

Prüferbericht - Aufgabe A 2014 (Chemie)

Übersetzung des englischen Originaltextes

1. Einführung

In dieser Aufgabe ist der Anmelder ein kleines Biotechnologieunternehmen, das im Bereich der Proteinherstellung tätig ist. Die Firma ist vor allem daran interessiert, die Proteine in einer Lösung anzubieten, in der sie stabil und damit längere Zeit biologisch aktiv bleiben.

Cholera wird durch die Freisetzung eines Proteins verursacht, das zur Familie der bakteriellen Diarrhö-Proteine (BDP) gehört. Diese Familie von BDP-Proteinen umfasst drei Typen, die jeweils eine Alpha-(A-)Untereinheit und entweder zwei, vier oder fünf Beta-(B-)Untereinheiten (AB2, AB4 und AB5) enthalten. Proteine des Typs AB5 verursachen Diarrhö, doch ihr Wirkungsmechanismus ist noch unklar. Die Erforschung von Proteinen des Typs AB5 ist wegen deren geringer Stabilität in der derzeit verwendeten Standard-Lösung schwierig.

Der Anmelder hat ein Verfahren entwickelt, mit dem zum ersten Mal festgestellt werden kann, ob ein Protein des Typs AB5 im komplexierten oder im zerfallenen Zustand vorliegt, d. h. ob es in seine Untereinheiten zerfallen ist. Auf dieser Grundlage hat der Anmelder einen Screening-Test entwickelt, um nach stabilisierenden Lösungen zu suchen, in denen ein Protein des Typs AB5 in seinem komplexierten und damit biologisch aktiven Zustand verbleibt. Dabei wurden zwei stabilisierende Lösungen ermittelt.

Der Anmelder äußerte den Wunsch, alle anderen stabilisierenden Lösungen zu schützen, die mit dem genannten Screening-Verfahren gefunden werden können.

1.1. Dokument aus dem Stand der Technik D1

Das Dokument aus dem Stand der Technik D1 offenbart ein Verfahren, das dieselbe Chromatographie und dieselben Elutionsschritte wie das Verfahren umfasst, das der Anmelder vorschlägt, um festzustellen, ob ein Protein des Typs AB5 im komplexierten oder im zerfallenen Zustand vorliegt. In D1 wird dieses Verfahren jedoch für ein ganz anderes Protein verwendet, nämlich für VIP2. In D1 ist auch nicht offenbart, dass dieses Verfahren dazu geeignet ist, zu ermitteln und zu quantifizieren, in welchem Ausmaß ein Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand vorliegt oder in seine Untereinheiten zerfallen ist.

1.2. Dokument aus dem Stand der Technik D2

Das Dokument aus dem Stand der Technik D2 ist eine Patentanmeldung, die ebenfalls ein Protein des Typs AB5 im Zusammenhang mit Cholera betrifft. Das Ziel dieser Offenbarung ist jedoch, die toxische Wirkung der Proteine des Typs AB5 zu reduzieren, um deren Verwendung im Tiermodell zu verbessern.

In diesem Dokument ist eine Zusammensetzung mit einem mutierten Protein des Typs AB5 in einer der stabilisierenden Lösungen offenbart, die durch das Screening-

Verfahren des Anmelders ermittelt wurden (mutiertes Protein des Typs AB5 + PBS + 0,25 Gew.-% CHAPS).

1.3. Patentansprüche

Für die unabhängigen Ansprüche konnten insgesamt 70 Punkte erzielt werden. Für abhängige Ansprüche gab es bis zu 15 Punkte. Auch für die Beschreibung waren 15 Punkte zu vergeben.

Bei mehr als 15 Ansprüchen gab es ab dem 16. Anspruch keine Punkte mehr, da der Mandant nach eigener Aussage keine Anspruchsgebühren entrichten wollte.

