DIN CEN/TS 17883:2024-10 (D)

Umwelttechnische Charakterisierung von Sickerwässern aus Abfall und Boden mittels reproduktiver und toxikologischer Genexpression in Daphnia magna; Deutsche Fassung CEN/TS 17883:2024

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 6

Einleitung 7

1 Anwendungsbereich 12

2 Normative Verweisungen 12

3 Begriffe 13

4 Kurzbeschreibung 14
4.1 Allgemeines 14
4.2 Toxikogenomisches qPCR-Verfahren 14
4.3 Exposition von *Daphnia magna* 15
4.4 Auswahl von Genen für die Untersuchung 15

5 Prüfmaterialien 18
5.1 *Daphnia magna* Referenzwasser 18
5.2 *Daphnia magna*-Kultur 18
5.2.1 Gewinnung von *Daphnia magna* aus Kultur 18
5.2.2 Gewinnung von *Daphnia magna* aus Dauereiern (Ephippia) 18
5.3 Reagenzien 19

6 Geräte 19

7 Durchführung 19
7.1 Auslaugung 19
7.2 Arbeitsvorschrift für die Exposition des Wasserflohs *Daphnia magna* 19
7.2.1 Einleitung 19
7.2.2 Prüfung der akuten Immobilisierung 19
7.3 Probenahme von *Daphnia magna* für die Genexpressionsanalyse 21
7.4 RNA-Extraktion 21
7.4.1 Allgemeines 21
7.4.2 Durchführung 21
7.4.3 Bestimmung der Qualität und Quantität von RNA 22
7.5 DNA-Synthese 22
7.5.1 Allgemeines 22
7.5.2 Reagenzien 22
7.5.3 Durchführung 22
7.6 qPCR-Verfahren 23
7.6.1 Allgemeines 23
7.6.2 Arbeitsvorschrift 23
7.7 Analyse der Ergebnisse 24
7.8 Auswertung der Ergebnisse 24
7.8.1 Allgemeines 24
7.8.2 Anzahl betroffener Gene 25
7.8.3 Erhöhung oder Verringerung der Genaktivität 25
7.8.4 Reaktionsgrad 25
7.8.5 Statistische Signifikanz 25
7.8.6 Kombinierte Auswertung 25

7.8.7 Bewertung der Ergebnisse **25**

Anhang A (informativ) Darstellung und Auswertung toxikogenomischer Daten **26**

Literaturhinweise **29**

Bilder

Bild 1 — Unterschiede in physiologischer Auswirkung und mechanistischer Auflösung auf verschiedenen Organisationsebenen **7**

Bild 2 — Entstehung eines unerwünschten Ergebnisses **8**

Bild 3 — Prüfung der Wirkung von Eluaten aus Sickerwässern von Abfällen und Böden anhand der reproduktiven und toxikologischen Genexpression in *Daphnia magna* **10**

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 **15**

Bild A.1 — Prüfung der akuten Toxizität **26**

Bild A.2 — Toxikogenomische Analyse **27**

Bild A.3 — Genexpression von MTA, Cat und Hsp60 ..... **28**

Tabellen

Tabelle 1 — Gene mit Bezeichnung, Funktion und Wirkung **16**

Tabelle 2 — Liste von Gen-Primern **17**