

Interner Verteilerschlüssel:

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

**Datenblatt zur Entscheidung
vom 7. August 2007**

Beschwerde-Aktenzeichen: T 1087/06 - 3.3.08
Anmeldenummer: 02795171.4
Veröffentlichungsnummer: 1456384
IPC: C12N 15/57
Verfahrenssprache: DE

Bezeichnung der Erfindung:

Alkalische Protease aus Bacillus sp. (DSM 14390) und Wasch- und Reinigungsmittel enthaltend diese alkalische Protease

Anmelder:

Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien

Einsprechender:

-

Stichwort:

Alkalische Protease/HENKEL

Relevante Rechtsnormen (EPÜ 1973):

EPÜ Art. 54, 56, 83, 84, 123(2)

Schlagwort:

"Hauptantrag - Neuheit (nein)"

"Hilfsanträge 1 bis 3 - erfinderische Tätigkeit (nein) - Lösung der objektiven technischen Aufgabe nicht über den gesamten Umfang des Anspruchs glaubhaft gemacht"

"Hilfsantrag 4 - Neuheit und erfinderische Tätigkeit (ja)"

Zitierte Entscheidungen:

T 0150/82, T 0219/83, T 0248/85, T 0664/90, T 0939/92

Orientierungssatz:

-



Aktenzeichen: T 1087/06 - 3.3.08

ENTSCHEIDUNG
der Technischen Beschwerdekammer 3.3.08
vom 7. August 2007

Beschwerdeführer: Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien
D-40191 Düsseldorf (DE)

Vertreter: -

Angefochtene Entscheidung: Entscheidung der Prüfungsabteilung des Europäischen Patentamts, die am 9. Februar 2006 zur Post gegeben wurde und mit der die europäische Patentanmeldung Nr. 02795171.4 aufgrund des Artikels 97 (1) EPÜ zurückgewiesen worden ist.

Zusammensetzung der Kammer:

Vorsitzender: L. Galligani
Mitglieder: M. R. Vega Laso
C. Heath

Sachverhalt und Anträge

- I. Die Beschwerde der Anmelderin richtet sich gegen die am 9. Februar 2006 zur Post gegebene Entscheidung der Prüfungsabteilung des Europäischen Patentamtes, mit der die europäische Anmeldung Nr. 02 795 171.4 (veröffentlicht als WO 03/056017) mit der Bezeichnung "Alkalische Protease aus *Bacillus sp.* (DSM 14390) und Wasch- und Reinigungsmittel enthaltend diese alkalische Protease" zurückgewiesen wurde. Die Prüfungsabteilung begründete die Zurückweisung mit der fehlenden Neuheit bzw. der mangelnden erfinderischen Tätigkeit des Gegenstands der ihr vorliegenden Patentansprüche.
- II. Mit der Beschwerdebegründung vom 9. Juni 2006 reichte die Beschwerdeführerin (Anmelderin) geänderte Ansprüche 1 bis 25 sowie die Ergebnisse eines Waschversuchs ein. Sie beantragte die Erteilung eines Patents auf der Grundlage der geänderten Ansprüche, hilfsweise die Anberaumung einer mündlichen Verhandlung.
- III. Der geänderte Anspruch 1 lautete wie folgt:
- "1. Alkalische Protease vom Subtilisin-Typ, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie über Punktmutagenese die Aminosäuren 224V, 250G und 253N oder die Aminosäuren 97S, 99S, 101S, 102V, 157G, 224V, 250G und 253N gemäß der Aminosäurezählung in SEQ ID NO. 1 erhalten hat."
- Die abhängigen Ansprüche 2 bis 5 betrafen verschiedene Ausführungsformen der alkalischen Protease gemäß Anspruch 1. Die Ansprüche 6 und 12 bis 16 waren auf eine Zelle der Stamms *Bacillus sp.* DSM 14390 (vgl. Anspruch 6) bzw. auf (Wirts-)Zellen gerichtet. Die Ansprüche 7 und 8

betrafen Nukleinsäuren und die Ansprüche 9 bis 11 verschiedene Vektoren, die die beanspruchten Nukleinsäuren enthielten. Der Anspruch 17 hatte als Gegenstand ein Verfahren zur Herstellung der beanspruchten alkalischen Protease und die Ansprüche 18 bis 20 betrafen diese enthaltende Wasch- und Reinigungsmittel. Die Ansprüche 21 und 22 waren auf ein Verfahren zur maschinellen Reinigung von Textilien oder harten Oberflächen unter Verwendung der beanspruchten alkalischen Protease bzw. auf die Verwendung an sich gerichtet. Schließlich betrafen die Ansprüche 23 bis 25 ein Verfahren zur Verbesserung der Leistung einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ.

