



TWIST NGSターゲットエンリッチメントソリューション

最新の情報をご案内させていただきます。
下記までお問い合わせください。
TEL: 045-345-5840（平日9-17時）
jsalescustomer@twistbioscience.com

Creating cDNA Libraries using Twist Library Preparation Kit for ssRNA Virus Detection

For use with the Twist Target Enrichment Workflow

2019～2020年のコロナウイルスパンデミックの原因となったSARS-CoV-2を含め、ほとんどのウイルス病原体は一本鎖RNAです。このプロトコルは、下流のNGSターゲットエンリッチメントで使用するために、RNAをcDNAライブラリに変換する方法を説明します。このプロトコルは、市販の試薬を使用して抽出/精製されたRNAからcDNAを作成することから始まります。その後、cDNAは酵素による断片化を用いたTwist Library Preparation KitとUnique Dual Indices(UDI)を用いて、Illumina TruSeq対応ライブラリに変換されます。結果として得られるcDNAライブラリはTwistターゲットエンリッチメントプロトコルと互換性があります。Twist合成SARS-CoV-2 RNAコントロールなど、合成ウイルスRNAコントロールをリファレンスRNAサンプルにスパイクイン（添加）し、ポジティブコントロールとして使用できます。

ワークフローの構成部品

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部品を保管してください。

カタログ番号	名称	説明	保管
102019*	Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1 (MT007544.1)	合成SARS-CoV-2 RNAコントロール	-70°C～-90°C
102024*	Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3)	合成SARS-CoV-2 RNAコントロール	-70°C～-90°C
101059: 16反応 101058 : 96反応	Twist Library Preparation EF Kit	ライブラリ構築用の試薬	—
	Twist Library Preparation EF Kit 1	5x Fragmentation Enzyme 10x Fragmentation Buffer DNA Ligation Mix DNA Ligation Buffer Amplification Primers、ILMN（ユニバーサルアダプターを使用する場合には、チューブ100220、100583は不要）	-15°C～-25°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 (単体製品として、cDNA合成の際のビーズ精製に必要です)	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	-15°C～-25°C

*実験のコントロールとしてオプション

この製品は研究専用です。



TWISTはあなたの研究を支援します
jsales@twistbioscience.comまでお知らせいただくか、twistbioscience.comを参照ください。



プロトコルの概要

このプロトコルは一本鎖RNAで始まり、cDNAを合成します。次に、その後のターゲットエンリッチメントのために、cDNAから増幅されたインデックス付きライブラリを作成します。酵素による断片化と、UDIプライマーを使用したTwist Universal Adaptersが特徴です。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RNA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	RNAサンプルの希釈とオプションの合成コントロール 希釈された実験用RNAサンプルと合成コントロール	10分
ステップ 2	cDNA合成とQCの実施 ライブラリ調製に用いるcDNA	2.75時間
CDNA25 NGをインプットDNAとして使用		
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 ユニバーサルアダプターが付加されたcDNAライブラリ	1時間
ステップ 5	Twist UDI Primersを用いたPCR増幅、精製、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
停止ポイント		



付録B：TWISTターゲットエンリッチメントワークフロー

TWISTターゲットエンリッチメントプロトコル

Twistターゲットエンリッチメントプロトコルはこのワークフローと互換性があります。16時間のハイブリダイゼーションをともなう2日間のターゲットエンリッチメントワークフローを使用して、Illumina社の次世代シーケンス(NGS)システムでシーケンスするための濃縮TruSeq DNAライブラリを生成します。詳細はhttps://www.twistbioscience.com/sites/default/files/resources/2019-11/Protocol_NGS_HybridizationTE_31OCT19_Rev1.pdfをご覧ください。Twist SARS-CoV-2 Research Panelをこのキャプチャワークフローと組み合わせて使用する場合には、変更は必要ありません。

カタログ番号	名称	説明	保管
102016: 2反応 102017: 12反応 102018: 96反応	Twist SARS-CoV-2 Research Panel	SARS-CoV-2ウイルス検出用のカスタムDNAパネル	-20°C
100856: 2反応 100578: 12反応 100767: 96反応	Twist Universal Blockers	非特異キャプチャの抑止用： Universal BlockersおよびBlocker Solution	-20°C
101262: 2反応 100983: 12反応 100984: 96反応	Twist Binding and Purification Beads	ターゲットエンリッチメントと精製用： • Streptavidin Binding Beads • DNA Purification Beads	2～8°C
101279: 2反応 101025: 12反応 101026: 96反応	Twist HybridizationおよびWash Kit (2 Boxes)	標準的なハイブリダイゼーションを用いたターゲットエンリッチメント用：	—
	Twist Hybridization Reagents (Box 1 of 2)	Hybridization Mix Hybridization Enhancer Amplification Primers	-20°C
	Twist Wash Buffers (Box 2 of 2)	Binding Buffer Wash Buffer 1 Wash Buffer 2	2～8°C

付録Bの終わり