

ECLI:NL:GHSGR:2011:BP9490

Instantie	Gerechtshof 's-Gravenhage
Datum uitspraak	29-03-2011
Datum publicatie	29-03-2011
Zaaknummer	200.006.545-01
Formele relaties	Cassatie: ECLI:NL:HR:2013:690 , Bekrachtiging/bevestiging
Rechtsgebieden	Civiel recht
Bijzondere kenmerken	Hoger beroep
Inhoudsindicatie	Geldigheid van en inbreuk op de Europese octrooien EP 0.733.710 en EP 0.733.712 va Ajinomoto betreffende een methode voor het produceren van L-lysine door fermentatie; onrechtmatige daad door gebruik van genetisch gemodificeerde E-coli stam.
Vindplaatsen	Rechtspraak.nl

Uitspraak

GERECHTSHOF 's-GRAVENHAGE
Sector handel

Zaaknummer : 200.006.545/01
Zaak-/rolnummer rechtbank: 268116 / HA ZA 06-2131

arrest van de vijfde kamer d.d. 29 maart 2011

1. de vennootschap naar vreemd recht
GLOBAL BIO-CHEM TECHNOLOGY GROUP COMPANY LIMITED,
gevestigd te George Town, Kaaiman Eilanden,

2. de vennootschap naar vreemd recht
BIO-CHEM TECHNOLOGY (HK) LIMITED,
gevestigd te Hong-Kong, Volksrepubliek China,

3. de vennootschap naar vreemd recht
HELM AG,
gevestigd te Hamburg, Duitsland,

4. de vennootschap naar vreemd recht
HELM BENELUX N.V.,
gevestigd te Brussel, België,

5. de vennootschap naar vreemd recht
CHANGCHUN DACHENG BIO-CHEM ENGINEERING DEVELOPMENT
COMPANY LIMITED,
gevestigd te Changchun City, Volksrepubliek China,

6. de vennootschap naar vreemd recht
CHANGCHUN DAHE BIO TECHNOLOGY DEVELOPMENT COMPANY
LIMITED,
gevestigd te Changchun City, Volksrepubliek China,

appellanten, incidenteel geïntimeerden,
hierna ook te noemen: GBT, Bio-Chem, Helm AG, Helm Benelux, Dacheng, Bio
Technology, en tezamen: GBT c.s.,
procesadvocaat: mr E. Grabandt te 's-Gravenhage,

behandelend advocaten: mrs Ch. Gielen en drs. A.M.E. Verschuur,

t e g e n:

1. de vennootschap naar vreemd recht
AJINOMOTO CO. INC.,
gevestigd te Tokio, Japan,

2. de vennootschap naar vreemd recht
AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S.,
gevestigd te Parijs, Frankrijk,

geïntimeerden, incidenteel appellanten,
hierna ook te noemen: Ajinomoto en Eurolysine, en tezamen: Ajinomoto c.s.,
procesadvocaat: mr P.J.M. von Schmidt auf Altstadt te 's-Gravenhage,
behandelend advocaten: mr P.A.M. Hendrick, mr R.M. Kleemans en mr ir T.M. Blomme.

Het geding

GBT c.s. zijn bij exploit van 20 november 2007 in hoger beroep gekomen van het door de rechtbank 's-Gravenhage tussen Ajinomoto c.s. als eiseressen in conventie tevens verweersters in reconventie en GBT c.s. als gedaagden in conventie tevens eiseressen in reconventie gewezen vonnis van 22 augustus 2007. Zij hebben daartegen, onder overlegging van producties (genummerd 59 tot en met 77) vier grieven aangevoerd.

Ajinomoto c.s. hebben bij memorie van antwoord de grieven bestreden en incidenteel appellerend, drie grieven tegen het vonnis ontwikkeld (met producties 60 tot en met 70) en tevens hun eis gewijzigd als in die memorie is vermeld.

GBT c.s. hebben onder overlegging van producties (genummerd 78 tot en met 86) de incidentele grieven bestreden en geantwoord op de wijziging van eis.

Vervolgens hebben partijen hun standpunten doen bepleiten door hun voornoemde behandelend advocaten aan de hand van pleitnotities, waarbij partijen bij aktes producties in het geding hebben gebracht (GBT c.s.: de producties 87 tot en met 119 en productie 120 en Ajinomoto c.s. de producties 71 tot en met 86 en productie 87); daarbij hebben Ajinomoto c.s. nog een akte houdende rectificatie (van het petitum in hoger beroep) genomen.

Beoordeling van het hoger beroep

1. De door de rechtbank als vaststaand aangemerkte feiten, weergegeven in het vonnis waarvan beroep onder 2.1 tot en met 2.6, zijn niet bestreden, zodat ook het hof daarvan zal uitgaan.

2. In eerste aanleg hebben Ajinomoto c.s., kort aangeduid, in conventie gevorderd:

in de hoofdzaak: te verklaren voor recht dat GBT c.s. direct dan wel indirect inbreuk maken op de Europese octrooien EP 0.733.710, EP 0.733.712 en/of EP 0.796.912,

in de hoofdzaak en bij provisionele vordering: GBT c.s., op straffe van dwangsommen, te verbieden (direct of indirect) inbreuk te maken op de genoemde octrooien in de aangewezen landen waar die octrooien van kracht zijn, hen te verbieden L-lysine producten die zijn vervaardigd door gebruikmaking van de genetisch gemodificeerde microbiële E. coli stam van Ajinomoto in Nederland te koop aan te bieden, in te voeren en/of te verhandelen, hen te verbieden op enigerlei wijze betrokken te zijn bij en/of te profiteren van inbreukmakende handelingen met betrekking tot de genoemde octrooien, en voorts in de hoofdzaak: GBT c.s. te veroordelen tot schadevergoeding en/of winstafdracht, op te maken bij staat, met nevenvorderingen.

GBT c.s. hebben in eerste aanleg in conventie een beroep gedaan op onbevoegdheid van de rechtbank voor zover de vorderingen van Ajinomoto c.s. strekken tot grensoverschrijdende inbreukverboden zowel in de hoofdzaak als bij de provisionele vorderingen, geconcludeerd tot afwijzing van de vorderingen in de hoofdzaak en de provisionele vorderingen; zij hebben in reconventie gevorderd de (Nederlandse delen van de) octrooien te vernietigen, subsidiair deze gedeeltelijk te vernietigen en voor recht te verklaren dat geen inbreuk wordt gemaakt op de (Nederlandse delen van) de octrooien.

3. De rechtbank heeft bij het vonnis waarvan beroep zich in het incident onbevoegd verklaard

kennis te nemen van de vorderingen voor zover deze geen betrekking hebben op Nederland, het provisioneel gevorderde afgewezen, en in de hoofdzaak in conventie voor recht verklaard dat GBT c.s. direct inbreuk hebben gemaakt op EP 0.733.710 en

EP 0.733.712 in Nederland, hen verboden direct inbreuk te maken op deze octrooien en de nevenvorderingen toegewezen als in het vonnis is vermeld, met dwangsommen, en voorts tot winstafdracht of (naar keuze van Ajinomoto c.s.) tot schadevergoeding, alsmede in conventie en reconventie het geding geschorst totdat het Europese Octrooibureau ten aanzien van EP 796.912 een eindoordeel heeft gegeven dan wel de oppositieprocedure zal zijn ingetrokken, alsmede bepaald dat tegen het vonnis hoger beroep kan worden ingesteld voordat het eindvonnis is gewezen.

4. De grieven 1 en 2 in het principale beroep zijn gericht tegen het oordeel van de rechtbank dat de octrooien EP 0.733.710 en EP 0.733.712 geldig zijn. De principale grieven 3 en 4 richten zich tegen het oordeel van de rechtbank dat GBT c.s. inbreuk maken op deze octrooien.

Grief 1 in het incidentele beroep is gericht tegen het oordeel van de rechtbank aangaande het gevorderde verbod tot gebruik van de Ajinomoto-bacteriestam. Incidentele grief 2 betreft de schorsing van de procedure in conventie en in reconventie voor zover betreft de geldigheid van en de inbreuk op octrooi EP 796 912, terwijl incidentele grief 3 is gericht tegen de aanhouding door de rechtbank van met name een beslissing omtrent de proceskosten gedurende de schorsing.

5.1 Ajinomoto is houdster van het Europese octrooi EP 0.733.710 B1 (hierna ook te noemen EP '710) dat blijkt de korte aanduiding (in de authentieke Engelse taal) is verleend voor "Process for producing L-Lysine by fermentation". De aanvraag (WO 1995/016042) voor het octrooi is ingediend op 28 november 1994 met een beroep op voorrang van 8 december 1993 berustend op de Japanse octrooiaanvraag JP 30839793. De vermelding van de verlening van het octrooi is gepubliceerd op 26 januari 2005. Het octrooi is verleend voor een groot aantal landen, waaronder Nederland. Er is geen oppositie ingesteld.

5.2 De conclusies 1-4, 11 en 12 luiden als volgt:

"1. A DNA coding for a dihydrodipicolinate synthase originating from a bacterium belonging to the genus *Escherichia* having a mutation selected from the group consisting of a mutation to replace a 81st alanine residue with a valine residue, a mutation to replace a 118th histidine residue with a tyrosine residue, and a mutation to replace the 81st alanine residue with the valine residue and replace the 118th histidine residue with the tyrosine residue, as counted from the N-terminal in an amino acid sequence of dihydrodipicolinate synthase defined in SEQ ID NO:3 in Sequence Listing.

2. A bacterium belonging to the genus *Escherichia* which is transformed by introducing, into its cells, a DNA according to claim 1, and harboring an aspartokinase in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized.

3. A bacterium belonging to the genus *Escherichia* according to claim 2, harboring the aspartokinase in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized, as obtained by introducing, into its cells, a DNA coding for an aspartokinase III originating from a bacterium belonging to the genus *Escherichia* in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized.

4. A bacterium belonging to the genus *Escherichia* according to claim 3, wherein feedback inhibition of the aspartokinase III by L-lysine is desensitized by a mutation selected from the group consisting of a mutation to replace a 323rd glycine residue with an aspartic acid residue, a mutation to replace the 323rd glycine residue with the aspartic acid residue and replace a 408th glycine residue with an aspartic acid residue, a mutation to replace a 34th arginine residue with a cysteine residue and replace the 323rd glycine residue with the aspartic acid residue, a mutation to replace a 325th leucine residue with a phenylalanine residue, a mutation to replace a 318th methionine residue with an isoleucine residue, a mutation to replace the 318th methionine residue with the isoleucine residue and replace a 349th valine residue with a methionine residue, a mutation to replace a 345th serine residue with a leucine residue, a mutation to replace a 347th valine residue with a methionine residue, a mutation to replace a 352nd threonine residue with an isoleucine residue, a mutation to replace the 352nd threonine residue with the isoleucine residue and replace a 369th serine residue with a phenylalanine residue, a mutation to replace a 164th glutamic acid residue with a lysine residue, and a mutation to replace a 417th methionine residue with an isoleucine residue and replace a 419th cysteine residue with a tyrosine residue, as counted from the N-terminal in an amino acid sequence of aspartokinase III defined in SEQ ID NO: 8 in Sequence Listing.

11. A bacterium belonging to the genus *Escherichia* and containing the DNA according to claim 1.

12. A method of producing L-lysine comprising cultivating a bacterium belonging to the genus *Escherichia* according to any one of claims 2 to 11 in an appropriate medium."

5.3 De conclusies 1-4, 11 en 12 luiden in de (niet betwiste) Nederlandse vertaling als volgt:

"1. DNA coderend voor een dihydrodipicolinaatsynthase afkomstig uit een bacterie behorende tot het genus *Escherichia* met een mutatie gekozen uit de groep bestaande uit een mutatie ter vervanging van een 81e alaninerest door een valinerest, een mutatie ter vervanging van een 118e histidinerest door een tyrosinerest, en een mutatie ter vervanging van de 81e alaninerest door de valinerest en ter vervanging van de 118e histidinerest door de tyrosinerest, zoals

gerekend vanaf de N-terminus in een aminozuursequentie van dihydrodipicolinaatsynthase zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.3 van de sequence listing.

2. Bacterie behorende tot het genus *Escherichia* die is getransformeerd door in zijn cellen een DNA volgens conclusie 1 in te brengen, en die een aspartokinase herbergt waarvan de remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is gemaakt.

3. Bacterie behorende tot het genus *Escherichia* volgens conclusie 2, die het aspartokinase herbergt waarvan remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is gemaakt zoals verkregen door inbrenging in zijn cellen van een DNA coderend voor een aspartokinase III afkomstig van een bacterie behorende tot het genus *Escherichia* waarbij remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is gemaakt.

4. Bacterie behorende tot het genus *Escherichia* volgens conclusie 3, waarbij remming van het aspartokinase III door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is gemaakt door een mutatie gekozen uit de groep bestaande uit een mutatie ter vervanging van een 323e glycinerest door een asparaginezuurrest, een mutatie ter vervanging van de 323e glycinerest door de asparaginezuurrest en vervanging van een 408e glycinerest door een asparaginezuurrest, een mutatie ter vervanging van een 34e argininerest door een cysteïnerest en vervanging van de 323e glycinerest door de asparaginezuurrest, een mutatie ter vervanging van een 325e leucinerest door een fenylalaninerest, een mutatie ter vervanging van een 318e methioninerest door een isoleucinerest, een mutatie ter vervanging van de 318e methioninerest door de isoleucinerest en vervanging van een 349e valinerest door een methioninerest, een mutatie ter vervanging van de 345e serinerest door een leucinerest, een mutatie ter vervanging van een 347e valinerest door een methioninerest, een mutatie ter vervanging van een 352e treoninerest door een isoleucinerest, een mutatie ter vervanging van de 352e treoninerest door de isoleucinerest en vervanging van een 369e serinerest door een fenylalaninerest, een mutatie ter vervanging van een 164e glutaminezuurrest door een lysinerest, en een mutatie ter vervanging van een 417e methioninerest door een isoleucinerest en vervanging van een 419e cysteïnerest door een tyrosinerest, zoals gerekend van de N-terminus in een aminozuursequentie van aspartokinase III zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.8 in de sequence listing.

11. Bacterie behorende tot het genus *Escherichia* die een DNA volgens conclusie 1 omvat.

12. Werkwijze voor het produceren van L-lysine, omvattende het kweken van een bacterie behorende tot het genus *Escherichia* volgens een van de conclusies 2 tot 11 in een geschikt medium."

De conclusies 5-10 van EP '710 zijn, kort gezegd, gericht op bacteriën die (ten minste) het DNA van conclusie 1 bevatten, en conclusie 13 is gericht op een eiwit (enzym) gecodeerd door het DNA volgens conclusie 1.

5.4 In deze procedure doen Ajinomoto c.s. een beroep op de hoofdconclusie, de volconclusies 2-4, 11 en 12 van EP '710.

6.1 Ajinomoto is voorts houdster van het Europese octrooi EP 0.733.712 B1 (hierna ook te noemen EP '712) dat blijkt de korte aanduiding (in de authentieke Engelse taal) is verleend voor "Process for producing a substance". De aanvraag (WO 95/11985) voor het octrooi is ingediend op 26 oktober 1994 met een beroep op voorrang van 28 oktober 1993 berustend op de Japanse octrooiaanvraag JP 27082893. De vermelding van de verlening van het octrooi is gepubliceerd op 12 december 2001. Het octrooi is verleend voor een groot aantal landen, waaronder Nederland. Er is geen oppositie ingesteld.

6.2 Conclusie 1 luidt als volgt:

"1. A method for the production of a target substance by a microorganism, comprising the steps of:

cultivating a microorganism in a culture medium to allow the target substance to be produced and accumulated in said culture medium; and

collecting the target substance from said culture medium,

wherein said microorganism has been modified so that the ability of said microorganism to produce reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate from reduced nicotinamide adenine dinucleotide is increased, whereby the productivity of said microorganism for reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate is enhanced."

6.3 Conclusie 1 luidt in de (niet betwiste) Nederlandse vertaling:

"1. Werkwijze voor de productie van een doelstof door een micro-organisme, omvattende de volgende stappen:

het kweken van een micro-organisme in een kweekmedium om de doelstof te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren; en

het verzamelen van de doelstof uit het kweekmedium,

waarbij het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidefosfaat te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotide is verhoogd, waardoor de productiviteit van het micro-

organisme voor gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat is verhoogd.”

De (direct of indirect) van conclusie 1 afhankelijke conclusies 2-9 zijn, kort gezegd, gericht op voorkeursuitvoeringen van de werkwijze volgens conclusie 1. De onafhankelijke conclusie 10 is gericht op een gemodificeerd micro-organisme.

6.4. Teneinde een langdurig debat over ondergeschikte zaken uit de weg te gaan, wensen Ajinomoto c.s. het octrooi EP '712 in Nederland slechts te verdedigen op basis van de onderstaande gewijzigde conclusies (conclusie van antwoord in reconventie tevens houdende akte overlegging van producties tevens houdende vermindering van eis, onder 38, en productie 40) waarin de wijzigingen van conclusie 1 ten opzichte van de verleende conclusie 1 (welke wijzigingen doorwerken in de van conclusie 1 afhankelijke conclusies) onderstreept zijn weergegeven:

“1. A method for the production of a target substance by a microorganism, comprising the steps of

- cultivating a microorganism in a culture medium to allow the target substance to be produced and accumulated in said culture medium; and
- collecting the target substance from said culture medium,

wherein said microorganism has been modified so that the ability of said microorganism to produce reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate from reduced nicotinamide adenine dinucleotide is increased by increasing the expression amount of a gene coding for nicotinamide nucleotide transhydrogenase in the cell of said microorganism, whereby the productivity of said microorganism for reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate is enhanced, and wherein said target substance is an L-amino acid of which biosynthesis requires reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

2. A method according to claim 1, wherein said L-amino acid is selected from the group of L-threonine, L-lysine, L-glutamic acid, L-leucine, L-isoleucine, L-valine, and L-phenylalanine.

3. A method according to claim 1 or 2, wherein said microorganism is a microorganism belonging to the genus *Escherichia*.

4. A method according to claim 1 or 2, wherein said microorganism is a coryneform bacterium.

5. A method according to any one of claims 1 to 4, wherein the ability of said microorganism to produce reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate from reduced nicotinamide adenine dinucleotide is increased by increasing the number of copies of said gene coding for nicotinamide nucleotide transhydrogenase in the cell of said microorganism.”

6.5 Deze conclusies luiden in de Nederlandse vertaling:

“1. Werkwijze voor de productie van een doelstof door een microorganisme, omvattende de volgende stappen:

- het kweken van een microorganisme in een kweekmedium om de doelstof te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren; en
- het verzamelen van de doelstof uit het kweekmedium, waarbij het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotide is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme, waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat is verhoogd, en waarbij de doelstof een L-aminozuur is waarvan de biosynthese gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat vereist.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het L-aminozuur wordt gekozen uit de groep bestaande uit L-threonine, L-lysine, L-glutaminezuur, L-leucine, L-isoleucine, L-valine, and L-phenylalanine.

3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het micro-organisme een micro-organisme is dat behoort tot het geslacht *Escherichia*.

4. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het micro-organisme een coryneform bacterie is.

5. Werkwijze volgens één van de conclusies 1 tot 4, waarbij het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotide is verhoogd door het verhogen van het aantal kopieën van het gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme.”

6.6 In deze procedure doen Ajinomoto c.s. een beroep op de aldus gewijzigde conclusies 1-3 en 5 van EP'712. Het hof gaat ervan uit dat tijdens deze procedure van het meerdere afstand is gedaan.

7.1 Ajinomoto is tenslotte houdster van het Europese octrooi EP 0.796.912 B1 (hierna ook te

noemen EP '912) dat blijkt de korte aanduiding (in de authentieke Engelse taal) is verleend voor "Novel lysine decarboxylase gene and process for producing L-lysine". De aanvraag (WO 1996/17930) voor het octrooi is ingediend op 5 december 1995 met een beroep op voorrang van 9 december 1994 berustend op de Japanse octrooiaanvraag

JP 30638694. De vermelding van de verlening van het octrooi is gepubliceerd op 22 februari 2006. Het octrooi is verleend voor een groot aantal landen, waaronder Nederland.

7.2 Conclusie 1 van het octrooi luidt als volgt:

"A gene which codes for lysine decarboxylase having an amino acid sequence defined in the following (A) or(B):

(A) an amino acid sequence shown in SEQ ID NO:4;

(B) an amino acid sequence having substitution, deletion or inserting of 3 amino acid residues or less in the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:4 and having lysine decarboxylase activity."

7.3 Conclusie 1 luidt in de (niet betwiste) Nederlandse vertaling:

"1. Gen dat codeert voor lysinedecarboxylase met een aminozuursequentie gedefinieerd volgens (A) of (B):

(A) de in SEQ ID NO:4 weergegeven aminozuursequentie,

(B) een aminozuursequentie met substitutie, deletie of insertie van 3 aminozuurresten of minder in de in SEQ ID NO:4 weergegeven aminozuursequentie, met lysinedecarboxylaseactiviteit."

De conclusies 2-9 zijn alle (direct of indirect) afhankelijk van conclusie 1.

Nietigheid EP 0.733.710

8.1 Volgens GBT c.s. (memorie van grieven, onder 73) is EP 0.733.710 B1 in de eerste plaats nietig wegens gebrek aan inventiviteit (artikel 75, lid 1, sub a, ROW 1995 jo. artikel 56 EOV).

8.2 In eerste aanleg hebben GBT c.s. betoogd dat het artikel "Consequences of Lysine Oversynthesis in Pseudomonas Mutants Insensitive to Feedback Inhibition (Lysine Excretion or Endogenous Induction of a Lysine-Catabolic Pathway)" van M. Hermann et al., in Eur. J. Biochem. 30, 100-106 (1972) (productie 2 GBT c.s., hierna "Hermann") voor de beoordeling van EP'710 als uitgangspunt moet dienen.

GBT c.s. hebben in de loop van de procedure hun mening gewijzigd. Volgens GBT c.s. (memorie van grieven, onder 90) leert nadere bestudering dat de Franse octrooiaanvraag

FR A 2.511.032 (hierna ook FR '032, productie 66 GBT c.s.) nog relevanter is en kan het beste worden uitgegaan van deze Franse octrooiaanvraag (pleitnota in hoger beroep GBT c.s., onder 152), waarvan de inhoud in feite overeenkomt met die van het artikel "Improvement of Escherichia coli Strains Overproducing Lysine Using Recombinant DNA Techniques" van B. Dauce-Le Reverend et al. in European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. (1982) 15: 227-231 (hierna "Dauce-Le Reverend"), overgelegd als productie 17 door Ajinomoto c.s.

Ook zou volgens GBT c.s. uitgegaan kunnen worden van het artikel "Improved L-Lysine Production by the Amplification of the Corynebacterium glutamicum dapA Gene Encoding Dihydrodipicolinate Synthase in E.coli" van J-W. Oh et al., in Biotechnology Letters, Vol 13, No 10, 727-732 (1991) (hierna "Oh", productie 69 GBT c.s.).

8.3 FR'032 is ingediend op 7 augustus 1981 en ter inzage gelegd op 11 februari 1983. Twee van de uitvinders die op FR'032 zijn vermeld, zijn ook mede-auteurs van het artikel Dauce-Le Reverend. Deze laatste publicatie omvat de materie van FR'032, doch geeft tevens een wetenschappelijke toelichting. Ajinomoto c.s. hebben tegen deze documenten als (nieuw) uitgangspunt geen bezwaar gemaakt.

Het hof zal het artikel van Dauce-Le Reverend (in combinatie met FR'032) dan ook als uitgangspunt nemen; dit artikel is, voor de terinzagelegging van FR'032, in 1982 gepubliceerd. Overigens scheren GBT c.s. en Ajinomoto de publicatie van Dauce-Le Reverend en FR'032 over één kam (vgl. pleitnota in hoger beroep GBT c.s., onder 153 en 166).

Dauce-Le Reverend heeft in de procedure in eerste aanleg nog niet als uitgangspunt gediend - daar werd nog uitgegaan van Hermann -, zodat het dienstig is om eerst vast te stellen, waarin conclusie 1 van EP'710 nu eigenlijk verschilt van het bekende volgens Dauce-Le Reverend.

8.4. Uit Dauce-Le Reverend is naar het oordeel van het hof onder meer bekend een werkwijze voor het verkrijgen van een lysine overproducerende stam van E.coli-bacteriën (TOC R 21), met in de cellen DNA met twee mutaties, de eerste, lys-1121, welke leidt tot een verhoogde synthese van aspartokinase III (AKIII), en de tweede, lysC1008 die codeert voor AKIII dat voor remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is (zie p. 228, rechterkolom, laatste alinea's en vgl. de maatregel volgens conclusie 3 van EP'710). Verder is deze stam TOC R 21 getransformeerd met een plasmide met het wild-type E.coli dapA-gen coderend voor dihydrodipicolinaat synthase (DHDP=DDPS) tot TOC 21 R/ pDA1 (p. 228, rechterkolom, laatste

alinea en p. 230, linkerkolom, eerste alinea). Met het construeren van deze stam heeft "Dauce-Le Reverend" ook het oog op industriële productie van lysine (zie p. 227, rechterkolom, regel 4-5 en p. 230, linkerkolom, eerste regel van de eerste alinea onder Tabel 2 de zinsnede "for industrial purposes more useful"). Melding wordt voorts gemaakt van een (semi-industrieel) experiment, waarin met genoemde bacteriestam (TOC R 21/pDA1 in een fermentatiereactor van 2 liter L-lysine werd geproduceerd, hetgeen een opbrengst aan lysine gaf van 6,5 gram/l, welke was verhoogd ten opzichte van de vergelijkingsexperimenten (TOC R 21 en TOC R 21/pBR322) met een opbrengst aan lysine van resp. 4 en 3,8 gram/l (zie Tabel 2 op p. 230 en vgl. pleitaantekeningen in hoger beroep GBT c.s., onder 136 en 157), welke (werkelijke) opbrengst van 6,5 gram/l nog aanzienlijk ligt onder de opbrengst van 12,23 gram/l volgens EP '710 (vgl. pleitaantekeningen in hoger beroep GBT c.s., onder 157 en 161). Op grond van deze experimenten komt Dauce-Le Reverend tot de slotsom dat, naast de reactiestap in het biosynthetische 'pathway' van lysine die wordt gekatalyseerd door het AKIII enzym, ook de reactiestap die wordt gekatalyseerd door het DDPS enzym, "rate limiting" is.

De bacterie volgens conclusie 3 en het DNA volgens conclusie 1 van EP'710 onderscheiden zich nu in zoverre van het bekende, ingebrachte (niet gemuteerde) wild-type *dapA* gen volgens Dauce-Le Reverend, dat het DNA van de bacterie volgens conclusie 3 en het DNA volgens conclusie 1 van het octrooi een mutatie heeft, gekozen uit de groep bestaande uit een mutatie ter vervanging van een 81e alaninerest door een valinerest, een mutatie ter vervanging van een 118e histidinerest door een tyrosinerest, en een mutatie ter vervanging van de 81e alaninerest door de valinerest en ter vervanging van de 118e histidinerest door de tyrosinerest, zoals gerekend vanaf de N-terminus in een aminozuursequentie van DDPS zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.3 van de sequence listing.

In deze specifieke mutanten schuilt dan ook de nieuwheid van de conclusies van EP'710. Overigens betwisten GBT c.s. de nieuwheid van het octrooi niet.

8.5 Deze specifieke mutanten van het DNA (*dapA* gen) volgens EP'710 worden niet alleen niet genoemd in Dauce-Le Reverend (en overigens ook in geen enkel ter sprake gekomen document), doch worden daarin ook niet gesuggereerd; van een "pointer" daartoe is in Dauce-Le Reverend geen sprake.

Integendeel, ondanks het feit dat de auteurs van Dauce-Le Reverend de twee wegen kenden om overproducerende stammen te verkrijgen (zie p. 227, linkerkolom, onder "Introduction"), (i) het verhogen van de activiteit van een in de biosynthese betrokken enzym en/of (ii) het ingrijpen in de synthese, bijvoorbeeld door een dergelijk enzym ongevoelig te maken voor feedback inhibitie (vgl. memorie van grieven, onder 159), wordt in Dauce-Le Reverend niet voor weg (ii) gekozen, maar wordt bewust de geheel andere weg (i) ingeslagen, namelijk het verhogen van het kopiegetal van het (niet gemuteerde) *dapA* gen coderende voor DDPS, waarbij de opbrengst aan lysine kan worden verhoogd ondanks de gevoeligheid van DDPS voor lysine (zie FR'032, p.1, regel 27- p.2, regel 2; p.7, regel 1-5 en Dauce-Le Reverend, p. 228, rechterkolom, laatste alinea).

Dauce-Le Reverend geeft ook aan (p. 230, rechterkolom), waarom weg (i) is ingeslagen en niet weg (ii): "The fact that an increase in DHDP-synthetase activity leads to an overproduction of lysine questions the in vivo efficiency of the inhibition of this activity by lysine. We have already discussed this point (...) as no desensitized mutant could be isolated in the *dapA* gene till now."

Reeds voor 1982 waren er namelijk al pogingen gedaan om door middel van AEC-selectie ongevoelig voor lysine gemaakte DDPS-mutanten van *E.coli* te verkrijgen, zoals blijkt uit het artikel "The modification of amino acid composition of higher plants by mutation and selection" van R.D. Brock et al. in "Nuclear Techniques for Seed Protein Improvement Proceedings of FAO/IAEA Meeting Vienna, (1973) 329-338 (productie 54 GBT c.s.), en het daarop voortbouwende artikel "Overproducing of Lysine by Mutant Strains of *Escherichia coli* with Defective Lysine Transport Systems" van D.M. Halsall in *Biochemical Genetics*, Vol. 13, Nos.112 (1975) 109-124, doch deze pogingen waren op niets uitgelopen (vgl. de verklaring van Prof. Dr. R. Krämer van 5 april 2007, onder 12-18, productie 56 Ajinomoto c.s.).

Met andere woorden: Dauce-Le Reverend heeft zich op grond van deze literatuur laten afschrikken om weg (ii), te weten het vinden van gedesensiteerde DDPS mutanten, in te slaan, hoewel ook Dauce-Le Reverend het oog had op industriële lysineproductie. Bovendien meent Dauce-Le Reverend dat met de door haar gevolgde weg (i) van het verhogen van het kopiegetal van het *dapA* gen, een zodanig verhoogde lysine opbrengst wordt verkregen, dat de DDPS lysine feedback inhibitie nauwelijks bezwaarlijk is.

8.6 GBT c.s. betogen (zie pleitnota in hoger beroep, onder 163) dat aanwijzingen voor het toepassen van gemuteerd *dapA* ook gelegen kunnen zijn in andere documenten dan het uitgangsdokument; zo is in Hermann (1972) zulk een aanwijzing te vinden (pleitnota in hoger beroep, onder 167-168).

Hermann steunt volgens GBT c.s. de gemiddelde vakman (hierna ook te noemen: de vakman) in zijn gedachte dat DDPS-mutanten voor extra lysineproductie zorgen en dat AKIII/DDPS dubbelmutanten voor een nog beter resultaat zorgen, hetgeen "Hermann" aantoont in een species van een *Pseudomonas*-bacterie die nauw verwant is aan *E.coli*. Op grond hiervan zal de vakman volgens GBT c.s. de wetenschap uit (i) FR'032 (Dauce-Le Reverend) dat een *E.coli* AKIII mutant voor een verbeterde lysine productie zorgt en het DDPS enzym beperkend is en (ii) Hermann dat AKIII/DDPS dubbelmutanten in *Pseudomonas* tot een verhoogde lysineproductie kunnen leiden, combineren en dus dubbelmutanten in *E.coli* zoeken.

Aldus verklaart ook de door GBT c.s. aangezochte deskundige Prof. Wegrzyn (zie zijn verklaring, p. 4, 17, productie 106 GBT c.s.): "I am of the opinion that the skilled person would find an incentive in FR'032, but also in Dauce-Le Reverend, to search for mutants with improved lysine

production by searching for desensitised DDPS mutants in E.coli, in particular in an E.coli strain, already desensitised for AKIII.”

Niet alleen wordt de gemiddelde vakman (hierna ook: de vakman) aangespoord om dergelijke dubbelmutanten te zoeken, maar volgens Prof. Wegrzyn (verklaring, 28) is de vakman ook in staat om deze op eenvoudige wijze te verkrijgen: “As indicated above, I am of the opinion that the skilled person has a strong incentive to search for desensitized DDPS mutants in E.coli. As I will outline here below, the knowledge and routine of the skilled person would be sufficient to identify and isolate such mutants.”

In de discussie weergegeven in zijn verklaring onder 39-41 geeft Prof. Wegrzyn aan, dat op grond van het bekende uit een artikel van Thèze et al. (1974), J. Bacteriol. 117:133-143, “it is obvious that employing a mutant with a defect in the AKIII feedback regulation or a strain deficient in dapA function as a host in in vivo mutagenesis experiments, and using high AEC levels, it may be possible to isolate mutants defective in DDPS feedback regulation. Such a high AEC amount would be sufficient for the less sensitive DDPS to be inhibited, and to allow selection of desensitized DDPS mutants.”

This view is also supported by Hermann (...). It is therefore readily understandable from Hermann (...) that desensitized DDPS mutants can be found and selected for with a relatively high amount of AEC in bacteria, wherein aspartokinase is not sensitive to feedback inhibition by lysine. So it is easy to put this teaching into practice in an E.coli wherein the aspartokinase function is not sensitive to feedback inhibition.”

Ook constateert Prof. Wegrzyn: “E.coli mutants desensitized for aspartokinase were available (TOC R 21) from Dauce-Le Reverend (...) (zie ook noot 6: 6For E.coli it is not even necessary to start with a desensitized AKIII mutant, as it was known that E.coli can survive without AKIII function (Thèze).”

Het hof merkt hierbij op dat de auteurs van Dauce-Le Reverend vanzelfsprekend op de hoogte zijn geweest van voor hun onderzoek relevante documenten op het onderhavige vakgebied die zijn geopenbaard vóór de publicatie van hun artikel in 1982, zoals de publicatie van Hermann uit 1972 en de publicatie van J. Thèze in 1974. Bovendien beschikten zij over de E.coli stam TOC R 21.

Met andere woorden, de auteurs van Dauce-Le Reverend hadden de beschikking over alle kennis en over het “gereedschap” (TOC R 21) om volgens Prof. Wegrzyn op voor de hand liggende wijze in vivo mutagenese experimenten uit te voeren met gebruik van een hoge hoeveelheid AEC, waarmee mogelijk voor lysine ongevoelige DDPS mutanten zijn te identificeren (vgl. ook pleitnota in hoger beroep GBT c.s., onder 175). Toch zijn zij die (op grond van Brock en Halsall (zie hierboven onder 8.5) kennelijk doodlopende) weg niet ingeslagen, maar hebben gekozen voor een geheel andere, namelijk het verhogen van het kopiegetal van het (niet gemuteerde) dapA gen coderende voor DDPS.

Derhalve bestond voor de onderzoekers van de groep Dauce-Le Reverend geen “incentive” om weg (i) van het zoeken en vinden van dubbelmutanten, te bewandelen. Dat zal voor de “gemiddelde vakman” welke gelijk kan worden gesteld met een groep wetenschappelijke onderzoekers zoals die van Dauce-Le Reverend, in 1982 niet anders zijn geweest.

8.7 Wel de goede weg ingeslagen, bij het vinden van dergelijke DDPS mutanten door middel van AEC-selectie, is Ajinomoto, gezien de opmerking van Prof. Wegrzyn (zie zijn verklaring onder 41 (eind)): “The range of AEC, used by Hermann, was also used in the experiments of Ajinomoto (table 1 of '710 patent).”

Ajinomoto is erin geslaagd E.coli DDPS-mutanten te vinden die ongevoelig zijn voor feedback inhibitie, overigens door middel van mutagenese en AEC-selectie die wezenlijk afwijken (vgl. Example 1 van EP'710) van de tot dan toe gebruikelijke methoden (door GBT c.s. aangeduid met “conventionele” of “ouderwetse” mutagenese technieken (pleitnota in hoger beroep, onder 118)), zoals die werden toegepast door Hermann (p.101-102 onder “Obtention of Mutants”).

9.1 Het is echter denkbaar dat tussen de publicatiedatum van Dauce-Le Reverend (1982) en de voorangsdatum van het octrooi (8 december 1993) documenten zijn gepubliceerd die de gemiddelde vakman aanleiding gaven om, bijvoorbeeld met meer recente recombinant DNA technieken, de weg van het vinden van dergelijk DDPS-mutanten in te slaan.

9.2 GBT c.s. beroepen zich in dat kader op de algemene vakkennis en noemen een groot aantal publicaties (pleitnota in hoger beroep, onder 102, 104, 107), waaronder het artikel “Lysine” van O. Tosaka en K. Takinami in Progress in Industrial Microbiology (Biotechnology of amino acid production), (1986) Vol. 24, Hoofdstuk 14, p. 152-172 (productie 37 Ajinomoto c.s.) en het artikel “Biosynthesis of threonine, Lysine and Methionine.” van G.N. Cohen en I. Saint-Girons, in ‘Escherichia Coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology’ (1987) 429-444, in het bijzonder p. 434.

9.3 In de verklaring van Prof. Wegrzyn (onder 15) is in verband met “Tosaka” te lezen: “In chapter 14.2.2 of the above cited text book (Tosaka, page 164), devoted to lysine production in bacteria, isolation of mutants resistant to the feedback inhibition is considered crucial or “key” in order to obtain a highly efficient system for biotechnological synthesis of lysine. Since this chapter comes from a textbook concerning industrial amino acid production, which a skilled person should be familiar with, such a statement of the ‘key’ step in lysine production must be seriously considered. The skilled person therefore has a very strong incentive to find desensitized mutants of DDPS.” In verband met “Cohen” merkt Prof. Wegrzyn op (zijn

verklaring, onder 32): "First of all, the above cited text book of Cohen describes on page 434, in the chapter 'Dihydropicolinate synthase' that mutants with desensitized dihydropicolinate synthase have not been found (Cohen verwijst daarbij naar Dauce-Le Reverend, hof), despite the use of strong selective agents (such as AEC). However, using such conditions, AKIII mutants were found (Cohen, page 432, right column, lines 31-42)."

