

# paper collagen

robert.tavares

November 2023

## 1 Introduction

O colágeno tipo I, que constitui 90% da matriz extracelular humana, é caracterizado por sua estrutura de tripla hélice polipeptídica ( $\alpha$ -cadeias), com dimensões típicas de 300 nm de comprimento e 1,5 nm de diâmetro, assemelhando-se a hastes [1, 2]. Intrinsecamente programadas para a auto-organização, as moléculas de colágeno se agregam em estruturas fibrilares durante a fibrilogênese, alinhando-se em intervalos de  $D = 67$  nm, permitindo cinco configurações de interação [3, 4].

As fibrilas de colágeno exibem uma forma alongada, caracterizada por uma região central densa e extremidades afiladas, com comprimentos típicos em torno de  $500\mu m$  e diâmetro de  $500nm$ , sendo compostas por cerca de  $10^7$  moléculas [5, 4, 6]. A agregação dessas fibrilas forma fibras de colágeno, com diâmetros aproximados de  $20\mu m$ , que servem como pilares para estruturas hierárquicas mais complexas e variadas, incluindo tecido conjuntivo, ossos, tendões e córnea [7]. A presença de colágeno nessas estruturas é fundamental para suas propriedades elásticas e mecânicas [2].

A relevância das fibras de colágeno se torna evidente ao compreendermos seu papel essencial no corpo humano. A jornada para desvendar esses mistérios é longa e esbarra em um desafio significativo: a minúscula escala das fibrilas. Esta escala nanométrica impõe dificuldades na investigação de suas propriedades mecânicas, exigindo equipamentos de precisão nanométrica para tais análises [8]. Entre as técnicas empregadas, a Microscopia de Força Atômica (AFM) destaca-se por sua aplicabilidade frequente no estudo detalhado das fibrilas de colágeno, com um foco particular na análise de sua estrutura [9, 10]. Pioneiramente, Van der Rijt e colaboradores [11] utilizaram a AFM para avaliar as propriedades mecânicas de fibrilas de tendão isoladas, elucidando seu comportamento sob tensão até o ponto de falha.

A literatura evidencia uma diversidade de modelos computacionais dedicados ao estudo das fibrilas de colágeno e suas características mecânicas. Notavelmente, Buehler e seus colaboradores [12, 13, 14] introduziram uma metodologia baseada em granulação grossa e dinâmica molecular, que elucida profundamente a arquitetura e o comportamento das fibrilas sob tensões ou em processos de degradação, e examina o efeito de componentes minerais incorporados

[15, 16, 17]. Alternativamente, uma abordagem fundamentada em primeiros princípios emprega osciladores harmônicos, analogamente a molas, para simular a natureza elástica das fibrilas. Este modelo, aplicado em uma configuração bidimensional, foi explorado por Araújo e equipe para investigar as alterações nas propriedades mecânicas de tecidos sob influência de agentes degradativos [18]. Tal estratégia permite a aplicação de modelos de degradação na escala microscópica no nível de fibras, na tentativa de compreender efeitos da degradação de tecidos em uma escala superior, quando estes são submetidos a tensões e atividade enzimática.

Em nosso trabalho, adotamos um modelo de Agregação Limitada por Difusão (*Diffusion Limited Aggregation* - DLA) para simular o processo de formação de agregados com morfologias análogas às fibrilas de colágeno [19]. Após a formação das fibras, conduzimos uma análise aprofundada de sua resistência mecânica sob a aplicação de tensões externas, empregando para tal um modelo mecânico probabilístico, conforme delineado no trabalho de Parkinson et al [20]. Essa investigação foi fundamentada em parâmetros cruciais extraídos do modelo construtivo adotado. Adicionalmente, empreendemos um estudo detalhado das propriedades geométricas das fibras, focando especificamente na densidade e na configuração espacial destas. Identificamos a ocorrência de avalanches durante o processo de ruptura, caracterizadas por leis de escala precisas. Acreditamos que essa abordagem integrada, que combina simulação da formação com análise mecânica, possa oferecer perspectivas valiosas de como as características estruturais intrínsecas das fibras contribuem para a sua funcionalidade e resistência global, fornecendo insights valiosos para aplicações práticas e teóricas no campo da engenharia de materiais e ciência dos biomateriais.

## 2 Metodologia

No presente estudo, desenvolvemos a investigação em duas etapas principais: na primeira, usamos um modelo para a formação de fibrilas de colágeno para estudar sua estrutura; na segunda, analisamos as propriedades mecânicas desses agregados.

### 2.1 Estrutura das fibrilas

Utilizamos um modelo baseado em Agregação Limitada por Difusão (*Diffusion Limited Aggregation* - DLA) [21] em três dimensões para simular a formação de fibrilas de colágeno. Consideramos as moléculas de colágeno como paralelepípedos regulares de dimensões  $1 \times 18 \times 1$ . Empregando uma rede regular cúbica, definimos o centro como a origem e fixamos a primeira molécula do agregado, denominada *seed*. Em seguida, novas moléculas são lançadas a partir de uma distância  $R$  do centro do agregado e se difundem até que ocorra uma das seguintes situações: serem capturadas pelo agregado ou atingirem uma distância  $2R$  em relação ao centro, caso em que a simulação é reiniciada. Esse processo está esquematizado na Figura 1.

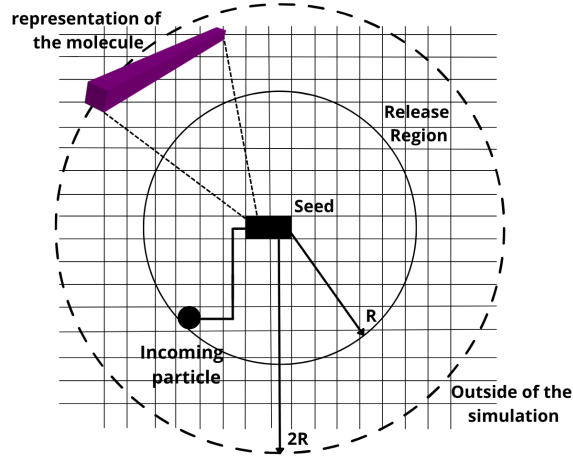


Figure 1: Consideramos as moléculas de colágeno como paralelepípedos regulares de dimensões  $1 \times 18 \times 1$ . Estas moléculas são lançadas a partir de uma distância  $R$  da *seed*, que representa a primeira molécula fixada no agregado. As moléculas podem se difundir até serem capturadas pelo agregado ou atingirem uma distância  $2R$  da *seed*, fora da zona de interesse, o que leva à reinicialização da simulação.

