

Veröffentlichung im Amtsblatt	Ja/Nein
Publication in the Official Journal	Yes/No
Publication au Journal Officiel	Oui/Non

Aktenzeichen / Case Number / N^o du recours: T 264/87 - 3.3.2

Anmeldenummer / Filing No / N^o de la demande : 79 400 853.2

Veröffentlichungs-Nr. / Publication No / N^o de la publication : 0 011 562

Bezeichnung der Erfindung: Nouveaux plasmides hybrides et microorganismes les contenant
Title of invention:
Titre de l'invention :

Klassifikation / Classification / Classement : C12N 15/00

ENTSCHEIDUNG / DECISION

vom / of / du 13 juillet 1989

Anmelder / Applicant / Demandeur :

Patentinhaber / Proprietor of the patent /
Titulaire du brevet : ANVAR

Einsprechender / Opponent / Opposant : GIST - BROCADES N.V.

Stichwort / Headword / Référence : Levure transformée/ANVAR

EPÜ / EPC / CBE Art. 54, 56, 83, 84, 100 et 114

Schlagwort / Keyword / Mot clé :
"Nouveauté (oui) - rejet des arguments non pertinents
présentés tardivement"
"Activité inventive (oui) - outil amélioré non évident"
"Insuffisance de l'exposé (non) - absence de preuves -
objections concernent le fondement des revendications
sur la description"

Leitsatz / Headnote / Sommaire

Europäisches
Patentamt

Beschwerdekammern

European Patent
Office

Boards of Appeal

Office européen
des brevets

Chambres de recours



N° du recours : T 264/87 - 3.3.2

D E C I S I O N
de la Chambre de recours technique 3.3.2
du 13 juillet 1989

Requérante : Gist-Brocades n.v.
(Opposant) Wateringseweg 1
NL-2611 TX Delft

Mandataire : Dr. A.V. Huygens
Gist-Brocades N.V.
Wateringseweg 1
NL - 2600 MA Delft

Adversaire : ANVAR
(Titulaire du brevet) Agence Nationale de Valorisation
de la Recherche
43, rue Caumartin
F-75436 Paris Cedex 09

Mandataire : Martin, Jean-Jacques
Cabinet REGIMBEAU
26, Avenue Kléber
F-75116 Paris

Décision attaquée : Décision intermédiaire de la division d'opposition
de l'Office européen des brevets du 20 mars 1987
concernant le maintien du brevet européen
n° 0 011 562 dans une forme modifiée.

Composition de la Chambre :

Président : P. Lançon
Membres : A. Nuss
E. Persson

Exposé des faits et conclusions

- I. La demande de brevet européen n° 79 400 853.2, déposée le 13 novembre 1979 avec revendication de la priorité du 14 novembre 1978 correspondant à une demande française antérieure, a donné lieu le 18 mars 1981 à la délivrance du brevet européen 0 011 562 sur la base de dix revendications ayant pour objet un plasmide hybride (revendications 1 à 8) ainsi qu'un microorganisme, notamment une levure, comportant un tel plasmide hybride (revendications 9 et 10).
- II. Par lettre reçue le 16 décembre 1981, la Requérente (opposante) a formé opposition au brevet européen et requis la révocation du brevet en raison d'un manque d'activité inventive, invoquant notamment l'article 56 CBE à l'encontre des revendications 1, 2, 4, 5, 7 et 8.

En outre, la Requérente a soutenu dans une lettre reçue le 20 juillet 1983 que le clonage et l'expression de gènes eucaryotes à l'aide des plasmides de la revendication 5 n'étaient pas décrits de façon suffisamment claire et complète dans le brevet contesté pour qu'un homme de métier puisse exécuter cette partie de l'invention.

Parmi les documents mentionnés au cours de la procédure d'opposition seuls les trois documents suivants ont une importance pour la présente décision puisque les autres documents n'ont finalement été retenus ni par la Requérente ni par la Chambre :

(A) Nature, vol. 275, 14 septembre 1978, pages 104 - 109
(Jean D. BEGGS)

(C) 9th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology, June 26th-30th, 1978, abstract 352
(M.L. BACH et al)

(F) "Proceedings of the Third International Symposium on Genetics of Industrial Microorganisms", held at the University of Wisconsin, Madison (Wisconsin), 4 - 9 June 1978, ed. by Sebeck & Laskin, Am. Soc. Microbiology, 1979, pages 36-43, "Yeast Transformation : a New Approach for the Cloning of Eucaryotic Genes" (A. HINNEN et al)

III. Par décision intermédiaire du 20 mars 1987, la Division d'opposition a décidé de maintenir le brevet sous une forme modifiée sur la base des documents indiqués dans la notification faite conformément à la Règle 58(4) CBE du 24 septembre 1986, ne comprenant plus que six revendications limitées à une souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un plasmide hybride (voir point VIII ci-dessous).