Deze handboeken beschrijven naar het oordeel van het hof in de genoemde passages nog eens beknopt de algemene kennis die de vakman reeds ter beschikking stond ten tijde van de publicatie van Dauce-Le Reverend. Nieuwe inzichten zijn naar het oordeel van het hof in deze passages niet geopenbaard.

9.4 Verder is volgens GBT c.s. de nucleotide sequentie van het E.coli dapA gen bekend geworden, zoals blijkt uit het artikel van "Chromosomal Location and Nucleotide Sequence of the Escherichia coli Dap A Gene" van F. Richaud et al. in Journal of Bacteriology, Apr. 1986, p.297-300. (vgl. ook het octrooi EP '710, p.13, regels 9-11).

Wat deze publicatie uit 1986 betreft hebben GBT c.s. opgemerkt (pleitnota in hoger beroep, onder 165): De vakman weet voorts, dat hij dat (het muteren van het wild type dapA gen op het plasmide van Dauce-Le Reverend, hof) door "conventionele" mutagenese niet voor elkaar krijgt. Echter, nu hij de beschikking heeft over de sequentiegegevens van het dapA gen, zal hij gebruik maken van de recombinant technieken. Hij zal eenvoudig gericht dap A mutanten maken en deze met de bekende selectiemethoden (AEC) selecteren op dap A mutanten met de gewenste eigenschap. Dit bevestigen Prof.Wegrzyn (productie 106, onder 28-50) en Prof. Brammar (productie 119, onder 7)".

9.5 Deze stelling van GBT c.s. valt naar het oordeel van het hof niet te rijmen met de hierboven reeds vermelde publicatie van Oh uit 1991 (welke publicatie volgens GBT c.s. ook als uitgangspunt zou kunnen worden gekozen).

Immers, Oh kende ongetwijfeld de handboeken van Tosaka (1986), Cohen (1987) en Old en Primrose 1989, alsmede het belangrijke artikel van Richaud (1986). Ondanks deze kennis kiest Oh toch niet voor deze, volgens GBT c.s. voor de hand liggende bekende recombinante technieken om E.coli dapA mutanten (die coderen voor lysine ongevoelig E.coli DDPS) te maken en met AEC te selecteren.

Oh mijdt deze weg, zoals blijkt uit de verklaring van Prof. Wegrzyn (18-21): "Oh (...) investigated the effect of introduction of a DDPS enzym from the bacterium Corynebacterium that was not sensitive to feedback inhibition in E.coli. Both E.coli containing wild type AKIII, i.e. sensitive to feedback inhibition by lysine (strains TF13 and TF23) and desensitized AKIII mutants (strain TF1) were used as host cells in this investigation. The introduction of the dapA gene from Corynebacterium glutamicum on a plasmid (pDHDP5912) into Escherichia coli results in significantly increased levels of lysine production in both wild type and in the mutants. (...) (table 3 on page 731 shows that the lysine content in the medium increase from 0.1 to 1.0 g/l with TF13 as a host, and to 1.3 g/l with TF23 as a host). Such an AKIII mutation further increased the production of lysine about 4 times (table 3, from 3.0 g/l to 12.2 g/l with TF1 as a host (vgl. hierboven 4.4: EP'710, 12,23 g/l). (...)."

Oh past naar het oordeel van het hof in feite de techniek van Dauce-Le Reverend toe, zijnde het verhogen van het kopiegetal van het dapA gen: Dauce-Le Reverend verkrijgt een lysine overproducerende stam van E.coli-bacteri?n (TOC R 21), met in de cellen gemuteerd DNA dat codeert voor AKIII dat voor remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is, welke stam TOC R 21 is getransformeerd met een plasmide met het (wild-type) E.coli dapA-gen coderend voor (lysine gevoelig) dihydrodipicolinaat synthase (DHDP=DDPS) tot TOC 21 R/ pDA1, terwijl Oh een lysine overproducerende stam van E.coli-bacteri?n (TF1) verkrijgt met in de cellen gemuteerd DNA dat codeert voor AKIII dat voor remming door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is, welke stam TF1 is getransformeerd met een plasmide met het (wild-type) Corynebacterium glutamicum dapA-gen coderend voor (lysine ongevoelig) dihydrodipicolinaat synthase (DHDP=DDPS) tot TF1/ pDHDP5812.

Met andere woorden, de bacterie volgens conclusie 3 en het DNA volgens conclusie 1 van EP'710 onderscheiden zich nu in zoverre van het ingebrachte (niet gemuteerde) wild-type Corynebacterium glutamicum dapA gen volgens Oh, dat het DNA van de bacterie volgens conclusie 3 en het DNA volgens conclusie 1 van het octrooi het E.coli dapA gen omvat, dat een mutatie heeft, gekozen uit de groep bestaande uit een mutatie ter vervanging van een 81e alaninerest door een valinerest, een mutatie ter vervanging van een 118e histidinerest door een tyrosinerest, en een mutatie ter vervanging van de 81e alaninerest door de valinerest en ter vervanging van de 118e histidinerest door de tyrosinerest, zoals gerekend vanaf de N-terminus in een aminozuursequentie van DDPS zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.3 van de sequence listing.

Ten aanzien van deze nieuwe maatregelen stelt Prof. Wegrzyn in zijn verklaring onder 16 en 21: "For a skilled person these results (van Oh, hof) render it obvious that E.coli dapA mutants unable to respond to the presence of lysine by inhibition of DDPS is highly desirable. From a biotechnological point of view, it is obvious that for any large-scale production, the use of a bacterium which is easily cultivated and well known biochemically and genetically (E.coli) provides a huge advantage over an organism less extensively investigated (Corynebacterium). (...) Even small increase in the efficiency of this process will have huge economical effects if large-scale production is considered, which is the case in lysine production."

Daar komt volgens Prof. Wegrzyn nog bij (zie zijn verklaring onder 22-23): "(...) for a skilled person, it should be obvious that for production of lysine, the use of an E.coli mutant is more desirable than the use of an E.coli strain bearing a plasmid with a C.glutamicum gene, or the use of C.glutamicum as a host." (zie ook pleitnota in hoger beroep van GBT c.s., onder 119-121).

9.6 Dat al deze hiervoor besproken kennis, waaronder het artikel van Oh, de gemiddelde vakman bij het vinden van de in EP'710 voorgestelde oplossing niet verder heeft gebracht, blijkt ook uit het artikel "Characterization of a Lysine-Insensitive Form of Dihydropicolinate Synthase from Maize" van C. Bittel et al. in Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants (1992) 322-323 (productie 10 GBT c.s.).

De publicatie van Bittel (1992) betreft (zie de verklaring van Prof. Wegrzyn, onder 36) een voorbeeld van "(...) using in vivo mutagenesis and subsequent AEC selection (...) to isolate desensitized DDPS mutants, originating from maize, in E.coli. The DDPS gene from maize was cloned in a plasmid and introduced in E.coli that was deficient for its own DDPS gene. These bacteria were subjected to a whole cell mutagenesis treatment, and subsequently, desired mutants were selected using 10 mM AEC. By this approach, indeed E.coli mutants were found encoding desensitized maize DDPS."

Bittel is er naar het oordeel van het hof echter op gericht om in maisplanten de feedback inhibitie van DDPS te omzeilen en gebruikt de E.coli als middel om dit doel te bereiken. Bittel wijst zelf al op de verschillende kinetische gedragingen van enzymen uit bacteriële cultures en plantencellen. Bittel geeft de vakman na alle voorgaande literatuur dan ook geen aanwijzing dat het E.coli DDPS indien op dezelfde wijze behandeld zal resulteren in feedback inhibitie.

9.7 Nu in alle boven besproken documenten, tot zelfs vlak voor de prioriteitsdatum, geen "pointer" is te vinden dat met succes (homoloog) gemuteerd E.coli dapA dat codeert voor lysine ongevoelig DDPS kan worden verkregen, bestond er, naar het oordeel van het hof, ook vanaf de publicatie van Dauce-Le Reverend in 1982 nog steeds een "vooroordeel" tegen het bewandelen van deze weg.

Het is de verdienste geweest van Ajinomoto om toch voor die weg te kiezen. Ajinomoto is daarin geslaagd gezien de materie van conclusie 1. Conclusie 1 van het octrooi voldoet daarom ook aan het vereiste van inventiviteit, te meer omdat met de publicatie op 25 september 1993 van EP'710 een industriële fermentatiewerkwijze met E.coli-bacteriën (met gemuteerd DNA in de zin van het octrooi) ter bereiding van L-lysine in de praktijk mogelijk werd met alle technische voordelen vandiën, terwijl dit tot dan toe slechts mogelijk was met Corynebacterium, hetgeen niet door GBT c.s. is betwist (zie pleitaantekeningen in hoger beroep Ajinomoto c.s., onder 86-89 en memorie van grieven, onder 13).

Bovendien merkt het hof op dat de door Ajinomoto toegepaste mutagenese- en selectietechniek volgens voorbeeld 1 van EP'710 uit de stand der techniek niet bekend is (zie memorie van antwoord, onder 64). Bovendien hebben GBT c.s. niet aannemelijk gemaakt dat deze techniek slechts routinematig handelen betreft. Integendeel, uit de verklaring van Prof. Wegrzyn onder "Experimental approach" blijkt - waar deze ingaat op de bekende mutagenese- en selectietechnieken en daaruit, met kennis van de uitvinding, achteraf het niet inventieve karakter van de door Ajinomoto gebruikte werkwijze afleidt - dat zeer veel mutagenese technieken bestonden (zie bijv. onder 30) waarvoor een groot aantal literatuurplaatsen geanalyseerd en gecombineerd worden (onder 42) en waarbij de vakman voor een groot aantal keuzen wordt geplaatst, waarbij mogelijk de gewenste mutanten kunnen worden verkregen (vgl. bijv. de verklaring van Prof. Wegrzyn, onder 38: "(...) may result"; onder 40: "(...) it may be possible"; onder 43: "(...) a skilled person should be able to plan obvious experiments" en "it would be obvious"; onder 46: "will most likely contain" en de reactie daarop van Prof. Krämer (productie 81 Ajinomoto c.s., p.7): "He can, however, not know this without having done the experiment").

Zelfs als Ajinomoto c.s. de door Prof. Wegrzyn in zijn verklaring uitgewerkte theoretische gedachtegang zouden hebben gevolgd, dan blijkt daaruit dat de, in voorbeeld 1 van het octrooi gegeven werkwijze om de specifieke mutanten volgens conclusie 1 te maken, het resultaat is van deugdelijk systematisch of stelselmatig speurwerk en niet van routinematig onderzoek. Ook dit draagt bij aan de inventiviteit van het octrooi.

Toegevoegde materie

10.1 GBT c.s. hebben voorts gesteld (memorie van grieven, onder 129-138), dat EP'710 nietig is wegens toegevoegde materie (artikel 75, lid 1 sub c, ROW 1995 jo. artikel 138, lid 1 sub c, EOv): "Conclusies 3 en 7 bevatten dergelijke ontoelaatbare toegevoegde materie."

10.2 Conclusie 3 is volgens GBT c.s. gericht op een bacterie, die naast DNA dat voor gemuteerd DDPS codeert, ook DNA bevat dat codeert voor AKIII, "originating from a bacterium belonging to the genus Escherichia in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized". GBT c.s. stellen daartoe het volgende.

Conclusie 3 komt overeen met conclusie 6 van de oorspronkelijke PCT-aanvraag WO 95/016042 (productie 34 Ajinomoto c.s.). De overeenkomstige zinsnede hierin luidt:

"originating from a bacterium belonging to the genus Escherichia having a mutation to desensitize feedback inhibition by L-lysine." (onderstreping van advocaten GBT c.s.).

De ongevoeligheid voor feedback inhibitie wordt in de oorspronkelijke aanvraag dus alleen beschreven op basis van mutatie in het AKIII, terwijl het octrooi zoals verleend is uitgebreid tot

elke vorm om tot de ongevoeligheid te komen. Zo wordt, volgens GBT c.s., nu ook de mogelijkheid gedekt om AKIII - uit een andere Escherichia soort dan E.coli - die van nature, dus zonder mutatie, ongevoelig is voor het feedback mechanisme toe te passen, terwijl de oorspronkelijke aanvrage een mutatie vereist. Hiervoor is geen basis in de oorspronkelijke aanvrage.

10.3 Naar het oordeel van het hof is ook wat conclusie 3 van het octrooi betreft geen sprake van toegevoegde materie, op grond van het volgende.

In de oorspronkelijke octrooiaanvrage waren veertien conclusies opgenomen.

De oorspronkelijke conclusie 1 met daarin opgenomen de oorspronkelijke conclusie 2, vormt thans conclusie 1 van het octrooi.

De oorspronkelijke conclusie 3, luidde:

"3. A bacterium belonging to the genus Escherichia transformed by introducing, into its cells, a DNA coding for a dihydrodipicolinate synthase originating from a bacterium belonging to the genus Escherichia having (a) mutation to desensitize feedback inhibition by L-lysine".

De oorspronkelijke conclusie 4 luidde:

"4. A bacterium belonging to the genus Escherichia according to claim 3, wherein the mutation to desensitize feedback inhibition of L-lysine is selected from the group consisting of [a] mutation to replace a 81st alanine residue with a valine residue, [a] mutation to replace a 118th histidine residue with a tyrosine residue, and [a] mutation to replace the 81st alanine residue with the valine residue and replace the 118th histidine residue with the tyrosine residue, as counted from the N-terminal in an amino acid sequence of dihydrodipicolinate synthase defined in SEQ ID NO:4 in Sequence Listing".

De oorspronkelijke conclusie 5 luidde:

"5. A bacterium belonging to the genus Escherichia according to claim 3, further harboring an aspartokinase in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized."

Deze conclusie 5 omvat dus ook "A bacterium belonging to the genus Escherichia according to claim 3, further harboring aspartokinase III (als species van "an aspartokinase", hof) in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized."

Indien men de oorspronkelijke conclusie 5, in deze beperkte vorm, opneemt in de oorspronkelijke conclusie 3 dan komt de oorspronkelijke conclusie 3 als volgt te luiden:

"3. A bacterium belonging to the genus Escherichia transformed by introducing, into its cells, a DNA coding for a dihydrodipicolinate synthase originating from a bacterium belonging to the genus Escherichia having (a) mutation to desensitize feedback inhibition by L-lysine, further harboring aspartokinase III in which feedback inhibition by L-lysine is desensitized." Indien men in deze gewijzigde oorspronkelijke conclusie 3 nog de oorspronkelijke conclusie 4 opneemt, dan komt de materie van deze conclusie, zonder uitbreiding, geheel overeen met de materie van conclusie 3 van het octrooi.

10.4 Conclusie 7 is, volgens GBT c.s. (memorie van grieven, onder 135-138), gericht op een bacterie die, naast verhoogde DDPS werking, eveneens verhoogde werking voor het enzym diaminopimelaatdehydrogenase heeft. De basis voor deze conclusie is de oorspronkelijke conclusie 10, waarin uitdrukkelijk staat vermeld dat het moet gaan om het enzym diaminopimelaatdehydrogenase uit Coryneforme bacteriën. De oorspronkelijke beschrijving bevestigt dit (zie p. 34, regel 10 - p. 35, regel 5 van productie 34, in het bijzonder p. 34, regel 16-17, waarin duidelijk naar Coryneforme bacteriën wordt verwezen). Door deze beperking weg te laten in de verleende conclusies heeft er ontoelaatbare uitbreiding van materie plaatsgevonden, aldus GBT c.s.

10.5 Het hof overweegt het volgende.

De oorspronkelijke conclusie 10 luidde als volgt:

"10. A bacterium belonging to the genus Escherichia according to claim 8, wherein an enhanced diaminopimelate dehydrogenase gene originating from coryneform bacterium is introduced."

GBT c.s. menen dat de basis van conclusie 7 de oorspronkelijke conclusie 10 is.

Naar het oordeel van het hof is het juist de basis van conclusie 7 in de (ruime) oorspronkelijke conclusie 3 (zie hierboven onder 10.3) te zien: immers de oorspronkelijke conclusie 10 verwijst (via de oorspronkelijke conclusies 8 en 5) naar deze oorspronkelijke conclusie 3. Deze conclusie 3 beschermt vanzelfsprekend ook

"A bacterium belonging to the genus Escherichia transformed by introducing, into its cells, a DNA coding for a dihydrodipicolinate synthase originating from a bacterium belonging to the genus Escherichia having (a) mutation to desensitize feedback inhibition by L-lysine", wherein an enhanced diaminopimelate dehydrogenase gene originating, van welke bacterie ook, doch bij voorkeur van Coryneforme bacteriën (toevoeging, hof).

Met de huidige conclusies 7 en 8 is dit tot uitdrukking gebracht, waarbij Ajinomoto c.s. binnen de materie van de ruime oorspronkelijke conclusie 3 zijn gebleven. Van uitbreiding is dus geen sprake.

Bovendien hebben Ajinomoto c.s. aangevoerd dat de oorspronkelijke aanvraag op p.10, regel 6-24 en p. 34, regel 14-25 een uitgebreide discussie van deze ruime uitvoeringsvorm van de uitvinding bevat. Naar het oordeel van het hof is dit juist; het is voor de gemiddelde vakman op grond van zijn normale vakkenis dan ook direct duidelijk dat ook DDH van *Escherichia* zal voldoen. Derhalve is ook in het geval van conclusie 7 geen sprake van toegevoegde materie.

Inbreuk op EP 0.733.710

11.1 Ingevolge artikel 69 lid 1 van het Europees Octrooiverdrag (en het daarbij behorende Protocol inzake de uitleg) wordt de beschermingsomvang bepaald door de conclusies, waarbij de beschrijving en de tekeningen tot uitleg dienen.

Het Protocol inzake de uitleg van Artikel 69 EOV - dat "is intended to provide guidance how Art. 69 should be applied with respect to determining the scope of protection of the granted European patent" luidt thans als volgt:

"Art. 1 General principles

Art. 69 should not be interpreted as meaning that the extent of the protection conferred by a European patent is to be understood as that defined by the strict, literal meaning of the wording used in the claims, the description and drawings being employed only for the purpose of resolving an ambiguity found in the claims. Nor should it be taken to mean that the claims serve only as a guideline and that the actual protection conferred may extend to what, from a consideration of the description and drawings by a person skilled in the art, the patent proprietor has contemplated. On the contrary, it is to be interpreted as defining a position between these extremes which combines a fair protection for the patent proprietor with a reasonable degree of legal certainty for third parties.

Art. 2 Equivalents

For the purpose of determining the extent of protection conferred by a European patent, due account shall be taken of any element which is equivalent to an element specified in the claims."

Artikel 69 EOV en het bijbehorende Protocol zijn naar uit de toelichting blijkt bij de Akte van herziening van het Europees Octrooiverdrag inhoudelijk niet gewijzigd.

