SMARTer® Solution
for Next Generation Sequencing

that's GOOD science!™

Simple, Fast, Powerful
Library Preparation Kit for NGS

SMARTer® technology is…

- Ultra low input (pico gram) / Single cell
- No need ligation
- High-quality full length cDNA

TaKaRa Clontech

Next Generation Sequencing (NGS) ?

차세대 시퀀싱 (Next Generation Sequencing, NGS)은 Sanger 시퀀싱 방법에 비하여 빠른 시간 내에 대량의 병렬 데이터를 저비용으로 분석 가능한 시퀀싱 기법이다. NGS는 전사체 (transcriptome) 또는 DNA에서 높은 감도로 폭넓은 유전자 발현 분석을 가능하게 하였지만 품질이 좋지 않은 RNA, DNA 샘플이나 양이 매우 적은 극소량의 샘플에서는 적용이 어렵다는 한계점이 있다.

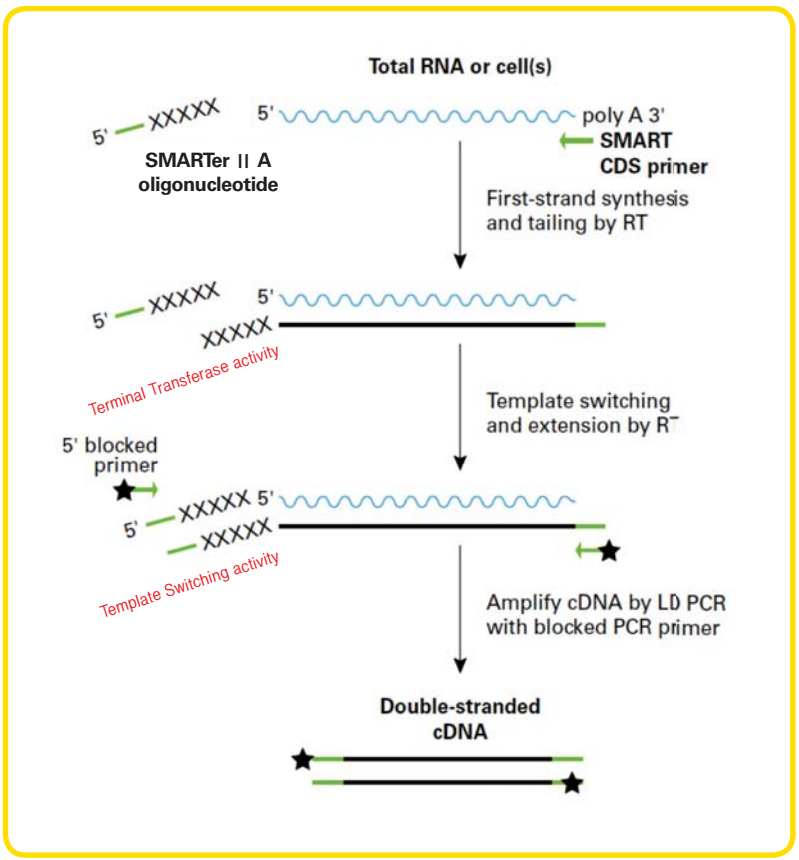
Clontech의 독자적인 SMARTer® 기술을 적용한 NGS library preparation kit를 이용하면 피코그람 (pg) 수준의 극소량의 샘플로부터 편향성 (5' or 3' bias)이 적고 재현성 (reproducibility)이 뛰어난 NGS library를 제작할 수 있다.

그림 1. General NGS workflow

SMARTer® Technology for NGS

- RNA 또는 DNA로부터 NGS에 최적인 시료 (amplified cDNA 혹은 fragmented DNA) 제작
- 피코그람 (pg) 수준의 극소량 RNA 또는 단일세포 (single cell)에서 고품질의 cDNA를 합성
- cDNA 합성 또는 library 제작에 필요한 모든 시약이 제품에 포함 (각 제품 구성품 참조)

SMART™법 (Switching Mechanism At 5'end of RNA Transcript)은 SMART™ reverse transcriptase가 보유한 cDNA 말단에서의 terminal transferase 활성과 주형을 바꾸어 DNA를 복제하는 template switching 활성을 이용하여 효율적으로 full-length cDNA를 합성하는 Clontech의 독자적인 기술이다.



