

УДК: 539.194

РЕЗОНАНСНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАРБОНИЛЬНЫХ КОЛЕБАНИЙ В КОЛЛАГЕНОВЫХ СТРУКТУРАХ

Е. П. Мележик, М. А. Семенов М. А.

Институт радиофизики и электроники НАН Украины, ул. Академика Проскуры 12, 61085, Харьков.

e-mail: ypmelezhik@ins.kharkov.ua

Статья поступила в редакцию 3 октября 2003 г.

Проведен расчет динамического резонансного взаимодействия карбонильных колебаний атомов в модельной коллагеновой структуре $[(\text{PRO-PRO-GLY})_{10}]_3$ в диполь-дипольном приближении на основании теории молекулярных экситонов. Найдено смещение частот валентных колебаний CO-групп за счет резонансного взаимодействия моментов переходов карбонильных колебаний, образования межпептидных водородных связей и водородных связей с водой. Оценен сравнительный вклад энергий водородных связей с водой, межпептидных водородных связей и других типов взаимодействия в общую энергию стабилизации структур коллагенового типа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коллаген, тройная спираль, резонансное взаимодействие, диполь-дипольное приближение, теория возмущений, энергия стабилизации, инфракрасная спектроскопия.

Полоса Амид I, наиболее сильная в инфракрасных спектрах поглощения полипептидов и белков, располагается в частотном диапазоне $1620\text{--}1690\text{ см}^{-1}$ и обусловлена в основном валентными колебаниями C=O – связи. Она лежит в области прозрачности тяжелой воды, что часто используется для исследования водных растворов биополимеров, поскольку эта полоса характеристична по частоте и интенсивности и весьма чувствительна к изменению структурного состояния полипептидной цепи. С помощью спектральных критериев по тонкой структуре полосы Амид I можно судить о наличии в молекуле белка спиральной, складчатой структуры, неупорядоченной конформации, а по интегральной интенсивности определять их количественное содержание [1,2]. Однако для коллагеновых белков, структура которых построена из тройной спирали, такие спектральные признаки не найдены. Известно, что для коллагенов и родственных им политрипептидов полоса Амид I имеет сложный контур и ее параметры (частота, интенсивность, полуширина) существенно зависят от аминокислотного состава, типа растворителя, агрегатного состояния и влажности. Недавно установлено, что мультикомпонентный характер полосы Амид I коллагеновых структур обусловлен гетерогенностью карбониллов и водородных связей [3].

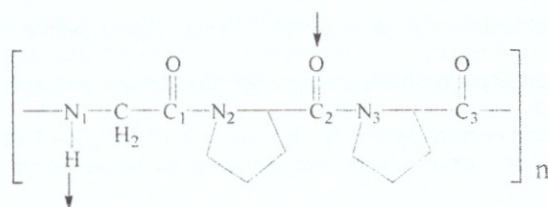


Рис. 1. Структура политрипептида $(\text{Gly}_1\text{-Pro}_2\text{-Pro}_3)_n$. Стрелками обозначена межпептидная водородная связь.

Согласно [4, 5], стабилизация тройной спирали модели коллагена $(\text{Gly}_1\text{-Pro}_2\text{-Pro}_3)_n$ достигается с помощью межпептидной водородной связи, образующейся между N_1H_1 – группой глицинового и карбонильной группой C_2O_2 пролинового остатка соседних полипептидных цепей (рис. 1).

Две другие карбонильные группы C_1O_1 и C_3O_3 образуют водородные связи с молекулами воды, которые формируют водные «мостики» между полипептидными цепями, что способствует стабилизации структуры тройной спирали

молекулы политрипептида. Тонкая структура полосы поглощения Амид I этого политрипептида, а также трипептидов с $n=4,5,\dots,10$ в дейтерированном состоянии в пленках при 100% относительной влажности и растворах состоит из трех компонент.

В соответствии с работами [3,6] низкочастотная компонента отнесена к валентным колебаниям группы атомов C_1O_1 глицинового остатка, средняя компонента – к валентным колебаниям C_2O_2 остатка пролина во втором положении и высокочастотная компонента – к колебаниям C_3O_3 пролинового остатка в третьем положении. Сходная структура данной полосы обнаружена и в природном коллагене.