- IV. Der Beschwerde wurde von der Prüfungsabteilung nicht abgeholfen. Sie wurde daher gemäß Artikel 109(2) EPÜ der Beschwerdekammer vorgelegt.
- V. Ihrem Hilfsantrag entsprechend wurde die Beschwerdeführerin zur mündlichen Verhandlung geladen. In einer Mitteilung gemäß Artikel 11(1) der Verfahrensordnung der Beschwerdekammern, die der Ladung beigelegt wurde, teilte die Beschwerdekammer u.a. mit, dass nach ihrer vorläufigen Auffassung der Gegenstand des Anspruchs 1 von der Entgegenhaltung (4), die von der Kammer eingeführt wurde (siehe XI. unten), neuheitsschädlich vorweggenommen werde. In Bezug auf den Gegenstand der Ansprüche 23 bis 25 hielt die Kammer die behauptete Verbesserung der Waschleistung für nicht hinreichend glaubhaft gemacht.
- VI. Die Beschwerdeführerin erwiderte auf die Ausführungen der Kammer zur erfinderischen Tätigkeit. Sie verfolgte ihre Anmeldung auf der Grundlage des mit der

Beschwerdebegründung eingereichten Anspruchssatzes als Hauptantrag weiter, reichte jedoch vier weitere Anspruchssätze als Hilfsanträge ein.

VII. Die mündliche Verhandlung fand am 7. August 2007 statt. Nach der Diskussion reichte die Beschwerdeführerin anstelle ihrer bisherigen Hilfsanträge vier geänderte Anspruchssätze als Hilfsanträge 1 bis 4 ein. Der **Hauptantrag** (siehe III. oben) blieb unverändert bestehen.

VIII. Anspruch 1 des **Hilfsantrags 1** lautete wie folgt:

"1. Verfahren zur Verbesserung der Leistung einer Alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ hinsichtlich der Wasch- und/oder Reinigungsleistung eines diese Protease enthaltenden Mittels, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Protease über Punktmutagenese die Aminosäuren 224V, 250G und 253N oder die Aminosäuren 97S, 99S, 101S, 102V, 157G, 224V, 250G und 253N gemäß der Aminosäurezählung in SEQ ID NO. 1 erhalten hat."

Gemäß dem abhängigen Anspruch 2 war das Verfahren auf eine Verbesserung der Leistung der alkalischen Protease aus *Bacillus lentus* gerichtet.

IX. Im **Hilfsantrag 2** wurde das Verfahren gemäß Anspruch 1 auf den Austausch der Aminosäuren an den Positionen 224, 250 und 253 durch Valin, Glycin und Asparagin eingeschränkt. Der Anspruch 2 blieb unverändert.

X. Der einzige Anspruch des **Hilfsantrags 3** unterschied sich von dem Anspruch 1 des Hilfsantrags 1 durch die Kennzeichnung der Ausgangsprotease als eine alkalische Protease vom Subtilisin-Typ aus *Bacillus lentus*. Im

Hilfsantrag 4 wurde der Anspruch zusätzlich auf den Austausch der Aminosäuren an den Positionen 224, 250 und 253 durch Valin, Glycin und Asparagin eingeschränkt.

XI. In dieser Entscheidung wird auf folgende Entgegenhaltungen Bezug genommen:

(1): Auszug aus der EMBL-Datenbank, Zugangsnummer AAQ80316, zugänglich seit dem 5. September 1995;

(2): Auszug aus der EMBL-Datenbank, Zugangsnummer Q99405, zugänglich seit dem 1. Februar 1995;

(2a): T. Kobayashi et al., 1995, Appl. Microbiol. Biotechnol., Band 43, Seiten 473 bis 481;

(3): Mala B. Rao et al., September 1998, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Band 62, Nr. 3, Seiten 597 bis 635;

(4): JP 06 327 472-A, veröffentlicht am 29. November 1994.

