附表一

申請專利範圍
1. 一種用於基因轉形之勝任細胞液，包括：DH5α 大腸桿菌勝任細胞；一細胞培養基，係選自於由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；一待轉形基因，其藉由至少一載體而被植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；10%~15%之二甲亞碸；一生理緩衝液，係選自於由 Pipies 緩衝液、Tris 緩衝液及 PBS 緩衝液所構成之群組之一緩衝液；至少一抗凍劑；以及一二價金屬鹽溶液；其中，該勝任細胞液使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價。
2. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該待轉形基因為重組 DNA。
3. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該待轉形基因為互補 DNA。
4. 如申請專利範圍第 2 或 3 項之勝任細胞液，其中，該待轉形基因為接合 DNA。
5. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該待轉形基因載體為一質體 DNA。
6. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該抗凍劑為甘油。
7. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該二價金屬鹽為氯化錳。
8. 如申請專利範圍第 1 項之勝任細胞液，其中，該二價金屬鹽為氯化鈣。
9. 一種用於 DH5α 大腸桿菌勝任細胞之轉形緩衝液，包括：一生理緩衝溶液，係選自於由 Pipies 緩衝液、Tris 緩衝液及 PBS 緩衝液所構成之群組之一緩衝液；10%~15%之二甲亞碸；至少一抗凍劑；以及一二價金屬鹽溶液；其中，該轉形緩衝液使該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞無須熱休克便能於轉形後維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價。
10.如申請專利範圍第 9 項之轉形緩衝液，其中，該抗凍劑為甘油。
11.如申請專利範圍第 9 項之轉形緩衝液，其中，該二價金屬鹽為氯化錳。
12.如申請專利範圍第 9 項之轉形緩衝液，其中，該二價金屬鹽為氯化鈣。
13.一種用於 DH5α 大腸桿菌勝任細胞之基因轉形試劑，包括：DH5α 大腸桿菌勝任細胞；一細胞培養基，係選自由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；一待轉形基因，其藉由至少一載體而被植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；以及一轉形緩衝液，係包含：10%~15%之二甲亞碸；一生理緩衝液，係選自於由 Pipies 緩衝液、Tris 緩衝液及 PBS 緩衝液所構成之群組之一緩衝液；至少一抗凍劑；以及一二價金屬鹽溶液；其中，該基因轉形試劑使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價。
14.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該待轉形基因為重組 DNA。
15.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該待轉形基因為互補 DNA。
16.如申請專利範圍第 14 或 15 項之基因轉形試劑，其中，該待轉形基因為接合

DNA。
17.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該待轉形基因載體為一質體 DNA。
18.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該抗凍劑為甘油。
19.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該二價金屬鹽為氯化錳。
20.如申請專利範圍第 13 項之基因轉形試劑，其中，該二價金屬鹽為氯化鈣。
21.一種大腸桿菌基因轉形方法，包括以下步驟：解凍 DH5α 大腸桿菌勝任細胞；培養該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞至一細胞培養基，該細胞培養基係選自於由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；轉形至少一基因片段並且將該至少一基因片段植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；以及混合該轉形株至一轉形緩衝液；其中，該轉形緩衝液包含有 10%~15%之二甲亞碸，使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價。

附表二

技術特徵編號	系爭專利請求項 1	上訴人公司 實驗工作紀錄簿	是否揭露
1-1	一種用於基因轉形之勝任細胞液，包括：	簿號 003 第 30 頁： 題目為「製 Top10、DH5α E.coli Competent Cell」	是
1-2	DH5α 大腸桿菌勝任細胞；	簿號 003 第 30 頁： 題目為「製 Top10、DH5α E.coli Competent Cell」	是
1-3	一細胞培養基，係選自於由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；	簿號 013 第 14 頁： E.coli Competent Cell protocol -80℃ 菌株→LB 劃菌 O/N→LB 20ml +single colony(125 ml flask) →10 點多測 OD→	是
1-4	一待轉形基因，其藉由至少一載體而被植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；	-	無法比對