Pour la Division d'opposition, rien ne s'oppose au maintien du brevet sous cette forme modifiée. En particulier, les documents (A), (C) et (F) cités par la Requérante ne concernent ni un plasmide hybride contenant à la fois un segment de l'ADN du plasmide 2μ de levure et un segment d'ADN de 1.1 kb incorporant le gène URA_3^+ de levure limité par deux sites de restriction Hind III, ni une souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un tel hybride et rien dans l'état de la technique indiqué ne suggère la construction d'un tel plasmide hybride.

IV. Par lettre reçue le 27 mai 1987, la Requérante a formé un recours contre cette décision et acquitté simultanément la taxe de recours prescrite.

Le mémoire exposant les motifs du recours a été reçu le 30 juillet 1987.

L'Intimée (titulaire du brevet) s'est prononcée à ce sujet dans ses observations reçues le 18 janvier 1988.

- V. Les arguments présentés par la Requérante dans son mémoire ainsi que lors de la procédure orale devant la Chambre qui a eu lieu le 13 juillet 1989, étaient essentiellement les suivants :

La souche revendiquée étant transformée par un plasmide hybride non limité aux trois éléments indiqués, la revendication 1 est de type ouvert, ce qui rend l'exposé de l'invention insuffisant en vertu de l'article 100(b) CBE. Conformément à la décision T 226/85 du 17 mars 1987 (J.O. OEB 09/1988, 336), l'exposé de l'invention aurait dû être plus complet dans ces conditions.

L'invention en cause n'implique pas d'activité inventive puisqu'il découle des documents (A), (C) et (F) que des plasmides hybrides similaires à ceux décrits dans le brevet européen, c'est-à-dire comportant 1) un segment d'ADN d'un plasmide bactérien, 2) l'ADN 2μ d'une levure et 3) un marqueur d'auxotrophie (p. ex. LEU ou HIS), étaient déjà connus. Dans ces conditions, la simple utilisation d'un autre marqueur connu (URA) ne devrait pas conduire à la reconnaissance d'une activité inventive, à moins qu'un effet surprenant et inattendu n'ait été démontré, ce qui n'est pas le cas.

- VI. L'Intimée a rejeté ces arguments et souligné notamment que la combinaison de 2μ et du gène URA_3^+ permet d'obtenir des plasmides stables et amplifiables. En outre, le plasmide servant à transformer la levure conformément au brevet attaqué est intéressant pour le clonage et la multiplication d'une séquence, compte tenu de la très grande amplification liée au nombre de copies, et, plus particulièrement, pour l'expression d'un gène.

Pour l'Intimée, l'objection de la Requérante concernant l'insuffisance de description a été soulevée tardivement et est non fondée puisque les revendications sont soutenues par la description.

- VII. La Requérante demande l'annulation de la décision de la Division d'examen et la révocation du brevet à titre de requête principale, ou subsidiairement, le maintien du brevet sous forme modifiée par remplacement du terme "comportant" par l'expression "ne comportant que" dans la revendication 1.

L'Intimée demande le rejet du recours.

- VIII. L'actuelle revendication 1 s'énonce comme suit :

1. Souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un plasmide hybride comportant l'ADN d'un plasmide bactérien, tout ou partie de l'ADN du plasmide 2μ de levure et un segment d'ADN d'environ 1,1 kb incorporant le gène URA_3^+ de levure qui est limité par 2 sites de restriction Hind III.

Les cinq revendications suivantes sont dépendantes de la revendication 1 et de la même catégorie que cette dernière.

Motifs de la décision

1. Le recours répond aux conditions énoncées aux articles 106 à 108 et à la règle 64 de la CBE ; il est donc recevable.
2. L'objet des revendications 1 à 6 ne s'étend pas au-delà du contenu de la demande telle que déposée à l'origine. Les caractéristiques techniques des revendications actuelles trouvent toutes leur support soit dans les revendications

initiales, soit dans la description originale. En outre, la reformulation des revendications au stade de l'opposition n'a pas conduit à des associations de caractéristiques qui sortent du cadre de ce qui avait déjà été revendiqué dans le brevet contesté. Les revendications actuelles ont donc été formulées de façon à ne pas étendre la protection du brevet tel que délivré.

Par conséquent, les exigences de l'article 123(2) et (3) de la CBE sont satisfaites.

