



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3325664 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/6869 (2018.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
G16B 20/00 (2019.01)
G16B 25/00 (2019.01)
G16B 30/00 (2019.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.05.02
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.12.29
(86)	European Application Nr.	16827283.9
(86)	European Filing Date	2016.07.25
(87)	The European Application's Publication Date	2018.05.30
(30)	Priority	2015.07.23, US, 201562196250 P 2016.02.12, US, 201662294948 P 2016.02.14, WO, PCT/CN16/073753
(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 Homantim 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 CourtNos. 62-66 (No.62) Siu Lek Yuen Road Shatin New Territories, Hong Kong 999077, Kina
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	ANALYSIS OF FRAGMENTATION PATTERNS OF CELL-FREE DNA
------	-------	--

(56)	References Cited:	WO-A1-2014/039556 US-A1- 2015 011 403 CN-A- 104 781 422 WO-A2-2013/190441
------	-------------------	--

CN-A- 104 662 168

US-A1- 2014 080 715

HEIDI SCHWARZENBACH ET AL: "Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients", NATURE REVIEWS. CANCER, vol. 11, no. 6, 12 May 2011 (2011-05-12), pages 426-437, XP55247315, GB ISSN: 1474-175X, DOI: 10.1038/nrc3066

JASENKA, WAGNER.: 'Free DNA - new potential analyte in clinical laboratory diagnostics' BIOCHEMIA MEDICA vol. 22, no. 1, 15 February 2012, pages 24 - 38, XP055214999

PEIYONG JIANG ET AL: "Preferred end coordinates and somatic variants as signatures of circulating tumor DNA associated with hepatocellular carcinoma", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 115, no. 46, 29 October 2018 (2018-10-29), pages E10925-E10933, XP055524306, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1814616115

DINEIKA CHANDRANANDA ET AL: "High-resolution characterization of sequence signatures due to non-random cleavage of cell-free DNA", BMC MEDICAL GENOMICS, vol. 8, no. 1, 17 June 2015 (2015-06-17), XP55450660, DOI: 10.1186/s12920-015-0107-z

HEIDI, SCHWARZENBACH ET AL.: 'Cell -free nucleic acids as biomarkers in cancer patients' NATURE REVIEWS CANCER vol. 11, 12 May 2011, pages 426 - 437, XP055247315

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. Computerimplementert fremgangsmåte for analysering av en biologisk prøve, innbefattende en blanding av cellefri DNA-molekyler fra en flerhet av vevstyper som innbefatter en første vevstype, for å bestemme en klassifisering av et
5 proporsjonalt bidrag av den første vevstype i blandingen, idet fremgangsmåten omfatter:
- å identifisere et første sett av genomiske posisjoner hvorpå ender av cellefri DNA-molekyler av den første vevstype opptrer ved en rate over en terskelverdi;
 - 10 å analysere, ved hjelp av et computersystem, en første flerhet av cellefri DNA-molekyler fra den biologiske prøve av et individ, hvor å analysere et cellefritt DNA-molekyl innbefatter:
 - å bestemme en genomisk posisjon i et referansegenom svarende til minst én ende av det cellefri DNA-molekyl;
 - 15 basert på analyseringen av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler, å bestemme at et første antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler ender inne i ett av en flerhet av vinduer, idet hvert vindu innbefatter minst én av det første sett av genomiske posisjoner;
 - å beregne en relativ abundans av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender inne i ett av flerheten av vinduer, ved å normalisere
20 det første antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler under anvendelse av et andre antall av cellefri DNA-molekyler, hvor det andre antall av cellefri DNA-molekyler innbefatter cellefri DNA-molekyler som ender på et andre sett av genomiske posisjoner utenfor flerheten av
25 vinduer, som innbefatter det første sett av genomiske posisjoner; og
 - å bestemme klassifiseringen av det proporsjonale bidrag av den første vevstype ved å sammenligne den relative abundans med én eller flere kalibreringsverdier bestemt fra én eller flere kalibreringsprøver hvis proporsjonale bidrag av den første vevstype er kjent.
 - 30
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor å identifisere det første sett av genomiske posisjoner innbefatter:

5 å analysere, ved hjelp av et computersystem, en andre flerhet av cellefri DNA-molekyler fra minst én første ytterligere prøve for å identifisere endeposisjoner av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler, hvor det er kjent at den minst ene første ytterligere prøve innbefatter den første vevstype og er av en samme prøvetype som den biologiske prøve; for hvert genomiske vindu av en flerhet av genomiske vinduer: å beregne et tilsvarende antall av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på det genomiske vindu; og
10 å sammenligne det tilsvarende antall med en referanseverdi for å bestemme hvorvidt raten av cellefri DNA-molekyler som ender på én eller flere genomiske posisjoner inne i det genomiske vindu, er over terskelverdien.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, som videre omfatter:
15 å bestemme en størrelse av hver av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler, hvor å identifisere det første sett av genomiske posisjoner videre innbefatter:
 å bestemme en første statistisk verdi av en størrelsesfordeling av cellefri DNA-molekyler av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender inne i et første genomisk vindu som er bestemt til å ha raten over
20 terskelverdien;
 å sammenligne den første statistiske verdi med en størrelsesterskelverdi; og
 å utelukke det første genomiske vindu fra det første sett av genomiske posisjoner når den første statistiske verdi ikke overstiger
25 størrelsesterskelverdien.

4. Fremgangsmåte ifølge krav 2 eller 3, hvor den ene eller de flere kalibreringsprøver innbefatter den minst ene første ytterligere prøve, idet fremgangsmåten videre omfatter:
30 for hver av den ene eller de flere kalibreringsprøver:
 å måle et tilsvarende proporsjonalt bidrag av den første vevstype; og
 å bestemme en tilsvarende relativ abundans under anvendelse av de tilsvarende antall av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender

inne i flerheten av vinduer som svarer til det første sett av genomiske posisjoner, idet det derved oppnås et kalibreringsdatapunkt, hvor hvert kalibreringsdatapunkt angir det målte proporsjonale bidrag av den første vevstype for den ytterligere biologiske prøve og den tilsvarende relative abundans.

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 4, hvor de genomiske posisjoner hvis rate av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på den genomiske posisjon er over terskelverdien, omfatter et første supersett, og hvor å identifisere det første sett av genomiske posisjoner videre innbefatter:

å analysere, ved hjelp av computersystemet, en tredje flerhet av cellefri DNA-molekyler fra minst én andre ytterligere prøve som er identifisert som å ha en redusert mengde av den første vevstype, for å identifisere at et andre supersett av den tredje flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på den genomiske posisjon, er over terskelverdien; og
å identifisere det første sett av genomiske posisjoner som innbefattende de genomiske posisjoner som er i det første supersett og som ikke er i det andre supersett.

20

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 5, hvor referanseverdien innbefatter et målt antall av cellefri DNA-molekyler som ender inne i det genomiske vindu, hvor det målte antall bestemmes fra en tredje flerhet av cellefri DNA-molekyler av minst én andre ytterligere prøve som er identifisert som ikke tilhørende den første vevstype.

25

7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, som videre omfatter:
å bestemme en størrelse av hver av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler, hvor å identifisere det første sett av genomiske posisjoner videre innbefatter:

å bestemme en første statistisk verdi av en første størrelsesfordeling av cellefri DNA-molekyler av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på en første genomisk posisjon som er bestemt til å ha raten over terskelverdien;

30

- å bestemme en andre statistisk verdi av en andre størrelsesfordeling av cellefri DNA-molekyler av den tredje flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på én eller flere andre genomiske posisjoner som er bestemt til å ha raten over terskelverdien;
- 5 å sammenligne den første statistiske verdi med den andre statistisk verdi; og
- 10 å utelukke den første genomiske posisjon fra det første sett av genomiske posisjoner når den første statistiske verdi ikke overstiger den andre statistiske verdi med minst en bestemt mengde, for å indikere at den første størrelsesfordeling er mindre enn den andre størrelsesfordeling.