Согласно модели слабо связанных осцилляторов, рассмотренной Миядзавой в рамках теории возмущений для полипептидных структур [2, 7], частота карбонильных колебаний определяется формулой

$$\nu(\delta, \delta') = \nu_0 + \sum D_s \cos s\delta + \sum D'_s \cos s\delta', \quad (1)$$

где ν_0 частота невозмущенного карбонильного колебания, δ и δ' – фазовые углы, на которые отличаются колебания соседних карбонильных групп по цепи и через водородную связь; D_s и D'_s –

коэффициенты взаимодействия колебаний по цепи внутри молекулы и между молекулами соответственно. В общем случае, природа коэффициентов взаимодействия не определена. В работах [8, 9] коэффициент D_s определяется резонансным взаимодействием двух типов: кинематическим, связанным с передачей колебательных движений ближайших карбонильных групп, и динамическим взаимодействием электрических колебательных моментов переходов. По различным оценкам частотный сдвиг, обусловленный взаимодействием первого типа, для пептидных структур составляет несколько обратных сантиметров [1, 10], следовательно, этот тип взаимодействия не оказывает существенного влияния на частоту карбонильного колебания. В то же время, частотный сдвиг, вызванный взаимодействием второго типа, рассматриваемый в рамках теории молекулярных экситонов для полипептидов, белков [1] и нуклеиновых кислот [11], для карбонильных колебаний оказался преобладающим.

Целью настоящей работы являлось проведение расчета динамического резонансного взаимодействия и определение его вклада в частоты карбонильных колебаний C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 модельных коллагеновых структур. Учет этого типа взаимодействия позволил оценить частотные сдвиги карбонильных колебаний за счет установления водородных связей с молекулами воды. Эти данные и привлечение значений энергий перехода спираль-клубок, полученных калориметрически, позволили, как и в случае с нуклеиновыми кислотами [12], определить вклад энергий водородных связей с водой в общую энергию стабилизации трехспиральной структуры коллагенового типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Теоретической основой расчета резонансных взаимодействий является теория молекулярных экситонов [13]. Энергия колебательного экситонного возбуждения в первом порядке теории возмущений равна

$$\Delta E_0^f = \Delta E_0 + D + \varepsilon_{рез}^f, \quad (2)$$

где ΔE_0 - энергия возбуждения колебательной группы в изолированной молекуле, D - разность колебательной энергии взаимодействия возбужденной и нормальной колебательных групп со всеми остальными группами в молекуле; $\varepsilon_{рез}^f$ - энергия резонансного взаимодействия для колебания с типом симметрии f . Если положить, что частота невозмущенного колебания

$$\nu_0 = \frac{1}{h}(\Delta E_0 + D), \quad (3)$$

то, в соответствии с уравнением (2) частота перехода равна

$$\nu^f = \nu_0 + \frac{1}{h} \varepsilon_{рез}^f, \quad (4)$$

где h - постоянная Планка, равная $6,62 \times 10^{-27}$ эрг·с. В диполь-дипольном приближении резонансный сдвиг частоты карбонильных колебаний выражается формулой [14]

$$\Delta \nu_{рез} = \frac{1}{h} \sum_{nm} C_\alpha^f C_\beta^f \nu_{n\alpha, m\beta}, \quad (5)$$

где C_α^f и C_β^f - коэффициенты симметрии для колебания с типом симметрии f ; m, n - числа, которые нумеруют элементарные ячейки; α, β - числа, нумерующие карбонильные группы C=O в элементарной ячейке; $\nu_{n\alpha, m\beta}$ - матричный элемент оператора диполь-дипольного взаимодействия моментов переходов, локализованных на двух карбонильных группах, который равен

$$\nu_{n\alpha, m\beta} = \frac{1}{\varepsilon \bar{R}_{n\alpha, m\beta}^3} \left[\Delta \vec{\mu}_{n\alpha} \Delta \vec{\mu}_{m\beta} - \frac{3(\Delta \vec{\mu}_{n\alpha} \cdot \vec{R}_{n\alpha, m\beta})(\Delta \vec{\mu}_{m\beta} \cdot \vec{R}_{n\alpha, m\beta})}{\bar{R}_{n\alpha, m\beta}^2} \right], \quad (6)$$

где $\Delta \vec{\mu}_{n\alpha}$ и $\Delta \vec{\mu}_{m\beta}$ - векторы дипольных моментов переходов, $\vec{R}_{n\alpha, m\beta}$ - вектор, направленный от центра диполя $n\alpha$ к диполу $m\beta$, ε - эффективная диэлектрическая проницаемость.

