

ケラチナーゼ・コード単離DNA事件（拒絶審決取消訴訟）

今回は、平成22年10月28日判決言渡し、単離されたDNAの進歩性主張の可否に関する判断事例で、特許庁審決が維持された事例です。

知財高裁 審決取消請求事件 平成22年(行ケ)第10050号

原告：ノース・キャロライナ・ステイト・ユニヴァーシティ 訴訟代理人弁理士：奥山 尚一他

被告：特許庁長官 訴訟代理人：深草 亜子他

高裁判決本文：原告の請求を棄却する。訴訟費用は、原告負担。

裁判官：知財高裁3部裁判長 飯村敏明他

1. 本件発明

平成7年5月5日：国際特許出願（優先権：1994/5/27 米国）

平成18年2月13日：拒絶査定

平成18年5月22日：不服審判請求（不服2006-10472号事件）

平成21年10月7日：「請求は、成り立たない。」審決

特許請求の範囲：「請求項1:配列番号1のDNA配列を持ち、ケラチナーゼをコードしている単離DNA分子。」以下、本願発明。

2. 審決内容

(1) 本願発明は、1992年10月に頒布された刊行物「APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Oct. 1992, p. 3271-3275, Vol. 58, No. 10」

(「Purification and Characterization of a Keratinase from a Feather-Degrading Bacillus licheniformis Strain」)以下「引用例」に記載された事項及び周知技術に基づいて、当業者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法29条2項の規定により特許を受けることができない。

(2) 本願発明・引用例記載事項の一致点、相違点及び周知技術についての認定

ア 一致点

Bacillus Licheniformis PWD-1株に由来のケラチナーゼに関するものである点。

イ 相違点

本願発明は、配列番号1のDNA配列を持ち、該ケラチナーゼをコードしている単離DNA分子であるのに対し、引用例に記載された事項は、精製された該ケラチナーゼが記載されているに過ぎず、該ケラチナーゼをコードしているDNA分子については記載されていない点。

ウ 周知技術

本願優先権主張日当時、ある有用なタンパク質が単離・精製された場合、該タンパク質をコードするDNA分子を取得しようとする事は、当業者にとって自明の課題である。また、タンパク質が単離・精製された場合、そのN末端領域や中間部分のアミノ酸配列を決定し、当該配列情報に基づいてプローブやプライマーを設計し、由来生物のcDNAライブラリーから当該タンパク質をコードするDNA分子を単離し、当該遺伝子の塩基配列を解読することは、本願優先権主張日当時、当業者の周知技術であった(例えば、「新生物化学実験講座1タンパク質Ⅱ—一次構造—」, 1990年, 株式会社東京化学同人, 第1~24頁を参照)。

⇒単離されたDNAの進歩性は、そのタンパク質が単離・精製されていた場合は、無い。

3. 争点

単離されたDNAで、ケラチナーゼをコードすることの進歩性。当初の明細書の記載と後出しの実験成績証明書の扱い。

4. 裁判所の判断

1) 引用例の記載

表1には、Bacillus Licheniformis PWD-1株の培養培地からのケラチナーゼの精製における各ステップと、各ステップにおける総タンパク質量や特異的活性が示されている。表2には、各種プロテアーゼ(ババイン、トリプシン、コラゲナーゼ、エラスターゼ、プロテイナーゼK、ケラチナーゼ)における、羽毛ケラチン及び合成アゾケラチンを基質とするケラチン分解活性の比較が示されている。

(1) 「羽毛分解性の Bacillus Licheniformis PWD-1 株の培養培地から、アゾケラチンの加水分解アッセイを使用して、ケラチナーゼが単離された。ケラチナーゼを精製するために、限外ろ過膜と CM-セルロース-イオン交換クロマトグラフィー及びセファデックス G-75 ゲルクロマトグラフィーが使用された。精製されたケラチナーゼの特異的な活性は、元の培地中の活性と比較して、約70倍となった。SDS-PAGE 解析とセファデックス G-75 ゲルクロマトグラフィーによると、精製されたケラチナーゼは、単量体で、分子量は33kDaであった。精製されたケラチナーゼは、広範な基質を加水分解し、多くのプロテアーゼよりも高いタンパク分解活性を示している。実際の利用においては、ケラチナーゼは羽毛ケラチンの加水分解を促進し、羽毛粉の消化率を向上させるために有用な酵素である。」

