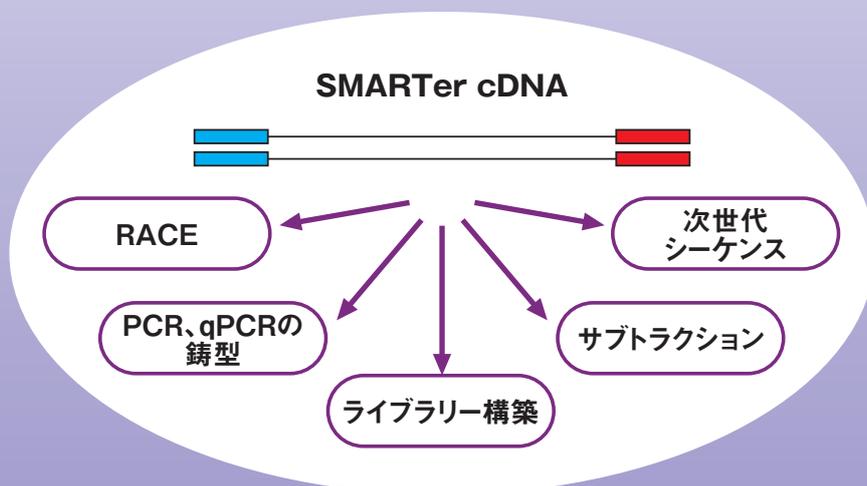




SMART / SMARTer Technology (SMART 改訂版201012)

完全長 cDNA 取得の切り札

～ cDNAクローニング、cDNAライブラリーの作製、
転写開始点・プロモーター領域などの解析 ～



完全長cDNAの取得にはClontech社の 改良版SMARTer™ シリーズをお勧めします!

簡便で確実な5'-RACE & 3'-RACEにはこちら!

SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit **NEW**

製品コード 634923 (10回) / 634924 (20回)

本キットは、Clontech独自のSMART/SMARTer技術*を用いる5'-RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) により、完全な5'末端を含むcDNAを取得することができ、プロモーター領域や転写開始点の解析などにも有効です。同じキットを用いて3'-RACEも行えます。

*詳細は4ページの“SMART/SMARTer法の概要”を参照

■ 完全長cDNAを容易に取得

SMARTer法により、完全長のcDNAだけを選択的に増幅可能です。遺伝子特異的プライマーをご用意いただくだけで、5'-RACE、3'-RACEのどちらにもご使用いただけます。

■ 他にはない使い勝手の良さ

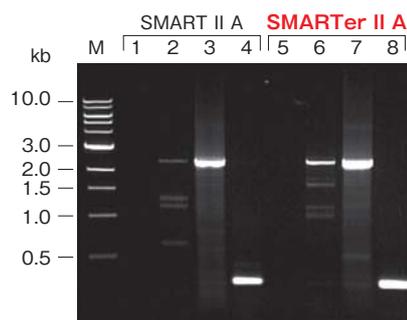
cDNA合成中に5'末端あるいは3'末端に合成アダプターを取り込むので、1stストランドcDNAをそのままRACE PCRに使用できます。必要な操作が最小限に抑えられ、全作業時間はわずか4時間です。

■ 10 ngのtotal RNAからでもOK

total RNAの最小必要量はわずか10 ngです。煩雑なライゲーション操作や複数の酵素反応を必要としないため、反応ロスが低減されます。極めて少量の試料を取り扱う場合には不可欠な手法です。

■ RNAの前処理は不要

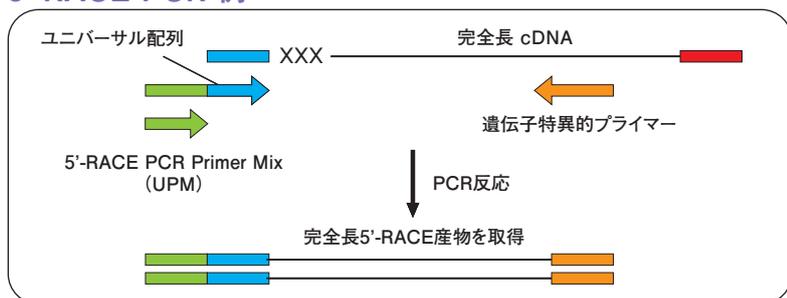
SMARTer RACE法ではRNAの前処理は不要です。本プロトコールはtotal RNAだけでなく、ゲノムDNAが混入している可能性がある試料にも有効です。



