

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 <i>Daphnia magna</i> | 15 |
| 4.4 Auswahl von Genen für die Untersuchung..... | 15 |
| 5 Prüfmaterialien..... | 18 |
| 5.1 <i>Daphnia magna</i> Referenzwasser..... | 18 |
| 5.2 <i>Daphnia magna</i> -Kultur..... | 18 |
| 5.2.1 Gewinnung von <i>Daphnia magna</i> aus Kultur | 18 |
| 5.2.2 Gewinnung von <i>Daphnia magna</i> 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 Wasserfloh <i>Daphnia magna</i> | 19 |
| 7.2.1 Einleitung..... | 19 |
| 7.2.2 Prüfung der akuten Immobilisierung..... | 19 |
| 7.3 Probenahme von <i>Daphnia magna</i> 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 <i>Daphnia magna</i> | 10 |
| 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..... | 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 |