3. L'objection majeure de la Requérante concerne le libellé de la revendication 1 sous forme de revendication dite ouverte (voir point 10 des motifs de recours). Bien qu'il soit fait, dans ce contexte référence à l'article 100(b) CBE, cette objection pose de toute évidence la question du fondement correct de l'objet de la revendication 1 sur la description et tombe en fait non pas sous le coup de l'article 83 CBE, mais de l'article 84 CBE, qui n'est pas un des motifs d'opposition énoncés à l'article 100 CBE.

Cependant, les revendications telles que délivrées ayant été modifiées au cours de la procédure d'opposition, la Chambre a examiné de son propre mouvement si cette question n'avait pas émergé en conséquence de ces modifications. La conclusion de la Chambre est que tel n'était pas le cas et que la revendication "ouverte" figurait déjà dans la demande européenne déposée à l'origine.

Pour la Chambre, il semble donc que la Requérante a essayé de mettre en doute la suffisance de divulgation susceptible de justifier une revendication large en évitant de se prévaloir de l'article 84 CBE qui n'est, en effet, pas un motif d'opposition. Or, la revendication principale ne pourrait être mise en cause que sous condition que des preuves suffisantes soient disponibles, dont la charge incombe à

la partie qui a invoqué cet argument, c'est-à-dire, dans la présente espèce, à la Requérante (voir décision T 219/83, "Zéolites", JO OEB 1986, 211).

La référence à la décision T 226/85 n'aide en rien la Requérante puisque dans cette affaire, l'un des opposants avait présenté des essais probants permettant de conclure à l'insuffisance de l'exposé de l'invention, alors que, dans le cas présent, aucun essai n'a été fourni par la Requérante à l'appui de ses allégations.

4. L'actuelle revendication 1 ne porte plus que sur une seule espèce de microorganisme, à savoir une souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un plasmide hybride, ce qui représente une limitation substantielle de l'objet revendiqué initialement. Les exemples de la description sont sans aucun doute pertinents puisqu'ils décrivent la préparation de levures transformées (voir en particulier exemples 2 et 3). Dans ces circonstances, la Chambre est convaincue que l'homme du métier devrait être en mesure d'exécuter l'invention telle que définie dans la revendication principale sur la base de ces exemples.

- 5 Le brevet en question concerne une souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un plasmide hybride comportant un gène marqueur et permettant une amplification du gène cloné se traduisant particulièrement au niveau de l'expression du gène.
 - 5.1 Le document de l'état de la technique le plus proche quant à son objet, est le document (A) qui décrit l'obtention de deux plasmides hybrides PMB9 (ADN plasmidique d'origine bactérienne) - plasmide 2μ de *S. cerevisiae* comportant en plus un insert d'ADN de levure portant le gène LEU_2^+ . Ces deux plasmides, désignés pJDB219 et pJDB248, y sont utilisés pour transformer une souche de *Saccharomyces*

cerevisiae, conférant le phénotype Leu^+ à une levure portant la mutation leu_2 .

Le gène LEU_2^+ était situé soit sur un fragment de 1,2 kb (plasmide pJDB219), soit sur un segment de 2,4 kb (pJDB248).

Dans le cas du plasmide pJDB 219 le nombre de copies par cellule était manifestement plus élevé que pour pJDB 248. Le document ne contient toutefois aucune information concernant l'expression du gène cloné (voir en particulier page 104, colonne de gauche, lignes 1 à 11 et colonne de droite, lignes 13 à 20 ; page 106, colonne de droite, 4^{eme} alinéa ; page 107, colonne de gauche, 1^{er} alinéa à colonne de droite, 1^{er} alinéa et figure 4 - autoradiographie).

5.2 Partant du document (A), le problème technique qui se posait était de fournir un outil amélioré dans le cadre de la transformation des levures.

En solution à ce problème, il est proposé, conformément à la revendication 1 actuelle du brevet en question, une souche de *Saccharomyces cerevisiae* transformée par un plasmide hybride comportant l'ADN d'un plasmide bactérien, tout ou partie de l'ADN du plasmide 2μ de levure et un segment d'ADN d'environ 1,1 kb incorporant le gène URA_3^+ de levure qui est limité par 2 sites de restriction Hind III.

Les indications figurant dans la description et notamment les exemples 2 et 3 montrent que la solution revendiquée répond bien au problème posé et que le résultat recherché peut être effectivement obtenu de la façon indiquée dans la revendication 1.

6. Bien que, dans les motifs du recours la nouveauté n'ait pas été mise en cause, cette question a été évoquée par la Requérante à la procédure orale dans le cadre de la discussion portant sur l'article 83 CBE en relation avec la date de priorité.

