

იურიდიული სამართლის პირი
მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური
ფიზიკის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

ქეთევან ჯელილის ასული წაქაძე

წყალბადის იონების ზეგავლენა დნმ-ს მოლეკულაზე.
სპექტროსკოპული გამოკვლევა და
ელექტრონულ-კონფიგურაციული ანალიზი

03.00.02 _ ბიოფიზიკა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

თბილისი

2006

ნაშრომი შესრულებულია ე. ანდრონიკაშვილის
ფიზიკის ინსტიტუტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ვასილ ბრეგაძე
ფიზიკა-მათემატიკის მეცნიერებათა
დოქტორი

ოფიციალური ოპონენტები:

ჯემალ გოგორიშვილი
ბიოლოგიურ მეცნიერებათა
დოქტორი

ჯამლეტ მონასელიძე

ფიზიკა-მათემატიკის მეცნიერებათა
დოქტორი

დისერტაციის დაცვა შედგება მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური
ფიზიკის ინსტიტუტში, სადისერტაციო საბჭოს (B.03.03.N3) სხდომაზე

2006 წლის 20 დეკემბერს, 14⁰⁰ სთ-ზე.

(თბილისი 0160, ლ. გოთუას ქ. №12)

დისერტაციის გაცნობა შესაძლებელია საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის
მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტის
ბიბლიოთეკაში (თბილისი 0160, ლ. გოთუას ქ. №12).

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2006 წლის 18 ნოემბერს.

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი,
ქიმიის მეცნიერებათა კანდიდატი

ნ. ჯაფარიძე

ნ ა შ რ ო მ ი ს ზ ო გ ა დ ი დ ა ხ ა ს ი ა თ ე ბ ა

თემის აქტუალობა. როგორც ცნობილია, ნუკლეინის მჟავები პოლიელექტროლიტებს წარმოადგენს, ამიტომ ისინი უკავშირდებიან სხვადასხვა ტიპის დამუხტულ ლიგანდებს, რაც მნიშვნელოვნად განაპირობებს მათი მეორადი სტრუქტურის პარამეტრებს და ფიზიოლოგიურ აქტივობას.

წყალბადის იონი ყველა სხვა ლიგანდისგან გამოირჩევა იმით, რომ მას არ გააჩნია ელექტრონული გარსი, რის გამოც ის ფაქტობრივად წერტილოვან დადებით მუხტს წარმოადგენს ყოველგვარი ელექტრონული ეკრანირების გარეშე. ეს კი მის უაღრესად მაღალ ძვრადობასა და რეაქტიულობას განაპირობებს. მეორე მხრივ, წყალბადის იონი წყლის დისოციაციის პროდუქტია და ვინაიდან წყალი ყველა ცოცხალი ორგანიზმის უდიდეს ნაწილს შეადგენს, მათი გარკვეული რაოდენობა გარდაუვლად და ენდოგენურად არსებობს ყველა ცოცხალ ორგანიზმში. ორგანიზმში არსებობს უამრავი ბუფერული სისტემა, რომელიც უზრუნველყოფს მათს წონასწორულ pH7.4 კონცენტრაციას ცოცხალ ქსოვილებში როგორც უჯრედს შიგნით, ისე მის გარეთ.

უჯრედშიდა pH-ის გაზომვის მეთოდების შემუშავებასთან ერთად გაჩნდა საინტერესო მონაცემები ამ სიდიდის ცვლილების შესახებ უჯრედის დაყოფასთან და ავთვისებიან სიმსივნეებთან დაკავშირებით (Marie Yeo, Dong-Kyu Kim, Helmlinger G, Yuan 1997; Stubbs M., McSheeh P., 1999). გამოირკვა, რომ მისი ცვლილება თუნდაც 0.05 ერთეულით იწვევს უმძიმეს შედეგებს ცოცხალი ორგანიზმებისთვის (Yau-Huei Wei and Hsin-Chen Lee, 1998,). მეორე მხრივ, დღეისათვის H^+ იონებით დასხივება აქტიურად გამოიყენება ავთვისებიანი სიმსივნეების სამკურნალოდ. არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ პროტონების ნაკადს დნმ-ის ისეთივე დაზიანებების გამოწვევა შეუძლიათ, როგორც მაღალენერგიულ ტყვიის იონებს. ამდენად, აუცილებელია წყალბადის იონების დნმ-ზე ზემოქმედების უფრო გულდასმით შესწავლა და კორექტივების შეტანა მათი კლინიკური გამოყენების პრაქტიკაში. ასევე აქტუალურია ეს საკითხები კოსმოსური ექსპედიციების დროს, სადაც პროტონული დასხივებით გამოწვეული საფრთხე ჯერ კიდევ ბევრად უფრო ნაკლებად არის მიჩნეული, ვიდრე ის სინამდვილეშია (Sutherland and Hada, 2006).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, წყალბადის იონების ზემოქმედების შესწავლა dnm-ის სტრუქტურასა და ფუნქციონირებაზე, ამ ზემოქმედების დამოკიდებულების გამოვლენა გარემო პირობებზე (იონური ძალა, გარემოს დიელექტრიკული შეღწევადობა, დნმ-ის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, სხვა ლიგანდების არსებობა დნმ-ის მოლეკულაში) მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოფიზიკის აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს.

სამუშაოს მიზნები და ამოცანები. წარმოდგენილი სამუშაო მიზნად ისახავდა წყალბადის იონების დნმ-ზე ზემოქმედების სპექტრალური და თერმოდინამიკური გამოვლინებების გამოკვლევას და წყალბადის იონების დნმ-ზე ზემოქმედების მექანიზმების დადგენას ფენომენოლოგიური ელექტრონულ-კონფიგურაციული

ანალიზის საფუძველზე. აღნიშნული მიზნის მისაღწევად დასახული იყო შემდეგი ამოცანების გადაწყვეტა:

- წყალბადის იონების მიერ დნმ-ს სპექტრალური და თერმოდინამიკური პარამეტრების ცვლილებების გამოვლენა;
- წყალბადის იონების მიერ დნმ-ს სპექტრალური და თერმოდინამიკური პარამეტრების ცვლილებების იონურ ძალაზე დამოკიდებულების შესწავლა;
- დნმ-ში ინტერკალირებული საღებავების (ეთიდიუმ ბრომიდი, ნარინჯისფერი აკრიდინი) გავლენის შესწავლა წყალბადის იონებით გამოწვეულ დნმ-ს სპექტრალური და თერმოდინამიკური პარამეტრების ცვლილებებზე;
- წყალბადის იონების გავლენის შესწავლა დნმ-ში ინტერკალირებული საღებავის (ეთიდიუმ ბრომიდის) ფლუორესცენციაზე.
- დნმ-ის ფუძეებს შორის წყალბადურ ბმებში მონაწილე ატომების ელექტრონული კონფიგურაციისა და წყალბადის იონების მიერ გამოწვეული მუხტების გადანაწილების ფენომენოლოგიურ ანალიზი;
- წყალბადის იონებით გამოწვეული მუტაციის რისკის რაოდენობრივი შეფასება მიღებული შედეგების საფუძველზე;

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე: წარმოდგენილი ნაშრომის მეცნიერული სიახლე მდგომარეობს შემდეგში:

- გამოვლენილია წყალბადის იონების მოძრავი ადსორბცია დნმ-ს ზედაპირზე;
- ახსნილია წყალბადის იონებით გამოწვეული სპექტრალური და თერმოდინამიკური ცვლილებების მკვეთრი შემცირება იონური ძალისაგან დამოკიდებულებით;
- მოცემულია პროტონის მიერ დნმ-ში ინტერკალირებული საღებავის (ეთიდიუმ ბრომიდის და ნარინჯისფერი აკრიდინის) ფლუორესცენციის ჩაქრობის მექანიზმი;
- მოცემულია წყალბადის იონებით გამოწვეული დნმ-ის თერმული დესტაბილიზაციის ორმაგი მექანიზმი;
- გარდამავალი ლითონის იონების მიერ დნმ-ის თერმული დესტაბილიზაციის მოვლენა ახსნილია გამხსნელის პროტონიზაციით, რომელსაც ეს ლითონები იწვევენ;
- შემოტანილია დნმ-ის სტრესის ცნება, რომელიც ორმაგი პროტონული გადასვლით გამოწვეული მუტაციების რისკ-ფაქტორს ასახავს;

სამუშაოს სამეცნიერო და პრაქტიკული ღირებულება: მიღებულ შედეგები ხელს უწყობს დნმ-ს ორმაგი სპირალის სპექტრალური და თერმული თვისებების უკეთ გაგებას. აგრეთვე, ეს შედეგები კიდევ ერთხელ ადსტურებს, რომ დნმ მოქმედებს როგორც მუხტისა და ელექტრონული ადგზნების ენერჯიის გადამტანი მატრიცა. გარდა ამისა, მიღებული შედეგების გათვალისწინება სასურველია ავთვისებიანი სიმსივნეების ქიმიო- და ფოტოქიმიოთერაპიის ოპტიმალური რეჟიმების შემუშავებისთვის. წყალბადის იონებით გამოწვეული წერტილოვანი მუტაციების რაოდენობრივი შეფასება მნიშვნელოვანია სახეობათა ნახტომისებური ევოლუციის თეორიების ჩამოყალიბებისა და გაგებისთვის.

სამუშაოს აპრობაცია: ნაშრომში მოყვანილი ძირითადი შედეგები წარდგენილი იყო კონფერენციაზე “Winter Conference on Plasma Spectrochemistry 2006” ამერიკის შეერთებულ შტატებში (არიზონა, ტუსონი), ასევე ფიზიკის ინსტიტუტის ბიოლოგიური სისტემების ფიზიკის განყოფილების სხდომაზე და მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტის სამეცნიერო საბჭოს სხდომაზე.

ნაშრომის სტრუქტურა: დისერტაცია შედგება შესავლისაგან, 3 თავისაგან, დასკვნებისა და ციტირებული ლიტერატურის სიისაგან. იგი მოიცავს 87 გვერდს, 28 ნახაზს, 5 ცხრილს და 126 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

პუბლიკაციები: დისერტაციის მასალებზე გამოქვეყნებულია 4 შრომა. შრომების სია მოყვანილია ავტორეფერატის ბოლოს.

ს ა მ უ შ ა ო ს მ ო კ ლ ე ა ლ წ ე რ ა :

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

მიმოხილულია დნმ-ის ელექტრონული და პოლიელექტროლიტური თვისებები მენინგისა და ფრანკ-კამენეცკის თეორიების საფუძველზე. განხილულია ხისტი და რბილი მჟავების და ფუძეების პირსონის კონცეფცია. აღწერილია წყალბადის იონის თვისებები და მისი ჰიდრატირებული სტრუქტურები წყლის გარემოში. მიმოხილულია დნმ-ის ურთიერთქმედება მცირე ზომის დამუხტულ იონებთან. მოცემულია დნმ-სა და მცირე ლიგანდების ურთიერთქმედების თერმოდინამიკული მოდელი. განხილულია დნმ-ს შთანთქმის სპექტრის თავისებურებები და შესაძლო ელექტრონული გადასვლები აზოტოვან ფუძეებში და მათი კეტო-ენოლური და ამინო-იმიური ტაუტომერიები. მიმოხილულია სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მასალები წყალბადის იონების გავლენის შესახებ სხვადასხვა ბიოლოგიურ ობიექტებზე და მათში მიმდინარე პროცესებზე. ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე [ბრეგამე 2002, გლადჩენკო 1987] განსაზღვრულია წყალბადის იონების ადგილი პირსონის ხისტი და რბილი მჟავების კონცეფციის გრაფიკულ წარმოდგენაში.

თავი II. ექსპერიმენტის მეთოდოლოგია

ამ თავში მოცემულია შთანთქმის სპექტროსკოპიის ზოგადი პრინციპები. დნმ-ზე H^+ იონების ზემოქმედების გამოსავლენად ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო ულტრაიისფერი სპექტროსკოპია (სპექტროფოტომეტრი SPECORD M40, უნგრეთი).

შემოთავაზებულია შთანთქმის სპექტრებში სუსტი მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებებით გამოწვეული მცირე სიხშირული წანაცვლებების სიდიდის განსაზღვრისას არსებული სირთულის გადაჭრის მეთოდი – ულტრაიისფერი დიფერენციალური სპექტრების (უდს) რეგისტრაციის საშუალებით. მეთოდი ემყარება იმ ფაქტს, რომ რადგანაც შთანთქმის პიკს ამა თუ იმ ტალღაზე გაუსის განაწილების ფორმა აქვს, მცირე სიხშირული წანაცვლების დროს ($\Delta\nu$), რომლის

რეგისტრირებაც ძნელია, საკმაოდ დიდია ექსტინქციის ცვლილება ($\Delta\varepsilon$) პიკის მაქსიმალური დახრის უბნებში (დნმ-ს შემთხვევაში 294 ნმ ტალღის სიგრძეზე). ექსტინქციის ცვლილების მიხედვით სპექტრალური წანაცვლების გამოთვლა ხდება ფორმულით:

$$\Delta\nu = \Delta\varepsilon_s / K_s,$$

$$\text{სადაც } \Delta\varepsilon_s = |\Delta\varepsilon(v_{\max})| + |\Delta\varepsilon(v_{\min})|, \quad K_s = |\varepsilon^{(1)}(v_{\max})| + |\varepsilon^{(1)}(v_{\min})|.$$

ჩვენს ექსპერიმენტებში, uds სპექტრის რეგისტრაციის დროს $C_{\text{დნმ}}=2 \cdot 10^{-4} \text{M(P)}$; იქ, სადაც წყალბადის იონების კონცენტრაცია უცვლელ პარამეტრს არ წარმოადგენს $C_{\text{H}_3\text{O}^+} / C_{\text{დნმ(P)}} = 0.25$; იმ ცდებში, სადაც ხსნარის იონური ძალა უცვლელ პარამეტრს არ წარმოადგენს $C_{\text{NaCl}}=2 \cdot 10^{-2} \text{M}$, ხოლო საღებავით ინტერკალირებისას, როგორც ეთიდიუმ ბრომიდის, ასევე ნარინჯისფერი აკრიდინის რაოდენობა აღებული იყო 1:10 თანაფარდობით დნმ-ს ფოსფატურ წყვილებთან.

მიმოხილულია ფლუორიმეტრიის საფუძვლები და აღწერილია აპარატურა, რომელიც გამოყენებული იყო საღებავების ფლუორომეტრიის რეგისტრაციისთვის. ფლუორიმეტრული გაზომვები ჩატარებულია საბჭოური წარმოების ორმაგი დიფრაქციული მესრით აღჭურვილი სპექტრომეტრი CДЛ-1 (ЛОМО). ჩვენს ცდებში ვიყენებდით დიფრაქციულ მესრებს 600 შტრიხით ყოველ მმ-ზე. შესასვლელი და გამოსასვლელი ხვრელების სიგანე იყო 2 მმ. აღზნების სინათლის მისაღებად გამოვიყენეთ ასევე საბჭოური წარმოების МДР-2 (ЛОМО), სადაც ვიყენებდით დიფრაქციულ მესრებს 1200 შტრიხით ყოველ მმ-ზე. შესასვლელი და გამოსასვლელი ხვრელების სიგანე იყო 2 მმ.

pH-ს გაზომვები ტარდებოდა უნგრული წარმოების მაღალი გარჩევითობის (მეასედი სიზუსტით) კაპილარულ pH-მეტრზე OP-212 (Radelkis).