1.3.1 Unabhängiger Verfahrensanspruch – "Anteilmethode"

Verfahren zur Bestimmung des Anteils eines BDP-Proteins des Typs AB5 (oder eines Proteins des Typs AB5) im komplexierten Zustand in einer Probe, gekennzeichnet durch folgende Schritte:

- i) Durchführen einer Säulenchromatographie der Probe eines BDP-Proteins des Typs AB5, wobei das Trägermaterial hydroxyliertes Polymethacrylat (HyPM) mit freien Carboxylgruppen umfasst,*
- ii) Eluieren der Proteine mit einem Puffer, umfassend Tris-HCl 200mM und Na₂SO₄ 100mM mit einem pH-Wert von 6,8 bis 7,6,*
- iii) Nachweisen des eluierten Proteins und*
- iv) Bestimmen der Menge von B5- und von AB5-Protein im komplexierten Zustand, um den Anteil des BDP des Typs AB5 im komplexierten Zustand zu berechnen.*

Maximal 15 Punkte konnten für diesen Verfahrensanspruch erzielt werden, der auf ein Verfahren zum Nachweis und zur Messung gerichtet ist, in welchem Ausmaß ein Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand vorliegt oder in seine Untereinheiten zerfallen ist.

Dieser Anspruch ist gegenüber dem in D1 offenbarten Verfahren neu aufgrund des Verwendungsmerkmals, mit dem das Verfahren auf Proteine des Typs AB5 und die Bestimmung ihrer Integrität gerichtet wird. Das Verfahren ist auch erfinderisch gegenüber dem Stand der Technik, weil die Möglichkeit zum Nachweis, in welchem Ausmaß das Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand vorliegt oder zerfallen ist, durch den Stand der Technik nicht nahegelegt wurde.

Alternativ konnte ein Anspruch auf ein Verfahren formuliert werden, mit dem komplexiertes AB5 von B5 des BDP-Proteins des AB5-Typs getrennt wird ("Trennmethode"). Dieser Anspruch ist neu und erfinderisch aus den oben für die "Anteilmethode" ausgeführten Gründen, und dafür waren ebenfalls 15 Punkte möglich. Wenn der Bewerber diese Anspruchsformulierung gewählt hat, wird die Berechnung, mit der festgestellt wird, in welchem Ausmaß ein Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand vorliegt oder in seine Untereinheiten zerfallen ist, zu einem nützlichen abhängigen Anspruch und sollte beansprucht werden.

Die Bewerber sollten erkennen, dass der pH-Bereich von 6,8 – 7,6, der im Schreiben des Mandanten in Abs. [010] genannt ist, beansprucht werden kann. Ein begrenzter pH-Bereich hat zu Punktabzug geführt.

5 Punkte wurden abgezogen, wenn wesentliche technische Merkmale fehlten (z. B. fehlende Pufferzusammensetzung; keine Beschränkung auf Proteine des Typs AB5).

Dieselben Abzüge gab es für unnötige Beschränkungen (z. B. Beschränkung auf EcT oder CvT; Angabe der Partikelgröße und der Porositätswerte von 6µm und 250nm; pH-Wert beschränkt auf 7,2; Aufnahme des Merkmals SF > 0,7; Beschränkung auf ein "natürliches" Protein des Typs AB5). Bei einer Beschränkung dieses Anspruchs auf HPLC wurden 3 Punkte abgezogen. Ein geringfügiger Klarheitsmangel führte zu einem Verlust von 2 Punkten, während ein wesentlicher Kohärenzmangel des Anspruchs mit einem Abzug von 5 Punkten bestraft wurde (z. B. Verfahren betraf die Bestimmung des Anteils, aber nur AB5 oder B5 wurde quantifiziert). Für einen Anspruch, der nicht neu war, gab es keine Punkte.

1.3.2 Unabhängiger Verfahrensanspruch – "Screening-Verfahren"

Der Anmelder suchte mit der oben genannten "Anteilstmethode" nach Lösungen, die das Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand stabilisieren (stabilisierende Lösungen). Dieses Screening-Verfahren bildet die Grundlage für einen weiteren unabhängigen Anspruch, der folgenden Wortlaut haben könnte:

Verfahren zur Identifizierung (oder zur Herstellung) einer Lösung, die ein BDP-Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand stabilisiert, wobei das Verfahren folgende Schritte umfasst:

- i) Kombinieren eines BDP-Proteins des Typs AB5 mit einer wässrigen, potenziellen stabilisierenden Lösung,*
- ii) Inkubieren der Probe aus Schritt i,*
- iii) Analysieren der Probe aus Schritt ii durch das in Anspruch 1 definierte Verfahren und*
- iv) Berechnen des Stabilitätsfaktors (SF) als Quotient der Menge an komplexiertem Protein des Typs AB5, geteilt durch die Gesamtmenge an AB5 + B5, wobei ein SF über 70 % darauf hinweist, dass die potenzielle stabilisierende Lösung das BDP-Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand stabilisiert.*

Für diesen unabhängigen Anspruch waren bis zu 20 Punkte möglich.