XII. Zu den für diese Entscheidung relevanten Fragen trug die Beschwerdeführerin folgendes vor:

Hauptantrag

Gemäß Anspruch 1 werde eine alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ beansprucht, bei der die Positionen 224, 250 und 253 oder die Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 mit bestimmten Aminosäuren besetzt seien, sofern das Wildtyp-Molekül nicht von vornherein über diese Aminosäure-Positionsbelegungen verfüge.

Wildtyp-Proteasen, die alle diese Positionsbelegungen aufweisen, wie beispielsweise die in den Entgegenhaltungen (1) und (2) beschriebene Protease aus *Bacillus sp.* KSM-K16, seien nicht betroffen. Da keiner der Anspruchsgegenstände aus den Entgegenhaltungen (1) oder (2) hervor gehe, sei Neuheit i.S.v. Artikel 54 EPÜ gegeben. Gegenüber der Entgegenhaltung (4) sei die Neuheit auf Grund des Verfahrensmerkmals "... durch Punktmutagenese ... erhalten" gegeben.

Hilfsanträge 1 bis 4

Die gelöste objektive technische Aufgabe bestehe darin, ein Verfahren zur gezielten Verbesserung der Leistung einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ hinsichtlich der Wasch- und/oder Reinigungsleistung eines diese Protease enthaltenden Mittels bereitzustellen. Die erfinderische Leistung sei in der Bereitstellung der technischen Lehre zu sehen, diese gezielten Veränderungen gerade an den in Anspruch 1 genannten Positionen 224, 250 und 253 (mit Bezug auf Savinase®) bzw. an den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 (mit Bezug auf die alkalische Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483) vorzunehmen.

Der Nachweis, dass die Aminosäure-Austausche 224V, 250G und 253N bei einer Protease, die die genannten Aminosäuren noch nicht besitze, die Waschleistung der Protease bei deren Einsatz in einem Waschmittel verbesserten, sei erbracht worden. Zum einen zeige der mit der Beschwerdebegründung eingereichte Vergleichsversuch die verbesserte Waschleistung einer Protease mit den Aminosäuresubstitutionen 3T/4I/224V/250G/253N gegenüber einer Protease mit den

Aminosäuresubstitutionen 3T/4I. Diese beiden Proteasen unterscheiden sich ausschließlich in den drei Positionen 224, 250 und 253. Zum anderen werde in Beispiel 6 der Anmeldung ein Vergleichsversuch der Protease aus *Bacillus sp.* DSM 14390 mit der Protease Savinase® gezeigt. Insbesondere betreffend die Anschmutzungen C und E ist die Protease aus *Bacillus sp.* DSM 14390 der Savinase® überlegen. In weniger deutlicher Form gelte dies auch für die Anschmutzungen A und B. Wie aus Figur 1 (Teil 2) durch den Vergleich von Sequenz 1 (*Bacillus sp.* DSM 14390) mit Sequenz 2 (Savinase®) hervorgehe, unterscheiden sich diese beiden Enzyme ausschließlich in den Positionen 224V, 250G und 253N. Somit sei die verbesserte Waschleistung der Protease zweifelsfrei auf das Vorhandensein dieser Aminosäuren zurückzuführen.

Entsprechendes gelte auch für die alternativen zusätzlichen Veränderungen an den Positionen 97, 99, 101, 102 und 157, die notwendig seien, um die Protease aus *Bacillus sp.* DSM 14390 aus der alkalischen Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483, die die Basis für die in dem Vergleichsversuch in Beispiel 6 verwendete Protease F49 sei, zu erhalten.

- XIII. Die Beschwerdeführerin (Anmelderin) beantragte die Aufhebung der angefochtenen Entscheidung und die Erteilung eines europäischen Patents auf der Grundlage des mit Schreiben vom 9. Juni 2006 eingereichten Hauptantrags oder eines der in der mündlichen Verhandlung eingereichten Hilfsanträge 1 bis 4.

