



Twist Library Preparation Protocol

Enzymatic Fragmentation and Twist Universal Adapter System

For use with the Twist NGS Workflow

この Twist Library Preparation Kit は、酵素によるゲノム DNA (gDNA) の断片化と Twist Universal Adapter System を使用してゲノム DNA ライブラリを調製するために必要な試薬を提供しています。Twist Universal Adapter system は Twist Universal Adapters と Twist Unique Dual Indexed (UDI) Primers で構成されています。このマニュアルでは、Illumina 次世代シーケンス (NGS) システムで下流のターゲットエンリッチメントとシーケンスに必要な、増幅されたインデックス付きライブラリを生成する手順を詳しく説明しています。このライブラリ調製プロトコルは、Twist Target Enrichment キットの使用に最適化されており、指定された試薬または同等品を使ってのみ実施してください。



Twist NGS ワークフロー。完全な NGS ワークフローにより、サンプル調製から NGS シーケンスおよびデータ解析まで行えます。このワークフローを構成する Twist Library Preparation Protocol は、それ以外で構成されるプロトコルと連携して機能します。

プロトコルの構成

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成品を保管してください。

カタログ番号	名称	説明	保管
104174: 16 反応 104175: 96 反応	Twist Library Preparation EF Kit with Amp Mix	ライブラリ構築用の試薬	—
	Twist Library Preparation EF Kit 1	<ul style="list-style-type: none"> 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) 	-20°C
	Twist Library Preparation Kit 2	DNA Purification Beads	2 ~ 8°C
	Equinox Library Amp Mix	Equinox Library Amp Mix (2x)	-20°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	-20°C

この製品は**研究専用**です。



既存のターゲットシーケンスに妥協してはいけません。

sales@twistbioscience.comまでお知らせいただくか [twistbioscience.com/products/ngs](https://www.twistbioscience.com/products/ngs)をご参照ください。

プロトコルの概要

このプロトコルはゲノム DNA (gDNA) で始まり、その後のターゲットエンリッチメントのために、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 プライマーを用いる Twist Universal Adapters が特徴です。このプロトコルを使用すると、gDNA ライブラリの調製（ステップ 1-3）が 3 時間で可能です。

	ユニバーサルアダプターと UDI プライマーを使用した酵素による断片化 (ゲノム DNA50NG をインプット DNA として使用)	時間
ステップ 1	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 2	Twist Universal Adapters のライゲーションと精製 インデックス付加に用いる gDNA ライブラリ	1 時間
ステップ 3	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

付録

UDI 配列

Twist UDI 配列の完全なガイドについては、PDF 文書 DOC-001129 または Excel ファイル DOC-001130 を参照してください。どちらのファイルも twistbioscience.com/resources からダウンロードできます。

プーリングガイドライン

Twist UDI プライマーは次世代シーケンス用にカラムベースで塩基のバランスが保たれています。8 プレックスハイブリダイゼーション用にユニークなデュアルインデックスライブラリをプールする場合には、ライブラリを単一のカラムから選択することを推奨します。シーケンス用にはシングルプレートまたは複数プレートから複数のカラムを任意の組み合わせで選択できます。

表 1 Twist UDI プライマープレートのレイアウトとプーリングガイドライン。

Twist Universal Adapter System : TruSeq Compatible, 16 Samples (101307)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9										
B	2	10										
C	3	11										
D	4	12										
E	5	13										
F	6	14										
G	7	15										
H	8	16										

* 注意：16 サンプルプレートのインデックスは 96 サンプルのプレート A と同じではありません。

付録

Twist Universal Adapter System : TruSeq Compatible、96 Samples、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

付録終わり

DOC-001065 REV 2.0 | 最終改訂：2021年4月27日

改訂	日付	説明
2.0	2021年4月27日	<ul style="list-style-type: none"> Library Preparation kitに、今後はLibrary Amplification Mixを含めます。 キットのカタログ番号、キットの構成リスト、ワークフローステップを更新し、Library Amplification Mixを含めました。 下位のワークフローステップを更新、明確化しました。