

Interner Verteilerschlüssel:

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

**Datenblatt zur Entscheidung
vom 14. Juli 2009**

Beschwerde-Aktenzeichen: T 1278/07 - 3.4.02

Anmeldenummer: 04739720.3

Veröffentlichungsnummer: 1636624

IPC: G02B 21/00

Verfahrenssprache: DE

Bezeichnung der Erfindung:
Verfahren zur Fluoreszenzmikroskopie

Anmelder:
CARL ZEISS JENA GmbH

Einsprechender:
-

Stichwort:
-

Relevante Rechtsnormen:
-

Relevante Rechtsnormen (EPÜ 1973):
EPÜ Art. 52, 54, 56

Schlagwort:
"Neuheit und erfinderische Tätigkeit: verneint"

Zitierte Entscheidungen:
-

Orientierungssatz:
-



Aktenzeichen: T 1278/07 - 3.4.02

ENTSCHEIDUNG
der Technischen Beschwerdekammer 3.4.02
vom 14. Juli 2009

Beschwerdeführer: CARL ZEISS JENA GmbH
Carl-Zeiss-Promenade 10
D-07745 Jena (DE)

Vertreter: -

Angefochtene Entscheidung: Entscheidung der Prüfungsabteilung des Europäischen Patentamts, die am 23. März 2007 zur Post gegeben wurde und mit der die europäische Patentanmeldung Nr. 04739720.3 aufgrund des Artikels 97 (1) EPÜ 1973 zurückgewiesen worden ist.

Zusammensetzung der Kammer:

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

Sachverhalt und Anträge

- I. Die europäische Patentanmeldung Nr. 04 739 720.3 (Internationale Veröffentlichungsnummer WO 2004/113987 A1) wurde von der Prüfungsabteilung zurückgewiesen. Gegen diese Entscheidung hat die Anmelderin (Beschwerdeführerin) Beschwerde eingelegt.
- II. Die Zurückweisung wurde von der Prüfungsabteilung damit begründet, dass die ihr vorliegende Fassung des Anspruchs 1 zwar in sprachlicher Hinsicht klargestellt worden sei, aber zuvor gerügte substantielle Klarheitsmängel nicht ausgeräumt worden seien. Der Gegenstand des unter Annahme einer erfolgten Klarstellung interpretierten Anspruchs 1 beruhe, sofern er überhaupt neu sei, jedenfalls nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit. Es wurde auf die folgende Druckschriften verwiesen:
- D1: EP-A-1 308 715
D2: XP-001117891 (R. Lansford et al, J. Biomedical Optics, 6(3), 311-318, 2001)
D3: DE 199 15 137 A
- III. In ihrer Beschwerdebegründung hat die Anmelderin beantragt, ein Patent auf der Grundlage des der angefochtenen Entscheidung zu Grunde liegenden Anspruchs 1 zu erteilen. Die Argumentation der Anmelderin lässt sich wie folgt zusammenfassen:
- In D1 würden nicht mehrere unterschiedliche stabile Mischzustände eines einzelnen Fluoreszenzmarkers herangezogen, um wie beansprucht in mehreren Kanälen ("Sonden") z.B. Transportzustände in Zellen oder

Zellgruppen erfassen zu können, indem besonders vorteilhaft unterschiedliche Bereiche, Zellen oder Zellgruppen unterschiedlich lange beleuchtet oder konvertiert würden, so dass sich bei Verwendung eines einzelnen Markers unterschiedliche Farben einstellen, deren zeitliches Verhalten untersucht werden könne. Überraschend sei bei der vorliegenden Erfindung nunmehr die Zahl der "Sonden", also der detektierten (Bild-) Kanäle, die jeweils einer Farbe oder einem Spektralbereich zugeordnet seien, höher als die Zahl der verwendeten Fluoreszenzmarker.

In D1 werde zwar ein Farbstoff beschrieben, der sein Spektrum entsprechend der Umgebung (Ca-Konzentration) verändere. Jedoch würden bei der Entmischungsanalyse Referenzspektren verwendet, die zwei Extremen der Ionenkonzentration entsprächen (freie Liganden und gebundene Liganden). Somit könnten Konzentrationen der Liganden nur aus der Verrechnung der zwei Zustände bestimmt werden (D1, Sp. 14, Z. 40-49). Es würden also Ratios gebildet und nicht die räumliche Zuordnung der beiden Zustände in Bildkanälen vorgenommen. Somit werde mit dem Farbstoff wiederum nur ein Bildkanal, der der Konzentration des Ligands entspreche, erzeugt und dargestellt.

