

(19)



SUOMI - FINLAND  
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN  
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI/EP4026917 T3**  
(12) **EUROOPPAPATENTIN KÄÄNNÖS**  
**ÖVERSÄTTNING AV EUROPEISKT PATENT**  
**TRANSLATION OF EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45) Käännöksen kuulutuspäivä - Kungörelsedag av översättning - **14.02.2024**  
Translation available to the public

(97) Eurooppapatentin myöntämispäivä - Meddelandedatum för **15.11.2023**  
det europeiska patentet - Date of grant of European patent

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassificering -  
International patent classification  
**C12Q 1/6883** (2018.01)  
**C12Q 1/6881** (2018.01)  
**C12Q 1/6886** (2018.01)

(96) Eurooppapatenttihakemus - Europeisk patentansökan - **EP22158931.0**  
European patent application

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **14.04.2015**

(97) Patenttihakemuksen julkiseksitulospäivä - Patentansökans **13.07.2022**  
publiceringsdag - Patent application available to the public

(30) Etuoikeus - Prioritet - Priority  
14.04.2014 US US201461979233 P

(73) Haltija - Innehavare - Holder

**1• Yissum Research and Development Company of the Hebrew University of Jerusalem Ltd.**, Hi-Tech Park, The Edmond J. Safra Campus  
The Hebrew University of Jerusalem Givat Ram P.O. Box 39135, 9139002 Jerusalem, (IL)  
**2• Hadasit Medical Research Services and Development Ltd.**, P.O. Box 12000 Kiryat Hadassah, 9112001 Jerusalem, (IL)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1• DOR, Yuval**, 9774415 Jerusalem, (IL)  
**2• SHEMER, Ruth**, 9078910 Mevasseret Zion, (IL)  
**3• GLASER, Benjamin**, 9692852 Jerusalem, (IL)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Berggren Oy**, P.O. Box 16 Eteläinen Rautatiekatu 10 A, 00101 Helsinki, (FI)

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Menetelmä ja välineistö solujen tai kudoksen kuoleman tai DNA:n kudoksen tai solualkuperäin määrittämiseksi DNA-metylaatioanalyysin avulla**  
**A METHOD AND KIT FOR DETERMINING THE DEATH OF CELLS OR TISSUE OR THE TISSUE OR CELL ORIGIN OF DNA BY DNA METHYLATION ANALYSIS**

## Patenttivaatimukset

1. Menetelmä solutyypin tai kudoksen kuoleman havaitsemiseksi kohteessa, joka menetelmä käsittää sen määrittämisen, onko kohteen verinäytteessä oleva solunulkoisen DNA (eng. cell-free DNA) peräisin kyseisestä solutyypistä tai kudoksesta, jolloin mainittu määrittäminen suoritetaan selvittämällä vähintään neljän metylaatiokohdan metylaatiostatus solunulkoisen DNA:n saman molekyylin yhtäjaksoisessa sekvenssissä, jolloin mainittu sekvenssi käsittää enintään 300 nukleotidia, jolloin kunkin mainitun vähintään neljän metylaatiokohdan metylaatiostatus DNA:n mainitun saman molekyylin mainitussa yhtäjaksoisessa sekvenssissä mainitulle solutyypille tai kudokselle tunnusomaisena ilmaisee solutyypin tai kudoksen kuoleman.
2. Menetelmä sen määrittämiseksi, onko DNA peräisin näytteessä olevasta kiinnostuksen kohteena olevasta solutyypistä tai kudoksesta, joka menetelmä käsittää:
  - 15 selvitetään vähintään neljän metylaatiokohdan metylaatiostatus DNA:n saman molekyylin yhtäjaksoisessa sekvenssissä, jolloin mainittu sekvenssi käsittää enintään 300 nukleotidia, jolloin kunkin mainitun vähintään neljän metylaatiokohdan metylaatiostatus mainitussa DNA:n saman molekyylin yhtäjaksoisessa sekvenssissä ilmaisee, että DNA on peräisin kiinnostuksen
  - 20 kohteena olevasta solutyypistä tai kudoksesta.
3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, jossa
  - a. mainittu metylaatiostatus on ominaista kiinnostuksen kohteena olevalle ei-sairaalle solutyypille tai kudokselle;
  - b. mainittu sekvenssi käsittää 50–250 nukleotidia;
  - 25 c. mainittu solutyyppi tai kudokseksi on ihmisen solutyyppi tai kudokseksi;
  - d. mainittu solutyyppi valitaan ryhmästä, jonka muodostavat haiman beetasolu, haiman eksokriininen solu, hepatosyytti, aivosolu, keuhkosolu,

kohtusolu, munuaissolu, rintasolu, rasvasolu, paksusuolen solu, peräsuolen solu, sydänlihassolu, luustolihasolu, eturauhassolu ja kilpirauhassolu; tai

e. mainittu kudos valitaan ryhmästä, jonka muodostavat haimakudos, maksakudos, keuhkokudos, aivokudos, kohtukudos, munuaiskudos, rintakudos, rasva, paksusuolen kudos, peräsuolen kudos, sydänkudos, luustolihasolu, eturauhaskudos ja kilpirauhaskudos.

4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, jolloin mainittu DNA on solunulkoista DNA:ta tai solunsisäistä DNA:ta (eng. cellular DNA).

5. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, jolloin näyte käsittää kehon nestettä tai näyte on verinäyte.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, jolloin mainittu kehon neste on valittu ryhmästä, jonka muodostavat veri, plasma, sperma, maito, virtsa, sylki ja aivo-selkäydinneste.

7. Patenttivaatimusten 1–2, 4 ja 5 mukainen menetelmä, jossa mainittuun selvittämiseen tai tunnistamiseen vaikuttavat:

- a. käytetään vähintään yhtä metylaatiosta riippuvaa oligonukleotidia;
- b. käytetään metylaatiosta riippumatonta oligonukleotidia;
- c. käytetään vähintään kahta metylaatiosta riippumatonta oligonukleotidia;
- d. käytetään multipleksireaktiota; tai

e. seuraavasti:

(i) saatetaan näytteessä oleva DNA kosketukseen bisulfiitin kanssa DNA:n demetyloituneiden sytosiinien muuntamiseksi urasiileiksi;

(ii) klonalisesti amplifoidaan mainittu yhtäjaksoinen DNA-sekvenssi käyttämällä oligonukleotideja, jotka hybridisoituvat nukleiinihapposekvenssiin, joka on mainitun yhtäjaksoisen DNA-sekvenssin ensimmäisen ja viimeisen mainitun vähintään neljän metylaatiokohdan vieressä; ja

(iii) sekvensoidaan mainittu klonaalisesti amplifioitu yhtäjaksoinen DNA-sekvenssi.

8. Patenttivaatimuksen 1 tai 4 mukainen menetelmä, jossa näyte käsittää solunulkoista DNA:ta, joka on peräisin toisesta solusta, joka ei ole identtinen  
5 mainitun solutyypin tai kudoksen kanssa.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, joka käsittää lisäksi sen, että analysoidaan mainitusta solutyypistä tai kudoksesta peräisin olevan solunulkoisen DNA:n määrä: mainitusta toisesta solusta peräisin olevan solunulkoisen DNA:n määrä tai analysoidaan mainitusta solutyypistä tai kudoksesta peräisin olevan  
10 solunulkoisen DNA:n määrä: solunulkoisen DNA:n kokonaismäärä näytteessä; tai joka käsittää sen, että analysoidaan mainitusta solutyypistä tai kudoksesta peräisin olevan solunulkoisen DNA:n määrä: solunulkoisen DNA:n kokonaismäärä näytteessä.