

vonnis
1 x

RECHTBANK DEN HAAG

Team handel
Zittingsplaats Den Haag

zaaknummer / rolnummer: C/09/453427 / HA ZA 13-1205

Vonnis van 10 september 2014

in de zaak van

1. de vennootschap naar vreemd recht
AJINOMOTO CO. INC.,
gevestigd te Tokyo, Japan,
2. de vennootschap naar vreemd recht
AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S.,
gevestigd te Parijs, Frankrijk,
eiseressen in conventie,
verweersters in reconventie,
eiseressen in het incident,
advocaat mr. D. Knottenbelt te Rotterdam,

tegen

1. de vennootschap naar vreemd recht
GLOBAL BIO-CHEM TECHNOLOGY GROUP COMPANY LIMITED,
gevestigd te George Town, Caymaneilanden,
2. de vennootschap naar vreemd recht
BIO-CHEM TECHNOLOGY (HK) LIMITED,
gevestigd te Hong Kong, Volksrepubliek China,
3. de vennootschap naar vreemd recht
CHANGCHUN BOACHENG BIO-CHEM DEVELOPMENT CO. LIMITED,
gevestigd en kantoorhoudende te Changchun Economic and Technological Development
Zone, Jilin Province, Volksrepubliek China,
4. de vennootschap naar vreemd recht
GBT EUROPE GMBH,
gevestigd te Neuss, Duitsland,
gedaagden in conventie,
eiseressen in reconventie,
verweersters in het incident,
advocaat mr. drs. A.M.E. Verschuur.

Eiseressen in conventie en verweersters in reconventie gezamenlijk zullen hierna worden aangeduid als Ajinomoto, gedaagden in conventie en verweersters in reconventie gezamenlijk als Global. Eiseres in conventie sub 1 zal hierna Ajinomoto Inc. worden genoemd, eiseres in conventie sub 2 Eurolysine.

Voor Ajinomoto is de zaak inhoudelijk behandeld door mr. R.M. Kleemans en mr. J.D. Drok, bijgestaan door Drs. LL.M. K.M.L. Bijvank, octrooigemachtigde te Den Haag, en voor Global door haar procesadvocaat en door mr. ir. P. van Dongen, mr. T.H.B. Iserief en mr. Ch. Gielen, allen advocaat te Amsterdam, bijgestaan door dr. T.H. Wittop Koning, octrooigemachtigde te Rijswijk.

1. De procedure

1.1. Het verloop van de procedure blijkt uit:

- de beschikking van de voorzieningenrechter van deze rechtbank van 24 juli 2013 waarbij Ajinomoto is toegestaan Global te dagvaarden in een procedure volgens het versnelde regime in octrooizaken;
- de dagvaarding van 25 juli 2013, tevens inhoudende een provisionele eis, met de producties 1 tot en met 24,
- de conclusie van antwoord in het incident en in conventie, tevens conclusie van eis in reconventie, tevens akte houdende overlegging producties, met producties 1 tot en met 16;
- de conclusie van antwoord in reconventie met producties 26 (een productie 25 ontbreekt) tot en met 38;
- de akte van Global houdende overlegging nadere producties 17 tot en met 21;
- de akte van Ajinomoto, houdende overlegging van de reactieve productie 39;
- productie 40 van Ajinomoto met een kostenspecificatie;
- de brief van 12 juni 2014 met een kostenspecificatie van Global.

1.2. Partijen hebben hun standpunten bepleit ter zitting van 13 juni 2014. Vervolgens is vonnis bepaald op heden.

1.3. Global heeft bezwaar gemaakt tegen reactieve productie 39 van Ajinomoto, een verklaring van de deskundige Prof. Dr. R. Krämer, omdat deze omvangrijker is dan de door het VRO-reglement bepaalde maximale omvang van drie pagina's. Dit bezwaar is gegrond zodat productie 39 terzijde wordt geschoven. Voor de beoordeling van het geschil is dat overigens van weinig belang omdat de toelichting van Ajinomoto en de deskundige Krämer bij pleidooi inhoudelijk op hetzelfde neerkomt.

2. De feiten

2.1. Voor zover relevant voor de onderhavige beslissing staan de volgende feiten tussen partijen vast.

2.1.1. Lysine is een aminozuur dat wordt gebruikt als voedingssupplement voor vee.

2.1.2. Ajinomoto Inc. heeft een proces ontwikkeld voor de productie van lysine op industriële schaal. Daarbij wordt gebruik gemaakt van een genetisch gemodificeerde bacterie.

2.1.3. Ajinomoto Inc. is houdster van octrooi EP 1 664 318 B1 (verder te noemen EP 318 of het octrooi) voor een *L-amino acid-producing microorganism and method for producing L-amino acid*, op 23 september 2009 verleend op een aanvraag van 28 januari 2005 met beroep op de prioriteitsdatum 30 januari 2004 op basis van een Japanse octrooi-aanvraag. Het octrooi is verleend voor onder meer Nederland.

2.1.4. De conclusies van EP 318 luiden in de oorspronkelijk Engelse tekst als volgt.

1. A microorganism having an L-amino acid-producing ability, wherein said microorganism is modified so that expression of a ybjE gene is enhanced, wherein said ybjE gene is selected from the group consisting of:
 - (a) a DNA comprising a nucleotide sequence of SEQ ID NO:1;
 - (b) a DNA hybridizable under stringent conditions with a nucleotide sequence of SEQ ID NO: 1, and wherein said DNA encodes a protein having an L-amino acid-export ability;
 - (c) a DNA having a nucleotide sequence of nucleotide numbers 49 to 948 in SEQ ID NO:1; and
 - (d) a DNA hybridizable under stringent conditions with a nucleotide sequence of nucleotide numbers 49 to 948 in SEQ ID NO:1, and wherein said DNA encodes a protein having an L-amino acid-export ability.
2. The microorganism according to claim 1, wherein the expression of said ybjE gene has been enhanced by increasing a copy number of said ybjE gene, or by modifying an expression regulatory sequence of said ybjE gene.
3. The microorganism according to claim 1 or 2, wherein the amino acid sequence of a protein encoded by said ybjE gene is selected from the group consisting of (A) to (D) shown below, wherein said protein has an L-amino acid-export ability:
 - (A) an amino acid sequence of SEQ ID NO:2,
 - (B) an amino acid sequence of SEQ ID NO:2 including substitutions, deletions, or insertions, of one to 20 amino acid residues,
 - (C) an amino acid sequence of amino acid numbers 17 to 315 in SEQ ID NO:2, and
 - (D) an amino acid sequence of amino acid numbers 17 to 315 in SEQ ID NO:2 including substitutions, deletions, or insertions, of one to 20 amino acid residues.
4. The microorganism according to any one of claims 1 to 3, wherein said ybjE gene has a mutation which replaces guanine at the 3rd position of SEQ ID NO:1 with adenine.
5. The microorganism according to any one of claims 1 to 4, wherein said L-amino acid-export ability of said microorganism is increased by said enhancing expression of said ybjE gene.
6. The microorganism according to any one of claims 1 to 5, wherein a resistance of the microorganism to an L-amino acid or L-amino acid analogue is increased by said enhancing expression of said ybjE gene.
7. The microorganism according to any one of claims 1 to 6, wherein said L-amino acid is selected from the group consisting of L-lysine, L-arginine, L-ornithine, L-histidine, L-isoleucine, L-threonine, L-proline, L-phenylalanine, L-cysteine, and L-glutamic acid.
8. The microorganism according to claim 7, wherein said L-amino acid is L-lysine.
9. The microorganism according to any one of claims 1 to 8, wherein said microorganism belongs to an Enterobacteriaceae family.
10. The microorganism according to claim 9, wherein said microorganism belonging to an Enterobacteriaceae family is a microorganism belonging to the genus Escherichia.
11. The microorganism according to claim 10, wherein said microorganism is Escherichia coli.
12. The microorganism according to any one of claims 1 to 8, wherein said microorganism is a Coryneform bacterium.
13. The microorganism according to any one of claims 1 to 8, wherein said microorganism is a methanol-assimilating bacterium.