11.2 Conclusie 1 van EP '710 (in de Nederlandse vertaling) is gericht op een voortbrengsel ("stof") en kan in de volgende elementen (kenmerken) worden opgesplitst:

i. DNA

ii. afkomstig uit een bacterie behorende tot het genus *Escherichia*

iii. coderend voor een dihydrodipicolinaatsynthase

iv. met een mutatie gekozen uit de groep bestaande uit

iv a. een mutatie ter vervanging van een 81e alaninerest door een valinerest,

iv b. een mutatie ter vervanging van een 118e histidinerest door een tyrosinerest, en

iv c. een mutatie ter vervanging van de 81e alaninerest door de valinerest en ter

vervanging van de 118e histidinerest door de tyrosinerest,

zoals gerekend vanaf de N-terminus in een aminozuursequentie van

dihydrodipicolinaatsynthase zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.3 van de sequence

listing.

Conclusie 4 van EP'710 (in de Nederlandse vertaling) is gericht op een bacterie en kan in de volgende elementen worden opgesplitst:

i. Bacterie behorende tot het genus *Escherichia* volgens conclusie 3,

ii. waarbij remming van het aspartokinase III door L-lysine via terugkoppeling ongevoelig is gemaakt door

iii. een mutatie gekozen uit de groep bestaande uit een mutatie ter vervanging van

iv.a. een 323e glycinerest door een asparaginezuurrest, (...)

iv.b. een 318e methioninerest door een isoleucinerest, (...), zoals gerekend van de N-terminus in een aminozuursequentie van aspartokinase III zoals gedefinieerd in SEQ ID nr.8 in de sequence listing.

11.3 Volgens Ajinomoto c.s. brengen GBT c.s. lysine in de handel die is bereid onder toepassing van *E.coli*-bacteriën met DNA coderend voor een dihydrodipicolinaatsynthase (DDPS) en gemuteerd volgens conclusie 1 van EP'710.

11.4 Ter onderbouwing van hun stelling dat GBT c.s. *E.coli*-bacteriën gebruiken en dus voldaan is aan kenmerk (i) en (ii) van conclusie 1 van EP'710, hebben Ajinomoto c.s. gewezen op een

persverklaring van de Co-Voorzitter van GBT, Xu Zhouwen, van 22 september 2005 (productie 15 Ajinomoto c.s.) waarin wordt aangekondigd dat GBT c.s. in de tweede helft van dit jaar een nieuwe stam van micro-organismen zal toepassen bij haar lysine productieproces.

Eenzelfde boodschap werd gegeven in een rapport van DBS Vickers Securities van 13 april 2005 (productie 16 Ajinomoto c.s.), waarbij wordt vermeld dat met toepassing van deze stam de omzettingratio wordt vergroot, de fermentatietijd wordt beperkt en de fermentatietemperatuur wordt verhoogd van 33 tot 38°C. Deze voordelen kunnen volgens Ajinomoto c.s. (met verwijzing naar "Improvement Escherichia coli Strains Overproducing Lysine Recombinant DNA Techniques", productie 17) alleen behaald worden door het gebruik van een genetisch gemodificeerde E.coli stam. GBT's oude Corynebacterium stam kon niet op deze temperaturen presteren (zie bijvoorbeeld ook de octrooiomschrijving van EP'710, p.1).

GBT c.s. bevestigen dat zij een bacterie toepassen behorende tot het genus Escherichia (conclusie van antwoord in conventie tevens conclusie van eis in reconventie, onder 4 en memorie van grieven, onder 13): "GBT gebruikt fermentatietechnieken om lysine te produceren; daarbij worden micro-organismen gebruikt. GBT heeft in de afgelopen jaren een aantal verschillende micro-organismen gebruikt in haar productieproces. GBT is in de loop van 2005 op het organisme dat zij op dit moment gebruikt, een stam van E.coli, overgestapt."

GBT c.s. hebben dit standpunt genuanceerd (memorie van grieven, onder 13): "GBT maakte voor de productie van lysine aanvankelijk met name gebruik van de Coryne bacterie. Sinds 2005 maakt zij daarnaast gebruik van een stam van de Escherichia bacterie, namelijk Escherichia coli ("E.coli")."

Omtrent deze sinds 2005 gebruikte stam van de Escherichia coli (E.coli)-bacterie hebben GBT c.s. nog verklaard (conclusie van antwoord in conventie tevens conclusie van eis in reconventie, onder 4): "Het huidige micro-organisme is ontwikkeld door de Militaire Logistiek Universiteit van het Chinese Volksbevrijdingsleger."

11.5 GBT c.s. hebben uiteengezet (memorie van antwoord in het incidenteel appel, onder 61 e.v.) hoe zij de door haar gebruikte E.coli stam hebben verkregen onder overleggen van aankoopdocumentatie van deze stam (productie 82a) met Engelse vertaling (productie 82b):

Uit deze aankoopdocumentatie, met de titel "Agreement on the Commission of Research and Development" tussen "Party A: Changchun Dacheng Agricultural Development Ltd. Co. en Party B: China People's Liberation Army Military Supplies University (welke universiteit volgens GBT c.s. sinds 2004 niet meer bestaat) blijkt dat:

"Party A hereby commissions Party B to construct a genetically engineered strain (i.e. the Strain) to be used in the production of lysine and requires that the Strain meet the following criteria:

1. Lysine yield rate of 15 g/dl;
2. transformation rate of 55%; and
3. Fermentation cycle of no more than 60 hours."

Uit de door GBT c.s. verstrekte bijlage E: "Related Documents on Genetic Engineered L-Lysine Producing Bacterial Strain" van de China People's Liberation Army Military Supplies University blijkt vervolgens dat deze universiteit erin geslaagd is de gewenste bacterie-stam te ontwikkelen, waarbij onder meer de volgende bijzonderheden worden gegeven:

"1. Bacterial Strain Overview

The L-Lysine producing bacteria are genetically engineered Escherichia coli, (...). The bacteria (...) are nonpathogenic to humans and animals."

Volgens GBT c.s. verkreeg Dacheng de bacterie vervolgens van Changchun Dacheng Agricultural Development Ltd. Co.

11.6 Op grond van deze door GBT c.s. verstrekte informatie is duidelijk dat bij de lysine productie van GBT c.s. sprake is van de toepassing van twee bacterie-stammen: Coryne- en E.coli- bacteriën. Van toepassing van andere bacterie-stammen is niets gesteld of gebleken.

12.1 Om de aanwezigheid van de inbreuk makende lysine vast te stellen hebben Ajinomoto c.s. een deurwaarder opdracht gegeven de plek te bezoeken (vergezeld van hun advocaat) waar deze lysine opgeslagen was (productie 20 Ajinomoto c.s.). Ajinomoto's advocaat heeft vijf zakken lysine meegenomen met nummers 05101601 en 05101602 ("monster 1016") en 05101701, 05101702 en 05101701 ("monster 1017").

12.2 Volgens Ajinomoto c.s. zijn in de monsters 1016 en 1017 van het L-lysine-product van GBT c.s. zeer kleine hoeveelheden DNA van E.coli-bacteriën aanwezig die dus behoren tot het genus Escherichia.

12.3 Ter ondersteuning van deze stelling hebben Ajinomoto c.s. een aantal technische rapporten overgelegd:

- a. Het "Report on Analysis of samples 1016 en 1017" van de Nederlandse Organisatie voor toegepast wetenschappelijk onderzoek" van juni 2006 (productie 12 Ajinomoto c.s.) met bijbehorende "Blast analysis of the primers used in experiment 1" (productie 13, Ajinomoto c.s.), hierna aangeduid met het "eerste TNO-rapport".
- b. De "Analysis of remaining microbial DNA in the sample 1016" Hitachi Ltd., Life Science Group van juni 2006 (productie 14 Ajinomoto c.s.), hierna het "Hitachi-rapport".
- c. Het TNO- rapport "Analyses of Samples 1016 and 1017" van 22 december 2009 (productie 71 Ajinomoto c.s.), hierna het "tweede TNO-rapport".
- d. Het rapport "Analysis of presence of DNA in Product 1016" van Eurofins Medigenomix van 22

januari 2010 (productie 76 Ajinomoto c.s.), hierna ook het "Eurofins-rapport".

Het eerste TNO-rapport bevat vier experimenten. Het tweede TNO-rapport omvat eveneens vier experimenten, waarvan experiment 3 is onderverdeeld in de experimenten 3A en 3B. De experimenten 1, 2, 3A en 4 van het tweede TNO-rapport komen overeen met de experimenten 1, 2, 3 en 4 van het eerste TNO-rapport, maar bevatten meer details. Experiment 3B is een aanvullende proef.

12.4 Ajinomoto c.s. wijzen op de experimenten 1A en 1B van het "tweede TNO-rapport" (hierna het TNO-rapport). Deze experimenten bouwen voort op de "Blast analysis of the primers used in experiment 1".

Het doel van deze "Blast analysis" wordt daarin als volgt omschreven:

"The aim of this analysis was to determine whether it is possible that a PCR experiment using the primer pair cysG9115S and cysG9230AS and the primer pair yhfZ1060S and yhfZ1160AS would amplify any other DNA than the DNA of E.coli. This blast search was thus performed in order to determine whether the above primer pairs, designed to amplify E.coli DNA, are specific for E.coli DNA only."

Als resultaat van deze analyse wordt geconcludeerd:

"From table 1a it can be concluded that the primer pair cysG9115S and cysG9230AS is expected to give an amplified fragment of 120 base pairs only when DNA is amplified from Escherichia coli (E.coli) or several Shigella species, en

From table 1b it can be concluded that the primer pair yhfZ1060S and yhfZ1160AS is expected to give an amplified fragment of 101 base pairs only when DNA is amplified from Escherichia coli (E.coli)."

12.5 In experiment 1A ("Detection of E.coli DNA (cysG gene) in lysine samples 1016 and 1017") van het TNO-rapport is met het eerste primerpaar cysG9115S and cysG9230AS een eerste serie PCR experimenten uitgevoerd op de monsters 1016 en 1017 en drie controle monsters (zie rapport, p.3/50) met als resultaat (p.7/50):

"From these experiments it can be concluded that the primer combination cysG9115S and cysG9230AS specifically amplifies a 120 bp DNA sequence, i.e. the expected size, derived from E.coli DNA and that this primer combination can be used to distinguish DNA derived from E.coli from DNA derived from Coryne.

From the data obtained it can further be concluded that it is practically certain that the 120 bp PCR products obtained from samples 1016 and 1017 (reactions 7 in figs.1 and 2) represent the amplification of either E.coli- or Shigella- DNA fragments present in these respective samples.

The absence of a 120 bp signal in reaction 15 (no sample, no control DNA) shows that there is no false positive reaction in the experiment. The absence of a 120 bp signal in reaction 16 (only Coryne DNA) shows that the chosen primers do not amplify a sequence from Coryne bacterium."

In experiment 1B ("Detection of E.coli DNA (yhfZ gene) in lysine samples 1016 and 1017") van het TNO-rapport is met het tweede primerpaar yhfZ1060S and yhfZ1160AS een tweede serie PCR experimenten uitgevoerd onder meer op de monsters 1016 en 1017 met het volgende resultaat:

"From these experiments it can be concluded that the primer combination yhfZ1060S and yhfZ1160AS specifically amplifies a 101 bp DNA sequence derived from E.coli DNA and that this primer combination can be used to distinguish DNA derived from E.coli from DNA derived from Coryne.

From the data obtained it can further be concluded that it is practically certain that the 101 bp PCR products obtained from samples 1016 and 1017 represent the amplification of E.coli DNA fragments present in these respective samples.

The absence of a 101 bp signal in reaction 15 (no sample, no control DNA) shows that there is no false positive reaction in the experiment. The absence of a 101 bp signal in reaction 16 (only Coryne DNA) shows that the chosen primers do not amplify a sequence from Corynebacterium."

12.6 Op grond van deze experimenten, in onderling verband gezien, is het hof van oordeel dat in de monsters 1016 en 1017 geen DNA afkomstig van Corynebacteriën aanwezig is.

Omdat het tweede primerpaar yhfZ1060S en yhfZ1160AS specifiek is voor E.coli (vgl. tabel 1b van de Blast analysis, productie 13 Ajinomoto c.s.), is er dus in de monsters 1016 en 1017 DNA aanwezig dat afkomstig is van E.coli bacteriën. Daaraan doet niet af dat tabel 1a laat zien dat er ook DNA aanwezig kan zijn dat afkomstig is van Shigella bacteriën.

Conclusie 1 sluit de aanwezigheid van DNA afkomstig van Shigella bacteriën naast de aanwezigheid van DNA afkomstig van E.coli bacteriën niet uit.

Zoals overwogen, is in de monsters DNA aanwezig dat ten minste afkomstig is van E.coli bacteriën (bacteriën van het genus Escherichia).

Derhalve voldoet het in de monsters 1016 en 1017 aangetroffen DNA aan de kenmerken (i) en (ii) van conclusie 1 van EP '710.

12.7 Voorts is door TNO experiment 2 ("Lysine samples 1016 en 1017 contain DNA coding for DDPS (dapA) and AKIII (lysC) having the point mutations as defined in EP 0 733 710") uitgevoerd om vast te stellen of in het, in de monsters 1016 en 1017 aangetroffen DNA het E.coli dapA gen aanwezig is dat codeert voor DDPS, en of het dapA gen gemuteerd is

overeenkomstig conclusie 1 van EP '710. Bovendien zijn in dit experiment 2 proeven uitgevoerd om vast te stellen of in het uit deze monsters afkomstige DNA ook E.coli lysC gen aanwezig is dat codeert voor aspartokinase (AKIII), en of het lysC gen is gemuteerd overeenkomstig conclusie 4 van EP '710.

TNO komt dan tot de volgende conclusies:

"The nucleotide sequences of the amplified DNA product for dapA were compared with the DNA sequence as represented as SEQ ID no. 3 of patent EP 0733 710 B1.

The sequences of the products from Amplification Reaction 1 show that both samples 1016 and 1017 contain DNA derived from the dapA gene of E.coli. However, in the detected dap A gene, cytosine (C) at DNA sequence position 623 (see page 34 -35 of patent EP 0 733 710 B1) is replaced by thymidine (T).

As a consequence, the dihydrodipicolinate synthase encoded by this gene has a mutation in the derived acid sequence, including replacement of a histidine (His) residue by a tyrosine (Tyr) residue at position 118 of SEQ ID no. 3 of EP 0 733 710 B1.

The lysC sequences of the products from Amplification Reactions 2 and 3 show that both samples 1016 and 1017 contain DNA derived from the lysC gene of E.coli. In these sequences, however, 2 point mutations can be observed. When compared with the DNA sequences as presented as SEQ ID no.7 of patent EP 0733 710 B1 (page 38-40) two mutations can be seen at position 1537 and 1551 where both guanines (G) are replaced by two adenines (A).

As a result of these mutations, the aspartokinase III encoded by the gene has also two mutations in the amino acid sequence. At position 318 of SEQ ID no.8 of EP 0 733 710 B1, methionine (Met) is replaced by an isoleucine (Ile) residue, while at position 323 of SEQ ID no.8 the glycine (Gly) residue is replaced by aspartic acid (Asp).

These modifications in the DNA and the derived amino acid sequences are identical as those described in claims 1 and 4 of patent EP 0 730 710 B1 (page 46)."

12.8 Op grond van de resultaten van experiment 2 van TNO voldoet, naar het oordeel van het hof, het DNA dat in de monsters 1016 en 1017 is aangetroffen, ook aan de in conclusie 1 vermelde kenmerken (iii) en (iv.b) van het octrooi. Bovendien is voldaan aan de hiervoor weergegeven kenmerken i, ii, iii, iv.a en iv.b. van conclusie 4 van het octrooi.

12.9 De resultaten van het TNO-rapport worden bevestigd in het Hitachi-rapport, "Analysis of remaining microbial DNA in the sample 1016".

Experiment 1 daarvan betreft de detectie en bepaling van een complete DNA sequentie, "dapA_1016" genoemd, die vergeleken werd met genomische DNA sequenties die het gen omvatten dat codeert voor het dapA van E.coliK12 (Genbank accession no. U00096). Dan blijkt (p. 7 rapport) dat "The determined sequence proved to be identical to the E.coliK12 dapA gene (Genbank accession no. U00096), except for a single mutation, C352T. This leads to the substitution of a CAT (Histidine) codon for a TAT (Tyrosine) codon at amino acid position 118."

Het Eurofins-rapport heeft het volgende onderzoek uitgevoerd:

"(...) we have analysed "Product 1016" for the presence of DNA and compared this DNA with

(i) the DNA from the Ajinomoto Strain (chromosomal DNA and plasmid DNA) and

(ii) a report written by Masako Wagatsuma, Ph.D. Manager, Biotechnology Hitachi, Ltd., Life Science Group (...) entitled "Analysis of remaining microbial DNA in the sample 1016", dated June 2006 (following called "Hitachi report")."

Eurofins komt dan tot de volgende resultaten (5. Interpretation of data):

"From the results from the PCR experiments, we concluded that in the "Product 1016" genomic DNA from E.coli chromosomal DNA and Plasmid DNA was present.

All sequences from DNA extracted from "Product 1016" and from DNA send to us from Ajinomoto Co., Inc. were compared to sequences in the Hitachi- Report.

From all PCR products from Plasmid DNA we retrieved identical sequences from DNA extracted from "Product 1016" and from DNA send to us from Ajinomoto Co., Inc. These sequences are identical with sequences shown in the Hitachi report."

Het Eurofins-rapport bevestigt de resultaten van het Hitachi-rapport en (indirect) die van het TNO-rapport.

13.1 GBT c.s. betogen (conclusie van antwoord, onder 72), dat de door TNO in experiment 2 (van haar rapporten) gebruikte primerparen dA-rl en dA-f1, dA-r2 en dA-f2 alsmede lyC-r3 en lyC-r4 niet alleen specifiek zijn voor E.coli, maar ook voor diverse Shigella soorten. Dit houdt volgens GBT c.s. in dat niet is uit te sluiten dat de bron van het onderzochte DNA een bacterie van het geslacht Shigella is.

13.2 Ajinomoto c.s. hebben opgemerkt dat een verwijzing naar de experimenten 2 en 3 zinledig is omdat experiment 1b van de TNO-rapporten al bevestigt dat de door GBT c.s. geproduceerde lysine E.coli DNA bevat. Dit is naar het oordeel van het hof juist: in experiment 1b is het primerpaar yhfZ1060S en yhfZ1160AS dat slechts specifiek is voor E.coli, zoals blijkt uit de, niet door GBT c.s. betwiste Blast analysis (productie 13 Ajinomoto): "From table 1b it can be concluded that the primer pair yhfZ1060S and yhfZ1160AS is expected to give an amplified fragment of 101 base pairs only (vet, hof) when DNA is amplified from Escherichia coli (E.coli)."

Derhalve is in de monsters 1016 en 1017 DNA aanwezig dat afkomstig is van E.coli bacteriën. Bovendien is het hoogst onaannemelijk gezien in de context van de eigen uitlatingen van GBT c.s. dat Shigella-bacteriën zijn gebruikt.

