

DECISION DU COMMISSAIRE

EVIDENCE: Lignée de cellules hépatiques d'origine humaine

La lignée de cellules faisant l'objet des revendications 1 et 2 étant le produit d'une formation accidentelle, il a été décidé que ces revendications sont non brevetables.

DECISION FINALE: Confirmée en partie: les revendications 1 et 2 ont été rejetées. Des modifications ont été suggérées en ce qui concerne les autres revendications.

La présente décision a trait à une demande de révision par le Commissaire des brevets de la décision finale de l'examineur, datée du 9 juillet 1973 et concernant la demande 086,556 (Catégorie 195-35). La demande a été déposée le 25 juin 1970, au nom de Kostadin Apostolov et est intitulée "Lignée de cellules hépatiques d'origine humaine". La Commission d'appel des brevets a tenu audience le 26 mars 1975; M. K.P. Murphy représentait le demandeur.

La demande porte sur une nouvelle lignée de cellules hépatiques d'origine humaine, et leurs cultures. Une lignée de cellules est une culture de cellules établie, ayant des capacités de reproduction infinies in vitro lorsqu'elle est repiquée régulièrement dans un milieu adéquat; ces cellules sont généralement non-diploïdes (comme par exemple des aneuploïdes ou hétéroploïdes) et subissent des modifications morphologiques différentes. La présente lignée de cellules peut être reproduite dans une culture in vitro et est utile à la culture des virus servant à la préparation des vaccins.

Dans la décision finale, l'examineur a rejeté toutes les revendications, parce qu'elles n'innovent pas par rapport au brevet canadien 630,490 accordé à Westwood et parce que la lignée de cellules, étant le produit d'une transformation accidentelle, n'est pas brevetable.

Dans la présente décision, l'examineur a déclaré en partie:

L'antériorité décrit un procédé pour transformer les cellules hépatiques d'origine humaine en traitant le tissu hépatique d'origine avec de la trypsine pour obtenir une dispersion de cellules qui sont alors soumises à une incubation prolongée

dans un milieu nutritif ordinaire tel que le milieu Parker n° 199 ou le milieu Eagle, additionné d'un sérum de mammifère. Au cours de l'incubation, les caractères particuliers des cellules subissent des modifications. Selon Westwood et ses collaborateurs, les cellules transformées se reproduisent sous forme d'flots compacts de cellules épithéliales aplaties polygonales. Elles sont en outre caractérisées par un cytoplasme granuleux et dense, par des noyaux contenant de 2 à 8 nucléoles foncés et par une prolifération rapide. Ces caractéristiques et la méthode de production sont essentiellement les mêmes que celles que l'on retrouve dans la lignée de cellules revendiquée par le demandeur. L'antériorité décrit aussi la culture ultérieure des cellules transformées dans des conditions semblables à celles employées dans le procédé de transformation, et la méthode plus ou moins classique de faire la culture des virus sur ces cellules, en association avec un milieu de culture ordinaire. Les revendications 3 à 13 ne diffèrent pas de ces données.

Le demandeur soutient que sa lignée de cellules est morphologiquement différente en raison de l'énoncé cité en page 4 du brevet, qui indique qu'il y a une ressemblance entre cette lignée de cellules et les cellules HeLa que l'on retrouve dans le cancer de l'utérus chez la femme. Cependant les explications qui suivent et qui indiquent que "la morphologie est influencée par la nature du sérum employé" démontrent que la forme apparente des cellules n'est pas un critère absolu.

...

Enfin, dans la divulgation que l'on peut voir à la page 4, lignes 20 à 26, le demandeur indique que la méthode employée pour obtenir la lignée de cellules est le résultat d'un événement fortuit; il l'affirme également dans ses lettres du 19 mai 1972 et du 4 avril 1973. Afin d'être brevetable, un produit doit, entre autres choses, pouvoir être uniformément productible par un procédé reproductible et, à moins que l'opérateur ne puisse être assuré qu'il obtiendra le produit chaque fois qu'il répétera le procédé, le produit en question ne peut être revendiqué même s'il existe ou non des revendications concernant le procédé lui-même. Ainsi, même si la lignée de cellules était nouvelle, elle reste non brevetable parce qu'elle ne peut être produite de façon prévisible à partir de tissu hépatique normal.

La réponse à la décision finale, datée du 9 janvier 1974, se lit comme suit (en partie):

Examinons tout d'abord l'objection de l'examineur qui dit que la lignée de cellules, étant le produit d'une transformation accidentelle, elle est par conséquent non brevetable.