D2 und D3 entsprächen dem angegebenen Stand der Technik, wonach Spektren den jeweils zu entmischenden Farbstoffen zugeordnet seien. Wenn in der Probe zur Markierung unterschiedlicher Probenregionen bei einer Zelle beispielsweise Kernfärbung, Zytoskelett- und Mytochondrienfärbung mehrere Marker eingebracht werden müssten, würden jeweils die Spektren der Farbstoffe in

Reinform aufgezeichnet und zur Entmischungsanalyse verwendet.

Auch D1 ziele darauf ab, für jeden verwendeten Farbstoff eine Referenzierung vorzunehmen, wobei die Anzahl der Detektionskanäle mindestens der Anzahl der verwendeten Farbstoffe entspreche. In der vorliegenden Anmeldung seien demgegenüber die Spektren, die sich bei den Mischzuständen ergäben, als Referenzspektren für eine Entmischungsanalyse zu verwenden. Die Erzeugung der Mischzustände in Farbstoffen erfolge:

- durch schon in der Probe vorhandene Mischzustände
- durch eine Bestrahlung von Regionen
- im Ergebnis eines in der Probe ablaufenden biologischen Prozesses.

Als Ergebnis der Entmischungsanalyse liege ein farbkodiertes Bild mit Einzelkanälen entsprechend der Mischzustände vor. Es werde ausgenutzt, dass bestimmte Farbstoffe oder Farbstoffkombinationen in stabilen (Zwischen-) Mischzuständen bzgl. ihrer Emissionsspektren verweilen könnten und somit als charakteristische Farbstoffsignatur zur Markierung in biomedizinischen Applikationen als Sonde eingesetzt werden könnten. Der besondere (und überraschende) Vorteil liege darin, dass bei Verwendung eines einzigen in seiner Farbe veränderbaren Markers (durch Erzeugung von Mischzuständen) beispielsweise Transportprozesse in der Zelle erfasst werden könnten. Es sei nicht mehr erforderlich, mehrere spezielle Farbstoffe (Marker), die sich beispielsweise zur spezifischen Färbung des Kerns, des Zytoskeletts und der Mytochondrien eigneten, einzusetzen, sondern es genüge, den einzigen Farbstoff in unterschiedlichen Probenregionen unterschiedlich (beispielsweise durch die Bestrahlungsdauer) einzufärben

und dann die Transportprozesse aufzuzeichnen und anhand der vorher gemessenen Referenzspektren, die unterschiedlichen Farbmischverhältnissen entsprächen, im Bild zu entmischen. Bisher sei die Anzahl der Sonden (Marker) gleich der Anzahl der Farbstoffe gewesen. Nun könnten in Farbstoffen Mischzustände erzeugt werden, die als Sonden bzw. Marker nutzbar seien. Vorteilhaft markiere dieser Farbstoff das Objekt unspezifisch. Durch die Erzeugung von Mischzuständen (ein Mischzustand entspreche einer Sonde) im Farbstoff könnten so spezifisch bestimmte Bereiche in der Probe markiert und beispielsweise deren Interaktion untereinander studiert werden. Durch diese Verfahrensweise reduziere sich der Präparationsaufwand, da beispielsweise zur Erzeugung von N Sonden lediglich ein Farbstoff in die Probe gebracht werden müsse und nicht wie nach dem Stand der Technik N Farbstoffe.

IV. In einer Anlage zur Ladung der von der Anmelderin hilfsweise beantragten mündlichen Verhandlung erfolgte eine vorläufige Mitteilung durch die Kammer, in der sie Folgendes ausgeführt hat:

- a) Die Kammer schließe sich der Prüfungsabteilung in ihrem Befund an, dass der Gegenstand des Anspruchs 1 gegenüber dem durch das Dokument D1 offenbarten Stand der Technik nicht neu sei. Das in D1, Abschnitt 0031 und 0032 beschriebene Verfahren lasse sich hinsichtlich zweier Zustände eines ionensensitiven Farbstoffs, eines freien Farbstoffs und eines gebundenen Farbstoffs, ohne Weiteres mit dem Wortlaut des Anspruchs identifizieren, wonach "bei einem die Farbe bei in der Probe ablaufenden Vorgängen (Interaktion mit Liganden) wechselnden

Fluoreszenzmarker Referenzspektren für unterschiedliche zeitabhängige Färbezustände (frei und gebunden) aufgezeichnet werden und die Referenzspektren zur Bildauswertung herangezogen werden." Der von der Beschwerdeführerin in ihrer Beschwerdebegründung geltend gemachte Unterschied hinsichtlich der Extremzustände der Ionenkonzentration und der Anzahl der Bildkanäle pro Farbstoff sei für die Kammer in der Definition des Anspruchs nicht erkennbar.