Das Verfahren muss die Merkmale umfassen, die der Anmelder in seinem Schreiben als wesentlich definiert hat. Natürlich muss der Anspruch auch die bereits beanspruchten Elemente der "Anteilstmethode" umfassen.

Dieser Anspruch ist aus denselben Gründen wie die "Anteilstmethode" neu und erfinderisch.

5 Punkte wurden abgezogen, wenn wesentliche technische Merkmale fehlten (z. B. keine Bezugnahme auf die "Anteilstmethode" in Anspruch 1; keine Berechnung des Stabilitätsfaktors (SF)). Denselben Punktabzug gab es auch für unnötige Beschränkungen (z. B. Beschränkung auf CvT oder EcT). Bei mangelnder Klarheit wurden 2 Punkte abgezogen (z. B. fehlende Definition des SF), während es für einen Anspruch, der nicht neu war, keine Punkte gab.

1.3.3 Unabhängige Zusammensetzungs- und Verwendungsansprüche – "stabilisierende Lösung"

Möglich waren folgende Ansprüche:

Zusammensetzung, umfassend ein BDP-Protein des Typs AB5, einen Phosphatpuffer und mindestens 10mM L-Arginin.

Zusammensetzung, umfassend ein BDP-Protein des Typs AB5, PBS und mindestens 0,05 Gew.-% CHAPS, wobei die Zusammensetzung umfassend ein BDP-Protein des Typs AB5, PBS und 0,25 Gew.-% ausgeschlossen ist.

Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend einen Phosphatpuffer und mindestens 10mM L-Arginin zur Stabilisierung eines BDP-Proteins des Typs AB5.

Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend PBS und mindestens 0,05 Gew.-% CHAPS zur Stabilisierung eines BDP-Proteins des Typs AB5.

Um diese Ansprüche korrekt zu formulieren, mussten die Bewerber das Schreiben des Anmelders und D2 berücksichtigen. Sie mussten erkennen, dass die laut Schreiben des Mandanten getesteten potenziellen stabilisierenden Lösungen aus kommerziell erhältlichen Testkits stammen. Ein Anspruch auf eine stabilisierende Lösung als solche, d. h. ohne Protein des Typs AB5, ist somit nicht neu.

Unter den vom Anmelder getesteten potenziellen stabilisierenden Lösungen wurde bei zwei Lösungen die gewünschte Aktivität festgestellt, nämlich

- a) Protein des Typs AB5 + Phosphatpuffer + mindestens 10mM L-Arginin und
- b) Protein des Typs AB5 + PBS + 0,25 Gew.-% CHAPS.

Die Bewerber sollten erkennen, dass die stabilisierende Lösung b bereits in D2 offenbart war. Dass die stabilisierende Wirkung in D2 nicht festgestellt wurde, ist keine Grundlage für die Formulierung eines Erzeugnisanspruchs. Es ist jedoch möglich, einen Anspruch unter Umgehung der Offenbarung von D2 zu formulieren. So kann beispielsweise die einzige in D2 offenbarte CHAPS-Konzentration, nämlich 0,25 %, ausgeschlossen werden. Außerdem kann die CHAPS-basierte stabilisierende Lösung auf ein nicht mutiertes, d. h. natürlich vorkommendes oder Wildtyp-Protein des Typs AB5 beschränkt werden, weil D2 nur eine modifizierte, d. h. mutierte Variante des Proteins des Typs AB5 in dieser stabilisierenden Lösung offenbart.

Die Bewerber sollten auch erkennen, dass nur die im Schreiben des Mandanten offenbarten spezifischen Zusammensetzungen die genannte stabilisierende Wirkung haben. Wenn Elemente der stabilisierenden Lösungen wie etwa der Puffer fehlten, wurden Punkte abgezogen.

Daneben konnten auch Verwendungsansprüche formuliert werden, die auf die Verwendung der oben genannten stabilisierenden Zusammensetzungen zur Stabilisierung eines Proteins des Typs AB5 gerichtet sind. Anders als bei den Ansprüchen auf Zusammensetzungen war es jedoch bei dem auf CHAPS basierten Verwendungsanspruch nicht notwendig, die in D2 offenbarte spezifische Zusammensetzung auszuschließen. Diese Verwendungsansprüche sind gegenüber dem

Stand der Technik neu und erfinderisch, weil nirgends offenbart ist, dass die Zusammensetzungen für diesen Zweck verwendet werden können.

