

**Code de distribution interne :**

- (A) [ ] Publication au JO  
(B) [ ] Aux Présidents et Membres  
(C) [X] Aux Présidents

**D E C I S I O N**  
du 24 octobre 1994

**N° du recours :** T 0880/92 - 3.3.4

**N° de la demande :** 85400999.0

**N° de la publication :** 0162782

**C.I.B. :** C12N 15/00

**Langue de la procédure :** FR

**Titre de l'invention :**

Vecteurs d'expression du facteur IX et lignées cellulaires  
produisant le facteur IX actif

**Titulaire du brevet :**

TRANSGENE S.A.

**Opposant :**

Katinger, Prof. Dr. H. Universität für Bodenkultur, Institut  
für angew. Mikrobiologie

**Référence :**

Facteur IX / TRANSGENE

**Normes juridiques appliquées :**

CBE Art. 56

**Mot-clé :**

"Activité inventive (oui) - direction différente"

**Décisions citées :**

T 0455/91, T 0315/88, T 0130/89

**Exergue :**



N° du recours : T 0880/92 - 3.3.4

**D E C I S I O N**  
**de la Chambre de recours technique 3.3.4**  
**du 24 octobre 1994**

**Requérant :** Katinger, Prof. Dr. H.  
(Opposant) Universität für Bodenkultur  
Institut für angew. Mikrobiologie  
Peter Jordan-Strasse 82  
A - 1190 Wien (AT)

**Mandataire :** Kolb, Helga, Dr. Dipl.-Chem.  
Hoffmann, Eitle & Partner,  
Patentanwälte,  
Postfach 81 04 20  
D - 81904 München (DE)

**Adversaire :** TRANSGENE S.A.  
(Titulaire du brevet) 16, rue Henri-Régnault  
F - 92411 Courbevoie Cedex (FR)

**Mandataire :** Warcoin, Jacques  
Cabinet Régimbeau,  
26, avenue Kléber  
F - 75116 Paris (FR)

**Décision attaquée :** Décision de la division d'opposition de l'Office  
européen des brevets du 21 juillet 1992 par laquelle  
l'opposition formée à l'égard du brevet n° 0162782 a  
été rejetée conformément aux dispositions de l'article  
102(2) CBE.

**Composition de la Chambre :**

**Président :** L. Galligani (Rapporteur)  
**Membres :** R. E. Gramaglia  
S. C. Perryman

## Exposé des faits et conclusions

- I. La demande de brevet européen n° 85 400 999.0 a donné lieu à la délivrance du brevet européen n° 0 162 782 comportant neuf revendications de procédé.
- II. Le requérant a fait opposition à ce brevet et requis sa révocation pour absence d'activité inventive.

Dix-huit documents ont été considérés au cours de la procédure d'opposition [numéros d'ordre (1) à (18)].

- III. Par décision prise à l'issue de la procédure orale en date du 23 juin 1992 et signifiée par lettre remise à la poste le 21 juillet 1992, la division d'opposition a rejeté l'opposition conformément à l'article 102(2) de la CBE, car elle a estimé que le motif d'opposition visé à l'article 100(a) de la CBE ne s'opposait pas au maintien du brevet européen en cause sans modification.

La revendication 1 du brevet s'énonce comme suit :

"Procédé de préparation du facteur IX ou d'une protéine de structure analogue, caractérisé en ce que l'on cultive des cellules infectées par un vecteur d'expression du facteur IX constitué du génome d'un virus de la famille des Poxvirus dans lequel a été inséré un gène codant pour le facteur IX humain ou une protéine analogue du facteur IX, et en ce que le milieu de culture comporte de la vitamine K et en ce que l'on récupère, après culture, le facteur IX ou la protéine de structure analogue."