Il y a lieu de croire que cette objection ne vise que les revendications concernant la lignée de cellules elle-même. Je vous fais respectueusement remarquer que le demandeur ne revendique pas la méthode de production de la lignée de cellules mais bien la lignée de cellules elle-même et les méthodes utilisant cette lignée de cellules; ces méthodes sont en tout point reproductibles.

...

Les revendications contenues dans la demande visent un produit et son usage. Un échantillon du produit a été déposé dans un dépôt public où il est possible de se le procurer; quant à la méthode revendiquée,

qui utilise la lignée de cellules, elle constitue une méthode de culture de cette lignée de cellules afin d'obtenir un produit final identique au produit de départ, mais en plus grande quantité; cette méthode est en tout point reproductible.

Par conséquent, il est évident que l'invention revendiquée est clairement reproductible et, à l'expiration de la durée du brevet, le public pourra se servir avec succès de cette invention.

Sur la foi de ces commentaires, je demande que cette opposition soit reconsidérée.

L'autre opposition sur laquelle repose le rejet des revendications, c'est que ces revendications n'innoyent pas par rapport aux données contenues dans le brevet canadien n° 630,490.

Comme on l'a déjà fait remarquer et comme il a été indiqué dans le mémoire descriptif accompagnant la demande, la lignée de cellules de la présente invention ressemble, en ce qui concerne sa morphologie et son activité biochimique, aux cellules hépatiques fonctionnelles in vivo dont elles proviennent. Cette lignée a en outre l'avantage d'être faite de cellules hétéroplodes, contrairement aux cellules hépatiques d'origine qui sont diploides.

A ce stade, il importe de faire remarquer que la ressemblance qui existe entre la lignée de cellules qui fait l'objet de la présente invention et les cellules hépatiques normales est surprenante si on considère les différences variées et fondamentales qu'il y a entre les cellules hépatiques d'origine et la lignée de cellules. Ce n'est habituellement pas le cas et, généralement, les cellules d'une lignée retournent à un état d'insignifiance relative et perdent les particularités structurelles et fonctionnelles qui caractérisaient les cellules d'origine in vivo (nous nous référons ici à l'ouvrage "Principles of Cell Culture" par D.O. White du Département of Bacteriology, University of Melbourne, surtout à la page 173; pièce jointe).

Avec la mise au point de la lignée de cellules qui fait l'objet de la présente invention, le demandeur croit avoir produit, pour la première fois, une lignée de cellules épithéliales d'origine humaine gardant la morphologie et l'activité biochimique des cellules hépatiques d'origine in vivo, en même temps qu'elles présentent l'avantage, particulier aux lignées de cellules hétéroplodes, de se reproduire rapidement et, par conséquent, d'accélérer le rythme de production en masse des virus et des vaccins.

...

La formation de la lignée de cellules de la présente invention est décrite à la page 5 de la divulgation et comprend les étapes suivantes:

- a) la trypsinisation du tissu hépatique provenant d'embryons humains et
- b) la conservation du tissu trypsiné dans le milieu de culture Eagle's Minimum Essential mélangé à 10 p. 100 de sérum de boeuf, à une température de 37°C pendant quelques mois.

Si on considère maintenant le brevet canadien accordé à Westwood et à ses collaborateurs qui a été cité, on se rend compte que cette invention avait pour objet l'amélioration des méthodes de culture pour virus. L'objet énoncé de l'invention est de fournir une méthode servant à établir un système de culture des virus à partir de tissus provenant surtout d'animaux autres que les primates. Mais le brevet décrit aussi la formation de systèmes de culture à partir de tissus de primates.

Le brevet canadien décrit largement la transformation que subit le tissu d'origine en formant tout d'abord une dispersion de cellules en soumettant le tissu à l'action de la trypsine ou de la versene, suivie par une dispersion des cellules dispersées dans un milieu nutritif adéquat. Le pH du milieu de culture est essentiellement neutre vu qu'il est entre 7 et 7.8 et les cellules s'y multiplient.

Le brevet canadien indique que le temps qui s'écoule avant la première apparition des cellules transformées varie, mais qu'en général un minimum de 25 jours est nécessaire, alors que le maximum "peut être de 70 jours".

...

