

Interner Verteilerschlüssel:

- (A) Veröffentlichung im ABl.
(B) An Vorsitzende und Mitglieder
(C) An Vorsitzende
(D) Keine Verteilung

**Datenblatt zur Entscheidung
vom 31. Januar 2008**

Beschwerde-Aktenzeichen: T 0241/06 - 3.4.02

Anmeldenummer: 95916571.3

Veröffentlichungsnummer: 0706671

IPC: G02B 21/00

Verfahrenssprache: DE

Bezeichnung der Erfindung:

Verfahren zur Lumineszenz-Rastermikroskopie und ein
Lumineszenzrastermikroskop

Anmelder:

Hänninen, Pekka, et al

Einsprechender:

-

Stichwort:

-

Relevante Rechtsnormen:

EPÜ Art. 123(2)

Relevante Rechtsnormen (EPÜ 1973):

EPÜ Art. 56, 83

Schlagwort:

-

Zitierte Entscheidungen:

-

Orientierungssatz:

-



Aktenzeichen: T 0241/06 - 3.4.02

ENTSCHEIDUNG
der Technischen Beschwerdekammer 3.4.02
vom 31. Januar 2008

Beschwerdeführer:

Hänninen, Pekka
Tahvanankatu 9
FI-20400 Turku (FI)

Hell, Stefan, Dr.
Nadler Strasse 1
D-69117 Heidelberg (DE)

Vertreter:

Meyer, Enno
Augsburger Strasse 24
D-82110 Germering (DE)

Angefochtene Entscheidung:

Entscheidung der Prüfungsabteilung des
Europäischen Patentamts, die am 19. Juli 2005
zur Post gegeben wurde und mit der die
europäische Patentanmeldung Nr. 95916571.3
aufgrund des Artikels 97 (1) EPÜ 1973
zurückgewiesen worden ist.

Zusammensetzung der Kammer:

Vorsitzender: A. Klein
Mitglieder: M. Stock
B. Müller

Sachverhalt und Anträge

I. Die europäische Patentanmeldung Nr. 95 916 571.3 (Internationale Veröffentlichungsnummer WO95/30166) wurde von der Prüfungsabteilung zurückgewiesen. Gegen diese Entscheidung haben die Anmelder (Beschwerdeführer) Beschwerde eingelegt.

II. Die Zurückweisung wurde von der Prüfungsabteilung damit begründet, dass der Gegenstand des Anspruchs 1 in der ihr vorliegenden Fassung gemäß einem Hauptantrag und einem Hilfsantrag nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhe. Es wurde auf die folgenden Druckschriften verwiesen:

D1: P.HÄNNINEN ET AL.: "Two Photon Excitation in Time-Resolved Fluorescence Microscopy" PROCEEDINGS SPIE: THREE-DIMENSIONAL MICROSCOPY:IMAGE ACQUISITION AND PROCESSING, Bd. 2184, 7. Februar 1994 (1994-02-07), Seiten 66-71, SAN JOSE, US

D2: WO-A-91 07651 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC)
30. Mai 1991

D3: Scanning optical microscope, C.J.R. Sheppard,
Electronics and Power, Seiten 113-119 des Nachdrucks,
Februar 1980

D4: Picosecond phenomena III, Proceedings of the Third International Conference on Picosecond Phenomena, Garmisch-Partenkirchen, Fed. Rep. of Germany, June 16-18, 1982, Multiple Photon Processes in Molecules Induced by Picosecond UV Laser Pulses, Seiten 310-314, by V.S. Antonov et al

III. Die Anmelder haben mit der Beschwerdebeurteilung neue Ansprüche gemäß einem Hauptantrag und einem Hilfsantrag eingereicht und beantragt, auf dieser Grundlage ein Patent zu erteilen. Ihre Argumentation lässt sich wie folgt zusammenfassen:

Der neue Anspruch 1 nach Hauptantrag sei auf die Untersuchung von biologischen Objekten beschränkt. Eine weitere Klarstellung beziehe sich auf die lumineszierenden Moleküle, deren Fluoreszenzlebensdauer kleiner als 10 Nanosekunden sei, eine Abgrenzung von der Entgegenhaltung D1 im Sinne eines Disclaimers, die speziell Farbstoffe mit langer Fluoreszenzlebensdauer im Bereich von >10 Mikrosekunden betreffe.

