



Twist Total Nucleic Acids Library Preparation Kit for Viral Pathogen Detection and Characterization

For use with the Twist Target Enrichment Workflow

ウイルス性の病原体には全部で4種類の遺伝物質 (ssRNA、dsRNA、ssDNA、dsDNA) があります。Twistは、この多様性に対応するため、これらの4種類から同時に高品質のシーケンスライブラリを作成するために使用できる、単一のワークフローを開発しました。このワークフローでは、メタゲノムやターゲットエンリッチメントを含め、下流での次世代シーケンス (NGS) アプリケーションの使用が可能です。Twist Total Nucleic Acids Library Preparation Kit for Viral Pathogen Detection and Characterizationは、多数のライブラリの作成を汎用性のある単一のプロトコルに統合することにより、コストを削減し処理時間を短縮します。このプロトコルは、ランダムプライマーを使用する変性と逆転写から始まります。その後、DNAポリメラーゼIとE. coli DNA合成酵素を使用するsecond strand synthesisが続きます。次に、得られたdsDNAとcDNAの混合物を、Twist Library Preparation Kit via Enzymatic FragmentationおよびUnique Dual Indices (UDI)を使用してIllumina TruSeq互換ライブラリに変換します。この方法で生成したライブラリは、Twist Target Enrichment Protocolsおよびカスタマイズ可能なウイルス検出パネルと互換性があります。合成ウイルスRNAまたはDNAコントロールは、ポジティブコントロールとして機能させて感度を評価するために、サンプルにスパイクイン (添加) することができます。

ワークフローの構成品

各キットの製品パッケージと保管の推奨事項を注意して読み、受領後は直ちに推奨事項に従って構成品を保管してください。

カタログ番号	名称	説明	保管
101059 : 16 反応 101058 : 96 反応	Twist Library Preparation EF Kit Twist Library Preparation EF Kit 1	ライブラリ構築用の試薬 5x Fragmentation Enzyme 10x Fragmentation Buffer DNA Ligation Mix DNA Ligation Buffer Amplification Primers, ILMN (Universal Adapters を使用する場合には、チューブ 100220、100583 は不要)	-25 ~ -15°C
	Twist Library Preparation Kit 2	DNA Purification Beads	2 ~ 8°C
100401 : 16 反応 100573 : 96 反応	Twist Library Preparation Kit 2	DNA Purification Beads (cDNA 合成時にはスタンドアロン製品として、ビーズの精製も必要になります)	2 ~ 8°C
101307 : 16 反応 101308、101309、 101310、101311 : 96 反応	Twist Universal Adapter System - TruSeq Compatible	Twist Universal Adapters と Twist UDI Primers を用いて、インデックスペアごとに1反応のユニーク・デュアル インデックス付きの組み合わせを提供	-25 ~ -15°C

Twist Synthetic Viral Controls のようなオプションのワークフロー構成品は付録 C でご覧いただけます。

この製品は研究専用です。

Last revised: 12月 2020

プロトコルの概要

このプロトコルは ssRNA、dsRNA、ssDNA または dsDNA に適用し、RNA から二本鎖の cDNA を、ssDNA から dsDNA を生成することができます。その後、この混合物を使用して、酵素による断片化と、UDI プライマーおよび Twist Universal Adapters を使用してライブラリを生成することができます。このプロトコルを使用すると、cDNA 合成とライブラリの調製（ステップ 1～5）が 5 時間で可能です。

ヒトゲノムサンプル、ヒトゲノムリファレンス RNA、TWIST 合成コントロール		時間
ステップ 1	核酸サンプルとオプションの合成コントロールの希釈 希釈された実験サンプルと合成コントロール	10 分
ステップ 2	cDNA 合成および品質管理 (QC) の実施 ライブラリ調製用の cDNA 材料	2.75 時間
cDNA, ≥ 25 NG の開始 DNA 材料		
ステップ 3	DNA 断片化、末端修復、dA 付加の実施 dA 付加した DNA 断片	1 時間
ステップ 4	Twist Universal Adapters のライゲーションと精製 cDNA ライブラリとユニバーサルアダプター	1 時間
ステップ 5	Twist UDI Primers を用いた PCR 増幅、精製、品質管理 (QC) の実施 増幅されたインデックス付きライブラリ	1 時間
<div style="border: 1px solid black; border-radius: 10px; padding: 2px 10px; display: inline-block;">停止ポイント</div>		

ユーザーへの注意事項：このプロトコルはすべての種類のインプット核酸（ssRNA、dsRNA、ssDNA、dsDNA）と互換性があります。first strand cDNA 合成の前に、このプロトコルのステップでは DNase 処理を排除し、すべての二本鎖核酸種および一本鎖核酸種を含めて変性します。

付録 A : アダプター配列とプーリングガイドライン

Twist Universal Adapter System : TruSeq Compatible、96 サンプル、プレート A ~ D (101308、101309、101310、101311)

プレート A.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
B	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
C	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
D	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92
E	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	93
F	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	94
G	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	95
H	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96

プレート B.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	97	105	113	121	129	137	145	153	161	169	177	185
B	98	106	114	122	130	138	146	154	162	170	178	186
C	99	107	115	123	131	139	147	155	163	171	179	187
D	100	108	116	124	132	140	148	156	164	172	180	188
E	101	109	117	125	133	141	149	157	165	173	181	189
F	102	110	118	126	134	142	150	158	166	174	182	190
G	103	111	119	127	135	143	151	159	167	175	183	191
H	104	112	120	128	136	144	152	160	168	176	184	192

プレート C.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	193	201	209	217	225	233	241	249	257	265	273	281
B	194	202	210	218	226	234	242	250	258	266	274	282
C	195	203	211	219	227	235	243	251	259	267	275	283
D	196	204	212	220	228	236	244	252	260	268	276	284
E	197	205	213	221	229	237	245	253	261	269	277	285
F	198	206	214	222	230	238	246	254	262	270	278	286
G	199	207	215	223	231	239	247	255	263	271	279	287
H	200	208	216	224	232	240	248	256	264	272	280	288

プレート D.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	289	297	305	313	321	329	337	345	353	361	369	377
B	290	298	306	314	322	330	338	346	354	362	370	378
C	291	299	307	315	323	331	339	347	355	363	371	379
D	292	300	308	316	324	332	340	348	356	364	372	380
E	293	301	309	317	325	333	341	349	357	365	373	381
F	294	302	310	318	326	334	342	350	358	366	374	382
G	295	303	311	319	327	335	343	351	359	367	375	383
H	296	304	312	320	328	336	344	352	360	368	376	384

付録 A の終わり