ამავე თავში აღწერილია ექსპერიმენტების ჩატარების და პრეპარატების მომზადების პროცედურები.

თავი III. შედეგები და მათი განხილვა

III.1. წყალბადის იონების გავლენა დნმ-ის შთანთქმის სპექტრზე ულტრაიისფერ არეში.

დნმ-ს შთანთქმა ულტრაიისფერ არეში განპირობებულია აზოტოვანი ფუძეების ელექტრონული სტრუქტურით. გარდამავალ ლითონთა იონების ზემოქმედების შედეგად ხდება დნმ-ს სპექტრის წითელი წანაცვლება. ეს წანაცვლება ძირითადად გც წყვილების სპექტრალური მახასიათებლების ცვლილების ხარჯზე ხდება.

ნახ.1-ზე ნაჩვენებია დნმ-ს H^+ იონებთან კომპლექსის ულტრაიისფერი დიფერენციალური სპექტრი $2 \cdot 10^{-2} \text{M NaCl}$ -ის დროს. რაოდენობრივმა ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ის ბევრად აღემატება იგივე პროპორციით დამატებულ გარდამავალ ლითონთა დადებითი იონებით გამოწვეულ ანალოგიურ ეფექტს მიუხედავად იმისა, რომ მათი დნმ-სთან კავშირის მუდმივები ერთი რიგისანი არიან (ცხრ.1) [ბრეგაძე, ხუციშვილი, 1994].

შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ H^+ იონების ძლიერი გავლენა დნმ-ს ულტრაიისფერ სპექტრზე გამოწვეულია მისი მცირე ზომით, რის შედეგადაც იგი ძალიან ახლოს მიდის აზოტოვან ფუძეებთან. თუმცა, მხოლოდ ეს მოსაზრება ასეთ ანომალიას ბოლომდე ვერ ხსნის. როგორც ცნობილია, სპილენძის იონებსაც შეუძლიათ საკმაოდ ახლოს მისვლა აზოტოვან ფუძეებთან და დნმ-სთან კავშირის მუდმივაც უფრო მაღალი აქვთ, მაგრამ მათ მიერ გამოწვეული დიფერენციალური სპექტრი, მიუხედავად იმისა რომ ის აღემატება სხვა იონებისას, H^+ -ის მიერ გამოწვეულ დიფერენციალურ სპექტრთან შედარებით მაინც მცირეა.

როგორც ვიცით, წყალბადის იონები წყლის გარემოში არსებობენ H_3O^+ იონის სახით, რომელიც, უმეტეს შემთხვევაში, წყალბადური ბმებით ასოცირებულია წყლის სამ მოლეკულასთან. ამ სტრუქტურაში ძალიან სწრაფად ხდება წყალბადის იონის გაცვლა H_3O^+ იონსა და მასთან წყალბადური ბმით დაკავშირებულ წყლის მოლეკულას შორის (ნახ.2). ანუ, წყალბადის იონებს ახასიათებთ უაღრესად მაღალი ძვრადობა (წყლიან გარემოში 10^{-11} წმ., ხოლო ყინულში – 10^{-13} წმ.). აქ ფაქტობრივად ხდება მხოლოდ მუხტის გადატანა და ამისთვის არ არის აუცილებელი გამოსვლა საკუთარი ჰიდრატული გარსიდან და არც მასთან ერთად მოძრაობა, როგორც ამას ადგილი აქვს ლითონთა (ან სხვა) იონების შემთხვევაში. გარდა ამისა, ლითონთა იონების ჰიდრატული შრე ბევრად უფრო მოცულობითია (შეიძლება იგი 200-მდე წყლის მოლეკულისგან შედგებოდეს). რადგანაც დნმ თავად არის გარემოცული გარკვეული ჰიდრატული შრით, რომელიც გარკვეულ მოწესრიგებულ გარემოს წარმოადგენს, მასში მოხვედრილი წყალბადის იონი ნახ.2-ზე ნაჩვენები სქემის მიხედვით, შეიძლება თავისუფლად გადაადგილდეს ამ შრის გასწვრივ. ამგვარად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ წყალბადის იონებს ახასიათებთ ეგ. წ. მოძრაობის ადსორბცია დნმ-ს ზედაპირზე და თითოეულ მათგანს შეუძლია გამოიწვიოს ელექტრონული კონფიგურაციების ცვლილება ფუძეთა რამდენიმე წყვილში.

ნახ.3-ზე მოცემულია დნმ-ს დიფერენციალური სპექტრის დამოკიდებულება ხსნარში დამატებული H^+ იონების რაოდენობაზე $2 \cdot 10^{-2} M NaCl$ იონური ძალის დროს. სპექტრის დადებითი მნიშვნელობა კონცენტრაციათა მთელ დიაპაზონში (მრუდი – $1 H^+$ /ფ. ჯგ.) ორმაგი სპირალის დესპირალიზაციაზე მეტყველებს.

H^+ -დნმ დიფერენციალური სპექტრის იონური ძალაზე დამოკიდებულების შესწავლამ გვაჩვენა, მისი კლება იონური ძალის ზრდის დროს ისევე ანომალურად სწრაფია, როგორც მისი თავდაპირველი მაღალი მნიშვნელობა (ნახ.4). გარდა ამ სამუშაოში შესწავლილი H^+ იონებისა, ამ ნახაზზე მოცემულია სპილენძის, ქრომის, ნიკელის და კობალტის იონების მიერ გამოწვეული დიფერენციალური სპექტრების დამოკიდებულება იონურ ძალაზე და აგრეთვე დნმ-ს ზედაპირული პოტენციალის შემცირება ამ დროს (ფ) [ბრეგამე, 1996]. ცხადია, ზედაპირული პოტენციალი წრფივად ეცემა ნატრიუმის იონების კონცენტრაციის ზრდასთან ერთად. ლითონთა იონების გრაფიკი დაახლოებით ისევე იცვლება, როგორც ზედაპირული პოტენციალი. წყალბადის იონების გრაფიკის დახრა კი ბევრად აღემატება ყველა დანარჩენს – ზედაპირული პოტენციალის ორჯერ შემცირების დროს ΔE_{H^+} ათჯერ მცირდება. ამავე დროს მცირდება მისი pK_{H^+} -ს მნიშვნელობაც, მაგრამ ამ შემთხვევაში პირიქით, მისი ვარდნა ზედაპირულ პოტენციალზე ნაკლებია და ფ-ს ორჯერ შემცირების დროს pK_{H^+} -ს მნიშვნელობა დაახლოებით 1.3-ჯერ მცირდება

[გლადჩენკო, 1987]. ამ მონაცემებიდან გამომდინარე, შეიძლება დავასკვნათ, რომ თავისი მცირე ზომების გამო, ლითონთა იონებისგან განსხვავებით, წყალბადის იონებს შეუძლიათ ადსორბირება არა მხოლოდ **gc**, არამედ **at** წყვილებთანაც მცირე ღარის მხრიდან, რაც არ აისახება დიფერენციალურ სპექტრში. მეორე მხრივ, ნატრიუმის იონები მცირე ღარში ვერ აღწევენ თავისი ზომების გამო და არ შეუძლიათ იქედან წყალბადის იონების გამოძევება.

III.2. წყალბადის იონების გავლენა დნმ-ს თერმოსტაბილობაზე.

