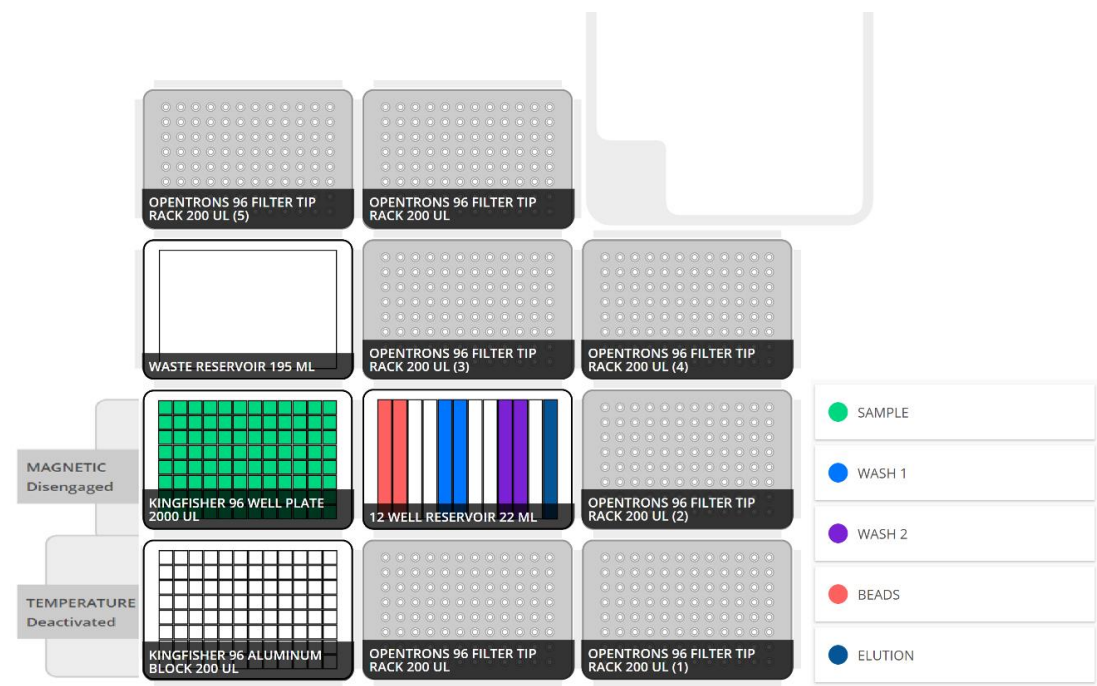


Protocolo B. Bikop y TurboBeads.

Extracción total.

Disposición del deck



Observaciones iniciales

Tanto el módulo de temperatura como el magnético deberán encontrarse encendidos para poder arrancar el protocolo.

Se reproducirá un sonido cada vez que se utilicen 3 cajas completas de puntas para que se lleve a cabo el vaciado de la basura. El protocolo no se detendrá, si fuese necesario se podrá utilizar la opción de “Pause” de la interfaz de Opentrons.

A continuación, se incluye una tabla con las cantidades a depositar en cada uno de los canales del reservorio multicanal en función del número de muestras para las cantidades de cada reactivo definidas inicialmente. **Deberá transcurrir el menor tiempo posible entre la dispensación de la solución de bolas magnéticas con isopropanol y el inicio del protocolo para evitar la sedimentación de las bolas magnéticas.**

		32 samples		64 samples		96 samples	
	Vol/sample (uL)	Nº Wells	Vol/well (uL)	Nº Wells	Vol/well (uL)	Nº Wells	Vol/well (uL)
Beads	200 uL	1	8400	1	14800	2	11600
Wash 1	200 uL	1	7800	1	14200	2	11000
Wash 2	200 uL	1	7800	1	14200	2	11000
Elution	50 uL	1	3000	1	4600	1	6200

Variables editables del protocolo

- **NUM_SAMPLES.** Número de muestras contabilizando los espacios de control, es decir, un proceso completo se realizaría con el valor 96 (94 muestras + 2 controles).
- **USE_300_TIPS.** Variable que indica si el protocolo se ejecutará con puntas de 300 µL (*True*) o de 200 µL (*False*).
- **VOLUME_SAMPLE.** Volumen en µL de las muestras con lisis recibido de la estación A.
- **BEADS_VOLUME_PER_SAMPLE.** Volumen en µL de la solución de bolas magnéticas con isopropanol que será transferido a cada una de las muestras.
- **WASH_1_VOLUME_PER_SAMPLE.** Volumen en µL de la primera solución de lavado que será transferido a cada una de las muestras.
- **WASH_2_VOLUME_PER_SAMPLE.** Volumen en µL de la segunda solución de lavado que será transferido a cada una de las muestras.
- **ELUTION_VOLUME_PER_SAMPLE.** Volumen en µL de elución que será transferido a cada una de las muestras en el deepwell.
- **ELUTION_FINAL_VOLUME_PER_SAMPLE.** Volumen en µL de elución que será transferido del deepwell a la placa final.
- **BEADS_WELL_FIRST_TIME_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la solución con las bolas magnéticas en la primera recogida del canal.
- **BEADS_WELL_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la solución con las bolas magnéticas a partir de la segunda recogida del canal.
- **BEADS_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la muestra una vez dispensada la solución con las bolas magnéticas.
- **WASH_1_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la muestra una vez dispensada la primera solución de lavado.
- **WASH_2_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la muestra una vez dispensada la segunda solución de lavado.
- **ELUTION_NUM_MIXES.** Número de veces que se resuspende la muestra una vez dispensada la elución en el deepwell.
- **SET_TEMP_ON.** Variable que indica si se encenderán los módulos de temperatura (*True*) o se mantendrán apagados (*False*).
- **TEMPERATURE.** Grados centígrados a los que se mantendrán los módulos de temperatura en caso de que la variable *SET_TEMP_ON* tenga el valor *True*.
- **SOUND_NUM_PLAYS.** Número de veces, una por minuto, que se reproducirá el sonido de finalización del protocolo. En caso de no desear sonido el valor de la variable deberá ser de 0.
- **PHOTOSENSITIVE.** En función de esta variable se encenderán o no las luces durante la ejecución del protocolo. Cuando se trabaje con reactivos fotosensibles deberá tener el valor *True*, en caso contrario su valor deberá ser *False*.