1-5	10%~15%之二甲亞碸；	簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml、RbCl 1M 10ml、PEG 30% 5ml、DMSO 3.5ml、ddH_2O 26.5ml，合計 50ml； 簿號 012 第 37 頁:Title Competent cell (4/27) DMSO 7% 結果推論 A8 配方中有加 7%DMSO、遮蔽及 5%glycerol 較佳。 簿號 013 第 15 頁： A8 A 1ml，B 2ml，C 1ml，D 1ml，50%glycerol 1ml、DMSO 0.7ml、遮蔽 0.4ml、H2O 2.9ml (DMSO 的體積百分比為 7%) 日期 2002.11.2	否
1-6	一生理緩衝液，係選自於由 Pipies 緩衝液、Tris 緩衝液及 PBS 緩衝液所構成之群組之一緩衝液；	簿號 013 第 15 頁： TB buffer 10 mM Pipes	否 (未揭示 TB buffer 是否用於 A8 配方?)
1-7	至少一抗凍劑；	簿號 013 第 15 頁： A8 50% glycerol 1ml 日期:2002.11.2	是
1-8	一二價金屬鹽溶液；	簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml 簿號 13 第 15 頁: TB buffer	是

		10 mM Pipes $MnCl_2$(氯化錳)(見本院卷第228頁) $CaCl_2$(氯化鈣)(見本院卷第228頁)	
1-9	其中該勝任細胞液使該轉形株無須熱休克便能維持$1.3x10^{7-9}$之轉形效率力價	簿號031第80頁、90-91頁： (陳怡玲進行有關勝任細胞在no heat shock下之轉形效率之測試結果) no heat shock	無法比對(無法說明是否係使用A8配方進行轉形)

附表三

技術特徵編號	系爭專利請求項9	上訴人公司 實驗工作紀錄簿	是否揭露
9-1	一種用於DH5α大腸桿菌勝任細胞之轉形緩衝液，包括	簿號012第37頁 題目 Competent Cell (4/27) DH5α A8	無法比對
9-2	一生理緩衝液，係選自於由Pipies緩衝液、Tris緩衝液及PBS緩衝液所構成之群組之一緩衝液；	簿號013第15頁： TB buffer 10 mM Pipes	否 (未揭示TB buffer是否用於A8配方?)
9-3	10%~15%之二甲亞碸；	簿號003第30頁：(日期900318) 配A8，$MgCl_2$ 1M 5ml、RbCl 1M 10ml、PEG 30% 5ml、DMSO 3.5ml、ddH_2O 26.5ml，合計50ml；	否

		簿號 012 第 37 頁:Title Competent cell (4/27) DMSO 7% 結果推論 A8 配方中有加 7%DMSO、遮蔽及 5%glycerol 較佳。 簿號 013 第 15 頁： A8 A 1ml，B 2ml，C 1ml，D 1ml，50%glycerol 1ml 、 DMSO 0.7ml 、(遮蔽) 0.4ml 、H2O 2.9ml (DMSO 的體積百分比為 7%) 日期 2002.11.2	
9-4	至少一抗凍劑；	簿號 013 第 15 頁： A8 50% glycerol 1ml 日期:2002.11.2	是
9-5	一二價金屬鹽溶液；	簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml 簿號 13 第 15 頁: TB buffer 10 mM Pipes $MnCl_2$(氯化錳)(見本院卷第 228 頁) $CaCl_2$(氯化鈣)(見本院卷第 228 頁)	是
9-6	其中該勝任細胞液使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價	簿號 031 第 80 頁、90-91 頁：(陳怡玲進行有關勝任細胞在 no heat shock 下之轉形效率之測試結果) no heat shock	無法比對(無法說明是否係使用 A8 配方進行轉形)

