



(12) Translation of new
European patent specification
After opposition procedure

(11) NO/EP 2183693 B2

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.

G06F 19/00 (2018.01)
C12Q 1/68 (2018.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2014.03.17
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2014.01.01
(45)	Decision of the opposition in EPO	2018.11.14
	Decision of the opposition in NIPO	2019.02.18
(86)	European Application Nr.	08776043.5
(86)	European Filing Date	2008.07.23
(87)	The European Application's Publication Date	2010.05.12
(30)	Priority	2007.07.23, US, 951438 P
(84)	Designated Contracting States:	AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
(73)	Proprietor	The Chinese University of Hong Kong, Office of Research and Knowledge Transfer Services Room 301, Pi Ch'iu Building, Shatin New Territories, Hong Kong, Hong Kong
(72)	Inventor	LO, Yuk-Ming Dennis, 4th Floor7 King Tak Street, HomantinKowloon, Hong Kong CHIU, Rossa Wai Kwun, Flat 1A, Block 1Constellation Cove1 Hung Lam DriveTai Po, New Territories, Hong Kong CHAN, Kwan Chee, Flat A, 13/FBlock 34Broadway StreetMei Foo Sun Chuen, Kowloon, Hong Kong
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	DIAGNOSING FETAL CHROMOSOMAL ANEUPLOIDY USING GENOMIC SEQUENCING
(56)	References Cited:	WO-A-2007/092473, BISCHOFF F Z ET AL: "CELL-FREE FETAL DNA AND INTACT FETAL CELLS IN MATERNAL BLOOD CIRCULATION: IMPLICATIONS FOR FIRST AND SECOND TRIMESTER NON-INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS" HUMAN REPRODUCTION UPDATE, OXFORD UNIVERSITY PRESS, OXFORD, GB, vol. 8, no. 6, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 493-500, XP009024999 ISSN: 1355-4786, CHRISTINA FAN AND STEPHEN R QUAKE H: "Detection of Aneuploidy with Digital Polymerase Chain Reaction" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. COLUMBUS, US, vol. 79, no. 19, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 7576-7579, XP007905914 ISSN: 0003-2700 [retrieved on 2007-08-24], DENNIS LO AND ROSSA W K CHIU Y M: "Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids" NATURE REVIEWS GENETICS, MACMILLAN MAGAZINES, GB, vol. 8, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 71-77, XP007905874, LO Y M DENNIS ET AL: "Noninvasive prenatal diagnosis of fetal

chromosomal aneuploidies by maternal plasma nucleic acid analysis" CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, vol. 54, no. 3, 17 January 2008 (2008-01-17), pages 461-466, XP001536860 ISSN: 0009-9147, LO YMD ET AL: "Digital PCR for the molecular detection of fetal chromosomal aneuploidy." PNAS, vol. 104, no. 32, 7 August 2007 (2007-08-07), pages 13116-13121, XP007905909, ZHOU W ET AL: "Counting alleles to predict recurrence of early-stage colorectal cancers" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 359, no. 9302, 19 January 2002 (2002-01-19), pages 219-225, XP004791874 ISSN: 0140-6736 cited in the application, LUN FIONA M F ET AL: "Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma" CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, vol. 54, no. 10, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 1664-1672, XP009108983 ISSN: 0009-9147, MARGULIES MARCEL ET AL: "Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors", NATURE: INTERNATIONAL WEEKLY JOURNAL OF SCIENCE, NATURE PUBLISHING GROUP, UNITED KINGDOM, vol. 437, no. 7057, 15 September 2005 (2005-09-15), pages 376-380, XP002614589, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/NATURE03959, POHL GUDRUN ET AL: "Principle and applications of digital PCR." EXPERT REVIEW OF MOLECULAR DIAGNOSTICS JAN 2004, vol. 4, no. 1, January 2004 (2004-01), pages 41-47, XP009109051 ISSN: 1473-7159, SHIH I-M ET AL: "Evidence that genetic instability occurs at an early stage of colorectal tumorigenesis" CANCER RESEARCH, vol. 61, February 2002 (2002-02), pages 818-822, XP007905911, TONG YU K ET AL: "Noninvasive prenatal detection of fetal trisomy 18 by epigenetic allelic ratio analysis in maternal plasma: Theoretical and empirical considerations" CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, vol. 52, no. 12, 13 October 2006 (2006-10-13), pages 2194-2202, XP002470084 ISSN: 0009-9147 cited in the application, XIAO YAN ZHONG ET AL: "FETAL DNA IN MATERNAL PLASMA IS ELEVATED IN PREGNANCIES WITH ANEUPLOID FETUSES" PRENATAL DIAGNOSIS, CHICHESTER, SUSSEX, GB, vol. 20, no. 10, 1 October 2000 (2000-10-01), pages 795-798, XP008007704 ISSN: 0197-3851, LO YMD ET AL: "Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection" NATURE MEDICINE, vol. 13, no. 2, February 2007 (2007-02), pages 218-223, XP007905910 cited in the application