La Chambre ne peut voir aucune raison justifiant la poursuite de ce nouveau complexe d'objections au titre de l'article 114(1) CBE puisque dans le cas présent la priorité peut être reconnue sans difficulté dans la mesure où la définition ouverte contestée était déjà contenue aussi bien dans le document de priorité que dans la demande européenne déposée à l'origine. Dans ces conditions, le document intermédiaire (article de J. J. Panthier cité dans la description du brevet européen) auquel la Requérante a fait référence à la procédure orale ne peut être pris en considération.

Les arguments présentés tardivement n'étant pas pertinents, la Chambre les rejette au titre de l'article 114(2) CBE.

Par conséquent, l'objet doit être considéré comme nouveau.

7. Il reste à examiner si les revendications impliquent une activité inventive.

- 7.1 Bien que le document (A) décrive de façon détaillée la transformation de levure par des plasmides hybrides (pJDB 219 et pJDB248) conférant le phénotype Leu⁺ aux clones transformés, ce document ne contient aucune information concernant l'expression de l'enzyme codée par le gène de levure Leu₂⁺ inséré dans le plasmide. Certes, l'autoradiographie de la figure 4 permet de voir qu'un des allèles fournissait un signal à peine détectable et qu'en

conséquence le plasmide pJDB 219 conduisait à un nombre de copies plus élevé que pJDB 248. Cependant ces indications reposant seulement sur une vérification de la transformation au niveau d'un essai d'hybridation ne permettent pas de savoir si la transformation d'une levure avec un plasmide hybride ou composite comportant l'ADN du plasmide 2μ de levure à côté d'autres segments d'ADN provenant d'une levure (gène Leu_2^+ situé sur un fragment d'ADN de taille variable) et d'une bactérie (plasmide pMB9) a effectivement conduit à l'expression du gène cloné sous forme de l'enzyme pour laquelle il code et encore moins s'il y a eu amélioration de l'expression. Le document (A) ne concerne, d'ailleurs, pas ce problème, et dans ces conditions, il est difficile sinon impossible pour l'homme du métier, de savoir si les transformants obtenus présentent une expression significative du gène cloné.

Vis-à-vis de cet état de la technique, la sonde transformée revendiquée présente donc, pour le moins, l'avantage pratique imprévisible que l'expression du gène marqueur (URA_3^+) codant pour une enzyme (orotidine -5'-phosphate-décarboxylase) est non seulement directement vérifiable, mais avant tout mesurable par le dosage de l'activité de l'enzyme produite par les transformants obtenus. En effet, les résultats du tableau II du brevet en cause montrent que si l'activité spécifique de l'enzyme pour laquelle code également le gène à cloner est de 2 unités dans la souche sauvage, cette activité varie entre 10 et 35 chez les transformants ou clones obtenus à partir d'une souche de levure auxotrophe (ura_3^-), ce qui représente un facteur multiplicatif de 5 à 18. Par conséquent, il y a eu augmentation de l'expression du gène dans les souches transformées de sorte que ces souches peuvent même être envisagées comme moyen de production de l'enzyme pour laquelle code le gène, c'est-à-dire de l'orotidine -5'-phosphate-décarboxylase, qui est un produit utilisé dans les industries enzymatiques (voir col. 5, lignes 37 à 61 de la description).

Or, il est certain qu'un tel système permettant non seulement de produire des souches de levures transformées, mais également de savoir dans quelle mesure ces souches sont performantes quant à l'expression du gène cloné, présente pour l'homme du métier en outre un intérêt potentiel en vue de développements futurs et notamment en vue du clonage et de l'expression d'ADN étranger, dont l'un des buts bien connus est la production industrielle de peptides et de protéines.

Par rapport à l'état de la technique le plus proche, le brevet en cause permet donc sans aucun doute de mettre à la disposition de l'homme du métier un outil de travail amélioré qui n'était pas concevable de manière évidente à partir de la seule connaissance du document (A).

- 7.2 Quant au document (C), il mentionne uniquement des plasmides hybrides obtenus par clonage du gène URA_3 de levure inséré dans un plasmide bactérien (pMB 9 ou pBR 322), le segment d'ADN de levure renfermant le gène URA_3^+ pouvant avoir une taille soit de 5kb soit de 1.1kb. Le clone contenant le gène sous forme de fragment d'ADN de taille faible est utilisé comme agent d'hybridation pour mesurer le taux de mRNA d' URA_3 dans des souches de levure.