Um eine zeitauflösende Fluoreszenzmikroskopie durchführen zu können, schlage die Druckschrift D1 die Verwendung von Farbstoffen langer Fluoreszenzlebensdauer vor, d.h. die Fluoreszenzlebensdauer betrage mehrere 100 Mikrosekunden. Bei der Verwendung derartiger Farbstoffe sei es möglich, anstelle von Femtosekundenpulsen Lasersysteme mit Pulsdauern im Pikosekundenbereich zu verwenden, da die der Anregung nachfolgende Fluoreszenz erst spät nach dem Abklingen des Pulses einsetze, was eine zeitaufgelöste Messung überhaupt erst möglich mache. Mit anderen Worten, Druckschrift D1 sei auf ein Verfahren zur zeitauflösenden Fluoreszenzmikroskopie gerichtet, wobei Farbstoffe mit sehr langer Lebensdauer der angeregten Niveaus verwendet würden. Demgegenüber betreffe Anspruch 1 nach Hauptantrag ein Rastermikroskop, bei welchem eine Zwei-Photonen-Absorption in einem "üblichen" Farbstoff verwendet werde, um ein Rasterbild eines biologischen Objektes aufnehmen zu können. Dabei

würden vorteilhafterweise Pulsdauern größer 1 Pikosekunde verwendet, was den Einsatz von herkömmlichen und preisgünstigen Lasersystemen ermögliche. Der D1 sei daher nur zu entnehmen, dass bei der Verwendung von "üblichen" Farbstoffen, d.h. solchen mit angeregten Niveaus kurzer Lebensdauer zwangsläufig Laser im Femtosekundenbereich verwendet werden müssten, um eine zeitaufgelöste Mikroskopie durchführen zu können.

Druckschrift D2 zeige ein Rastermikroskop mit einer Zwei-Photonen-Anregung. Dabei würden fluoreszierende Farbstoffe, sog. Fluorophore, die im UV-Bereich absorbierten, durch einen Zwei-Photonen-Prozess angeregt, wodurch ein Fluoreszenzlicht im Sichtbaren abgegeben werde. Die Anregung durch den Zwei-Photonen-Prozess erfolge auch hier im Roten bzw. Infraroten. In der D2 werde die Ansicht vertreten, dass eine derartige Anregung nur mit Pulsdauern im Sub-Pikosekundenbereich erfolgen könne, da ansonsten keine ausreichende Fluoreszenz der angeregten Moleküle beobachtbar wäre. Diese Ansicht werde noch dadurch unterstützt, dass die Anzahl der absorbierten Photonen pro Fluorophor pro anregendem Puls eine inverse Funktion der Pulsdauer sei, wie dies aus der Gleichung in D2 hervorgehe. Um nun die Anzahl der absorbierten Photonen zu steigern, müsse daher nach der Lehre der D2 die Pulsdauer weiter verkürzt werden. Diese Aussage sei im klaren Widerspruch zur erfindungsgemäßen Lehre, derzufolge Pulsdauern von einer Pikosekunde oder größer bei der Verwendung "normaler" Farbstoffe ausreichend seien, um eine dreidimensionale Rastermikroskopie durchführen zu können.

Druckschrift D3 betreffe ein optisches Rastermikroskop, bei dem ein Laser zum Abtasten eines Objekts verwendet

werde, wodurch sich die Auflösung und der Kontrast im Vergleich zu einem konventionellen Mikroskop erhöhten. Als Lichtquelle komme üblicherweise ein handelsüblicher Helium-Neon-Laser zum Einsatz. Ferner sei in D3 beschrieben, dass mittels eines Nd-YAG-Lasers optische Harmonische innerhalb des Objekts erzeugt werden könnten. Die optischen Harmonischen würden gesammelt und detektiert, wodurch Variationen in der Struktur des Objekts und seine Orientierung beobachtbar seien. Allerdings stelle sich auch hier bei der Erzeugung von optischen Harmonischen die Frage der Zerstörung des Objekts durch exzessive Wärmezufuhr. Nur als weitere Möglichkeit werde in der D3 ausgeführt, dass weitere nicht-lineare Wechselwirkungen in der Mikroskopie verwendbar sein könnten, wobei dies jedoch reine Zukunftsmusik sei. Als mögliche Wechselwirkung würde auch die Zwei-Photonen-Fluoreszenz in D3 erwähnt. Mit anderen Worten, ein Rastermikroskop mit Zwei-Photonen-Anregung könne der Druckschrift D3 nur als eine reine Spekulation entnommen werden.