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

- 5 **1.** Fremgangsmåte for utføring av prenatal diagnostikk av en føtal kromosom-aneuploidi i en biologisk prøve oppnådd fra et kvinnelig individ som er gravid med et foster, hvori den biologiske prøven er maternelt plasma eller serum, og hvori prøven inkluderer cellefrie nukleinsyremolekyler fra det kvinnelige individet og fosteret, hvor fremgangsmåten omfatter å:
- 10 utføre en tilfeldig sekvensering på minst en del av en flerhet av nukleinsyremolekylene inneholdt i den biologiske prøven, for å oppnå et forhåndsbestemt antall sekvenser, hvori sekvensene representerer en fraksjon av det humane genom;
- 15 sammenstille, med et datasystem, hver sekvens med et humant genom;
- 20 bestemme en første mengde sekvenser identifisert som sammenstilt med et første kromosom;
- 25 bestemme en andre mengde sekvenser identifisert som sammenstilt med ett eller flere andre kromosomer;
- 30 bestemme en parameter fra den første mengden og den andre mengden; hvori parameteren representerer en relativ mengde mellom den første og andre mengden; og
- 35 sammenligne parameteren med én eller flere grenseverdier, for å bestemme en klassifisering av hvorvidt det eksisterer en føtal kromosom-aneuploidi for det første kromosomet.
2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori det første kromosomet er kromosom 21, kromosom 18, kromosom 13, kromosom X eller kromosom Y.
3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori parameteren bestemmes fra et forhold mellom den første mengden og den andre mengden.
4. Fremgangsmåten ifølge krav 3, hvori forholdet er et fraksjonsantall av antallet sekvenser, et fraksjonstall av sekvenserte nukleotider eller en fraksjonslengde av akkumulerte sekvenser.
5. Fremgangsmåten ifølge krav 3, hvori sekvensene som er sammenstilt med det første kromosomet, er valgt til å være færre enn et angitt antall basepar.

6. Fremgangsmåten ifølge krav 5, hvori det angitte antallet basepar er 300 bp, 200 bp eller 100 bp.

5 **7.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den biologiske prøvens nukleinsyremolekyler er anriktet for sekvenser som stammer fra minst ett bestemt kromosom.

10 **8.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den biologiske prøvens nukleinsyremolekyler er anriktet for sekvenser med færre enn 300 bp.

9. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den biologiske prøvens nukleinsyremolekyler er anriktet for sekvenser med færre enn 200 bp.

15 **10.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den biologiske prøvens nukleinsyremolekyler er amplifisert ved hjelp av en polymerasekjedereaksjon.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori sekvensene som oppnås, representerer minst en forhåndsbestemt fraksjon av det humane genom.

20 **12.** Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori fraksjonen representerer minst 0,1 % av det humane genom.

13. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori fraksjonen representerer minst 0,5 % av det humane genom.

25 **14.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori minst én av grenseverdiene er avhengig av den fraksjonelle konsentrasjonen av føtalt DNA i den biologiske prøven.

30 **15.** Fremgangsmåten ifølge krav 14, hvori den fraksjonelle konsentrasjonen av føtalt DNA i den biologiske prøven bestemmes ved en hvilken som helst eller flere av en andel av Y-kromosomsekvenser, en føtal, epigenetisk markør, eller ved hjelp av analyse av enkelt nukleotid-polymorfisme.

35 **16.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori en grenseverdi er en referanseverdi fastsatt utfra én eller flere normale biologiske prøver.

17. Fremgangsmåten ifølge krav 1, ytterligere omfattende:

identifisere en mengde føtalt DNA i den biologiske prøven; og
 beregne antallet sekvenser som skal oppnås basert på en ønsket nøyaktighet og
 mengden føtalt DNA i den biologiske prøven.

- 5 **18.** Dataprogramprodukt omfattende et datalesbart medium kodet med en flerhet instruksjoner for å styre et databehandlingssystem til å utføre en operasjon for å utføre prenatal diagnostikk av en føtal kromosom-aneuploidi i en biologisk prøve oppnådd fra et kvinnelig individ som er gravid med et foster, hvor den biologiske prøven er maternelt plasma eller serum, og hvori prøven inkluderer cellefrie
- 10 nukleinsyremolekyler fra det kvinnelige individet og fra fosteret; hvor operasjonen omfatter trinnene med å:
- motta minst et bestemt antall sekvenser fra en tilfeldig sekvensering på minst en del av en flerhet av nukleinsyremolekylene inneholdt i den biologiske prøven og hvori sekvensene representerer en fraksjon av det humane genom;
- 15 sammenstille hver sekvens med et humant genom;
- bestemme en første mengde sekvenser identifisert som sammenstilt med et første kromosom;
- bestemme en andre mengde sekvenser identifisert som sammenstilt med ett eller flere andre kromosomer;
- 20 bestemme en parameter fra den første mengden og den andre mengden; hvori parameteren representerer en relativ mengde mellom den første og andre mengden;
- sammenligne parameteren med én eller flere grenseverdier; og
- basert på sammenligningen, bestemme en klassifisering av hvorvidt det eksisterer
- 25 en føtal kromosom-aneuploidi for det første kromosomet.
- 19.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, ytterligere omfattende;
- å beregne antallet nukleinsyremolekyler som skal sekvenseres, basert på en ønsket nøyaktighet.
- 30 **20.** Fremgangsmåten ifølge krav 19, hvori den ønskede nøyaktigheten er minst 95 %.
- 21.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori det bestemte antallet sekvenser for å
- 35 differensiere trisomi 21 fra euploide tilfeller er minst 120 000 når den biologiske prøven har 20 % eller mer føtalt DNA, minst 180 000 når den biologiske prøven

har 10 % eller mer føtalt DNA eller minst 540 000 når den biologiske prøven har 5 % eller mer foster-DNA.