Расчет резонансных сдвигов карбонильных колебаний в диполь-дипольном приближении был выполнен на примере модельного коллагенового политрипептида [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃, кристаллическая структура которого недавно установлена с помощью синхротронного излучения [15]. В элементарной ячейке, размером $a=26,9$ Å, $b=26,4$ Å, $c=182,5$ Å, располагаются две трехспиральные молекулы и 352 молекулы воды. Каждая трехспиральная молекула имеет форму прута длиной около 90 Å, диаметром

10Å и скелетом из трех спиральных цепей, аминокислотные остатки которых сдвинуты и повернуты относительно друг друга. Тип симметрии одиночной полипептидной цепи, закрученной в левую спираль, 7_1 , угол вращения аминокислотных остатков относительно друг друга составляет $51,5^\circ(\pm 2^\circ)$.

На рис. 2 схематично изображена структура данного политрипептида и показаны межпептидные водородные связи между соседними цепями и водородные связи с молекулами воды.

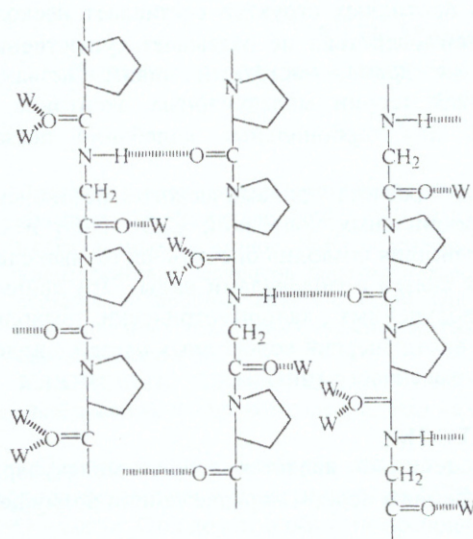


Рис. 2. Структура водородных связей в политрипептиде [(PRO-PRO-GLY)₁₀]₃.

Для неограниченной спирали активными являются полносимметричное колебание (поляризованное вдоль оси спирали) типа А и дважды вырожденное типа Е (поляризованное перпендикулярно оси спирали) [16]. В спектре комбинационного рассеяния сильные полосы соответствуют колебаниям типа А, а в инфракрасных спектрах – колебаниям типа Е. С учетом резонансного взаимодействия карбонильных колебаний частота полосы с параллельной поляризацией определяется формулой

$$\nu_A = \nu_0 + \frac{2}{h}(\nu_{11,12} + \nu_{11,13} + \dots + \nu_{11,1k}), \quad (7)$$

а частота полосы с перпендикулярной поляризацией – формулой [12]:

$$\nu_E = \nu_0 + \frac{2}{h}(\nu_{11,12} \cos \varphi + \nu_{11,13} \cos 2\varphi + \dots + \nu_{11,1k} \cos k\varphi), \quad (8)$$

где k -число карбонильных групп в спиральной молекуле, φ - угол вращения карбонильных групп аминокислотных остатков относительно друг друга.

Невозмущенная частота ν_0 , согласно уравнению (3), определяется колебанием карбонильной группы в изолированной молекуле с учетом взаимодействия с окружением. В случае с молекулой [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃ частота ν_0 может быть представлена в виде:

$$\nu_0 = \nu_{изо} - \Delta\nu_{H-св}, \quad (9)$$

где $\nu_{изо}$ - частота карбонильного колебания в изолированном состоянии молекулы, в частности в нейтральных растворителях, где отсутствует водородная связь, $\Delta\nu_{H-св}$ - сдвиг частоты карбонильного колебания за счет водородной связи. Резонансный сдвиг карбонильных колебаний типов А и Е (5) рассчитывался внутри спиральной цепочки ($\Delta\nu_{рез}^{6A}$, $\Delta\nu_{рез}^{6E}$) и между спиральными цепочками ($\Delta\nu_{рез}^{6A}$, $\Delta\nu_{рез}^{6E}$) для ближайших карбонильных групп молекулы [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃. С учетом межцепочечных резонансных взаимодействий и водородных связей, частота полос, поляризованных параллельно (7) и перпендикулярно (8), может быть записана так:

$$\nu_A = \nu_{изо} - \Delta\nu_{H-св} \pm \sum_1^k (\Delta\nu_{рез}^{6A} + \Delta\nu_{рез}^{6E}), \quad (10)$$

$$\nu_E = \nu_{изо} - \Delta\nu_{H-св} \pm \sum_1^k (\Delta\nu_{рез}^{6E} + \Delta\nu_{рез}^{6A}), \quad (11)$$

В уравнении (5) предполагается суммирование частотных сдвигов, возникающих вследствие взаимодействия моментов переходов карбонильных колебаний внутри молекулы ($\Delta\nu_{рез}^6$) и между молекулами ($\Delta\nu_{рез}^m$), находящимися в элементарной ячейке. Поскольку размеры элементарной ячейки модельного соединения [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃ достаточно велики, и оператор диполь-дипольного межмолекулярного взаимодействия в уравнениях (5) и (6) имеет малую величину ($\nu_{неч.м\beta} \approx \frac{1}{R^3_{неч.м\beta}}$), то расчет частотных смещений достаточно проводить для карбонильных колебаний внутри трехспиральной молекулы, которую можно трактовать как кристалл. Поэтому третьим членом в уравнении (1) в данном случае можно пренебречь.

Резонансное частотное расщепление определяется так: $\Delta\nu = \nu_A - \nu_E$.

Для расчета резонансных сдвигов карбонильных колебаний C_1O_1 , глицина, C_2O_2 и C_3O_3 пролина использованы координаты атомов углерода и кислорода кристаллической структуры трехспиральной коллагеновой модели $[(Pro-Pro-Gly)_{10}]_3$ [15]. Поскольку карбонильные колебания Амид I обладают высокой характеристичностью для всех пептидных структур, то центры диполей перехода можно локализовать в общей точке, которая находится на расстоянии $0,4 \text{ \AA}$ от атома кислорода в направлении $O \rightarrow N$ [1] (рис. 3).

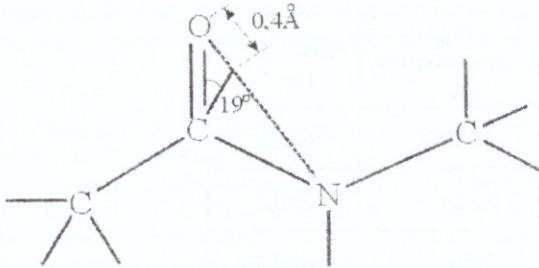


Рис. 3. Локализация центра электрического дипольного момента перехода колебания $C=O$ – связи в полипептидной структуре [9].

Величины дипольных моментов переходов для связей C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 приняты равными $0,3 \text{ D}$, исходя из значения абсолютной интенсивности полосы поглощения Амид I $4,1 \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-2}$ [6]. По данным спектроскопии с использованием поляризованного ИК-излучения [2] известно, что вектор момента перехода карбонильного колебания лежит в плоскости пептидной группы и отклонен от направления связи $C=O$ на угол 19° , что было учтено в расчетах (рис. 3). Эффективное значение диэлектрической постоянной ϵ принималось равным 2, поскольку $\epsilon \approx n^2$, где n – показатель преломления и $n \approx 1,5$ [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет резонансных взаимодействий карбонильных колебаний C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 производился с учетом карбонильных групп, принадлежащих двум ближайшим аминокислотным остаткам вверх и вниз по цепи и карбонильных групп ближайших аминокислотных остатков соседних цепей (рис. 4). Найдено, что полное насыщение эффектов взаимодействия происходит при $R \geq 8 \text{ \AA}$. На рис. 4 показаны усредненные по всем глициновым и пролиновым карбонильным колебаниям резонансные сдвиги в см^{-1} для дважды вырожденного колебания типа E.