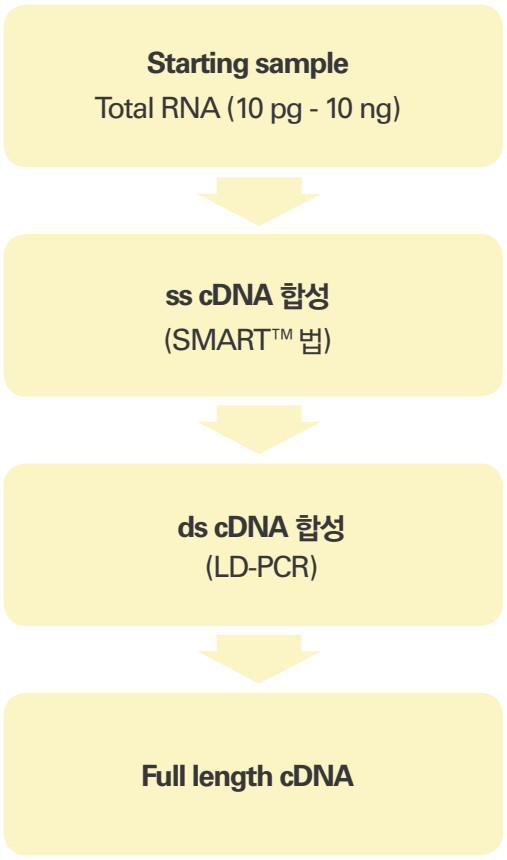
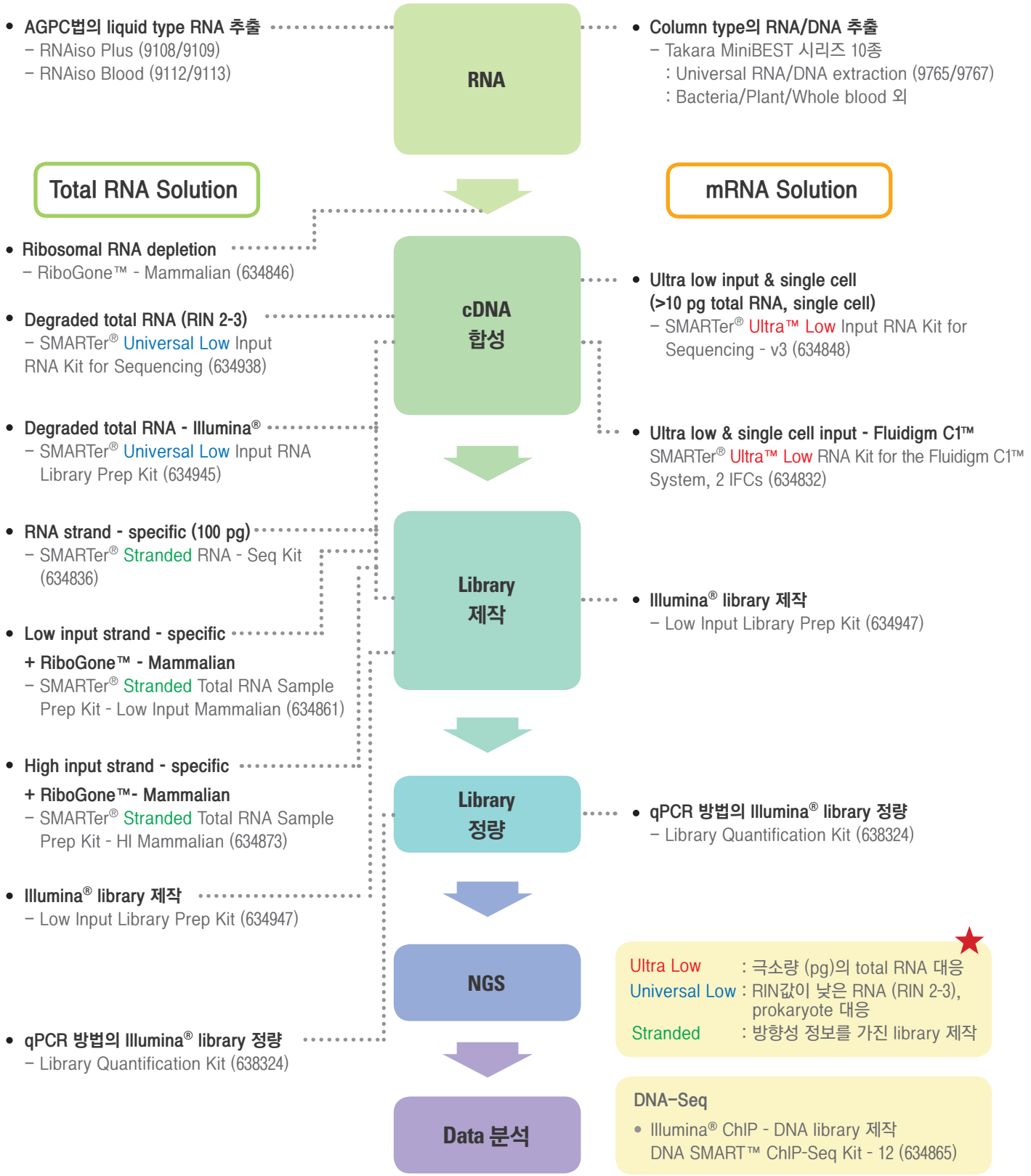


