

# β-Эргэлтийн Хеликсийн Параметр

Д.Батхишиг

Физик Арга-Зүйн Тэнхим  
МУБИС, Физик Технологийн Сургууль,  
Улаанбаатар, Монгол улс  
[d.batkhishig@msue.edu.mn](mailto:d.batkhishig@msue.edu.mn)

П.Энхбаяр

МУИС, Мэдээлэл, Компьютерын ухааны Тэнхим  
Улаанбаатар, Монгол улс  
[enkhbayar@biology.num.edu.mn](mailto:enkhbayar@biology.num.edu.mn)

Хураангуй-β-эргэлт 4 аминхүчлээс тогтох ба (i+1) болон (i+2)-р аминхүчлийн φ, ψ өнцөг, C<sub>α</sub>(i), C<sub>α</sub>(i+3) атомуудын хоорондох зайгаар нь 9 ангилдаг. Бид уургийн 3-хэмжээт бүтцийн уургийн өгөгдлийн сан (PDB)-аас дарааллууд нь 75%-иас их ялгаатай, ≤1.6Å нарийвчлалтай, R-утга ≤0.25 байх 5461 уургийн өгөгдлийг авлаа, DSSP программаар уургийн хоёрдогч бүтцийн оноолтыг гүйцэтгэн I ба II төрлийн нийт 452 β-эргэлтийг тодорхойлов. HELFIT программаар β-эргэлтийн хеликсийн тэнхлэг дагуух нэг эргэлтэд оногдох шилжилт буюу алхам P, нэг эргэлтэд оногдох аминхүчлийн тоо n, хеликсийн радиус r, хеликсийн  $p=rmsd/\sqrt{(N-1)}$ , нэг аминхүчилд ноогдох шилжилт  $\Delta z=P/N$  параметруудийг тодорхойлов.

I, II төрлийн β-эргэлтүүдийн хеликсийн параметрууд нь статистикийн хувьд мэдэгдэхүйц ялгаатай байгаа бөгөөд эдгээр параметруудийн ялгааг β-эргэлтийг ангилахад хэрэглэж болох юм.

Түлхүүр үгс-уургийн хоёрдогч бүтэц, β-эргэлт, устөрөгчийн холбоо, полипептид, тетрапептид

## I. УДИРТГАЛ

Уурагт α-, 3<sub>10</sub>-, π-, ω-хеликс, β-странд төрлийн хоёрдогч бүтцүүд байхаас гадна эдгээрийг холбох эргэлт, хуйв төрлийн бүтцүүд байна [1-3]. Хуйв нь өргөн утгатай нэр томъёо бөгөөд тодорхойлолт өгөхөд хэцүү юм. Уургийн ерөнхий хэлбэр тогтвортой оршиход болон нугалралтад чухал үүрэгтэй хоёрдогч бүтэц бол эргэлт юм [4-6].

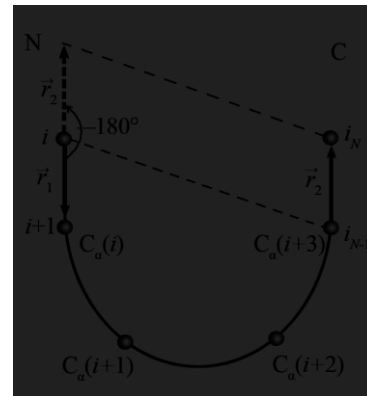
Уургийн бүтэц дэх эргэлтийг дараах байдлаар тодорхойлдог. 1) полипептидын хэлхээ нугаларч, N ба C терминаль тус бүр дэх дараалсан 2 амин хүчлийн альфа-карбоньг холбосон  $\vec{r}_1$  ба  $\vec{r}_2$  векторын чиглэл нь ойролцоогоор 180° эргэнэ (Зураг. I) [4, 7, 8], 2) эргэлтэнд зургаагаас илүүгүй аминхүчил оролцоно [9, 10].