14. The microorganism according to claim 13, wherein said methanol-assimilating bacterium is a microorganism belonging to the genus *Methylophilus* or *Methylobacillus*.

15. A method for producing an L-amino acid comprising culturing the microorganism according to any one of claims 1 to 14 in a medium to produce and cause accumulation of said L-amino acid, and collecting said L-amino acid from the medium or the microorganism.

16. A method for producing an L-amino acid, comprising culturing the microorganism according to claims 13 or 14 in a liquid medium containing methanol as a major carbon source to produce and cause accumulation of said L-amino acid, and collecting the L-amino acid from the medium or the microorganism.

17. The method according to claims 15 or 16, wherein the L-amino acid is selected from the group consisting of L-lysine, L-arginine, L-ornithine, L-histidine, L-isoleucine, L-threonine, L-proline, L-phenylalanine, L-cysteine, and L-glutamic acid.

2.1.5. In de Nederlandse vertaling luiden conclusies 1-17 van EP '318 als volgt:

1. Micro-organisme met een L-aminozuur-producerend vermogen, waarbij genoemd micro-organisme dusdanig gemodificeerd is dat expressie van een ybjE-gen verhoogd is, waarbij het ybjE-gen gekozen is uit de groep bestaande uit:

- (a) een DNA omvattende een nucleotidesequentie SEQ ID NO:1;
- (b) een DNA dat onder strikte condities hybridiseerbaar is met een nucleotidesequentie SEQ ID NO:1 en waarbij het DNA voor een eiwit met een L-aminozuur-exporterend vermogen codeert;
- (c) een DNA met een nucleotidesequentie van nucleotidenummers 49 tot en met 948 in SEQ ID NO:1; en
- (d) een DNA dat onder strikte condities hybridiseerbaar is met een nucleotidesequentie van nucleotidenummers 49 tot en met 948 in SEQ ID NO:1, en waarbij het DNA voor een eiwit met een L-aminozuur-exporterend vermogen codeert.

2. Micro-organisme volgens conclusie 1, waarbij de expressie van het ybjE-gen verhoogd is door het verhogen van een kopie aantal van het ybjE-gen, of door het modificeren van een expressieregulerende sequentie van het ybjE-gen.

3. Micro-organisme volgens conclusie 1 of 2, waarbij de aminozuursequentie van een eiwit dat door het ybjE-gen gecodeerd is gekozen is uit de hieronder weergegeven groep bestaande uit (A) tot en met (D), waarbij het eiwit een L-aminozuur-exporterend vermogen heeft:

- (A) een aminozuursequentie SEQ ID NO:2,
- (B) een aminozuursequentie SEQ ID NO:2 inclusief substituties, verwijderingen of inserties van een tot 20 aminozuurresten,
- (C) een aminozuursequentie van aminozuurnummers 17 tot en met 315 in SEQ ID NO:2 en
- (D) een aminozuursequentie van aminozuurnummers 17 tot en met 315 in SEQ ID NO:2 inclusief substituties, verwijderingen of inserties een tot 20 aminozuurresten.

4. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 3, waarbij het ybjE-gen een mutatie heeft die guanine op de 3e positie van SEQ ID NO:1 vervangt door een adenine.

5. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 4, waarbij het L-aminozuur-exporterende vermogen van het micro-organisme verhoogd is door de genoemde verhoging van de expressie van het ybjE-gen.

6. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 5, waarbij een weerstand van het micro-organisme tegen een L-aminozuur of L-aminozuuranalogon verhoogd wordt door de verhoging van de expressie van het ybjE-gen.

7. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 6, waarbij genoemd L-aminozuur gekozen is uit de groep bestaande uit L-lysine, L-arginine, L-ornithine,

L-histidine, L-isoleucine, L-treonine, L-proline, L-fenylalanine, L-cysteine en L glutaminezuur.

8. Micro-organisme volgens conclusie 7, waarbij genoemd L-aminozuur L-lysine is.

9. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 8, waarbij genoemd micro-organisme tot een Enterobacteriaceae-familie behoort.

10. Micro-organisme volgens conclusie 9, waarbij genoemd micro-organisme dat tot een Enterobacteriaceae-familie behoort een micro-organisme is dat tot de Escherichia-stam behoort.

11. Micro-organisme volgens conclusie 10, waarbij het micro-organisme Escherichia coli is.

12. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 8, waarbij genoemd micro-organisme een Coryneform-bacterie is.

13. Micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 8, waarbij genoemd micro-organisme een methanolassimilerende bacterie is.

14. Micro-organisme volgens conclusie 13, waarbij genoemd methanolassimilerende bacterie een micro-organisme is dat tot de Methylophilus- of Methylobacillus-stam behoort.

15. Werkwijze voor het produceren van een L-aminozuur, omvattende het kweken van het micro-organisme volgens een der conclusies 1 tot en met 14 in een medium om accumulatie van het L-aminozuur op te leveren en te veroorzaken, en het verzamelen van genoemd L-aminozuur uit het medium of het micro-organisme.

16. Werkwijze voor het produceren van een L-aminozuur, omvattende het kweken van het micro-organisme volgens conclusie 13 of 14 in een vloeibaar medium bevattende methanol als voornaamste koolstofbron om accumulatie van het L-aminozuur op te leveren en te veroorzaken, en het verzamelen van het L-aminozuur uit het medium of het micro-organisme.

17. Werkwijze volgens conclusie 15 of 16, waarbij het L-aminozuur gekozen wordt uit de groep bestaande uit L-lysine, L-arginine, L-ornithine, L-histidine, L-isoleucine, L-treonine, L-proline, L-fenylalanine, L-cysteine en L-glutaminezuur.

2.1.6. De beschrijving van het octrooi houdt onder meer het volgende in.

[0001] The present invention relates to a method for producing an L-amino acid by fermentation using a microorganism. (...)

[0002] L-amino acids are industrially produced by fermentation using microorganisms belonging to the genus Brevibacterium, Corynebacterium, Escherichia, or the like.

[0003] Methods for producing L-lysine have been reported in EP 0857784A, JP 11-192088A, W000/53726, and W096/17930. Methods for producing L-arginine have been reported in EP 0999267A, EP 1170358A, and JP 20 2002-017342A. In these reported methods, basic L-amino acid-producing bacteria strains were used, including strains separated from nature or artificially mutated strains thereof, and recombinant strains which have enhanced activity of a basic L-amino acid biosynthetic enzyme.

(...)

[0005] Methods of modifying uptake or export of L-amino acids in bacterial cells have been known to improve the L-amino acid-producing ability of the bacteria. (...)

[0007] As a method of enhancing an L-amino acid export, a method of enhancing lysE (a gene for basic L-amino acid exporter; J. Mol. Microbiol. Biotechnol., 1999 Nov; 1(2):327-36) in a strain of *Corynebacterium* bacterium is known for producing L-lysine (W097/23597) or L-arginine (US Patent Publication 2003-0113899). A method of enhancing the expression of rhtA, B, C gene (JP 2000-189177A) and yfiK, yahN gene (EP 1016710A), which have been suggested to be involved in export of L-amino acids, in cells of *Escherichia* bacterium are also known.