(2) 「ケラチナーゼの精製について。Bacillus Licheniformis PWD-1株の培養培地からのケラチナーゼの精製の概要は表1に示されている。限外ろ過膜と、CM-セルロース-イオン交換クロマトグラフィー及びセファデックス G-75 ゲルクロマトグラフィーによって、全体で70倍精製された精製ケラチナーゼ画分が得られた。最終生成物は、約6000U/mgの特異的活性を有した。限外ろ過工程により、酵素活性の70%を維持したまま、総タンパク質の約60%が除去された。CM-セルロース-イオン交換クロマトグラフィーにより、酵素が43倍精製され、元の総タンパク質の98%を除くことができた。セファデックス G-75 ゲルクロマトグラフィーから溶出することにより、SDS-PAGE における単一タンパク質バンドで示されるように、均質なタンパク質が得られた。」

(3) 「酵素の特異性について。遊離アミノ基アッセイがさまざまなプロテアーゼの基質特異性を比較するために用いられた。ケラチナーゼは、BSA、カゼイン、コラーゲン、エラスチン、羽毛ケラチン、及び、合成アゾケラチンを含む試験されたすべてのタンパク質を加水分解することができた。表2に示されるように、天然の羽毛ケラチンと合成アゾケラチンの両方がケラチナーゼの特異的基質であった。それらは、他のプロテアーゼによってはそれほど分解されなかった。」

2) 先行技術の記載についての判断

(1) 原告の主張：「引用例には、Bacillus Licheniformis PWD-1株由来のケラチナーゼが他のタンパク質分解酵素との比較で羽毛ケラチンとアゾケラチンをより分解することは記載されているものの、上記ケラチナーゼの酵素的作用の分子メカニズム、ケラチンとの相互作用は未解明なままであり、上記ケラチナーゼの実用性は予測困難であり、上記ケラチナーゼが精製できていたとしても、当業者が本願発明のDNA配列を見出すための動機付けがなかった。」

判断：ケラチナーゼの実用性は予測困難で、DNA分子を見出す動機付けが無いといっているが、採用できない、その理由は以下。

①本願優先権主張日当時、有用なタンパク質が単離・精製された場合に、該タンパク質をコードするDNA分子を取得しようとする事は、当業者にとって自然の解決課題であり、タンパク質が単離・精製された場合、そのN末端領域や中間部分のアミノ酸配列を決定し、当該配列情報に基づいてプローブやプライマーを設計し、由来生物のcDNAライブラリーから当該タンパク質をコードするDNA分子を単離し、当該遺伝子の塩基配列を解読することが当業者の

周知技術であったことは、当事者間において争いが無い。

②引用例には、「実際の利用においては、ケラチナーゼは羽毛ケラチンの加水分解を促進し、羽毛粉の消化率を向上させるために有用な酵素である。」との記載があり、同記載によれば、引用例記載のケラチナーゼが、上記の意味において、有用なタンパク質であることが示唆されている。また、引用例には、ケラチナーゼの精製において単一のタンパク質が得られたこと、上記ケラチナーゼが各種プロテアーゼに比べてケラチンをより分解することが開示されていることが認められる。そうすると、当業者にとって、実用性の予測が可能であったか否かはともかく、より分解能力の高いケラチナーゼを得るべく、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼをコードするDNA分子を取得しようとする動機付けがあったと認められる。

⇒性能の良いケラチナーゼを得るべく、DNA分子を得ようとするのは動機付けがある。(この考えだと、DNA分子の改変等でその分子依存的な効果を得ないことと進歩性は無いということとなる。新規性に進歩性を負わせることとなる)

(2) 原告の主張：「本願優先権主張日当時、エドマン分解法によるアミノ酸配列決定には、ケラチナーゼを臭化シアンにより切断して得られたペプチド断片それぞれについて、少なくとも $\mu\text{g}$ 量以上のサンプルが必要であったところ、審決は、この点の困難性を看過し、引用例においてSDS-PAGEで単一バンドとして検出できるケラチナーゼを精製できたことのみを根拠として、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼをコードするDNA分子を得ることは容易であったとした誤りがある」

判断：原告主張は、採用できない。引用例の表1によれば、引用例で得られた Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼは、1.5mg (1500 $\mu\text{g}$ ) であるから、これを臭化シアンにより切断しても、少なくとも $\mu\text{g}$ 量以上のペプチド断片が得られるものと認められる。また、仮にケラチナーゼの量が不足するのであれば、Bacillus Licheniformis PWD-1 株の培養量を増やし、精製操作を複数回行うことにより、 $\mu\text{g}$ 量以上のペプチド断片が得られるものと認められる。