Эргэлтэнд ноогдох аминхүчлийн тоог үндэслэн таван ангид хуваадаг. δ-, γ-, β-, α- ба π-эргэлт тус бүр 2, 3, 4, 5, ба 6 аминхүчлийн дарааллаас тогтдог [7, 11]. Эдгээрээс уурагт хамгийн элбэг тохиолддог эргэлт бол дөрвөн амин хүчлийн дарааллаас тогтсон

тетрапептид хэлхээ буюу β-эргэлт юм [5, 12]. Түүний үндсэн хэлхээний CO(i) ба NH(i+3) атомын хоорондох устөрөгчийн холбоосоор β-эргэлтийн структур тогтворждог [7, 13]. Нийт β-эргэлтийн орчим 25%-д нь (i) ба (i+3) аминхүчил хооронд устөрөгчийн холбоос үүсдэггүй. Иймд эдгээр β-эргэлтүүдийг (i+1), (i+2) аминхүчлийн φ, ψ өнцөг, C<sub>α</sub>(i), C<sub>α</sub>(i+3) атомуудын хоорондох зайгаар (7Å-аас бага) ангилдаг [5, 7, 10, 14].

Уургийн хоёрдогч бүтцийн элементүүдийг нэгэн утгатайгаар тодорхойлох нь уургийн ангилал, уургийн домений бүтэц-үүргийг тодорхойлох, гуравдагч бүтцийн тооцоо хийх, уураг-лигандийн харилцан үйлчлэлийг тодорхойлох, уургийн дизайн хийхэд чухал шаардлагатай эхний алхам юм.

Бид энэ ажлаараа уургийн β-эргэлтийн хеликсийн параметрийг HELFIT программ ашиглан тодорхойлов. I, II төрлийн β-эргэлтийн хеликсийн параметрууд хоорондоо статистикийн хувьд мэдэгдэхүйц ялгаатай байгааг t-тестийн аргаар тогтоолоо.



Зураг. I Эргэлт төрлийн хоёрдогч бүтэц.

## II. ӨГӨГДӨЛ

2010 оны 2 сарын 17-нд CullPDB серверийг ашиглан уургийн өгөгдлийн сангаас (PDB) дараах шалгуураар уургийн 3-хэмжээт бүтцийн өгөгдлийг татаж авсан [15]. 1) дарааллууд нь 75%-иас их ялгаатай, 2) уургийн 3-

хэмжээт бүтцийг тодорхойлсон аргын нарийвчлал  $\leq 1.6\text{\AA}$ , 3) R-факторын утга  $\leq 0.25$  байна. Эдгээр шалгуурыг хангах 5461 уургийн гурав-хэмжээт бүтцийн өгөгдөлд DSSP программ ашиглан хоёрдогч бүтцийн оноолтыг гүйцэтгэв. Үүний дараа хоёрдогч бүтцийн оноолт хийсэн өгөгдлүүдээс Matlab программ дээр бичсэн алгоритмаар 452  $\beta$ -эргэлтийг илрүүлсэн.

Ю-донг Кай, Гарни Ю, Коу-Чен Чоу нар зохиомол нервийн сүлжээ (Artificial neural network) алгоритмаар аминхүчлийн дараалалд таамаглал хийж 20 уургийн гурав-хэмжээт бүтцийн өгөгдлөөс нийт 110 тетрапептид хэлхээ илэрүүлж, 90  $\beta$ -эргэлтийг тогтоосон байна [4, 8]. Бид эдгээр 90  $\beta$ -эргэлтээс  $(i+1)$  ба  $(i+2)$  аминхүчлийн  $\phi$ ,  $\psi$  өнцөг болон  $C_\alpha(i)$  ба  $C_\alpha(i+3)$  атомуудын хоорондох зай  $7\text{\AA}$ -аас бага гэсэн шалгуурыг хангасан 71  $\beta$ -эргэлт байгааг тогтоосон.

### III. АРГА ЗҮЙ

#### A. Уургийн хоёрдогч бүтцийн оноолт

Уургийн хоёрдогч бүтцийн оноолтыг гүйцэтгэхэд өргөн хэрэглэдэг DSSP программыг ашигласан. DSSP программ нь уургийн хоёрдогч бүтцийн оноолт хийхдээ устөрөгчийн холбоосын энерги  $E < -0.5$  ккал/моль байвал устөрөгчийн холбоос үүссэнд тооцдог. Хамгийн тохиромжтой буюу уургийн хувьд тогтвортой төлөвийн устөрөгчийн холбоосын энерги  $E_m < -3.0$  ккал/моль байна [6]. Устөрөгчийн холбоосын энерги NH...O атомуудын цахилгаан шинж чанар болон атомуудын хооронд үүсэх өнцгөөс хамаардаг [1].