従来のSMART II A Oligoと改良版SMARTer II A OligoでのRACE産物の比較

- レーン 1,5 : 5'-RACE 陰性コントロール (RNAなし)
- レーン 2,6 : 2 ngのtotal RNAを出発材料にした TFR遺伝子の5'-RACE産物
- レーン 3,7 : 50 ngのtotal RNAを出発材料にした TFR遺伝子の5'-RACE産物
- レーン 4,8 : 2 ngのtotal RNAを出発材料にした 内部コントロールPCR
- レーン M : 1 kb DNAラダー

5'-RACE PCR 例



目的遺伝子の特異的プライマーをご用意していただくだけで、キット付属の5'-RACE PCR Primer Mix (UPM)*とのPCR反応により完全長RACE産物を取得することができます。

* SMARTer Oligoに組み込まれているユニバーサル配列をもつLong primerとShort primerの混合物

**ここが
変わりました!**

最新のSMARTer™キットは、従来のSMART Oligoから改良型SMARTer Oligoへの改変に加えて、強力な逆転写酵素SMARTscribe™ RTaseを採用 (製品に添付) することで、さらに高感度になりました。より微量なRNAサンプルからも反応が可能です。本酵素は単品でも販売しています。

SMARTscribe™ Reverse Transcriptase **NEW**

製品コード 639536 (40回) ほか

本酵素は、様々なRNAから効率よく完全長の1stストランドcDNAを合成できる改良型M-MLV Reverse Transcriptaseです。total RNAを鋳型とした逆転写反応において、14.7 kbまでの1stストランドcDNA産物の取得を確認しています。また、鋳型RNAの相対的な発現プロファイルを維持しながら、合成RNAでは10 copy程度、total RNAでは0.1 pgという微量の鋳型からcDNAを合成可能です。

完全長cDNAの取得、cDNAライブラリーの構築にはこちら!

SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit **NEW**

製品コード 634925 (10回) / 634926 (20回)

■ 2 ngのtotal RNAから高品質cDNAを合成

本キットを用いることで、様々な用途で利用可能な高品質のcDNAを合成することができます。

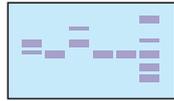
【応用例】

Clontech PCR-Select
cDNA Subtraction



(比較対照サンプル)

バーチャル
ノーザンブロット
イメージング



● Clontech PCR-Select cDNA Subtraction

本法は発現量に差がある遺伝子の特定に極めて有用な方法です。本キットで合成したSMARTer cDNAは、Clontech PCR-Select cDNA Subtractionに直接使用することができます。

● バーチャルノーザンブロットの作製

標準的なノーザンブロットを行うために十分なpolyA⁺ RNAやtotal RNAがない場合には、本キットで合成したSMARTer cDNAを用いてバーチャルノーザンブロットを作製することができます。

SMARTer™ Pico PCR cDNA Synthesis Kit **NEW**

製品コード 634928 (10回)

■ わずか1 ngの微量total RNAや希薄なRNA溶液からも高品質cDNAを合成

わずか1 ngのtotal RNAから、アレイプローブ合成やcDNAサブトラクション、バーチャルノーザンブロットなどの用途に用いる高品質cDNAを合成することができます。LCM法で採取した試料やフローサイトメトリーで選別した細胞など、極めて少量の試料に由来するRNAのように、出発材料に限りがある場合は特にSMARTer Pico技術が有用です。

SMARTerとSMARTer Picoによる1stストランドcDNA合成の比較

	SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit	SMARTer™ Pico PCR cDNA Synthesis Kit
RNAサンプルの使用量	2~1,000 ngのtotal RNA、液量≤3.5 μl	1~1,000 ngのtotal RNA、液量≤50 μl
使用可能な最小濃度	total RNA 0.6 ng/μl	total RNA 20 pg/μl
1stストランドcDNA合成時の液量とその後の操作	<ul style="list-style-type: none"> ・反応容量=10 μl ・合成産物をTEで希釈し、その一部を用いてPCR増幅を行う。 ・PCR増幅後、NucleoSpinカラムで精製 	<ul style="list-style-type: none"> ・反応容量=106 μl ・合成産物をNucleoSpinカラムで精製してPCR増幅に用いる。 ・PCR増幅後、NucleoSpinカラムで精製
dsDNAの収量	1~2 μg	1~2 μg