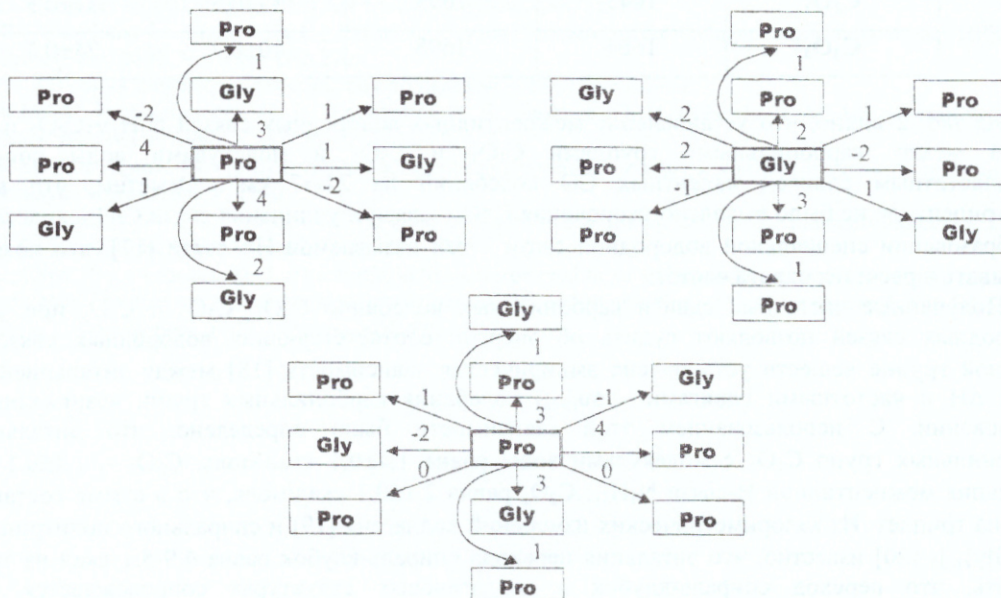


Рис.4. Усредненные резонансные сдвиги карбонильного колебания типа E (см^{-1}).

В таб. 1 приведены суммарные частотные сдвиги и расщепления, обусловленные резонансными взаимодействиями карбонильных колебаний. Из таб. 1 видно, что частотные сдвиги, обусловленные

резонансным взаимодействием карбонильных колебаний, по абсолютной величине существенны и их необходимо учитывать при расчете частот карбонильных колебаний для коллагеновых структур.

Таб. 1. Резонансные сдвиги и расщепление частот карбонильных колебаний C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 политрипептида $[(Pro-Pro-Gly)_{10}]_3$. Рассчитанные для каждого из карбониллов C_nO_n политрипептида $[(Pro-Pro-Gly)_{10}]_3$ значения резонансных сдвигов и расщеплений усреднены для карбониллов трех типов. Среднее значение \pm стандартное отклонение.

Колебательная группа	$-\Delta\nu_{рез}$ А компонента (cm^{-1})	$-\Delta\nu_{рез}$ Е компонента (cm^{-1})	$-(\Delta\nu_A - \Delta\nu_E)$ (cm^{-1})
C_1O_1	$16 \pm 1,2$	$10 \pm 0,7$	$6 \pm 0,4$
C_2O_2	$20 \pm 0,9$	$13 \pm 0,5$	$7 \pm 0,3$
C_3O_3	$16 \pm 1,1$	$10 \pm 0,7$	$6 \pm 0,4$

В нейтральных растворителях (четырёххлористый углерод, диоксан и др.) частоты карбонильных колебаний для C_1O_1 равны $1660-1665 cm^{-1}$, для C_2O_2 - $1693 cm^{-1}$ и для C_3O_3 - $1698 cm^{-1}$ [6]. Используя эти данные, а также полученные сдвиги частот, вызванные резонансными взаимодействиями (таб. 1), из формулы (9) получаем частотные сдвиги за счет образования межпептидной Н-связи $N_1H_1...C_2O_2$ и Н-связей C_1O_1 и C_3O_3 с молекулами воды (таб. 2).