그림 2. SMARTer® workflow for ultra low input sample

SMARTer® Selection for Transcriptome Analysis

NGS Library Preparation Kit



SMARTer® Selection Guide for NGS Platform

Illumina® NGS system	Code
Ribosomal RNA (rRNA) depletion	
RiboGone™-Mammalian	634846
cDNA 합성, RNA-Seq library 제작	
SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3	634848
SMARTer® Ultra™ Low RNA Kit for the Fluidigm C1™ System, 2 IFCs	634832
SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing	634938
SMARTer® Universal Low Input RNA Library Prep Kit	634945
SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit	634836
SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - Low Input Mammalian	634861
SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - HI Mammalian	634873
Low Input Library Prep Kit	634947
DNA-Seq library 제작	
DNA SMART™ ChIP-Seq Kit -12	634865
Illumina® library 정량	
Library Quantification Kit	638324
Ion Torrent™ NGS system	
Ribosomal RNA (rRNA) depletion	
RiboGone™-Mammalian	634846
cDNA 합성, NGS library 제작	
SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3	634848
SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing	634938
Pacific BioScience® NGS system	
Ribosomal RNA (rRNA) depletion	
RiboGone™-Mammalian	634846
cDNA 합성, NGS library 제작	
SMARTer® PCR cDNA Synthesis Kit	634925

Ultra Low : 극소량 (pg)의 total RNA 대응
Universal Low : RIN값이 낮은 RNA (RIN 2-3), prokaryote 대응
Stranded : 방향성 정보를 가진 library 제작

극소량의 Total RNA 또는 Single Cell 수준에서 NGS (mRNA-Seq) 분석 가능

SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing-v3

극소량의 RNA	Single Cell
RNA-Seq	Whole Transcriptome 분석

Platform For Illumina®, For Ion Torrent™

[적용가능한 샘플] Total RNA (10 pg - 10 ng), 또는 cell 그대로 (1 - 1,000개의 cells)

[역전사 프라이머] 3′ SMART CDS Primer II A (modified Oligo dT)

- 높은 sensitivity: 10 pg의 total RNA, single cell 수준의 극소량 샘플 적용
- 쉽고 단순한 프로토콜: Cell에서 바로 cDNA를 합성 가능한 one-tube 프로토콜
- Instrument compatibility: Illumina® 또는 Ion Torrent™ platform 적용 가능
- SeqAmp™ DNA Polymerase: GC-rich template도 강력하게 증폭

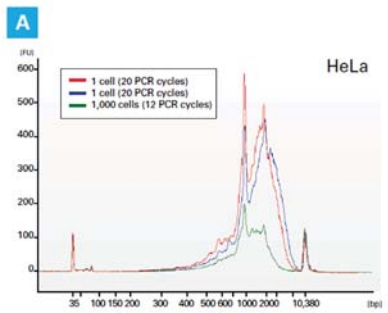


그림 3. Electropherograms of amplified SMARTer® cDNA. 1 - 1,000개의 cell을 이용하여 SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3를 사용하여 cDNA를 합성 및 PCR 증폭하였다 (Panel A: HeLa, Panel B: Jurkat). cDNA 샘플을 Agilent Bioanalyzer로 분석하였다. Single main peak는 cDNA의 순도(purity)와 수율 (yield)를 나타낸다.