Устөрөгчийн холбоосыг функциональ бүлэг атомуудын цахилгаан шинж чанарыг ашиглан тогтоох бөгөөд энергийн функцийг дараах хэлбэрээр илэрхийлдэг.

$$E = q_1 q_2 \left( \frac{1}{r} (\text{ON}) + \frac{1}{r} (\text{CH}) - \frac{1}{r} (\text{OH}) + \frac{1}{r} (\text{CN}) \right) \cdot f \quad (1)$$

Энд,  $q_1 = -0.42e$  (C=O),  $q_2 = 0.20e$  (N-H),  $f = 322\text{\AA}^2 \cdot \text{ккал}/e^2 \cdot \text{моль}$ ,  $E$ -харилцан үйлчлэлийн потенциал энерги,  $r$ -харилцан үйлчлэлд орсон хоёр атомын хоорондох зай,  $e$ -электроны цэнэг,  $f$ -хэмжээсийн коэффициент болно [6].

#### B. Хеликсийн параметр

Бид  $\beta$ -эргэлтийн хеликсийн параметрийг тодорхойлохдоо HELFIT программыг хэрэглэсэн. HELFIT программ хамгийн багадаа гурав-хэмжээт огторгуй дахь 4 цэгийн координатыг үндэслэн

тооцооллыг гүйцэтгэдэг ба эдгээр цэгүүд полипептид дахь хеликс төрлийн хоёрдогч бүтцэд оролцож буй аминхүчлүүдийн  $C_\alpha$  атомын координат болно. Уг программ хеликсийн 5 параметрийг хамгийн бага квадратын аргаар өндөр нарийвчлалтай тодорхойлдог. Үүнд: нэг эргэлтэд харгалзах хеликсийн тэнхлэг дагуух шилжилт буюу алхам ( $P$ ), нэг эргэлтэд ноогдох аминхүчлийн тоо ( $n$ ), хеликсийн радиус ( $r$ ), идеал хеликсээс хазайх гажилт  $p = \text{RMSD}/\sqrt{n-1}$ , нэг аминхүчлд ноогдох шилжилт  $\Delta z = P/n$  бодогдоно [16].

#### C. t-тест

Ижил утгатай хэмжигдэхүүн агуулсан, тэнцүү биш тооны элементтэй 2 бүлэг хоорондоо статистикийн хувьд ялгаатай эсхэд үнэлгээ өгөхөд хэрэглэдэг [17]. Эхний 452  $\beta$ -эргэлтийн I, II төрөлд тус бүр 234 ба 218 өгөгдөлд хеликсийн 5 параметрүүд статистикийн хувьд хоорондоо илэрхий ялгаатай хоёр төрөл болохыг тогтоосон. Иймд дараагийн 71  $\beta$ -эргэлтийн I, II төрөл тус бүр 41 ба 30 өгөгдлийн хеликсийн параметрүүд хоорондоо статистикийн хувьд хоорондоо ялгаатай болохыг  $t$ -тестээр шалгасан.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{\bar{x}_1 \bar{x}_2} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (2)$$

Энд, хоёр бүлэг хэмжигдэхүүнүүдийн дундаж  $\bar{x}_1$  ба  $\bar{x}_2$ , бүлэг дэх хэмжигдэхүүний тоо  $n_1$  ба  $n_2$ ,  $S_{\bar{x}_1 \bar{x}_2}$  - хоёр хэмжигдэхүүний стандарт алдаа:

$$S_{\bar{x}_1 \bar{x}_2} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_{x_1}^2 + (n_2 - 1)S_{x_2}^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (3)$$

Энд, бүлгүүдийн стандарт алдаа  $S_{x_1}$  ба  $S_{x_2}$ . [17]

### IV. ҮР ДҮН

- Уургийн өгөгдлийн сангаас авсан 5461 уургийн гурав-хэмжээт бүтцийн өгөгдөлд DSSP программаар хоёрдогч бүтцийн оноолт хийж, Matlab программ дээр бичсэн алгоритмаар 452  $\beta$ -эргэлтүүдийг  $(i+1)$  ба  $(i+2)$  аминхүчлийн  $\phi$ ,  $\psi$  өнцөг болон тетрапептид хэлхээ дэх эхний амин хүчлийн  $C_\alpha(i)$  ба төгсгөлийн аминхүчлийн  $C_\alpha(i+3)$  атомуудын хоорондох зайг үндэслэн ангилахад I, II төрөл тус бүр 234 ба 218 байна.