Entscheidungsgründe

Hauptantrag - Artikel 54 EPÜ

1. Anspruch 1 des Hauptantrags ist auf eine alkalische Protease vom Subtilisin-Typ gerichtet, die durch ein Herstellungsverfahren definiert ist ("daß sie über Punktmutagenese die Aminosäuren erhalten hat").
2. Nach ständiger Rechtsprechung der Beschwerdekammern (siehe u.a. T 150/82, ABl. EPA 1984, 309; T 248/85, ABl. EPA 1986, 261; und T 664/90 vom 9. Juli 1991) werden Erzeugnisansprüche, bei denen das beanspruchte Erzeugnis durch ein Herstellungsverfahren definiert wird (sog. "product-by-process"-Ansprüche), nur gewährt, wenn (i) das beanspruchte Erzeugnis als solches, d.h. unabhängig von dem im Anspruch angegebenen Herstellungsverfahren die Voraussetzungen für die Patentierung (vgl. Artikel 52 EPÜ) erfüllt, und (ii) die Anmeldung keine anderen Angaben enthält, die es dem Anmelder ermöglichen würden, das Erzeugnis durch dessen Zusammensetzung, Struktur oder sonstige nachprüfbare Parameter hinreichend zu kennzeichnen.
3. Im vorliegenden Fall erfüllt Anspruch 1 zumindest das erste dieser Zulässigkeitsanforderungen nicht, weil seinem Gegenstand sowohl im Hinblick auf die von der Kammer eingeführte Entgegenhaltung (4) als auch auf das von der Prüfungsabteilung entgegengehaltene Dokument (2) die Neuheit fehlt.
4. Die zum Stand der Technik gemäß Artikel 54(2) EPÜ gehörende Entgegenhaltung (4) beschreibt eine alkalische Protease aus dem *Bacillus*-Stamm KSM-K16, deren

- Aminosäuresequenz auf Seiten 425 und 426 der Druckschrift angegeben wird (siehe SEQ ID NO:1). Diese Aminosäuresequenz entspricht weitgehend der Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:1 der vorliegenden Anmeldung, einschließlich der Aminosäuren 224V, 250G und 253N (siehe die entsprechenden Positionen 335, 361 und 364 in der Entgegenhaltung) und der Aminosäuren 97S, 99S, 101S, 102V und 157G (siehe die entsprechenden Positionen 208, 210, 212, 213 und 268 in der Entgegenhaltung).
5. Die in der Entgegenhaltung (4) beschriebene Aminosäuresequenz unterscheidet sich zwar von der Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:1 der vorliegenden Anmeldung durch zwei Aminosäuren an den Positionen 18 und 92, jedoch umfasst der Anspruch 1 des Hauptantrags auf Grund seiner breiten Formulierung über die in der Anmeldung offenbarte alkalische Protease hinaus auch weitere alkalische Proteasen vom Subtilisin-Typ, soweit deren Aminosäuresequenzen die Aminosäuren 224V, 250G und 253N oder die Aminosäuren 97S, 99S, 101S, 102V, 157G, 224V, 250G und 253N aufweisen, darunter auch die in der Entgegenhaltung (4) beschriebene Protease, die unbestritten die strukturellen Merkmale einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ aufweist.
6. Entgegen der Meinung der Beschwerdeführerin kann das Merkmal "... durch Punktmutagenese ... erhalten hat" die Neuheit der alkalischen Protease gemäß Anspruch 1 nicht begründen. Nach der Rechtsprechung der Beschwerdekammern (vgl. T 219/83, ABl. EPA 1986, 211) müssen "product-by-process"-Ansprüche uneingeschränkt, d.h. unabhängig vom Herstellungsverfahren ausgelegt werden. Folglich ist der Gegenstand des vorliegenden Anspruchs 1 nicht auf Proteasen beschränkt, die durch Austausch der

Aminosäuren an den im Anspruch angegebenen Positionen einer Ausgangsprotease durch bestimmte andere Aminosäuren **über Punktmutagenese** erhalten werden; vielmehr umfasst Anspruch 1 ebenfalls alkalische Proteasen, die "von Natur aus" an diesen bestimmten Positionen dieselben Aminosäuren aufweisen, selbst wenn sie auf einem anderen Weg (z.B. durch Aufreinigung) erhalten werden. Somit fehlt dem Gegenstand des Anspruchs 1 im Hinblick auf die in der Entgegenhaltung (4) beschriebene alkalische Protease die Neuheit.