8. Fremgangsmåte ifølge krav 6 eller 7, hvor å sammenligne det tilsvarende antall med referanseverdien innbefatter:

- 15 å beregne et første forhold av det tilsvarende antall og et tredje antall av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som dekker det genomiske vindu; og
- 20 å sammenligne det første forhold med referanseverdien, idet referanseverdien innbefatter et referanseforhold av det målte antall avlesninger som ender inne i det genomiske vindu, og et fjerde antall av den tredje flerhet av cellefri DNA-molekyler som dekker det genomiske vindu og ikke ender inne i det genomiske vindu.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, hvor det genomiske vindu er en genomisk posisjon, og hvor den første vevstype har en flerhet av første vevsspesifikke alleler, og hvor å beregne det tilsvarende antall av den andre flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på den genomiske posisjon, innbefatter:

- 25 å identifisere hvorvidt det cellefri DNA-molekyl som ender på den genomiske posisjon, innbefatter minst én av flerheten av første vevsspesifikke alleler;
- 30 å innbefatte det cellefri DNA-molekyl i det tilsvarende antall når det cellefri DNA-molekyl innbefatter en første vevsspesifikk allel; og

ikke å innbefatte det cellefri DNA-molekyl i det tilsvarende antall når det cellefri DNA-molekyl ikke innbefatter en første vevsspesifikk allel.

- 10.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den første vevstype har en flerhet av første vevsspesifikke alleler i minst én ytterligere prøve, og hvor det første sett genomiske posisjoner bestemmes under anvendelse av cellefri DNA-molekyler av den minst ene ytterligere prøve som innbefatter minst én av flerheten av første vevsspesifikke alleler.
- 11.** Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor det andre sett genomiske posisjoner er slik at ender av cellefri DNA-molekyler av en andre vevstype oppstår ved en rate som er over terskelverdien i den minst ene ytterligere prøve, hvor den andre vevstype har en flerhet av andre vevsspesifikke alleler i den minst ene ytterligere prøve, og hvor det andre sett genomiske posisjoner bestemmes under anvendelse av cellefri DNA-molekyler av den minst ene ytterligere prøve som innbefatter minst én av flerheten av andre vevsspesifikke alleler.
- 12.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor flerheten av vinduer har en bredde på én genomisk posisjon, og hvor den relative abundans beregnes ved:
- for hver genomiske posisjon av det første sett av genomiske posisjoner:
 - å beregne et tilsvarende antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender på den genomiske posisjon som del av å bestemme at det første antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler ender på en hvilken som helst av de første sett av genomiske posisjoner;
 - å beregne et tredje antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler som dekker den genomiske posisjon og ikke ender på den genomiske posisjon som del av å bestemme det andre antall av cellefri DNA-molekyler;
 - å beregne et første forhold av det tilsvarende antall og det tredje antall;
 - å beregne en middelerverdi av de første forhold som den relative abundans.
- 13.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den relative abundans beregnes ved:

- for hver genomiske posisjon av det første sett av genomiske posisjoner:
 å beregne et tilsvarende antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender inne i et første vindu som innbefatter den genomiske posisjon som del av å bestemme at det første antall av den første flerhet av
 5 cellefri DNA-molekyler ender inne i én av flerheten av vinduer;
 å beregne et tredje antall av den første flerhet av cellefri DNA-molekyler som ender inne i et andre vindu som innbefatter den genomiske posisjon, hvor det andre vindu er større enn det første vindu;
 å beregne et første forhold av det tilsvarende antall og det tredje antall;
 10 å beregne en middelerdi av de første forhold som den relative abundans.

- 14.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den første vevstype er en tumor, og hvor klassifiseringen velges fra en gruppe bestående av: en mengde tumorvev i individet, en størrelse på tumoren i individet,
 15 et trinn av tumoren i individet, en tumorbyrde i individet, og tilstedeværelse av tumormetastase i individet.

- 15.** Computerprogram omfattende en flerhet av instruksjoner som, når programmet kjøres, utfører fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de
 20 foregående krav.

- 16.** System som omfatter moduler som er respektivt anordnet til å utføre fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 14.