



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3896171 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12Q 1/6804 (2018.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2023.04.11

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2023.02.01

(86) European Application Nr. 21169849.3

(86) European Filing Date 2017.12.22

(87) The European Application's Publication Date 2021.10.20

(30) Priority 2016.12.22, US, 201662438341 P
2017.09.29, US, 201715720085

(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 10X Genomics, Inc., 6230 Stoneridge Mall Road, Pleasanton, CA 94588-3260, USA

(72) Inventor BELGRADER, Phillip, Livermore, CA 94550, USA
BENT, Zachary, Pleasanton, CA 94588, USA
GOPALAN, Vijay Kumar Sreenivasa, Pleasanton, CA 94566, USA
HARADA, Josephine, San Francisco, CA 94158, USA
HINDSON, Christopher, Livermore, CA 94551, USA
LENJI, Mohammad Rahimi, Pleasanton, CA 94566, USA
MCDERMOTT, Geoffrey, Livermore, CA 94550, USA
MEER, Elliott, Pleasanton, CA 94566, USA
MIKKELSEN, Tarjei Sigurd, Pleasanton, CA 94588-3260, USA
O'KEEFFE, Christopher Joachim, Pleasanton, CA 94566, USA
PFEIFFER, Katherine, Pleasanton, CA 94588-3260, USA
PRICE, Andrew D., Hayward, CA 94541, USA
RYVKIN, Paul, San Jose, CA 95112, USA
SAXONOV, Serge, Oakland, CA 94619, USA
STUELPNAGEL, John R., Santa Barbara, CA 93101, USA
TERRY, Jessica Michele, Pleasanton, CA 94566, USA

(74) Agent or Attorney ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **METHOD FOR PROCESSING POLYNUCLEOTIDES FOR ANALYSING INDIVIDUAL CELLS**

(56) References Cited: WO-A1-2016/138496, WO-A2-2016/126871, US-A1- 2015 376 609, WO-A1-2015/103339, WO-A1-2017/053905, US-A1- 2015 329 891
PAYAM SHAHI ET AL: "Abseq: Ultrahigh-throughput single cell protein profiling with droplet microfluidic barcoding", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 7, 14 March 2017 (2017-03-14), pages 1-12, XP55586462, DOI: 10.1038/srep44447

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/>

EP 3896171

Patentkrav**1. Fremgangsmåte for analyse av enkeltceller, omfattende:**

5 (a) å tilveiebringe en flerhet av partisjoner, hvor en gitt partisjon av flerheten av partisjoner omfatter komponenter av en celle, en flerhet av strekkodemolekyler som er koblet til et bead, og en flerhet av analytter, omfattende:

10 (i) en første analytt, som er: (a) en messenger-ribonukleinsyre med en nukleinsyresekvens eller et komplement derav, som koder for i det minste en del av en V(D)J-sekvens av en immuncellereseptor; eller (b) et cDNA-molekyl som omfatter en nukleinsyresekvens eller et komplement derav som koder for i det minste en del av en V(D)J-sekvens av en immuncellereseptor, hvor cDNA-et genereres fra revers transkripsjon av det tilsvarende mRNA under anvendelse av en poly-T-holdig primer;

15 (ii) en andre analytt, som er et markeringsmiddel som er i stand til kobling til et celleoverflatetrekk, som er en reseptor, hvor markeringsmiddelet omfatter et MHC, innbefattende fullstendige eller partielle MHC-peptider, koblet til et oligonukleotid som omfatter en strekkodesekvens som identifiserer den assosierte MHC;

hvor flerheten av strekkodemolekyler omfatter:

20 (i) et første individuelt strekkodemolekyl, som omfatter en første nukleinsyrestrekkodesekvens, og er i stand til kobling til den første analytt; og

(ii) et andre individuelt strekkodemolekyl, som omfatter en nukleinsyrestrekkodesekvens, og er i stand til kobling til den andre analytt;

25 og

(b) som bulk eller i den gitte partisjon,
(i) å koble det første individuelle strekkodemolekyl til den første analytt og syntetisere et første nukleinsyremolekyl som omfatter i det minste en del av den første nukleinsyre-strekkodesekvens eller et komplement derav og en
30 sekvens av den første analytt eller et komplement derav; og

EP 3896171

- (ii) å koble det andre individuelle strekkodemolekyl til den andre analytt og syntetisere et andre nukleinsyremolekyl som omfatter i det minste en del av den andre nukleinsyre-strekkodesekvens eller et komplement derav og en sekvens av den andre analytt eller et komplement derav; og
- 5 (c) å utsette det første nukleinsyremolekyl og det andre nukleinsyremolekyl, eller et derivat av det første nukleinsyremolekyl og/eller det andre nukleinsyremolekyl, for sekvensering for å karakterisere den første analytt og/eller den andre analytt.
- 10 **2.** Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter å fjerne det første nukleinsyremolekyl og det andre nukleinsyremolekyl eller et derivat av det første nukleinsyremolekyl eller det andre nukleinsyremolekyl fra den gitte partisjon.
- 3.** Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor MHC-et er en MHC-peptid-
- 15 multimer eller et MHC-peptid.
- 4.** Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor MHC-multimeren velges fra gruppen bestående av en MHC-tetramer, en MHC-pentamer og et MHC-dekorert dekstranmolekyl.
- 20 **5.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor cellen er en immuncelle.
- 6.** Celle ifølge krav 5, hvor immuncellen er en T-celle.
- 25 **7.** Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor T-cellen velges fra gruppen bestående av cytotoksiske T-celler, naturlige killer-T-celler, regulatoriske T-celler og T-hjelperceller.
- 30 **8.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, hvor det første individuelle strekkodemolekyl og/eller det andre individuelle strekkodemolekyl

EP 3896171

omfatter en unik molekylær identifikasjonssekvens (UMI-sekvens).

5 **9.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvor den første analytt er et cDNA-molekyl som omfatter en nukleinsyresekvens eller et komplement derav som koder for i det minste en del av en V(D)J-sekvens av en immuncellerreseptor, hvor cDNA-et genereres fra revers transkripsjon av det tilsvarende mRNA under anvendelse av en poly-T-holdig primer.

10 **10.** Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvor det første individuelle strekkodemolekyl omfatter en switch-oligo.

15 **11.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvor den første analytt er en messenger-ribonukleinsyre med en nukleinsyresekvens eller et komplement som koder for i det minste en del av en V(D)J-sekvens av en immuncellerreseptor.

20 **12.** Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor fremgangsmåten videre omfatter å generere cDNA fra revers transkripsjon av messenger-ribonukleinsyren under anvendelse av template-switching.

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12, hvor den gitte partisjon videre omfatter en lyseringsreagens.

25 **14.** Anvendelse av fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13 for å sette sammen TCR-sekvenser og kvantifisere antallet av MHC-peptid-strekkoder som er assosiert med hver celle.