Primary Sequencing Metrics from Illumina® Sequencing

Sequencing platform	MiSeq			
Cell type	HeLa		Jurkat	
Input	1 cell	1,000 cells	1 cell	1,000 cells
Millions of reads	2.1	2.5	1.1	1.8
Mapped to rRNA	0.2%	0.4%	0.2%	0.3
Mapped to RefSeq	94%	91%	83%	86%
Mapped uniquely to RefSeq	76%	70%	66%	68%
Mapped to exons	85%	92%	77%	84%
Mapped to introns	15%	8.4%	23%	16%
Number of genes	9,261	12,439	4,200	12,611
Pearson correlation (R)	0.973		0.876	

Primary Sequencing Metrics from Ion Torrent™ Sequencing

Sequencing platform	PGM	
Cell type	HeLa	Jurkat
Input	1 cell	1 cell
Millions of reads	2.3	2.4
Mapped to rRNA	0.2%	0.2%
Mapped to RefSeq	94%	80%
Mapped uniquely to RefSeq	83%	70%
Mapped to exons	85%	75%
Mapped to introns	15%	25%
Number of genes	9,256	4,199

표1. Sequencing matrics from single cells. 1 - 1,000개의 세포 (HeLa 또는 Jurkat)로부터 SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3를 이용하여 cDNA 합성 후, Illumina® (왼쪽), Ion Torrent™(오른쪽) library를 제작하였다. 200 bp reads를 위한 size selection 이후 각각의 platform에 따라 sequencing을 수행하였다.

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3	634848	12 회
	634849	24 회
	634850	48 회
	634851	96 회
	634852	192 회
	634853	480 회
SMARTer® Ultra™ Low RNA Kit for the Fluidigm C1™ System, 2 IFCs	634832	2 Chips
SMARTer® Ultra™ Low RNA Kit for the Fluidigm C1™ System, 10 IFCs	634833	10 Chips

mRNA의 정보성 99% 유지, Strand Specific RNA-Seq

SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit

Stranded RNA-Seq | Illumina® Library | Whole Transcriptome 분석

Platform For Illumina®

[적용가능한 샘플] PolyA+ RNA 또는 rRNA를 제거*한 RNA 100 pg - 10 ng

[역전사 프라이머] SMART Stranded N6 Primer (modified N6 random primer)

- 4시간 만에 cDNA 합성, library 제작까지 완료
- mRNA transcript의 정보를 99% 이상 유지
- Illumina® sequencing library 제작을 위한 모든 제품 포함
- Advantage® 2 PCR Kit: GC-rich, AT-rich 샘플에도 강한 증폭력

* RiboGone™–Mammalian 사용을 추천합니다.

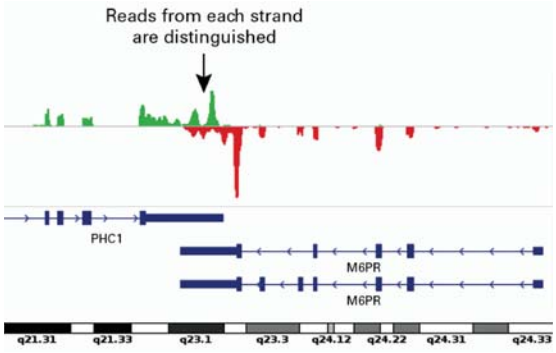


그림 4. 99% of RNA-Seq reads mapped to the correct strand. Indexed cDNA libraries were prepared according to the SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit protocol using twelve indices, and sequenced on an Illumina® HiSeq® Platform with 2 x 100 bp paired end reads. Short, overlapping reads originating from different strands of the genomic DNA were distinguished from each other, enabling quantitative expression analysis and accurate genome annotation.

Sequence Alignment Metrics*

Input RNA	100 ng	10 ng	1 ng	100 pg
% pairs mapped to RefSeq	76.6%	76.4%	76.6%	76.2%
% pairs uniquely mapped to RefSeq	74.4%	74.1%	75.4%	74.0%
Total exons	64.9%	65.2%	64.4%	66.4%
Total introns	35.1%	34.8%	35.6%	33.6%
Genes identified (>0.1 FPKM)	15,632	15,642	15,568	14,993
Number of reads	23,775,433	26,176,325	27,720,909	22,280,680

* All data shown is based on strand-specific alignment to RefSeq genes.