En résumé, il est à remarquer qu'il n'existe aucune évidence de dépôt ou d'existence d'une lignée de cellules hépatiques d'origine humaine dérivée par Westwood et ses collaborateurs au moyen d'un sérum bovin, et toutes les tentatives visant à obtenir des données supplémentaires concernant cette lignée de cellules se sont soldées par des échecs. Nous ne pouvons accepter qu'une vague divulgation des lignées de cellules de Westwood et de ses collaborateurs, qui sont certainement différentes de celles dont il est question dans la présente invention, puisse être invoquée comme antériorité.

La première question que la Commission étudiera est de savoir si "la lignée de cellules est le produit d'une transformation accidentelle et par conséquent non brevetable".

Les revendications 1 et 2 se rapportent à:

Une lignée de cellules hépatiques épithéliales hétéroplodes d'origine humaine qui, lorsqu'elle est cultivée dans un milieu de culture, forme des flots de cellules individuels et séparés ou des agglutinations distinctes, possède une morphologie qui ressemble étroitement à celle des cellules hépatiques du foie humain et un temps de reproduction qui ne dépasse pas 24 heures; sa production est accrue lorsque le milieu de culture est additionné de un pour cent de glucose et elle se prête à la culture des virus.

Une lignée de cellules hépatiques épithéliales hétéroplodes comme celle qui a été mise en dépôt à l'American Type Culture Collection et qui porte le numéro CL48.

Il est à noter que le demandeur ne revendique pas le procédé de production des produits qui font l'objet des revendications 1 et 2.

Il est fort possible que le demandeur ait mis au point une lignée de cellules hépatiques hétéropléides épithéliales d'origine humaine dont la morphologie et l'activité biochimique ressemblent à celles des cellules hépatiques fonctionnelles in vivo dont elles découlent, alors que d'autre part, elles ont l'avantage d'être hétéropléides, contrairement aux cellules hépatiques d'origine qui sont diploïdes; et que leur morphologie et leur action biochimique sont "extrêmement surprenantes" compte tenu des différences diverses et fondamentales qui existent entre les cellules d'origine et la lignée de cellules.

La création d'une lignée de cellules peut produire un objet brevetable présentant le caractère de la nouveauté et de l'utilité tel qu'il est stipulé à l'article 2 de la Loi sur les brevets, du moment que le demandeur peut aussi satisfaire aux exigences de l'article 36 de cette même loi, qui se lit comme suit:

Dans le mémoire descriptif, le demandeur doit décrire d'une façon exacte et complète l'invention et son application ou exploitation, telles que les a conçues l'inventeur, et exposer clairement les diverses phases d'un procédé, ou le mode de construction, de confection, de composition ou d'utilisation d'une machine, d'un objet manufacturé ou d'une machine, d'un objet manufacturé ou d'un composé de matières, dans des termes complets, clairs, concis et exacts qui permettent à toute personne versée dans l'art ou la science dont relève l'invention ou dans l'art ou la science qui s'en rapproche le plus, de confectionner, construire, composer ou utiliser l'objet de l'invention ... (les traits soulignant certains mots ont été ajoutés).

Cet article stipule clairement que tout mémoire descriptif doit exposer l'invention dans des termes "clairs, concis et exacts" capables de permettre à toute personne versée dans l'art, de "confectionner, construire, composer ou utiliser l'objet de l'invention".

Le demandeur soutient qu'il devrait être autorisé à revendiquer la "lignée de cellules". Cependant, comme on peut le voir à la lecture de la citation suivante, tirée de la divulgation, page 3, 20^e ligne, la lignée de cellules est le produit d'une formation accidentelle: "Quoique les sources commerciales de cultures (collections de cultures reconnues) constituent la méthode la plus simple de se procurer une lignée de cellules d'après la présente invention, il n'est pas complètement impossible ou improbable qu'une lignée de cellules hépatiques hétéropléides épithéliales d'origine humaine ayant une morphologie et une fonction substantiellement identiques puisse être produite par d'autres méthodes ou par un semblable événement fortuit".

Le demandeur fait en outre valoir qu'il a enseigné la façon d'utiliser la lignée de cellules (ce avec quoi nous sommes d'accord) et la façon de la produire (en faisant la culture de la lignée de cellules nouvellement créée). A notre avis, ce n'est pas suffisant. Il doit aussi enseigner aux personnes versées dans l'art à la produire à partir de sa source originale, en effectuant la mutation de cellules humaines. Il ne peut remplir cette dernière exigence car, de son propre aveu, la mutation est le produit d'un accident fortuit. La seule méthode qu'il est en mesure d'enseigner pour la production de cette lignée de cellules (culture de reproduction) présuppose et exige au préalable que la lignée de cellules existe déjà. En d'autres mots, la lignée de cellules existait déjà, résultant d'une circonstance fortuite, avant que le demandeur ait fait quoi que ce soit qui puisse être considéré comme une invention. L'accident fortuit qui a produit la lignée de cellules qui fait l'objet des revendications 1 et 2 n'a aucun caractère d'invention.

