



A SMARTer Approach to Small RNA (smRNA) Sequencing

SMARTer[®] smRNA-Seq Kit for Illumina[®]

- 소량의 RNA로 NGS 분석을 위한 library 제작 가능 : 1 ng-2 µg RNA
- 다양한 RNA 적용 가능 : total RNA, purified microRNAs, enriched smRNA (< 200 bp), fragmented RNAs (< 100 bp)
- Gel-free protocol: PAGE purification 불필요
- Ligation-free protocol : bias 생성 억제

Code	용량
635029	12 회
635030	48 회
635031	96 회

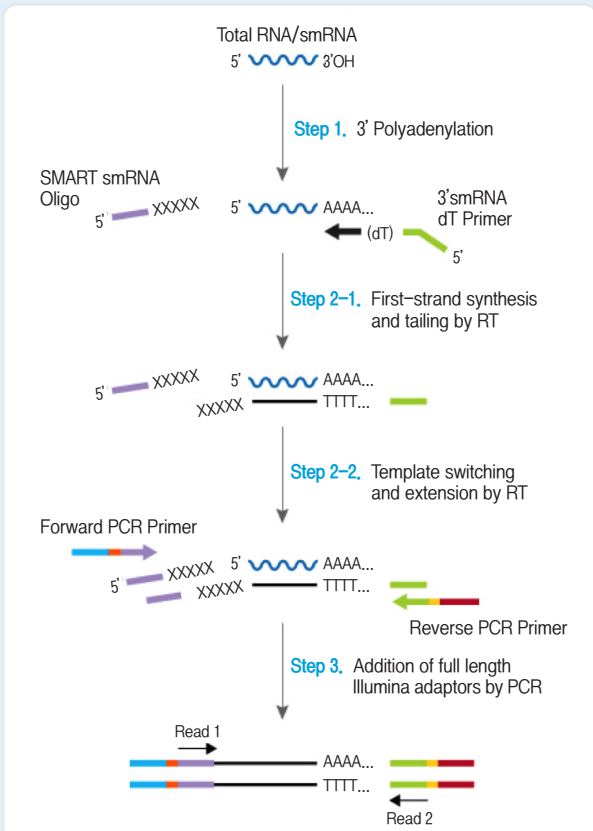


그림 1. SMARTer[®] smRNA-Seq Kit for Illumina[®]를 이용한 실험 모식도

[smRNA library 제작을 위한 SMART protocol]

Step 1. Polyadenylation

- Total RNA 또는 enriched smRNA 샘플 적용
- small RNA에 Poly A tailing : dT primer 사용 가능

Step 2. Single strand cDNA synthesis

- 3' smRNA dT primer와 PrimeScript[™] Reverse Transcriptase (MMLV)를 이용한 1st strand cDNA 합성
- SMART technology*를 기반으로 SMART smRNA Oligo를 이용하여 full length cDNA 합성 (LNA-enhanced)

* SMART technology (Switching Mechanism At the 5' end of RNA Transcript)
: 극소량의 RNA를 주형으로 double strand cDNA를 합성할 수 있는 Clontech의 특허 기술