[0008] As a gene for export of basic L-amino acids, the aforementioned lysE gene is known. However, when a lysE gene is amplified in a methanol-assimilating bacterium such as *Methylophilus* bacterium, and the resulting strain is used for production of L-Lysine or L-arginine, a wild-type lysE gene derived from a *Coryneform* bacterium is lethal for the *Methylophilus* bacterium, and thus it is necessary to introduce a mutant lysE gene (EP 1266966A) that allows growth of the host microorganism. Therefore, the lysE gene cannot always function in export of L-lysine or L-arginine when it is introduced into heterogeneous microorganisms. Therefore, it is desirable to obtain a gene for L-amino acid-exporter and production that exhibits an ability to secrete sufficient amounts of L-amino acids, including L-lysine and L-arginine, in a variety of heterogeneous host microorganisms.

[0009] The ybjE gene is located on the genome of *Escherichia coli* and has been predicted to encode a putative surface protein (Science, 277 (5331):1453-74, 1997). However, cloning of the gene and analysis thereof through expression in bacterial cells has not been reported, and thus its physiological function has remained unknown.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0010] An object of the present invention is to provide a bacterial strain that can efficiently produce an L-amino acid. Another object of the present invention is to provide a method for efficiently producing an L-amino acid using such a strain.

[0011] The inventors of the present invention assiduously studied in order to achieve the aforementioned objects, and as a result, obtained the ybjE gene, a novel gene for L-amino acid exporter, based on a resistance to high concentrations of L-lysine. Furthermore, they also found that L-amino acids, including basic L-amino acids such as L-lysine, L-arginine, L-ornithine, and L-histidine; aliphatic L-amino acids such as L-isoleucine; hydroxyl L-amino acids such as L-threonine; circular L-amino acids such as L-proline; aromatic L-amino acids such as L-phenylalanine; sulfur-containing L-amino acids such as L-cysteine; and acidic L-amino acids such as L-glutamic acid, can be efficiently produced using a microorganism in which expression of the ybjE gene is enhanced.

[0012] It is an object of the present invention to provide a microorganism having an L-amino acid-producing ability, wherein said microorganism is modified so that expression of a ybjE gene is enhanced.

[0013] It is a further object of the present invention to provide the microorganism as stated above, wherein the expression of said ybjE gene is enhanced by increasing a copy number of said ybjE gene, or by modifying an expression regulatory sequence of said ybjE gene.

(...)

[0029] The microorganism of the present invention has an ability to produce an L-amino acid and has been modified so that expression of the ybjE gene is enhanced. The phrase "ability to produce an L-amino acid (L-amino acid-producing ability)" as used herein means an ability to cause accumulation of an L-amino acid in a medium or in the cells of the microorganism when the microorganism of the present invention is cultured in the medium. The microorganism of the present invention may have an ability to produce multiple kinds of L-amino acids (...)

(...)

[0092] The expression of the ybjE gene may be enhanced by either enhancing the expression of the endogenous ybjE gene via modification of an expression regulatory sequence such as a promoter, or

by exogenously introducing the ybjE gene using a plasmid or the like. These techniques may be combined.

(...)

[0103] Expression of the ybjE gene can be enhanced by, for example, increasing the copy number of the ybjE gene in cells using genetic recombination techniques.(...)

(...)

[0112] Enhancing expression of the ybjE gene can also be attained by either replacing an expression regulatory sequence, including a promoter of the ybjE gene, on a chromosomal DNA or on a plasmid with a stronger one, as described in W000/18935, amplifying a regulatory factor that increases expression of the ybjE gene, or deleting or attenuating a regulatory factor that reduces expression of the ybjE gene. (...)

2.1.7. De in paragraaf 7 van de beschrijving van het octrooi genoemde internationale octrooi-aanvraag met publicatienummer WO 97/23597 (verder: WO 597) ziet op een *Process for the microbial production of amino acids by boosted activity of export carriers*. De in het Engels gestelde *abstract* van deze publicatie vermeldt:

The invention pertains to a process for the microbial production of amino acids. The process in question involves boosting the export carrier activity and/or export gene expression of a micro-organism which produces the desired amino acid. According to the invention, it was found that a single specific gene is responsible for the export of a given amino acid, and on that basis a process for the microbial production of amino acids, involving the controlled boosting of the export gene expression and/or export carrier activity of a micro-organism which produces the amino acid in question, has been developed for the first time. The boosted expression or activity of the export carrier resulting from this process increases the secretion rate and thus increases transport of the desired amino acid.

2.1.8. De beschrijving, in de oorspronkelijke Duitse taal, houdt voorts onder meer het volgende in.

[pagina 1 regel 16 – pagina 2 regel 7]

Aminosäuren sind von großem wirtschaftlichen Interesse, wobei die Verwendung von Aminosäuren vielfältig ist: So wird z.B. L-Lysin, wie auch L-Threonin, und L-Tryptophan als Futtermittelzusatz benötigt, L-Glutamat als Gewürzzusatz, L-Isoleucin und L-Tyrosin in der pharmazeutischen Industrie, L-Arginin und L-Isoleucin als Medikament, oder L-Glutamat und L-Phenylalanin als Ausgangssubstanz zur Synthese von Feinchemikalien.

Eine bevorzugte Methode zur Herstellung dieser verschiedensten Aminosäuren ist die biotechnologische Herstellung mittels Mikroorganismen; denn auf diese Weise wird direkt die biologisch wirksame und optisch aktive Form der jeweiligen Aminosäure erhalten, und es können einfache und preisgünstige Rohstoffe eingesetzt werden. Als Mikroorganismen werden z.B. *Corynebacterium glutamicum* und seine Verwandten *ssp. flavum* und *ssp. lactofermentum* (Liebl et al., *Int J System Bacteriol* (1991) 41:255-260) wie auch *Escherichia coli* und verwandte Bakterien eingesetzt. Diese Bakterien produzieren die Aminosäuren normalerweise aber nur in der zum Wachstum benötigten Menge, so daß also keine überschüssigen Aminosäuren gebildet und ausgeschieden werden.

(...)

[pagina 3 regel 20- 25]

Diese vielfältigen Versuche zur Produktivitätssteigerung sind insgesamt darauf gerichtet, die Limitation der cytosolischen Synthese der Aminosäuren zu überwinden. Als eine weitere Limitation kommt grundsätzlich aber auch der Export der im Zellinneren gebildeten Aminosäuren ins Kulturmedium in Betracht (...)

[pagina 5 regel 16 – 30]

Es wurde nunmehr überraschenderweise gefunden, daß für den Export von Aminosäuren jeweils nur ein einziges, spezifisches Gen verantwortlich ist, so daß erfindungsgemäß erstmals ein Verfahren zur mikrobiellen Herstellung von Aminosäuren zur Verfügung gestellt wird, bei dem gezielt die Exportgen-Expression und/oder die Exportcarrier-Aktivität eines die entsprechende Aminosäure produzierenden Mikroorganismus erhöht wird. Die aus dieser Verfahrensweise resultierende, gesteigerte Expression bzw. Aktivität des Exportcarriers führt zu einer erhöhten Sekretionsrate, so daß der Export der entsprechenden Aminosäure erhöht ist. Auch akkumulieren derart veränderte Mikroorganismen einen erhöhten Anteil der entsprechenden Aminosäure im Kulturmedium.

[pagina 6 regel 16 – 20]

Die Exportgen-Expression wird durch Erhöhen der Genkopienzahl und/oder durch Verstärkung regulatorischer Faktoren, die die Exportgen-Expression positiv beeinflussen, erhöht.

[pagina 7 regel 29 – pagina 8 regel 2]

Für den Einbau des Exportgens in ein Genkonstrukt wird das Exportgen vorzugsweise aus einem Mikroorganismen-Stamm der Gattung *Corynebacterium* isoliert, und mit dem das Exportgen enthaltende Genkonstrukt ein die entsprechende Aminosäure produzierender Mikroorganismen-Stamm, insbesondere *Corynebacterium*, transformiert. Die Isolierung und Transformation des entsprechenden Transportgens erfolgt nach gängigen Methoden (...)