O processo de difusão das moléculas é modelado por um *random walk* tridimensional, permitindo movimentos para os primeiros e segundos vizinhos no plano X-Z, enquanto no eixo Y, o movimento é restrito para frente e para trás. Na realidade, as moléculas de colágeno agregam-se lateralmente e em posições escalonadas, com um comprimento característico  $D = 67$  nm. Assim, uma molécula é capturada pelo agregado somente em posições específicas, que são múltiplos de  $D = 4$ , em relação a uma molécula já pertencente ao agregado [19]. Levando em conta o tamanho representativo de 18 da nossa modelagem, identificamos cinco configurações possíveis para a captura de uma molécula. A Figura 2 ilustra cada uma dessas posições possíveis, conforme descrito pela regra de agregação específica.

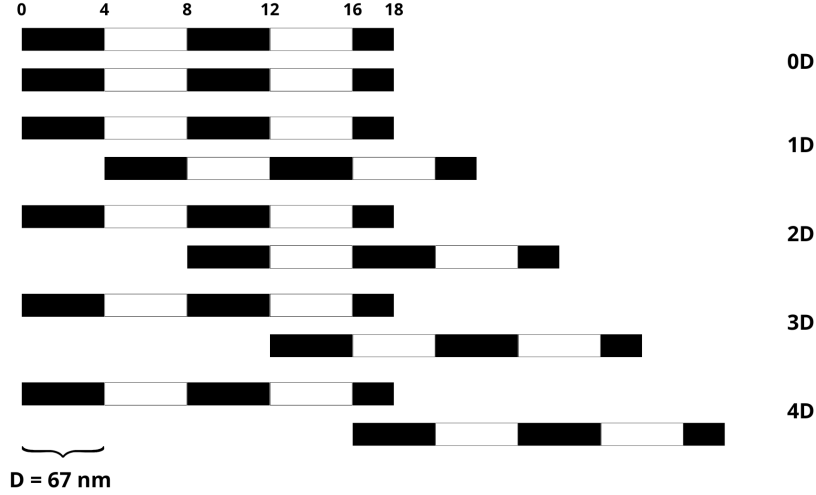


Figure 2: Em fibrilas reais, observa-se que as moléculas estão alinhadas de forma escalonada, com um espaçamento característico de  $D = 67$  nm. Visando uma modelagem mais precisa do fenômeno, implementamos uma regra de agregação que reproduz esse processo, na qual novas moléculas são capturadas pelo agregado apenas se conectarem em posições que são múltiplos de  $D = 4$ . Assim, resultam cinco configurações possíveis de agregação para as novas moléculas.

A formação de fibrilas reais é impulsionada por forças hidrofóbicas resultantes das interações entre as moléculas, as quais buscam minimizar sua superfície exposta [22, 19]. Para simular esse fenômeno, empregamos um algoritmo de difusão lateral na superfície, permitindo que uma molécula recém-agregada explore a superfície, mantendo sua coordenada  $y$  fixa, a fim de localizar uma posição que minimize sua superfície exposta [23]. Em situações onde mais de uma posição minimiza a superfície, a molécula permanece na primeira posição encontrada. Este mecanismo é regulado pelo parâmetro  $T_s$ , que determina o número de tentativas disponíveis para a molécula explorar a superfície do agregado [19].

Com este algoritmo, geramos 50 fibrilas, cada uma contendo 30.000 bastões, para diferentes valores de  $T_s$ , a fim de investigar o efeito desse parâmetro na morfologia das fibrilas.

## 2.2 Propriedades Mecânicas

Para a análise das propriedades mecânicas das fibrilas, adotamos um modelo mecânico probabilístico. Esta abordagem é necessária, uma vez que os agregados gerados não apresentam propriedades elásticas adequadas para serem estudados por modelos baseados em molas, por exemplo [20, 24].

Primeiramente, realizamos o corte de um tronco de dimensão  $17 \times 201 \times 17$  em uma fibrila. Após este corte, procedemos com uma limpeza para assegurar a

ausência de moléculas desafixadas devido ao corte e para determinar o esqueleto ativo. Consideramos que o tronco é composto por 201 camadas, e cada molécula, dividida em parcelas de tamanho unitário, pode estender-se por mais de uma camada. Iniciamos pela primeira camada, marcando todas as moléculas como ativas. Em seguida, verificamos nas camadas superiores se alguma partícula de uma molécula ativa possui vizinhança inativa; caso afirmativo, a partícula é ativada, assim como todas as partículas associadas à mesma molécula, tanto acima quanto abaixo. Este procedimento é repetido até alcançarmos a última camada, conforme ilustrado na Figura 3. Com essa seleção de moléculas ativas, repetimos o processo agora de cima para baixo até obtermos o esqueleto ativo, que é o conjunto de moléculas através do qual uma força aplicada pode percolar.

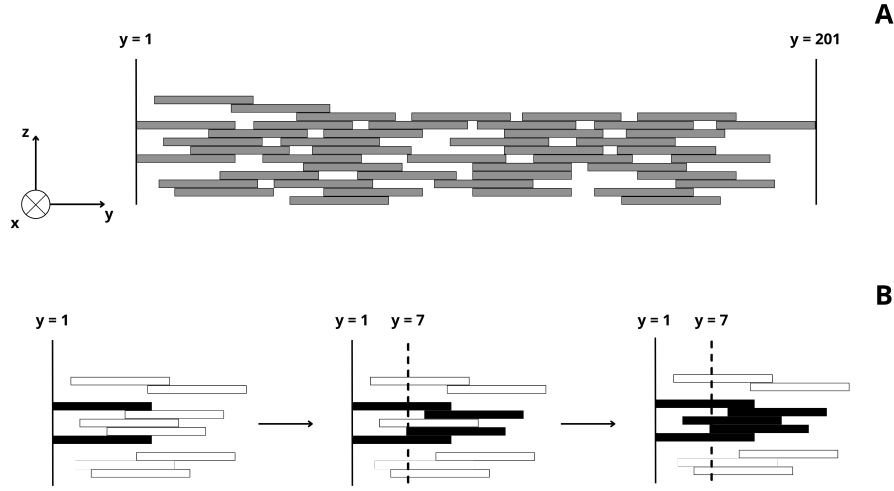


Figure 3: A) Para análise das fibrilas, realizamos inicialmente o corte de um tronco com dimensões  $17 \times 201 \times 17$ . B) Procedemos com um processo de limpeza nesse tronco a fim de obter o esqueleto ativo, que efetivamente conduz a força na fibrila. Iniciamos pela primeira camada do tronco, marcando como ativas todas as moléculas que possuem ao menos um segmento nesta camada. Em seguida, avançamos para as camadas superiores e, para cada segmento ativo em uma dada camada, verificamos a existência de vizinhos ativos. Caso existam, a molécula correspondente é marcada como ativa. Este procedimento é repetido até alcançarmos a última camada. Com o conjunto de moléculas ativas identificado, as inativas são descartadas e o processo é então repetido, agora iniciando da camada 201 e procedendo em direção à primeira camada.

