Protocolo B. Bikop y TurboBeads. Extracción total.

**Disposición del deck**

Interfaz de usuario gráfica

Descripción generada automáticamente

**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 delcanal.
* **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 12 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 depwell del slot 4 a la placa situada en el módulo de temperatura (slot 1).
    - Se tiran las 8 puntas.