Ce document pris isolément ne suggère donc ni l'insertion additionnelle du plasmide 2μ de levure dans l'ADN d'un plasmide hybride construit à partir d'un plasmide bactérien et d'un segment d'ADN renfermant le gène URA_3^+ de levure, ni l'utilisation d'un tel plasmide composite dans la transformation des levures.

Comme, d'autre part, le document (A) ne concerne que la transformation des levures dans le but de leur conférer le phénotype Leu^+ , l'homme du métier n'avait aucune raison d'envisager la substitution du gène LEU_2^+ par le gène

URA₃⁺ utilisé dans le document (C) et a fortiori encore moins de supposer qu'une telle modification puisse conduire à un avantage quelconque par rapport à la construction plasmidique connue.

- 7.3 Le document (F) constitue un état de la technique déjà très éloigné puisqu'il concerne une étude de clonage permettant de démontrer l'intégration stable d'ADN étranger dans le génome d'une levure transformée à l'aide de vecteurs d'intégration hybrides. Une des conclusions de cette étude est toutefois que l'utilisation d'un plasmide hybride comportant l'ADN du plasmide 2 μ de levure permet de cloner le gène de levure HIS₃⁺ et de rendre prototrophe une souche auxotrophe pour l'histidine (his₃⁻) sans que la transmission de ce gène dépende des chromosomes. Cependant, en pareil cas, la présence de l'ADN du plasmid 2 μ de levure rend les transformants extrêmement instables (environ 40 % des cellules végétatives conduisent à des clones His⁻ par ségrégation) (voir page 40, dernier alinéa à page 41, 2ème ligne).

Compte tenu de cette faible stabilité des souches transformées, l'homme du métier n'avait aucune raison de penser que des vecteurs dérivés du plasmide 2 μ comportant un autre gène de levure (URA₃⁺ au lieu de HIS₃⁺) puissent conduire à des transformants stables au point de vue génétique sans que le gène cloné soit obligatoirement intégré dans les chromosomes.

Or, l'Intimée a souligné à maintes reprises qu'elle a trouvé que l'utilisation d'un plasmide hybride comportant entre autres le plasmide 2 μ en combinaison avec le gène URA₃⁺ a permis d'obtenir des plasmides d'expression stables conduisant à une amplification des propriétés transférées par de tels plasmides hybrides, ce qui est d'ailleurs largement confirmé par les résultats obtenus avec les transformant décrites dans le brevet contesté.

Comme la Requérente n'a fourni aucun élément de preuve du contraire, la Chambre ne peut que conclure en définitive que ces avantages existent en réalité et que les documents de l'état de la technique considérés seuls ou en combinaison, ne permettent pas de prévoir un avantage quelconque dans la transformation d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* par un plasmide composite dérivé du plasmide 2μ en combinaison avec le gène URA_3^+ .

7.4 La Requérente, sans tenir compte des avantages réellement obtenus par le brevet contesté, n'a cessé de soutenir que la modification en cause n'implique aucune activité inventive puisque l'homme du métier n'avait qu'à remplacer dans un plasmide hybride connu le gène marqueur (p.ex. LEU_2^+ ou HIS_3^+) par un autre gène marqueur connu, en l'occurrence le gène URA_3^+ . Or, selon une décision des chambres de recours, l'appréciation de l'activité inventive ne peut être ramenée à la question de savoir si l'homme du métier aurait pu effectuer une certaine modification. La question correcte à poser dans un cas pareil est de savoir s'il l'aurait effectuée parce qu'il en escomptait un certain résultat, par exemple un avantage quelconque (voir T 2/83, "Comprimé de siméthicone", J.O. OEB 1984, p. 265). Compte tenu des considérations qui précèdent, on ne peut toutefois répondre à cette question que l'homme du métier n'avait manifestement aucune raison de penser que la transformation d'une levure par un plasmide hybride comportant l'ADN d'un plasmide bactérien et l'ADN du plasmide 2μ de levure et dans lequel le gène marqueur avait été remplacé par le gène URA_3^+ puisse conduire à un outil amélioré dans le domaine de la transformation des levures.

7.5 Pour les motifs indiqués, l'homme du métier ne peut tirer de l'état de la technique considéré aucune connaissance lui permettant de parvenir de manière évidente à la solution revendiquée.

En conséquence, l'objet de la revendication 1 implique une activité inventive au sens de l'article 56 de la CBE.

Les revendications dépendantes 2 à 6 concernent des modes particuliers de réalisation de l'invention et sont, de ce fait, également admissibles.

Dispositif

Par ces motifs,

il est statué comme suit :

Le recours est rejeté.

Le Greffier

M. Beer

Le Président

P. Lançon