Após a determinação do esqueleto ativo, definimos para cada molécula uma probabilidade  $P_R$ , influenciada tanto pela configuração de sua vizinhança quanto pela magnitude da força total aplicada ao agregado. Quando uma tensão é aplicada, cada molécula no agregado é afetada por uma parcela dessa força

total, proporcional ao número de partículas presentes em sua respectiva camada. Consequentemente, em uma dada  $i$ -ésima camada contendo  $M$  partículas, a força por partícula é dada por:

$$\sigma_i = \frac{F}{M_i}, \quad (1)$$

onde  $\sigma_i$  representa a força por partícula na  $i$ -ésima camada e  $F$  é a força total aplicada ao agregado. A força sentida por uma molécula individual no agregado é, portanto, a média dos  $\sigma_i$  correspondentes às camadas em que a molécula está presente.

As moléculas de colágeno são caracterizadas por sua estrutura em tripla hélice [25], o que torna a ruptura intramolecular menos provável em comparação com a quebra das ligações intermoleculares [20]. Dessa forma, consideramos a probabilidade de ruptura para a molécula como um todo, ao invés de para cada partícula individual que a compõe. Adicionalmente, assumimos que o número de ligações responsáveis por manter a molécula fixada no esqueleto ativo é igual ao somatório do número de partículas vizinhas em cada camada onde a molécula está presente.

Com base nesses pressupostos, definimos nossa probabilidade de ruptura pela equação

$$P_R = \left( \frac{\langle \sigma_i \rangle}{N \sigma_s} \right)^m, \quad (2)$$

onde  $N$  representa o número de ligações de uma dada molécula,  $\sigma_s$  denota a força das ligações entre as moléculas, e  $m$  é um fator que modula a dissipação de energia [20, 26]. Em todas as simulações, adotamos  $m = 2$ .

A simulação é conduzida aplicando-se uma força ao esqueleto ativo, em uma tentativa de emular os comportamentos observados em experimentos de distensão. Inicialmente, calculamos a probabilidade de remoção  $P_R$  para cada molécula. Em seguida, realizamos um sorteio de um valor entre 0 e 1 para cada molécula; se o valor sorteado for menor ou igual a  $P_R$ , a molécula é removida. Este processo é repetido para todas as moléculas do agregado. Após a primeira varredura, recalculamos  $P_R$  para as moléculas remanescentes sob a mesma força aplicada e continuamos o processo até que não ocorram mais quebras. A força é então incrementada em meia unidade, e o procedimento é repetido. Consideramos que a fibrila se rompe quando ao menos uma camada fica vazia, indicando que o esqueleto ativo não mais forma um agregado percolante. Esse procedimento está esquematizado na Figura 4. Monitoramos o processo de remoção das moléculas, registrando a quantidade de moléculas removidas para uma dada força e a tensão máxima suportada antes da ruptura.

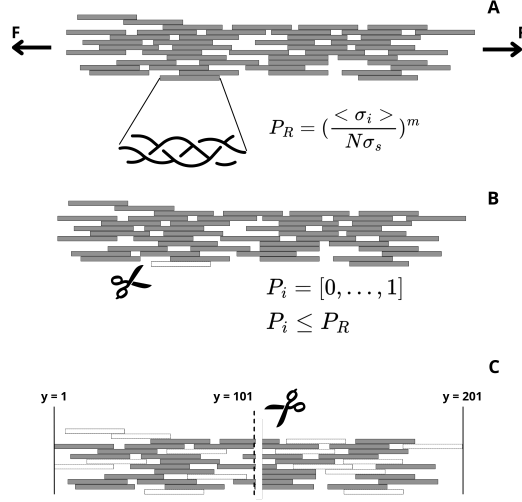


Figure 4: A) Com o esqueleto ativo definido, simulamos um teste mecânico na fibrila, análogo à aplicação de uma força axial ao longo do eixo  $y$ , estendendo-a. Dada a ausência de propriedades elásticas na fibrila, recorremos a um modelo mecânico probabilístico. Neste modelo, atribuímos a cada molécula uma probabilidade de remoção  $P_R$ , que depende tanto da força aplicada ao agregado quanto do número de ligações que a molécula mantém. B) Iniciamos a simulação atribuindo  $P_R$  a cada molécula e sorteando uma probabilidade  $P_i$ . Se  $P_i \leq P_R$ , a molécula é removida do agregado. Este processo é repetido até que todas as moléculas sejam avaliadas, seguido pelo recálculo de  $P_R$  para as moléculas remanescentes. A força é incrementada em meio após cada ciclo no qual não ocorrem mais remoções. C) A simulação termina quando identificamos uma camada vazia no agregado, momento no qual consideramos a fibrila como rompida.

Consideramos a quantidade de moléculas rompidas como um indicador da deformação da nossa fibrila. Além disso, determinamos a tensão em relação às forças calculadas para aproximar a simulação a uma fibrila real. A força necessária para romper uma ligação é considerada constante, e utilizamos o diâmetro médio das fibrilas para calcular a tensão.

Para cada valor de  $T_s$ , selecionamos 10 fibrilas para submeter ao procedimento de simulação. Para cada fibrila, realizamos mil experimentos. Registramos, para cada nível de força aplicada, o número de moléculas removidas do esqueleto e quantas permaneceram.

## 3 Resultados

### 3.1 Morfologia das fibrilas

Os agregados gerados pelo modelo apresentam uma morfologia fibrilar, com características relevantes de sua forma sendo determinadas pelo parâmetro  $T_s$ . Podemos observar, na Figura 5, a estrutura desses agregados para os valores de  $T_s = 2$ , baixa difusão, e  $T_s = 10000$ , alta difusão lateral sobre a superfície. As fibrilas com menor  $T_s$  apresentam uma forma mais aberta, enquanto para valores mais altos, observamos uma forma mais compacta e regular. A coloração indica o quão antiga uma molécula é no agregado, indo do azul escuro, mais antigas, para o amarelo, mais recentes. Nos agregados mais compactos, temos dificuldade em observar moléculas mais antigas visto que essas estão muito no interior da estrutura. Para as mais abertas, temos uma maior facilidade em observar moléculas mais antigas. Além disso, na visão lateral, observamos o comportamento alongado e com pontas afinadas, típico de fibrilas reais.



