# DIN EN ISO 21286:2020-09 (D)

## Bodenbeschaffenheit - Identifizierung der Testorganismenarten für ökotoxikologische Tests mit Hilfe von DNA-Barcoding (ISO 21286:2019); Deutsche Fassung EN ISO 21286:2020

## Inhalt

Seite


Europäisches Vorwort ..... 4

Vorwort ..... 5

Einleitung ..... 6

1 Anwendungsbereich ..... 8

2 Normative Verweisungen ..... 8

3 Begriffe ..... 8

4 Grundsatz ..... 9

5 Reagenzien und Materialien ..... 10
5.1 Biologisches Material ..... 10
5.2 Enzym ..... 10
5.3 Oligonukleotid-PCR-Primer ..... 11
5.4 Reagenzien ..... 11

6 Prüfeinrichtung ..... 12

7 Allgemeine Anforderungen ..... 12
7.1 Gute Laborpraxis und Vermeidung von Verunreinigungen ..... 12
7.2 Sicherheitsvorkehrungen ..... 13
7.2.1 Chemische Gefährdungen ..... 13
7.2.2 Physikalische Gefährdungen ..... 13

8 Durchführung ..... 13
8.1 DNA-Isolierung ..... 13
8.2 Quantifizierung ..... 14
8.3 PCR ..... 14
8.3.1 Ziel-Genomregion ..... 14
8.3.2 Primer-Entwicklung ..... 15
8.3.3 Primer-Synthese ..... 15
8.3.4 PCR ..... 15
8.4 Prüfen der Amplikon-Größe ..... 17
8.5 Reinigung ..... 17
8.6 Sequenzierung ..... 17
8.7 Bioinformatik ..... 18
8.7.1 Allgemeines ..... 18
8.7.2 Qualitätsprüfung des Elektropherogramms oder Rohdatensequenzen ..... 18
8.7.3 Ausschneiden von Regionen schlechter Qualität und von Primer-Sequenzen ..... 18
8.7.4 Sequenz-Überlappung ..... 19
8.7.5 Sequenz-Verifizierung ..... 19
8.7.6 Überprüfen der editierten Sequenz ..... 19
8.7.7 Arten-Zuordnung ..... 20
8.7.8 Qualität der Referenzdatenbanken ..... 21

9 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse ..... 22

10 Gültigkeit der Prüfung ..... 22

11 Prüfbericht ..... 22

Anhang A (informativ) Die *Eisenia* Barcoding Initiative: Ringversuch zur Beurteilung der Anwendbarkeit des DNA-Barcodings für die Identifizierung von *Eisenia*-Arten ..... 24

Literaturhinweise ..... 28