[pagina 9 regel 24 – pagina 10 regel 14]

Es sind eine Vielzahl von Sequenzen bekannt, die für Membranproteine unbekannter Funktion kodieren. Durch die erfindungsgemäße Bereitstellung von Exportgenen, wie beispielsweise des Exportgens mit der Nukleotidsequenz von Nukleotid 1016 bis 1725 gemäß Tabelle 2, bzw. der entsprechenden Exportproteine, wie z.B. das mit der Aminosäuresequenz gemäß Tabelle 1, können nunmehr Membranproteine, deren Funktion der Transport von Aminosäuren ist, durch Sequenzvergleich identifiziert werden. Das damit identifizierte Exportgen kann anschließend zur Verbesserung der Aminosäureproduktion nach dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden. Die aus dem Stand der Technik bekannten Membranproteine besitzen in der Regel 12, zum Teil auch 4 transmembrane Helices. Es wurde nunmehr überraschenderweise gefunden, daß die für den Export von Aminosäuren zuständigen bzw. geeigneten Membranproteine 6 transmembrane Helices aufweisen (vgl. z.B. die in Tabelle 3 aufgeführte Aminosäuresequenz eines Exportproteins, bei der die 6 transmembranen Bereiche durch Unterstreichen kenntlich gemacht sind). Damit liegt hier eine bisher noch nicht beschriebene und somit neue Klasse von Membranproteinen vor.

2.1.9. In de uitvoeringsvoorbeelden van WO 597 wordt vervolgens beschreven hoe het *lysE*-gen wordt gevonden in het DNA van de bacterie *Corynebacterium glutamicum* (*C. glutamicum*), hoe wordt vastgesteld dat dit gen codeert voor het L-lysine transporteiwit en hoe, door analyse met het computerprogramma PHD.HTM, wordt vastgesteld dat dit eiwit zes transmembraanhelices heeft. Vervolgens wordt beschreven hoe aan de hand van de aminozuursequentie van *lysE* is gezocht naar soortgelijke genen in het DNA van *Escherichia coli* (*E. coli*). De beschrijving vermeldt als resultaat een gen, in figuur 2 genoemd *Ygga*, als volgt:

[pagina 14 regel 30 – pagina 15 regel 2]

Zu einer einzigen Sequenz bisher unbekannter Funktion aus *E. coli* ergab sich eine hohe Homologie von 39,3 % identischen Aminosäuren, und 64,9 % ähnlichen Aminosäuren. Der Vergleich ist in Figur 2 gezeigt. Das bislang nicht charakterisierte offene Leseraster aus *E. coli* ist über dieses Verfahren damit als ein Aminosäurenexportgen identifiziert.

2.1.10. De tot de stand van de techniek behorende publicatie van S.B. Primrose e.a., *Principles of Gene Manipulation*, 6^e editie, vermeldt een drietal databases voor eiwitsequenties als volgt.

Protein Sequence Databases
Translated EMBL (TrEMBL)
<http://www.expasy.ch/sprot/sprot-top.html>
Database of all the protein coding regions stored in the EMBL database.
Comprehensive, but (generally) at the cost of poor annotation.

SWISS-PROT
<http://expasy.hcuge.ch/sprot/sprot-top.html>
A database of protein sequences, translated from the EMBL genomic database. Protein sequences have been checked and annotated.

PIR
<http://www.nbrf.georgetown.edu/pir/>
Four databases: PIR1 is the most comprehensive with entries classified and annotated. PIR4 is the least comprehensive, with unencoded or untranslated entries.

2.1.11. In de genoemde Swiss-Prot database was op de prioriteitsdatum de navolgende informatie opgenomen met betrekking tot het *ybjE*-gen. De voor deze beslissing relevante tekst is gemarkeerd.

```
ID YBJE_ECOLI STANDARD; PRT; 299 AA.
AC P75826; Q9R2W1;
DT 15-JUL-1998 (Rel. 36, Created)
DT 15-JUL-1998 (Rel. 36, Last sequence update)
DT 16-OCT-2001 (Rel. 40, Last annotation update)
DE Hypothetical protein ybjE.
GN YBJE OR B0874.
OS Escherichia coli.
OC Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales;
OC Enterobacteriaceae; Escherichia.
OX NCBI_TaxID=562;
RN [1]
RP SEQUENCE FROM N.A.
RC STRAIN=K12 / MG1655;
RX MEDLINE=97426617; PubMed=9278503;
RA Blattner F.R., Plunkett G. III, Bloch C.A., Perna N.T., Burland V.,
RA Riley M., Collado-Vides J., Glasner J.D., Rode C.K., Mayhew G.F.,
RA Gregor J., Davis N.W., Kirkpatrick H.A., Goeden M.A., Rose D.J.,
RA Mau B., Shao Y.;
RT "The complete genome sequence of Escherichia coli K-12.";
RL Science 277:1453-1474(1997).
RN [2]
RP SEQUENCE FROM N.A.
RC STRAIN=K12;
RX MEDLINE=97061202; PubMed=8905232;
RA Oshima T., Aiba H., Baba T., Fujita K., Hayashi K., Honjo A.,
RA Ikemoto K., Inada T., Itoh T., Kajihara M., Kanai K., Kashimoto K.,
RA Kimura S., Kitagawa M., Makino K., Masuda S., Miki T., Mizobuchi K.,
RA Mori H., Motomura K., Nakamura Y., Nashimoto H., Nishio Y., Saito N.,
RA Sampei G., Seki Y., Tagami H., Takemoto K., Wada C., Yamamoto Y.,
RA Yano M., Horiuchi T.;
RT "A 718-kb DNA sequence of the Escherichia coli K-12 genome
corresponding to the 12.7-28.0 min region on the linkage map.";
RL DNA Res. 3:137-155(1996).
CC -!- SUBCELLULAR LOCATION: Integral membrane protein (Potential).
CC -!- SIMILARITY: STRONG, TO H.INFLUENZAE H11452.
-----
CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License
-----
DR EMBL; AE000189; AAC73961.1; ALT_INIT.
DR EMBL; D90724; BAA35588.1; -.
DR EMBL; D90725; BAA35592.1; -.
DR EcoGene; EG13426; ybjE.
DR InterPro; IPR005642; DUF340.
DR Pfam; PF03956; DUF340; 1.
KW Hypothetical protein; Transmembrane; Complete proteome.
FT TRANSMEM 31 51 POTENTIAL.
FT TRANSMEM 58 78 POTENTIAL.
FT TRANSMEM 109 129 POTENTIAL.
FT TRANSMEM 131 151 POTENTIAL.
FT TRANSMEM 169 189 POTENTIAL.
FT TRANSMEM 277 297 POTENTIAL.
SQ SEQUENCE 299 AA; 32340 MW; D413F61566C34241 CRC64;
MFGSGLLIILV PLIVGYLIPL RQQAALKVIN QLLSWMVYLI LFFMGISLAF LDNLASNLLA
ILHYSAVSIT VILLCNIAAL MWLERGLPWR NHHQEKLPK RIAMALESLK LCGVVVIGFA
IGLSGLAFLQ HATEASEYTL ILLFLVGIQ LRNNGMTLKQ IVLNRRGMIV AVVVVSSLI
GGLINAFILD LPINTALAMA SGFGWYLSLG ILLTESFGPV IGSAAFFNDL ARELIAIMLI
PGLIRRSRST ALGLCGATSM DFTLVLVQLRT GGLDMVFAAI VHGFILSLV PIIAFFSA
```

2.1.12. Eurolysine heeft een exclusieve licentie voor EP 318 verkregen van Ajinomoto Inc.

2.1.13. Global is eveneens producent van lysine. Global (althans een van de gedaagden in conventie) heeft onder meer lysine geleverd aan een afnemer in Nederland. Van deze lysine zijn in het kader van een door Ajinomoto gelegd bewijsbeslag monsters genomen die vervolgens zijn geanalyseerd.