L'examineur n'a pas fait allusion à une autre opposition à la revendication 1 que nous aurions voulu voir explorée. Il s'agit de savoir s'il est approprié et possible de breveter un organisme vivant. Comme cette opposition n'a pas été faite, et qu'il existe d'autres raisons de refuser la revendication 1, nous n'irons pas plus loin dans cette voie.

Le demandeur nous fait remarquer (et nous sommes d'accord avec lui) que la "capacité d'obtenir la protection conférée par le brevet constitue une condition préalable à la poursuite de la recherche dans cette nouvelle technique qui offre à l'humanité des avantages presque sans limites". Cette stimulation peut cependant être réalisée par des revendications autres que les revendications 1 et 2.

Nous sommes par conséquent convaincus que le demandeur n'a pas droit à la protections conférée par le brevet pour la prétendue invention définie dans les revendications 1 et 2. A notre avis, il n'y a pas là objet d'invention brevetable. Ces revendications ne respectent pas l'article 36 de la Loi sur les brevets. La question suivante est de savoir si l'objet des revendications 3 à 13 présente un caractère suffisamment empreint de nouveauté par rapport à l'antériorité Westwood. Il n'y a pas de doute que l'objet de ces revendications respecte

les exigences de l'article 36. La disponibilité des matériaux de base a été assurée (la lignée de cellules provenant d'une collection de cultures) et le procédé, lorsque mis en pratique, produira les résultats désirés d'une façon artificielle et contrôlable. Les revendications 3, 11 et 13 en constituent un bon exemple:

- Revendication 3 Une méthode de culture des lignées de cellules hépatiques épithéliales hétéropléides d'origine humaine, telle que définie dans la revendication 2, et qui comprend le maintien des cellules dans un milieu de culture nutritif.
- Revendication 11 Une méthode de culture des virus qui comprend l'inoculation d'une lignée de cellules, telle que définie dans la revendication 1, avec un virus auquel les cellules sont sensibles, et la culture de cette lignée de cellules dans un milieu de culture nutritif.
- Revendication 13 Une culture de virus, comprenant une lignée de cellules ou culture telle que décrite dans les revendications 1 et 8, contaminée par des virus auxquels les cellules sont sensibles, associée à un milieu de culture nutritif.

Le brevet de Westwood qui a été cité a trait au traitement de tissu hépatique provenant d'un foetus humain (ceci est un exemple particulier); ce tissu est soumis à l'action de la trypsine et gardé en culture pendant 33 jours dans un milieu ordinaire contenant 10 p. 100 de sérum humain. La revendication 1 du brevet Westwood définit cette culture comme suit:

Un système de culture des virus comprenant des cellules transformées viables produites par la culture de cellules provenant de tissu de mammifère dans un milieu nutritif; ces cellules transformées sont généralement de petite taille et de forme polygonale, leur cytoplasme comporte des granulations qui sont visibles au microscope de phase, elles ont généralement des noyaux circulaires d'apparence granuleuse comprenant habituellement 2 à 8 nucléoles foncés; elles possèdent légèrement le pouvoir d'absorber les particules de carbone et se reproduisent en général d'une façon désordonnée.

Il est à remarquer que la lignée de cellules H11 de Westwood ressemble aux cellules HeLa. A la ligne 19, colonne 7, de la divulgation de Westwood, on peut lire que dans un milieu approprié, les cellules ressemblent beaucoup aux cellules HeLa mais que la morphologie est influencée par la nature du sérum utilisé.