Druckschrift D4 schließlich betreffe Mehr-Photonen-Prozesse in Molekülen, die durch UV-Laserpulse mit Pulsdauern im Pikosekundenbereich induziert würden. In D4 würden folglich fotochemische Prozesse beschrieben und untersucht, die durch die Zufuhr von Energie mittels einer Zwei-Photonen-Absorption gezielt in Gang gesetzt würden. Insbesondere betreffe die D4 das Studium von fotochemischen Transformationen von mehratomigen Molekülen bei einer Mehrphotonenanregung von elektronischen Molekülzuständen, wodurch neue photochemische Reaktionen im Sinne beispielsweise eines selektiven Katalysators induziert werden sollten.

Druckschrift D4 betreffe also das Gebiet der Photochemie und kein Lumineszenz-Rastermikroskop.

Gegenüber den Druckschriften D1 bis D4 sei daher das Lumineszenz-Rastermikroskop mit den Merkmalen des Anspruchs 1 nach Hauptantrag neu.

Auch einer Kombination der genannten Druckschriften könne der Fachmann den Gegenstand des Anspruchs 1 nach Hauptantrag ohne eigenes erfinderisches Zutun nicht entnehmen.

So sei Druckschrift D1 nicht auf ein Lumineszenz-Rastermikroskop gerichtet und lehre die Verwendung spezieller Farbstoffe mit extrem langer Lebensdauer des angeregten Zustands. Druckschrift D2 betreffe zwar ein Lumineszenz-Rastermikroskop, führe jedoch den Fachmann von der Erfindung weg, da hier die Ansicht vertreten werde, dass ausschließlich Pulse im Sub-Pikosekundenbereich verwendbar seien, um ein entsprechendes Fluoreszenzsignal zu erhalten.

Druckschrift D3 äußere sich zur Frage der Pulsdauer nicht und beinhalte ein Lumineszenz-Rastermikroskop als einen rein spekulativen Gegenstand. Druckschrift D4 schließlich betreffe das Gebiet der fotoinduzierten Chemie und habe mit dem Gegenstand der Anmeldung außer der Verwendung von gepulsten Lasern nichts zu tun.

An dieser Stelle werde auf die bereits im Verfahren genannte Entscheidung T 0558/01 verwiesen, in der die Kammer das Vorliegen einer erfinderischen Tätigkeit bei einem Lumineszenz-Rastermikroskop bejaht habe, da es keiner der Entgegenhaltungen, beispielsweise auch nicht der hier im Verfahren befindlichen D3, entnehmbar sei.

Der Fall der T 0558/01 sei daher analog zu dem hier vorliegenden zu bewerten, da einzig die Entgegenhaltung D2 ein real existierendes Lumineszenz-Rastermikroskop betreffe, wobei in der D2 jedoch die Ansicht vertreten werde, dass ein derartiges Mikroskop nur unter Verwendung von Pulsen im Sub-Pikosekunden-Bereich funktionsfähig sei. Es habe daher zum Zeitpunkt der Anmeldung in der "Scientific Community" die Ansicht geherrscht, dass eine Lumineszenz-Rastermikroskopie mit Pulsdauern von größer einer Pikosekunde nicht möglich sei.

In Anspruch 1 nach dem Hilfsantrag sei klargestellt, dass zur Zwei-Photonen-Anregung gepulste Strahlung im Wellenlängenbereich von Infrarot bis optisch sichtbares Licht verwendet werde. Dieser Wellenlängenbereich sei beispielsweise den Ansprüchen 8, 9 und 10 entnehmbar, denen zufolge die verwendeten Laser ein Halbleiterlaser, ein Gaslaser, ein Helium-Neonlaser oder ein Krypton-Ionen-Laser sein könnten. Derartige Laser emittierten im optisch sichtbaren Bereich bis ins nahe Infrarot. Druckschrift D4 dagegen betreffe nur Pulse im UV-Bereich, die für ein Lumineszenz-Rastermikroskop ungeeignet seien, welches mit Optiken im sichtbaren Bereich arbeite.