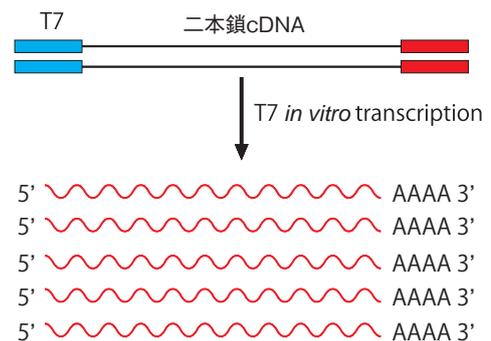
少量total RNAからmRNAをリニアに増幅するにはこちら!

SMART™ mRNA Amplification Kit

製品コード 635001 (10回)

■ 50 ngのtotal RNAから数10 μgのmRNAをリニアに増幅

SMART™ mRNA Amplification Kitは、少量のtotal RNAから多量のセンス鎖RNA (mRNA)を合成する迅速で簡便な方法です。発現、構造または機能試験を実施する必要があるが十分量のRNAが手元にない場合には、本キットを使用することで、サンプル中の転写物の相対量を維持したままmRNAを増幅することができます。



完全長cDNAベクターライブラリーの構築にはこちら!

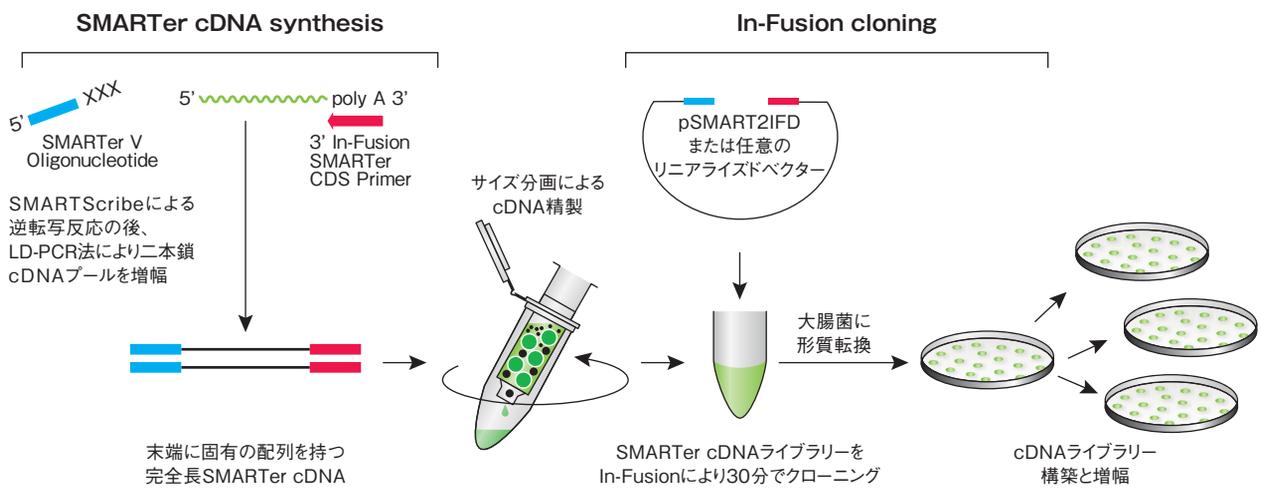
In-Fusion® SMARTer™ Directional cDNA Library Construction Kit **NEW**

製品コード 634933 (10回)

■ 任意のプラスミドベクター上の任意の部位に高品質完全長cDNAライブラリーを構築

本キットは、Clontechの2つの最新技術**SMARTer cDNA合成**と**In-Fusion Advantage PCRクローニング**を組み合わせた製品です(下図)。SMARTer cDNA合成法は、微量なtotal RNA(最小必要量10 ng)からでも、高品質完全長cDNAライブラリーを合成できます。また、In-Fusionクローニング法は、PCR産物として得られるライブラリーを任意のプラスミドベクターの任意の部位にディレクショナルに挿入可能です。この最新キットを用いることで、面倒なcDNAの制限酵素処理や平滑化、アダプター付加は不要となり、cDNA合成、クローニング、ライブラリーの構築と増幅までを3日間で行うことができます。また、In-Fusionクローニング法でcDNAライブラリーを構築すると、クローニングの際に問題となるベクターとのジャンクションへの余分な塩基の付加も起こりません。cDNAはディレクショナルにベクターに挿入され、大腸菌へ形質転換後、寒天培地上に現れたコロニーの90%以上はインサートを含んでいます。長いcDNA断片(~12 kb)も含まれています。