Der Anmelder äußerte in seinem Schreiben den Wunsch, auch die stabilisierenden Lösungen zu schützen, die mit dem beschriebenen Screening-Verfahren gefunden werden konnten. Die Bewerber sollten jedoch erkennen, dass in diesem Fall ein solcher Anspruch auf noch nicht identifizierte Lösungen einen Durchgriffsanspruch ("Reach-through"-Anspruch) darstellt. Im vorliegenden Fall zeigen die vom Anmelder vorgelegten Daten, dass nicht vorhersehbar ist, welche potenzielle Zusammensetzung die gewünschte stabilisierende Aktivität aufweist (siehe Tabelle 2). Dies führt zu einem Mangel an Stützung und Klarheit für einen solchen Durchgriffsanspruch. Wie die vom Anmelder bereitgestellten Daten zeigen, umfasst ein solcher Anspruch auch stabilisierende Lösungen, die im Stand der Technik bereits bekannt sind, wie etwa die Zusammensetzung umfassend PBS + 0,25 Gew.-% CHAPS, die in D2 offenbart ist.

20 Punkte waren möglich für jeden korrekten Erzeugnisanspruch, 15 Punkte für jeden korrekten Verwendungsanspruch. Jeder Erzeugnis- und Verwendungsanspruch wurde einzeln bewertet, doch insgesamt konnte ein Bewerber bis zu 35 Punkte für alle Erzeugnis- und Verwendungsansprüche zusammen erzielen. 15 Punkte wurden abgezogen für Durchgriffsansprüche und für Erzeugnisansprüche auf die stabilisierende Lösung als solche (d. h. ohne das Protein), weil diese kommerziell erhältlich und damit nicht neu sind.

Die Bewerber verloren 5 Punkte, wenn wesentliche technische Merkmale in den Ansprüchen fehlten (z. B. "mindestens 10mM" für Arginin; "mindestens 0,05 Gew.-%" für CHAPS). Denselben Punktabzug gab es bei unnötigen Beschränkungen (z. B. einschließlich "pH 7,4" für den Puffer der L-Arginin-Zusammensetzung). Mangelnde Klarheit führte zu einem Abzug von 2 Punkten, und für einen Anspruch, der nicht neu war, gab es gar keine Punkte.

2. Abhängige Ansprüche

Für die abhängigen Ansprüche gab es insgesamt 15 Punkte. Die folgenden Ansprüche konnten realistische Auffangpositionen darstellen:

- Für die Trennmethode:
 - i) pH 7,2
 - ii) Partikelgröße von 6µm und Porosität von 250nm des verwendeten Säulenmaterials
 - iii) Verwendung einer HPLC-Säule
 - iv) Einbeziehung eines Schritts zur Berechnung des Stabilitätsfaktors (SF)
- Für das Screening-Verfahren:
 - v) Schritt des Inkubierens bei Raumtemperatur
 - vi) Schritt des Inkubierens bei 4°C
 - vii) Aufbewahren der Probe während der Inkubation unter statischen Bedingungen
 - viii) Schütteln der Probe während der Inkubation
 - ix) Testen, ob das stabilisierte BDP-Protein des Typs AB5 biologisch aktiv ist
- Für die Zusammensetzungsansprüche:
 - x) Konzentrationen von L-Arginin bis zu 50mM
 - xi) Konzentrationen von CHAPS von 0,15 Gew.-% oder 0,35 Gew.-%
 - xii) Spezifizierung, dass es sich bei dem Protein des Typs AB5 um EcT oder CvT handelt
- Für die Verwendungsansprüche:
 - xiii) Konzentrationen von L-Arginin bis zu 50mM
 - xiv) Konzentrationen von CHAPS von 0,15 Gew.-%, 0,25 Gew.-% oder 0,35 Gew.-%
 - xv) Spezifizierung, dass es sich bei dem Protein des Typs AB5 um EcT oder CvT handelt

Für die abhängigen Ansprüche waren bis zu 2 Punkte pro Anspruch, insgesamt aber maximal 15 Punkte möglich.