IV. In einer Anlage zu der von den Anmeldern hilfsweise beantragten mündlichen Verhandlung hat die Kammer zu den Anträgen Folgendes ausgeführt:

a) Disclaimer

Das Merkmal "kleiner 10 Nanosekunden" im jeweiligen Anspruch 1 des Haupt- und des Hilfsantrags erfüllt offenbar nicht die in G 1/03 und G 2/03 (ABl 2004, 413

bzw. 448) angegebenen Kriterien. Da D1 kein Rastermikroskop betrifft, ist auch kein Disclaimer nötig, um die Neuheit wiederherzustellen, siehe Leitsatz II.1. Auch das Erfordernis nach Leitsatz II.3, dass der Disclaimer für die Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit oder die ausreichende Offenbarung nicht relevant sein darf, ist nicht erfüllt. Schließlich entspricht auch der ausgeschlossene Bereich nicht der Vorwegnahme durch D1, die sich auf Farbstoffe langer Lebensdauer, insbesondere von 1 ms, bezieht, siehe Leitsatz II.2. Das dem Disclaimer entsprechende Merkmal steht daher nicht im Einklang mit den Erfordernissen von Artikel 123(2) EPÜ.

b) Wellenlängenbereich der Laseranordnung

Im kennzeichnenden Teil des Anspruchs 1 ist als Änderung aufgenommen worden, dass die Laseranordnung einen Wellenlängenbereich nahes Infrarot bis sichtbares Licht abgibt. Zur Offenbarung wurde auf die beispielhaften Lasertypen hingewiesen. Hierzu ist jedoch anzumerken, dass der genannte Krypton-Ionen-Laser auch im UV bei 351 und 356 nm emittiert. Der Helium-Neon-Laser hat auch eine Linie bei 3,39 µm, was wohl kein "nahes IR" mehr ist. Der beanspruchte Wellenlängenbereich ist daher den Anmeldungsunterlagen nicht entnehmbar und verletzt daher ebenfalls Artikel 123(2) EPÜ.

c) Erfinderische Tätigkeit

Die von den unzulässigen Erweiterungen befreiten Gegenstände des Anspruchs 1 gemäß dem Haupt- und dem Hilfsantrag beruhen nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. D2 beschreibt offenbar ein Lumineszenz-

Rastermikroskop, von dem sich das beanspruchte nur durch die Pulsdauer von > 1 ps unterscheidet. Allerdings ist es D1, siehe Seite 68, Abschnitt 3, 1. Absatz zu entnehmen, dass für eine Zwei-Photonen-Anregung nicht unbedingt Femtosekunden-Impulse nötig sind, sondern, dass abhängig von der Lebensdauer auch längere Pulse zur Anwendung kommen können. Das führt zu Pulsdauern, die in den beanspruchten Bereich von > 1 ps fallen. In D1, siehe Seite 67, Abschnitt 1, letzter Absatz, ist bereits auf eine D2 entsprechende Publikation "Denk et al." hingewiesen, in der Laserpulse von 100 fs Dauer verwendet werden. Die widerstreitenden Effekte des Erhöhens des Signal-Rausch-Verhältnisses durch erhöhte Pulsrate und des Zerstörens der untersuchten biologischen Probe durch erhöhte mittlere Intensität ist in D1 bezüglich der D2 entsprechenden Publikation diskutiert. Dem entnahm der Fachmann, dass Pulsrate und Pulsdauer der jeweils zu untersuchenden Probe anzupassen waren. Eine obere Grenze für die Pulsdauer von 1 ps, über der die Zwei-Photonen-Anregung versagt, war für den Fachmann aufgrund dieser Angaben jedoch nicht ersichtlich. Ein entsprechendes Vorurteil bestand offenbar nicht.

d) Bei dieser Sachlage erscheine die Zurückweisung der Beschwerde wahrscheinlich.