In-Fusion® SMARTer™ Directional cDNA Library Construction KitによるcDNAライブラリーの構築



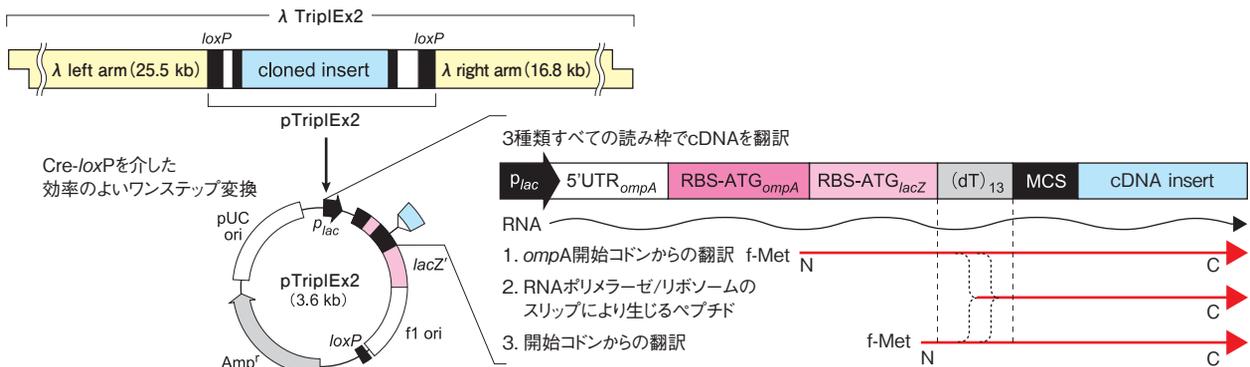
SMART™ cDNA Library Construction Kit

製品コード 634901 (1 Set)

■ λTriplEx2 ファージベクターライブラリーの構築キット

本キットは、λTriplEx2 ファージベクターにクローニングしてcDNAライブラリーを構築するキットです。λTriplEx2 ファージベクターのMCSはλ内に埋め込まれたプラスミド中に存在し、その両脇のloxPサイトを利用すれば、ワンステップでファージからプラスミドに変換が可能です。また、2つの翻訳開始部位と(dT)₁₃スリップサイトがMCSの上流に位置しており、挿入断片の3つすべての読み枠での翻訳が可能です。

λTriplEx2発現系の概要図





SMART / SMARTer法の概要

- 特長・利点**
- 完全長cDNAを選択的に取得可能
 - ナノグラム単位の微量total RNAからでも高品質cDNAを合成可能
 - 相対量を維持したままのmRNA増幅にも応用可能

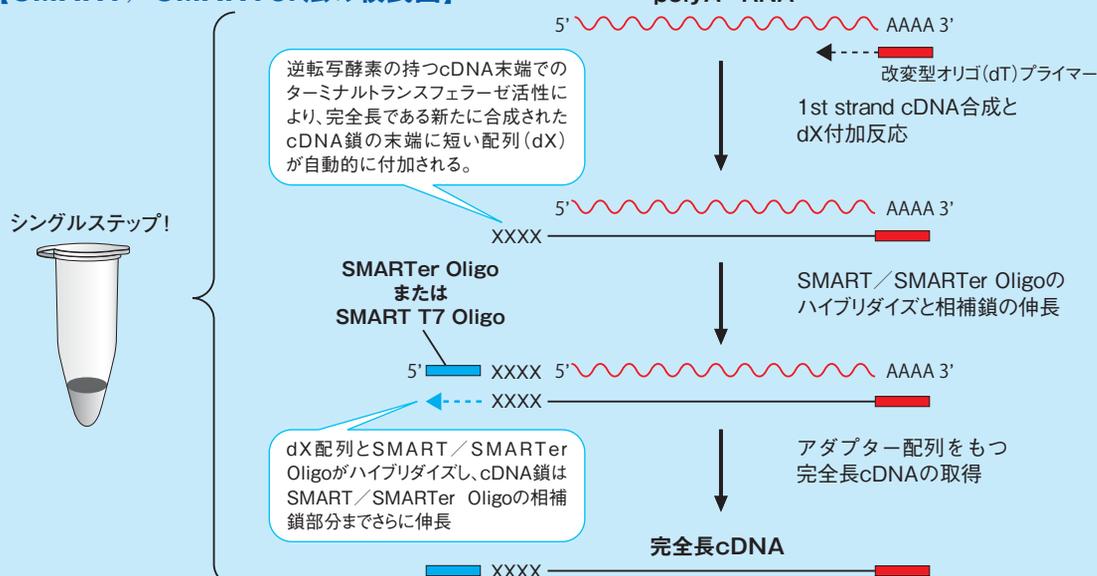
SMART法 (Switching Mechanism At 5'-end of the RNA Transcript) は、逆転写酵素の持つcDNA末端でのターミナルトランスフェラーゼ活性と、鋳型を切り替えてさらにDNA複製を続ける性質を利用し、効率よく完全長cDNAの合成を行なうClontech社独自の技術です (米国特許第5,962,271)。