La division d'opposition a considéré qu'il n'était pas évident pour l'homme du métier de préparer le facteur IX dans un système de culture de cellules en présence de la vitamine K, car :

- a) il n'y avait, dans l'état de la technique, aucune information concernant la production de facteur IX par culture cellulaire ;
- b) l'état de la technique indiquait l'absence d'un système in vitro adéquat permettant d'étudier l'influence de la vitamine K [cf. document (3)] ;
- c) les documents antérieurs ne concernaient pas le facteur IX, mais d'autres facteurs vitamine K-dépendants. La situation pour ces autres facteurs était confuse [cf. documents (3) - (6)].

Dans sa décision, la division d'opposition a considéré que le document (2), c.-à-d. Nucl. Acid. Res., 1983, Vol. 11, N° 8, pages 2325 à 2335, représentait l'état de la technique le plus proche.

IV. Le requérant (opposant) a formé un recours contre cette décision. Dans le mémoire exposant les motifs du recours il s'est référé, entre autres, aux documents additionnels suivants :

- la déclaration du Prof. John W. Suttie ;
- EP-B1-0 107 278 ;
- Traverso et al. in "Vitamin K metabolism and vitamin K-dependent protein", J. Suttie ed., Univ. Park Press Baltimore, 1979, pages 311 à 314.

V. Une procédure orale a eu lieu le 24 octobre 1994.

Au début de la procédure, la Chambre a fait remarquer qu'il fallait considérer la demande de brevet européen EP-A-0 107 278 (ci-après document 'EP'), et non pas le brevet européen délivré EP-B1-0 107 278 ; en effet, le

brevet européen cité par le requérant a été publié après la date de priorité du brevet en cause.

VI. Le requérant a invoqué l'absence d'activité inventive en développant pour l'essentiel l'argumentation suivante :

a) Afin de résoudre le problème technique de la production du facteur IX sous forme active, l'homme du métier devait trouver une solution à deux problèmes partiels indépendants (cf. les décisions T 315/88 du 11 octobre 1989 et T 130/89 du 7 février 1990, non publiées au JO OEB), à savoir :

i) l'expression du facteur IX dans des cellules hôtes et

ii) l'activation en culture du produit exprimé.

b) La solution du premier problème partiel était évidente au vu du document 'EP' [ou du document (2)], qui décrit la séquence d'ADN codant pour le facteur IX humain, combiné au document (5) [J. Virol., Mars 1984, Vol. 49 (3) pages 857 à 864], qui décrit l'utilisation du virus de la vaccine recombinant pour l'expression de séquences d'ADN, en particulier de séquences d'une certaine longueur. Le document (5) indique, par ailleurs, que le système d'expression du virus de la vaccine permet l'insertion de séquences d'ADN ayant au moins 25 000 paires de bases (pb) et l'expression d'un produit correctement modifié post-traductionnellement. Par conséquent, l'homme du métier aurait considéré ce système comme le système de choix pour l'expression du facteur IX.

c) La solution du deuxième problème partiel découlait de façon évidente des connaissances de l'homme du métier en ce qui concerne l'effet in vivo, et surtout

l'effet in vitro de la vitamine K sur l'activation des facteurs vitamine K-dépendants, y compris le facteur IX. En particulier, le document Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, Vol. 73, N° 8, pages 2803 à 2807, cité dans la déclaration du Prof. John W. Suttie, démontre que lorsque la vitamine K est ajoutée au milieu de culture de cellules d'hépatome, il y a une augmentation du taux de maturation en prothrombine de la pré-prothrombine produite par les cellules. Pour l'homme du métier, le fait que le document 'EP' suggère d'utiliser l'enzyme carboxylase pour activer le facteur IX ne constituait pas un préjugé contre l'utilisation de la vitamine K en culture ;

- d) Pour ces raisons, un procédé de préparation du facteur IX caractérisé par l'utilisation du système d'expression du poxvirus et par la culture des cellules hôtes infectées sur un milieu contenant de la vitamine K était évident pour l'homme du métier.

VII. Selon l'intimée, la décomposition du problème technique à résoudre en deux problèmes partiels indépendants est artificielle. Pour l'homme du métier, le problème résidait dans la production du facteur IX actif. Par conséquent, l'activation du produit exprimé était partie intégrante du problème, car à la date de priorité, il n'y avait aucun système cellulaire producteur du facteur IX.

