



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2557517 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

G16B 20/10 (2019.01)

G16B 20/20 (2019.01)

C12Q 1/6827 (2018.01)

G16B 30/00 (2019.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.02.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2022.10.26
(86)	European Application Nr.	12180122.9
(86)	European Filing Date	2008.07.23
(87)	The European Application's Publication Date	2013.02.13
(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 Floor, 7 King Tak Street, Homantin, Kowloon Hong Kong, Kina Chiu, Rossa Wai Kwun, House 31, Double Haven 52 Ma Lok Path, Shatin, New Territories Hong Kong SAR, Kina Chan, Kwan Chee, Flat A, 13/F, Block 34 Broadway Street, Mei Foo Sun Chuen, Kowloon Hong Kong, Kina Zee, Benny Chung Ying, Flat 18E, Tower 2 La Costa, Ma on Shan, New Territories Hong Kong, Kina Chong, Ka Chun, Flat 06, 29/F Shin King House, Fu Shin Estate, Tai Po, New Territories Hong Kong, Kina
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	Determining a nucleic acid sequence imbalance
(56)	References Cited:	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, 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 RAVINDER DHALLAN ET AL: "A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study", THE LANCET, THE LANCET PUBLISHING GROUP, GB, vol. 369, 1 February 2007 (2007-02-01), pages 474-481, XP008144740, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60115-9 H. Christina Fan ET AL: "Detection of Aneuploidy with Digital PCR", , 8 May 2007 (2007-05-08), XP055143116, Retrieved from the Internet: URL: http://arxiv.org/abs/0705.1030

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/>

EP 2557517

Patentkrav

1. Datamaskinimplementert fremgangsmåte for å bestemme hvorvidt en nukleinsyresekvens-ulikevekt finnes i en biologisk prøve av et hunnindivider som er svanger med et foster som har et fostergenom, hvor den biologiske prøve innbefatter cellefri nukleinsyremolekyler fra hunnindivideret og fra fosteret, hvor den biologiske prøve er plasma, serum eller urin, idet fremgangsmåten omfatter:
 - å motta kvantitative data fra en flerhet av digitale PCR-reaksjoner som involverer de cellefri nukleinsyremolekyler fra den biologiske prøve, hvor hver reaksjon indikerer en tilstedeværelse eller et fravær av én av en flerhet av klinisk relevante nukleinsyresekvenser eller én av en flerhet av bakgrunn-nukleinsyresekvenser, hvor flerheten av klinisk relevante nukleinsyresekvenser er fra et første kromosom, og flerheten av bakgrunn-nukleinsyresekvenser er fra en flerhet av referansekromosomer som er forskjellige fra det første kromosom, hvor de kvantitative data innbefatter:
 - (1) første kvantitative data som indikerer et antall reaksjoner som er positive for en tilstedeværelse av hver av flerheten av klinisk relevante nukleinsyresekvenser; og
 - (2) andre kvantitative data som indikerer et antall reaksjoner som er positive for en tilstedeværelse av hver av flerheten av bakgrunn-nukleinsyresekvenser;
 - å bestemme en første mengde fra de første kvantitative data, hvor å bestemme den første mengde fra de første kvantitative data innbefatter:
 - for hver av de klinisk relevante nukleinsyresekvenser, å analysere de første kvantitative data for å bestemme et respektivt første antall reaksjoner som er positive for en tilstedeværelse av den respektive klinisk relevante nukleinsyresekvens; og
 - å beregne den første mengde ved å summere de respektive første antall;
 - å bestemme en andre mengde fra de andre kvantitative data, hvor å bestemme den andre mengde fra de andre kvantitative data innbefatter:
 - for hver av bakgrunn-nukleinsyresekvensene, å analysere de andre kvantitative data for å bestemme et respektivt andre antall reaksjoner som er positive for en tilstedeværelse av den respektive bakgrunn-nukleinsyresekvens; og
 - å beregne den andre mengde ved å summere de respektive andre antall;
 - å bestemme en parameter fra den første mengde og den andre mengde, hvor parameteren innbefatter et forhold mellom den første mengde og den andre mengde;
 - å sammenligne parameteren med én eller flere cutoff-verdier; og
 - basert på sammenligningen, å bestemme en klassifikasjon av om hvorvidt nukleinsyresekvens-ulikevekten finnes i fostergenomet for det første kromosom.

EP 2557517

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter:
å korrigere de respektive første antall og de respektive andre antall før den første
mengde og den andre mengde beregnes, idet korrigeringen innbefatter en Poisson-
korreksjon.
- 5
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter:
forut for gjennomføring av flerheten av digitale PCR-reaksjoner, å anrike den biologiske
prøve for flerheten av klinisk relevante nukleinsyresekvenser og flerheten av bakgrunn-
nukleinsyresekvenser.
- 10
4. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter:
å bestemme en fraksjonert konsentrasjon av foster-DNA i den biologiske prøve; og
å anvende den fraksjonerte konsentrasjon av foster-DNA til å bestemme den ene eller de
flere cutoff-verdier.
- 15
5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor å bestemme den fraksjonerte konsentrasjon av
foster-DNA i den biologiske prøve innbefatter en kvantifisering av en polymorf forskjell
mellom hunnindividet og fosteret.
- 20
6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, hvor kvantifiseringen innbefatter:
å identifisere et polymorft målsted på hvilket hunnindividet er homozygot og fosteret er
heterozygot; og
å sammenligne en mengde av en fosterspesifikk allel på det polymorfe målsted og en
mengde av en felles allel på det polymorfe målsted for å bestemme den fraksjonerte
25 konsentrasjon av foster-DNA, idet den felles allel ikke er fosterspesifikk.
7. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor fosteret er av hannkjønn, og hvor å bestemme den
fraksjonerte konsentrasjon av foster-DNA i den biologiske prøve innbefatter:
å bestemme en DNA-konsentrasjon for Y-kromosomet.
- 30
8. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor å bestemme den fraksjonerte konsentrasjon av
foster-DNA i den biologiske prøve innbefatter:
å sammenligne en mengde av DNA-molekyler som utviser et fosterspesifikt
metyleringsmønster på et første locus, med en samlet mengde av DNA-molekyler på det

EP 2557517

første

locus.

- 5 9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor fosteravledede DNA-molekyler på det første locus er hypermetylerte, og moravledede DNA-molekyler er hypometylerte.
- 10 10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvor flerheten av digitale PCR-reaksjoner er rolling-circle-amplifikasjonsreaksjoner.
- 15 11. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor flerheten av klinisk relevante nukleinsyresekvenser omfatter spesifikke mål-loci, og flerheten av bakgrunn-nukleinsyresekvenser omfatter spesifikke mål-loci.
- 15 12. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor flerheten av klinisk relevante nukleinsyresekvenser er ikke-konsekutive og ikke-polymorfe nukleinsyresekvenser.
- 20 13. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor flerheten av bakgrunn-nukleinsyresekvenser er ikke-polymorfe nukleinsyresekvenser.
- 25 14. Datamaskinprogramprodukt, omfattende et datamaskinlesbart medium som er kodet med en flerhet av anvisninger som, når de kjøres på et regnesystem, bevirker at regnesystemet gjennomfører en operasjon for å bestemme hvorvidt en nukleinsyresekvens-ulikevekt finnes i en biologisk prøve av et hunnindivd som er svanger med et foster ifølge fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 eller 5 til 13, hvor den biologiske prøve er plasma, serum eller urin og innbefatter cellefri nukleinsyremolekyler fra hunnindivdet og fra fosteret.