

生物技術相關專利實務(I) DNA 片段(ESTs)專利實務與範例分析

李幸懋

一、ESTs 專利

1998 年 10 月 6 日，美國專利商標局 (USPTO) 核准了 Incyte Pharmaceuticals 公司在 1996 年申請之 ESTs (Expressed Sequence Tags) 相關專利 (Human Kinase Homologue ; 5,817,479)，此核准案立刻在生物技術產業界產生巨大之迴響，並引發國際專利實務界廣泛的討論。

ESTs 係指長度約 150~500 鹼基 (base pair)，互補對應細胞內 mRNA 之 cDNA 片段，通常其具體機能尚未明確，可作為標幟、分離、或鑑定完整基因之工具（如探針）。

一般分子生物學或遺傳工程之研究，肇始於基因產物蛋白質之純化、分析與生理機能的探討，而成於基因的發現與應用。例如胰島素或紅血球生成激素(erythropoietin)等，皆是先發現蛋白質及其生理活性與機能，隨後藉著純化蛋白質之胺基酸序列分析，推定基因之部分 DNA 序列，藉以設計核酸探針，分離出編碼合成該蛋白質

之基因，最後利用具重組基因之轉形細胞大量生產該蛋白質。

近些年來，由於使用自動化核酸定序儀器，與具快速處理大量資訊能力的電腦，以及人類基因體計畫 (Human Genome Project) 和其他生物體之基因研究所蓄積的大量核酸與胺基酸序列資訊，使臨床醫學研究及藥品之開發產生巨大的改變。現在從事生物技術產品研發的科學家，可以直接由基因轉錄作用(transcription)產生的 mRNA 展開研究，不一定要藉由蛋白質之研究，再回溯至其基因。

同一生物體之所有細胞都具有相同之基因，但已分化成不同器官或組織的細胞（如肝、腦等）會有不同的基因表現，亦即產生不同之 mRNA。細胞依據這些 mRNA 所攜帶的遺傳訊息，合成生物體內各式各樣的最終產物蛋白質。通常之實驗操作中，會先抽取出某特定種類或狀態，（如正常或癌化等）細胞基因轉錄之全部 mRNA 片段，再以這些 mRNA 為模版，利用逆轉錄酵素 (Reverse

Trans-cryptase)及其他酵素，合成眾多互補之 cDNA 片段，構築 cDNA 庫 (library)。如此獲得之大量 cDNA 片段，尚不能確定具有何種機能，也不知屬於那一結構基因 (Structure Gene)。接著利用自動化核酸定序儀器，定出 cDNA 核酸序列，再與資料庫中各種生物體細胞已知基因，比較其核酸序列之相似性 (homology)，依據相似性比對資料，推測其來源基因及其機能。若認為可能是未知基因之部分片段，則利用此獲得之 cDNA 片段為探針，找出該基因之全長 (full length) cDNA 或基因體 (genomic) DNA。再藉著遺傳工程技術，生產該基因所編碼之蛋白質，分析其生理活性及機能是否如事先預期。

Incyte 之美國 5817479 專利，是利用現有之資料庫，檢索源自各種組織或細胞 ESTs 之核酸相似性 (homology)，獲得與蛋白質磷酸化酵素 (kinase) 具相似性之 DNA 片段 (即 ESTs)。其申請專利範圍只有四項，包括 44 段 ESTs、其表現載體、轉形細胞、以及製造、純化其多胜肽 polypeptide 之方法。其說明書揭示，申請專利範圍涵蓋之 ESTs 具有獲取多種人類 kinase 全長 cDNA (有一實例 SEQ ID NO 45)、判定 kinase 基

因表現異常或疾病、監視藥物治療之病患等用途，並且其編碼合成之肽肽 peptide 可用於鑑定抗體或其他對於特定 kinase 有抑制活性之分子等。

二、日本的反應

研發能力及產業實力僅次於美國的日本生物技術產業界，對於 Incyte ESTs 美國專利之核准一事，產生強烈的反彈。代表日本三百家生物技術相關企業及六十個研究機構之日本生物技術產業協會 (JBA; Japan Bioindustry Association)，特別針對此事於 1999 年 4 月 7 日，公開向日本專利商標局 (JPO) 提出一封意見書，表明反對此類 ESTs 相關發明專利之取得。JBA 之意見函主要基於下述三點理由：