$2 \cdot 10^{-2} \text{M NaCl}$ –იონური ძალის დროს H^+ იონების დამატება იწვევს დნობის ტემპერატურის მონოტონურ წრფივ შემცირებას (ნახ.5). მენინგის პოლიელექტროლიტური თეორიის თანახმად, ხსნარში არსებული ნატრიუმის იონები ახდენენ ფოსფატური ჯგუფების მხოლოდ 75%-იან კომპენსირებას, ანუ მის ზედაპირზე რჩება უარყოფითი მუხტის გარკვეული რაოდენობა (მენინგი, 1978). ერთი შეხედვით, დადებითი მუხტების დამატებით რაოდენობას უნდა მოეხდინა ზედაპირული მუხტის დამატებითი კომპენსაცია და თერმოსტაბილობა გაეზარდა. აქ კი საპირისპირო ეფექტი გვაქვს.

წყალბადის იონების მიერ გამოწვეული თერმული დესტაბილიზაცია შეიძლება აიხსნას იმით, რომ გარემოში მათი არსებობა აუცილებლად გამოიწვევს დნმ-ს ჰიდრატული შრის რღვევას, რაც ორმაგი სპირალის სტაბილიზაციის მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს. საგულისხმოა მეორე შესაძლო მექანიზმიც. გარკვეულ უბნებში დნმ-ს კომპლემენტარული წყვილები პერიოდულად იხსნებიან და იხურებიან [ბრეგამე, 2002; კრუგერი, პროტოზანოვა, ფრანკ-კამენეცკი 2006;], როგორც ადრე აღვნიშნეთ, H^+ ძალიან სწრაფად მოძრავი იონია, მას თავისუფლად შეუძლია იმ ადგილების დაკავება, რომლებიც ჯაჭვებს შორის წყალბადურ ბმებში მონაწილეობენ და დიდი ელექტროუარყოფითობით ხასიათდებიან (ადენინის N_1 და თიმიინის O_4, F ციტოზინის N_3 და O_2 და გუანინის O_6) მანამ, სანამ ეს ადგილი გახსნილია. ამის შემდეგ კი დნმ-ს შემდგომი დნობა, ცხადია, ენერგეტიკულად გაადვილებულია.

წყალბადის იონების მიერ გამოწვეული დნმ-ს დესტაბილიზაციით შეიძლება აიხსნას ეიჰორნის ცნობილი მონაცემები [ეიჰორნი 1968], რომლის თანახმადაც არსებობს რიგი დადებითი იონებისა, რომლებიც გარკვეული კონცენტრაციის შემდეგ დნმ-ის დესტაბილიზაციას ახდენენ. ჩვენ გამოვიკვლიეთ, თუ როგორ ცვლიან ეს იონები გარემოს pH -ს (ცხრ.2). ეს ცხრილი კორელაციაში მოდის ცუნდელის მონაცემებთან [ცუნდელი, 1972] სადაც მოცემულია OH^- კავშირის სიგრძის დამოკიდებულება გარემოში გარდამავალ ლითონთა იონების შემცველობაზე, რაც ფაქტობრივად ხსნის წყლის დისოციაციის ხარისხის ამალვებას ამ ლითონების გავლენით. როგორც ჩანს, გარდამავალ ლითონთა იონები იწვევენ H^+ იონების კონცენტრაციის მომატებას ხსნარში რაც, თავის მხრივ, დნმ-ს სტაბილობას ამცირებს. ამგვარად, ორვალენტიანი იონების ზემოქმედება შეიძლება აიხსნას დნმ-ის ორმაგ სპირალზე მათი ორმაგი მოქმედებით –

მასტაბილიზირებული ეფექტით და ხსნარის pH-ის შემცირებით, რაც საპირისპირო ზეგავლენას ახდენს.

III.3. დნმ-ში ინტერკალირებული საღებავების გავლენა წყალბად-დნმ-ის ურთიერთქმედებაზე.

(ნახ.6) ასახავს დნმ-ის მოლეკულაში ინტერკალირებული საღებავების (ჩვენს შემთხვევაში ნარინჯისფერი აკრიდინი (ნა) და ეთიდიუმ ბრომიდი (ებ)) გავლენას H^+ იონებით გამოწვეულ სპექტრალურ ცვლილებებზე. ორივე შემთხვევაში დნმ-ში ინტერკალირებული საღებავის რაოდენობა შეადგენდა ერთ მოლეკულას დნმ-ს ყოველ ათ წყვილზე. როგორც ნახაზიდან ჩანს, როგორც ერთ, ისე მეორე შემთხვევაში ადგილი აქვს დიფერენციალური სპექტრის შემცირებას. ეს შედეგი ამყარებს III.2 პარაგრაფში გამოთქმულ მოსაზრებას წყალბადის იონების მიერ გამოწვეული ანომალურად დიდი დიფერენციალური სპექტრის მიზეზების შესახებ. ცხადია, ორმაგ სპირალში ინტერკალირებული საღებავები აფერხებენ მოლეკულის გასწვრივ მოძრაობას. ეს გამოწვეულია ჯერ ერთი იმით, რომ ინტერკალირების დროს აზოტოვან ფუძეებს შორის მანძილი იზრდება და ხდება ერთიანი ჰიდრატული შრის რღვევა. გარდა ამისა, თვით ინტერკალატორები დადებითად არის დამუხტული და მათი ველი განიზიდავს წყალბადის იონებს და არ აძლევს მათ ჯაჭვის გასწვრივ სრიალის საშუალებას.

თავის მხრივ, H^+ იონებიც **na**-ს და **eb**-ის ფლუორესცენციის ჩაქრობას იწვევენ (ნახ.7). საღებავების ფლუორესცენციის ჩაქრობა ლითონთა იონების მიერ ცნობილი ფაქტია და ეს შეიძლება აიხსნას საღებავის მიერ გამოსხივებული ენერგიის შთანთქმით ლითონთა იონების მიერ, მაგრამ ამ შემთხვევაში ეს გამორიცხებულია, რადგან წყალბადის იონებს ელექტრონული გარსი და, აქედან გამომდინარე, სპექტრალური შთანთქმის უნარი არ გააჩნია. როგორც ჩანს, ამ შემთხვევაში ადგილი აქვს ალგზნების ენერგიის გადასხივებას საღებავიდან ჯერ დნმ-ზე, რის შემდეგაც ხდება მისი ატომების ელექტრონული ალგზნება. წყალბადის იონებს, რა თქმა უნდა, ელექტრონთან მაღალი ნათესაობა ახასიათებს და ადვილად შეუძლიათ ალგზნებული ელექტრონის მოწყვეტა დნმ-დან, რის შემდეგაც თავად წყალბადის ატომამდე აღდგებიან. ესე იგი, ამ შემთხვევაში, დნმ მოქმედებს როგორც მოწესრიგებული მატრიცა, რომლის მეშვეობითაც ხდება საღებავის ალგზნების ენერგიის გადატანა და წყალბადის იონების ფოტონდუცირებული აღდგენა.