附表四

技術特徵編號	系爭專利請求項 13	上訴人公司 實驗工作紀錄簿	是否揭露
13-1	一種用於 DH5α 大腸桿菌勝任細胞之基因轉形試劑包括：	-	無法比對
13-2	DH5α 大腸桿菌勝任細胞；	簿號 003 第 30 頁: 題目為「製 Top10、DH5α E.coli Competent Cell」	是
13-3	一細胞培養基，係選自於由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；	簿號 013 第 14 頁： E.coli Competent Cell protocol -80℃ 菌株→LB 劃菌 O/N→LB 20ml +single colony(125 ml flask) →10 點多測 OD→	是
13-4	一待轉形基因，其藉由至少一載體而被植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；	-	無法比對
13-5	轉形緩衝液，係包含 10%~15%之二甲亞碸；一生理緩衝液，係選自於由 Pipies 緩衝液、Tris 緩衝液及 PBS 緩衝液所構成之群組之一緩衝液；至少一抗凍劑；以及一二價金屬鹽溶液；	簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml、RbCl 1M 10ml、PEG 30% 5ml、DMSO 3.5ml、ddH_2O 26.5ml，合計 50ml 簿號 012 第 37 頁:Title Competent cell (4/27) DMSO 7% 結果推論 A8 配方中有加 7%DMSO、遮蔽及 5%glycerol 較佳。 簿號 013 第 15 頁：	否

		A8 A 1ml，B 2ml，C 1ml，D 1ml，50%glycerol 1ml 、 DMSO 0.7ml、遮蔽 0.4ml、H2O 2.9ml (DMSO 的體積百分比為 7%) 日期 2002.11.2 簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml 簿號 13 第 15 頁正面: TB buffer 10 mM Pipes $MnCl_2$(氯化錳)(見本院卷第 228 頁) $CaCl_2$(氯化鈣) (見本院卷第 228 頁)	
13-6	其中該勝任細胞液使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7-9}$ 之轉形效率力價	簿號 031 第 80 頁、90-91 頁：(陳怡玲進行有關勝任細胞在 no heat shock 下之轉形效率之測試結果) no heat shock	無法比對(無法說明是否係使用 A8 配方進行轉形)

附表五

技術特徵編號	系爭專利請求項 21	上訴人公司 實驗工作紀錄簿	是否揭露
21-1	一種大腸桿菌基因轉形方法，包括以下步驟：	簿號 013 第 14 頁： E.coli Competent Cell protocol	無法比對

21-2	解凍 DH5α 大腸桿菌勝任細胞；	簿號 013 第 14 頁： E.coli Competent Cell protocol -80℃ 菌株→LB 劃菌 O/N→LB 20ml +single colony(125 ml flask) →10 點多測 OD→	無法比對
21-3	培養該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞至一細胞培養基，該細胞培養基係選自於由 SOC、SOB 及 LB 培養基所構成之群組之一細胞培養基，以維持該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞轉形前後之菌株生長；	簿號 013 第 14 頁： E.coli Competent Cell protocol -80℃ 菌株→LB 劃菌 O/N→LB 20ml +single colony(125 ml flask) →10 點多測 OD→	是
21-4	轉形至少一基因片段並且將該至少一基因片段植入該 DH5α 大腸桿菌勝任細胞內以形成一轉形株；以及	-	無法比對
21-5	混合該轉形株至一轉形緩衝液；	-	無法比對
21-6	其中，該轉形緩衝液包含有 10%~15%之二甲亞碸，	簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml、RbCl 1M 10ml、PEG 30% 5ml、DMSO 3.5ml、ddH_2O 26.5ml，合計 50ml 簿號 012 第 37 頁: Title Competent cell (4/27) DMSO 7% 結果推論 A8 配方中有加 7%DMSO、遮蔽及 5%glycerol 較佳。 簿號 013 第 15 頁： A8	否

		A 1ml，B 2ml，C 1ml，D 1ml，50%glycerol 1ml 、 DMSO 0.7ml、遮蔽 0.4ml、H2O 2.9ml (DMSO 的體積百分比為 7%) 日期 2002.11.2 簿號 003 第 30 頁：(日期 900318) 配 A8，$MgCl_2$ 1M 5ml 簿號 13 第 15 頁: TB buffer 10 mM Pipes $MnCl_2$(氯化錳)(見本院卷第 228 頁) $CaCl_2$(氯化鈣)(見本院卷第 228 頁)	
21-7	使該轉形株無須熱休克便能維持 $1.3x10^{7\sim9}$ 之轉形效率力價。	簿號 031 第 80 頁、90-91 頁：(陳怡玲進行有關勝任細胞在 no heat shock 下之轉形效率之測試結果) no heat shock	無法比對(無法說明是否係使用 A8 配方進行轉形)