La déclaration et l'affidavit du docteur Bauer, un expert dans ce domaine dont l'affidavit a été présenté lors de l'audition, établissent que la lignée

de cellules Apostolov qui fait l'objet de la présente demande est très différente des cellules de la lignée HeLa. Selon le docteur Bauer, les distinctions suivantes peuvent être faites:

- i) La morphologie des colonies - la lignée de cellules Apostolov forme des flots de cellules individuels et séparés ou des agglutinations distinctes typiques des lobules hépatiques du foie, alors que la lignée HeLa forme des couches de cellules comme dans tous les systèmes ordinaires de culture des tissus. (Cette opinion est corroborée par une déclaration publiée à la page 707, ligne 12, du J. of Exp. Med. op. cit qui mentionne les couches de cellules;).
- ii) Les peroxisomes - ces particules intracellulaires sont grosses et nombreuses dans la lignée Apostolev indiquant un métabolisme similaire à celui du foie normal, alors qu'elles sont absentes dans la lignée HeLa;
- iii) Les mitochondries - dans la lignée Apostolov, les mitochondries ont une membrane limitante épaisse et présentent de nombreuses crêtes indiquant une activité fonctionnelle intense comme dans les cellules d'origine; les cellules de la lignée HeLa ont une activité faible ou restreinte en raison de la minceur de l'enveloppe de leurs mitochondries et du petit nombre de crêtes;
- iv) Les pinosomes - ils sont absents dans les cellules brevetées et dans la lignée Apostolov mais ils sont présents dans la lignée Apostolov mais ils sont présents dans la lignée HeLa où ils se déplacent de la périphérie vers le noyau;
- v) Le réticulum endoplasmique - cette structure du cytoplasme fondamental est bien développée dans la lignée Apostolov comme dans les cellules d'origine, mais elle est peu abondante dans la lignée HeLa;
- vi) Les filaments membraneux comme, par exemple, les microvillosités - les microvillosités sont présentes en grand nombre à la surface des cellules de la lignée HeLa mais sont absentes dans la lignée HeLa et dans ses cellules d'origine;
- vii) Le glycogène de réserve - cette substance est présente dans la lignée Apostolov et dans le foie, mais elle est absente dans la lignée HeLa (voir plus loin).
- viii) Temps de reproduction - par définition, ce temps ne dépasse pas 24 heures dans la lignée Apostolov alors qu'on sait que dans la lignée HeLa, les cellules ne se divisent que 15 fois en 7 jours, (voir l'ATCC Handbook) donnant ainsi un temps de reproduction considérablement plus long pour chaque division des cellules.

En raison du fait que la lignée de cellules HeLa, de l'aveu même du demandeur, est comparable à la lignée de cellules de Westwood, nous sommes persuadés que le brevet Westwood ne peut être invoqué comme antériorité en ce qui concerne la lignée de cellules Apostolov.

L'examineur, après avoir étudié la preuve présentée lors de l'audience, était également convaincu que l'antériorité Westwood devrait être retirée.

Nous ne sommes cependant pas convaincus que les revendications 3 et 8 sont admissibles dans leur forme actuelle. La revendication 3 traite d'une méthode générale de culture de la lignée de cellules qui fait l'objet de la revendication 2. Cette méthode de culture d'une lignée de cellules n'a aucune utilité inhérente autre que celles de reproduire ladite lignée de cellules en plus grandes quantités, d'y faire la culture des virus ou d'en isoler des produits du métabolisme. Le demandeur a cependant eu un résultat inattendu. La morphologie et l'activité biochimique de la nouvelle lignée de cellules sont "extrêmement surprenantes". Nous serions disposés, par conséquent, à accorder au demandeur une revendication portant sur un mode d'emploi, tout comme s'il avait découvert une utilisation inattendue pour un produit connu. La revendication 3 serait par conséquent acceptée si elle était modifiée de façon à se lire comme suit: " ... dans un milieu de culture nutritif pour la production de glycogène ou d'enzymes". La revendication 8 serait aussi acceptée si elle était aussi amendée de la même manière. Ces revendications représenteront l'application nouvelle et praticable d'une nouvelle découverte.

Nous remarquons que le demandeur a réussi à faire accepter des revendications relatives à cette lignée de cellules au Royaume-Uni, en Suisse et dans d'autres pays; nous sommes cependant convaincus que l'objet des revendications 1 et 2 n'est pas brevetable au Canada et que ces revendications doivent être refusées. Nous recommandons en outre que l'antériorité Westwood soit retirée.

J.F. Huges,
Vice-président de la
Commission d'appel des brevets.

Je souscris aux conclusions de la Commission d'appel des brevets et je refuse d'accorder un brevet pour les revendications 1 et 2. L'antériorité Westwood est retirée. Le demandeur a six mois pour supprimer les revendications 1 et 2 et apporter les modifications suggérées aux revendications 3 et 8 ou pour interjeter appel de la présente décision, aux termes de l'article 44 de la Loi sur les brevets.

Telle est ma décision,

A.M. Laidlaw,
Commissaire des brevets

Fait à Hull (Québec)
le 15 août 1975.