3. Beschreibung

Bis zu 15 Punkte waren für die Beschreibung zu vergeben. 4 Punkte gab es für eine Zusammenfassung der relevanten Aspekte der Dokumente des Stands der Technik D1 und D2. Es wurde auch erwartet, dass gemäß Regel 42 (1) c) EPÜ die technische Aufgabe und deren Lösung beschrieben werden – dafür konnten 6 Punkte erzielt werden. Schließlich wurde noch die Konsistenz zwischen den Ansprüchen und der Beschreibung beurteilt (5 Punkte).

Musteranspruchssatz:

1. Verfahren zur Bestimmung des Anteils eines BDP-Proteins des Typs AB5 (oder eines Proteins des Typs AB5) im komplexierten Zustand in einer Probe, gekennzeichnet durch folgende Schritte:
 - i) Durchführen einer Säulenchromatographie der Probe eines BDP-Proteins des Typs AB5, wobei das Trägermaterial hydroxyliertes Polymethacrylat (HyPM) mit freien Carboxylgruppen umfasst,
 - ii) Eluieren der Proteine mit einem Puffer, umfassend Tris-HCl 200 mM und Na₂SO₄ 100 mM bei einem pH-Wert von 6,8 bis 7,6,
 - iii) Nachweisen des eluierten Proteins und
 - iv) Bestimmen der Menge von B5- und von AB5-Protein im komplexierten Zustand, um den Anteil des BDP des Typs AB5 im komplexierten Zustand zu berechnen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der pH-Wert 7,2 beträgt.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 oder 2, wobei der HyPM eine Partikelgröße von 6µm und eine Porosität von 250nm aufweist.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 – 3, wobei die Chromatographie in Form einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie durchgeführt wird.
5. Verfahren zur Identifizierung (oder zur Herstellung) einer Lösung, die ein BDP-Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand stabilisiert, wobei das Verfahren folgende Schritte umfasst:
 - i) Kombinieren eines BDP-Proteins des Typs AB5 mit einer wässrigen, potenziellen stabilisierenden Lösung,
 - ii) Inkubieren der Probe aus Schritt i,
 - iii) Analysieren der Probe aus Schritt ii durch das in einem der Ansprüche 1 – 4 definierte Verfahren und
 - iv) Berechnen des Stabilitätsfaktors (SF) als Quotient der Menge an komplexiertem Protein des Typs AB5, geteilt durch die Gesamtmenge an AB5 + B5, wobei ein SF über 70 % darauf hinweist, dass die potenzielle stabilisierende Lösung das BDP-Protein des Typs AB5 im komplexierten Zustand stabilisiert.
6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die Probe auf Raumtemperatur gehalten wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 oder 6, bei dem die Probe während der Inkubation in einem statischen Zustand gehalten wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 – 6, bei dem die Probe während der Inkubation geschüttelt wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 – 8, das als weiteren Schritt den Test umfasst, ob das stabilisierte BDP-Protein des Typs AB5 biologisch aktiv ist.
10. Zusammensetzung umfassend ein BDP-Protein des Typs AB5, einen Phosphatpuffer und mindestens 10mM L-Arginin.
11. Zusammensetzung nach Anspruch 10, wobei es sich bei dem Protein des Typs AB5 um EcT oder CvT handelt.
12. Verwendung einer Zusammensetzung umfassend einen Phosphatpuffer und mindestens 10 mM L-Arginin zur Stabilisierung eines BDP-Proteins des Typs AB5.

13. Verwendung einer Zusammensetzung umfassend PBS und mindestens 0,05 Gew.-% CHAPS zur Stabilisierung eines BDP-Proteins des Typs AB5.
14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei CHAPS in einer Menge von 0,15 Gew.-%, 0,25 Gew.-% oder 0,35 Gew.-% vorliegt.
15. Verwendung nach den Ansprüchen 12 – 14, wobei es sich bei dem Protein des Typs AB5 um EcT oder CvT handelt.

EXAMINATION COMMITTEE I

Candidate No. _____

Paper A (Chemistry) 2014 - Marking Sheet

Category		Maximum possible	Marks awarded	
Independent claims	Method for determining the proportion complexed versus non-complexed	15		
	Method for identifying a stabilizing solution	20		
	Composition and/or uses	35		
Dependent claims		15		
Description		15		
Total		100		

Examination Committee I agrees on marks and recommends the following grade to the Examination Board:

☐ PASS
(50-100)

☐ COMPENSABLE FAIL
(45-49)

☐ FAIL
(0-44)

24 June 2014

Chairman of Examination Committee I