Ten slotte ontbreekt van de zijde van GBT c.s. elk technisch tegenbewijs (rapport) dat de door hen toegepaste bacterie stam uitsluitend een Shigella-stam is, zoals terecht door Ajinomoto c.s. is opgemerkt.

De conclusie van dit alles moet dan ook zijn, dat de door GBT c.s. toegepaste bacteriestam uitsluitend een E.coli stam is.

13.3 Voorts hebben GBT c.s. nog naar voren gebracht (memorie van grieven, onder 247-248 en productie 77) dat de door TNO toegepaste primers die zijn gebruikt bij het bepalen van het gemuteerde dapA-gen gecontamineerd kunnen zijn geraakt door contact met producten of onderzoekspersonen van Ajinomoto c.s.

Ook dit verweer gaat naar het oordeel van het hof niet op. Ajinomoto c.s. hebben uiteengezet (memorie van antwoord tevens incidenteel appel, onder 159 e.v.) dat zij de primers slechts hebben ontworpen ("designed") en deze informatie aan TNO hebben doen toekomen. TNO heeft daarop een derde, onafhankelijke partij, het bedrijf Isogen Life Science, ingeschakeld voor de bereiding van de primers, welk bedrijf de bereide primers vervolgens aan TNO heeft geleverd (zie productie 68). Derhalve is het hoogst onaannemelijk dat vervuiling door toedoen van Ajinomoto c.s. is opgetreden.

Bovendien hebben Ajinomoto c.s. de test nogmaals laten overdoen (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 207) door Eurofins (productie 76 Ajinomoto c.s.). Uit het rapport blijkt dat monster 1016 separaat en zonder bemoeienis van Ajinomoto c.s. door TNO aan Eurofins is verzonden (zie ook de brief van TNO aan Eurofins). Van contaminatie door Ajinomoto c.s. kan dan ook geen sprake zijn.

14. Op grond van al dit experimentele materiaal maken GBT c.s. naar het oordeel van het hof met de monsters 1016 en 1017 als rechtstreeks verkregen product van een werkwijze volgens conclusie 12 inbreuk op de conclusies 1-4, 11 en 12.

Nietigheid EP 0.733.712

15.1 Het octrooi EP 0.733.712 B1 is volgens GBT nietig wegens gebrek aan inventiviteit (artikel.75, lid 1, sub a ROW 1995 jo. artikel 6 EOV).

15.2. Conclusie 1 (zoals thans beperkt, zie hiervoor onder 6.5) kan (in beknopte vorm) worden opgedeeld in de volgende kenmerken:

1. Werkwijze voor de productie van een L-aminozuur,
 - 1.1 waarvan de biosynthese gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidfosfaat (hof: hierna: NADPH) vereist,
 2. door een micro-organisme,
 - 2.1 dat zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om NADPH te produceren uit gereduceerd nicotinamideadenendinucleotide (hierna: NADH) is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme,
 - 2.2 waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor NADPH is verhoogd,
 3. omvattende het kweken van een microorganisme in een kweekmedium,
 - 3.1 om het aminozuur te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren, en
 4. het verzamelen van het L-aminozuur uit het kweekmedium.

15.3 In de onderhavige zaak is door partijen een groot aantal verklaringen van partijdeskundigen overgelegd.

GBT c.s. hebben een beroep gedaan op vier verklaringen:

- een (eerste) verklaring van Prof. J. Rydström betreffende EP'712 in de verleende vorm (productie 41, GBT c.s.),
- een verklaring van Prof. A.H. Stouthamer (productie 71, GBT c.s.),
- een (tweede) verklaring van Prof. J. Rydström betreffende EP'712 in de nu verdedigde vorm (productie 87, GBT c.s.),
- een (eerste) verklaring van Prof. W.J. Brammar (productie 103, GBT c.s.), en
- een (tweede) verklaring van Prof. W.J. Brammar (productie 104, GBT c.s.).

Ajinomoto heeft een beroep gedaan op twee verklaringen:

- een verklaring van Prof. M.H.Bott (productie 58, Ajinomoto c.s.), en
- een verklaring van Prof. R. Krämer (productie 84, Ajinomoto c.s.).

15.4 GBT c.s. betogen dat het artikel "Coregulation of Oxidized Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Phosphate) Transhydrogenase and Glutamate Dehydrogenase Activities in Enteric Bacteria During Nitrogen Limitation" van A. Liang et al. in Journal of Bacteriology, June 1981, p.

997-1002 (productie 17 GBT c.s.) de meest nabij gelegen stand der techniek is.

Het valt al direct op dat Liang een wetenschappelijke publicatie betreft die zich niet bezig houdt met een werkwijze in de zin van het octrooi, namelijk een

“ Werkwijze voor de productie van een L-aminozuur, waarvan de biosynthese NADPH vereist, door een micro-organisme, omvattende het kweken van een microorganisme in een kweekmedium, om het aminozuur te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren, en

het verzamelen van het L-aminozuur uit het kweekmedium” of kort gezegd (industriële) productie van een L-aminozuur door middel van fermentatie (zie het octrooi onder meer alinea [0002]).

Integendeel, uit Liang blijkt (p. 998, onder ‘Materials and methods’) dat cellen van microorganismen worden gekweekt en verzameld, waarna de cellen worden afgebroken en opgewerkt. Na centrifuge wordt een lichte fractie (‘supernatant’) met de enzymen glutamaat dehydrogenase, glutamine synthetase en isocitraat dehydrogenase en een “membraanfractie” met de enzymen NAD(P)+ transhydrogenase en NADH-Fe(CN)₆ 3- reductase verkregen, aan welke fracties met behulp van enzym assays metingen worden verricht ter bepaling van de activiteiten van de genoemde enzymen. Derhalve is van (industriële) productie van L-aminozuren door fermentatie en het accumuleren en verzamelen van L-aminozuren uit het kweekmedium geen sprake.

15.5. Ajinomoto c.s. hebben opgemerkt dat GBT c.s. (met kennis van het octrooi) naar documenten hebben gezocht die zoveel mogelijk kenmerken van de conclusies bevatten, maar zich niet de voorvraag hebben gesteld die hoort bij het zoeken naar prior art (vgl. Case Law of the Boards of Appeal, 2010, p.164) :

“In selecting the closest prior art, the first consideration is that it must be directed to the same purpose or effect as the invention. Otherwise, it cannot lead the skilled person in an obvious way to the claimed invention.”

15.6 Juister is dan ook uit te gaan van een document dat, evenals conclusie 1 van EP’712, ook betrekking heeft op een industriële fermentatiewerkwijze voor de productie van een L-aminozuur (in het bijzonder L-lysine). Zulk een document is bijvoorbeeld het door beide partijen aangehaalde handboek “Progress in industrial microbiology” edited by K. Aida et al. (1986), Vol.24: “Biotechnology of amino acid production”, p.233-246 (productie 90, GBT c.s.en productie 39 Ajinomoto c.s.), waarin op de pagina, getiteld “Microbial Synthetic Pathway of Amino Acid”, de ‘pathways’ zijn getoond van de circa 20 verschillende aminozuren die door microorganismen uit de uitgangsstof glucose kunnen worden gevormd, met als belangrijke voorbeelden valine, tryptofaan, glutamaat en lysine (vgl. pleitnota in hoger beroep GBT c.s., onder 35), welk handboek ook door het Bundespatentgericht in de overeenkomstige nietigheidszaak in de Bondsrepubliek Duitsland als uitgangspunt is genomen (vgl. de uitspraak van 21 juli 2009, p. 9-10).

Dit handboek geeft een overzicht van de kennis die de gemiddelde vakman (zie voor een definitie daarvan de tweede verklaring van Prof. Rydström, onder 3) ten tijde van de voorrangdatum van het octrooi op het betreffende vakgebied bezat.

15.7 Uit dit handboek is, naar het oordeel van het hof bekend een:

1. Werkwijze voor de productie van een L-aminozuur (in het bijzonder L-lysine),
 - 1.1 waarvan de biosynthese NADPH vereist,
 2. door een micro-organisme,
 3. omvattende het kweken van een microorganisme in een kweekmedium,
 - 3.1 om het L-aminozuur te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren, en
 4. het verzamelen van het L-aminozuur uit het kweekmedium.

De werkwijze volgens de (beperkte) conclusie 1 onderscheidt zich nu in zoverre van dit bekende, dat

“2.1 het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om NADPH te produceren uit NADH is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme,

2.2 waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor NADPH is verhoogd.”

Conclusie 1 is dus nieuw. Overigens wordt de nieuwigheid van EP’712 ook niet meer door GBT c.s. bestreden.

15.8 Het in productie 39 aangegeven L-lysine ‘pathway’ is in meer detail getoond op de bladzijde met de titel “L-Lysine biosynthesis requires 4 mol of NADPH to produce 1 mol of L-lysine” die is gehecht aan de tweede verklaring van Prof. Rydström. Uit dit gedetailleerde ‘pathway’ blijkt dat uitgaande van aspartaat er elf enzymen betrokken zijn bij de chemische omzettingen tot lysine, terwijl voor de vorming van aspartaat, zoals ook te zien is in productie 39, nog een ander ‘pathway’ nodig is eveneens met vele enzymatische omzettingen (vgl.

pleitaantekeningen in hoger beroep Ajinomoto c.s., onder 74).

De vakman, die zich als doel heeft gesteld (zie EP'712, alinea [0010]) om de productiviteit van L-aminozuren door middel van fermentatie te verbeteren, staan, zoals Ajinomoto c.s. terecht hebben opgemerkt: "allerlei mogelijkheden (ter beschikking) om aanpassingen in het 'pathway' aan te brengen. Er zijn dus ook allerlei keuzen die een vakman (...) kan maken."

Als voorbeelden hebben Ajinomoto c.s. naar voren gebracht (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 75-83):

"Om lysine over te produceren is het nodig om in te grijpen in ofwel de pathway van aspartaat (teneinde meer aspartaat te verkrijgen), ofwel de pathway van lysine.

De manier waarop verschillende enzymen hun bijdragen leveren verschilt aanzienlijk. Sommige enzymen, zoals DDPS waarop EP'710 betrekking heeft, zijn gevoelig voor feedback inhibition. (...) Om het enzym excessief te laten produceren, moet het worden aangepast zodanig dat het doorgaat met produceren maar niet gevoelig is voor feedback inhibitie.

Andere enzymen, zoals (...) lysinedecarboxylase (EP'912), breekt eindproducten af. Als je meer van het eindproduct (bv. lysine) wilt hebben, dan moet de activiteit van het enzym worden uitgeschakeld.

De vakman kan verder ook nog enzymen toevoegen door het gen dat codeert voor die enzymen tot overexpressie te brengen." Bovendien stellen Ajinomoto c.s.:

"Het is cruciaal om een specifiek punt in het biosynthetische pathway te vinden die rate-limiting is. De vakman moet de snelheidsbepalende stap of stappen identificeren. (...)

Het heeft dus geen zin om een enzymatische activiteit te veranderen als het volgende enzym in de pathway niet meer kan doen dan het al doet."

15.9 Zoals hierboven bij de bespreking van de nietigheid van EP'710 duidelijk is geworden, heeft men in de stand der techniek zich reeds bezig gehouden met enige van de elf enzymen die elk direct betrokken zijn bij een reactiestap in het 'pathway' van L-lysine; zo heeft men aspartokinase III genetisch gemodificeerd om feedback inhibitie te voorkomen. Ook heeft men door overexpressie van het *dapA* gen het kopiegetal van DDPS vergroot (zie voor dit alles bijvoorbeeld Dauce-Le Reverend hierboven in de bespreking van EP'710). Hieruit volgt dat in de stand der techniek de vakman zich heeft geconcentreerd op die enzymen langs de 'pathway' in *E.coli* die rechtstreeks bij de reactiestappen in de 'pathway' betrokken zijn, omdat hij daarvan kennelijk direct een beduidend hogere productie aan aminozuur verwacht.

15.10 Echter, de uitvinders van het onderhavige octrooi EP'712 hebben zich niet bezig gehouden met het beïnvloeden van de (primaire) enzymen langs de 'pathway' volgens welke aminozuren worden geproduceerd, maar hebben een andere weg gekozen door zich te richten op een 'co-enzym', het als co-factor of co-enzym bekend staande NADPH; een op het voorrangstijdstip opmerkelijke keuze omdat voor de vakman ook nog de mogelijkheid bestond zich eerst te richten op die ('primaire') enzymen welke nog niet waren onderzocht op hun snelheidsbeperkende karakter, zoals de overige enzymen in de lysine 'pathway', dihydrodipicolinaat reductase, succinyldiaminopimelaatamino-transferase, succinyldiaminopimelaatdesuccinylase en diaminopimelaat decarboxylase (zie de 'pathway' getoond op de hiervoor genoemde pagina bij de tweede verklaring van Prof. Rydström). Dat de vakman zelfs na de prioriteitsdatum van het onderhavige octrooi nog daadwerkelijk zijn blik gericht had op deze bedoelde 'overige' primaire enzymen in de lysine 'pathway' in *E.coli*, vindt bevestiging in EP'710 (zie daarin onder meer de alinea's [0166], [0187], [0189], [0202]).

15.11 GBT c.s. hebben bestreden dat in de keuze van het co-enzym NADPH iets verrassends is gelegen:

In de eerste verklaring van Prof. Rydström (productie 71 GBT c.s., onder 13) is vermeld: "(...) it is in my opinion generally accepted by all, including Ajinomoto, that NADPH is essential for the biosynthesis of glutamate / amino acid biosynthesis in *E.coli*.". Zie in dit verband ook de verklaring van Prof. Bott (par.6) namens Ajinomoto: "It is clear that NADPH is necessary for the biosynthesis of amino acids, including lysine. This is indeed shown in many textbooks."

De vraag echter is of de vakman die de industriële productie van L-aminozuren wenst te verbeteren duidelijke aanwijzingen in de stand der techniek aantreft die hem tot het inzicht brengen dat naast de hierboven bedoelde snelheidsbeperkende 'primaire' enzymen in de 'pathway' ook het co-enzym NADPH daarin een snelheidsbeperkende rol speelt en op grond daarvan aandacht verdient.

In zijn eerste verklaring (p.10-11) bespreekt Prof. Rydström een aantal wetenschappelijk publicaties op het gebied van de biosynthese van aminozuren, waaronder

- P.D. Bragg, P.L. Davies en C. Hou, "Function of Energy-Dependent Transhydrogenase in *Escherichia coli*" in *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 47, No.5 (1972) 1248-1255 (productie 14, GBT c.s.);

- R.L. Houghton, R.J. Fisher en R.R. Sanadi, "Control of NAD (P)+ Transhydrogenase Levels in *Escherichia coli*" in *Archives of Biochemistry and Biophysics* 176 (1976) 747-752 (productie 15 GBT c.s.), en

- A. Liang en R.L. Houghton, "Coregulation of Oxidized Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Phosphate) Transhydrogenase and Glutamate Dehydrogenase Activities in Enteric Bacteria during Nitrogen Limitation" in *Journal of Bacteriology* Vol.146, No.3 (1981) 997-1002 (productie 17 GBT c.s.).

Op grond daarvan stelt Prof. Rydström in zeer voorzichtige bewoordingen ("Conclusion", p. 10); "(...) that the rate of generation of NADPH in *E.coli* may be (vet, hof) limiting (...)" Kennelijk is uit genoemde publicaties het snelheidsbeperkende karakter van NADPH niet met zoveel woorden bekend, hetgeen ook de mening is van Prof. Bott (verklaring, onder 12):

"However, the documents he (Prof. Rydström, hof) refers to only describe that NADPH is involved in certain reactions of biosynthesis in bacteria. The fact that a certain step in a bacterium requires NADPH as a coenzyme does not mean that in any of the bacterial growth conditions tested, the level of NADPH in the bacterium was rate-limiting for the overall process."

Met andere woorden: in de documenten die zijn genoemd in de eerste verklaring van Prof. Rydström vindt de vakman geen duidelijke 'pointers' dat het coenzym NADPH 'rate-limiting' is (zie ook de pleitaantekeningen in hoger beroep Ajinomoto c.s., onder 134-138), zodat die documenten hem ook geen aanleiding geven om, in het bijzonder, NADPH in zijn beschouwingen te betrekken als hij de fermentatie van L-lysine wil verbeteren.

Bovendien heeft Prof. Bott in zijn verklaring (onder 21) gewezen op de volgende wetenschappelijke artikelen van recentere datum (producties 58 Ajinomoto c.s.):

- J.J. Vallino et al. "Metabolic Flux Distributions in *Corynebacterium glutamicum* During Growth and Lysine Overproduction" in *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 41 (1993) 633-646;

- K. Sonntag et al. "¹³C NMR studies of the fluxes in the central metabolism of *Corynebacterium glutamicum* during growth and overproduction of amino acids in batch cultures" in *Applied Microbiology Biotechnology*, Vol. 44 (1995) 489-495; en

- A. Marx et al. "Determination of the Fluxes in the Central Metabolism of *Corynebacterium glutamicum* by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Combined with Metabolite Balancing" in *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 49 (1996) 111-129.

Op grond van deze artikelen, die betrekking hebben op *Corynebacterium glutamicum*, "the most widely used bacterial species in industrial amino acid production, in particular lysine and glutamate" ten tijde van de voorrang van EP '712, komt Prof. Bott tot de conclusie "that the cell is able to adapt the flux through the pentose phosphate pathway to the demand of NADPH", welke conclusie door GBT c.s. niet is bestreden, en ook de (tweede) verklaringen van Prof. Rydström en Prof. Brammar gaan hier niet meer op in.

Op grond van deze literatuur ten tijde van en zelfs na de prioriteitsdatum van EP'712 acht het hof het aannemelijk dat de vakman zal menen dat de cel van het micro-organisme zijn NADPH synthese aanpast aan de behoefte die geldt onder de condities van overproductie van het aminozuur, zodat het juist niet voor de hand ligt om te veronderstellen dat NADPH 'rate limiting' is.

Samenvattend, ondanks de "andere kanten opwijzende" literatuur zijn Ajinomoto c.s. wel tot het inzicht gekomen dat het coenzym NADPH, naast de hierboven genoemde 'primaire' enzymen in de 'pathway', 'rate limiting' en derhalve zeer belangrijk is bij de overproductie van L-aminozuur door het micro-organisme.

15.12 Daar komt nog het volgende bij. In de eerste verklaring van Prof. Rydström is vermeld (onder 13): "There is a limited number of NADPH-generating systems in *E. coli*, i.e. glucose-6-phosphate dehydrogenase, gluconate-6-phosphate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase and transhydrogenase (met verwijzing naar het artikel "Pathways of NADPH Formation in *Escherichia Coli*" van L.N. Csonka en D.G. Fraenkel in *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 252, No. 10 (1977) 3382-3391 (productie 42, Ajinomoto c.s.)). It is obvious therefore, that a skilled scientist must have realized that enhancing the activity of one of these enzymes may be beneficial for biosynthesis."