7. In dem von der Prüfungsabteilung entgegengehaltenen Dokument (2) (siehe XI. oben) wird die Aminosäuresequenz der M-Protease aus dem *Bacillus*-Stamm KSM-K16 beschrieben. Gemäß Dokument (2a), auf das in der Entgegenhaltung (2) unter Referenz [2] verwiesen wird, handelt es sich bei der M-Protease um eine alkalische Protease (siehe "Abstract" auf Seite 473 vom Dokument (2a)). Die Aminosäuresequenz der M-Protease der Entgegenhaltung (2), die die strukturellen Merkmale einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ aufweist, ist mit der Aminosäuresequenz des in der vorliegenden Anmeldung offenbarten reifen Proteins (vgl. Aminosäuren 1 bis 269 in SEQ ID NO:1 der Anmeldung) identisch und enthält daher ebenfalls die Aminosäuren 97S, 99S, 101S, 102V, 157G, 224V, 250G und 253N. Somit war am Prioritätstag der vorliegenden Anmeldung eine alkalische Protease mit sämtlichen Merkmalen des Anspruchs 1 auch aus der Entgegenhaltung (2) bekannt.
8. Der Einwand fehlender Neuheit betrifft auch den Gegenstand des Anspruchs 8, der auf eine Nukleinsäure gerichtet ist, die eine alkalische Protease vom

Subtilisin-Typ gemäß Anspruch 1 kodiert. Eine solche Nukleinsäure war sowohl aus der Entgegenhaltung (4) (siehe SEQ ID NO: 2 auf Seiten 426 und 427) als auch aus der von der Prüfungsabteilung angeführten Entgegenhaltung (1) (siehe XI. oben) bekannt.

9. Somit ist der Hauptantrag mangels Neuheit des Gegenstands der Ansprüche 1 und 8 nicht gewährbar.

Hilfsantrag 1 - Artikel 123(2), 54 und 56 EPÜ

10. Anspruch 1 des ersten Hilfsantrags ist auf ein Verfahren zur Verbesserung der Leistung einer (beliebigen) alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ gerichtet, bei dem über Punktmutagenese die Aminosäuren an den Positionen 224, 250 und 253 bzw. an den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 gemäß der Aminosäurezählung in SEQ ID NO. 1 durch bestimmte im Anspruch angegebene Aminosäuren ersetzt werden.
11. Der Anspruch findet seine Grundlage in dem ursprünglichen Anspruch 52 und den ersten zwei Absätzen auf Seite 82 der Anmeldungsunterlagen (vgl. Artikel 123(2) EPÜ). Der beanspruchte Gegenstand ist als neu im Sinne des Artikels 54(2) EPÜ anzusehen, weil keines der vorliegenden Dokumente des Standes der Technik ein Verfahren mit sämtlichen Merkmalen des Anspruchs 1 beschreibt.
12. Bei der Prüfung, ob der Gegenstand des Anspruchs 1 auf erfinderischer Tätigkeit beruht (vgl. Artikel 56 EPÜ), hat die Prüfungsabteilung die Entgegenhaltung (3) als der nächstliegende Stand der Technik betrachtet. Diese Entgegenhaltung gibt eine Übersicht über verschiedene

molekulare und biotechnologische Aspekte von Proteasen, insbesondere denen aus Mikroorganismen. Sowohl die Klonierung und Expression von Protease-Genen, insbesondere solche, die eine alkalische Protease vom Subtilisin-Typ kodieren (siehe die Ausführungen auf Seite 610, linke Spalte unter der Überschrift "(iii) Alkalophilic *Bacillus* spp." und auf Seite 614, linke Spalte unter der Überschrift "(ii) Alkaline proteases"), als auch die Modifizierung von Proteasen über Punktmutagenese mit dem Ziel, die Enzyme auf eine gewünschte Anwendung hin zu optimieren, werden eingehend besprochen (siehe insbesondere die Kapitel "Genetic engineering of microbial proteases" auf Seite 607, "Protein engineering" auf Seite 616 und "Current problems and potential solutions" auf Seite 626). Auf Seite 606 unter der Überschrift "Detergents" werden die Eigenschaften von zur Verwendung in Waschmitteln geeigneten Proteasen erörtert; es wird auch erwähnt, dass in den Waschmitteln, die zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der Entgegenhaltung (3) auf dem Markt waren, nur Serinproteasen zum Einsatz kamen, die aus *Bacillus*-Stämmen isoliert worden waren (siehe Seite 606, rechte Spalte, ersten vollständigen Absatz). Als Beispiel für Protease-Präparate, die von einem alkalophilen *Bacillus*-Stamm produziert werden, und bei hohen pH-Werten aktiv und stabil sind, werden Esperase® und Savinase T® genannt.

13. Ausgehend von der Entgegenhaltung (3) formulierte die Beschwerdeführerin die zu lösende technische Aufgabe als die Bereitstellung eines Verfahrens zur gezielten Verbesserung der Leistung einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ hinsichtlich der Wasch- und/oder

Reinigungsleistung eines diese Protease enthaltenden Mittels.