Pasos del protocolo

- **PASO 1. Transferir bolas magnéticas.**
 - Por cada columna (8 muestras).
 - Se recogen 8 puntas (200/300 µL).

- Se mezcla el canal con la solución de bolas magnéticas con isopropanol 10 veces en caso de ser la primera recogida de dicho canal o 3 veces en caso contrario.
 - Se mueven 200 μL (x8) del canal correspondiente del reservorio multicanal a cada una de las muestras. En caso de necesitarse varias recogidas en cada una se mezcla el canal de nuevo.
 - Se resuspenden 180/280 μL de las muestras 10 veces.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 5. Incubación con el imán ON.**
 - Se levantan los imanes (ON).
 - Espera de 10 minutos.
- **PASO 6. Desechar sobrenadante.**
 - Por cada columna (8 muestras).
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL).
 - Se mueven 180/280 μL (x8), tantas veces como sea necesario para remover todo el sobrenadante, de cada pocillo del deepwell del slot 4 al reservorio de residuos. Se aspira desde el lado contrario del pocillo al que está actuando el imán.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 7. Imán OFF.**
 - Se bajan los imanes (OFF).
- **PASO 8. Transferir primer lavado.**
 - Por cada columna (8 muestras):
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL)
 - Se mueven 200 μL (x8) del canal correspondiente del reservorio multicanal a cada uno de los pocillos del deepwell del slot 4. Se dispensa desde el lado del pocillo en el que se sitúa el imán.
 - Se resuspenden 180/200 μL del deepwell 10 veces.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 9. Incubación con el imán ON.**
 - Se levantan los imanes (ON).
 - Espera de 5 minutos.
- **PASO 10. Desechar sobrenadante.**
 - Por cada columna (8 muestras).
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL).
 - Se mueven 180/280 μL (x8), tantas veces como sea necesario para remover todo el sobrenadante, de cada pocillo del deepwell del slot 4 al reservorio de residuos. Se aspira desde el lado contrario del pocillo al que está actuando el imán.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 11. Imán OFF.**
 - Se bajan los imanes (OFF).
- **PASO 12. Transferir segundo lavado.**
 - Por cada columna (8 muestras):
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL)
 - Se mueven 200 μL (x8) del canal correspondiente del reservorio multicanal a cada uno de los pocillos del deepwell del slot 4. Se dispensa desde el lado del pocillo en el que se sitúa el imán.

- Se resuspenden 180/200 μL del deepwell 10 veces.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 13. Incubación con el imán ON.**
 - Se levantan los imanes (ON).
 - Espera de 5 minutos.
- **PASO 14. Desechar sobrenadante.**
 - Por cada columna (8 muestras).
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL).
 - Se mueven 180/280 (x8), tantas veces como sea necesario para remover todo el sobrenadante, de cada pocillo del deepwell del slot 4 al reservorio de residuos. Se aspira desde el lado contrario del pocillo al que está actuando el imán.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 15. Secado.**
 - Espera de 5 minutos.
- **PASO 16. Imán OFF.**
 - Se bajan los imanes (OFF).
- **PASO 17. Transferir elución.**
 - Por cada columna (8 muestras):
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL)
 - Se mueven 50 μL (x8) del canal 7 del reservorio multicanal a cada uno de los pocillos del deepwell del slot 4. Se dispensa desde el lado del pocillo en el que se sitúa el imán.
 - Se resuspenden 50 μL del deepwell 10 veces.
 - Se tiran las 8 puntas.
- **PASO 19. Incubación con el imán ON.**
 - Se levantan los imanes (ON).
 - Espera de 5 minutos.
- **PASO 20. Transferir elución a la placa.**
 - Por cada columna (8 muestras):
 - Se recogen 8 puntas (200/300 μL)
 - Se mueven 50 μL (x8) del deepwell del slot 4 a la placa situada en el módulo de temperatura (slot 1).
 - Se tiran las 8 puntas.