표 2. Even at the lowest levels tested (100 pg polyA+ input RNA), the SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit was able to maintain high accuracy while detecting 15,000 genes using strand-specific alignments.

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit	634836	12 회
	634837	24 회
	634838	48 회
	634839	96 회
SMARTer® Stranded RNA Seq Kit + RiboGone™ - Mammalian		
SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - Low Input Mammalian	634861	24 회
96 multiplexing이 가능한 high troughput stranded seq kit		
SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit HT	634862	96 회
High input (100 ng - 1 µg) of total RNA로부터 stranded seq library 제작		
SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - HI Mammalian	634873	12 회
	634874	24 회
	634875	48 회
	634876	96 회
	634877	192 회
	634878	480 회

Degraded RNA (RIN 2-3)로부터 NGS용 cDNA Library 제작

SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing

FFPE	LCM	Platform: For Illumina®, For Ion Torrent™
RNA-Seq	Whole Transcriptome 분석	

[적용가능한 샘플] rRNA를 제거*한 RNA 200 pg - 10 ng (total RNA 2 - 100 ng)

[역전사 프라이머] SMART N6 CDS Primer (modified N6 random primer)

- 미량의 total RNA, 낮은 RIN 값 (RIN 2 - 3)의 샘플 적용
- 분해된 샘플 (FFPE 또는 LCM 샘플)에도 적용 가능
- rRNA를 제거한 200 pg - 10 ng의 RNA에서 고효율의 RNA-Seq 분석
- PCR을 위한 Advantage® 2 PCR Kit 포함

* RiboGone™-Mammalian 사용을 추천합니다.

