



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

(11) NO/EP 3004388 B2

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.

C12Q 1/6883 (2018.01)

C12Q 1/6881 (2018.01)

G01N 33/68 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2019.03.18
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.10.31
(45)	Decision of the opposition in EPO	2023.05.31
	Decision of the opposition in NIPO	2023.10.09
(86)	European Application Nr.	14804474.6
(86)	European Filing Date	2014.05.29
(87)	The European Application's Publication Date	2016.04.13
(30)	Priority	2013.05.29, US, 201361828553 P
(84)	Designated Contracting States:	AL; AT; BE; BG; CH; CY; CZ; DE; DK; EE; ES; FI; FR; GB; GR; HR; HU; IE; IS; IT; LI; LT; LU; LV; MC; MK; MT; NL; NO; PL; PT; RO; RS; SE; SI; SK; SM; TR
(73)	Proprietor	Chronix Biomedical, 5941 Optical Court, Suite 203E, San Jose, California 95138, USA
(72)	Inventor	SCHUTZ, Ekkehard, Rottenanger 30, Gottingen 37077, Tyskland BECK, Julia, Riemannstrasse 2, Gottingen 37083, Tyskland
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	DETECTION AND QUANTIFICATION OF DONOR CELL-FREE DNA IN THE CIRCULATION OF ORGAN TRANSPLANT RECIPIENTS
(56)	References Cited:	US-A1- 2012 115 737, US-A1- 2010 209 926, WO-A1-2012/115851, WO-A2-2013/159035, WO-A2-2008/098142, EP-A1- 1 325 963, WO-A1-2015/138997, SPARKS et al.: "Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18", American Journal of Obstetrics & Gynecology, vol. 206, no. 4, April 2012 (2012-04), pages 319.e1-319.e9, HIDESTRAND et al.: "254 Highly Sensitive Transplant Rejection Surveillance Using Targeted Detection of Donor Specific Cell Free DNA", The Journal of Heart and Lung Transplantation, vol. 31, no. 4S, April 2012 (2012-04), LI et al.: "Ready Detection of Donor-Specific Single Nucleotide Polymorphisms in the Urine of Renal Transplant Recipients by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectroscopy", Clinical Chemistry, vol. 51, no. 10, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 1903- 1904,

T. M. SNYDER ET AL: "Universal noninvasive detection of solid organ transplant rejection", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 108, no. 15, 28 March 2011 (2011-03-28), pages 6229-6234, XP055129832, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1013924108

GINEIKIENE et al.: "Single Nucleotide Polymorphism-Based System Improves the Applicability of Quantitative PCR for Chimerism Monitoring", Journal of Molecular Diagnostics, vol. 11, no. 1, January 2009 (2009-01), DOI: 10.2353/jmoldx.2009.080039

YING LI ET AL: "Ready Detection of Donor-Specific Single-Nucleotide Polymorphisms in the Urine of Renal Transplant Recipients by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry", CLINICAL CHEMISTRY, vol. 51, no. 10, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 1903-1904, XP055325501, DOI: 10.1373/clinchem.2005.055038

J. BECK ET AL: "Digital Droplet PCR for Rapid Quantification of Donor DNA in the Circulation of Transplant Recipients as a Potential Universal Biomarker of Graft Injury", CLINICAL CHEMISTRY, vol. 59, no. 12, 1 December 2013 (2013-12-01), pages 1732-1741, XP055214461, ISSN: 0009-9147, DOI: 10.1373/clinchem.2013.210328

