

Interner Verteilerschlüssel:

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

**Datenblatt zur Entscheidung
vom 4. April 2007**

Beschwerde-Aktenzeichen: T 0781/06 - 3.3.04

Anmeldenummer: 97115521.3

Veröffentlichungsnummer: 0829542

IPC: C12Q 1/68

Verfahrenssprache: DE

Bezeichnung der Erfindung:

Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäuren

Anmelder:

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Einsprechender:

-

Stichwort:

Amplifikation von Nukleinsäuren/SANOFI-AVENTIS

Relevante Rechtsnormen:

EPÜ Art. 56

Schlagwort:

"Neuer Hauptantrag, erfinderische Tätigkeit - (ja)"

Zitierte Entscheidungen:

-

Orientierungssatz:

-



Aktenzeichen: T 0781/06 - 3.3.04

ENTSCHEIDUNG
der Technischen Beschwerdekammer 3.3.04
vom 4. April 2007

Beschwerdeführer: Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
Brüningstrasse 50
D-65929 Frankfurt am Main (DE)

Vertreter: R. Schneider
Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Angefochtene Entscheidung: Entscheidung der Prüfungsabteilung des Europäischen Patentamts, die am 6. Oktober 2005 zur Post gegeben wurde und mit der die europäische Patentanmeldung Nr. 97115521.3 aufgrund des Artikels 97 (1) EPÜ zurückgewiesen worden ist.

Zusammensetzung der Kammer:

Vorsitzende: U. Kinkeldey
Mitglieder: M. Wieser
G. Weiss

Sachverhalt und Anträge

I. Die Beschwerde der Anmelderin (Beschwerdeführerin) richtet sich gegen die Entscheidung der Prüfungsabteilung mit der die Europäische Patentanmeldung 97 115 521.3, mit der Veröffentlichungsnummer EP-A-0 829 542 und dem Titel "Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäuren", gemäß Artikel 97 (1) EPÜ zurückgewiesen wurde.

II. Die Prüfungsabteilung hatte entschieden, dass der Gegenstand der ihr vorliegenden Ansprüche 1 bis 9 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit gemäß den Erfordernissen von Artikel 56 EPÜ beruhe.

III. Die Kammer teilte ihre vorläufige Meinung in einem Bescheid vom 28. August 2006 mit.

Am 4. April 2007 fand eine mündliche Verhandlung statt.

Die Beschwerdeführerin beantragte, die Zurückweisungsentscheidung aufzuheben und ein Patent auf der Basis der Ansprüche 1 bis 5 (neuer Hauptantrag), eingereicht in der mündlichen Verhandlung, zu erteilen.

IV. Anspruch 1 des neuen Hauptantrages lautet folgendermaßen:

"Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäuren mit Hilfe eines oder mehrerer PNA/DNA-Hybrid-Primer, die an einem Ende eine Nukleosid-Einheit mit einer 3'-Hydroxygruppe haben, eines temperaturstabilen Polymeraseenzym sowie den üblicherweise benötigten Komponenten, wobei das Polymeraseenzym ein Enzym aus der Reihe

VentTM -Polymerase, Pwo-DNA-Polymerase, oder 9°N DNA-PolymeraseTM ist und wobei sich die Nukleosideinheit am 3'-Ende des PNA/DNA Hybrid-Primers befindet."

Die abhängigen Ansprüche 2 und 3 bezogen sich auf bevorzugte Ausführungsformen des Verfahrens gemäß Anspruch 1. Anspruch 4 bezog sich auf die Verwendung der drei in Anspruch 1 genannten Polymerasen in einem Verfahren gemäß Ansprüchen 1 bis 3, Anspruch 5 bezog sich auf die Verwendung des Verfahrens gemäß Ansprüchen 1 bis 3 in einem Diagnostikum.

