité comme état de la technique le plus proche, décrit la fixation dans le cadre d'un test d'hybridation de type "sandwich" d'une sonde de capture par adsorption d'un complexe protéine-ADN sur des réceptacles en polypropylène (page 1439, colonne de gauche, dernier paragraphe) et est en fait sans valeur à l'encontre du brevet en litige, dans la mesure où la sonde en question est un fragment d'ADN de 4800 bases. L'argumentation présentée à l'encontre de l'ADN de thymus de veau du document (24) s'appliquant ici aussi (cf supra, point 23).
26. Les documents "secondaires" (11), (12), (13), (17), (18), (21) et (25) qui ont été cités par le requérant en combinaison avec les documents (1), (14) ou (22) ne peuvent modifier les conclusions de la Chambre sur les documents (1), (14) et (22). En effet, le document (11) décrit un test "sandwich" dans lequel la sonde de

capture est fixée au support par liaison avec un agent complexant interagissant avec une molécule elle-même fixée sur le support et ne suggère donc aucune des deux solutions du brevet en litige. Le document (12) décrit un test d'agglutination dans lequel la sonde de capture fixée sur le support est donc à l'état dispersé dans le milieu. Le document (13) décrit un système dans lequel la séquence cible fixée sur le support est mise en évidence par une sonde de détection avec un groupe marqueur. Le document (17) décrit un test ELISA pour mesurer les anticorps anti-ADN dans lequel les puits d'une microplaque en polystyrène sont irradiés avec des rayons ultra-violetts pour favoriser la fixation des ADN longs n'ayant aucun rapport avec les sondes courtes du brevet en litige. Le document (18) concerne aussi des ADN natifs, c'est-à-dire, longs. Le document (21) éloigne du brevet en litige, car il mentionne à la page 4 que des fragments d'ADN de longueur inférieure à 200-300 bases se fixent peu sur la nitrocellulose. En outre, dans le cas d'un test "sandwich", il fait référence au document (22) de la procédure présente (référence 56) qui utilise une sonde de 4800 bases. Enfin le document (25) utilise aussi des sondes longues (738 et 1800 bases) et dans le cas de la détection de l'anémie falciforme des sondes de 341 et 201 bases. Le document (44) est similaire au document (1) et décrit la fixation covalente d'oligonucléotides courts sur un support par leur extrémité 5' ou 3', mais n'a aucun enseignement sur la fixation directe par adsorption ou par l'intermédiaire d'une protéine.

27. La Chambre considère donc que les deux solutions de la revendication 1 du brevet en litige ne découlent pas de manière évidente des différents documents pouvant être considérés comme l'état de la technique le plus proche

(documents (1), (14) ou (22)) considérés isolement ou en combinaison entre eux ou avec les documents (11), (12), (13), (17), (18), (21), (24), (25) ou (44). Il en va de même pour l'objet des revendications 2 à 62 dépendant de la revendication 1. Les revendications 1 à 62 du brevet en litige telles que délivrées satisfont donc les conditions de brevetabilité requises par l'article 56 CBE.

### **Dispositif**

**Par ces motifs, il est statué comme suit :**

Le recours est rejeté.

Le Greffier :

Le Président :

P. Cremona

R. Gramaglia