V. Einen Monat vor der mündlichen Verhandlung haben die Anmelder noch Ansprüche 1 bis 8 gemäß einem Hilfsantrag 2 eingereicht und eine Argumentation zur Stützung dieses Antrags angeboten. Die mündliche Verhandlung hat am 31.01.2008 stattgefunden. In der mündlichen Verhandlung haben die Anmelder beantragt, ein Patent auf der Grundlage des Hauptantrags bzw. eines der

beiden Hilfsanträge zu erteilen. Die Fassungen des Anspruchs 1 bzw. der unabhängigen Ansprüche gemäß den jeweiligen Anträgen lauten wie folgt:

Hauptantrag

1. Lumineszenz-Rastermikroskop mit Zwei-Photonen Anregung zur Untersuchung von biologischen Objekten, mit einer Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung von dreidimensional in einem zu beobachtendem Objekt (5) verteilten, lumineszierenden Molekülen, deren Fluoreszenzlebensdauer kleiner 10 Nanosekunden beträgt, und mit einer das zu beobachtende Objekt (5) abtastenden Rastereinrichtung (6), dadurch gekennzeichnet, dass die Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung gepulste Strahlung mit einer Pulsdauer größer als 1 Pikosekunde abgibt.

Hilfsantrag

1. Lumineszenz-Rastermikroskop mit Zwei-Photonen Anregung zur Untersuchung von biologischen Objekten, mit einer Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung von dreidimensional in einem zu beobachtendem Objekt (5) verteilten, lumineszierenden Molekülen, deren Fluoreszenzlebensdauer kleiner 10 Nanosekunden beträgt, und mit einer das zu beobachtende Objekt (5) abtastenden Rastereinrichtung (6), dadurch gekennzeichnet, dass die Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung gepulste Strahlung im Wellenlängenbereich nahes Infrarot bis optisch sichtbares Licht mit einer Pulsdauer größer als 1 Pikosekunde abgibt.

Hilfsantrag 2

1. Verfahren zur Lumineszenz-Rastermikroskop mit Zwei-Photonen Anregung zur Untersuchung von biologischen Objekten, wobei ein Laserimpuls dreidimensional in einem zu beobachtendem Objekt (5) verteilte, lumineszierende Moleküle mittels eines Zwei-Photonen-Prozesses anregt und das von den Lumineszenzmolekülen des Objekts (5) ausgesandte Lumineszenzlicht gemessen und ausgewertet wird, dadurch gekennzeichnet, dass die Anregung der im Objekt vorhandenen lumineszierenden Moleküle durch Laserimpulse mit einer Pulsdauer größer als 1 Pikosekunde erfolgt, wobei mehrere Rasterpunkte des Objektes (5) gleichzeitig angeregt werden und das von diesen Rasterpunkten ausgesandte Lumineszenzlicht gleichzeitig gemessen wird.

2. Lumineszenz-Rastermikroskop mit Zwei-Photonen Anregung zur Untersuchung von biologischen Objekten, mit einer Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung von dreidimensional in einem zu beobachtendem Objekt (5) verteilten, lumineszierenden Molekülen und mit einer das zu beobachtende Objekt (5) abtastenden Rastereinrichtung (6), dadurch gekennzeichnet, dass die Laseranordnung (1) zur Zwei-Photonen Anregung gepulste Strahlung mit einer Pulsdauer größer als 1 Pikosekunde abgibt, wobei die Laseranordnung (1) als Array von Halbleiterlasern und die Detektoranordnung (2) als Array von Halbleiterdetektoren ausgebildet ist, wobei diese beiden Arrays das Objekt abtasten.

Entscheidungsgründe

1. *Haupt- und Hilfsantrag*

Da die Anmelder keine neuen Argumente zur Stützung dieser Anträge vorgebracht haben, hält die Kammer daran fest, wie in der erwähnten Anlage zur Ladung ausgeführt, dass die Gegenstände des jeweiligen Anspruchs 1 dieser Anträge Merkmale aufweisen, die über den Inhalt der ursprünglichen Unterlagen hinausgehen; davon abgesehen beruhen die Gegenstände des jeweiligen Anspruchs 1 auch nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit, vgl. Artikel 123(2) und 52(1) EPÜ i.V.m. 56 EPÜ 1973.