I.4 H^+ იონების მიერ გამოწვეული ცვლილებების ელექტრონულ-კონფიგურაციული ანალიზი

ცალკეულ აზოტოვან ფუძეებში პროტონის შესაძლო აქცეპტორებს წარმოადგენს N_1 , N_3 და N_7 ადენინში; N_3 , N_7 და O_6 გუანინში; O_2 და O_4 თიმინში და N_3 და O_2 ციტოზინში. ყველა ეს ატომი უარყოფით მუხტს ატარებს, რომელთა სიმკვრივეები $-0.47e$ -დან (ციტოზინის O_2 ატომისთვის) $-0.65e$ -მდე (ციტოზინის N_3 ატომისთვის) იცვლება. წყალბადის იონების მიერთების უნარის მიხედვით ადენინის $N_1 > N_7$, თიმინის $O_4 > O_2$, გუანინის $N_7 > N_3$, ციტოზინის $N_3 > O_2$. ამავე დროს,

ადენინის N_3 და თიმინის O_2 გომეტრიულად უფრო მისაწვდომია ლიგანდებისთვის, ვიდრე გუანინის N_3 . რაც შეეხება ორმაგ სპირალს, აქ ადენინის N_1 , გუანინის O_6 , თიმინის O_4 , ციტოზინის N_3 და O_2 ჯაჭვებს შორის წყალბადური ბმების წარმოქმნაში იღებენ მონაწილეობას. დარჩენილი ატომების მუხტის სიმკვრივეებისა და აზოტოვანი ფუნქციების სტექიომეტრიული ანალიზი გვიჩვენებს, რომ პროტონის აქცეპტორული უნარის მქონე ატომები, შემდეგ რიგად ლაგდება [ზენგერი, 1987]: $N_7G - N_3G - N_3A - O_2T - O_6G - N_7A$.

მცირე ზომებისგან გამომდინარე, წყალბადის იონებს შეუძლიათ დაიკავონ ადგილი დნმ-ის როგორც ფართო, ისევე მცირე ღარის მხრიდან და, თანაც, ორივე ტიპის წყვილზე. ცხადია, ამას მოჰყვება ფუნქციების ერთიანი ელექტრონული კონფიგურაციის ცვლილება. ჩვენთვის საინტერესოა განვიხილოთ იმ ატომების ელექტრონული კონფიგურაციები, რომლებიც წყალბადურ ბმებში მონაწილეობენ.

გუანინის პირიდინული ტიპის N_7 აზოტის გაუყოფელი ელექტრონული წყვილი (ანუ ელექტრონთა ის წყვილი, რომელიც არ მონაწილეობს კოვალენტურ ბმაში) მოთავსებულია sp^2 ჰიბრიდულ ორბიტალზე. გარკვეული ალბათობით ეს ორბიტალი გადაიფარება გუანინის ინდოლური რგოლის π -ელექტრონულ სისტემასთან. როდესაც დადებითად დამუხტული იონი ურთიერთქმედებს N_7 აზოტთან, ხდება ელექტრონული სიმკვრივის შემცირება ინდოლურ რგოლზე, N_1 აზოტის ჩათვლით. ეს პირველ რიგში გამოიწვევს პოტენციალური ენერჯიის ორმოს სიღრმის შემცირებას გუანინის N_1 მხარეს და გაზრდის პროტონის ტუნელირების ალბათობას ციტოზინის N_3 აზოტზე (ნახ.8.ა). დამატებითი დადებითი მუხტის გაჩენის გამო, ციტოზინის N_3 აზოტის p_z ორბიტალზე მოხდება ელექტრონის გადმოტანა N_4 აზოტის p_z ორბიტალიდან, რის შემდეგაც ეს ატომი პროტონის აქცეპტორიდან მის დონორად გადაიქცევა. ელექტრონის ანალოგიურ გადატანას აქვს ადგილი გუანინის O_6 -დან N_1 -ზე, რაც მას პროტონის აქცეპტორად აქცევს. ამიტომ მოხდება პროტონის გადატანა ციტოზინის N_4 -დან გუანინის O_6 -ზე (ნახ.8ბ). ესე იგი, პროტონის ტუნელირება გუანინის N_1 -დან ციტოზინის N_3 -ზე, ავტომატურად გამოიწვევს პროტონის გადატანას N_4 -დან O_6 -ზე. ანუ მოხდება თვითშეთანხმებული ორმაგი პროტონული გადასვლა. წყვილი, რომელიც მიიღება ორმაგი პროტონული გადასვლის შემდეგ, ისევე უოტსონ-კრიკის წყვილს წარმოადგენს, მაგრამ მასში მომხდარი ელექტრონული ცვლილების გამო, მას მცდარი უოტსონ-კრიკის წყვილი ეწოდა (ნახ.9). ორმაგ პროტონულ გადასვლამდე გუანინის O_6 -ის sp^2 ჰიბრიდულ ორბიტალზე ელექტრონთა ორი გაუყოფელი წყვილი იმყოფება, არასწორი წყვილის შემთხვევაში კი ელექტრონთა ერთი წყვილი მოთავსებულია ჰიბრიდულ ორბიტალზე, ხოლო მეორე p_z ორბიტალზე (ნახ.8ბ). სიმეტრიიდან გამომდინარე, p_z ორბიტალი გადაიფარება გუანინის მოლეკულურ π -ელექტრონულ სისტემასთან, ამიტომ ამ ორბიტალის გაუყოფელი წყვილი ცუდ დონორად გადაიქცევა წყალბადური ბმის წარმოქმნისას გამხსნელის მოლეკულებთან. ანალოგიური სიტუაციაა **aT** წყვილში მთავარი ღარის მხარეს (ნახ.8გ,დ), სადაც ორმაგი პროტონული გადასვლის შემდეგ თიმინის O_4 ატომის sp^2 ჰიბრიდულ ორბიტალზე დარჩება ერთი ელექტრონული წყვილი.

ამგვარად, დნმ-ის ფუნქცია წყვილებში ორმაგი პროტონული გადასვლის დროს მთავარ ღარში იცვლება (მცირდება) **aT** და **gc** წყვილების ატომების დონორულ-აქცეპტორული თვისებები, რაც ხელს უწყობს კეტო-ენოლურ და ამინო-იმიურ

გადასვლებს და ასევე, ცვლის დნმ-ის გარემომცველი წყლის ჰიდრატაციის უნარს. ამ შედეგებიდან პირველი დნმ-ს სპექტრალური მახასიათებლების ცვლილებაში გამოიხატება, ხოლო მეორე – მის თერმოსტაბილობაში.

III.5. წყალბადის იონების მიერ მუტაციის გამოწვევის რისკ-ფაქტორი დნმ-ს ორმაგ სპირალში

პროტონის თვითშეთანხმებული გადასვლის დროს უოტსონ – კრიკის წყვილის გეომეტრია არ იცვლება და მცდარი gc წყვილი შეიძლება არ გამოვლინდეს რეპარაციული სისტემისა და პოლიმერაზული ფერმენტების მიერ. თუ ამ მდგომარეობაში მოხდა დნმ-ის რეპლიკაცია ან ტრანსკრიპცია, ფუძეთა წყვილებში მომხდარი ტაუტომერული ცვლილებებისა და დონორულ-აქცეპტორული თვისებების ცვლილების გამო მივიღებთ ტრანზიციის ტიპის წერტილოვან მუტაციას (ნახ.10), რაც რიგ შემთხვევებში შეიძლება კატასტროფული აღმოჩნდეს უჯრედის ფუნქციონირებისა და სიცოცხლისათვის. სწორედ ამაში მდგომარეობს წყალბადის იონების მუტაგენური მოქმედების ერთ-ერთი მიზეზი.