V. In der vorliegenden Entscheidung werden folgende Entgegenhaltungen erwähnt:

(1) EP-A-0 672 677

(A) Produktbeschreibung Taq Polymerase (Wikipedia)

(B) Produktbeschreibung Vent_R[®] DNA Polymerase

(C) Produktbeschreibung Pwo DNA Polymerase

(D) Produktbeschreibung 9°N_mTM DNA Polymerase

VI. Die Argumente der Beschwerdeführerin können folgendermaßen zusammengefasst werden:

Entgegenhaltung (1) stellte den nächstliegenden Stand der Technik dar. Diese Druckschrift beschrieb die in der vorliegenden Anmeldung verwendeten PNA/DNA Hybrid-Primer und enthielt ein Beispiel einer DNA-Polymerase Reaktion (Beispiel 49), welche als Polymerase das nicht hitzestabile Klenow Fragment verwendete. Außerdem wurde

auf Seite 24 erwähnt, dass die Hybrid-Primer auch in DNA-Polymerasereaktionen wie PCR und LCR unter Einsatz verschiedener Polymerasen, wie zum Beispiel der hitzestabilen Taq Polymerase, verwendet werden könnten.

Angesichts dieser Offenbarung war es Aufgabe der vorliegenden Anmeldung ein verbessertes DNA-Amplifikationsverfahren unter Verwendung der aus Entgegenhaltung (1) bekannten PNA/DNA Hybrid-Primer zur Verfügung zu stellen, das den bekannten Nachteil der Taq Polymerase, nämlich deren mangelhafte Replikationsgenauigkeit, behob.

Angesichts der Struktur der verwendeten Hybrid-Primer, war die Lösung dieses Problems durch die Verwendung der drei in Anspruch 1 angeführten speziellen hitzestabilen Polymerasen, die über einen 3'-5' Exonuklease-Korrekturlese-Mechanismus verfügten, für den Fachmann nicht nahe liegend.

Entscheidungsgründe

Änderungen - Artikel 123(2) EPÜ

1. Anspruch 1 beruht auf den ursprünglich eingereichten Ansprüchen 1, 2, 6 und 8.

Die Ansprüche 2 bis 5 basieren auf den ursprünglich eingereichten Ansprüchen 3, 7, 9 und 11.

Die Erfordernisse des Artikel 123 (2) EPÜ, wonach eine europäische Patentanmeldung nicht in einer Weise geändert werden darf, dass ihr Gegenstand über den

Inhalt der Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht, sind somit erfüllt.

Neuheit - Artikel 54 EPÜ

2. Der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 5 wird in keiner der sich in der Akte befindenden Entgegenhaltungen offenbart und ist somit neu im Sinne von Artikel 54 EPÜ.

Erfinderische Tätigkeit - Artikel 56 EPÜ

3. Entgegenhaltung (1) offenbart die Amplifikation einer DNA-Zielsequenz mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) unter Verwendung der Taq Polymerase sowie der im vorliegenden Anspruch 1 beschriebenen PNA/DNA Hybrid-Primer (Seite 24, Zeilen 20 bis 30 und 53 bis 54) und stellt den nächstliegenden Stand der Technik dar.
4. Die Prüfungsabteilung definierte in Punkt (2.2.2) ihrer angefochtenen Entscheidung die der Anmeldung zu Grunde liegende Aufgabe als die Bereitstellung eines Verfahrens gemäß Entgegenhaltung (1) unter Verwendung alternativer Polymeraseenzyme. Sie gelangte zu der Entscheidung, dass es für den Fachmann nahe liegend war, aus den bekannten, im Handel erhältlichen, hitzestabilen DNA-Polymerasen die speziell beanspruchten Enzyme auszuwählen.
5. Da die Taq Polymerase über keinen 3'-5' Exonuklease-Korrekturlese-Mechanismus verfügt um fehlerhaft in den neu synthetisierten DNA Strang eingefügte Nukleotide zu entfernen (siehe Dokument (A)), hat ihr Einsatz in einem Verfahren gemäß Entgegenhaltung (1) den Nachteil, dass die Präzision der Replikation, d.h. die Übereinstimmung

der Sequenz der neu synthetisierten Nukleinsäurestränge mit der Zielsequenz, mangelhaft ist.

6. Die Kammer stimmt daher der von der Prüfungsabteilung definierten Aufgabe (siehe Punkt (4) oben) nicht zu. Sie sieht die der vorliegenden Erfindung zu Grunde liegende Aufgabe vielmehr in der Bereitstellung eines, gegenüber der Entgegenhaltung (1), in Bezug auf Replikationsgenauigkeit, Reduktion unerwünschter Nebenprodukte und Erhöhung der Ausbeute verbesserten Verfahrens zur Amplifikation von Nukleinsäuren mittels PNA/DNA Hybrid-Primern.