Таб. 2. Частоты карбонильных колебаний C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 – групп политрипептида $Z-(Gly-Pro-Pro)_8-OH$ в условиях 100% относительной влажности в D_2O , в нейтральных растворителях [6], рассчитанные частотные сдвиги за счет резонансных взаимодействий и водородных связей. Рассчитанные для каждого из карбониллов C_nO_n политрипептида $[(Pro-Pro-Gly)_{10}]_3$ значения резонансных сдвигов и расщеплений усреднены для карбониллов трех типов. Среднее значение \pm стандартное отклонение.

Колебательная группы	ν (cm^{-1}) эксперимент.	$\nu_{изо}$ (cm^{-1}) эксперимент.	$-\Delta\nu_{рез}$ (cm^{-1}) Е компонента	$-\Delta\nu_{H-св}$ (cm^{-1})
C_1O_1	1626	1660	$10 \pm 0,7$	$24 \pm 0,7$
C_2O_2	1643	1693	$13 \pm 0,5$	$37 \pm 0,5$
C_3O_3	1664	1698	$10 \pm 0,7$	$24 \pm 0,7$

Из таб. 2 видно, что установление межпептидных водородных связей $N_1H_1...C_2O_2$ и водородных связей между карбонильными группами C_1O_1 и C_3O_3 и молекулами воды сопровождаются низкочастотным сдвигом валентных CO колебаний на $24-37 cm^{-1}$. Отметим, что в изучаемом политрипептиде не было выявлено укорочения $C=O$ – связи и удлинения связи $C-N$, свидетельствующие об образовании специальной водородной связи – так называемой Нл–связи [17], что позволило ее не учитывать в расчетах сдвига частот.

Полученные частотные сдвиги карбонильных колебаний C_1O_1 , C_2O_2 и C_3O_3 при установлении водородных связей позволяют судить об энергии соответствующих водородных связей. Ранее на большой группе веществ установлена эмпирическая зависимость [18] между энтальпией водородной связи ΔH и частотными сдвигами ($\Delta\nu_{H-св}$) колебания карбонильных групп, возникающими при ее образовании. С использованием этой зависимости было определено, что энтальпия Н-связи карбонильных групп C_1O_1 с молекулами воды равна $1,4 \pm 0,1$ ккал/моль, C_3O_3 – $1,4 \pm 0,1$ ккал/моль и энтальпия межпептидной Н-связи $N_1H_1...C_2O_2$ равна $2,1 \pm 0,1$ ккал/моль, что в сумме составляет $4,9 \pm 0,3$ ккал на триплет. Из калориметрических измерений коллагена [19] и спирального политрипептида $[(Pro-Pro-Gly)_{10}]_3$ [20] известно, что энтальпия перехода спираль-клубок равна $4,9-5,1$ ккал на триплет. Если считать, что переход спираль-клубок в коллагеновых структурах сопровождается разрушением межпептидной Н-связи и гидратной оболочки, то вклад в общую энергию стабилизации трехспиральных коллагеновых структур составляет: для энергии межпептидных водородных связей около 40%, для энергии Н-связей C_1O_1 и C_3O_3 – групп с молекулами воды – до 50% и энергии других возможных типов взаимодействия – до 10%. Отметим, что вклад энергии взаимодействия молекулы политрипептида с молекулами воды наружных слоев гидратной оболочки в общую энергию стабилизации в данной работе

не учитывался, поэтому вклад энергии взаимодействия политрипептида со всей гидратной оболочкой в общую энергию стабилизации может возрасти.