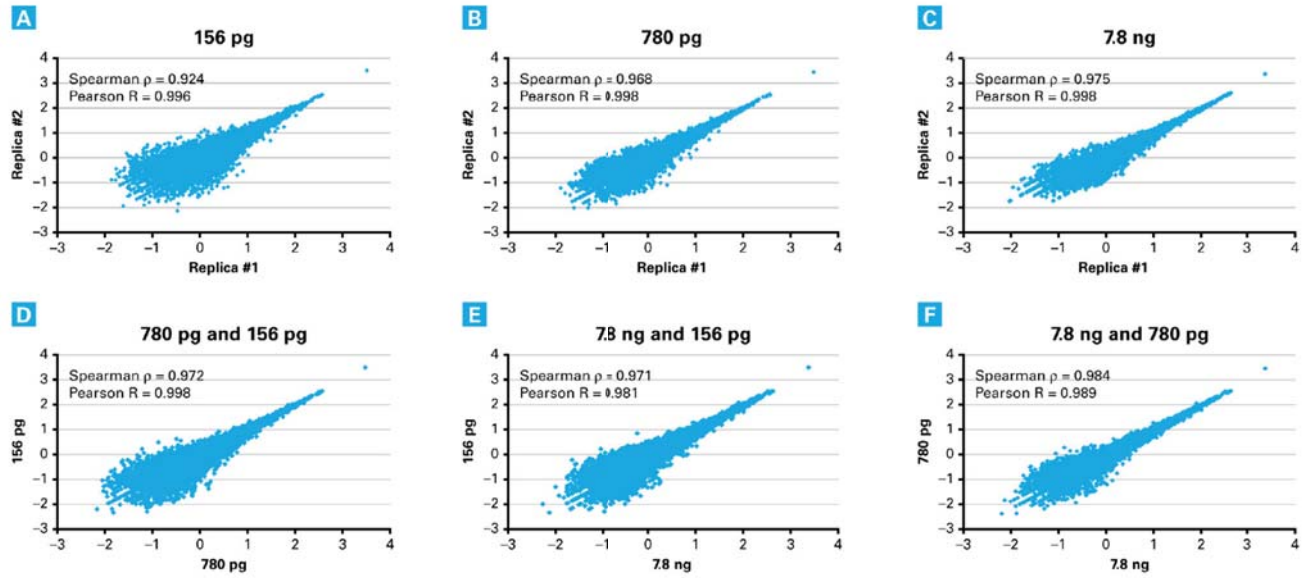


그림 5. High reproducibility and sensitivity across a wide RNA input range. Scatter plots of expression (RPKM) for cDNA libraries prepared from rRNA-depleted Human Brain Total RNA. Panels A-C. Comparisons of pairs of cDNA library replicas (Replica #1 and Replica #2) created from 156 pg, 780 pg, and 7.8 ng of input RNA show high reproducibility across a wide range of RNA concentrations. Panels D-F. Comparisons of cDNA libraries generated from pairs of RNA input amounts (780 pg and 156 pg, 7.8 ng and 156 pg, and 7.8 ng and 780 pg) show a high correlation, suggesting consistency across input levels. Axes are plotted on a log10 scale. Insets indicate the coefficient of correlation by Spearman analysis (ρ) and by Pearson correlation (R).

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing	634938	10 회
	634940	25 회
Illumina® library prep을 위한 Low Input Library Prep Kit (Code 634947)이 포함		
SMARTer® Universal Low Input RNA Library Prep Kit*	634945	10 회
	634946	25 회

* SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing (Code 634938/634940)과 Low Input Library Prep Kit (Code 634947)의 패키지 제품입니다.

일반적인 용도의 cDNA합성 & High Input 샘플로부터 NGS cDNA 합성

SMARTer® PCR / SMARTer® Pico PCR cDNA Synthesis Kit

pg수준의 낮은 농도의 샘플	cDNA 합성
High input (ng)	RNA-Seq

Platform For PacBio (Pacific Bioscience®)

[적용가능한 샘플] 최소 1 - 2ng의 total RNA
[역전사 프라이머] 3′ SMART CDS Primer II A (modified Oligo dT)

- 1 - 2 ng의 매우 적은 total RNA에서 cDNA 증폭
- Pacific Bioscience®의 NGS system 추천 제품
- 일반적인 용도의 full length cDNA 합성 (PCR, library construction, cloning 등)
- PCR을 위한 Advantage® 2 PCR Kit 포함

농도가 낮은 (pg) 희석샘플에 적합

Comparison of SMARTer® Protocols	
SMARTer®	**SMARTer® Pico**
• 2 - 1000 ng total RNA • Template volume up to 3.5 µl • Total RNA template concentration as low as 0.5 ng/µl	• 1 - 1000 ng total RNA • Template volume up to 50 µl • Total RNA template concentration as low as 20 pg/µl
• SMARTer first-strand cDNA synthesis • Volume = 10 µl	• SMARTer first-strand cDNA synthesis • Volume = 106 µl

표 3. SMARTer®와 SMARTer® Pico 제품의 차이점

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
SMARTer® PCR cDNA Synthesis Kit	634925	10 회
	634926	20 회
SMARTer® Pico PCR cDNA Synthesis Kit	634928	10 회

Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE): 최다 Citation 보유

SMARTer® RACE 5′/3′ Kit

- SMARTer® 법을 이용한 RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends)
- 소량의 RNA (10 ng)로부터 고효율로 RACE 실험 가능
- RNA의 알고 있는 부위를 이용하여 미지의 5′ 말단, 3′ 말단의 각각의 서열 분석
- RACE에 필요한 모든 제품이 포함된 all in one kit
- Cloning에 필요한 In-Fusion HD Cloning Kit까지 포함

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
SMARTer® RACE 5′/3′ Kit	634858	10 회
	634859	20 회

본 제품은 SMARTer® RACE cDNA Amplification Kit (code 634923, 634924)의 upgrade제품입니다.

극소량의 ds cDNA에서 고감도, 빠른 시간 내에 Illumina®용 Library 제작

Low Input Library Prep Kit

Library 제작 | 극소량 샘플 대응 | One-tube protocol

Platform For Illumina®

[적용가능한 샘플] Double stranded cDNA (ds cDNA) 50 pg - 20 ng

- SMARTer® Universal Low Kit 또는 SMARTer® Ultra™ Low Input Kit으로 제작한 dsDNA에서 Illumina®용 library 제작
- One-tube protocol: 정제 과정이 없는 간단한 프로토콜
- 3 step protocol: 2시간 만에 library 제작
- Multiplexing sequencing용 library 제작 가능

