E DIN EN ISO 22344:2026-07 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2026-06-12

Untersuchung auf molekulare Biomarker - DNA-Barcoding von Krustentieren und Produkten aus Krustentieren anhand definierter mitochondrialer 16S rRNA und Cytochrom-c-Oxidase-I-Genabschnitte (ISO/DIS 22344:2026); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 22344:2026

Molecular biomarker analysis - DNA barcoding of crustaceans and products derived from crustaceans using defined mitochondrial 16S rRNA and cytochrome c oxidase I gene segments (ISO/DIS 22344:2026); German and English version prEN ISO 22344:2026

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 4
Vorwort 5
Einleitung 6
1 Anwendungsbereich 7
2 Normative Verweisungen 7
3 Begriffe 7
4 Symbole und Abkürzungen 9
5 Kurzbeschreibung 10
6 Reagenzien und Materialien 10
6.1 Allgemeines 10
6.2 Thermostabile DNA-Polymerase. 10
6.3 PCR-Reaktionspuffer (einschließlich MgCl2 oder mit separater MgCl2-Lösung). 11
6.4 dNTP-Mix (dATP, dCTP, dGTP und dTTP). 11
6.5 Oligonukleotides. 11
6.6 Agarose. 11
6.7 DNA-Größenstandard. 11
7 Geräte 11
7.1 Allgemeines 11
7.2 UV-Spektralphotometer oder Fluorometer, ... 11
7.3 Thermocycler. 12
7.4 Gelelektrophoresegerät. 12
7.5 Geldokumentationssystem. 12
7.6 DNA-Sequenzierungsautomat. 12
8 Durchführung 12
8.1 Probenvorbereitung 12
8.2 DNA-Extraktion 12
8.3 PCR 12
8.3.1 Allgemeines 12
8.3.2 PCR-Ansatz 12
8.3.3 PCR-Kontrollen 14
8.3.4 Thermocycling 14
8.4 Bewertung der PCR-Produkte 15
8.5 Bewertung der PCR-Ergebnisse 15
9 Sequenzierung 16
9.1 Sequenzierung der PCR-Produkte 16
9.2 Bewertung der Sequenzdaten 16
9.3 Vergleich der Sequenz mit öffentlichen Datenbanken 17
9.3.1 Allgemeines 17
9.3.2 Sequenzvergleich der 16S-rRNA- und/oder *cox1*-Amplikonsequenzen mit GenBank . . . 17
9.3.3 Sequenzvergleich von *cox1*-Amplikonsequenzen mit BOLD 18
10 Interpretation von Ergebnissen der Datenbankabfrage 19
11 Validierungsstatus und Leistungskriterien 20
11.1 Ringversuch zur Identifizierung von Krustentierarten auf der Grundlage einer Sequenzanalyse des kürzeren 16S-rRNA-Gensegments (310 bp) 20

11.2 Ringversuch zur Identifizierung von Krustentierarten auf der Grundlage einer Sequenzanalyse des längeren 16S-rRNA-Gensegments (520 bp) und von *cox1* (660 bp) . 21
12 Untersuchungsbericht 24
Anhang A (informativ) **Praktische Laborerfahrungen hinsichtlich der Amplifizierbarkeit von 16S-rRNA-Gen- (310 bp), 16S-rRNA-Gen- (520 bp) und *cox1*-(660 bp) Segmenten untersuchter Krustentierarten 25**
Literaturhinweise 27

Bilder

Bild 1 8

Tabellen

Tabelle 1 — Oligonukleotide für die Amplifikation der kürzeren 16S-rRNA-Generegion (310 bp) [2] [3] 11
Tabelle 2 — Oligonukleotide für die Amplifikation der längeren 16S-rRNA-Generegion (520 bp) [4] 11
Tabelle 3 — Oligonukleotide für die Amplifikation der *cox1*-Generegion (660 bp) [5] 11
Tabelle 4 — Komponenten für die PCR des kürzeren 16S-rRNA-Gensegments (310 bp-Fragment) 13
Tabelle 5 — Komponenten für die PCR des längeren 16S-rRNA-Gensegments (520 bp-Fragment) 13
Tabelle 6 — Komponenten für die *cox1* PCR (660 bp-Fragment) 13
Tabelle 7 — Temperatur-Zeit-Programm für die PCR des kürzeren 16S-rRNA-Gensegments (310 bp-Fragment) 14
Tabelle 8 — Temperatur-Zeit-Programm für die PCR des längeren 16S-rRNA-Gensegments (520 bp-Fragment) 15
Tabelle 9 — Temperatur-Zeit-Programm für die *cox1* PCR (660 bp-Fragment) 15
Tabelle 10 — Ergebnisse aus dem Ringversuch bezüglich des 16S-rRNA-Gens (310 bp) 20
Tabelle 11 — Auswertung der Ergebnisse des Ringversuchs bezüglich des 16S-rRNA-Gens (310 bp) in Abhängigkeit von der Krustentierart 20
Tabelle 12 — Ergebnisse aus dem Ringversuch bezüglich des 16S-rRNA-Gens (520 bp) 21
Tabelle 13 — Auswertung der Ergebnisse des Ringversuchs bezüglich des 16S-rRNA-Gens (520 bp) in Abhängigkeit von der Krustentierart 21
Tabelle 14 — Ergebnisse aus dem Ringversuch bezüglich *cox1* (660 bp) 22
Tabelle 15 — Auswertung der Ergebnisse des Ringversuchs bezüglich *cox1* (660 bp) in Abhängigkeit von der Krustentierart 23
Tabelle A.1 — Praktische Laborerfahrungen 25