Le document 'EP', comme le document (2), décrit le clonage de séquences d'ADN codant pour le facteur IX. Ledit document 'EP', qui reflète le point de vue de l'homme du métier à la date de priorité, propose d'exprimer lesdites séquences dans un système d'expression bactérien ou eucaryotique. Ce document suggère, en particulier, l'utilisation d'un "minigène", c'est-à-dire d'un ADN de taille réduite, afin d'obtenir

l'expression du facteur IX dans des cellules hôtes de mammifère, ce qui démontre qu'il n'était pas évident pour l'homme du métier d'utiliser un virus de la famille des poxvirus pour exprimer des séquences d'ADN codant pour le facteur IX humain. En tout cas, l'homme du métier n'aurait pas été incité à utiliser un poxvirus, car ce virus ne s'intègre pas dans le génome et ledit système n'avait jamais été utilisé dans l'art antérieur dans le cadre de la production de protéines eucaryotiques complexes. Ce système n'avait été utilisé que pour l'expression de protéines virales.

En ce qui concerne l'utilisation de la vitamine K dans le milieu de culture, l'intimée a exposé qu'aucun des nombreux documents cités ne révèle une activité in vitro de ladite vitamine dans une culture cellulaire produisant le facteur IX. Au contraire, pour la résolution du problème de l'activation du facteur IX exprimé, le document 'EP' propose une solution particulièrement compliquée, à savoir l'utilisation de l'enzyme de carboxylation.

VIII. Le requérant demande l'annulation de la décision attaquée et la révocation du brevet européen.

L'intimée demande le rejet du recours formé et le maintien du brevet européen tel que délivré.

#### **Motifs de la décision**

1. Le recours est recevable.
2. Le seul point à examiner est l'activité inventive des revendications telles que délivrées.

- 2.1 L'état de la technique le plus proche est représenté par le document 'EP'. Ce document, de même que le document (2) considéré par la division d'opposition, décrit le clonage de l'ADN correspondant au facteur IX humain. L'expression du facteur IX humain n'est pas décrite dans ce document. Cependant, des suggestions concernant des démarches possibles sont données dans le dernier paragraphe de la page 4. A la page 5, lignes 25 à 28, ledit document indique aussi la possibilité de convertir in vitro le produit inactif exprimé en facteur actif, et suggère à cet effet l'utilisation de l'enzyme carboxylase qui est une enzyme vitamine K-dépendante.
- 2.2 Compte tenu de cet état de la technique, le problème technique à résoudre réside dans la production, dans un système recombinant, du facteur IX sous forme active.
- 2.3 Le brevet attaqué se propose de résoudre ce problème technique par le procédé objet des revendications 1 à 9, caractérisé par l'utilisation du système d'expression du poxvirus et par la culture des cellules hôtes infectées dans un milieu de culture comportant de la vitamine K.

Les résultats présentés dans la description (voir pages 11 à 16) démontrent que le problème est effectivement résolu par la solution proposée.

- 2.4 Il reste à déterminer si la solution du problème technique revendiquée dans le brevet en cause découle ou non de manière évidente de l'état de la technique. Pour cela, il faut prendre en compte les informations particulièrement pertinentes pour la résolution du problème que l'homme du métier, doté d'aptitudes moyennes, était en mesure de déduire de l'état de la technique à la date de priorité.

2.4.1 Confronté au problème de la production, dans un système recombinant, du facteur IX sous forme active, l'homme du métier ayant pris connaissance des séquences d'ADN clonées [voir document 'EP' et document (2)] devait, en premier lieu, choisir parmi les nombreux systèmes connus de l'état de la technique un système d'expression convenable.