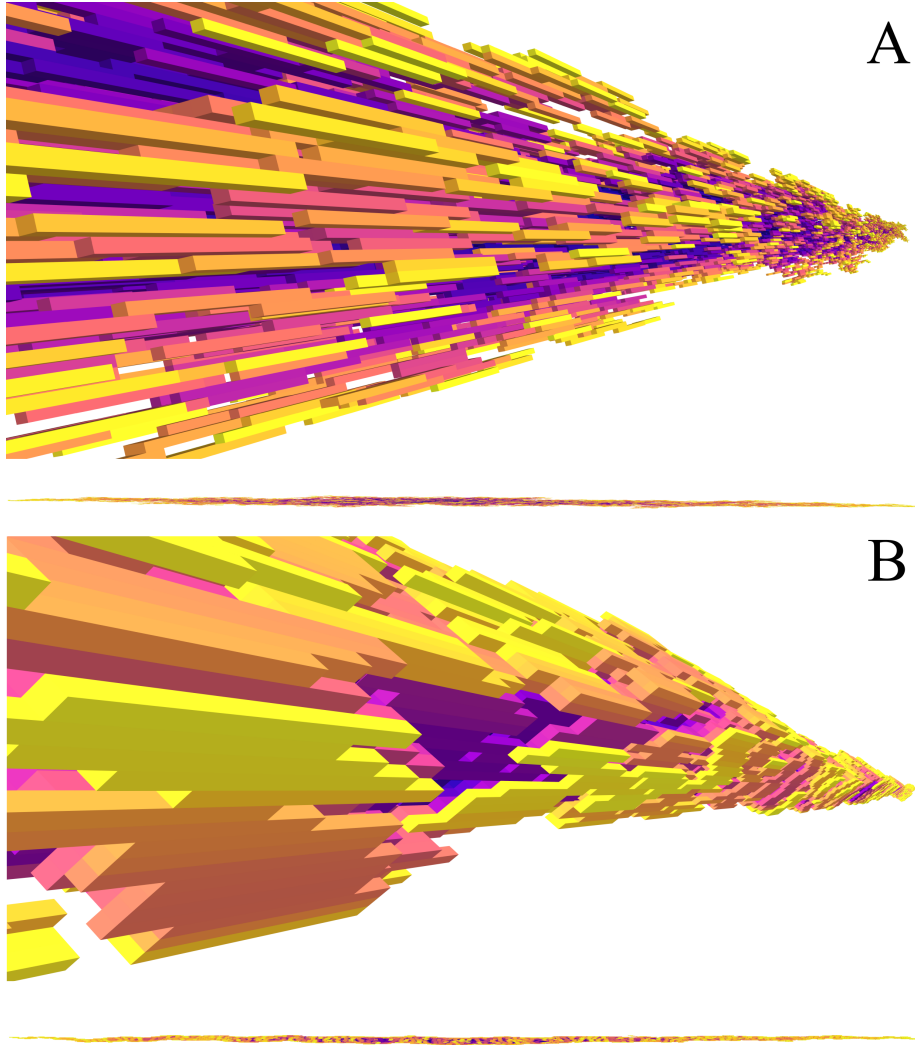


Figure 5: Visualização transversal e lateral das fibrilas geradas com o algoritmo de DLA contendo 30.000 moléculas. A coloração indica quão antigo é a molécula no agregado. Quanto mais pro azul escuro, mais antigo no agregado, quanto mais para o amarelo, mais recente. A) Fibrila gerada para  $T_s = 2$ , baixa difusão. B) Fibrila gerada para  $T_s = 10000$ , alta difusão.

O comprimento, o diâmetro e a densidade da região central das fibrilas são características influenciadas pelo parâmetro  $T_s$ . Na Tabela 1, podemos observar como essas dimensões se alteram, em média, com o aumento desse parâmetro. O comprimento e a densidade tendem a aumentar com o incremento de  $T_s$ , en-

quanto o diâmetro tende a diminuir. Uma propriedade comum a essas medidas é que elas exibem um comportamento de estabilização à medida que nos aproximamos de  $T_s = 512$ ; a partir desse ponto, elas oscilam em torno de um valor médio.

Table 1: Valores médios dos comprimentos, diâmetros e densidade de fibrilas geradas para diferentes valores de  $T_s$ .

$T_s$	<b>Length(u.m)</b>	<b>Ray(u.m)</b>	<b>Density(% )</b>
2	3668.36	32.40	0.17
8	3695.16	28.68	0.25
16	3764.27	24.63	0.34
32	3808.68	21.67	0.46
64	3891.56	17.6	0.57
128	3928.6	16.06	0.62
512	3913.24	14.07	0.66
1024	3912.52	14.14	0.65
4096	3892.28	14.06	0.66
8192	3892.52	14.16	0.66
10000	3917.16	13.94	0.65
Limit Upper	3905.54	14.08	0.65

Outra característica desses agregados é a relação linear entre a massa e a distância até as pontas. Na Figura 6, observamos que, independentemente do valor de  $T_s$ , todos os agregados exibem esse comportamento. Tal característica é recorrentemente observada tanto em fibrilas reais quanto nas simuladas com este modelo [19, 22].

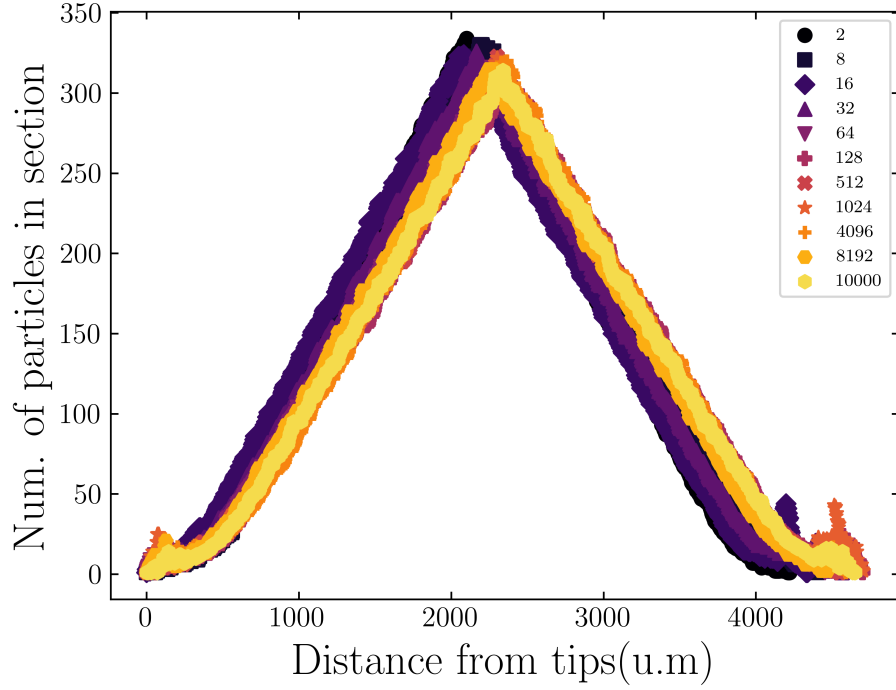


Figure 6: A quantidade de partículas por seção das fibrilas geradas segue uma relação linear da distancia em que medimos para a ponta. Nos observamos que, partindo de uma ponta, a massa cresce linear até bem proximo da região central da fibrila. A medida que nos afastamos dessa região, a massa decaí linearmente. Esse comportamento foi observado para todas as fibrilas, indicando que o parâmetro  $T_s$  não tem efeito sobre essa característica.