2. *Hilfsantrag 2*

- 2.1 Das neu in den auf ein Verfahren gerichteten Anspruch 1 aufgenommene Merkmal betrifft die gleichzeitige Anregung mehrerer Rasterpunkte und die gleichzeitige Messung des von den Rasterpunkten ausgesandten Lumineszenzlichts. Entsprechend weist der Vorrichtungsanspruch ein Halbleiterlaserarray und ein Halbleiterdetektorarray auf. Diese Merkmale sind in den ursprünglichen Ansprüchen 5 bzw. 13 (in der Rückbeziehung auf Anspruch 8) sowie 14 entnehmbar und somit ursprünglich offenbart im Sinne von Artikel 123(2) EPC. In der Beschreibung der Anmeldung ist noch im allgemeinen Teil auf Seite 4, die ersten 4 Zeilen, angegeben, dass mit Arrays von Lasern und Detektoren durch geichzeitige Erfassung mehrerer Rasterpunkte die Zeitdauer des Verfahrens verkürzt werden kann. Aber es fehlen in der Beschreibung offensichtlich Details, wie ein entsprechendes Verfahren und eine entsprechende Vorrichtung ausgestaltet werden müssen, um in die Praxis umgesetzt zu werden. Die

diesbezüglich in Betracht kommende Beschreibung in der vorliegenden Anmeldung ist die Passage, Seite 4, die letzten 5 Zeilen, bis Seite 5, drei Zeilen, die noch allgemeiner ist als der Wortlaut des Vorrichtungsanspruchs 2. Beispielsweise ist nicht ersichtlich, ob bzw. wie die Lumineszenz gleichzeitig angeregter Rasterpunkte voneinander getrennt aufgenommen werden kann.

- 2.2 Die Anmelder haben argumentiert, die Prüfungsabteilung habe die Gewährbarkeit dieser auf die ursprünglichen Ansprüche 5 bzw. 13 zurückgehenden Ansprüche nicht in Frage gestellt. Die diesen Ansprüchen entnehmbare Lehre sei zwar relativ kurz, aber für einen Fachmann sei doch klar, wie vorzugehen sei. Die Trennung der Lumineszenz mehrerer gleichzeitig angeregter Rasterpunkte gelinge durch die Abbildung in den konjugierten Ebenen. Geeignete Detektoren seien auch denkbar.
- 2.3 Dies kann die Kammer jedoch nicht überzeugen. Nimmt man an, dass die Lehre für den Fachmann ausreichend ist, so ist sie auch naheliegend, denn Arrays von Halbleiterlasern und -detektoren waren zum Prioritätstag der Anmeldung allgemein bekannt, und es bot sich an, mit jedem Laser- bzw. Detektorelement einen Rasterpunkt zu erfassen, um die Messzeit zu verkürzen. Nimmt man jedoch an, wovon die Kammer ausgeht, dass es nicht trivial ist, die Erfindung in die Praxis umzusetzen, ist diese Umsetzung nicht beschrieben im Sinne einer deutlichen und vollständigen Offenbarung, dass ein Fachmann die Erfindung ausführen kann, vgl. Artikel 83 EPÜ 1973.
- 2.4 Angesichts der langen Dauer des Prüfungsverfahrens hat sich die Kammer dafür entschieden, den Fall abschließend

zu entscheiden und nicht an die Prüfungsabteilung zur weiteren Prüfung zurückzuverweisen, womit die Anmelder einverstanden gewesen wären, siehe Artikel 111(1) EPÜ 1973.

3. Nach Artikel 97(1) EPÜ ist die Anmeldung zurückzuweisen, wenn sie Erfordernissen des EPÜ, im vorliegenden Fall der Artikel 123(2), 52(1) EPÜ i.V.m. Artikel 56 sowie 83 EPÜ 1973, nicht genügt.

Entscheidungsformel

Aus diesen Gründen wird entschieden:

Die Beschwerde wird zurückgewiesen.

Die Geschäftsstellenbeamtin:

Der Vorsitzende:

M. Kiehl

A. G. Klein