Dans ce but, l'homme du métier aurait considéré avant tout l'enseignement du document 'EP' qui décrit le clonage de l'ADN codant pour le facteur IX et qui pose aussi le problème de l'expression des séquences clonées. A cet égard, ledit document donne en pages 4 et 5 des indications générales sur la voie à suivre. Il suggère l'introduction de clones convenables d'ADN complémentaire ou génomique dans un vecteur bactérien ou eucaryotique. En ce qui concerne plus particulièrement l'expression du facteur IX dans des cellules hôtes de mammifère, le document 'EP' indique que le gène pourrait être trop long pour être maintenu dans un seul clone, et il suggère donc la préparation d'un "minigène" convenable sous le contrôle de son promoteur ou d'un autre promoteur (par exemple, le promoteur du gène de métallothionéine de souris). Le "minigène" ainsi obtenu est introduit dans une culture cellulaire (par exemple, dans une lignée cellulaire d'hépatome) et les cellules transformées sont sélectionnées (cf. page 4, ligne 28 à page 5, ligne 1).

Comme alternatives, le document précité indique la technique du "genetic farming" ainsi que l'expression dans un système bactérien, sous le contrôle d'un promoteur fort (cf. page 5, lignes 1 à 10). Le document 'EP' envisage l'expression du facteur IX sous forme d'un précurseur (sans ou avec la région pro-peptidique) qui peut être converti in vitro à l'aide de l'enzyme carboxylase (cf. page 5, lignes 11 à 28).

L'homme du métier, qui a des connaissances encyclopédiques, connaissait sûrement tous les systèmes d'expression de protéines hétérologues de l'état de la technique et notamment le système d'expression du virus de la vaccine (poxvirus) qui est décrit, entre autres, dans le document (5). L'homme du métier savait que ce système, qui permet l'insertion de grands fragments d'ADN, repose sur l'échange in vivo entre le virus sauvage de la vaccine et un vecteur recombinant qui contient le fragment d'ADN et des séquences de la vaccine. Il savait également que le virus recombinant résultant de cette recombinaison homologue est infectieux et qu'il se propage dans le cytoplasme ; par conséquent, l'expression du produit demande une infection virale qui tue la cellule hôte. L'homme du métier savait que ce système d'expression avait déjà été utilisé pour l'expression de séquences d'ADN d'origine virale et qu'il était approprié pour la préparation de vaccins vivants [cf. document (5), page 857, colonne de gauche ; voir aussi documents (1) et (4)].

2.4.2 La question déterminante est donc de savoir si l'homme du métier, doté d'aptitudes moyennes, qui s'était fixé comme tâche l'expression des séquences d'ADN clonées connues, serait arrivé d'une manière évidente à choisir, parmi tous les systèmes d'expression disponibles, le système du virus de la vaccine.

Pour des raisons évidentes, on peut pour le moment laisser de côté la question liée à la présence de la vitamine K dans le milieu de culture des cellules hôtes.

Selon le requérant, l'homme du métier qui était au courant de la longueur desdites séquences d'ADN et de la nécessité d'introduire des modifications post-traductionnelles dans le produit exprimé, aurait considéré le système du virus de la vaccine comme le

ystème de choix pour l'expression du facteur IX, car ce système était indiqué pour l'expression de grands fragments d'ADN et il permettait l'expression dans les cellules hôtes d'un produit correctement modifié post-traductionnellement [cf. document (5)].

La Chambre est d'avis que lorsque l'homme du métier se trouve dans une situation où un document de l'art antérieur suggère, même de façon générale, une ou plusieurs solutions praticables pour résoudre un problème technique (dans le cas présent, l'expression de l'ADN codant pour le facteur IX) et qu'il n'y a dans l'état de la technique aucun motif pour écarter ces solutions, l'homme du métier précité, confronté avec le même problème, optera de manière évidente pour une ou l'autre des solutions suggérées et ne s'engagera pas dans la recherche d'autres voies. La recherche d'une solution alternative ne se justifie que si l'homme du métier a des raisons de douter de la validité des indications figurant dans le document en question, ou s'il voit des inconvénients ou des difficultés prévisibles dans les solutions proposées.