- (1) ESTs 得自臟器 (如肝、腦等) 細胞表現之 mRNA 之 cDNA 庫，為任意選出之 DNA 片段，若利用自動分析儀器很容易決定 DNA 序列，且該方法在本技術領域已普遍化。
- (2) 雖然依據 ESTs 之核酸序列 (或其推定之胺基酸序列) 相似性檢索，有可能推定出其來源基因之機能；不過，目前有很多情況都是在沒有實際驗證或解析其關連基因之具體機能前，就提出專利申請。
- (3) ESTs 之製造或構造決定方法並無

特別困難之處，缺乏發明之創造性及進步性。此外，與機能不明確之化合物發明類似，缺少能使產業上利用之具體用途說明，對於社會並無特別顯著之技術貢獻。

JBA 之意見函更進一步指出，若 ESTs 發明可取得專利，則其權利範圍應侷限於具體表示之 ESTs 核酸序列，而不應擴及於專利申請當時，尚未確定構造及機能之全長 cDNA。

對於有具體說明與病症關連性，或可用為特定疾病診斷探針之 ESTs 發明而言，雖不能否定其專利性，但此類 ESTs 最多只有作為疾病診斷探針之價值。對於社會之技術貢獻程度，無法與那些提供編碼合成某種機能性蛋白質基因之發明相提並論。所以此類 ESTs 發明若准其專利，可被認同之權利範圍，應只限於有具體核酸序列表示之 ESTs 本身。

三、三方會議

不僅 ESTs 之專利性為生技產業界之矚目焦點，早在 1998 年 11 月，美、日、歐三方專利商標局(USPTO、JPO、EPO)就已經特別針對爭議性最高之 DNA 片段(ESTs)相關專利之可專利性進行分析討論，希望調合三方之審查觀點，並於 1999 年 6 月，公開三方針對相同假設性申請案例之審查

觀點與結論。

此外，日本專利商標局(JPO)為了補充其 1997 年 2 月公告之“基因等生物相關發明之專利審查基準”，並因應上述美、日、歐三方專利商標局，對於生物技術相關專利實務(DNA 片段)研討之結果。特別於 1999 年 7 月 9 日，公開「基因相關發明之審查運用事例集」，詳細介紹 JPO 之審查觀點及核駁理由，並廣求各方之意見。

值此我國大力推動生物科技產業之同時，未來 ESTs 專利之審查，將成為重要議題。本文將介紹上述 USPTO、JPO 與 EPO 之觀點與 JPO 之審查觀點，以饗讀者。

四、三方觀點

依據 USPTO、JPO 與 EPO 三方會議之結果，整理出 ESTs 專利申請案之可能案例及審查官意見如下：

【範例一】

申請專利範圍第一項：一由第○ ○ 號序列所示之多核 (polynucleotide) 構成之核苷序列發明之詳細說明綱要：

- a) 該核酸序列源自人類肝細胞之 cDNA 庫，為利用自動化核酸定序儀分析之 500 鹼基長 cDNA。
- b) 該核酸序列為結構基因(Structure Gene)之一部份，可作為探針用於獲

取全長 cDNA。

c)說明書中沒有實例顯示真正獲得之全長 cDNA，也沒有對該核酸序列及其對應蛋白質之機能或生常活性加以說明。

前案檢索結果：沒有與第○○號序列高度相似之序列。

審查意見：

a)USPTO：缺少實用性

b)JPO：產業利用性、可實施性、及進步性皆無

c)EPO：缺少進步性，產業利用性有疑問

【範例二】

若申請專利範圍第一項和前案檢索結果與【範例一】相同，只是發明之詳細說明中，進一步說明”由第○○號核酸序列推知之胺基酸序列可能具有醣化作用部位，因此，該核酸序列可能是編碼一醣蛋白質之結構基因之部分”。