14. Aus der Sicht der Beschwerdeführerin wird diese Aufgabe von einem Verfahren gemäß Anspruch 1 gelöst. In der angefochtenen Entscheidung stellte die Prüfungsabteilung indessen fest, dass eine tatsächliche Verbesserung der Wasch- und/oder Reinigungsleistung experimentell nur für eine bestimmte Protease gezeigt worden sei. Im übrigen sei eine Leistungsverbesserung durch die anspruchsgemäße Modifizierung der Aminosäuresequenz einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ spekulativ und durch keinerlei technische Daten gestützt.

15. Im Hinblick auf diese Feststellung hat sich die Kammer bei der Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit im Sinne des Artikels 56 EPÜ mit der Frage befasst, ob die Behauptung, die der beanspruchten Erfindung zugrunde liegende technische Aufgabe, mit deren Formulierung die Kammer auch einverstanden ist, werde über den gesamten Umfang des Anspruchs gelöst, von der Beschwerdeführerin glaubhaft gemacht wurde. Die in der Rechtsprechung der Beschwerdekammern geforderte Glaubhaftmachung, dass die technische Aufgabe von in wesentlichen allen Ausführungsformen der beanspruchten Erfindung gelöst wird, leitet sich von dem allgemeinen Rechtsgrundsatz ab, dass der Umfang des durch das Patent verliehenen Ausschließlichkeitsrechts dem technischen Beitrag zum Stand der Technik entsprechen und durch diesen begründet sein muss (vgl. T 939/92, ABl EPA 1996, 309).

16. In dem vorliegenden Fall kann ein technischer Beitrag bei dem Gegenstand des vorliegenden Anspruchs 1 nur anerkannt werden, wenn glaubhaft gemacht wird, dass bei

- im wesentlichen allen** alkalischen Proteasen vom Subtilisin-Typ die anspruchsgemäße Modifizierung deren Aminosäuresequenz an den Positionen 224, 250 und 253 bzw. an den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 tatsächlich eine Verbesserung der Wasch- und/oder Reinigungsleistung eines die modifizierte alkalische Protease enthaltenden Waschmittels zur Folge hat.
17. Nach Würdigung der Versuchsergebnisse in den Beispielen der Anmeldung sowie des mit der Beschwerdebegründung eingereichten Waschversuchs ist die Kammer der Auffassung, dass die Lösung der technischen Aufgabe (siehe Punkt 13 oben) nicht über den gesamten Umfang des Anspruchs glaubhaft gemacht wurde.
18. In den Beispielen 6 bis 8 der Patentanmeldung wurde die Leistung verschiedener Wasch- oder Reinigungsmittel, die eine alkalische Protease vom Subtilisin-Typ enthielten, getestet. Verglichen wurden die alkalische Protease aus *Bacillus* spp DSM 14390, in deren Aminosäuresequenz die Positionen 224, 250 und 253 mit den Aminosäuren Valin, Glycin bzw. Asparagin besetzt sind, und drei weitere alkalische Proteasen: Savinase[®], alkalische Protease F49 und Properase[®].
19. Aus den Ergebnissen des Waschversuchs in Beispiel 6 ist ersichtlich, dass zumindest bei zwei Arten von Anschmutzungen auf Textilien die Waschleistung eines die alkalische Protease aus *Bacillus* spp DSM 14390 enthaltenden Waschmittels der Waschleistung eines Mittels mit Savinase[®] signifikant überlegen war (siehe Spalten C und E in Tabelle 3 auf Seite 90 der Anmeldung). Die Aminosäuresequenzen dieser zwei Proteasen unterscheiden sich nur an den Positionen 224, 250 und

253 (Valin, Glycin bzw. Asparagin bei der alkalischen Protease aus *Bacillus* spp DSM 14390 und Alanin, Serin und Serin bei Savinase®; siehe die Aminosäuresequenzen mit der Nummern 1 und 2 in Figur 1/Teil 2 der Anmeldung). Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Austausch der Aminosäuren an den Positionen 224, 250 und 253 der Aminosäuresequenz der als Savinase® bekannten alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ durch die in Anspruch 1 angegebenen Aminosäuren (Valin, Glycin bzw. Asparagin) und der beobachteten Verbesserung der Waschleistung eines diese Protease enthaltenden Waschmittels erscheint daher glaubhaft.