Analisando a seção transversal das fibrilas, conforme ilustrado na Figura 7, observamos que o aumento do parâmetro  $T_s$  resulta na diminuição dos espaços vazios dentro da seção, levando à formação de agregados mais compactos e quase completamente preenchidos. Devido a essa característica progressiva em função do parâmetro  $T_s$ , calculamos a dimensão fractal das seções e constatamos que, à medida que  $T_s$  aumenta, ocorre um incremento no valor médio da dimensão fractal da seção até atingir uma saturação. Na Figura 8, é evidente que para valores mais baixos de  $T_s$ , a dimensionalidade é próxima da observada em agregados gerados pelo modelo de Agregação Limitada por Difusão (DLA) [21], que é de 1.71, remetendo ao nosso modelo de formação. Enquanto isso, para valores mais elevados de  $T_s$ , a dimensão fractal tende a estabilizar em valores próximos a 1.93, que se assemelha muito à dimensão euclidiana para objetos bidimensionais.

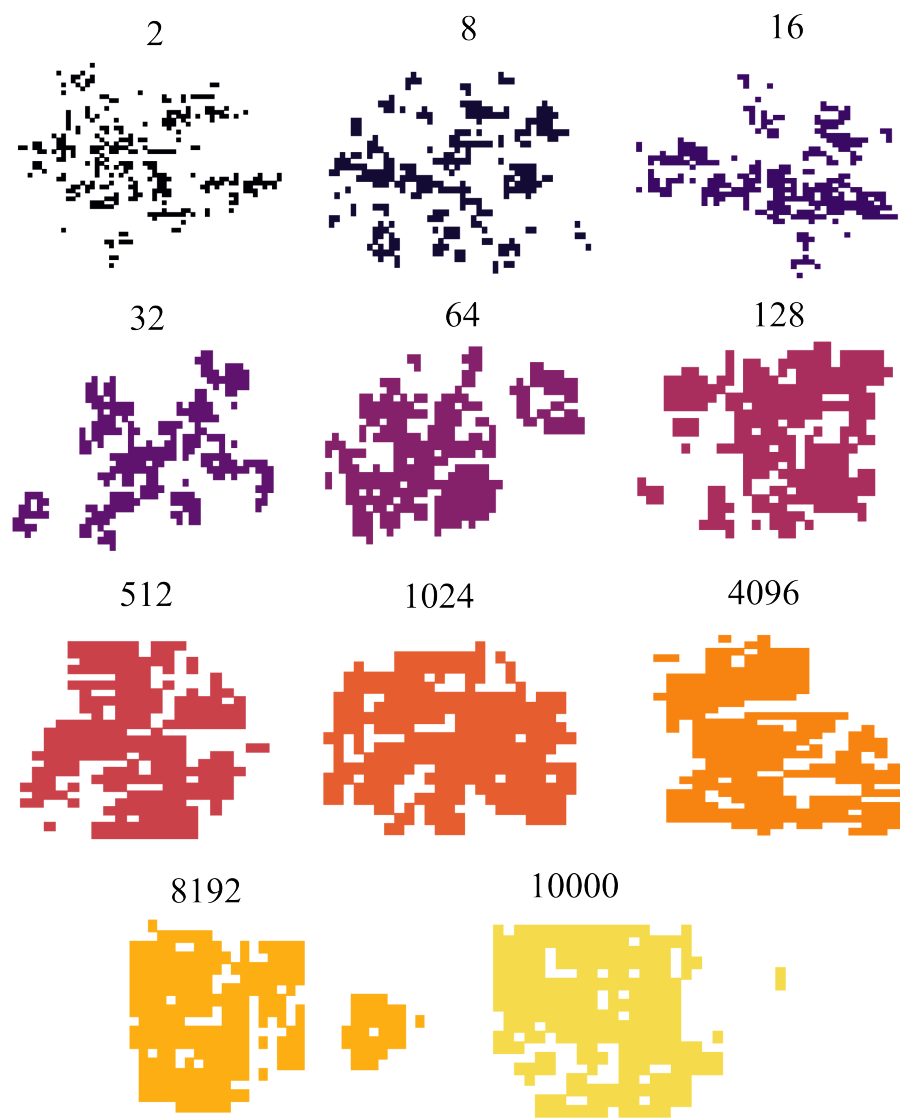


Figure 7: Variação da forma da seção transversal das fibrilas para diferentes valores de  $T_s$ .

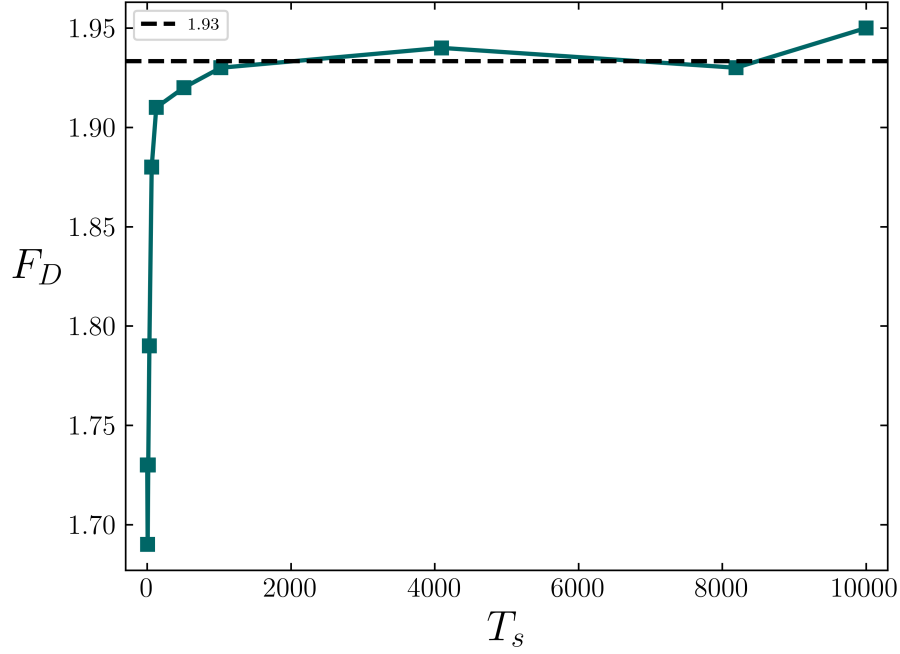


Figure 8: Dimensão fractal média da seção transversal em função do parâmetro  $T_s$ .