結果 USPTO、JPO、及 EPO 之審查意見仍然與【範例一】相同。

【範例三】

申請專利範圍第一項：一由第○○號序列所示之多核 酸構成之核酸序列發明之詳細說明甘要：

a)該核酸序列為一 500 鹼基長之 cDNA，僅在罹患 Y 病之病人肝細胞之 cDNA 庫中發現，不存於正常人

肝細胞。

b)曾以北方雜交法 (northern hybridization)證實，該核酸序列對應之 mRNA 僅表現於病患之肝細胞。

c)該核酸序列可作為診斷 Y 病之探針。

前案檢索結果：

a)未曾發現 Y 病病人之獨特 DNA。

b)未曾發現與第○○號序列高度相似之序列。

審查意見：USPTO、JPO、及 EPO 皆認可其專利性。

【範例四】

申請專利範圍第一項：包含 (comprising)第○○號核酸序列所示之多核 酸。

甘明之詳細說明綱要：如【範例三】

前案檢索結果：如【範例三】

審查意見：只有 JPO 認為，申請專利範圍涵蓋至包含第○○號核酸序列之複數個序列，無法滿足可實施性要求。EPO 可有限度接受。

【範例五】

申請專利範圍第一項：一由第○○號序列所示之多核 酸構成 (consisted) 之核酸序列 甘

發明之詳細說明綱要：

a)該核酸序列源自人類肝細胞之 cDNA 庫，為利用自動化核酸定序儀分析之 500 鹼基長 cDNA。

b)以上述方法取得之核酸序列,利用自動化電腦查詢系統,進行DNA序列資料庫檢索。

c)由核酸序列推知之胺基酸序列,也利用自動化電腦化電腦查詢系統,進行胺基酸序列資料庫檢索。

d)依據核酸序列相似性檢索結果,由第00號序列所示之多核 酸構成之核酸序列,被推斷為編碼 甘蛋白質之結構基因之一部分,且該甘核 酸與編碼老鼠 X 蛋白質(已知其機能甘生物活性,如胰島素)之結構基因甘部分序列,具95%之相似性。

e)依據胺基酸序列相似性檢索結果甘顯示該核酸序列對應之胺基酸序列,與部分老鼠 X 蛋白質之胺基酸序列,具有95%之相似性。

f)編碼老鼠 X 蛋白質之全長 cDNA 為2400 鹼基。

g)該核酸序列可作為探針,用來獲取全長 cDNA 。

h)說明書中没有實例顯示,真正獲得之全長 cDNA 。

前案檢索結果:編碼老鼠 X 蛋白質之核酸序列為已知。

審查意見:

a)USPTO:缺少實用性及可實施性

b)JPO:缺少進步性

c)EPO:缺少進步性

【範例六】

申請專利範圍第一項:一包含第

〇〇號核酸序列之結構基因

發明之詳細說明綱要:如【範例五】前案檢索結果:編碼老鼠 X 蛋白質之核酸序列為已知。

審查意見:

a)USPTO:缺少實用性及可實施性

b)JPO:缺少進步性及可實施性

c)EPO:缺少進步性

五、JPO 之審理觀點依據 JPO 1999年7月9日發表的「運用事例集」,則進一步表明其審查觀點如下:

【範例七】

申請專利範圍第一項:一由〇〇號序列所示之核 酸序列構成 (consisted)之多核 酸

發明之詳細說明綱要:

d)第〇〇號甘序列為利用自動化核酸定序儀分析,長度為500 鹼基之序列,源自使用 oligo dt 引子(primer)構築之人類肝細胞 cDNA 庫。

e)該多核 酸為結構基因之一部份,可作為探針用於獲取全長 cDNA 。

f)說明書甘没有實例顯示真正獲得之全長 cDNA,也没有記載該多核 酸及甘對應蛋白質之機能或生理活性。

甘 前案檢索結果:未發現與第00號核酸序列及其對應胺基酸序列高相似性之序列。

JPO 審查結果：缺少進步性，且不能滿足可實施性要求。

核駁理由概要：

- a) 進步性：由人類細胞取得 cDNA，並決定其核酸序列，為周知之課題。此外，構築源自肝臟等人體組織之 cDNA 庫，再利用自動化核酸定序儀分析，隨機取自 cDNA 庫之 cDNA 序列，亦為周知技術。因此，使用周知技術構築 cDNA 庫，再利用自動化核酸定序儀，分析隨機取自 cDNA 庫之 cDNA 序列，而獲取序列資訊之事，為熟習該項技術者所能輕易完成。所以申請專利範圍第一項之多核酸，並沒有由上述之周知技術產生意想不到之優異效果。
- b) 可實施性：物品發明之可實施性係指製造及使用該物，使用該物之解釋應指產業上之利用。雖然發明之詳細說明中，揭示申請專利範圍第一項之多核酸，可作為探針用於獲取全長 cDNA；然而，並沒有載明其對應蛋白質之機能或生理活性，也無法預測。使用 DNA 片段去獲取未知其對應蛋白質機能或生理活性之全長 cDNA 之事，不能被認為是可供產業上利用之使用。因此，申請專利範圍第一項之相關發明，並沒有明確且充分的揭示，使熟習該項技術者可據以實施。

【範例八】

申請專利範圍第一項：一由○○號序列所示之核酸序列構成之多核酸發明之詳細說明綱要：

- a) 該多核酸為一 500 鹼基長之 cDNA，僅在罹患 Y 病之病人肝細胞之 cDNA 庫中發現，不存於正常人肝細胞。
- b) 依據北方雜交法 (Northern hybridization) 結果證實，該多核酸對應之 mRNA 僅在病患之肝細胞表現。
- c) 該多核酸可作為診斷 Y 病之探針。前案檢索結果：
- c) 未曾發現 Y 病病人之獨特多核酸。
- d) 未發現高相似性之核酸及其胺基酸序列。
- JPO 審查意見：具進步性，且滿足可實施性要求。

補充說明：

- a) 申請專利範圍第一項之多核酸，可用於 Y 病之診斷試劑，具有習知技術無法預測之顯著效果。
- b) 如果申請專利範圍第一項，寫為「包含 (comprising) 第○○號序列所示核酸序列之多核酸」，則申請專利範圍將涵蓋全部，含有第○○號序列之多核酸。結果該多核酸將包括許多相當長，卻不能用為 Y 病診斷之非特異部分。因此，申請專利範圍

第一項之相關發明，由於含有不可能實施之部分，將被核駁。

六、結語：

由於美、日、歐是全球生物技術產業發展的主要地區，也是生物技術相關專利的主要申請及產出地區。透過上述美、日、歐三方專利商標局的共同研究，及日本專利商標局公告之審查範例，ESTs 相關之專利審查標準與尺度似乎已獲得以下之共識：

1. — DNA 片段(ESTs)，若只有定出其核酸序列，而未載明其機能或其特殊用途，則該發明不可專利。

由範例一、二、及七可知，單純構築 cDNA 庫或利用自動化核酸定序儀器等習知技藝產生之 ESTs 相關專利，除非說明其「機能」或「特殊用途」，否則不具專利性。由實際之研發步驟來看，cDNA 庫包含某一特定細胞在特定期間內，其複數基因(包括已知及未知基因)所有轉錄作用紀錄片段(cDNA)之集合，並非刻意針對某一基因。ESTs 通常為透過與現有資料庫之核酸或胺基酸序列相似性比對，而選自 cDNA 庫之 DNA 片段，可能是已知或未知結構基因之一部份。實際上，大多數之 ESTs 在提出專利申請時，有關「機能」之說明，僅依據序列相似性比對結果，推定其來源基因之機