წყალბადის იონების მიერ დნმ-ის სპექტრის წითელი წანაცვლება მცდარი უოტსონ-კრიკის წყვილების რაოდენობით განისაზღვრება. ამდენად, ეს მაჩვენებელი შეიძლება განხილულ იქნას, როგორც წყალბადის მიერ გამოწვეული მუტაციების რისკ-ფაქტორი. მცდარი უოტსონ-კრიკის წყვილების რაოდენობა ულტრაიისფერი სპექტრის გრძელტალღოვან წანაცვლებასთან შემდეგი განტოლებით არის დაკავშირებული [ზრეგაძე, 2002]:

$$n = \frac{\Delta \nu_{I^{n+}}}{700} N \quad (2)$$

სადაც $\Delta \nu_{I^{n+}}$ იონის მიერ გამოწვეული წანაცვლების სიდიდეა, ხოლო N – დნმ-ს ზედაპირზე ადსორბირებული იონების რაოდენობა ყოველ 10^6 ფუძეთა წყვილზე. რიცხვი 700 შეესაბამება სპექტრის წანაცვლებას, რომელსაც იწვევს 1 მოლი არასწორი gc წყვილი. ჩვენს პირობებში ($pH = 6.72$, $C_{DNA} = 2 \cdot 10^{-4} M$ b.p, $pK_{H^+-DNA} = 3.7$, $I = 2 \cdot 10^{-2} M$ NaCl) $N = 860$, $\Delta \epsilon = 440$ მოლ $^{-1}$ ·სმ $^{-1}$ (ცხრ.1), ხოლო $\Delta \nu_{H^+} = 300$ სმ $^{-1}$ (1). შესაბამისი გამოთვლები გვიჩვენებს, რომ $n \approx 541$.

შესაბამის გამოთვლების ჩავატარებისას ფიზიოლოგურთან მიახლოებულ პირობებში ($pH = 7.4$, $I = 0.18 M$ NaCl), როდესაც ნახ.4-ის თანახმად $\Delta \nu_{H^+} \approx 30$ სმ $^{-1}$, ხოლო $pK_{H^+-DNA} = 2.8$ [გლადჩენკო 1987], დნმ-ის იგივე კონცენტრაციის დროს მივიღებთ $n \approx 7$. თანაფარდობა ნატრიუმის იონებისა და დნმ-ს კონცენტრაციებს შორის უჯრედში დაახლოებით იგივეა, რაც ჩვენს ექსპერიმენტში. აქედან შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ფიზიოლოგიურ პირობებში ყოველ მილიონ ფუძეთა წყვილზე დაახლოებით 7 მცდარი უოტსონ-კრიკის წყვილი მოდის. ეს შეიძლება შევავსოთ როგორც წყალბადის იონების მიერ გამოწვეული სპონტანური მუტაციების რისკი ნორმალურ უჯრედებში, რომელიც ბუნებრივად არსებობს მასზე მავნე გარემო ფაქტორების ზემოქმედების გარეშე.

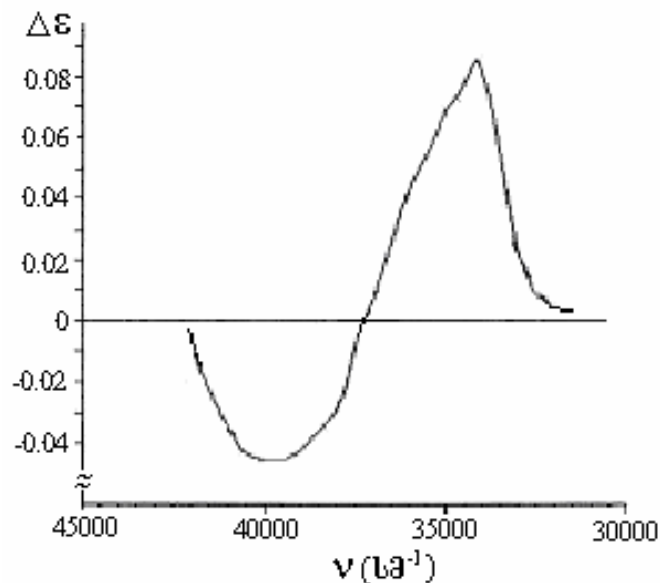
დასკვნები:

1. დადგენილია, რომ $2 \cdot 10^{-2} \text{M}$ NaCl იონური ძალის დროს წყალბადის იონებით გამოწვეული დნმ-ს ულტრაიისფერი დიფერენციალური სპექტრი (უდს) ანომალურად დიდია, მისივე მსგავსი pK-ს მქონე ლითონის იონებთან შედარებით. წყალბადის იონების ბუნების გათვალისწინებით, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ეს დნმ-ის აზოტოვან ფუძეებზე წყალბადის იონებს დნმ-ს ზედაპირზე მობილური ადსორბცია ახასიათებთ.
2. განხილულია პროტონის მიერ დნმ-ის თერმული დესტაბილიზაციის ორი მექანიზმი. ერთი მდგომარეობს მის მიერ გამოწვეული ორმაგი პროტონული გადასვლის შედეგად გამოწვეული ჰიდრატაციის ხარისხის შემცირებაში, ხოლო მეორე – წყალბადის იონების უშუალო შეკავშირებაში ციტოზინის N3, ადენინის N1 და თიმინის O6 იონებთან იმ მომენტში, როდესაც ჯაჭვები გახსნილია მათი ფლუქტუაციური ძვრადობის გამო;
3. დნმ-ს ორმაგ სპირალში ინტერკალირებული საღებავის მოლეკულები ზრდის ორმაგი სპირალის მდგრადობას წყალბადის იონების ზემოქმედების მიმართ. ეს გამოწვეულია ჯერ ერთი იმით, რომ ინტერკალირების დროს აზოტოვან ფუძეებს შორის მანძილი იზრდება და ხდება ერთიანი ჰიდრატული შრის რღვევა. გარდა ამისა, თვით ინტერკალატორები დადებითად არის დამუხტული და მათი ველი განიზიდავს წყალბადის იონებს. ორივე ეს ფაქტორი წყალბადის იონებს არ აძლევს ჯაჭვის გასწვრივ სრიალის საშუალებას. ამავე დროს, საღებავი ხელს უშლის დნმ-ს კომპლემენტარული წყვილების სპონტანურ ფლუქტუაციურ გახსნას და წყალბადის იონების უშუალო შეკავშირებას ციტოზინის N3, ადენინის N1 და თიმინის O6 იონებთან (დასკვ.2).
4. წყალბადის იონები იწვევს დნმ-ში ინტერკალირებული ნარინჯისფერი აკრიდინის ფლუორესცენციის ჩაქრობას. ამ მოვლენას საფუძვლად უდევს წყალბადის იონების ფოტონდუცირებული აღდგენა. სადაც დნმ-ს ორმაგი სპირალი, როგორც მოწესრიგებული გარემო, ასრულებს მატრიცის როლს, რომელზეც ხდება ენერჯის გადასხივება.
5. ფენომენოლოგიური ელექტრონულ-კონფიგურაციული ანალიზის საფუძველზე ნაჩვენებია, რომ წყალბადის იონები იწვევს დნმ-ის ჰიდრატული შრის დესტრუქტურირებას და ტაუტომერულ გადასვლებს აზოტოვან ფუძეებში, რაც საბოლოოდ ორმაგი პროტონული გადასვლის მიზეზი ხდება. ორმაგი პროტონული გადასვლა გვ წყვილში გამოვლინდება დნმ-ის შთანთქმის ზოლის წითელი წანაცვლებით ულტრაიისფერ არეში.
6. დნმ-ს გვ წყვილებში H_3O^+ იონების მიერ ინდუცირებული ტაუტომერიების და მასთან დაკავშირებული არასწორი უოტსონ-კრიკის გვ წყვილების რაოდენობრივი ანალიზის საფუძველზე განსაზღვრულია H_3O^+ იონებით გამოწვეული მუტაციის რისკ-ფაქტორი, რომლის სიდიდეც დამოკიდებულია გარემოს პიობებზე. როდესაც $\text{pH} = 6.72$, $C_{\text{DNA}} = 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$ b.p, $\text{pK}_{\text{H}^+ \text{-DNA}} = 3.7$, $I = 2 \cdot 10^{-2} \text{M}$ NaCl, $n \approx 541$ ყოველ 10^6 ფუძეთა წყვილზე. ფიზიოლოგიურ გარემოსთან