原告主張：「引用例に、“タンパク質の濃縮は、ケラチナーゼが、未知のしかし同時濃縮された因子によって阻害されるようなものであってもよい。”と記載されていることを根拠として、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼの精製は困難なものであった。」

判断：仮に Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼの精製が困難なものであったとしても、アミノ酸配列決定を行うためにはSDS-PAGEで単一バンドとして検出される程度の品質の精製タンパク質であれば足り、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼは、引用例において単離、精製されていることからして、その困難性は既に解決されていた。引用例記載のケラチナーゼに、前記周知技術を適用することにより、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼをコードするDNA分子を得ることは、当業者が容易になし得たといえる。⇒該DNA分子取得の困難性は無い。

本願優先権主張日当時、ある有用なタンパク質が単離・精製された場合、該タンパク質をコードするDNA分子を取得しようとすることは、当業者にとって、自然の解決課題であり、また、そのN末端領域や中間部分のアミノ酸配列を決定し、当該配列情報に基づいてプローブやプライマーを設計し、由来生物のcDNAライブラリーから当該タンパク質をコードするDNA分子を単離し、当該遺伝子の塩基配列を解読することは、当業者の周知技術であったものと認められ、本願優先権主張日当時、本願発明のケラチナーゼのアミノ酸配列を決定することについて格別困難があったとは認め難い。

(3) 原告主張：「本願発明のDNA分子を利用してケラチナーゼを

より高い収率で生産できることは本願明細書に詳細に記載されており、宣誓書及びその添付報告書により裏付けられているから、本願明細書に記載がされていないことを前提とした審決の判断に誤りがある」

判断：ケラチナーゼをコードするDNA分子をクローニングすれば、該ケラチナーゼが高収率で得られることは、当然の結果にすぎず、そのような作用効果が認められるからといって、顕著な作用であるとはいえない。原告主張は、審決の結論に影響を及ぼす取消事由には当たらないから、採用の限りでない。

(4) 原告主張：「引用例にはケラチンが加水分解に対して抵抗性がある旨記載されていることから、引用例に接した当業者は、Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼの一般的な可能性を認識できたとしても、それを超えて、優れた羽毛分解特性を有し、それがDNA分子の配列を見出すことにより得られるであろうとする動機付けには結びつかなかった」

判断：不採。Bacillus Licheniformis PWD-1 株由来のケラチナーゼが、羽毛ケラチンを特異的に分解できるという作用効果は、本願発明において単離されたDNA分子によってはじめてもたらされた特性ではなく、引用例に記載されたケラチナーゼ酵素一般の特性である。本願優先権主張日当時、DNA分子を単離し、該DNA分子の塩基配列を解読することは当業者の周知技術であったと認められ、当業者は、引用例に記載されたケラチナーゼのDNA分子の配列を見出すことにより、羽毛ケラチンを特異的に分解できるという特性が得られるであろうと予測し得たものと認められる。⇒羽毛ケラチンを特異的に分解できる効果は予測できる。

(5) 原告主張：「本願明細書には、本願発明の目的として経済的で新しい羽毛分解法の提供を目的としたことが記載されていること、原告が意見書とともに提出した宣誓書には、本願発明のDNA分子がコードするケラチナーゼがズブチリシンカールスベルグ遺伝子がコードするケラチナーゼに比べて優れた羽毛分解特性を有することを実証したデータが掲載されている」

判断：不採。本願明細書に、本願発明のDNA分子がコードするケラチナーゼが、ズブチリシンカールスベルグ遺伝子がコードするケラチナーゼとの比較において、優れた羽毛分解特性を有するということが具体的に記載されているとはいえない。本願明細書に、本願発明の目的として経済的で新しい羽毛分解法の提供を目的としたことが記載されているか否かは、審決の違法性の有無に影響を及ぼす格別の効果であるとはいえない。

⇒原告の主張する効果は具体的に記載されておらず、かつ先の進歩性無しの理由で事足りるので、後出しデータを参酌するには及ばない。

### 3) 結論

原告の主張する取消事由には理由がなく、他に本件審決にはこれを取り消すべき違法は認められない。その他、原告は、縷々主張するが、いずれも、理由がない。

### 5. コメント

有用タンパク質がSDS-PAGE単一バンドまで精製されていれば、そのコードするDNA分子の同じ有用性の用途の範囲では、予測可能な動機付けがある範囲となり、単離されたDNAは進歩性がないと判示された。課題の設定と、それを解決する手段の技術困難性がそるわないと本件のような場合は、進歩性が認められない。より詳しくは、単離するDNAの技術的困難性を明細書で明確にする必要がある。

中筋吉吉、庄司隆、大杉卓也