3. Het geschil in conventie en in reconventie

3.1. Ajinomoto verwijt Global inbreuk op - met name - conclusies 15 en 17 van het octrooi dan wel onrechtmatige betrokkenheid bij of profiteren van deze inbreuk. Zij vordert, zakelijk weergegeven:

- 1) toewijzing van de na te melden vorderingen 3, 4 en 6 tot en met 8, op straffe van een dwangsom, bij provisioneel vonnis, uitsluitend voor zover de procedure in de hoofdzaak zal worden aangehouden,

en voorts:

- 2) een verklaring voor recht dat Global inbreuk maakt c.q. heeft gemaakt op het Nederlandse deel van EP 318, dan wel daarbij onrechtmatig betrokken is of daarvan profiteert;
- 3) een verbod op inbreuk op het Nederlandse deel van EP 318 dan wel op onrechtmatige betrokkenheid bij of profijt trekken van deze inbreuk;
- 4) een verbod om gedurende één jaar L-lysine op de Nederlandse markt te verhandelen;
- 5) afgifte van inbreukmakende L-lysine producten ter vernietiging;
- 6) opgave van gegevens met betrekking tot de door de inbreuk gemaakt winst;
- 7) een recall van inbreukmakende L-lysine;
- 8) een rectificatie op de website van Global;
- 9) een en ander op straffe van een dwangsom;
- 10) veroordeling tot betaling van de kosten van het vaststellen van de inbreuk, op te maken bij staat;
11. winstafdracht dan wel schadevergoeding, op te maken bij staat;
12. veroordeling van Global in de overeenkomstig artikel 1019h Rv¹ te begroten proceskosten.

3.2. Global beroept zich op nietigheid van conclusie 1 en de volgconclusies 2, 3, 5 tot en met 11, 15 en 17 van het octrooi bij gebreke van inventiviteit ten opzichte van WO 597. Voorts zouden volgens Global alle conclusies van het octrooi nietig zijn voor zover zij zien op andere aminozuren dan lysine en arganine omdat 1) een technisch effect ontbreekt en ook om die reden inventiviteit niet kan worden aangenomen en 2) vanwege gebrek aan nawerkbaarheid. Global bestrijdt, mede op grond van de nietigheid van het octrooi, de gestelde inbreuk op het octrooi.

¹ Wetboek van Burgerlijke Rechtsvordering

3.3. Global vordert in reconventie vernietiging van het Nederlandse deel van EP 318, met veroordeling van Ajinomoto in de volgens artikel 1019h Rv te begroten proceskosten van de hoofdzaak en van het incident voor zover het geschil handhaving van intellectuele eigendomsrechten betreft en te begroten volgens het liquidatietarief voor zover het geschil anderszins onrechtmatig handelen betreft.

4. Bevoegdheid

4.1. De rechtbank is internationaal bevoegd de in conventie gestelde nietigheid van het Nederlandse deel van EP 318 te beoordelen op grond van artikel 22 lid 4 EEX-Vo². Voor het overige bestaat in conventie internationale bevoegdheid op grond van de artikelen 4 lid 1 EEX-Vo jo. artikel 9 Rv (gedaagden in conventie sub 1, 2 en 3) respectievelijk artikel 24 EEX-Vo (gedaagde in conventie sub 4), ook al omdat de bevoegdheid door Global niet is bestreden. Voor wat betreft de gestelde inbreuk op het octrooi berust de relatieve bevoegdheid van deze rechtbank op artikel 80 lid 2 ROW 1995³ en voor het overige bestaat relatieve bevoegdheid omdat deze niet is bestreden.

4.2. De bevoegdheid in reconventie berust eveneens op de artikelen 22 lid 4 EEX-Vo en 80 lid 2 ROW 1995.

5. De technische achtergrond van het octrooi

5.1. Partijen hebben de technische achtergrond van het octrooi uitvoerig toegelicht. Daaraan ontleent de rechtbank de navolgende uiteenzetting, waarover tussen partijen geen discussie bestaat.

5.1.1. Het aminozuur lysine wordt op industriële schaal geproduceerd door gebruik te maken van micro-organismen zoals bacteriën, waaronder de eerdergenoemde *E. coli* en *C. glutamicum*.

5.1.2. De meeste natuurlijke bacteriestammen die in staat zijn lysine te produceren maken niet meer lysine dan nodig is voor hun eigen metabolisme en zijn daarom niet geschikt voor de (grootschalige) industriële productie van lysine. Door genetische modificatie van een natuurlijke bacteriestam kan de lysineproductie worden verbeterd.

5.1.3. Genetische informatie is vastgelegd in het DNA. Het DNA is een ketenvormig molecuul, bestaande uit twee complementaire strengen. De strengen zijn opgebouwd uit vier verschillende nucleotiden die worden aangeduid met de letters A (Adenine), T (thymine), C (cytosine) en G (guanine).

5.1.4. Een gen bestaat uit een fragment van de streng met een bepaalde volgorde (sequentie) van deze nucleotiden. Een gen bevat de informatie voor ('codeert voor') de aanmaak van een specifiek eiwit. Eiwitten bestaan uit een keten van aminozuren, waarbij ieder aminozuur wordt gecodeerd door drie nucleotiden. De mate van expressie van het gen (de mate waarin het eiwit wordt aangemaakt) kan worden vergroot (overexpressie) door het

² Verordening (EG) 44/2001 van de Raad betreffende de rechterlijke bevoegdheden, de erkenning en de tenuitvoerlegging van beslissingen in burgerlijke en handelszaken

³ Rijksoctrooiwet 1995

gen een aantal keren achter elkaar in het DNA te plaatsen (het verhogen van het kopiegetal) of door het wijzigen van de zogenaamde promotorsequentie, waardoor het gen vaker wordt afgelezen hetgeen ook resulteert in verhoogde productie van het betreffende eiwit.

5.1.5. Transporteiwitten zijn eiwitten die zich in de celmembranen bevinden en die ervoor zorgen dat bepaalde stoffen, zoals lysine, de cel in en/of uit getransporteerd worden. Dergelijke transporteiwitten hebben een bepaalde ruimtelijke structuur. Een van de gangbare ruimtelijke structuren van eiwitmoleculen is een helix. Als deze helix door het celmembranen steekt, is sprake van een transmembraanhelix.

6. De standpunten van partijen met betrekking tot de inventiviteit van EP 318

6.1. Global bestrijdt de inventiviteit van het octrooi. Uitgaande van WO 597 als de meest nabije stand van de techniek is volgens Global als het door conclusie 1 opgeloste objectieve technische probleem aan te merken het verschaffen van een alternatief gen, coderend voor een transporteiwit met 6 transmembraanhelices, dat betrokken is bij lysinetransport in *E. coli*⁴ en het vervolgens tot overexpressie brengen van dit gen in *E. coli*, met als effect een verhoging van de lysineproductie.

6.2. De gemiddelde vakman (verder: de vakman) zou dit probleem volgens Global in de redelijke verwachting van succes oplossen langs de volgende lijn.

6.2.1. In een publicatie van Blattner⁵ is het gehele genoom van *E. coli* in kaart gebracht. Deze publicatie heeft veel aandacht gekregen en alle vaklieden die met *E. coli* werkten zullen van de publicatie kennis hebben genomen. De vakman zou het artikel daarom raadplegen.

6.2.2. Blattner beschrijft alle genen van *E. coli* en vermeldt dat er 281 genen zijn die mogelijk coderen voor transporteiwitten.

6.2.3. De vakman weet uit WO 579 dat hij op zoek moet gaan naar genen die coderen voor eiwitten met zes transmembraanhelices. Tevens wordt in WO 597 beschreven dat de vakman met het programma PHD.HTM de sequenties kan analyseren om te voorspellen of en zo ja, hoeveel transmembraanhelices het eiwit bevat.