Step 3. Double strand cDNA synthesis

- cDNA 양쪽 말단의 SMARTer adaptor를 이용해 PCR
- PCR primer 말단에 Illumina adaptor가 부착

Step 4. Illumina[®] Library construction

- Illumina[®] adaptor가 포함된 NGS library 제작 완료

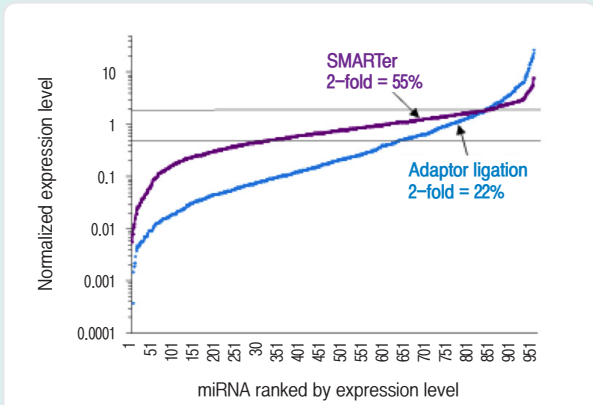


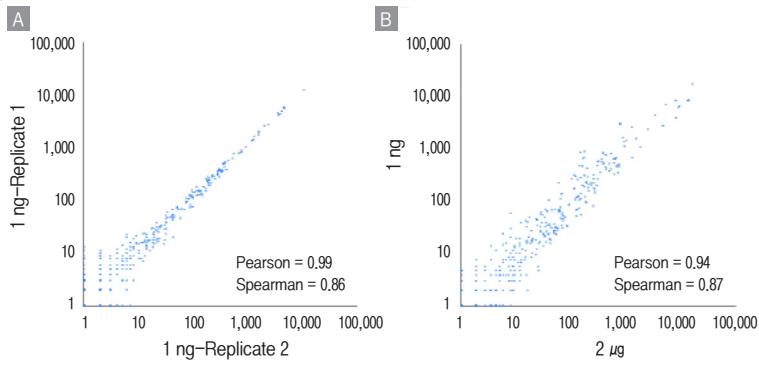
그림 2. SMARTer[®] smRNA-Seq Kit for Illumina[®]를 이용한 분석 결과의 정확도

[Adaptor ligation없이 library 제작 가능]

SMARTer[®] smRNA-Seq Kit for Illumina[®] 와 adaptor ligation 방식을 이용하는 타사의 제품을 이용한 결과 분석

[방법] miRNA pool (963 synthetic miRNAs - miRXplore Universal Reference) 을 이용하여 각 제품으로 library 제작 후 분석 : miRXplore Universal Reference 는 포함되어 있는 모든 miRNA expression level이 동일함 (1로 표기). NGS 분석 결과를 normalization후에 miRNA expression level 비교

[결과] 분석 결과, SMARTer[®] smRNA-Seq Kit for Illumina[®]를 이용한 library에 서 2-fold 이하의 변화를 보이는 miRNA수가 많았다. (55% vs 22%)



[초기량에 상관없이 재현성있는 결과 확인]

반복 실험, 초기량 변화를 통한 재현성 비교

[방법] 초기 샘플량 1 ng을 이용한 반복실험 및 초기량 1 ng과 2 µg을 이용하여 분석 후 결과 비교

[결과] : 초기량에 상관없이 높은 재현성을 나타냄을 확인하였다.

그림 3. SMARTer® smRNA-Seq Kit for Illumina®를 이용한 sequencing 결과의 재현성 확인

Panel A. Correlation of miRNA expression levels for experimental replicates involving 1 ng inputs. Panel B. Correlation of miRNA expression levels for 2 µg vs. 1 ng inputs

[관련제품]

간편하고 정확한 miRNA 정량 시스템

Mir-X™ miRNA qRT-PCR SYBR® Kit

- 간편한 single-step cDNA synthesis
- 2 kits in 1: cDNA synthesis & qPCR premix 포함
- 최소 50 copies 까지 정량 가능
- 높은 특이성: SYBR을 이용한 검출, melting curve 분석 가능

제품명	Code	용량
Mir-X™ miRNA qRT-PCR SYBR® Kit	638314	200 회
	638316	600 회
Mir-X™ miRNA First-Strand Synthesis Kit	638313	20 회
	638315	60 회

!! 제품정보

NGS 분석을 위한 Clontech SMART 시리즈 (주요제품)

구분	Code	제품명	특징
Ribosomal RNA (rRNA) depletion	634846	RiboGone™-Mammalian	rRNA제거시약 SMART NGS 시리즈 사용시 최적
cDNA 합성, RNA-Seq library 제작 (for Illumina platform)	634888	SMART-Seq® v4 Ultra® Low Input RNA Kit for Sequencing	Single cell 직접 적용 가능
	635025	SMART-Seq® v4 Ultra® Low Input RNA Kit for the Fluidigm® C1™ System, 4 IFCs NEW	Fluidigm® C1™ 전용
	635029	SMARTer® smRNA-Seq Kit for Illumina® NEW	smRNA 분석 전용
	634938	SMARTer® Universal Low Input RNA for Sequencing	FFPE, LCM 등 degraded RNA (낮은 RIN 값)에 적용
	634836	SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit	Stranded RNA-seq 가능
	635005	SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit - Pico Input Mammalian	Stranded RNA-seq (Input - 250 pg~10 ng)
	634861	SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - Low Input Mammalian	Stranded RNA-seq (Input - 10 ng~100 ng)
	634873	SMARTer® Stranded Total RNA Sample Prep Kit - HI Mammalian	Stranded RNA-seq (Input - 100 ng~1 µg)
	634899	Low Input Library Prep Kit v2	Illumina® NGS library 제작
634900	Low Input Library Prep Kit HT	high throughput Illumina® library 제작	
DNA-Seq library제작	634865	DNA SMART™ ChIP-Seq Kit -12	ChIP DNA 분석을 위한 NGS library 제작
Illumina® library 정량	638324	Library Quantification Kit	qPCR을 이용한 library 정량