### 3.2 Propriedades mecânicas

Para compreender como nosso agregado responde à aplicação de uma força axial, avaliamos como o número de moléculas na fibrila varia com a força. Na Figura 9, apresentamos a curva de stress-strain para agregados gerados com diferentes valores de  $T_s$ . Observamos que o aumento desse parâmetro influencia no incremento da tensão máxima de ruptura. No entanto, a partir de  $T_s = 512$ , esses valores se tornam bastante próximos e as curvas começam a se sobrepor. Comumente, esperaríamos que essas curvas crescessem de forma mais abrupta até o valor máximo, o que não é observado aqui. Esse comportamento mais suave até o valor limite é uma consequência do módulo de Weibull que utilizamos no modelo. Para valores baixos, a curva resultante é não determinística [20]. A tensão máxima suportada que encontramos foi de 45,6 MPa, valor muito próximo ao encontrado por Yang et al. [27] ao analisar fibrilas reconstituídas do tendão de Aquiles bovino purificado. Em contraste, no trabalho de Yamamoto [28], foram utilizadas fibrilas isoladas do fascículo dos tendões da cauda de ratos, obtendo um valor de  $100 \pm 32$  MPa. A discrepância em relação ao nosso valor pode estar associada à dimensão das fibrilas utilizadas por ele, que apresentavam um diâmetro significativamente maior do que as modeladas neste trabalho.

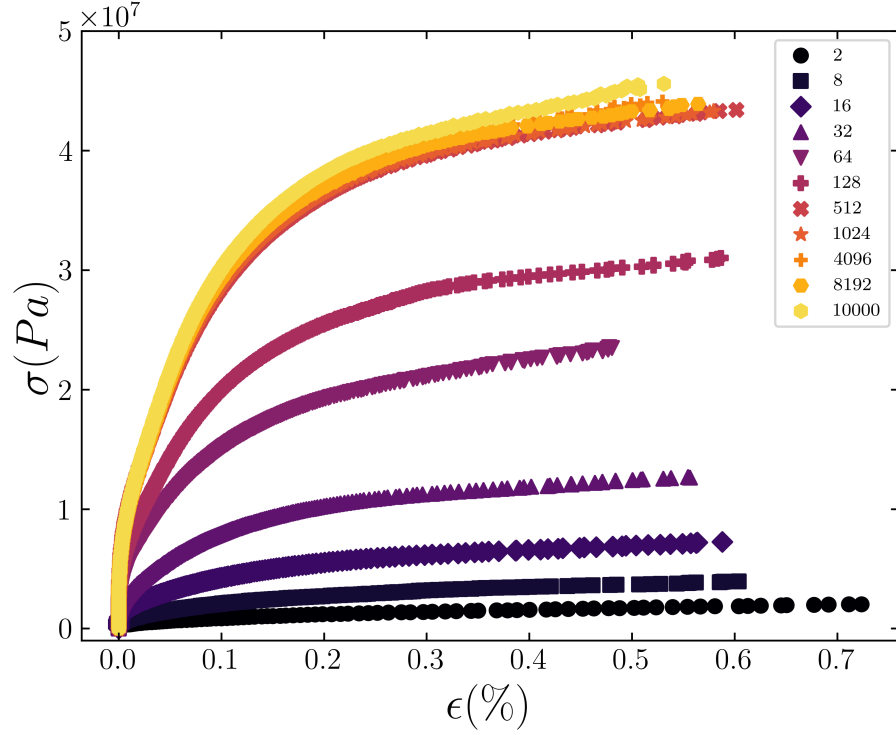


Figure 9: Tensão em função da deformação da fibrila para diferentes valores de  $T_s$ .

Na Figura 10, podemos observar como os valores de tensão máxima suportada variam com um parâmetro importante das fibrilas, a densidade. Escolhemos essa análise visto que o comportamento de  $\sigma$  e da densidade,  $\rho$ , exibem formas semelhantes quando analisados em função de  $T_s$ . Identificamos um comportamento exponencial no aumento da tensão máxima até um limite superior de 44,1 MPa. A saturação da densidade ocorre em 65%, valor este próximo ao encontrado por Parkinson et al.[19] com esse modelo, porém um pouco abaixo do determinado por Katz et al.[29], que calculou experimentalmente cerca de 80% do espaço disponível ocupado para as fibrilas de colágeno. Com base nessa característica de saturação, consideramos que, dado o custo computacional elevado, este modelo pode ser executado, para os parâmetros que inicialmente utilizamos, com  $T_s = 512$ , uma vez que nesse ponto já obtemos fibrilas com os valores de interesse médios equivalentes para valores superiores desse parâmetro.

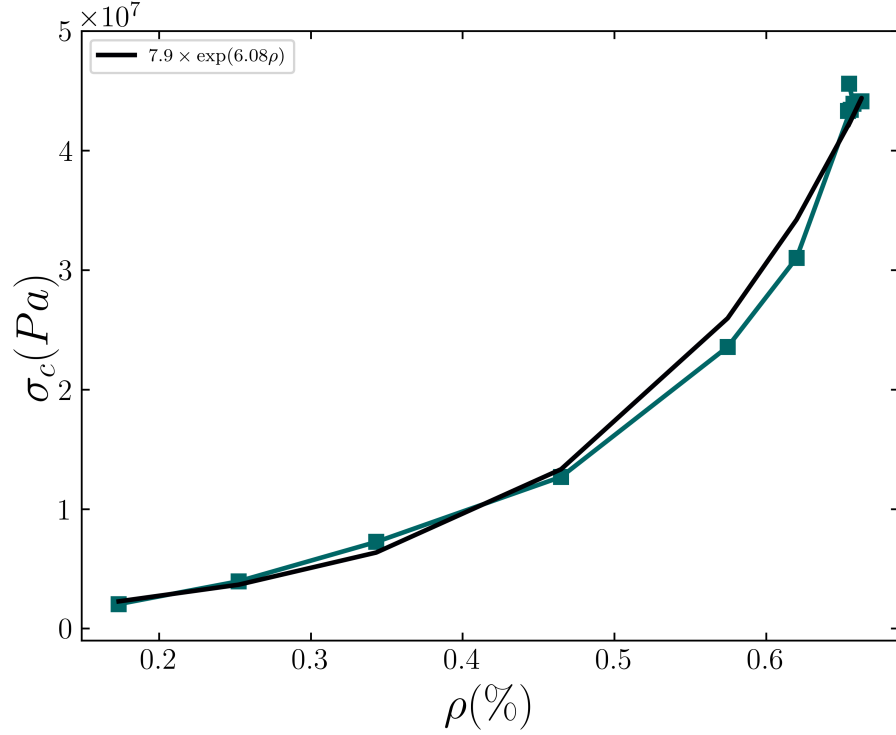


Figure 10: Tensão crítica em função da densidade. Observamos que esse valor cresce exponencialmente com a densidade até ambos os parâmetros atingirem um limite superior.