20. Laut Anmeldung handelt es sich bei dem Enzym Savinase® um eine alkalische Protease des Gram-positiven Bakteriums *Bacillus lentus*. Ein weiterer Waschversuch mit einer alkalischen Protease aus dieser *Bacillus*-Art wurde von der Beschwerdeführerin mit der Beschwerdebegründung eingereicht. Bei diesem Versuch enthielten die getesteten Waschmittel die alkalische Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483 (Waschmittel A) bzw. eines deren Muteine S3T/V4I (Waschmittel B) und S3T/V4I/A224V/S250G/S253N (Waschmittel C). Diese zwei Muteine unterscheiden sich lediglich durch die im Anspruch angegebenen Aminosäureaustausche an den Positionen 224, 250 und 253. Unter standardisierten Waschbedingungen zeigte das Waschmittel C bei einem mit Blut angeschmutzten Baumwollgewebe eine deutlich bessere Waschwirkung als das Waschmittel B. Dieses Ergebnis bestätigt die Annahme eines Zusammenhangs zwischen der anspruchsgemäßen Modifizierung der Aminosäuresequenz einer alkalischen Protease aus *Bacillus lentus* an den Positionen 224, 250 und 253 und der Verbesserung der

Waschleistung eines diese Protease enthaltenden
Waschmittels.

21. Hinsichtlich anderer alkalischer Proteasen vom Subtilisin-Typ als die Protease aus *Bacillus lentus* sowie in Bezug auf den Austausch der Aminosäuren an den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 kann die Kammer nicht erkennen, dass ein solcher Zusammenhang von den weiteren Vergleichsversuchen in der Anmeldung glaubhaft gemacht wurde. Bei der alkalischen Protease F49, die in den Reinigungsversuchen der Beispiele 7 und 8 mit der alkalischen Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483 verglichen wurde, handelt es sich auch um ein Mutein einer alkalischen Protease aus einem anderen Stamm von *Bacillus lentus*. Die Aminosäuresequenzen dieser Proteasen unterscheiden sich nicht nur in den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253, sondern auch in den Positionen 3, 4, 188, 193, 199 und 211. Daher können aus einem Vergleich der Leistung dieser beiden Proteasen keine Schlüsse hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs zwischen der anspruchsgemäßen Modifizierung der Aminosäuresequenz und einer Leistungsverbesserung gezogen werden.
22. Bezüglich der als Properase[®] bekannten alkalischen Protease, die in den Vergleichsversuchen der Beispiele 7 und 8 der Anmeldung eingesetzt wurde, enthält die Anmeldung weder Angaben zu dem Organismus, aus dem sie isoliert wurde, noch Sequenzinformationen, die es der Kammer ermöglichen würden, Unterschiede zu der Aminosäuresequenz der alkalischen Protease aus *Bacillus* spp DSM 14390 oder der Protease F49 festzustellen, auf die die aus Tabellen 4 und 5 der Anmeldung ersichtlichen Unterschiede in der

Reinigungsleistung zurückgeführt werden könnten. Die Beschwerdeführerin hat in dieser Hinsicht auch keine Angaben gemacht. Deshalb können die Vergleichsversuche mit Properase® nicht berücksichtigt werden.

23. Mangels experimenteller Nachweise für andere alkalische Proteasen vom Subtilisin-Typ hat die Kammer geprüft, ob sich anhand der Angaben in der Anmeldung oder in den vorliegenden Dokumenten des Standes der Technik die nachgewiesene technische Wirkung der anspruchsgemäßen Modifizierung der Aminosäuresequenz einer alkalischen Protease aus *Bacillus lentus* auf andere alkalische Proteasen übertragen lässt. Der Familie der Proteasen vom Subtilisin-Typ gehören neben den alkalischen Proteasen aus Mikroorganismen der Gattung *Bacillus* auch Proteasen aus Gram-negativen Bakterien, Pilzen (z.B. *Aspergillus oryzae* oder *Acremonium chrysogenum*) und Hefen (z.B. *Yarrowia lipolytica*) an. Alle diese Proteasen sind zwar in bestimmten Bereichen ihrer Aminosäuresequenz stark homolog zueinander, weisen jedoch in anderen Bereichen große Unterschiede auf. Ob sich die Aminosäuren an den im Anspruch angegebenen Positionen in einem konservierten oder in einem variablen Bereich der Aminosäuresequenz befinden, kann weder der Anmeldung noch den vorliegenden Dokumenten eindeutig entnommen werden. Theoretische Erwägungen, die bei einer anspruchsgemäßen Modifizierung der Aminosäuresequenz einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ eine **Verbesserung** ihrer Leistung wahrscheinlich erscheinen lassen, sind auch nicht vorgetragen worden.