Hieruit volgt dat als de vakman al zou inzien dat NADPH snelheidsbeperkend is en een hoge hoeveelheid NADPH tot aanmaak van meer aminozuur leidt (quod non, zie hiervoor onder 15.11 en de bestrijding van Ajinomoto c.s., pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 146), dan dient zich de volgende keuze aan, namelijk de vakman dient dan een keuze te maken uit de genoemde "NADPH-generating systems" om het gehalte NADPH te vergroten.

Prof. Rydström legt in zijn eerste verklaring, na bespreking van de hierboven genoemde literatuur uit de jaren 1972-1981, al direct een verband met het enzym transhydrogenase, welk enzym de omzetting katalyseert waarbij het van nature in het micro-organisme aanwezige NADH wordt omgezet in NADPH. Waarom de andere hiervoor aangegeven enzymen die kennelijk ook kunnen voorzien in een verhoogd gehalte aan NADPH bij deze keuze afvallen, wordt in de eerste verklaring van Prof. Rydström niet duidelijk gemaakt.

Dit klemt temeer gezien de opmerking van Prof. Bott (zie zijn verklaring, onder 7 en 8) "As a side remark I note that the pentose phosphate cycle is known to be more important for NADPH generation than transhydrogenase..." en zijn conclusie (zie zijn verklaring onder 21 en hiervoor 15.11) "that the cell is able to adapt the flux through the pentose phosphate pathway to the demand of NADPH", hetgeen voor de vakman een aansporing zal zijn de pentose phosphate cycle, waarbij twaalf NADPH moleculen per gemetaboliseerd glucose molecuul worden verkregen, als 'NADPH-generating system' te stimuleren (pleitaantekeningen Ajinomoto c.s., onder 162-163).

Kortom, de keuze van Ajinomoto c.s. voor het enzym transhydrogenase als 'NADPH-generating system' is bepaald verrassend.

16.1 De vraag rijst of de in de tweede verklaring van Prof. Rydström genoemde aanvullende documenten het hierboven in 15.12 gegeven oordeel kunnen wijzigen. De bedoelde documenten zijn de volgende, meer recent verschenen publicaties:

- het artikel "Isolucine, Valine, and Leucine" van S. Komatsubara en M. Kisumi in het handboek "Biotechnology of amino acid production" edited by K. Aida et al., (1986), Vol. 24: "Progress in industrial microbiology", p. 233-246 (productie 90 GBT c.s.);

- het artikel "¹³C Nuclear magnetic resonance studies of glucose metabolism in L-glutamic acid

and L-lysine fermentation by *Corynebacterium glutamicum*" van S. Ishino et al. in *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37, 157-165 (1991) (productie 88 GBT c.s.);

- het artikel "Deletion of *pgi* Alters Tryptophan Biosynthesis in a Genetically Engineered Strain of *Escherichia coli*" van D. Mascarenhas et al. in *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 57, No.10 (1991) 2995-2999 (productie 91 GBT c.s.), en

- het (overzichts)artikel "Metabolic Capabilities of *Escherichia coli*: Synthesis of Biosynthetic Precursors and Cofactors" van A. Varma et al. in *J. theor. Biol* (1993) 165, 477-502 (productie 97 GBT c.s.).

Alleen al op het eerste gezicht is duidelijk dat geen van deze publicaties de gehele combinatie van maatregelen volgens conclusie 1 van EP'712 openbaart.

16.2 In de tweede verklaring van Prof. Rydström wordt vermeld (zie onder 11) dat (...) "it is obvious to consider co-factors like NADPH as possible targets when aiming at improving the biosynthesis of an amino acid." Ter ondersteuning van deze stelling wordt dan (verklaring, onder 12) het artikel van Komatsubara (1986, p. 244-245) aangehaald, waarin in de aangeduide passage is te lezen: "Generally, acceleration of glutamate formation is likely to increase production of branched chain amino acids. For the above reasons, future strain construction should include genetic modifications of cellular metabolisms of sugar, nitrogen, and energy."

Ajinomoto c.s. hebben opgemerkt (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 155-156) dat Komatsubara slechts een zeer algemene stelling poneert om naar genetische modificatie van de 'pathways' te kijken.

Het hof acht dit juist. Immers, in Komatsubara wordt het coenzym NADPH zelfs niet vermeld, laat staan dat het 'rate-limiting' is. Komatsubara voegt aan de documenten uit de eerste verklaring van Prof. Rydström dan ook niets toe.

16.3 Onder aanhaling van het artikel van Ishino (1991, pag.163, laatste alinea) wijst Prof. Rydström er vervolgens op (tweede verklaring, onder 13): "(...) the co-factor NADPH has been mentioned as a co-factor to consider when optimizing the production of amino acids. (...) Ishino thus proposed NADPH as a target for manipulation in the biosynthesis of an amino acid."

Hierbij plaatsen Ajinomoto c.s. de volgende aantekeningen (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 153-154):

- "(...) voor de productie van lysine betekent dat helemaal niet dat NADPH rate limiting is", en

- "(...) zelfs als zou men de gedachtengang van Prof. Rydström volgen en aannemen dat Ishino aangeeft dat het verhogen van de hoeveelheid NADPH van voordeel kan zijn in een micro-organisme dat wordt gebruikt voor overproductie van aminozuren (...) er niets in Ishino is dat de vakman op het idee zou komen om de hoeveelheid transhydrogenase te verhogen. Transhydrogenase wordt nergens door Ishino genoemd (...)."

16.4 Het artikel van Ishino geeft in de inleiding (p.157-158) een goed overzicht van de stand van zaken betreffende de industriële fermentatie van aminozuren in 1991:

"*C. glutamicum* (*Corynebacterium glutamicum*) has been used industrially to produce amino acids by fermentation processes, after Kinoshita et al.(...) and Udaka(...) discovered that *C. glutamicum* could accumulate L-glutamic acid and L-lysine in culture media. Although numerous research reports and reviews (...) have appeared concerning fermentation processes and the mechanisms of accumulation of amino acids, attention has been paid mainly to genetic regulation and the enzymological properties of enzymes involved in amino acids synthesis, and their application to strain improvement. Our interest in amino acids fermentation relates to how the carbons of starting materials (carbohydrates and organic acids etc.) flow through a variety of metabolic pathways during fermentation. (...) In this study, we compared glutamic acid and lysine fermentation by *C. glutamicum* in respect to the contribution of the Embden -Meyerhof pathway (EMP) and the hexosemonophosphate pathway (HMP) throughout the fermentation."

Op grond van deze studie komt Ishino dan tot de gevolgtrekking:

"Therefore, we assume that the greater contribution of HMP in lysine fermentation than glutamic acid fermentation resulted from greater requirement of NADPH in lysine formation than in glutamic acid formation from glucose. Although further biochemical investigations are needed to confirm our assumption, the viewpoint of NADPH requirement in a variety of amino acids fermentation will be useful in the improvement of producer strains."

Hieruit is naar het oordeel van het hof af te leiden dat, ondanks alle aanwezige kennis uit de (oudere) documenten die in de eerste verklaring van Prof. Rydström zijn genoemd, de vakgroep van Ishino die het oog in het bijzonder gericht heeft op industriële fermentatie van glutamine en lysine, eerst in 1991 een suggestie doet om "ook eens naar NADPH te kijken". Over een snelheidsbeperkend karakter van NADPH wordt niets vermeld, terwijl toch ook Ishino er zeer wel van op de hoogte was dat voor de productie van ieder molecuul lysine (ten minste) vier moleculen NADPH nodig zijn en verbruikt worden (zie Ishino, p.162, Fig.2. "Biosynthesis pathways of glutamic acid and lysine in *C.glutamicum*", en de aan de tweede verklaring van Prof. Rydström gehechte bladzijde "L-lysine biosynthesis requires 4 mol of NADPH to produce 1 mol of L-lysine").

Bovendien legt Ishino ook geen enkel verband tussen een hoger gehalte aan NADPH en het enzym transhydrogenase. Dit enzym wordt in het artikel niet genoemd. Sterker nog, transhydrogenase blijft geheel buiten het blikveld van Ishino (zie p.163, midden): "Three

enzymes are known to generate NADPH in *C. glutamicum* (...), glucose 6-phosphate dehydrogenase in HMP, 6-phosphogluconate dehydrogenase in HMP and isocitrate dehydrogenase in the tricarboxylate (TCA) cycle. Note that no NADPH is formed in EMP. Theoretically, 12 NADPHs are generated per glucose when glucose is exclusively metabolized in HMP, but only 2 NADPHs per glucose in TCA cycle."

16.5 Op grond van Mascarenhas (1991) komt Prof. Rydström in zijn tweede verklaring (onder 21) tot de conclusie; "Thus, prior to the filing date of the EP'712 patent, a skilled person knew that increasing NADPH in micro-organisms overproducing an amino acid can result in an increase of the desired amino acid, which can be collected from the culture medium."

Het valt al direct op dat Prof. Rydström zeer voorzichtig is in zijn conclusie: het hogere gehalte aan NADPH "can result" (vet, hof) in een toename van het gewenste aminozuur (tryptofaan). Ongetwijfeld heeft Prof. Rydström gezien dat Mascarenhas zelf een alternatieve, even plausibele verklaring geeft van de toegenomen productie aan tryptofaan, zoals Ajinomoto naar voren heeft gebracht (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 157-160).

Het artikel van Mascarenhas et al. (1991) betreft een studie van de biosynthese van het aminozuur tryptofaan uit glucose in een sterk 'geoptimaliseerde' *E.coli* stam, met als doel (p. 2995):

"The purpose of the present study was to use such highly engineered strains to determine whether tryptophan synthesis might be further enhanced by diverting the metabolic flow of carbon away from glycolysis and into the hexose monophosphate (HMP) shunt, thus accelerating the generation of NADPH and of key pentose-derived compounds involved in aromatic amino acid biosynthesis. We compare the performance of two strains of *E.coli*, one of which carries a deletion in *pgi*, the gene encoding phosphoglucose isomerase." ("Hexose Monophosphate Shunt (HMP) which is known today as the Pentose Phosphate Pathway (PPP), zie tweede verklaring van Prof. Rydström, onder 19).

In de discussie van het artikel komt Mascarenhas tot de volgende hypothesen (p. 2998);

"The results described above support our prediction that accelerating the flow of carbon through the HMP shunt results in more-efficient conversion of glucose to tryptophan. (...) we offer the following hypotheses for further investigation. (i) Increased flow of carbon through the HMP shunt results in the accelerated generation of NADPH, which serves to drive the biosynthesis of aromatic intermediates and glutamate. (ii) Increased synthesis of pentose phosphates could directly affect the supply of two key intermediates in tryptophan biosynthesis: 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP) and erythrose-4-phosphate."

Het is juist, zoals Ajinomoto c.s. hebben opgemerkt, dat de vakman bij lezing van deze twee hypothesen niet zonder meer tot de conclusie zal komen dat NADPH rate-limiting is in de biosynthese van tryptofaan, of algemener aminozuren, omdat de toegenomen productie van pentose fosfaten ook kan leiden tot de waargenomen verbeterde tryptofaanopbrengst.

Bovendien, ook Mascarenhas rept met geen woord over het enzym transhydrogenase, hoewel ook Mascarenhas vanzelfsprekend op de hoogte is geweest van al die vakkennis uit de (oudere) documenten die in de eerste verklaring van Prof. Rydström zijn genoemd, dus ook dat er in de door hem onderzochte *E.coli*-stam slechts aanwezig zijn "(...) a limited number of NADPH-generating systems (...), i.e. glucose-6-phosphate dehydrogenase, gluconate-6-phosphate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase and transhydrogenase (described in Csonka, 1977)." (vgl. de tweede verklaring van Prof. Rydström, onder 18).

Kennelijk lag het voor Mascarenhas niet voor de hand om te kiezen voor transhydrogenase en de activiteit daarvan te verhogen om een hogere opbrengst aan NADPH en tryptofaan te verkrijgen. Mascarenhas komt niet verder dan de hierboven vermelde hypothesen, waarbij de eerste hypothese steun geeft aan de onder 15.12 vermelde opmerking van Prof. Bott (zie verklaring, onder 7 en 8): "As a side remark I note that the pentose phosphate cycle is known to be more important for NADPH generation than transhydrogenase...", welke wegleidt van het toepassen van transhydrogenase als 'NADPH-generating system'.

16.6 In zijn tweede verklaring, onder 23 geeft Prof. Rydström een uiteenzetting over het enzym transhydrogenase waarin ook wordt gerefereerd aan het overzichtsartikel van 'Varma' (1993): "In *E.coli*, there are two types of transhydrogenase, one soluble and one membrane-bound, of which the latter is subject of the current patent and is a so called proton pump. i.e., it is under normal conditions driven by the electrochemical proton gradient (as an energy source) towards NADPH formation (forward reaction), where the proton gradient stimulates the rate of the reaction in the direction of NADPH formation some 5-to 10-fold (Rydström, 1976; Hoek, 1998). It is theorized that transhydrogenase is required in organisms, such as *E.coli* that overproduce NADH, and it is generally accepted that its physiological role is to supply NADPH (Voordouw, 1983, p. 532); Ingledew and Poole, 1984, p.250; Varma, 1993, p. 502). Thus, in vivo and under normal aerobic conditions the forward direction, i.e. formation of NADPH, is the reaction that this enzyme catalyses."

Wat betreft de verwijzing naar Varma in deze passage, merken Ajinomoto c.s. op dat op de gerefereerde pagina 502 slechts een zeer korte en algemene bespreking van transhydrogenase staat die te herleiden is tot de publicatie van Bragg (1972) (zie hierboven onder 15.11).

Dit wordt juist geacht, de bedoelde passage luidt: "The repression of *E.coli* transhydrogenase activity by mixture of amino acids also suggests that the role of the enzyme in *E.coli* is to produce NADPH for biosynthesis (Bragg et al. 1972)." Zoals hierboven al aan de orde is geweest heeft Bragg (1972) de onderhavige oplossing niet naderbij gebracht, zodat Varma dan ook in dit opzicht niets relevant toevoegt.

16.7. In zijn tweede verklaring, onder 22-25 volgt een uitgebreide uiteenzetting van Prof. Rydström betreffende de in 'Varma' (p. 502) vermelde reacties (vergelijk de overeenkomstige evenwichtsreactie onder 22 in die verklaring):

- $\text{NADPH} + \text{NAD} \rightleftharpoons \text{NADP} + \text{NADH}$ ('reverse reaction')
- $\text{NADP} + \text{NADH} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{NADPH} + \text{NAD}$ ('forward reaction').

Prof. Rydström komt daarbij tot de volgende conclusies:

- " In vivo, under normal aerobic and energy conditions, a skilled person would consider the presence of all four natural substrates (NADH, NADP+, NAD+ and NADPH) and that microorganisms like E.coli are NADH rich and NADPH poor (Voordouw et al. 1983, at p.532). Under such conditions the forward reaction is much faster than the reverse reaction, causing a net NADPH generation. (...) Thus, in vivo in E.coli transhydrogenase was expected to catalyze the production of NADPH from NADH", en

- "Thus, the studies of Lee & Ernster (1968) and Bragg et al.(1972) show that the energy consumption by the NADPH producing (forward) transhydrogenase reaction is marginal."

Kennelijk dient deze uitvoerige uiteenzetting ertoe aan te tonen dat de in het octrooi vermelde tweede hypothese van de uitvinders " that intravital components which cannot be effectively utilized during production of a target substance (L-aminozuur, hof) are inevitably accumulated in a production process of the target substance using a micro-organism, which are metabolized through the TCA cycle, resulting in increase in NADH concentration in the cell." , op voor de hand liggende wijze uit de genoemde stand der techniek is af te leiden.

Echter, zoals hiervoor reeds is aangegeven, blijkt de vakman die zich bezig houdt met aminozuurfermentatie in de meer recente literatuur nog niet verder te zijn gekomen dan tot het inzicht dat het aanbeveling verdient de rol van NADPH nader te onderzoeken. Hierbij staat niet alleen het 'rate limiting' karakter van dit coenzym nog niet vast, maar zelfs de keuze van het enzym transhydrogenase als NADPH 'generating system' is nog steeds volledig buiten beeld gebleven. De vakman zal eerst tot deze keuze moeten komen voor het doorgronden van de stand der techniek, zoals Prof. Rydström doet, voordat hij op vanzelfsprekende wijze tot de tweede hypothese kan komen.

Daarom ligt evenmin een combinatie van Ishino met Liang of een combinatie van Mascarenhas met Liang voor de hand; noch in Ishino, noch in Mascarenhas is immers een 'pointer' naar transhydrogenase te vinden.

16.8 Op grond van deze analyse van de documenten genoemd in de tweede verklaring van Prof. Rydström wordt geoordeeld dat ook uit deze recente documenten niet valt af te leiden dat de vakman zonder twijfel het enzym transhydrogenase als 'NADPH-generating system' zal kiezen ter verkrijging van een verhoogde aminozuurbrengst met een overproducerend micro-organisme.

Integendeel, Ajinomoto c.s. hebben terecht opgemerkt: "Het enkele feit dat de betrokkenheid van NADPH in een complex proces als de productie van een aminozuur, waarbij vele verschillende andere componenten betrokken zijn, in de literatuur wordt vermoed neemt nog niet de inventiviteit weg. (...) NADPH is slechts één van de vele factoren die een rol spelen in de productie van aminozuren. Er was geen enkele, laat staan redelijke, verwachting van succes bij het bereiken van een verhoogde productie van aminozuren door het verhogen van de aanmaak van NADPH door het verhogen van het expressieniveau van transhydrogenase.

Zelfs al zou de vakman het verhogen van het niveau van NADPH in het microorganisme overwegen, dan nog moet hij vele keuzes maken om zijn doel te bereiken. Er bestaan in het micro-organisme verschillende wegen die naar de productie van NADPH leiden. Bij slechts één daarvan speelt transhydrogenase een rol, en die is nog van ondergeschikt belang. Daarnaast heeft verhoging van het NADPH-niveau met behulp van transhydrogenase het bijkomende voordeel dat koolstofbronnen worden gespaard en zodoende beschikbaar blijven voor de productie van aminozuren."

Daarmee staat inderdaad de inventiviteit van conclusie 1 (zie hierboven onder 6.4) en de daarvan afhankelijke conclusies 2-5 van het octrooi vast.

16.9 Aan het onder 16.6 gegeven oordeel van inventiviteit doet het artikel van D.M.Clarke en P.D. Bragg. "Cloning and Expression of the Transhydrogenase Gene of Escherichia coli" in Journal of Bacteriology, Vol. 162, No.1 (1985) 367-373 (productie 16 GBT c.s. en tweede verklaring van Prof. Rydström onder 26) niet af.

Volgens GBT c.s. (pleitnota in hoger beroep, onder 87-93) openbaren Clarke & Bragg een "micro-organisme dat gelijk is aan het micro-organisme volgens conclusie 1, 3 en 5" dus, naar het hof begrijpt, een micro-organisme dat voldoet aan de kenmerken 2.1 en 2.2 van conclusie 1, zoals hierboven in 15.7 is weergegeven:

"2.1 het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om NADPH te produceren uit NADH is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme,

2.2 waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor NADPH is verhoogd.", welk micro-organisme

"behoort tot het geslacht Escherichia" (conclusie 3) en "waarbij het vermogen van het micro-organisme om NADPH te produceren uit NADH is verhoogd door het verhogen van het aantal

kopie van het gen dat codeert voor nicotinamideadeninenucleotide transhydrogenase in de cel van het micro-organisme" (conclusie 5).

