DIN CEN/TS 17883:2024-04 (D)

Umwelttechnische Charakterisierung von Sickerwässern aus Abfall und Boden mittels reproduktiver und toxikologischer Genexpression in Daphnia magna; Deutsche Fassung CEN/TS 17883:2022

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 4
Einleitung 5
1 Anwendungsbereich 10
2 Normative Verweisungen 10
3 Begriffe 10
4 Kurzbeschreibung 12
4.1 Allgemeines 12
4.2 Toxikogenomisches qPCR-Verfahren 12
4.3 Exposition von *Daphnia magna* 13
4.4 Auswahl von Genen für die Untersuchung 13
5 Prüfmaterialien 15
5.1 *Daphnia magna* Referenzwasser 15
5.2 *Daphnia magna*-Kultur 15
5.2.1 Gewinnung von *Daphnia magna* aus Kultur 15
5.2.2 Gewinnung von *Daphnia magna* aus Dauereiern (Ephippia) 15
5.3 Reagenzien 16
6 Geräte 16
7 Durchführung 16
7.1 Auslaugung 16
7.2 Arbeitsvorschrift für die Exposition des Wasserflohs *Daphnia magna* 16
7.2.1 Einleitung 16
7.2.2 Prüfung der akuten Schwimmunfähigkeit 16
7.3 Probenahme von *Daphnia magna* für die Genexpressionsanalyse 17
7.4 RNA-Extraktion 18
7.4.1 Allgemeines 18
7.4.2 Durchführung 18
7.4.3 Bestimmung der Qualität und Quantität von RNA 19
7.5 DNA-Synthese 19
7.5.1 Allgemeines 19
7.5.2 Reagenzien 19
7.5.3 Durchführung 19
7.6 qPCR-Verfahren 20
7.6.1 Allgemeines 20
7.6.2 Arbeitsvorschrift 20
7.7 Analyse der Ergebnisse 20
7.8 Auswertung der Ergebnisse 20
7.8.1 Allgemeines 20
7.8.2 Anzahl betroffener Gene 21
7.8.3 Erhöhung oder Verringerung 21
7.8.4 Reaktionsgrad 21
7.8.5 Statistische Signifikanz 21
7.8.6 Kombinierte Auswertung 21
7.8.7 Verwendung von Ergebnissen in Gefährdungseinschätzungen 21
Anhang A (informativ) **Darstellung und Auswertung toxikogenomischer Daten** 23
Literaturhinweise 26

Bilder

Bild 1 — Unterschiede in physiologischer Auswirkung und mechanistischer Auflösung auf verschiedenen Organisationsebenen 5
Bild 2 — Entstehung eines unerwünschten Ergebnisses 6
Bild 3 — Prüfung der Wirkung identifizierter Verunreinigungen in Abfällen, Böden oder Wasser 8
Bild 4 — Hauptaufgaben der Bestimmung der Anzahl spezifischer RNA mittels qPCR. A) Exposition der *Daphnia magna* gegenüber der Prüflösung B) Extraktion von mRNA, cDNA-Synthese und qPCR 12
Bild A.1 — Prüfung der akuten Toxizität 23
Bild A.2 — Toxikogenomische Analyse 24
Bild A.3 — Genexpression von MTA, Cat und Hsp60 24

Tabellen

Tabelle 1 — Gene mit Bezeichnung, Funktion und Wirkung 13
Tabelle 2 — Liste von Gen-Primern 14