Ao analisar como o processo de ruptura ocorre no nosso modelo, bem como em outros, constatamos que a redistribuição de tensão, para uma mesma força, pode levar à ocorrência de rupturas em cascata. Na Figura 11, apresentamos a distribuição das avalanches de ruptura em função do seu tamanho. É possível observar a existência de duas ordens de grandeza bem definidas; após isso, os dados são afetados pelo efeito de tamanho finito. Analisando a região de interesse, até próximo de  $10^{2.5}$ , conseguimos determinar o expoente das leis de escala de modo que eles aumentam com o crescimento de  $T_s$ . Este comportamento é compreensível ao considerarmos que a densidade aumenta com este parâmetro, resultando em mais moléculas para contribuir com os tamanhos das avalanches. Assim, temos que as avalanches durante o processo de ruptura são independentes do tamanho do sistema; contudo, elas são influenciadas pelo quão compacta é a fibrila, com o expoente  $\gamma$  variando de -1.94 até -2.60.

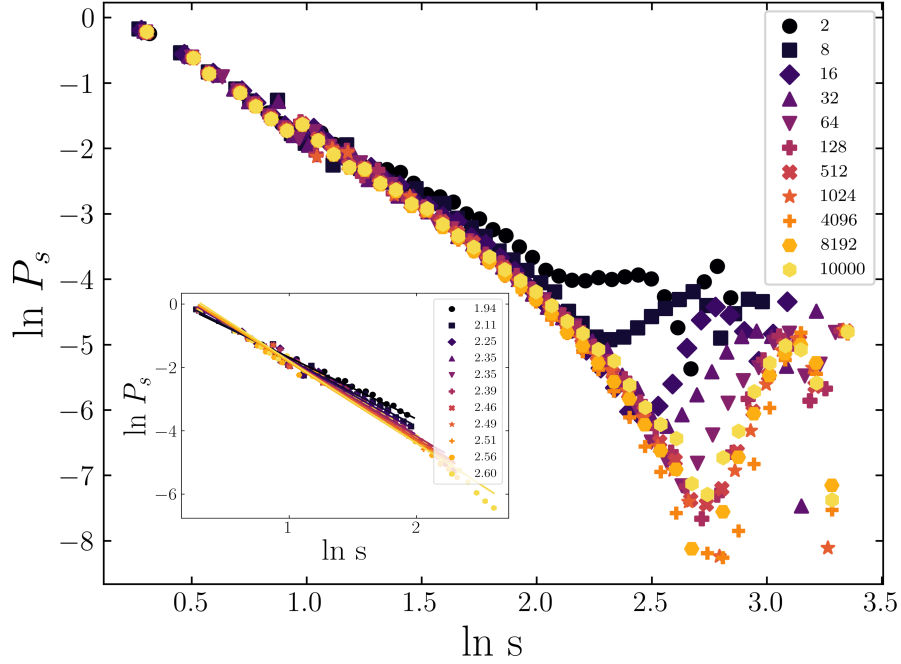


Figure 11: Distribuição das avalanches de ruptura em função do seu tamanho para diferentes valores de  $T_s$ . Podemos observar um comportamento em lei de potencia com expoentes  $\gamma$  bem definidos para todos valores do parâmetro. Os expoentes variam de -1.94 a -2.60.

## 4 Conclusões

Neste estudo, demonstramos a capacidade de um modelo baseado em Agregação Limitada por Difusão (DLA) com difusão superficial para simular a formação de fibrilas de colágeno, resultando em agregados com características morfológicas semelhantes às das fibrilas reais. O parâmetro  $T_s$  mostrou-se crucial para definir várias propriedades das fibrilas, como comprimento, densidade e diâmetro, que tendem a variar de maneira inversamente proporcional a  $T_s$ . Observou-se uma relação linear entre a massa das fibrilas e a distância até as pontas, além de uma variação na dimensão fractal da seção central, que aumenta com  $T_s$ , variando de 1.71 a 1.93.

A resistência máxima à tensão das fibrilas aumenta com  $T_s$ , alcançando um limite de 44,1 MPa, e a tensão crítica suportada apresenta uma correlação exponencial com a densidade das fibrilas. O processo de ruptura revelou avalanches de ruptura com leis de potência definidas, cujos expoentes variam de -1.94 a -2.60, indicando que, embora as avalanches sejam independentes do tamanho do sistema, elas são influenciadas pela compactação da fibrila.



Essas descobertas sugerem que as fibrilas geradas pelo modelo apresentam uma tensão máxima suportada que aumenta com a densidade e com  $T_s$ . Fibrilas mais resistentes tendem a ter uma dimensão fractal mais próxima da dimensão euclidiana de objetos bidimensionais e exibem valores mais elevados no expoente das leis de potência. Além disso, muitas das propriedades analisadas tendem a saturar, indicando que simulações realizadas com  $T_s = 512$  são suficientes para observar os valores máximos de interesse, otimizando o uso de recursos computacionais.

## References

- [1] K Gelse. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12):1531–1546, November 2003. doi: 10.1016/j.addr.2003.08.002. URL <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>.
- [2] Frederick H. Silver, Michael Jaffe, and Ruchit G. Shah. Structure and behavior of collagen fibers. In *Handbook of Properties of Textile and Technical Fibres*, pages 345–365. Elsevier, 2018. doi: 10.1016/b978-0-08-101272-7.00011-0. URL <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101272-7.00011-0>.
- [3] Shichen Zhu, Qijuan Yuan, Tao Yin, Juan You, Zhipeng Gu, Shanbai Xiong, and Yang Hu. Self-assembly of collagen-based biomaterials: preparation, characterizations and biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(18):2650–2676, 2018. doi: 10.1039/c7tb02999c. URL <https://doi.org/10.1039/c7tb02999c>.
- [4] Karl E. KADLER, David F. HOLMES, John A. TROTTER, and John A. CHAPMAN. Collagen fibril formation. *Biochemical Journal*, 316(1):1–11, May 1996. doi: 10.1042/bj3160001. URL <https://doi.org/10.1042/bj3160001>.
- [5] Jean Charvolin and Jean-François Sadoc. Type-i collagen fibrils: From growth morphology to local order. *The European Physical Journal E*, 42(4), April 2019. doi: 10.1140/epje/i2019-11812-1. URL <https://doi.org/10.1140/epje/i2019-11812-1>.
- [6] David A. D. Parry and Alan S. Craig. Growth and development of collagen fibrils in connective tissue. In *Ultrastructure of the Connective Tissue Matrix*, pages 34–64. Springer US, 1984. doi: 10.1007/978-1-4613-2831-5\_2. URL [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2831-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2831-5_2).
- [7] Gustavo A. Rico-Llanos, Sara Borrego-González, Miguelangel Moncayo-Donoso, José Becerra, and Rick Visser. Collagen type i biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering. *Polymers*, 13(4):599, February 2021. doi: 10.3390/polym13040599. URL <https://doi.org/10.3390/polym13040599>.