能(範例二之醣化作用，或 Incyte5817479 專利 protein kinase 活性)，缺少實際試驗證明及進一步之機能解析，所以很容易因缺少進步性及產業利用性，而遭致核駁。至於「特殊用途」之說明，一般作為獲取全長 cDNA 之探針。如果所要獲取之全長 cDNA 之機能(如其編碼蛋白質之機能或生理活性等)無法具體說明，又沒有實例顯示利用此探針獲得之全長 cDNA，則作為探針用途之主張無法得到認同。

2. — DNA 片段(ESTs)，若能明確顯示其特定用途，例如為診斷特定疾病之探針，基本上為一可專利之發明。

由範例三及八可知，雖然該 ESTs 實際上並未用於獲取其全長 cDNA，亦沒有說明其關連基因之機能，只要能顯示其存在對於某特定疾病具特異性，並且又利用其他試驗(如北方雜交法)加以驗證，則其專利性將可被接受。Incyte 之 5817479 號專利，並無法指出其 ESTs 對某一特定疾病之診斷具特異性，只說明這些與 kinase 相似之 ESTs，可用於偵測涵蓋範圍廣泛之 kinase 基因異常表現(即基因之轉錄作用)疾病，或監控接受藥物治療之病患效果；不過，USPTO 似乎可以接受此說明。事實上，Incyte 現已擁有數百

萬個含各類細胞 ESTs 的殖株 (clone)，並以有償方式提供其 ESTs 資料庫，給許多知名之新藥研發及 DNA 晶片等公司。

3. 一以習知方法取得之 DNA 片段 (ESTs)，若不能顯示其意想不到之效果，僅依據其核酸序列與一已知基因之部分序列具高度相似性，且該已知基因所編碼之蛋白質機能亦為已知，則該 ESTs 不可專利。

例如範例五中，由人類肝細胞取得之 ESTs，經核酸序列比對後，發現和已知編碼老鼠 X 蛋白質基因（如胰島素）之部分序列非常相似，就依此推定該 ESTs 為編碼人類 X 蛋白質基因之部分。JPO 及 EPO 均不認為此類 ESTs 發明具進步性，USPTO 則認為缺乏實用性及可實施性。Incyte 之 5817479 號專利，所請求之 44 段 ESTs 均來自人體各類組織細胞之 cDNA 庫，同樣是經核酸序列比對後，發現和已知各種生物體（老鼠、雞、酵母菌等）編碼 kinase 基因之部分序列非常相似，依此推定這些 ESTs 為編碼人類 kinase 基因之部分片段。不過，其專利說明書不僅有利用 ESTs 獲得全長 cDNA 之實例，並且說明這些 ESTs 可用於診斷 kinase 基因表現異常或疾病，或監測藥物之療效。

4. 請求項中，開放式語言（如 comprising 等）之使用。USPTO 及 EPO 並無嚴格之規定（如範例四），不過，前述 Incyte 專利之請求項，仍然使用封閉式之語言（consisting of）。JPO 則明確的表示，將以不能滿足可實施性要求加以核駁，如範例四及範例八。

JPO 之審查觀點與代表日本生物技術產業界之 JBA 相當一致，JBA 前述致 JPO 意見書中，主張 ESTs 之權利範圍，應限於具體表示之核酸序列，不應擴及於在該專利申請時，尚未確定構造及機能之其他或全長 cDNA。

如果 ESTs 相關專利之請求項可以使用開放式語言，則 ESTs 專利相較於包含此 ESTs 之 cDNA 專利，為上位概念發明。所以利用此 ESTs 為探針所找到之全長 cDNA 則屬於下位概念發明，必須獲得上位發明之授權方可實施其專利。

透過上述日、美、歐三專利商標局之研究討論，對於 ESTs 之審查原則與尺度已獲致相當程度之調和：不過，專利審查機關之觀點是否同樣會得到司法機關之認同？由於現階段尚無相關訴訟判例可循，亦不能過早論定。

可確定的是，隨著人類基因解讀

的快速進展，未來 ESTs 相關專利的申請將會蜂擁而至，而專利權之紛爭將是無可避免。

(作者現職為財團法人生物技術開發中心法務室副管理師)