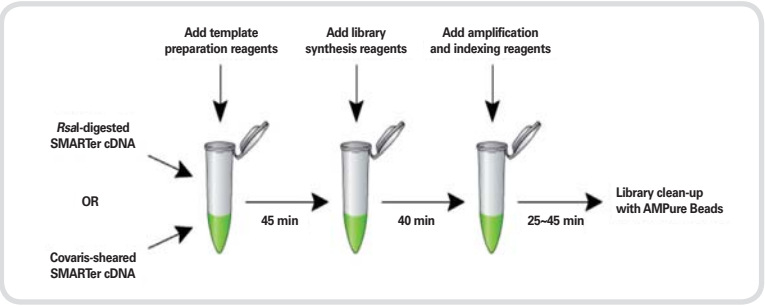


그림 6. Workflow

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
Low Input Library Prep Kit	634947	12 회

미량의 Total RNA에서 Ribosomal RNA (rRNA) 제거

RiboGone™- Mammalian

rRNA, mtRNA 제거 | 미량의 샘플 | FFPE 또는 LCM 샘플

- 미량의 total RNA (10 - 100 ng)에서 rRNA 제거
- Human, mouse, rat의 total RNA에서 rRNA와 mtRNA 제거
  → 5S, 5.8S, 19S, 28S rRNA와 12S mtRNA를 제거
- FFPE 샘플 등 분해된 RNA에도 사용 가능

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
RiboGone™ - Mammalian	634846	6 회
	634847	24 회

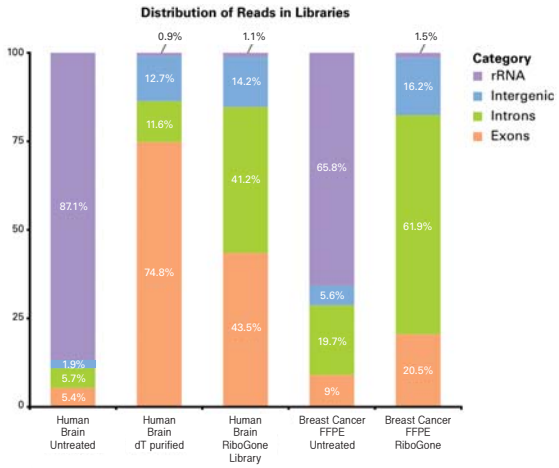


그림 7. RiboGone™의 rRNA 제거 효과

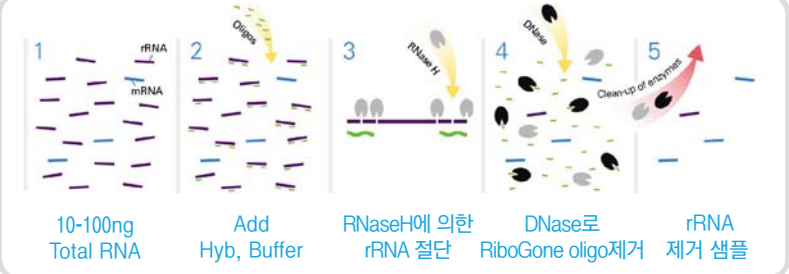


그림 8. RiboGone™–Mammalian workflow

SMART cDNA 합성 *

* N6 Random primer 사용 제품

소량의 ChIP-DNA로부터 Illumina® Library 제작

DNA SMART™ ChIP-Seq Kit

ChIP-DNA	ssDNA or dsDNA
Ligation-independent	Illumina® ChIP DNA-Seq

Platform For Illumina®

- 소량의 ChIP DNA 이용 가능
  : 100 pg - 10 ng 의 ssDNA 또는 dsDNA 모두 적용 가능
- Ligation - independent protocol
  : Ligation 과정없이 Illumina® adaptor 부착
- Simple protocol
  : 4시간만에 Illumina®용 library 제작