- b) Was die Zahl der Kanäle pro Farbstoff anbelange, so halte es die Kammer für sachdienlich, das in der vorliegenden Anmeldung, Seite 7, genannte Dokument in das Verfahren einzuführen:

D4: XP-002961250 (R. Ando et al, PNAS 99/20, 12651-12656, 2002)

D4, siehe Abstract sowie Seite 12656, linke Spalte, den letzten Absatz und rechte Spalte, den ersten Absatz, befasse sich mit einem Farbstoff (Kaede) zur Markierung biologischer Materialien mit möglicher Anwendung bei der Laser-Scanning-Mikroskopie, der eine Fluoreszenz im Roten und eine im Grünen aufweise. Angesichts der in der zitierten Stelle genannten Vorteile der roten und grünen Fluoreszenz hinsichtlich Stabilität, Helligkeit, Trennbarkeit und Anregung mit Wellenlängen, die keine Photokonversion erzeugen, habe es sich angeboten und sei somit für den Fachmann naheliegend gewesen, zur Verringerung des apparativen Aufwands einen derartigen Farbstoff als Marker in dem aus D1 bekannten Verfahren zu

verwenden und beide Fluoreszenzen als Kanäle im Sinne der vorliegenden Anmeldung zu nutzen.

c) Bei dieser Sachlage sei mit der Zurückweisung der Beschwerde zu rechnen. Die mündliche Verhandlung werde der Beschwerdeführerin jedoch Gelegenheit geben, zu den obigen Ausführungen Stellung zu nehmen.

V. Mit ihrem Schreiben vom 10.07.2009 hat die Beschwerdeführerin mitgeteilt, dass sie an der mündlichen Verhandlung nicht teilnehmen werde. Am Ende der mündlichen Verhandlung, die ohne die Beschwerdeführerin stattfand, wurde die Entscheidung verkündet.

VI. Der Anspruch 1 in der gültigen Fassung, die auch der angefochtenen Entscheidung zugrunde liegt, ist der einzige unabhängige Anspruch und lautet folgendermaßen:

"1. Verfahren zur Fluoreszenzmikroskopie mit einem Laser-Scanning-Mikroskop, wobei eine zumindest teilweise spektral aufgelöste Detektion des Fluoreszenzspektrums erfolgt, Farbstoffe zur Markierung von Zellen, Zellteilen oder Geweben oder Materialien eingesetzt werden und von den Farbstoffen Referenzspektren gebildet und zur spektralen Entmischung herangezogen werden, dadurch gekennzeichnet, dass bei einem die Farbe bei unterschiedlicher Beleuchtungsdauer oder bei von einer Strahlungsanregung erzeugten Prozessen oder bei in der Probe ablaufenden, vorzugsweise intrazellulären Vorgängen wechselnden Fluoreszenzmarker Referenzspektren für unterschiedliche zeitabhängige Färbezustände aufgezeichnet werden und die

Referenzspektren zur Bildauswertung herangezogen werden."

Entscheidungsgründe

1. In der o. g. Anlage zur Ladung hat die Kammer unter Hinweis auf die Dokumente D1 und D4 begründet festgestellt, dass nach ihrer vorläufigen Meinung das im Anspruch 1 definierte Verfahren nicht neu ist bzw. nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.
2. Die Beschwerdeführerin hat sich zu dieser Feststellung der Kammer nicht mehr sachlich geäußert und auch an der mündlichen Verhandlung, zu der sie ordnungsgemäß geladen worden war, nicht teilgenommen.
3. Die Kammer hat daher keine Veranlassung, von ihrer vorläufigen negativen Meinung hinsichtlich des Anmeldungsgegenstands abzugehen und kommt zu dem endgültigen Schluss, dass die Anmeldung mangels der Neuheit bzw. der erforderlichen erfinderischen Tätigkeit die Erfordernisse des EPÜ 1973, Artikel 52(1) i. V. m. Artikel 54(1) und (2) sowie 56 nicht erfüllt.

Entscheidungsformel

Aus diesen Gründen wird entschieden:

Die Beschwerde wird zurückgewiesen.

Die Geschäftsstellenbeamtin:

Der Vorsitzende:

M. Kiehl

A. G. Klein