

# Recommended universal buffers for double digestion

Double digestion (cutting DNA with two restriction enzymes simultaneously) is widely used to save time. In this table, the suitable buffer types, dilution rates, and additives are shown to perform double digestion with the restriction enzymes shown below. The letters L, M, H, T, and K show the type of universal buffer recommended, which is supplied at a 10X concentration. When "0.5X" is recommended, dilute 10X buffer 1:20; when "1X" is recommended, dilute 1:10; and when "2X" is recommended, dilute 1:5 for use in double digestion. BSA is also supplied at a 10X concentration, so dilute 1:10 to a final concentration of 0.01% when it is used.

Enzyme	Accl	BamHI	BglII	Clal	EcoRI	EcoRV	HincII	HindIII	KpnI	NcoI	NdeI	NotI	PstI	PvuI	SacI	Sall	SmaI	SpeI	SphI	XbaI	XhoI
Supplied buffer	10X M	10X K	10X H	10X M	10X H	10X H	10X M	10X M	10X L	10X K + BSA	10X H	10X H + BSA + Triton	10X H	10X K + BSA	10X L	10X H	10X T + BSA	10X M	10X H	10X M + BSA	10X H
Accl	-	0.5X K	1X T	1X M	1X M	0.5X K	1X M	1X M	1X M	1X M + BSA	1X T	0.5X K + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1.5X T	1X T + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1X M
BamHI	0.5X K	-	1X K	1X K	1X K	1X K	0.5X K	1X K	0.5X K	1X K + BSA	1X K	0.5X K + BSA	1X K	1X K	0.5X K	1.5X T	0.5X T + BSA	1X K	1X K	0.5X K	1X K
BglII	1X T	1X K	-	1X H	1X H	1X H	2X K	1X K	1X T	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	0.5X K	1X H	1X T + BSA	1X H	1X H	2X T	1X H
Clal	1X M	1X K	1X H	-	1X H	1X H	1X M	1X M	1X M	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	1X M	1X H	1X T + BSA	1X M	1X H	1X M	1X H
EcoRI	1X M	1X K	1X H	1X H	-	1X H	1X M	1X M	1X M	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	1X M	1X H	1X T + BSA	1X H	1X H	1X M	1X H
EcoRV	0.5X K	1X K	1X H	1X H	1X H	-	2X T	1X K	0.5X K	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	0.5X K	1X H	0.5X K + BSA	1X H	1X H	2X T	1X H
HincII	1X M	0.5X K	2X K	1X M	1X M	2X T	-	1X M	1X M	1X M + BSA	1X T	0.5X K + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1.5X K	1X T + BSA	1X M	2X T	1X M	1X M
HindIII	1X M	1X K	1X K	1X M	1X M	1X K	1X M	-	1X M	1X K + BSA	1X K	0.5X K + BSA	1X M	1X K	1X M	1.5X K	1X T + BSA	1X M	1X K	1X M	1X M
KpnI	1X M	0.5X K	1X T	1X M	1X M	0.5X K	1X M	1X M	-	0.5X K + BSA	1X T	0.5X K + BSA	1X M	0.5X K	1X L	1.5X T + BSA	1X T + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1X M
NcoI	1X M + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	1X M + BSA	1X K + BSA	0.5X K + BSA	-	1X K + BSA	0.5X K + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	0.5X K + BSA	1.5X T + BSA	1X T + BSA	1X K + BSA	1X K + BSA	1X M + BSA	1X K + BSA
NdeI	1X T	1X K	1X H	1X H	1X H	1X H	1X T	1X K	1X T	1X K + BSA	-	1X H + BSA	1X H	1X K	1X T	1X H	1X T + BSA	1X H	1X H	1X T	1X H
NotI	0.5X K + BSA	0.5X K + BSA	1X H + BSA	1X H + BSA	1X H + BSA	1X H + BSA	0.5X K + BSA	0.5X K + BSA	0.5X K + BSA	0.5X K + BSA	1X H + BSA	-	1X H + BSA	2X K + BSA	0.5X K + BSA	1X H + BSA	0.5X T + BSA	1X H + BSA	1X H + BSA	0.5X K + BSA	1X H + BSA
PstI	1X M	1X K	1X H	1X H	1X H	1X H	1X M	1X M	1X M	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	-	1X K	1X M	1X H	0.5X T + BSA	1X H	1X H	1X M	1X H
PvuI	0.5X K	1X K	1X K	1X K	1X K	1X K	0.5X K	1X K	0.5X K	1X K + BSA	1X K	2X K + BSA	1X K	-	0.5X K	1.5X K + BSA	1X K + BSA	1X K	1X K	0.5X K	1X K
SacI	1X M	0.5X K	0.5X K	1X M	1X M	0.5X K	1X M	1X M	1X L	0.5X K + BSA	1X T	0.5X K + BSA	1X M	0.5X K	-	1.5X T + BSA	1X T + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1X M
Sall	1.5X T	1.5X T	1X H	1X H	1X H	1X H	1.5X K	1.5X K	1.5X T + BSA	1.5X T + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1.5X K + BSA	1.5X T + BSA	-	1.5X T + BSA	1X H	1X H	1.5X T	1X H
SmaI	1X T + BSA	0.5X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	0.5X K + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA	0.5X T + BSA	0.5X T + BSA	1X K + BSA	1X T + BSA	1.5X T + BSA	-	1X T + BSA	0.5X T + BSA	1X T + BSA	1X T + BSA
SpeI	1X M	1X K	1X H	1X M	1X H	1X H	1X M	1X M	1X M	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	1X M	1X H	1X T + BSA	-	1X H	1X M	1X H
SphI	0.5X K	1X K	1X H	1X H	1X H	1X H	2X T	1X K	0.5X K	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	0.5X K	1X H	0.5X T + BSA	1X H	-	2X T	1X H
XbaI	1X M	0.5X K	2X T	1X M	1X M	2X T	1X M	1X M	1X M	1X M + BSA	1X T	0.5X K + BSA	1X M	0.5X K	1X M	1.5X T	1X T + BSA	1X M	2X T	-	1X M
XhoI	1X M	1X K	1X H	1X H	1X H	1X H	1X M	1X M	1X M	1X K + BSA	1X H	1X H + BSA	1X H	1X K	1X M	1X H	1X T + BSA	1X H	1X H	1X M	-

**Note:**

1. One unit of each enzyme completely digests 1 µg of DNA at 37°C in one hour in 50 µL of reaction mixture.
2. The concentration of glycerol should be less than 10% to minimize star activity.
3. DNA may not be digested completely when recognition sequences of two enzymes are close to each other or when DNA takes high-structure conformation.

**For Research Use Only. Not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.**

© 2011 Life Technologies Corporation. All rights reserved. The trademarks mentioned herein are the property of Life Technologies Corporation or their respective owners.

Printed in the USA. C019249 0611

[www.lifetechnologies.com](http://www.lifetechnologies.com)