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 3004388

1

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte for å evaluere integriteten til en transplantasjon i en mottaker, hvor fremgangsmåten omfatter å overvåke graden av graftcellefri DNA (cfDNA) ved å vurdere mengden av et SNP-donorallel i en cfDNA-prøve oppnådd fra blodet til
5 mottakeren, hvori SNP-allelet er forhåndsvalgt som en mindre allelfrekvens (MAF) på minst 0,4, og videre, hvori SNP-donorallelet er til stede i donoren og mottakeren er homozygot for et alternativt allel for den SNP-en, hvori SNP-allelet er identifisert uten å benytte en egen prøve fra donoren.
2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori kvantifisering av nivået av SNP-donorallelet
10 i cfDNA-prøven omfatter bestemmelse av prosentandelen av SNP-donorallelet i cfDNA-prøven.
3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 2, hvori cfDNA-prøven evalueres i løpet av dager, uker, måneder eller år.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor donorvevet er en
15 lever, et hjerte eller en nyre.
5. Fremgangsmåte for å detektere en SNP fra en donor for å overvåke transplantasjonsintegritet i en mottaker som mottar vev fra donoren, hvor fremgangsmåten omfatter:
 - (a) å identifisere at en SNP som har en mindre allelfrekvens på 0,4 eller større er
20 homozygot i mottakeren;
 - (b) å forsterke cellefri (cfDNA) fra en serum- eller plasmaprøve oppnådd fra mottakeren minst 5 dager etter transplantasjon av materiale fra donoren for å generere et bibliotek;
 - (c) å utføre en kvantitativ PCR-reaksjon for SNP-ene identifisert i (a) for å detektere
25 nærværet av det alternative allelet for en eller flere av SNP-ene; og
 - (d) å velge en SNP hvor den alternative SNP-en er til stede i cf-biblioteket for å overvåke transplantasjonsintegriteten til pasienten;hvor fremgangsmåten ikke benytter en separat prøve fra donoren.

EP 3004388

2

- 6.** Fremgangsmåten ifølge krav 5, hvori trinn (a) utføres ved anvendelse av DNA isolert fra perifere blodleukocytter oppnådd fra pasienten eller ved anvendelse av cfDNA fra trinn (b).
- 7.** Fremgangsmåte ifølge krav 5 eller 6, hvor SNP-en som har en mindre allelfrekvens på 0,4 eller større er en SNP fremsatt i tabell 1.
- 8.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 5-7, hvor SNP-en valgt i (d) er homozygot i donoren.
- 9.** Fremgangsmåte for å detektere en SNP fra en donor for å overvåke transplantasjonsintegritet i en mottaker som mottar vev fra donoren, hvor fremgangsmåten omfatter:
- (a) å identifisere at en SNP som har en mindre allelfrekvens på 0,4 eller større er homozygot i mottakeren;
 - (b) å forsterke cellefri (cfDNA) fra en blodprøve oppnådd fra mottakeren 24 timer eller mindre etter transplantasjon av transplantert materiale fra donoren for å generere et cf-bibliotek;
 - (c) å identifisere en SNP som har en mindre allelfrekvens på 0,4 eller større som homozygot i donoren ved anvendelse av cf-biblioteket fra trinn (b);
 - (d) å utføre en kvantitativ PCR-reaksjon for SNP-ene identifisert i (a) for å detektere nærværet av det alternative allelet for en eller flere av SNP-ene i donoren, og
 - (e) å velge en SNP hvor den alternative SNP-en er homozygot i donoren;
- hvor fremgangsmåten ikke anvender en separat prøve fra donoren.
- 10.** Fremgangsmåten ifølge krav 9, hvori trinn (a) utføres ved anvendelse av DNA isolert fra perifere blodleukocytter oppnådd fra pasienten.
- 11.** Fremgangsmåte ifølge krav 9 eller 10, hvor SNP-en som har en mindre allelfrekvens på 0,4 eller større er en SNP fremsatt i tabell 1.
- 12.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 5 til 11, som videre omfatter å oppnå en cfDNA-prøve fra mottakeren etter transplantasjon av donorvev;

EP 3004388

3

og

å kvantifisere nivået av SNP-donorallelet i cfDNA-prøven, eventuelt hvori

(i) kvantifiseringstrinnet omfatter bestemmelse av prosentandelen av SNP-donorallelet i cfDNA-prøven; og/eller

5 (ii) donorvevet er en lever, et hjerte eller en nyre.

13. Fremgangsmåte for å overvåke integriteten til et transplantat hos en transplantasjonsmottaker, fremgangsmåten omfatter å kvantifisere, i en cfDNA-prøve oppnådd fra transplantatmottakeren, mengden av et SNP-donorallel for en SNP valgt i et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor SNP-allelen identifiseres
10 uten å anvende en separat prøve fra donoren.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 13, hvori transplantasjonen er en lever, en nyre eller et hjerte.

15. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori SNP-en er valgt ved anvendelse av en fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 5
15 til 12.