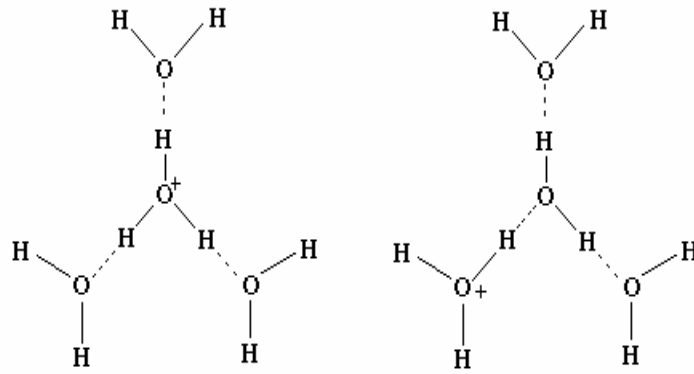
მიახლოებულ პირობებში $n \approx 7$ ყოველ 10^6 ფუძეთა წყვილზე. ეს სიდიდე ახასიათებს სპონტანური მუტაციების რისკ ფაქტორს ცოცხალ უჯრედში.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული შრომების სია:

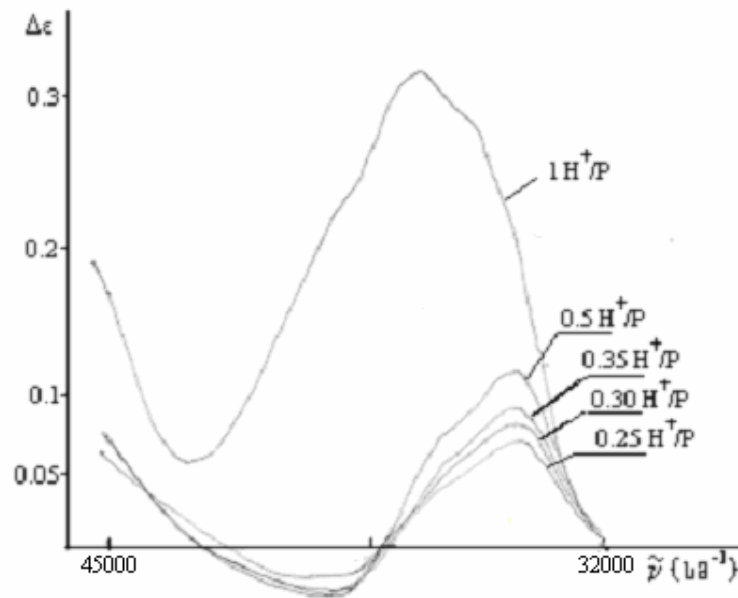
1. V. Bregadze, I. Khutsishvili, K. Tsakadze. "Double Proton Transfer in DNA: the Role of Ions, Ethanol, Polyethylenglycol, Protamines and Histones". Bull. Georg. Acad. Sci. **173**, 1, 2006, 143-146;
2. V. Bregadze, E. Gelagutashvili, K. Tsakadze. "Glow Discharge Atomic-Emission Spectrometry. Application in Biology and Medicine". Materials of Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Tucson, Arizona, 2006, 365-367;
3. V. Bregadze, K. Tsakadze. "The influence of Mg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} Ions on DNA Melting Temperature". Bull. Georg. Acad. Sci. **174**, 1, 2006, 440-442;
4. K. Tsakadze, V. Bregadze. "Adsorption of H^+ Ions on DNA Surface". Bull. Georg. Acad. Sci. **174**, 2, 2006;



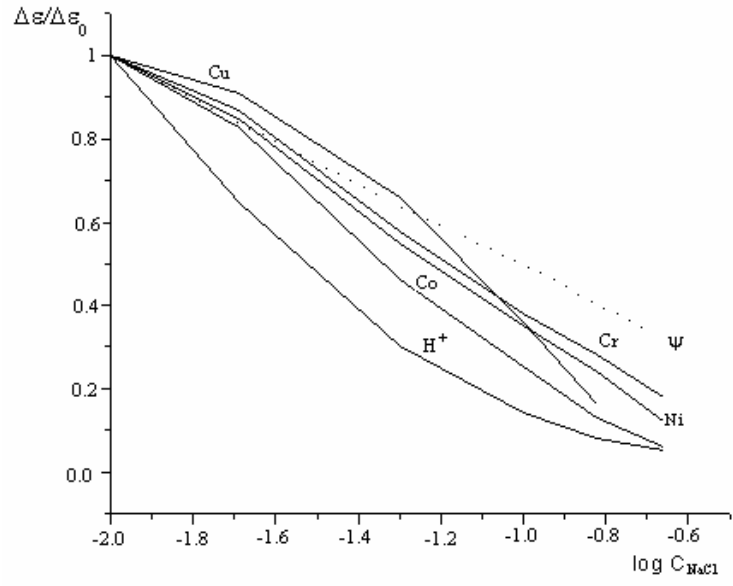
ნახ.1 ულტრაიისფერი დიფერენციალური სპექტრი ხბოს თიმუსის დნმ-ის კომპლექსისთვის H_3O^+ იონებთან ($C_{\text{დნმ}}=2 \cdot 10^{-4}M(P)$; $C_{H_3O^+} / C_{\text{დნმ}(P)} = 0.25$; $C_{NaCl}=2 \cdot 10^{-2}M$);



ნახ.2 წყალბადის იონის გაცვლა H_3O^+H და მასთან წყალბადური ბმით დაკავშირებულ წყლის მოლეკულას შორის.

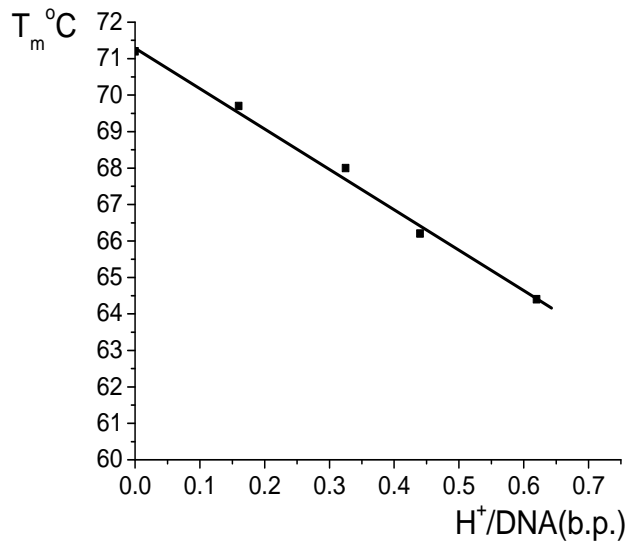


ნახ.3 დნმ-ის H_3O^+ იონებთან კომპლექსის უდს-ის დამოკიდებულება ხსნარში დამატებული H_3O^+ იონების რაოდენობაზე
($C_{დნმ}=2 \cdot 10^{-4} M(P)$; $C_{NaCl}=2 \cdot 10^{-2} M$);

