



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3256605 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
G16B 20/00 (2019.01)
G16B 30/00 (2019.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.05.23
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2022.02.09
(86)	European Application Nr.	16748745.3
(86)	European Filing Date	2016.02.14
(87)	The European Application's Publication Date	2017.12.20
(30)	Priority	2015.02.10, US, 201562114471 P 2015.12.22, US, 201562271196 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	The Chinese University Of Hong Kong, Office of Research and Knowledge Transfer Services (ORKTS) Room 301Pi Ch'iu Building Shatin New Territories, Hong Kong 999077, Kina
(72)	Inventor	LO, Yuk-Ming Dennis, 4th Floor7 King Tak Street Homantin Kowloon, Hong Kong 999077, Kina CHIU, Rossa Wai Kwun, House 31 Double Haven 52 Ma Lok Path Shatin New Territories, Hong Kong 999077, Kina CHAN, Kwan Chee, Flat C 15th Floor Block 5 Peak One Mei Tin Road Shatin New Territories, Hong Kong 999077, Kina JIANG, Peiyong, Flat 7 on 1st Floor of Block B of Kwong Lam Court Nos. 62-66 (No.62) Siu Lek Yuen Road Shatin New Territories, Hong Kong, Kina
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	DETECTING MUTATIONS FOR CANCER SCREENING AND FETAL ANALYSIS
(56)	References Cited:	WO-A1-2014/039556, WO-A1-2014/130890, US-A1- 2014 100 121, US-A1- 2015 087 529 MARYAM HEIDARY ET AL: "The dynamic range of circulating tumor DNA in metastatic breast cancer", BREAST CANCER RESEARCH, CURRENT MEDICINE GROUP LTD, GB, vol. 16, no. 4, 9 August 2014 (2014-08-09) , page 421, XP021196558, ISSN: 1465-5411, DOI: 10.1186/S13058-014-0421-Y DAVID L GOODE ET AL: "A simple consensus approach improves somatic mutation prediction accuracy", GENOME MEDICINE,, vol. 5, no. 9, 30 September 2013 (2013-09-30), page 90, XP021165732, ISSN: 1756-994X, DOI: 10.1186/GM494 KRISTIAN CIBULSKIS ET AL: "Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 31, no. 3, 10 February 2013 (2013-02-10), pages 213-219, XP055256219, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.2514

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

1. Fremgangsmåte for identifisering av somatiske mutasjoner hos et humant subjekt ved å analysere en biologisk prøve av det humane subjekt, idet den biologiske prøve innbefatter deoksyribonukleinsyre (DNA)-fragmenter som stammer fra normale celler og potensielt fra tumorceller eller celler assosiert med kreft, idet den biologiske prøve innbefatter cellefri DNA-fragmenter, idet fremgangsmåten omfatter å utføre, ved hjelp av et computersystem:
- å motta en eller flere sekvenslesninger for hvert av en flerhet av DNA-fragmenter i den biologiske prøve;
 - 10 å sammenstille flerheten av sekvenslesninger til et humant referansegено under anvendelse av en første sammenstillingsfremgangsmåte for å bestemme genomiske posisjoner for flerheten av sekvenslesninger;
 - å sammenligne sekvenslesningene med et konstitusjonelt genom som svarer til det humane subjekt, for å identifisere et filtrert sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i et vev av det humane subjekt, hvor:
 - 15 på hvert locus av det filtrerte sett, er et antall av sekvenslesningene som har en sekvensvariant relativt til det konstitusjonelle genom, over en cutoff-verdi, idet cutoff-verdien er større enn én;
 - for hvert av et første sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å ha en somatisk mutasjon:
 - 20 å bestemme en størrelsesforskjell mellom en første gruppe av DNA-fragmenter som har sekvensvarianten, og en andre gruppe av DNA-fragmenter som har en villtype-allel;
 - å sammenligne størrelsesforskjellen med en størrelsesterskelverdi;
 - 25 når størrelsesforskjellen er mindre enn størrelsesterskelverdien, å forkaste kandidatlocuset som en potensiell mutasjon; og
 - å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i det humane subjekt under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.
- 30 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i et vev av det humane subjekt, videre innbefatter:

- å identifisere en gruppe av regioner som er kjent for å være assosiert med histonmodifikasjoner som er assosiert med kreft;
for hvert av et andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å ha en somatisk mutasjon:
- 5 å bestemme hvorvidt kandidatlocuset er i én av gruppen av regioner;
 å bestemme hvorvidt kandidatlocuset skal forkastes på grunnlag av hvorvidt kandidatlocuset er i én av gruppen av regioner, hvor det kandidatlocus som ikke er i én av gruppen av regioner, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for forkasting av kandidatlocuset enn når kandidatlocuset er i én av gruppen
- 10 av regioner;
 å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.
- 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, som videre omfatter:**
- 15 å bestemme en mutasjonslast for det humane subjekt under anvendelse av en mengde loci i det filtrerte sett av loci.
- 4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor mutasjonslasten bestemmes som et råtall av somatiske mutasjoner, en tetthet av somatiske mutasjoner per antall av baser,**
- 20 en prosentsats av loci av en genomisk region som er identifisert til å ha somatiske mutasjoner, et antall av somatiske mutasjoner som er observert i en bestemt prøvemengde, eller en økning sammenlignet med en referanselast.
- 5. Fremgangsmåte ifølge krav 3 eller 4, som videre omfatter:**
- 25 å sammenligne mutasjonslasten med en krefterskelverdi for å bestemme et omfang av kreft.
- 6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, hvor omfanget av kreft indikerer en tumor, idet fremgangsmåten videre omfattende:**
- 30 å bestemme en første mengde av histodonmodifikasjoner for hvert av en første flerhet av segmenter av det humane referansegenom;
 å bestemme en andre mengde av det filtrerte sett av loci for hvert av en andre flerhet av segmenter av det humane referansegenom;

3256605

3

5 å bestemme et første sett av segmenter som har den første mengde av
histonmodifikasjoner over en første terskelverdi, og som har den andre
mengde av det filtrerte sett av loci over en andre terskelverdi; og
5 å identifisere et opphavsvev av tumoren basert på det første sett av
segmenter.

7. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i et vev av det humane subjekt, videre innbefatter:

10 for hvert av et andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å
ha en somatisk mutasjon:

 å bestemme en fraksjon av sekvenslesninger som har sekvensvarianten;

 å sammenligne fraksjonen med en fraksjonsterskelverdi;

15 å bestemme hvorvidt kandidatlocuset skal forkastes som en potensiell
mutasjon basert på sammenligningen, hvor den fraksjon som er mindre enn
fraksjonsterskelverdien, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for forkasting
av kandidatlocuset enn den fraksjon som er større enn
fraksjonsterskelverdien; og

 å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i det
humane subjekt under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.

20

8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, som videre omfatter:

å måle en fraksjonert konsentrasjon av tumor-DNA i den biologiske prøve, hvor
fraksjonsterskelverdien bestemmes basert på den fraksjonerte konsentrasjon.

25 **9.** Fremgangsmåte ifølge krav 7 eller 8, som videre omfatter:

å identifisere én eller flere aberrante regioner som har en kopitallsaberrasjon, hvor
fraksjonsterskelverdien som anvendes for et kandidatlocus i en aberrant region, er
avhengig av hvorvidt den aberrante region utviser en kopitallsøkning eller et
kopitallstap.

30

10. Fremgangsmåte ifølge krav 7 eller 8, som videre omfatter:

å identifisere én eller flere aberrante regioner som har en
kopitallsaberrasjon; og

5 å identifisere at en første sekvenslesning fra en første aberrant region som
utviser en kopitallsøkning, med større sannsynlighet har en somatisk
mutasjon enn en andre sekvenslesning fra en andre aberrant region som
utviser et kopitallstap, som del av å bestemme hvorvidt sekvenslesninger
for å bestemme antallet av sekvenslesninger som har en sekvensvariant
relativt til det konstitusjonelle genom for hvert av det filtrerte sett av loci,
skal forkastes.

10 **11.** Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor den ene eller de flere aberrante regioner
defineres ved:

for hvert av det andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt
å ha en somatisk mutasjon:
å beregne en tilsynelatende mutant fraksjon av en sekvensvariant relativ til
det konstitusjonelle genom;
15 for hver av en flerhet av regioner:
å bestemme en varians i de tilsynelatende mutante fraksjoner av
kandidatlociene i den aberrante region;
å sammenligne variansen med en variansterskelverdi, hvor en aberrant
region som utviser en kopitallsøkning, har en varians som er større enn
20 variansterskelverdien.

12. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor sekvenseringen er metyleringsbevisst
sekvensering, og hvor å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske
mutasjoner i et vev av det humane subjekt, videre innbefatter:

25 for hvert av et andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å
ha en somatisk mutasjon:
for hver av sekvenslesningene som er sammenstilt til kandidatlocuset og
har sekvensvarianten:
å bestemme en metyleringsstatus av det tilsvarende analyserbare DNA-
30 molekyl på ett eller flere steder;
å bestemme hvorvidt sekvenslesningen skal forkastes basert på
metyleringsstatusen, hvor den metyleringsstatus som ikke metyleres,
tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste sekvenslesningen enn

- den metyleringsstatus som metyleres, idet det derved opnås et antall gjenværende sekvenslesninger;
- å sammenligne antallet av gjenværende sekvenslesninger med en kandidatterskelverdi; og
- 5 å bestemme hvorvidt kandidatlocuset skal forkastes basert på sammenligningen av antallet av gjenværende sekvenslesninger med kandidatterskelverdien, hvor det antall av gjenværende sekvenslesninger som er mindre enn kandidatterskelverdien, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste kandidatlocuset enn det antall av gjenværende
- 10 sekvenslesninger som er større enn kandidatterskelverdien; og
- å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.
- 13.** Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha
- 15 somatiske mutasjoner i et vev av det humane subjekt, videre innbefatter:
- for hvert av et andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å ha en somatisk mutasjon:
- for hver av sekvenslesningene som er sammenstilt til kandidatlocuset og har sekvensvarianten:
- 20 å bestemme en endeposisjon som svarer til hvor en ende av sekvenslesningen sammenstilles;
- å sammenligne endeposisjonen med en flerhet av kreftspesifikke eller kreftassosierte sluttposisjoner;
- å bestemme hvorvidt sekvenslesningen skal forkastes basert på
- 25 sammenligningen, hvor den endeposisjon som ikke er en kreftspesifikk eller kreftassosiert sluttposisjon, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste sekvenslesningen enn den endeposisjon som er en kreftspesifikk eller kreftassosiert sluttposisjon, idet det derved opnås et antall gjenværende sekvenslesninger;
- 30 å sammenligne antallet av gjenværende sekvenslesninger med en kandidatterskelverdi; og
- å bestemme hvorvidt kandidatlocuset skal forkastes basert på sammenligningen av antallet av gjenværende sekvenslesninger med

kandidatterskelverdien, hvor det antall av gjenværende sekvenslesninger som er mindre enn kandidatterskelverdien, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste kandidatlocuset enn det antall av gjenværende sekvenslesninger som er større enn kandidatterskelverdien; og

5 å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor sekvenseringen utføres under anvendelse av en enkeltstrengt sekvensering-bibliotektillagingsfremgangsmåte som

10 tilveiebringer et etterfølgende sekvenseringstrinn for å gi to strenglesninger for hvert mal-DNA-molekyl, hvor å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner i et vev av det humane subjekt, videre innbefatter:

for hvert av et andre sett av kandidatloci som er identifisert som potensielt å ha en somatisk mutasjon:

15 for hvert par av strenglesninger som sammenstilles til kandidatlocuset: å bestemme hvorvidt begge strenger har sekvensvarianten; å bestemme hvorvidt sekvenslesningen skal forkastes basert på hvorvidt begge strenger har sekvensvarianten, hvor begge strenger som ikke har sekvensvarianten, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste strenglesningene enn den kun ene strenglesning som har sekvensvarianten, idet det derved oppnås et antall gjenværende sekvenslesninger;

20 å sammenligne antallet av gjenværende sekvenslesninger med en kandidatterskelverdi; og

25 å bestemme hvorvidt kandidatlocuset skal forkastes basert på sammenligningen av antallet av gjenværende sekvenslesninger med kandidatterskelverdien, hvor det antall av gjenværende sekvenslesninger som er mindre enn kandidatterskelverdien, tilveiebringer en høyere sannsynlighet for å forkaste kandidatlocuset enn det antall av gjenværende sekvenslesninger som er større enn kandidatterskelverdien; og

30 å identifisere det filtrerte sett av loci til å ha somatiske mutasjoner under anvendelse av de gjenværende kandidatloci.

3256605

15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor cellefri DNA-fragmenter fra tumorceller eller celler assosiert med kreft omfatter mindre enn 50% av de cellefri DNA-fragmenter i den biologiske prøve.

16. Computerprogram omfattende en flerhet av instruksjoner som kan kjøres på et computersystem, som når således kjørt styrer computersystemet til å utføre en operasjon ifølge et hvilket som helst av de foregående krav.