6.2.4. Wanneer hij de 281 genen op deze wijze zou analyseren, dan stuit de vakman onvermijdelijk op, onder meer, het *ybjE*-gen. Dit gen codeert namelijk voor een eiwit met zes transmembraanhelices.

6.2.5. De vakman hoefde bovendien die analyse niet eens zelf te doen omdat op de prioriteitsdatum vrijwel alle genen van *E. coli* al geanalyseerd waren. De resultaten daarvan waren terug te vinden in diverse databanken, zoals de *Swiss-Prot database*.

⁴ bacteriën van het soort *Escherichia coli*

⁵ F.R. Blattner e.a., *The Complete Genome Sequence of Escherichia coli K-12*, Science, vol. 277, 5 september 1997

6.2.6. De vakman zou vervolgens routinematig de gevonden genen, waaronder het *ybjE*-gen, kloneren, tot overexpressie brengen, en het effect op de lysineproductie meten. De vakman identificeert dan het *ybjE*-gen.

6.3. Ajinomoto brengt hier, zakelijk weergegeven, het volgende tegenin.

6.3.1. De meest nabije stand van de techniek is niet WO 597 maar een overzichtsartikel als dat van Hermann⁶ of Kirchner et alia⁷. De keuze voor WO 597 is gebaseerd op *hindsight*. De vakman die de aminozuurproductie wil verbeteren heeft geen reden specifiek te zoeken in documenten met betrekking tot transporteiwitten. Omdat, zoals hierna uiteengezet, het gen dat codeert voor het transporteiwit in *E. coli* al was gevonden, is WO 597 ook om die reden niet *the most promising springboard*.

6.3.2. Indien van WO 597 zou worden uitgegaan is de omschrijving van het objectieve technische probleem van Global bovendien onjuist. De vakman heeft geen enkele reden om te zoeken naar een ander gen dat het transport van aminozuren reguleert omdat dat gen in WO 597 al wordt beschreven, namelijk het *Ygga*-gen. De vakman zou er vanuit gaan dat het eiwit dat gecodeerd wordt door het *Ygga*-gen het enige aminozuurtransporteiwit is omdat WO 597 op pagina 5 regels 17-19 leert dat er slechts één specifiek eiwit verantwoordelijk is voor het transport van aminozuren in een micro-organisme. Het zoeken naar een alternatief gaat lijnrecht in tegen de leer van WO 597.

6.3.3. Uitgaande van WO 597 zou het objectieve technische probleem dat door EP 318 wordt opgelost moeten worden gedefinieerd als het verschaffen van een micro-organisme en een werkwijze waarmee een verbeterde opbrengst van aminozuren wordt bereikt. De vakman zou voor de oplossing van dat probleem niet denken aan het zoeken naar een *E. coli*-gen dat codeert voor een transporteiwit omdat dit gen in WO 597 als is gevonden. De vakman zou andere wegen inslaan.

6.3.4. De vakman zou Blattner niet raadplegen omdat Blattner alleen de sequentie van het DNA van *E. coli* heeft bepaald, maar niet beschrijft welke functies de eiwitten hebben waarvoor de verschillende genen coderen.

6.3.5. De vakman zou ook niet op zoek gaan naar genen die coderen voor eiwitten met zes transmembraanhelices omdat in het voorbeeld van WO 597 het *Ygga*-gen wordt gevonden aan de hand van sequentiehomologie (de mate waarin de sequenties van de eiwitten overeenkomen) en niet structuurhomologie (de mate waarin de ruimtelijke structuur – bijvoorbeeld een (transmembraan)helix – van eiwitten overeenkomen). Het aantal transmembraanhelices van een eiwit zegt niets over de functie van het eiwit. Het lag voor de vakman dus ook niet voor de hand om aan de hand van het aantal transmembraanhelices op zoek te gaan naar een gen voor een aminozuurtransporteiwit in *E. coli*. Als de vakman, zoals in WO 597 is beschreven, op basis van sequentiehomologie gaat zoeken in een databank, zou de vakman niet bij het *ybjE*-gen uitkomen omdat deze homologie tussen het *lysE*-gen en het *ybjE*-gen erg laag is.

⁶ T. Hermann, *Industrial production of amino acids by coryneform bacteria*, Journal of Biotechnology 104 (2003) 155 - 172

⁷ O. Kircher, A Tauch, *Tools for genetic engineering in the amino acid-producing bacterium Corynebacterium glutamicum*

6.3.6. De vakman zou de Swiss-Prot database niet raadplegen maar het in WO 597 genoemde computerprogramma PHD.HTM of de soortgelijke programma's Phobius of TMHMM. Deze computerprogramma's analyseren een opgegeven sequentie van een eiwit en voorspellen het aantal transmembraanhelices. Met behulp van deze programma's wordt het *ybjE*-gen niet gevonden omdat deze programma's voor het *ybjE*-gen 9 of 10 transmembraanhelices voorspellen.

6.3.7. Als de vakman zou zoeken op basis van zes membraanhelices, zou hij een veiligheidsmarge aanhouden van 5-7 transmembraanhelices. De vakman zou aldus uitkomen op 101 mogelijke genen. De vakman moet al deze mogelijke genen kloneren en tot overexpressie brengen. Het moeten onderzoeken van al deze mogelijkheden is een *undue burden*. Het tot overexpressie brengen van genen stond bekend als lastig en mislukte vaak. Aan dit onderzoek zou de vakman, die gelet op het voorgaande al niet erg gemotiveerd is, niet beginnen.

7. Beoordeling van de inventiviteit van EP 318

Meest nabije stand van de techniek en formulering van het technische probleem

7.1. Als meest nabij stand van de techniek dient te worden aangemerkt het document dat het geschiktste uitgangspunt vormt om tot de uitvinding te komen. Dat zal als regel het document zijn dat zich bezighoudt met hetzelfde probleem en de meeste met de uitvinding overeenstemmende kenmerken openbaart.

7.2. De rechtbank is met Global van oordeel dat WO 597 moet worden aangemerkt als de meest nabije stand van de techniek. Dit document houdt zich evenals het octrooi bezig met de productie van L-aminozuren met behulp van genetisch gemodificeerde bacteriën. WO 597 openbaart voorts, zoals blijkt uit de hiervoor opgenomen passages uit de beschrijving, alle kenmerken van conclusie 1 van het octrooi, met uitzondering van het *ybjE*-gen. Hermann of Kirchner staan verder van de geclaimde materie af. Dat WO 597 geen goed uitgangspunt voor de vakman zou vormen berust op de, hierna te bespreken, onjuiste stelling van Ajinomoto dat de vakman in WO 597 geen aansporing zou vinden te zoeken naar alternatieven voor het *lysE*-gen.

7.3. Conclusie 1 maakt aanspraak op bescherming van a) een micro-organisme met een L-aminozuur-producerend vermogen, b) waarbij genoemd micro-organisme gemodificeerd is aldus dat expressie van een *ybjE*-gen verhoogd is c) waarbij het *ybjE*-gen is gespecificeerd door in het octrooi nader aangegeven nucleotidensequenties. De enige verschilmaatregel met WO 597 is dat in WO 597 de expressie van het *lysE*-gen is verhoogd en in conclusie 1 dat van het *ybjE*-gen.