24. Zusammenfassend kommt die Kammer zu dem Ergebnis, dass eine auf die anspruchsgemäßen Aminosäureaustausche

zurückzuführende Verbesserung der Leistung nicht bei allen alkalischen Proteasen vom Subtilisin-Typ glaubhaft gemacht wurde, sondern lediglich bei einer alkalischen Protease aus *Bacillus lentus*. Da die von der Beschwerdeführerin geltend gemachte technische Aufgabe nicht über den gesamte Umfang des Anspruchs 1 gelöst wird, kann eine erfinderische Tätigkeit gemäß Artikel 56 EPÜ nicht erkannt werden.

Hilfsanträge 2 und 3 - Artikel 56 EPÜ

25. Aus den in Zusammenhang mit dem Hilfsantrag 1 genannten Gründen (siehe insbesondere Punkte 21 bis 23 oben) folgt, dass auch der Gegenstand des Anspruchs 1 gemäß dem zweiten Hilfsantrag (siehe IX. oben) die Voraussetzungen des Artikels 56 EPÜ nicht erfüllt.

26. Dasselbe gilt *mutatis mutandis* für den Gegenstand des einzigen Anspruchs des dritten Hilfsantrags. Dieser Anspruch umfasst Verfahren, bei denen die Aminosäuresequenz einer alkalischen Protease vom Subtilisin-Typ aus *Bacillus lentus* an den Positionen 97, 99, 101, 102, 157, 224, 250 und 253 modifiziert wird (siehe X. oben). Es folgt aus den Ausführungen der Kammer in Punkt 21, dass der von der Beschwerdeführerin geltend gemachte Vergleichsversuch mit der alkalischen Protease aus *Bacillus sp.* DSM 14390 und der Protease F49 einen direkten Zusammenhang zwischen einer solchen Modifizierung und einer Verbesserung der Leistung der alkalischen Protease nicht hinreichend glaubhaft macht.

Hilfsantrag 4 - Artikel 123(2), 84, 83, 54 und 56 EPÜ

27. Der vierte Hilfsantrag besteht aus einem einzigen Anspruch, welcher auf ein Verfahren gerichtet ist, bei dem eine alkalische Protease vom Subtilisin-Typ aus *Bacillus lentus* über Punktmutagenese die Aminosäuren Valin, Glycin und Asparagin an den Positionen 224, 250 und 253 gemäß der Aminosäurezählung in SEQ ID NO. 1 erhält.

28. Als Grundlage für den Anspruch (vgl. Artikel 123(2) EPÜ) werden der ursprüngliche Anspruch 52 sowie die letzten zwei Absätze auf Seite 81 und die ersten zwei Absätze auf Seite 82 der Anmeldungsunterlagen angesehen. Die formalen Voraussetzungen der Artikel 84 und 83 EPÜ sind erfüllt.

29. Das beanspruchte Verfahren wird von keinem der vorliegenden Dokumente des Standes der Technik beschrieben und ergibt sich nicht in naheliegender Weise aus diesem Stand der Technik. Darüber hinaus ist die Kammer überzeugt, dass das beanspruchte Verfahren die im Hinblick auf die Entgegenhaltung (3) formulierte objektive technische Aufgabe löst (siehe Punkte 13 und 18 bis 20 oben). Der beanspruchte Gegenstand ist also als neu und auf erfinderischer Tätigkeit beruhend im Sinne der Artikel 54 und 56 EPÜ anzusehen.

Entscheidungsformel

Aus diesen Gründen wird entschieden:

1. Die angefochtene Entscheidung wird aufgehoben.

2. Die Sache wird an die Vorinstanz mit der Maßgabe zurückverwiesen, ein Patent auf der Grundlage des Hilfsantrages 4, enthaltend einen Anspruch, eingereicht in der mündlichen Verhandlung, nebst einer noch anzupassenden Beschreibung zu erteilen.

Der Geschäftsstellenbeamte:

Der Vorsitzende:

A. Wolinski

L. Galligani