- [8] Mathis Nalbach, Franziska Chalupa-Gantner, Felix Spoerl, Victor de Bar, Benedikt Baumgartner, Orestis G. Andriotis, Shingo Ito, Aleksandr Ovsianikov, Georg Schitter, and Philipp J. Thurner. Instrument for tensile testing of individual collagen fibrils with facile sample coupling and uncoupling. *The Review of scientific instruments*, 93 5:054103, 2022. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:248580817>.
- [9] O G Andriotis, S W Chang, M Vanleene, P H Howarth, D E Davies, S J Shefelbine, M J Buehler, and P J Thurner. Structure-mechanics relationships of collagen fibrils in the osteogenesis imperfecta mouse model. *J. R. Soc. Interface*, 12(111):20150701, October 2015.
- [10] Vinayak Mull and Laurent Kreplak. Adhesion force microscopy is sensitive to the charge distribution at the surface of single collagen fibrils. *Nanoscale Adv.*, 4(22):4829–4837, November 2022.
- [11] Joost A. J. van der Rijt, Kees O. van der Werf, Martin L. Bennink, Pieter J. Dijkstra, and Jan Feijen. Micromechanical testing of individual collagen fibrils. *Macromolecular Bioscience*, 6(9):697–702, 2006. doi: <https://doi.org/10.1002/mabi.200600063>. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mabi.200600063>.
- [12] Markus J. Buehler. Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(33):12285–12290, 2006. doi: [10.1073/pnas.0603216103](https://doi.org/10.1073/pnas.0603216103). URL <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0603216103>.
- [13] Markus J. Buehler. Atomistic and continuum modeling of mechanical properties of collagen: Elasticity, fracture, and self-assembly. *Journal of Materials Research*, 21(8):1947–1961, 2006. doi: [10.1557/jmr.2006.0236](https://doi.org/10.1557/jmr.2006.0236).
- [14] Markus J. Buehler. Molecular architecture of collagen fibrils: A critical length scale for tough fibrils. *Current Applied Physics*, 8(3):440–442, 2008. ISSN 1567-1739. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2007.10.058>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567173907002283>. AMN-3 (Third International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology).
- [15] Markus J. Buehler. Nanomechanics of collagen fibrils under varying cross-link densities: Atomistic and continuum studies. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1(1):59–67, 2008. ISSN 1751-6161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2007.04.001>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616107000057>.
- [16] David C Malaspina, Igal Szleifer, and Yasin Dhaher. Mechanical properties of a collagen fibril under simulated degradation. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, 75:549–557, November 2017.

- [17] Baptiste Depalle, Zhao Qin, Sandra J Shefelbine, and Markus J Buehler. Large Deformation Mechanisms, Plasticity, and Failure of an Individual Collagen Fibril With Different Mineral Content. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31(2):380–390, 09 2015. ISSN 0884-0431. doi: 10.1002/jbmr.2705. URL <https://doi.org/10.1002/jbmr.2705>.
- [18] Ascânio D. Araújo, Arnab Majumdar, Harikrishnan Parameswaran, Eunice Yi, Jean L. Spencer, Matthew A. Nugent, and Béla Suki. Dynamics of enzymatic digestion of elastic fibers and networks under tension. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(23):9414–9419, 2011. doi: 10.1073/pnas.1019188108. URL <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1019188108>.
- [19] John Parkinson, Karl E. Kadler, and Andy Brass. Simple physical model of collagen fibrillogenesis based on diffusion limited aggregation. *Journal of Molecular Biology*, 247(4):823–831, April 1995. doi: 10.1016/s0022-2836(05)80157-3. URL [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(05\)80157-3](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(05)80157-3).
- [20] John Parkinson, Andy Brass, Giles Canova, and Yves Brechet. The mechanical properties of simulated collagen fibrils. *Journal of Biomechanics*, 30(6):549–554, June 1997. doi: 10.1016/s0021-9290(96)00151-0. URL [https://doi.org/10.1016/s0021-9290\(96\)00151-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9290(96)00151-0).
- [21] T. A. Witten and L. M. Sander. Diffusion-limited aggregation. *Physical Review B*, 27(9):5686–5697, May 1983. doi: 10.1103/physrevb.27.5686. URL <https://doi.org/10.1103/physrevb.27.5686>.
- [22] K E Kadler, Y Hojima, and D J Prockop. Assembly of collagen fibrils de novo by cleavage of the type i pC-collagen with procollagen c-proteinase. assay of critical concentration demonstrates that collagen self-assembly is a classical example of an entropy-driven process. *Journal of Biological Chemistry*, 262(32):15696–15701, November 1987. doi: 10.1016/s0021-9258(18)47783-6. URL [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)47783-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)47783-6).
- [23] Juan M. García-Ruiz and Fermín Otálora. Diffusion limited aggregation. the role of surface diffusion. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 178(3):415–420, November 1991. doi: 10.1016/0378-4371(91)90030-g. URL [https://doi.org/10.1016/0378-4371\(91\)90030-g](https://doi.org/10.1016/0378-4371(91)90030-g).
- [24] Ken ichi Saitoh, Tomohiro Sato, Masanori Takuma, and Yoshimasa Takahashi. Molecular dynamics study of collagen fibrils: Relation between mechanical properties and molecular chirality. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:225284088>.
- [25] Barbara Brodsky and John A.M. Ramshaw. The collagen triple-helix structure. *Matrix Biology*, 15(8):545–554, 1997. ISSN 0945-053X.

doi: [https://doi.org/10.1016/S0945-053X\(97\)90030-5](https://doi.org/10.1016/S0945-053X(97)90030-5). URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0945053X97900305>.

- [26] *Engineering Materials 2*. Elsevier, 2013. doi: 10.1016/c2009-0-64289-6. URL <https://doi.org/10.1016/c2009-0-64289-6>.
- [27] L. Yang, K.O. van der Werf, P.J. Dijkstra, J. Feijen, and M.L. Benink. Micromechanical analysis of native and cross-linked collagen type i fibrils supports the existence of microfibrils. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 6:148–158, 2012. ISSN 1751-6161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.11.008>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616111002955>.
- [28] Noritaka Yamamoto. Tensile strength of single collagen fibrils isolated from tendons. *European Journal of Biophysics*, 5(1):1–6, 2017. doi: 10.11648/j.ejb.20170501.11. URL <https://doi.org/10.11648/j.ejb.20170501.11>.
- [29] Elton P. Katz and Shu Tung Li. The intermolecular space of reconstituted collagen fibrils. *Journal of Molecular Biology*, 73(3):351–369, 1973. ISSN 0022-2836. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(73\)90347-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(73)90347-1). URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022283673903471>.