Die Kammer ist überzeugt, dass diese Aufgabe durch das Verfahren gemäß Anspruch 1 gelöst wird, welches die Verwendung eines Enzyms aus der Reihe VentTM-Polymerase, Pwo-DNA-Polymerase oder 9°N DNA-PolymeraseTM vorsieht (siehe Beispiele 3, 10 und 17).

7. Im Gegensatz zur Taq Polymerase verfügen diese drei DNA-Polymerasen über einen 3'-5' Exonuklease-Korrekturlese-Mechanismus, mit dem fehlerhaft in die neu synthetisierten Nukleinsäurestränge eingefügte Nukleosideinheiten entfernt werden können (siehe Entgegenhaltungen (B) Vent[®]-Polymerase, (C) Pwo-DNA-Polymerase und (D) 9°N_mTM DNA-Polymerase. Sie sind daher in der Lage, Amplifikationsprodukte mit höherer Qualität (präzisere Replikation, weniger Nebenprodukte, höhere Ausbeute) zu produzieren.
8. Als 3'-5' Exonuklease wird eine Nuklease bezeichnet, die von ihrem Substrat (DNA und/oder RNA) pro Reaktionszyklus jeweils ein Nukleinsäuremonomer vom 3'-Ende des Moleküls her abspaltet.

Durch aufeinander folgende Reaktionen kommt es zum teilweisen oder vollständigen Abbau des jeweiligen Nukleinsäuremoleküls vom 3'-Ende beginnend.

9. Die im beanspruchten Verfahren verwendeten PNA/DNA-Hybrid-Primer sind dadurch gekennzeichnet, dass sie an ihrem 3'-Ende eine Nukleosideinheit mit einer 3'-Hydroxygruppe aufweisen. Angesichts dieses Aufbaus der Hybrid-Primer musste der Fachmann davon ausgehen, dass eine DNA-Polymerase mit 3'-5'-Exonuklease-Aktivität diese eine Nukleosideinheit am 3'-Ende abspalten würde und damit die Hybrid-Primer in reine PNA Moleküle umwandeln würde.
10. Dem Fachmann war zum Anmeldetag bekannt, dass das Vorhandensein von mindestens einer Nukleosideinheit am 3'-Ende von PNA/DNA-Hybrid-Primern zwingend notwendig ist, damit diese von DNA Polymerasen als Primer akzeptiert werden (siehe Entgegenhaltung (1), Seite 24, Zeilen 25 bis 30).
11. Als mögliche Ursache dafür, dass, entgegen den Erwartungen, die Nukleosideinheit am 3'-Ende der PNA/DNA-Hybrid-Primer nicht durch die 3'-5'-Exonuklease-Aktivität der drei speziellen im Anspruch 1 angeführten Enzyme abgespalten wird, wodurch die erfolgreiche Durchführung der Amplifikationsreaktion möglich wird, führte die Beschwerdeführerin in der mündlichen Verhandlung vor der Kammer an, dass die Bindung zwischen der PNA-Einheit und der Nukleosideinheit am 3'-Ende der Hybrid-Primer sich räumlich von einer Phosphodiester-Bindung unterscheidet, wie sie zwischen zwei Nukleosideinheiten vorliegt, sodass sie von der 3'-5'-Exonuklease nicht hydrolysiert werden kann.

12. Die Kammer gelangt zu der Entscheidung, dass ein Fachmann auf dem Gebiet der Nukleinsäure-Amplifikation, angesichts der Offenbarung im relevanten Stand der Technik in Kombination mit seinem Fachwissen, dies als überraschend und nicht vorhersehbar ansehen musste. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1 unter Verwendung eines der drei angeführten speziellen Polymeraseenzyme mit 3'-5'-Exonuklease-Aktivität kann daher nicht als nahe liegend angesehen werden.

Der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 5 beruht daher auf einer erfinderischen Tätigkeit und erfüllt die Erfordernisse von Artikel 56 EPÜ.

Entscheidungsformel

Aus diesen Gründen wird entschieden:

1. Die angefochtene Entscheidung wird aufgehoben.
2. Die Angelegenheit wird an die erste Instanz mit der Anordnung zurückverwiesen, ein Patent auf der Basis der Ansprüche 1 bis 5 gemäß Hauptantrag eingereicht während der mündlichen Verhandlung und einer noch anzupassenden Beschreibung zu erteilen.

Der Geschäftsstellenbeamte:

Die Vorsitzende:

P. Cremona

U. Kinkeldey