7.4. Volgens Ajinomoto is het technisch effect van deze maatregel een verbeterde opbrengst van aminozuren. De verbeterde opbrengst waar Ajinomoto in haar conclusie van antwoord in reconventie onder 2.31 naar verwijst ziet echter op verbetering van de opbrengst van aminozuren van de gemodificeerde bacteriestam ten opzichte van de niet-gemodificeerde stam, niet ten opzichte van de in WO 597 geopenbaarde met *lysE* gemodificeerde stam. Dat de maatregelen van conclusie 1 leiden tot verbetering van de L-aminozuuropbrengst ten opzichte van hetgeen bekend was uit WO 597 is door Ajinomoto

echter niet gemotiveerd en blijkt niet uit het octrooi. Nu een ander technisch voordeel van de maatregelen van conclusie 1 niet is aangevoerd, is met Global aan te nemen dat als het objectieve technische probleem moet worden aangemerkt het verschaffen van een alternatief voor het in WO 597 geopenbaarde *lysE*-gen dat codeert voor eiwitten die een micro-organisme een L-aminozuur-producerend vermogen geven.

Oplossing van het technische probleem

7.5. De vakman die met dit probleem wordt geconfronteerd wordt door WO 597 de weg gewezen, met name door de hiervoor weergegeven passage op pagina 9 regel 24 – pagina 10 regel 14. De vakman wordt daarin, zoals Ajinomoto stelt, aangespoord transporteiwitten en de daarvoor coderende genen te identificeren aan de hand van sequentiehomologie, zoals is gedaan in voorbeeld d) van WO 597. De passage wijst er echter ook met nadruk op dat verrassenderwijze is vastgesteld dat de gevonden eiwitten behoren tot een nieuwe klasse van membraaneiwitten met zes transmembraanhelices (pagina 10, regels 6-10: “*Es wurde nunmehr überraschenderweise gefunden, daß die für den Export von Aminosäuren zuständigen bzw. geeigneten Membranproteine 6 transmembrane Helices aufweisen (...) Damit liegt hier eine bisher noch nicht beschriebene und somit neue Klasse von Membranproteinen vor*”). De vakman zou daarom – mogelijk naast onderzoek naar sequentiehomologie - zijn aandacht ook zeker richten op membraaneiwitten met zes transmembraanhelices.

Oplossing reeds verschaft door WO 597?

7.6. Het beschreven *Ygga*-gen in *E. coli*, waarvan in WO 597 volgens Ajinomoto zou zijn vastgesteld dat het het transport van alle aminozuren in *E. coli* in het algemeen reguleert, waarmee het probleem reeds zou zijn opgelost, zou de vakman niet van dit onderzoek wegleiden. Het betoog van Ajinomoto wordt feitelijk niet door WO 597 ondersteund. Uit het bij herhaling gebruikte woord ‘*entsprechend*’ in de passage op pagina 5 blijkt namelijk al dat volgens WO 597 één specifiek gen de export van één bepaald aminozuur reguleert, niet van alle aminozuren. Het *Ygga*-gen is bovendien gevonden in *E. coli*. Voor andere micro-organismen dan *E. coli* en *C. glutamicum* (waarin het *lysE*-gen werd gevonden) is geen gen coderend voor een aminozuur-transporteiwit in WO 597 beschreven. De vakman heeft dus op basis van WO 597 geen enkele aanleiding om aan te nemen dat er geen alternatieven zijn voor het *lysE*-gen bij het bewerkstelligen van L-aminozuur-producerend vermogen van een micro-organisme (het objectieve technische probleem). De vakman zal gezien zijn kritische aard bovendien niet geneigd zijn te accepteren dat voor een gevonden oplossing geen alternatieven bestaan. Voor zover Ajinomoto met haar betoog heeft willen aanvoeren dat WO 597 in ieder geval een gen openbaart dat codeert voor een transporteiwit voor lysine, loopt dat argument al daarop stuk dat WO 597 over het *Ygga*-gen niet meer vermeldt dan dat het een gen is dat de export van aminozuren reguleert (“*ein Aminosäureexportgen*”) maar niet specifiek de export van lysine.

Selectie op basis van structuurhomologie

7.7. Partijen hebben ter zitting gedebatteerd over de vraag of de vakman bij zijn onderzoek naar membraaneiwitten met zes transmembraanhelices Blattner zou raadplegen en over welke computerprogramma's en databases de vakman op de prioriteitsdatum de

beschikking had. Zij waren het er daarbij over eens dat de vakman de beschikking had over de drie databases die worden genoemd in de hiervoor vermelde publicatie van Primrose. Omdat Primrose een handboek is dat bovendien, naar Global onweersproken heeft aangevoerd, ook in het onderwijs aan studenten wordt gebruikt, is aannemelijk dat de vakman van deze databases op de hoogte was, en dat het bestaan van deze databases dus behoorde tot zijn algemene vakkennis.

7.8. Global heeft ter zitting voorts betoogd dat de vakman in ieder geval Swiss-Prot zou raadplegen. Volgens haar deskundige Driessen is Uniprot (voorheen Swiss-Prot) in het vakgebied dé standaard voor eiwitsequenties. Volgens Ajinomoto was/is Swiss-Prot niet aan te merken als de *golden standard* maar overtuigende argumenten waarom de vakman aan deze database voorbij zou gaan, heeft Ajinomoto of haar deskundige Krämer niet aangevoerd. Daarbij is van belang dat deze database blijkens Primrose één van slechts drie voor het vakgebied kennelijk belangrijke databases is, die in tegenstelling tot de andere twee '*checked and annotated*' data biedt. De rechtbank gaat er daarom van uit dat de vakman Swiss-Prot zou raadplegen.

7.9. Partijen hebben ter zitting uitgelegd dat indien het aantal transmembraanhelices van een eiwit bekend is, dit wordt opgenomen in een database als Swiss-Prot en dat, indien dit niet bekend is, een prognose wordt opgenomen aan de hand van computerprogramma's als PHD.HTM, Phobius en TMMHMM. Tussen partijen is, zoals overwogen, gedebatteerd over de vraag welk programma de vakman zou hebben gebruikt en welk aantal transmembraanhelices deze programma's voor het *ybjE*-gen zouden hebben voorspeld. Ajinomoto bestrijdt echter niet dat op de prioriteitsdatum in Swiss-Prot voor het *ybjE*-gen al zes transmembraanhelices waren vermeld. Dit blijkt ook uit de door Global overgelegde print, hiervoor weergegeven onder 2.1.11, met de in Swiss-Prot opgenomen data van het *ybjE*-gen gedateerd vóór de prioriteitsdatum (16 oktober 2001, achter "*last annotation update*"). Daarvan uitgaande is niet van belang welk computerprogramma door Swiss-Prot werd gebruikt om dit aantal te voorspellen.

7.10. De vakman zou op basis van de in 7.5 beschreven aanwijzing in WO 597 op de prioriteitsdatum in Swiss-Prot een - voor de hand liggende - selectie maken van genen die coderen voor eiwitten met zes transmembraanhelices en die selectie zou het *ybjE*-gen omvatten. Dat de vakman zich daarbij in eerste instantie zou richten op de genen van *E. coli*, nu deze door Blattner integraal in kaart waren gebracht en *E. coli* tevens een van de meest gebruikte bacteriesoorten voor genetische experimenten is, is door Ajinomoto niet bestreden.

Testen van geselecteerde genen; verwachting van succes

7.11. Uit de verklaringen van de deskundigen Krämer en Driessen is af te leiden dat een selectie op basis van 6 transmembraanhelices bij *E. coli* circa 30 genen zou opleveren, waaronder het *ybjE*-gen. Ajinomoto heeft betoogd dat de vakman een veiligheidsmarge zou aanhouden van 5 – 7 transmembraanhelices en dat een selectie gebaseerd op dat criterium meer dan 100 genen zou omvatten. De rechtbank acht echter aannemelijk dat, zoals de deskundige Driessen in zijn verklaring (productie 17 van Global) heeft aangegeven, de vakman zich in eerste instantie zou beperken tot 6 transmembraanhelices en een grotere marge pas zou overwegen indien succes zou uitblijven. Niet is in te zien immers waarom de vakman zijn onderzoek ruimer zou opzetten dan in eerste instantie nodig is.