Hierbij hebben GBT c.s. betoogd: "Hoewel de conclusies volgens EP'712 mogelijk nieuw zijn ten opzichte van Clarke, missen de conclusies t.o.v. deze publicatie in elk geval uitvinderswerkzaamheid."

Het artikel van Clarke & Bragg heeft betrekking op een onderzoek "To identify the polypeptide structure of the E.coli transhydrogenase (...)"(p.367, laatste alinea). In Clarke & Bragg komt nergens, kort gezegd, het produceren en verzamelen van een L-aminozuur aan de orde (zie ook hierna); er is dan ook geen sprake van een werkwijze in de zin van het octrooi.

Hierboven is uiteengezet dat de (verrassende) keuze van transhydrogenase als NADPH 'generating system' bij de fermentatie van L-aminozuur inventief is, omdat de stand der techniek daartussen geen enkele 'link' suggereert. Dit houdt in dat de vakman het artikel van Clarke & Bragg dat gaat over (de identificatie van de polypeptidestructuur van) transhydrogenase al dadelijk terzijde zal leggen, ook al zou daar een micro-organisme zijn geopenbaard dat (achteraf gezien) geschikt kan worden toegepast bij de werkwijze volgens conclusie 1 van EP'712.

Clarke & Bragg kan (voor die werkwijze) ten hoogste een "toevallige anticipatie" zijn.

GBT heeft gewezen op met name de samenvatting van het artikel, waarin onder meer is te lezen: "Based on the rationale that Escherichia coli cells harboring plasmids containing the pnt gene would contain elevated levels of enzyme, we have isolated three clones bearing the transhydrogenase gene. (...) Plasmid pDC21 conferred on its host (stam JM83, hof) 70-fold overproduction of transhydrogenase", exacter gezegd "Plasmid pDC21 conferred a 70-fold amplification of transhydrogenase activity in the membranes of JM83" (zie p. 369, rechterkolom, onderaan), waarbij de transhydrogenase activiteit wordt gemeten met een in vitro assay die wordt vermeld op p. 368, rechts, 2e alinea.

Prof. Rydström geeft hierbij de volgende uitleg (tweede verklaring onder 26): "The in vitro assay used by Clarke & Bragg measures the reverse reaction" (zie hiervoor onder 16.5). Op grond van zijn vakkennis zou volgens prof. Rydström de vakman begrijpen dat "in vivo as explained above, the membrane-bound transhydrogenase would be catalyzing the forward reaction, i.e. NADPH formation", en zou (Clarke & Bragg, 1985) aldus de vakman leren "that E.coli overexpressing the transhydrogenase inherently generates NADPH for use in the synthesis of NADPH requiring biosynthesis, including amino acid biosynthesis, like in the current patent."

In Clarke & Bragg is dus de "forward reaction" niet gemeten en evenmin derhalve de noodzakelijkerwijs daarmee verbonden toename aan NADPH en aminozuur.

Het gaat te ver om dit alles in Clarke & Bragg "mee te lezen" om zo (impliciet) gebrek aan nieuwheid van de geoctrooieerde werkwijze volgens EP'712 te construeren. Ishino (1991), Mascarenhas (1991) en Varma (1993) zijn in ieder geval, zelfs tot kort voor de prioriteitsdatum van het octrooi, niet tot de uitleg gekomen die Prof. Rydström aan Clarke & Bragg (1985) geeft, hoewel aannemelijk is dat ook deze wetenschappers over de bedoelde algemene vakkennis beschikten; terecht hebben Ajinomoto c.s. opgemerkt (pleitaantekeningen, onder 176) dat "(...) GBT (...) alleen met een grote dosis hindsight en door verschillende publicaties en beweerdelijke algemene vakkennis te mozaïeken uit kan komen op een redenering die een vakman ertoe zou moeten brengen om aan te nemen dat transhydrogenase een snelheidsbepalende rol speelt in de biosynthese van aminozuren en dat het voor de hand ligt om de activiteit van dat enzym te verhogen."

16.10 De conclusie is dat conclusie 1 en de daarvan afhankelijke volconclusies 2-5 inventief zijn.

17. Het hof gaat ervan uit dat in hoger beroep "toegevoegde materie" als nietigheidsgrond van EP '712 niet meer aan de orde is.

Inbreuk op EP 0.733.712

18.1 De gewijzigde conclusies van EP '712 (in de Nederlandse vertaling, zie hiervoor onder 6.5.) zijn gericht op een werkwijze en voorkeursuitvoeringsvormen daarvan:

"1. Werkwijze voor de productie van een doelstof door een microorganisme, omvattende de volgende stappen:

- het kweken van een microorganisme in een kweekmedium om de doelstof te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren; en
- het verzamelen van de doelstof uit het kweekmedium, waarbij het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninenucleotidfosfaat te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninenucleotide is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninenucleotidtranshydrogenase in de cel van het micro-organisme, waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor gereduceerd nicotinamideadeninenucleotidfosfaat is verhoogd, en waarbij de doelstof een L-aminozuur is waarvan de biosynthese gereduceerd nicotinamideadeninenucleotidfosfaat vereist.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het L-aminozuur wordt gekozen uit de groep bestaande uit L-treonine, L-lysine, L-glutaminezuur, L-leucine, L-isoleucine, L-valine, and L-

fenylalanine.

3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het micro-organisme een micro-organisme is dat behoort tot het geslacht *Escherichia*.

4. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het micro-organisme een coryneform bacterie is.

5. Werkwijze volgens één van de conclusies 1 tot 4, waarbij het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidefosfaat te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotide is verhoogd door het verhogen van het aantal kopieën van het gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme."

18.2 Uit de aankoopdocumentatie (hiervoor vermeld in 11.4) volgt dat GBT c.s. een werkwijze (toepast) voor de productie van een doelstof door een microorganisme, omvattende de volgende stappen:

- het kweken van een micro-organisme in een kweekmedium om de doelstof te laten produceren en in het kweekmedium te laten accumuleren; en
- het verzamelen van de doelstof uit het kweekmedium (vgl. conclusie 1),

waarbij het micro-organisme een micro-organisme is dat behoort tot het geslacht *Escherichia* (vgl. conclusie 3) en waarbij

de doelstof een L-aminozuur is, zijnde l-lysine (vgl. conclusie 2), waarvan de biosynthese gereduceerd nicotinamidadeninedinucleotidefosfaat (NADPH) vereist.

GBT c.s. betwisten dit ook niet, behoudens dat het microorganisme behoort tot het geslacht *Escherichia*. Echter, zoals hiervoor is uiteengezet met betrekking tot de inbreuk op EP' 710, is naar het oordeel van het hof aan dit kenmerk voldaan.

18.3 Partijen verschillen voorts van mening over de vraag of het product van GBT c.s. voldoet aan de kenmerken van conclusie 1 van EP'712 inhoudende dat daarbij het micro-organisme zo is gemodificeerd dat het vermogen van het micro-organisme om gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidefosfaat (NADPH) te produceren uit gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotide (NADH) is verhoogd door het verhogen van de mate van expressie van een gen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme, waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor gereduceerd nicotinamideadeninedinucleotidefosfaat is verhoogd.

18.4 In het (tweede) TNO-rapport zijn twee experimenten uitgevoerd, getiteld:

- "Experiment 3A: Lysine samples 1016 and 1017 contain plasmid DNA that is identical to the plasmid DNA in the proprietary Ajinomoto E.coli strain." en
- "Experiment 3B: The plasmid DNA in the samples 1016 and 1017 comprises pntAB coding sequence."

In de inleiding van experiment 3A is vermeld dat Ajinomoto aan TNO de Ajinomoto E.coli stam heeft verschaft en daarbij aan TNO heeft meegedeeld dat deze stam (tenminste) twee plasmiden bevat, plasmide 1 en plasmide 2, en dat de aanwezigheid van deze plasmiden tot een hogere lysine productie leidt. Van belang bij experiment 3 is plasmide 2 dat de genen omvat die coderen voor de twee subunits van nicotinamidenucleotide transhydrogenase, pntA en pntB, ook wel aangeduid als pntAB.

TNO komt dan op grond van experiment 3A tot de volgende conclusie:

"From these results it can be concluded that both samples 1016 and 1017 contain DNA which has sequences adjacent to each other which were artificially combined in the construction of plasmid 2 (proprietary to Ajinomoto). The fact that these adjacent sequences are unique to plasmid 2 is confirmed by the absence (of) a corresponding signal for control E.coli DNA.

Moreover, it should be emphasized that the amplicon size of the PCR products obtained from 1016 and 1017 is identical to that obtained from control Ajinomoto strain DNA. Thus, not only are the same sequences as in plasmid 2 adjacent to each other, but in addition the binding sites for the primers are spaced apart by the same number of nucleotides. The spacing of the primer binding sites is dependent on the details of constructing the plasmid.

Furthermore, as this sequence is not occurring in control E.coli DNA, it is practically certain that the two samples 1016 and 1017 contain Plasmid 2.

In addition. Experiment 3A shows that 1016 and 1017, like the Ajinomoto strain, comprise both the chromosomal and the plasmid sequences, whereas the E.coli control strain only comprises the chromosomal sequences."

Experiment 3B maakt een nadere vergelijking tussen de aanwezigheid van natuurlijk voorkomend chromosomaal DNA met de mogelijke aanwezigheid van plasmide DNA.

Experiment 3B leidt TNO tot de volgende conclusie:

"The results from experiment 3B show that both lysine samples 1016 and 1017 do contain chromosomal DNA from E.coli, representing at least parts of the pntAB gene.

Further it has been shown that these samples do contain additional DNA which is also representing a part of the E.coli pntAB gene, but which is not present in its natural chromosomal environment.

Instead, this coding region is most likely present in artificially so-called plasmid DNA.

Therefore it is practically certain that the E.coli that produced the examined lysine has been genetically modified by the insertion of plasmid(s) containing DNA representing the pnt AB gene from E.coli coding for transhydrogenase."

18.5. De in experiment 3 uitgevoerde deelexperimenten 3A en 3B laten, naar het oordeel van het hof, zien dat de monsters 1016 en 1017, DNA van de op basis van de Ajinomotostam verwachte grootte bevatten. Dit betekent dat in beide monsters sporen van een E.coli stam zijn aangetroffen die evenals de Ajinomotostam de wild type pntA en pntB genen voor transhydrogenase in het chromosomaal DNA bevatten alsmede aanvullende kopieën van deze transhydrogenase genen op één of meerdere plasmiden. De aanwezigheid van aanvullende kopieën van de pnt A en pnt B transhydrogenase genen in de E.coli stam betekent dat de tot expressie gebrachte hoeveelheid van het gen wordt vergroot en derhalve de transhydrogenase activiteit in de cellen wordt verhoogd. De toename van transhydrogenase activiteit leidt tot een toename van het vermogen van het microorganisme om NADH om te zetten in NADPH.

Met andere woorden ook is voldaan aan het kenmerk in conclusie 1 van EP'712, dat de door GBT toegepaste "E.coli-stam zo is gemodificeerd dat het vermogen van het E.coli om NADPH te produceren uit NADH is verhoogd door het verhogen van het aantal kopieën van het pntABgen dat codeert voor nicotinamideadeninedinucleotidetranshydrogenase in de cel van het micro-organisme", waardoor de productiviteit van het micro-organisme voor NADH is verhoogd (ten opzichte van het wildtype E.coli DNA (control E.coli DNA) waarin alleen chromosomaal pntAB aanwezig is).

Dit betekent dat beide monsters 1016 en 1017 als rechtstreeks verkregen lysine-product van de werkwijze volgens conclusie 1 onder conclusie 1 van EP'712 vallen. Bovendien wordt voldaan aan de kenmerken van de conclusies 2, 3 en 5.

19.1 GBT c.s. hebben nog aangevoerd (memorie van grieven, onder 251-252) dat Ajinomoto c.s. ervoor hebben gekozen de activiteit van transhydrogenase op te nemen als technische beperking in het EP'712-octrooi. Dit heeft simpelweg tot gevolg dat slechts inbreuk wordt gemaakt, indien Ajinomoto c.s. aantonen dat er een verhoogde transhydrogenase activiteit is die leidt tot een verhoogde NADPH productie. Dit hebben Ajinomoto c.s. niet gedaan. Immers, het enkele feit dat meer kopieën van (het gen dat codeert voor) transhydrogenase zijn geïdentificeerd, is volgens GBT c.s. niet voldoende bewijs dat meer NADPH wordt geproduceerd (een element van de claims), aangezien transhydrogenase, onder de gegeven omstandigheden, net zo goed NADPH in NADH kan omzetten (in welk geval geen inbreuk wordt gemaakt).

19.2 Ook dit verweer faalt naar het oordeel van het hof, op grond van het volgende. Dit verweer staat immers haaks op het oordeel van Prof. Rydström, zoals dit hiervoor onder 16.7 in verband met de in 'Varma' vermelde 'forward' en 'reverse reaction' al aan de orde is geweest en zoals dat op pagina 15 van zijn tweede verklaring nog eens is samengevat: "It therefore seems obvious to me that a skilled person would increase transhydrogenase activity in bacteria consuming high amounts of NADPH in the biosynthesis of amino acids, in order to increase NADPH levels, and concomitantly increases the production of an amino acid."

Deze gevolgtrekking van Prof. Rydström wordt bevestigd door de in het octrooi aangetoonde verhoogde lysineproductie, welke logischerwijs het gevolg is van de verhoogde activiteit van het transhydrogenase.

19.3. Volgens GBT c.s. (pleitnota in hoger beroep, onder 218) blijkt voorts uit experiment 3B van TNO niet dat de gehele sequentie van het pntAB gen aanwezig is tussen de gevonden plasmidesequenties. Het zou kunnen zijn dat door een kleine mutatie of deletie het pntAB gen compleet onwerkzaam is en in dat geval zal dus geen inbreuk op EP '712 worden gemaakt. Slechts het aanwezig zijn van de gehele intacte sequentie van het pntAB-gen dient voor aantonen van inbreuk in het onderzochte monster aanwezig te zijn.

19.4 Ten aanzien van dit verweer van GBT c.s. neemt het hof het navolgende oordeel van de rechtbank over: "In de lysine afkomstig van GBT c.s. zijn DNA fragmenten gevonden, waarvan het ene fragment vlak naast het pntA en pntB gen op het chromosoom is gelegen, maar een ander fragment vlak naast het pntA en pntB gen ligt op een bepaald plasmide, te weten plasmide 2. TNO gebruikte daarbij een tweetal primersets, waarvan de ene hybridiseerde met een DNA fragment dat bovenstrooms van het chromosomaal pntAB-gen is gelegen en het andere met een DNA fragment dat eveneens upstream van het pntAB gen is gelegen, echter op plasmide 2, welk plasmide Ajinomoto ook voor haar eigen stam gebruikt. Door GBT c.s. is niet toegelicht hoe de aanwezigheid van die DNA fragmenten is te verklaren indien er geen sprake zou zijn van chromosomaal pntAB-DNA en van pntAB-DNA gelegen op plasmide 2. Het had in de rede gelegen dat GBT c.s. het tegendeel (van een onvolledige sequentie tussen de wel aangetoonde delen) door middel van proeven aannemelijk hadden gemaakt.

20. Aangezien GBT c.s. slechts enige kantekeningen hebben geplaatst bij de uitvoering van de uitgevoerde proeven en hebben nagelaten de resultaten van de proeven in de genoemde rapporten met deugdelijke technische rapporten te weerleggen, gaat het hof uit van de deugdelijkheid van de genoemde proeven en staat daarmee de inbreuk op de octrooien EP '710 en EP '712 vast.

21.1 Incidentele grief 1 is gericht tegen de afwijzing door de rechtbank van het gevorderde gebruiksverbod op grond van anderszins onrechtmatig handelen van GBT c.s. (in eerste aanleg: de vordering sub 6) en de motivering daarvan.

Ajinomoto c.s. stellen in dit verband dat GB T c.s. gebruik hebben gemaakt/maken van de genetisch gemodificeerde Ajinomoto-E.coli stam zonder toestemming van Ajinomoto c.s., dat deze stam geheime bedrijfsinformatie omvat en dat moet worden aangenomen dat de stam is ontvreemd althans onrechtmatig door GB T c.s. is verkregen. Volgens Ajinomoto c.s. profiteren GB T c.s. van de wanprestatie althans het onrechtmatig handelen (te weten de schending van bedrijfsgeheimen) van een ander en, mocht er geen sprake van schending van bedrijfsgeheimen zijn, dan hebben GB T c.s. door gebruik te maken van de Ajinomoto stam zich een onrechtmatige voorsprong verschaft.

Ajinomoto c.s. hebben in hoger beroep hun vordering (sub 6) gewijzigd en vermeerderd als is vermeld in de memorie van antwoord tevens incidenteel appel onder (i) tot en met (ix) (blz. 85 e.v.), later gerectificeerd bij akte houdende rectificatie.

21.2 GB T c.s. hebben deze (gewijzigde) vorderingen gemotiveerd weersproken.

21.3 Geen van partijen heeft zich uitdrukkelijk uitgelaten omtrent het op het gestelde onrechtmatige handelen toepasselijke recht. Ajinomoto c.s. hebben evenwel een beroep gedaan op artikel 6:162 BW, waartegen GB T c.s. zich op uitsluitend inhoudelijke gronden hebben verweerd. Gelet hierop is voldoende gebleken dat een rechtskeuze is gedaan voor Nederlands recht. Dit is in overeenstemming met de eisen dienaangaande in de Wet conflictenrecht onrechtmatige daad en vanaf 2009 met die, gesteld in de Verordening (EG) nr. 864/2007 van het Europees parlement en de Raad van 11 juli 2007 betreffende het recht dat van toepassing is op niet-contractuele verbintenissen ("Rome II"), zodat het hof van de toepasselijkheid van Nederlands recht zal uitgaan.

Het hof merkt nog op dat het TRIPS-Verdrag is gericht tot de lidstaten. Het Hof van Justitie van de Europese Gemeenschap (thans: Europese Unie) heeft in zijn arrest van 14 december 2000, C-300/98 en C-392/98, NJ 2001, 403 (Dior/Tuk en Assco c.s./Layher c.s.) beslist dat indien het onderwerp van het geschil een gebied betreft waarop TRIPs van toepassing is en de Europese Gemeenschap/Europese Unie niet regelgevend is opgetreden, het gemeenschapsrecht niet verlangt maar ook niet uitsluit dat de rechtsorde van een lidstaat particulieren het recht toekent om zich rechtstreeks op een - duidelijke, nauwkeurige en onvoorwaardelijke - bepaling van TRIPs te beroepen. Daargelaten of artikel 39 TRIPs al dan niet een duidelijke en onvoorwaardelijke bepaling is die zich voor directe toepassing leent, kan de strekking van deze bepaling worden geacht te zijn geïncorporeerd in artikel 6:162 BW.