ВЫВОДЫ

Таким образом, рассмотренные резонансные взаимодействия моментов переходов карбонильных колебаний в коллагеновой структуре $[(\text{Pro-Pro-Gly})_{10}]_3$ существенно смещают частоты валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ – связей остатков глицина и пролина. Учет этого взаимодействия представил возможность определить смещение частот карбонильных колебаний за счет установления межпептидных водородных связей и H -связей с молекулами воды. Это позволило оценить вклад энергий взаимодействия политрипептида с водой, межпептидных H -связей и других типов взаимодействия в общую энергию стабилизации трехспиральных структур коллагенового типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиргадзе Ю. Н. Инфракрасная спектроскопия полимеров и белков. //Итоги науки и техники. Молекулярная биология. Т.1. Москва 1973.
2. Элиот А. Инфракрасные спектры и структура полимеров. - М.: Мир. 1972.
3. Lazarev Yu. A. Chishkovsky B. A., Chromova T. B. Amid I band of IR spectrum and structure of collagen and related polypeptides. //Biopolymers, 1985. V.24. N.7. pp.1449-1478.
4. Yonath A., Traub W. Polymers of tripeptides as collagen models IV. Structure analysis of poly (L-proly-glycy-L-prolyne). //J. Molecular Biol. 1969. V.43. N.3. pp. 461-477.
5. Okuyuma K., Arnott S., et al. Crystal and molecular structure of a collagen-like polypeptide (pro-pro-gly)₁₀. //J. Mol. Biol.. 1981. V.152. N.2. pp. 427-443.
6. Лазарев Ю. А. Структурообразование спирали коллагенового типа в синтетических олиго- и политрипептидах. Дис. док. физ.-мат. Наук, Москва. МГУ, 1987.
7. Miyazawa T., J. Perturbation treatment of the characteristic vibrations of polypeptide chains in various configurations//J. Chem. Phys. 1960. V.32. pp. 1647-1652.
8. Krimm S and Abe Y. Intermolecular interaction effects in the Amide I vibrations of β polypeptides. Proc. //Nat. Acad. Sci. USA. 1972. V.69. N.10. pp. 2788-2792.
9. Чиргадзе Ю. Н. Невская Н. А. Резонансные взаимодействия основных амидных колебаний в упорядоченных пептидных структурах. //Докл. АН СССР. 1973. Т.208. №2. с. 447-450.
10. Fukushima K., Jdeguchi Y., Miyazawa T. The normal vibrations of polyglycine I//Bull. Chem. Soc. Japan. 1963. 36. p. 1301-1307.
11. Semenov M. A., Bolbuch T. V. Carbonyl vibration resonance interactions helical polynucleotides Poly(dA)-Poly(dT) and PolyG-PolyC. //Studia biophysica. 1984. V.102. N.3. pp. 215-220.
12. Semenov M. A., Bereznyak E. G. Hydration and stability of nucleic acids in the condensed state. //Comments Mol. Cel. Biophys. 2000. V.10. N.1. pp. 1–23.
13. Давыдов А. С. Теория поглощения света в молекулярных кристаллах. - Киев, изд-во АН УССР. 1951.
14. Семенов М. А., Большух Т. В. Резонансные взаимодействия карбонильных колебаний в спиральных полипептидах. Репринт № 190, изд-во ИПЭ АН УССР. Харьков. 1982. с. 28.
15. Berisio R., Vitagliano L., Mazzarella L., Zagari A. Crystal structure of the collagen triple helix model $[(\text{PRO-PRO-GLY})_{10}]_3$. //Protein Sci. 2002. V.11. pp. 262-270.
16. Грибов Л. А. Теория инфракрасных спектров полимеров. – М.: Наука, 1977.
17. Башаров М. А., Волькенштейн М. В., Голованов И. Б., Лазарев Ю. Н. Соболев В. М. Нл – связи в амидах и пептидах. //Докл. АН СССР. 1986. Т.287. №1. с. 211-215.
18. Семенов М. А. Гидратация и структурное состояние нуклеиновых кислот в конденсированном состоянии. Дис. док. физ.-мат. наук. Москва. МГУ. 1990.
19. Gasan A. I., Maleev V. Ya., Semenov M. A. Role of water in stabilizing the helical biomacromolecules DNA and collagen. //Studia Biophysica. 1990. V.136(2-3). pp. 171-178.
20. Engel J., Chen H-T., Prockop D. J. The triple helix-coil conversion of collagen-like polytripeptides in aqueous and nonaqueous solvents. Comparison of the thermodynamic parameters and the binding of water to (L-Pro-L-Pro-Gly)_n and (L-Pro-L-Hyp-Gly)_n. //Biopolymers. 1977. V.16. pp. 601-622.