Dans le cas présent, l'homme du métier n'avait aucune raison de douter de la validité des suggestions relatives à l'expression du facteur IX, telles que présentées dans le document 'EP'. Bien au contraire, s'agissant du document le plus proche de la solution du problème technique, l'homme du métier y aurait apporté une attention toute particulière, d'autant que les solutions qui y sont suggérées n'impliquent que des techniques de routine. L'homme du métier, bien conscient de la longueur des séquences d'ADN à exprimer, savait que le facteur IX est une protéine qui rend nécessaires des modifications post-traductionnelles. Cependant, il remarquait que le document 'EP' donne à ce sujet des indications raisonnables, à savoir la construction d'un "minigène" et

l'utilisation de l'enzyme carboxylase. L'homme du métier, qui a une approche prudente (voir décision T 455/91 du 20 juin 1994, qui sera publiée au JO OEB, point 5.1.3.3 des motifs), était donc encouragé à aller dans la direction du document 'EP' cité, en essayant les suggestions faites, avec une espérance de réussite raisonnable. Procédant ainsi, l'homme du métier ne devait pas s'engager sur une voie différente de celles proposées.

D'autre part, le système du virus de la vaccine n'apparaissait pas d'emblée à l'homme du métier comme un système plus avantageux par rapport aux systèmes suggérés dans le document 'EP' cité. En effet, s'il permet d'une part l'insertion de grands fragments d'ADN, il repose d'autre part sur une recombinaison homologue in vivo et il demande une infection virale qui tue la cellule hôte. D'ailleurs, à la date de priorité, il n'avait été utilisé que pour l'expression de protéines virales [par exemple, l'hémagglutinine du virus de la grippe ; cf. document (1)] ou bactériennes [par exemple, la transacétylase du chloramphénicol ; cf. document (5)]. Bien qu'il ait été suggéré que ce système soit d'application générale pour l'expression des gènes étrangers, il n'était pas fait mention, à la date de priorité, d'une utilisation réussie avec un gène eucaryotique aussi complexe que celui du facteur IX. Donc, même dans l'hypothèse où ce système aurait été considéré par l'homme du métier, il n'y avait dans l'état de la technique aucun élément lui permettant de déduire une espérance raisonnable de succès telle qu'elle apparaît par ailleurs pour les systèmes suggérés par le document 'EP' cité. Par conséquent, l'homme du métier n'était pas incité à quitter les voies indiquées par ledit document 'EP', ni à suivre une autre voie qui présentait des inconvénients et des incertitudes.

2.4.3 Par rapport au document 'EP', la solution proposée dans le brevet en cause va dès lors dans une direction différente qui n'est ni envisagée, ni suggérée d'emblée par l'état de la technique disponible.

Ce n'est qu'en considérant les choses de façon rétrospective que l'on peut déterminer que le système d'expression du virus de la vaccine se prête à l'expression du facteur IX.

Pour ces raisons, la Chambre est de l'opinion que le choix du système du poxvirus pour l'expression des séquences d'ADN codant pour le facteur IX ne découle pas d'une manière évidente de l'état de la technique. Dans ces circonstances, la question liée à la présence de la vitamine K dans le milieu de culture peut être laissée en suspens, car la première caractéristique, reconnue inventive, du procédé selon la revendication 1 suffit pour rendre ledit procédé inventif dans son ensemble.

2.4.4 Pour les motifs ci-dessus exposés, l'objet de la revendication 1 présente l'activité inventive requise au sens de l'article 56 de la CBE.

Cette conclusion s'étend également à l'objet des revendications 2 à 9 dépendantes de la revendication 1.

2.5 Force est donc de constater que le motif d'opposition visé à l'article 100(a) de la CBE ne s'oppose pas au maintien du brevet européen tel que délivré.

**Dispositif**

Par ces motifs, il est statué comme suit :

Le recours est rejeté.

Le Greffier :

Le Président :



L. McGarry



L. Galligani