21.4 Voor zover de vorderingen van Ajinomoto c.s. betrekking hebben op de gehele stam zijn deze naar het oordeel van het hof te onbepaald en derhalve te ruim. Delen van de stam die in de octrooien zijn geopenbaard, zijn juist niet als geheime bedrijfsinformatie aan te merken.

21.5 Het hof constateert dat Ajinomoto c.s. niet alleen niet hebben gesteld welke specifieke gedeelten van de bacteriële stam - naast de delen waarop de octrooien EP 710, EP 712 en EP 912 betrekking hebben en die dus niet geheim zijn - geheime bedrijfsinformatie omvatten, maar ook niet welke functie die gedeelten hebben en waarom die gedeelten ook zonder de delen waarop de octrooien zien of die anderszins reeds bekend zijn, (commercieel) relevant zijn. Ajinomoto c.s. hebben in eerste aanleg gesteld dat zij alleen bereid zijn de desbetreffende specifieke gedeeltes van de Ajinomoto-stam althans de gensequentie ervan te verstrekken aan de advocaten en octrooigemachtigden van GB T c.s. onder aanvaarding van een geheimhoudingsverplichting door hen, indien de zitting met gesloten deuren zal plaatsvinden, de uitspraak zal worden geanonymiseerd waar het deze geheime bedrijfsinformatie betreft, onder oplegging van een mededelingsverbod aan partijen. Dit is in eerste aanleg niet gebeurd. In hoger beroep hebben Ajinomoto c.s. met name een beroep gedaan op de bevindingen in voormelde rapporten betreffende de monsters 1016 en 1017, waaronder het rapport van Hitachi (productie 14 Ajinomoto c.s.), het rapport van Eurofins (productie 76 Ajinomoto c.s.) en de verklaring van Prof. Krämer van 19 januari 2010 (productie 77 Ajinomoto c.s.).

21.6 Naar het oordeel van het hof is het enkele gebruik van geheime gedeeltes van de Ajinomoto-stam of de gensequentie ervan niet strijdig met eerlijke handelsgebruiken of anderszins onrechtmatig. Denkbaar is dat door Ajinomoto in de handel gebrachte L-lysine sporen bevat van de Ajinomoto-stam en dat een derde, zoals de boven vermelde Militaire Logistiek Universiteit van het Chinese Volksbevrijdingsleger, deze sporen zou kunnen analyseren en de geheime sequenties zou kunnen bepalen met dezelfde technieken als Ajinomoto heeft gebruikt bij het analyseren van het inbreuk makende monster 1016. Bijkomende omstandigheden (zoals diefstal of onrechtmatige verkrijging) kunnen het gebruik evenwel onrechtmatig maken.

21.7 Uit de verklaring van Prof. Krämer van 19 januari 2010 valt, zonder nader toelichting die ontbreekt, niet op te maken, wanneer hij het rapport van Eurofins Medigenomix heeft ontvangen. Uit de e-mail van Dr R. Schubbert van 22 januari 2010 volgt dat Prof. Krämer niet staat vermeld onder de geadresseerden van die e-mail, aan wie toen het rapport als bijlage is toegezonden. Verder volgt uit het genoemde rapport dat verschillende bijlagen zijn gedateerd "Montag 18 Januar 2010", "Mittwoch 20 Januar 2010" en "Freitag 22 Januar 2010". Bij deze stand van zaken kan aan de verklaring van Prof. Krämer over het genoemde rapport weinig betekenis worden toegekend.

21.8 Het Hitachi rapport heeft een viertal genen in het monster 1016 van de door GB T c.s. gebruikte stam (hierna ook: de GB T-stam) onderzocht, waarbij zes proeven zijn uitgevoerd (zie "Table of contents"):

- de proeven 1, 3 en 6 betreffen het detecteren en bepalen van de volledige DNA sequenties die coderen voor resp. het dapA-, lysC- en het ldc-gen, en

- de proeven 2, 4 en 5 betreffen het detecteren en bepalen van de 'upstream and downstream flanking sequences' van resp. het dapA-, lysC- en pntAB-gen.

Deze sequenties zijn vergeleken met de overeenkomstige sequenties in de Ajinomoto-stam.

Echter, uit deze proeven is af te leiden dat niet de volledige gensequenties van de gehele stam van GMT c.s. zijn geanalyseerd, zodat niet is aangetoond dat de GMT-stam identiek is aan de Ajinomoto-stam.

21.9 Ook het rapport van Eurofins leidt niet tot de gevolgtrekking dat de gensequenties van de niet onder voormelde octrooien vallende specifieke (gedeelten van) genen van de Ajinomoto stam en die van GMT c.s. identiek zijn. Zo hebben GMT c.s. erop gewezen (pleitnota in hoger beroep onder 197-201) dat de resultaten in het Eurofins rapport niet eenduidig zijn met verwijzing naar de afbeeldingen 7 en 8, waarbij afbeelding 7 het resultaat van een agarose gel elektroforese toont van, in het DNA extract van monster 1016 aanwezige PCR-producten, terwijl afbeelding 8 een afbeelding toont van een dergelijke proef van het DNA van de Ajinomoto-stam. Deze afbeeldingen zouden hetzelfde moeten zijn als de GMT-stam identiek is aan de Ajinomoto-stam, terwijl, zo merken GMT c.s. op: "In een oogopslag is echter al duidelijk dat dit niet zo is." Dit lijkt het hof juist.

Volgens GMT c.s. is dan ook niet te verklaren waarom in de agarose-gellen verschillen zitten terwijl men op basis van de gensequenties tot andere conclusies komt.

Ajinomoto c.s. hebben dit niet bestreden en daarvoor geen sluitende verklaring gegeven, zodat ook het Eurofins rapport niet aannemelijk maakt dat de gehele GMT-stam identiek is aan de Ajinomoto-stam.

22. Ajinomoto c.s. zijn op de uiteenzetting van GMT c.s. omtrent de verkrijging van de bacteriële stam (pleitnota, onder 209 e.v. en (deels) hierboven in rechtsoverweging 11.4 en 18.2) niet meer concreet ingegaan. Ajinomoto c.s. hebben bij pleidooi in hoger beroep te kennen gegeven dat zij intern onderzoek hebben gedaan naar de ontvreemde stam en dat zij over de vorderingen en resultaten van het onderzoek thans geen mededelingen kunnen doen (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 48). In het rapport van Drs Klein (productie 78 Ajinomoto c.s.), die op verzoek van Ajinomoto c.s. onderzoek heeft ingesteld naar de beschermingsmaatregelen binnen het Ajinomotoconcern, is vermeld: "Wat de litigieuze stam No. 18 betreft waren er extra maatregelen tegen wederrechtelijke toeëigening genomen, omdat een van de twee benodigde plasmiden separaat vervoerd was vanuit een andere onderzoekslocatie. Op deze manier zou in het onwaarschijnlijke geval dat de stam of een van de plasmiden benodigd voor lysineproductie gestolen of anderszins illegaal toegeëigend zou zijn, de illegale bezitter bij gebruikmaking van de stam nog steeds een van de essentiële onderdelen van de productie van lysine missen."

Gelet op het voorgaande hebben Ajinomoto c.s. de gestelde diefstal althans onrechtmatige verkrijging door GMT c.s. ook in hoger beroep niet genoegzaam onderbouwd. De antwoorden van Weigang Li (pleitaantekeningen in hoger beroep, onder 13) in het kader van een procedure in de Verenigde Staten van Amerika zijn daartoe niet voldoende.

Dit betekent dat de stellingen omtrent de onrechtmatige verkrijging door GMT c.s. onvoldoende zijn gesubstantieerd en dat aan bewijslevering op dit punt niet wordt toegekomen.

Omtrent het profiteren van wanprestatie zijn geen concrete feiten en omstandigheden gesteld. Ook de overige door Ajinomoto c.s. gestelde onrechtmatige gedragingen leveren zonder bijkomende omstandigheden die niet zijn komen vast te staan geen onrechtmatig handelen van GMT c.s. op.

Derhalve faalt incidentele grief 1 en zijn de op deze grondslag gebaseerde vorderingen, zoals gewijzigd en gerectificeerd, niet voor toewijzing vatbaar.

Schorsing behandeling EP 0.796.912

23. Blijkens artikel 83, lid 4 Rijksoctrooiwet 1995 (hierna: ROW 1995) kan de behandeling van een geschil ter zake van een Europees octrooi door de rechter worden geschorst, indien bij het Europees Octrooibureau tegen dat octrooi oppositie is ingesteld ingevolge artikel 99 Europees Octrooiwet (hierna: EOV). Bij pleidooi is door GMT c.s. verklaard dat tegen de beslissing van de oppositieafdeling beroep zal worden ingesteld.

In casu is tegen het octrooi oppositie ingesteld door Dacheng (productie 42 GMT c.s.) op 17 november 2006. Tegen het octrooi is eveneens oppositie ingesteld door Helm AG (productie 43 GMT c.s.) door het indienen van een Notice of Opposition van 1 december 2006.

Het hof verenigt zich met het oordeel en de motivering dienaangaande van de rechtbank. Daarbij heeft het hof tevens in aanmerking genomen dat in dit geschil, waarin onder meer een inbreukverbod wordt gevorderd en, naar bij pleidooi door partijen is medegedeeld, het octrooi in oppositie gewijzigd is gehandhaafd, het niet uitgesloten is dat het octrooi in beroep (verder) zal worden beperkt.

Derhalve faalt incidentele grief 2.

24. Aan de bewijsaanbiedingen van partijen gaat het hof voorbij, nu deze gelet op het voorgaande niet meer ter zake dienend zijn, dan wel onvoldoende gesubstantieerd of gespecificeerd.

25.1 Incidentele grief 3 is gericht tegen de aanhouding van de beslissing omtrent de proceskosten hangende de schorsing (dictum sub 6.16 juncto 6.13)).

Ajinomoto c.s. stellen daartoe dat de kosten in eerste aanleg aanzienlijk zijn (meer dan € 700.000,-) en dat het aanhouden van een beslissing omtrent de proceskosten die zijn gemoeid met de vorderingen betreffende de octrooien EP 0.733.710 en EP 0.733.712 onredelijk is. In elk geval was er geen reden geen voorschot toe te kennen.

25.2 Het hof verenigt zich met de beslissing van de rechtbank daaromtrent, nu het geschil aangaande EP 0.796.912 ingevolge het vonnis is geschorst en ook thans door de verwerping van incidentele grief 2 geschorst is gebleven. Bovendien is door de rechtbank in de zaak in reconventie met betrekking tot octrooi EP 0.733.712 nog geen einduitspraak gedaan (zie vonnis, onder 5.68).

Het hof overweegt voorts dat tegen de beslissing van de rechtbank (dictum sub 6.10) om de redelijke kosten die zijn gemoeid met het vaststellen van de inbreuk, waaronder de kosten en uitgaven die zijn gemaakt door de desbetreffende onafhankelijke onderzoeksinstantie(s), in een schadestaatprocedure te laten vaststellen, geen grief is gericht, zodat omtrent een gedeelte van de kosten als bedoeld in artikel 1019h Rv. reeds de beslissing is genomen dat GBT c.s. die proceskosten moeten betalen.

Verder merkt het hof op dat bij pleidooi in eerste aanleg Ajinomoto c.s. hebben gesteld dat het - conform de in Engeland gevolgde procedure en het EPLA - de voorkeur verdient indien een debat over de redelijkheid van de over en weer gevorderde (proces)kosten geen druk legt op het materiële debat. Zij hebben primair gevorderd de zaak daartoe naar de rol te verwijzen ten einde partijen gelegenheid te geven de rechtbank bij akte kenbaar te maken of partijen omtrent de (proces)kosten tot overeenstemming zijn gekomen, en subsidiair dat GBT c.s. ten minste moeten worden veroordeeld tot betaling van de werkelijke kosten tot een bedrag dat even groot is als het door GBT c.s. gevorderde (zie ook de conclusie van antwoord in reconventie en de eerder gewijzigde eis, onder 237 e.v.). Ajinomoto c.s. hebben in eerste aanleg geen specificatie van hun proceskosten overgelegd en evenmin uitdrukkelijk een voorschot gevorderd.

In hoger beroep is evenmin voldoende gespecificeerd welke kosten in eerste aanleg aan werkzaamheden met betrekking tot de verschillende octrooien en de gestelde onrechtmatige daad zijn toe te rekenen, terwijl overlapping met de reeds naar de schadestaatprocedure verwezen (onderzoeks)kosten niet is uitgesloten.

Derhalve faalt incidentele grief 3.

26. Uit het voorgaande vloeit voort dat het vonnis in het principale beroep zal worden bekrachtigd en dat GBT c.s. als zijnde grotendeels in het ongelijk gesteld zullen worden veroordeeld in de kosten van het principale beroep. In het incidentele beroep zal het beroep worden verworpen en zullen Ajinomoto c.s. worden veroordeeld in de kosten van het incidentele beroep.

27. Wat de proceskosten betreft wordt nog het volgende overwogen. Ingevolge het - tijdens de procedure in hoger beroep gewezen - arrest van de Hoge Raad van 30 mei 2008 (NJ 2008, 556) moeten de op de voet van artikel 1019h Rv./ artikel 14 Handhavingsrichtlijn gevorderde (proces)kosten zo tijdig (te weten voor het hoger beroep, overeenkomstig het toen geldende procesreglement: uiterlijk op de elfde werkdag voor de dag van het pleidooi) worden opgeven en gespecificeerd dat de wederpartij zich daartegen voldoende kan verweren.

28. Aan deze eis voldoen de als productie 87 gedane opgaven van Ajinomoto c.s. niet. Niettemin zal het hof Ajinomoto c.s. nog eenmaal in de gelegenheid stellen duidelijk en gespecificeerd op te geven welke kosten op deze Nederlandse procedure in hoger beroep betrekking hebben (zie hierna).

Voorts hebben GBT c.s. niet uitdrukkelijk aangegeven welke van de door hen opgegeven kosten zien op het hoger beroep, terwijl het hof voor een juist oordeel over de proceskosten tevens inzicht moet hebben in de kosten afzonderlijk die GBT c.s. in hoger beroep gemaakt hebben ter bestrijding van incidentele grief 1 (onrechtmatig gebruik van de Ajinomoto-E.coli stam) en ter bestrijding van de incidentele grieven 2 (schorsing van de beslissing over EP '912) en 3 (aanhouding beslissing omtrent proceskosten in eerste aanleg). De kosten voor de bestrijding van incidentele grief 1 zullen worden vergoed volgens het liquidatietarief.

29. Ten einde voornoemde kostenspecificaties van partijen te vernemen, zal het hof een comparitie van partijen gelasten. Partijen dienen uiterlijk drie weken voordat deze comparitie plaatsvindt een naar verrichtingen gespecificeerde proceskostenopgave aan het hof en de wederpartij te doen toekomen. Ter comparitie kunnen partijen hierop over en weer reageren. De comparitie zal uitsluitend betrekking hebben op de proceskosten. De comparitie zal tevens worden benut om te bezien of omtrent de proceskosten een minnelijke regeling kan worden getroffen.

De kostenspecificaties moeten (tenminste) duidelijk zijn over de volgende punten:

Ajinomoto c.s.:

-a- welke kosten in de schadestaatprocedure worden gevorderd, in het bijzonder ook welke van de buitengerechtelijke kosten voor testrapporten ad € 136.767,06 in de schadestaat- procedure worden gevorderd, en

-b- welke van de niet in de schadestaatprocedure gevorderde kosten betrekking hebben op het hoger beroep (veel facturen dateren van vóór de appeldatum) en

-c- welke van de in hoger beroep gemaakte kosten betrekking hebben op het in het principale beroep gevorderde aangaande de inbreuk op en de geldigheid van EP '710 en EP '712.

Alle in hoger beroep gevorderde en gemaakte kosten moeten deugdelijk zijn onderbouwd. De Japanse factuur moet worden vertaald of onderbouwd indien deze betrekking heeft op de werkzaamheden in het principale beroep betreffende de octrooien EP '710 en EP '712. Teneinde de redelijkheid van de kosten te kunnen beoordelen, moeten de kosten sub b. en c. gespecificeerd naar verrichtingen worden opgegeven.

GBT c.s.:

-a- welke van de opgegeven kosten zij in eerste aanleg hebben gemaakt,

-b- welke kosten zij in hoger beroep hebben gemaakt ter bestrijding van de incidentele grief 1,

-c- welke kosten zij in hoger beroep hebben gemaakt ter bestrijding van de incidentele grief 2, en

-d- welke kosten zij in hoger beroep hebben gemaakt ter bestrijding van de incidentele grief 3.

Alle in hoger beroep gevorderde en gemaakte kosten moeten deugdelijk zijn onderbouwd.

Teneinde de redelijkheid van de kosten te kunnen beoordelen, moeten de kosten sub c. en d. gespecificeerd naar verrichtingen worden opgegeven.

30. Omdat de comparitie alleen betrekking zal hebben op de proceskosten, is het voor het hof niet noodzakelijk dat vertegenwoordigers van alle vennootschappen persoonlijk ter comparitie aanwezig zijn, maar is voldoende dat GBT c.s. enerzijds en Ajinomoto c.s. anderzijds zich ter comparitie laten vertegenwoordigen door een persoon die zicht heeft op de gemaakte proceskosten. Deze personen dienen echter wel bepaaldelijk gemachtigd te zijn een regeling omtrent de proceskosten te treffen.

31. Wellicht ten overvloede wijst het hof er op dat partijen zich met elkaar kunnen verstaan teneinde onderling een minnelijke regeling te treffen. Indien beide partijen aan het hof laten weten dat zij een minnelijke regeling aangaande de proceskosten in het principale beroep en in het incidentele beroep hebben getroffen en deze regeling duidelijk en eensluidend aan het hof kenbaar maken, behoeft de comparitie geen doorgang te vinden en zal het hof direct (en binnen enkele weken) (eind)arrest wijzen.

Beslissing

Het hof:

- beveelt partijen, deugdelijk vertegenwoordigd door een persoon die van de proceskosten op de hoogte is en bevoegd is om daarover een schikking aan te gaan, voor het verstrekken van inlichtingen en het beproeven van een minnelijke regeling zoals aangegeven in de overwegingen 29 en 30, te verschijnen voor de hierbij benoemde raadsheer-commissaris mr G. Dulek-Schermers in één der zalen van het Paleis van Justitie, Prins Clauslaan 60 te 's-Gravenhage op vrijdag 13 mei 2011 om 10.00 uur;

- bepaalt dat, indien één der partijen binnen veertien dagen na heden, onder gelijktijdige opgave van de verhinderdata van beide partijen in de maanden april, mei en juni 2011, opgeeft dan verhinderd te zijn, de raadsheer-commissaris (in beginsel eenmalig) een nadere datum en tijdstip voor de comparitie zal vaststellen;

- bepaalt dat partijen de in dit arrest opgevraagde proceskostenspecificaties uiterlijk drie weken vóór de comparitie in kopie zullen zenden aan de griffie handel van dit hof en aan de wederpartij;

- houdt iedere verdere beslissing aan.

Dit arrest is gewezen door mrs J.C. Fasseur-van Santen, G. Dulek-Schermers en ir R.A. Grootoenk, en is uitgesproken ter openbare zitting van 29 maart 2011 in aanwezigheid van de griffier.