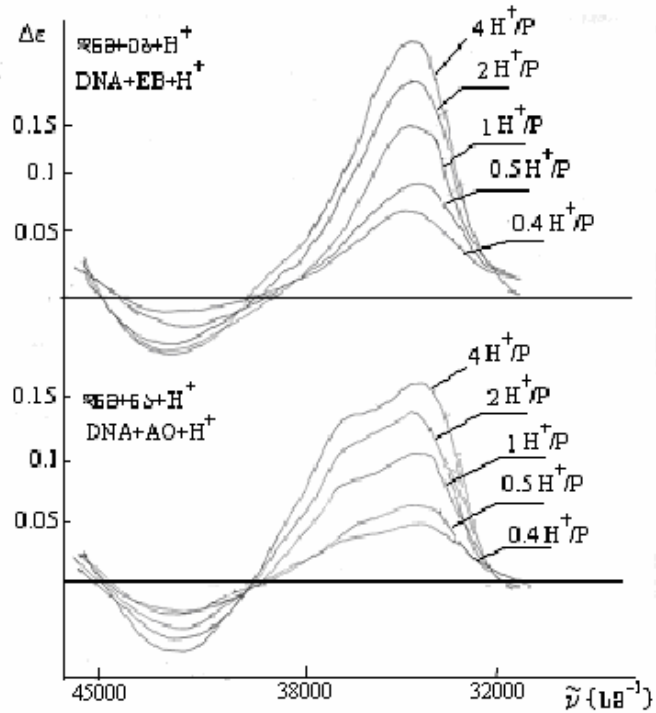


ნახ.4 დნმ-ის H_3O^+ იონებთან კომპლექსის ფარდობითი უდს-ის იონურ ძალაზე.
 ($C_{დნმ}=2 \cdot 10^{-4}M(P)$; $C_{H_3O^+} / C_{დნმ(P)} = 0.25$;))

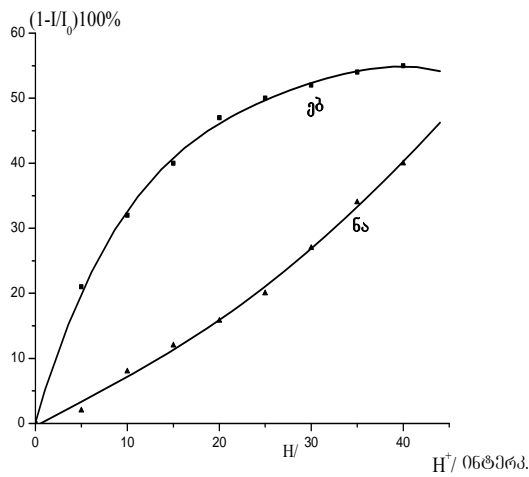
დამოკიდებულება



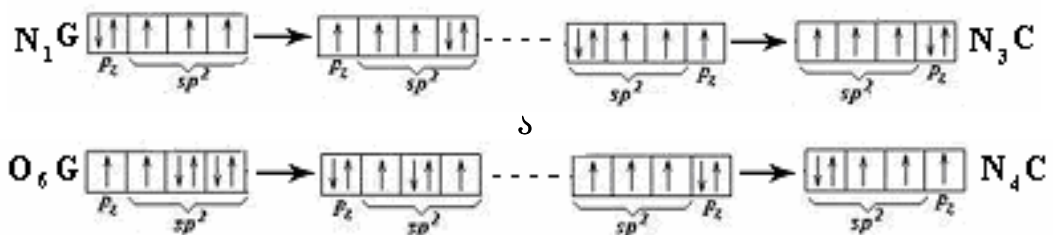
ნახ.5 დნმ-ს დნობის ტემპურატურის დამოკიდებულება H^+ იონების რაოდენობაზე.

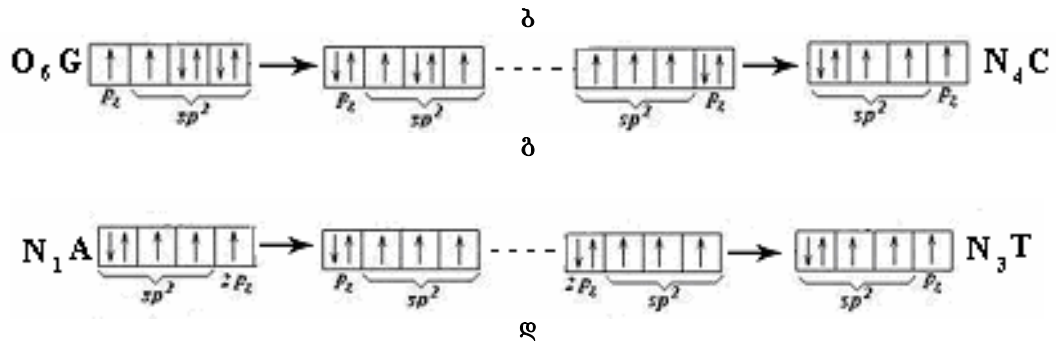


ნახ.6 ნარინჯისფერი აკრიდინისა და ეთიდიუმ ბრომიდის გავლენა დნმ-ის H_3O^+ იონებთან კომპლექსის უდს-ზე
 ($C_{დნმ}=2 \cdot 10^{-4}M(P)$; $C_{საღ}/C_{დნმ(P)}=0.1$; $C_{NaCl}=2 \cdot 10^{-2}M$)

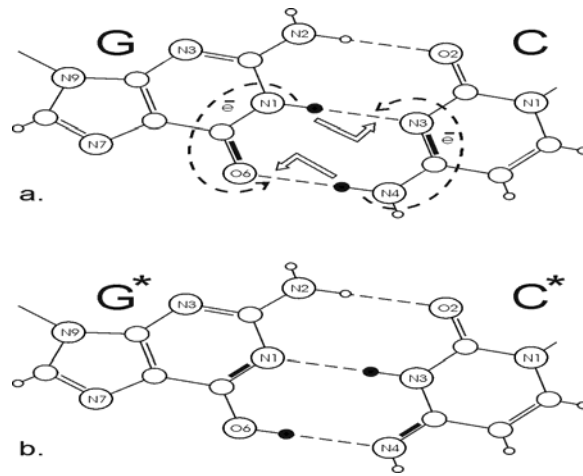


ნახ.7 ნა-ს და ებ-ის ფლუორესცენციის ჩაქრობა H^+ იონების მიერ
 ($C_{დნმ}=2 \cdot 10^{-4}M(P)$; $C_{საღ}/C_{დნმ(P)}=0.1$; $C_{NaCl}=2 \cdot 10^{-2}M$)

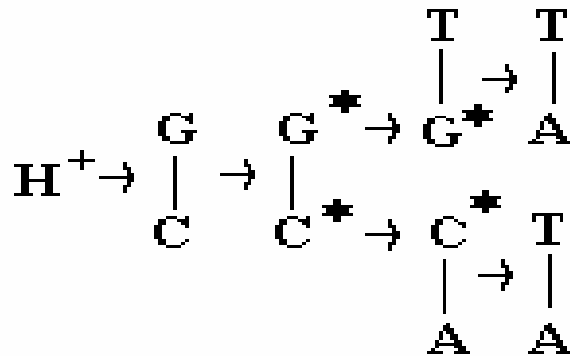




ნახ.8 გც და ათ წყვილების წყალბადურ ბმაში მონაწილე ატომების ელექტრონული კონფიგურაციები პროტონის თვითშეთანხმებულ გადასვლამდე და მის შემდეგ.



ნახ.9 თვითშეთანხმებული ორმაგი პროტონული გადასვლა გც წყვილში (a). მცდარი უოტსონ კრიკის წყვილი (b)



ნახ.10 წერტილოვანი მუტაციის სქემა

ცხრ.1 H⁺ და გარდამავალი იონების მიერ გამოწვეული დნმ-ს დიფერენციალური სპექტრის სიდიდე და მათი pK.

Ions	The total extinction $\Delta\epsilon$	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹) calculated	pK
H ₃ O ⁺	440	300	3.7
Mg ²⁺	25	15	4.9
Mn ²⁺	100	6	3.9
Co ²⁺	170	110	4.3
Ni ²⁺	220	150	4.6
Cu ²⁺	290	190	5.1
Zn ²⁺	130	85	4.2

ცხრ.2 გამხსნელის pH ლითონთა იონების დამატებისას (C_{Me²⁺}=10⁻²M, C_{NaCl}=10⁻²M).

Me ²	-	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺
pH	6.72	6.42	5.97	6.12	6.27	4.78	5.67