7.12. Van de aldus in Swiss-Prot geselecteerde 30 genen dient vervolgens te worden onderzocht of zij betrokken zijn bij het transport van L-aminozuren. De stelling van Global dat dit voor de vakman routinewerk is, is door Ajinomoto niet – ook niet nadat hier ter zitting expliciet naar is gevraagd – voldoende gemotiveerd weersproken. De moeilijkheden en onzekerheden die in dit onderzoek zouden bestaan zijn door haar niet concreet toegelicht, anders dan door de (onjuiste) aanname dat meer dan 100 genen onderzocht zouden moeten worden en door de stelling dat het vaak niet lukt een gen tot overexpressie te brengen. Deze laatste stelling is in het licht van de betwisting door Global door Ajinomoto onvoldoende onderbouwd. Daarbij geldt dat zelfs als de vakman zou weten dat het tot overexpressie brengen van genen vaak niet lukt, deze wetenschap niet afdoet aan de redelijke verwachting van de vakman dat hij met het screeningproces een alternatief voor het *lysE*-gen in handen zal krijgen dat codeert voor een eiwit dat een micro-organisme een L-aminozuur-producerend vermogen geeft. Door Ajinomoto is vervolgens niet gemotiveerd bestreden dat wanneer de vakman de selectie van 30 genen, waaronder zich *ybjE* bevindt, daadwerkelijk zou gaan testen op hun vermogen de productie van L-aminozuren (meer in bijzonder: L-lysine) te vergroten in een micro-organisme (meer in het bijzonder: *E. coli*), hij het *ybjE*-gen zou identificeren en daarmee tot de uitvinding volgens conclusie 1 zou komen.

7.12. Het voorgaande leidt ertoe dat de materie van conclusie 1 niet inventief kan worden geacht en dat conclusie 1 derhalve moet worden vernietigd. Global heeft gemotiveerd gesteld dat de volgconclusies 2, 3, 5 tot en met 11, 15 en 17 eveneens niet inventief zijn. Dit is door Ajinomoto niet weersproken, zodat ook deze conclusies dienen te worden vernietigd.

8. Beoordeling van de geldigheid van de overige conclusies van EP 318

8.1. Global bestrijdt de nawerkbaarheid van alle conclusies van het octrooi. Zij stelt dat het octrooi geen gegevens bevat die aantonen dat verhoging van de expressie van het *ybjE*-gen ook voor wat betreft andere aminozuren dan lysine en arginine leidt tot een verhoogde uitscheiding. Ook ontbreekt, naar zij stelt, een methodiek om de verhoogde uitscheiding van andere aminozuren te meten. Op dezelfde grond stelt zij dat voor die aminozuren het octrooi geen technisch effect heeft zodat moet worden aangenomen dat inventiviteit ontbreekt.

8.2. Dit standpunt moet worden verworpen. Daargelaten of het octrooi overtuigende experimentele gegevens bevat die voor alle L-aminozuren een verhoogde uitscheiding aantonen na verhoging van de expressie van het *ybjE*-gen, verliest Global uit het oog dat dat niet noodzakelijk is om de vakman in staat te stellen het octrooi na te werken. Het is voorts aan Global aan te tonen dat het octrooi niet over de volle breedte nawerkbaar zou zijn. Daarin slaagt zij niet.

8.3. Ajinomoto heeft overgelegd als productie 38 een verklaring van haar werknemer/werkneemster Yukiko Ono, die de resultaten bevat van experimenten waarin het effect is gemeten van introductie van het *ybjE*-gen in een bacterie van de soort *Methylococcus capsulatus* op de uitscheiding van verschillende L-aminozuren. Deze resultaten laten een verhoogde uitscheiding (en daarmee een technisch effect) zien voor de gemuteerde bacteriestam. Wijzend op die productie van Ajinomoto stelt Global dat de verhoging niet in alle gevallen significant is. Voor zover zij daarmee bedoelt dat de verhoging niet daadwerkelijk optreedt, maar te wijten is aan onnauwkeurigheden in de

meting of andere experimentele omstandigheden, heeft zij dit standpunt niet verder onderbouwd en is het daarom onvoldoende gemotiveerd. Voor zover zij bedoelt te stellen dat de verhoging gering is, is dat niet relevant omdat ook dan het geclaimde technisch effect van de uitvinding wordt bereikt.

8.4. Global (althans haar deskundige Driessen) heeft aangevoerd dat deze experimenten uitsluitend gegevens bevatten voor de bacteriesoort *Methylococcus capsulatus* en niet voor *E. coli*. Dat is evenwel niet relevant. Het experiment geeft minst genomen geen grond aan te nemen dat de resultaten in geval van *E. coli*, waarvoor het octrooi al verhoogde uitscheiding van L-lysine en L-arginine heeft aangetoond, anders zouden zijn of dat er andere redenen zijn om aan te nemen dat de vakman aan de hand van het octrooi niet in staat zou zijn een soortgelijk experiment uit te voeren en een verhoogde uitscheiding te verkrijgen. Experimenteel materiaal van de kant van Global dat haar standpunt onderbouwt, ontbreekt.

8.5. Voor vernietiging van conclusies 4, 12, 13, 14 en 16 bestaat gezien het voorgaande geen grond.

9. Conclusie

9.1. De door Ajinomoto aan de inbreukvorderingen ten grondslag gelegde conclusies dienen te worden vernietigd, zodat de vorderingen van Ajinomoto in conventie moeten worden afgewezen. Omdat terstond eindvonnis wordt gewezen, kan de gevorderde provisionele voorziening buiten beschouwing blijven. Ajinomoto wordt als de in het ongelijk gestelde partij veroordeeld in de volgens artikel 1019h Rv te begroten proceskosten. Omdat de voorwaardelijke provisionele eis geheel voortvloeit uit het in de hoofdzak gestelde, ziet de rechtbank geen aanleiding voor een kostenveroordeling in het incident.

9.2. Volgens de onbetwiste opgave van Global bedragen haar proceskosten € 188.905,79, waarvan 5% is toe te rekenen aan werkzaamheden in het kader van de door Ajinomoto gestelde onrechtmatige daad. Een verdeling van de proceskosten tussen het geschil in conventie en dat in reconventie is door partijen niet gemaakt. De rechtbank zal 50% daarvan toerekenen aan het geschil in conventie en 50% aan dat in reconventie nu niet blijkt dat een andere verdeling reëler is.

9.3. De proceskosten in conventie aan de zijde van Global worden derhalve begroot als volgt.

totale proceskosten	€ 188.905,79
onrechtmatige daad 5%	€ 9.445,29
subtotaal	€ 179.460,50
conventie 50%	€ 89.730,25
liquidatietarief 5% x 3 punten x € 452	€ 67,80
griffierecht	€ 589,00
totaal	€ 90.387,05

9.4. In reconventie zijn partijen beide op punten in het ongelijk gesteld. De proceskosten worden om die reden gecompenseerd.

10. De beslissing in conventie

De rechtbank:

- 10.1. wijst de vorderingen af;
- 10.2. veroordeelt Ajinomoto in de proceskosten, tot heden begroot op € 90.387,05;
- 10.3. verklaart de proceskostenveroordeling uitvoerbaar bij voorraad.

11. De beslissing in reconventie

De rechtbank:

- 11.1. vernietigt het Nederlandse deel van EP 1 664 318 B1 voor zover octrooi is verleend voor de materie van conclusies 1 tot en met 3, 5 tot en met 11, 15 en 17;
- 11.2. wijst het meer of anders gevorderde af;
- 11.3. bepaalt dat partijen elk de eigen proceskosten dragen.

Dit vonnis is gewezen door mr. P.G.J. de Heij, F.M. Bus en P. Burgers en in het openbaar uitgesproken op 10 september 2014, in tegenwoordigheid van de griffier.