さらに進化したSMARTer法では、SMART OligoからSMARTer Oligoへの改変と強力な逆転写酵素 SMARTScribe™ RTaseの採用により、極めて微量なRNAサンプルからも高感度な反応が可能になりました。

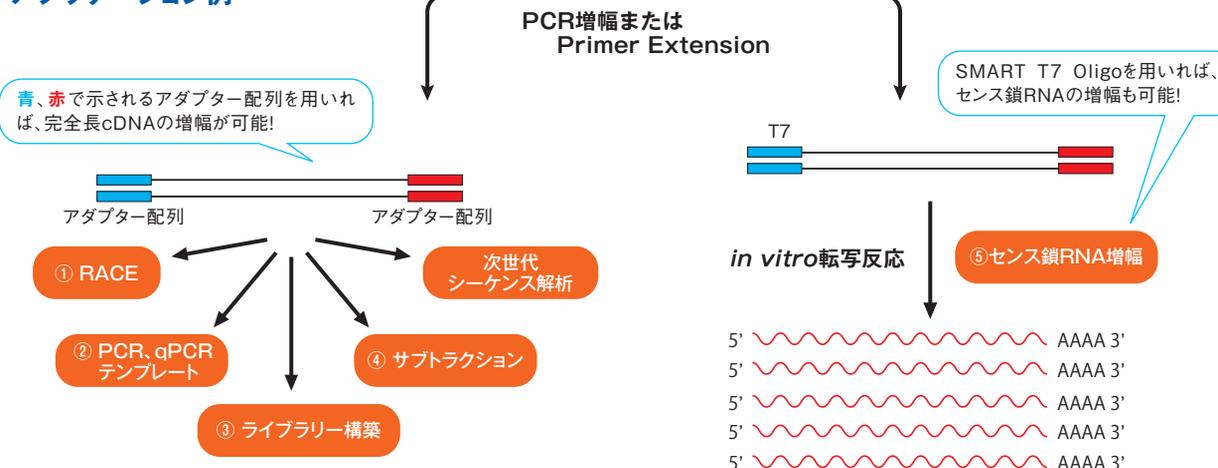
逆転写酵素は鋳型となるmRNAの末端に達すると、新たに合成したcDNA鎖の末端にシトシンリッチな短い配列を自動的に付加します。相補的なSMARTer Oligoがこのシトシンリッチな配列にハイブリダイズすると、逆転写酵素は鋳型を切り替えてSMARTer Oligoの末端までcDNA合成を続けます (鋳型切替)。

その結果、cDNAの末端にはSMARTer Oligo配列が組み込まれます。SMARTer Oligoに組み込まれているアダプター配列を利用することで、PCRやT7の系で*in vitro*増幅を容易に行うことができます。

【SMART / SMARTer法の模式図】



アプリケーション例



関連する製品:

- ① SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit (製品コード 634923 他)
- ② SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit (製品コード 634925 他)
- SMARTer™ Pico PCR cDNA Synthesis Kit (製品コード 634928)
- ③ In-Fusion® SMARTer™ Directional cDNA Library Construction Kit (製品コード 634933)
- SMART™ cDNA Library Construction Kit (製品コード 634901)
- ④ Clontech PCR-Select™ cDNA Subtraction Kit (製品コード 637401)

関連する製品:

- ⑤ SMART™ mRNA Amplification Kit (製品コード 635001)

SMART™ / SMARTer™ シリーズ製品リスト

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
5'-RACE & 3'-RACEで完全長cDNAを取得(改良型)				
SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit*1	total RNAの最小必要量はわずか10 ng。遺伝子特異的プライマーを用意するだけで5'-RACEにも3'-RACEにも対応	10回	634923	¥168,000
		20回	634924	¥270,000
Universal Primer Mix	製品コード 634923、634924の構成成分	100回	634922	¥22,000
完全長cDNAの取得や完全長cDNAライブラリーの作製(改良型)				
SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit*1	様々な用途に使用可能な高品質cDNAを合成。total RNAの最小必要量は2 ng	10回	634925	¥174,000
		20回	634926	¥278,000
SMARTer™ Pico PCR cDNA Synthesis Kit*1	様々な用途に使用可能な高品質cDNAを合成。より微量、低濃度のRNAに対応	10回	634928	¥272,000
相対量を維持したまま微量mRNAを増幅				
SMART™ mRNA Amplification Kit*2	50 ngのtotal RNAから数10 µgのmRNAをリニアに増幅	10回	635001	¥113,000

完全長cDNAベクターライブラリーを構築				
In-Fusion® SMARTer™ Directional cDNA Library Construction Kit(線状化済みプラスミドDNA添付)*1	任意のプラスミドベクターの任意の部位に高品質完全長cDNAライブラリーを構築	10回	634933	¥221,000
SMART™ cDNA Library Construction Kit*3	λTriplEx2ファージライブラリーを構築	1 Set	634901	¥190,000

新規逆転写酵素				
SMARTScribe™ Reverse Transcriptase	高品質な長鎖cDNAを合成可能	40回	639536	¥13,000

- *1: 本製品の使用には、別途PCR酵素が必要です。ユーザーマニュアルではAdvantage 2 PCR Kit(製品コード 639207)を用いたプロトコールを紹介しています。
- *2: 本製品の使用には、別途逆転写酵素とPCR酵素(Primer Extension用)が必要です。ユーザーマニュアルでは、逆転写酵素としてSMART MMLV Reverse Transcriptase(製品コード 639522)の使用を推奨しています。
- *3: 本製品の使用には、別途PCR酵素とλパッケージングキットが必要です。

ライブラリー作製受託サービス

SMART/SMARTer技術を用いて微量サンプルからmRNAの多様性を正確に反映したcDNAライブラリーを作製します。LCM(レーザーキャプチャーマイクロダイセクション)を用いて捕捉した単一細胞群などからの作製も承ります。

サービス項目	納期	価格(税別)
SMARTer™ cDNAライブラリー作製(polyA ⁺ RNAから)		
プラスミドベクターの場合	2ヵ月~	¥750,000 ~ } 1件あたり
λファージベクターの場合	2ヵ月~	

Sfil Cloning Strategy: Use of the Sfil cloning strategy is licensed under U.S. Patent No. 5,595,895.
 SMART™ Amplification Products: SMART Amplification Products are covered by U.S. Patent Nos. 5,962,271 and 5,962,272. For-Profit and Not-For-Profit purchasers of SMART Amplification Products are entitled to use the reagents for internal research. However, the following uses are expressly prohibited:
 (1) performing services for third parties;
 (2) identifying nucleic acid sequences to be included on nucleic acid arrays, blots, or in libraries or other cDNA collections which are then sold to third parties. Reproduction, modification, reformulation, or resale of the reagents provided in SMART Amplification Products is not permitted.
 For information on licensing SMART Technology for commercial purposes, please contact a licensing representative by phone at 650.919.7320 or by e-mail at licensing@clontech.com.
 In-Fusion® Cloning Products: Clontech has the exclusive right to make, use and sell the In-Fusion PCR Cloning System.
 ・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・本パンフレットの内容の一部または全部を無断で転載あるいは複製することはご遠慮ください。
 ・本パンフレット記載の価格は2010年12月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

発売元

タカラバイオ株式会社

製造元



製品ご購入に関するお問い合わせは

東日本販売課 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

西日本販売課 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

受託サービスに関するお問い合わせは

受託窓口 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

製品技術的なご質問は

TaKaRaテクニカルサポートライン

TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

タカラバイオウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

クロンテックウェブサイト <http://clontech.takara-bio.co.jp>

取扱店