

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2023/159416 A1

(43) 国际公布日
2023 年 8 月 31 日 (31.08.2023)

(51) 国际专利分类号:

C12Q 1/6869 (2018.01) *C40B 50/06* (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/077609

(22) 国际申请日: 2022 年 2 月 24 日 (24.02.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/
CN]; 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866
号王永成, Zhejiang 310030 (CN)。

(72) 发明人: 王永成(WANG, Yongcheng); 中国浙江省杭州余杭区文一西路 1369 号王永成,
Zhejiang 311121 (CN)。徐子叶(XU, Ziyue); 中国浙江省杭州余杭区文一西路 1369 号徐子叶,
Zhejiang 311121 (CN)。王钰婷(WANG, Yuting);
中国浙江省杭州余杭区文一西路 1369 号
王钰婷, Zhejiang 311121 (CN)。

(74) 代理人: 上海市锦天城律师事务所(ALLBRIGHT
LAW OFFICES); 中国北京市东城区东长安街1号
东方广场C1座6层汪妍瑜, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT,
JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC,
LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH,
PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚
(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL,

(54) Title: SINGLE-CELL TRANSCRIPTOME SEQUENCING METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种单细胞转录组测序方法及其应用

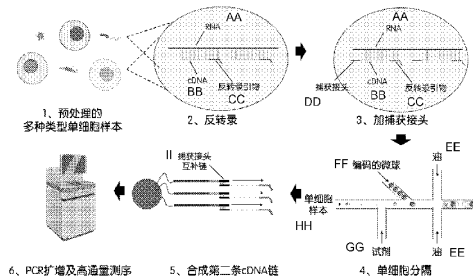


图 2

(57) Abstract: The present invention provides a single-cell transcriptome sequencing method and use thereof. The method comprises: preparing a single-cell suspension with a test cell sample, then fixing cells with a fixative solution; and using a reverse transcription primer to perform an in-situ reverse transcription reaction on RNA of the fixed single cell to synthesize a first cDNA strand.

(57) 摘要: 本发明提供了单细胞转录组测序方法及其应用, 所述方法包括: 将待测细胞样本制备成单细胞悬液后用固定液固定; 和使用反转录引物在固定后的单个细胞的RNA上进行原位反转录反应合成cDNA第一条链。

- S101 Pretreated single-cell samples of multiple types
- S102 Reverse transcription
- S103 Addition of a capture linker
- S104 Separation of single cells
- S105 Synthesis of a second cDNA strand
- S106 PCR amplification and high-throughput sequencing
- AA RNA
- BB cDNA
- CC Reverse transcription primer
- DD Capture linker
- EE Oil
- FF Barcoded microsphere
- GG Reagent
- HH Single-cell sample
- II Complementary strand of capture linker

WO 2023/159416 A1

[见续页]

PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD,
TG)。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。