DIN EN 17477:2021-10 (D)

Algen und Algenprodukte - Identifizierung der Biomasse von Mikroalgen, Makroalgen, Cyanobakterien und Labyrinthulomycetes - Erkennung und Identifizierung mit morphologischen und/oder molekularen Verfahren; Deutsche Fassung EN 17477:2021

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 4

Einleitung 5

1 Anwendungsbereich 6

2 Normative Verweisungen 6

3 Begriffe 7

4 Abkürzungen 11

5 Reagenzien 12
5.1 Reagenzien für morphologische Verfahren 12
5.1.1 Isotonische Lösung 12
5.2 Reagenzien für molekulare Verfahren 12
5.2.1 Primer 12
5.2.2 Desoxynukleotid-Triphosphat-Mix (dNTPs) 12
5.2.3 Thermostabile DNS-Polymerase 12
5.2.4 PCR-Reaktionspuffer 12
5.2.5 Agarose-Gel 12
5.2.6 Gelelektrophorese-Puffer 13
5.2.7 Beladungspuffer 13
5.2.8 DNS-Leiter 13

6 Prüfeinrichtung 13
6.1 Allgemeines 13
6.2 Geräte für morphologische Identifizierungsverfahren 13
6.2.1 Schwach vergrößerndes optisches System 13
6.2.2 Lichtmikroskop 13
6.2.3 Wissenschaftliche Literatur zur Taxonomie 14
6.2.4 Objektträger für die Mikroskopie 14
6.2.5 Deckglas für die Mikroskopie 14
6.3 Geräte für molekulare Identifizierungsverfahren 14
6.3.1 Thermocycler 14
6.3.2 Gerät für die Gelelektrophorese 14
6.3.3 DNS-Sequenziergerät 14
6.3.4 Kunststoff-Verbrauchsmaterialien, DNS-frei, für Einmalgebrauch 14

7 Kurzbeschreibung 15
7.1 Allgemeines 15
7.2 Morphologische Verfahren 15
7.3 Molekulare Verfahren 15

8 Durchführung 15
8.1 Allgemeine Anforderungen an Laboratorien 15
8.2 Auswahl der Verfahren 15

9 Morphologische Identifizierungsverfahren 17
9.1 Allgemeines 17

9.2 Makroskopische Identifizierung mit bloßem Auge oder einem Vergrößerungsglas ... 17
9.3 Lichtmikroskopie ... 17
9.3.1 Allgemeines ... 17
9.3.2 Färbung ... 17
9.3.3 Vorbereitung von mikroskopischen Objektträgern ... 17
9.3.4 Mikroskopische Identifizierung ... 18
9.3.5 Verwendung von Bestimmungsschlüsseln ... 18

10 Molekulare Identifizierungsverfahren ... 18
10.1 Allgemeines ... 18
10.2 DNS-Extraktion und -Aufreinigung ... 19
10.3 DNS-Amplifikation ... 19
10.3.1 Kurzbeschreibung der DNS-Amplifikation ... 19
10.3.2 Verfahren ... 19
10.4 Auswahl der Primer ... 20
10.5 Kontrollreaktionen ... 20
10.6 Beurteilung der PCR-Produkte ... 21
10.7 Klonierung der PCR-Produkte ... 21
10.8 Sequenzierung der PCR-Produkte ... 21
10.9 Auswertung der Sequenzdaten ... 22
10.10 Sequenzanalyse/-vergleich mit Referenz-Sequenzen in öffentlich zugänglichen Datenbanken ... 22

11 Untersuchungsbericht ... 23

Anhang A (informativ) Beispiele für einsetzbare Primer ... 24
A.1 Einleitung ... 24
A.2 Prokaryotische Primer, spezifisch für Cyanobakterien ... 24
A.2.1 Primer für 16S-rDNS-Genamplifikation ... 24
A.2.2 Primer für 16S-rDNS-Gensequenzierung ... 24
A.3 Eukaryotische Primer, allgemeinerer Natur (Mikroalgen, Labyrinthulomycetes, Makroalgen) ... 24
A.3.1 Primer für 18S-rDNS-Genamplifikation ... 24
A.3.2 Primer für *COX1*-Genamplifikation ... 25
A.3.3 Primer für *tufA*-Genamplifikation ... 25
A.3.4 Primer für *rbcL*-Genamplifikation ... 25
A.4 Sequenzierungsprimer ... 25

Anhang B (informativ) Wissenschaftliche Literatur, die für die Identifizierung verwendet werden kann ... 26

Literaturhinweise ... 28