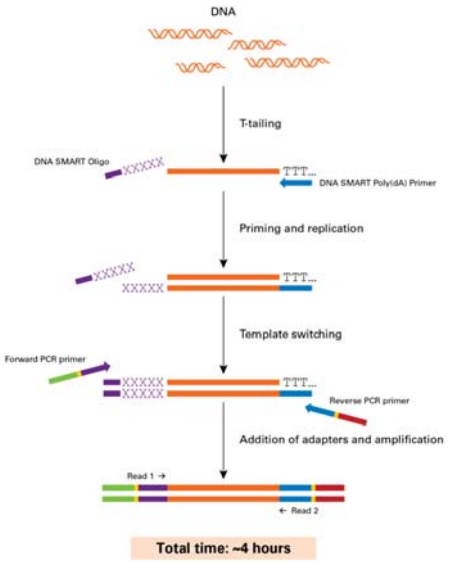


그림 9. SMART™ ChIP-Seq workflow

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
DNA SMART™ ChIP-Seq Kit - 12	634865	12 회
DNA SMART™ ChIP-Seq Kit - 48 A	634866	48 회
DNA SMART™ ChIP-Seq Kit - 48 B	634867	48 회

Real Time PCR을 이용한 Illumina® Library 정량

NGS Library Quantification Kit

Illumina® specific	Library 정량

Platform For Illumina®

Tip 모든 Illumina® library에 사용 가능

- Highly sensitive quantification: qPCR 기법으로 낮은 농도의 library 정량
- Illumina® specific: Illumina® adaptor가 결합된 DNA에만 특이적
- Complete kit: qPCR 정량에 필요한 모든 제품이 포함
- Terra™ qPCR Direct SYBR® Premix: DNA 정제없이 곧바로 qPCR

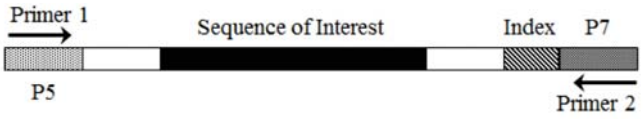


그림 10. Illumina® adaptor primer

Library Quantification Kit (Code 638324) [제품 구성품]	
제품명	Code
Terra™ qPCR Direct SYBR® Premix	638319
Primer Mix Kit	별도구매불가
DNA Standards for Library Quantification	638325

표 4. Library quantification Kit 구성품

[제품리스트]

제품명	Code	용 량
Library Quantification Kit	638324	500 회
DNA Standards for Library Quantification	638325	50 회

Ordering Information

분 류	제품명	Code	용 량
rRNA depletion	RiboGone™ - Mammalian	634846	6 회
		634847	24 회
RNA-Seq	SMARTer® Ultra™ Low Input RNA Kit for Sequencing - v3	634848	12 회
		634849	24 회
		634850	48 회
		634851	96 회
		634852	192 회
		634853	480 회
	SMARTer® Ultra™ Low RNA Kit for the Fluidigm C1™ System, 2 IFCs	634832	2 Chips
	SMARTer® Ultra™ Low RNA Kit for the Fluidigm C1™ System, 10 IFCs	634833	10 Chips
	SMARTer® Universal Low Input RNA Kit for Sequencing	634938	10 회
		634940	25 회
	SMARTer® Universal Low Input RNA Library Prep Kit	634945	10 회
		634946	25 회
	SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit	634836	12 회
		634837	24 회
		634838	48 회
		634839	96 회
	SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - Low Input Mammalian	634861	24 회
	SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit HT	634862	96 회
	SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - HI Mammalian	634873	12 회
		634874	24 회
		634875	48 회
		634876	96 회
		634877	192 회
		634878	480 회
	Low Input Library Prep Kit	634947	12 회
RNA-Seq or cDNA 합성	SMARTer® PCR cDNA Synthesis Kit	634925	10 회
		634926	20 회
	SMARTer® Pico PCR cDNA Synthesis Kit	634928	10 회
	SMARTer® RACE 5′/3′ Kit	634858	10 회
		634859	20 회
DNA-Seq	DNA SMART™ ChIP–Seq Kit – 12	634865	12 회
	DNA SMART™ ChIP–Seq Kit – 48 A	634866	48 회
	DNA SMART™ ChIP–Seq Kit – 48 B	634867	48 회
Library 정량	Library Quantification Kit	638324	500 회
	DNA Standards for Library Quantification	638325	50 회
PCR 효소	SeqAmp™ DNA Polymerase	638504	50 회
		638509	200 회

Ultra Low : 극소량 (pg)의 total RNA 대응
Universal Low : RIN값이 낮은 RNA (RIN 2-3), prokaryote 대응
Stranded : 방향성 정보를 가진 library 제작