

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 <i>Daphnia magna</i>	13
4.4 Auswahl von Genen für die Untersuchung	13
5 Prüfmaterialien	15
5.1 <i>Daphnia magna</i> Referenzwasser	15
5.2 <i>Daphnia magna</i> -Kultur	15
5.2.1 Gewinnung von <i>Daphnia magna</i> aus Kultur	15
5.2.2 Gewinnung von <i>Daphnia magna</i> aus Dauereiern (Ehippia)	15
5.3 Reagenzien	16
6 Geräte	16
7 Durchführung	16
7.1 Auslaugung	16
7.2 Arbeitsvorschrift für die Exposition des Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	16
7.2.1 Einleitung	16
7.2.2 Prüfung der akuten Schwimmfähigkeit	16
7.3 Probenahme von <i>Daphnia magna</i> 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 <i>Daphnia magna</i> 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