



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3967775 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

G16B 20/10 (2019.01)

C12Q 1/6869 (2018.01)

C12Q 1/6886 (2018.01)

C12Q 1/6827 (2018.01)

C12Q 1/6883 (2018.01)

G16B 25/10 (2019.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.11.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.08.23
(86)	European Application Nr.	21196292.3
(86)	European Filing Date	2016.07.25
(87)	The European Application's Publication Date	2022.03.16
(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
(62)	Divided application	EP3325664, 2016.07.25
(73)	Proprietor	The Chinese University of Hong Kong, Office of Research and Knowledge Transfer Services Room 301, Pi Ch'iu Building, Shatin, New Territories 999077, Hong Kong
(72)	Inventor	LO, Yuk-Ming Dennis, Kowloon, 999077, Kina CHIU, Rossa Wai Kwun, Shatin, New Territories, 999077, Kina CHAN, Kwan Chee, Shatin, New Territories, 999077, Kina JIANG, Peiyong, New Territories, 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

WO-A2-2013/190441

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, XP055247315, GB ISSN: 1474-175X, DOI: 10.1038/nrc3066

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), XP055450660, DOI: 10.1186/s12920-015-0107-z

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

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/>

3967775

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for å analysere en biologisk prøve, idet fremgangsmåten omfatter:

- 5 å identifisere i det minste én genomisk region som har et fragmenteringsmønster som er spesifikk for en første vevstype;
- å analysere en flerhet av cellefri DNA-molekyler fra den biologiske prøve, idet den biologiske prøve innbefatter cellefri DNA-molekyler fra en flerhet av vevstyper som innbefatter den første vevstype, hvor å analysere et cellefritt DNA-molekyl innbefatter:
- 10 å bestemme en genomisk posisjon i et referansegеном, som svarer til i det minste én ende av det cellefri DNA-molekyl;
- å identifisere et første sett av første genomiske posisjoner, idet hver første genomiske posisjon har et lokalt minimum av ender av cellefri DNA-molekyler som svarer til den første genomiske posisjon;
- 15 å identifisere et andre sett av andre genomiske posisjoner, idet hver andre genomiske posisjon har et lokalt maksimum av ender av cellefri DNA-molekyler som svarer til den andre genomiske posisjon;
- å bestemme et første antall cellefri DNA-molekyler som ender på en hvilken som helst av de første genomiske posisjoner i en hvilket som helst av den i
- 20 det minste ene genomiske region;
- å bestemme et andre antall cellefri DNA-molekyler som ender på en hvilken som helst av de andre genomiske posisjoner i en hvilket som helst av den i
- det minste ene genomiske region;
- å beregne en skilleverdi under anvendelse av det første tall og det andre
- 25 tall; og
- å bestemme en klassifisering av et proporsjonalt bidrag av den første vevstype ved å sammenligne skilleverdien med én eller flere kalibreringsverdier bestemt fra én eller flere kalibreringsprøver hvis proporsjonale bidrag av den første vevstype er kjent.

30

3967775

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det første sett av første genomiske posisjoner innbefatter atskillige genomiske posisjoner, hvor det andre sett av andre genomiske posisjoner innbefatter atskillige genomiske posisjoner,

5 hvor å bestemme det første antall av cellefri DNA-molekyler innbefatter å bestemme en første mengde av cellefri DNA-molekyler som ender på hver første genomiske posisjon, idet det derved bestemmes en flerhet av første mengder,

10 hvor å bestemme det andre antall av cellefri DNA-molekyler innbefatter å bestemme en andre mengde av cellefri DNA-molekyler som ender på hver andre genomiske posisjon, idet det derved bestemmes en flerhet av andre mengder, og

15 hvor å beregne skilleverdien innbefatter:
å bestemme en flerhet av separate forhold, hvert separate forhold av én av flerheten av første mengder og én av flerheten av andre mengder, og
å bestemme skilleverdien under anvendelse av flerheten av separate forhold.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor den i det minste ene genomiske region innbefatter (1) ett eller flere DNase-hypersensitivitetssteder, eller (2) ett eller flere ATAC-seq- eller mikrokokk-nukleasesteder.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor hver av den i det minste ene genomiske region som har fragmenteringsmønsteret som er spesifikt for den første vevstype, innbefatter én eller flere første vevsspesifikke
25 alleler i i det minste én ytterligere prøve.

5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor den ene eller de flere kalibreringsprøver innbefatter den i det minste ene ytterligere prøve.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, som videre omfatter:
30 for hver kalibreringsprøve av den ene eller de flere kalibreringsprøver:

å måle et tilsvarende proporsjonalt bidrag av den første vevstype; og

3967775

å bestemme en tilsvarende skilleverdi under anvendelse av (1) et tilsvarende første antall cellefri DNA-molekyler som ender på en hvilken som helst én av de første genomiske posisjoner i en hvilken som helst én av den i det minste ene genomiske region for kalibreringsprøven, og (2) et

5 tilsvarende andre antall cellefri DNA-molekyler som ender på en hvilken som helst én av de andre genomiske posisjoner i en hvilken som helst én av den i det minste ene genomiske region for kalibreringsprøven, idet det derved oppnås ett eller flere kalibreringsdatapunkter, hvor hvert kalibreringsdatapunkt spesifiserer det målte proporsjonale bidrag av den

10 første vevstype for den i det minste ene ytterligere prøve og den tilsvarende skilleverdi.

7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor det ene eller de flere kalibreringsdatapunkter er en flerhet av kalibreringsdatapunkter som danner en

15 kalibreringsfunksjon som nærmer seg flerheten av kalibreringsdatapunkter.

8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor de cellefri DNA-molekyler som er innrettet til én genomisk posisjon av det første sett av første genomiske posisjoner, strekker seg over et bestemt antall nukleotider på

20 begge sider av den ene genomiske posisjon.

9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor det bestemte antall er mellom 10 og 80 nukleotider.

25 **10.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor å identifisere det første sett av første genomiske posisjoner innbefatter:

for hver av en flerhet av genomiske posisjoner:

å bestemme en første mengde av cellefri DNA-molekyler som befinner seg på den genomiske posisjon og strekker seg over et bestemt antall

30 nukleotider på begge sider av den genomiske posisjon;

å bestemme en andre mengde av cellefri DNA-molekyler som befinner seg på den genomiske posisjon; og

3967775

5 å bestemme et forhold av (1) den første mengde av cellefri DNA-molekyler
som befinner seg på den genomiske posisjon og strekker seg over et
bestemt antall av nukleotider til begge sider av den genomiske posisjon, og
(2) den andre mengde av cellefri DNA-molekyler som befinner seg på den
genomiske posisjon; og
 å identifisere en flerhet av lokale minima og en flerhet av lokale maksima i
forholdene.

10 **11.** Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor for en gitt genomisk posisjon av flerheten
av genomiske posisjoner, svarer den andre mengde av cellefri DNA-molekyler
som befinner seg på den genomiske posisjon, til et totalt antall av de cellefri DNA-
molekyler som er innrettet til den gitte genomiske posisjon.

15 **12.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den
biologiske prøve er plasma eller serum.

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

25 **14.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvor
klassifiseringen av det proporsjonale bidrag svarer til et område over en bestemt
prosentsats.

15. Computerprogram omfattende en flerhet av instruksjoner som kan utføres av
et computersystem, som når således utført styrer computersystemet til å utføre
fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående krav.