Ф, Ψ өнцөг	I төрлийн 234 β-эргэлт		II төрлийн 218 β-эргэлт	
	Дундаж (°)	SE (°)	Дундаж (°)	SE (°)
φ(i+1)	-65.9	+/-2.0	-61.5	+/-1.4
ψ(i+1)	-29.3	+/-2.3	134.3	+/-1.8
φ(i+2)	-94.5	+/-2.4	89.1	+/-2.2
ψ(i+2)	-1.3	+/-1.8	-1.9	+/-2.6
C <sub>α</sub> (i)-C <sub>α</sub> (i+3) зай (Å)	5.63	+/- 0.1	5.7	+/-0.0

атомуудын хоорондох зай 7Å-аас бага гэсэн шалгуурыг хангасан нийт 71 β-эргэлтүүдэд ангилалт хийхэд I ба II төрөл тус бүрт 41 ба 30 байна (хүснэгт IV) [7, 10, 13].

Хүснэгт III. I болон II төрлийн β-ЭРГЭЛТ

Ф, Ψ өнцөг	I төрлийн 41 β-эргэлт		II төрлийн 30 β-эргэлт	
	Дундаж (°)	SE (°)	Дундаж (°)	SE (°)
φ(i+1)	-62.5	+/- 1.8	-57.5	+/- 1.7
ψ(i+1)	-25.4	+/- 2.2	131.3	+/- 1.5
φ(i+2)	-93.0	+/- 2.8	87.1	+/- 2.1
ψ(i+2)	-2.4	+/- 2.5	-1.8	+/- 3.4
C <sub>α</sub> (i)-C <sub>α</sub> (i+3) зай (Å)	5.5	+/- 0.1	5.7	+/- 0.0

Хүснэгт II-г I ба II төрлийн β-эргэлтийн хеликсийн параметруудийг HELFIT программаар тогтоож, статистикийн хувьд хоорондоо ялгаатай байгааг *t*-тестээр тодорхойлов.

- Ю-донг Кай, Гарни Ю, Коу-Чен Чоу нарын тодорхойлсон 90 β-эргэлтийг агуулж буй 18 уургийн 3-хэмжээст өгөгдөлд хоёрдогч бүтцийн оноолт хийж, (i+1) ба (i+2) аминхүчлийн φ, ψ өнцөг болон C<sub>α</sub>(i) ба C<sub>α</sub>(i+3)

β-эргэлтийн I ба II төрлийн хеликсийн таван параметр статистикийн хувьд хоорондоо ялгаатай бүлэг хэмжигдэхүүн байгааг *t*-тестээр тогтоосон (хүснэгт V).

Хүснэгт II. Нийт 452 β-ЭРГЭЛТИЙН I БОЛОН II ТӨРЛИЙН ХЕЛИКСИЙН ПАРАМЕТР

Хеликсийн параметр	I төрлийн 234 β-эргэлт		II төрлийн 218 β-эргэлт		Статистик утга			
	Дундаж	SE	Дундаж	SE	$s_{\overline{xy}}$	<i>t</i> -тест	<i>t</i> -хүснэгт	<i>t</i> %
<i>P</i> (Å)	5.64	+/-0.04	3.40	+/- 0.03	0.31	2.63	2.39	0.98
<i>n</i>	3.71	+/-0.03	4.43	+/- 0.09	0.07	2.24	2.39	0.98
<i>r</i> (Å)	2.42	+/- 0.04	2.92	+/- 0.08	0.06	2.48	2.01	0.95
Δ <i>z</i> (Å)	1.49	+/-0.02	0.72	+/- 0.01	0.01	2.67	2.67	0.99
<i>p</i> (Å)	0.02	+/- 0.01	0.20	+/- 0.01	0.01	2.43	2.39	0.98

Хүснэгт IV. β-ЭРГЭЛТИЙН I БОЛОН II ТӨРЛИЙН ХЕЛИКСИЙН ПАРАМЕТР

Хеликсийн параметр <sup>a</sup>	I төрлийн 41 β-эргэлт		II төрлийн 30 β-эргэлт		Статистик утга <sup>b</sup>			
	Дундаж	SE	Дундаж	SE	$S_{\overline{xy}}$	<i>t</i> -тест	<i>t</i> -хүснэгт	<i>t</i> %
<i>P</i> (Å)	5.57	+/- 0.20	3.29	+/- 0.61	0.31	1.80	1.67	0.90
<i>n</i>	3.73	+/- 0.06	4.51	+/- 0.09	0.07	2.56	2.39	0.98
<i>r</i> (Å)	2.33	+/- 0.04	2.88	+/- 0.08	0.06	2.16	2.00	0.95
Δ <i>z</i> (Å)	1.48	+/- 0.00	0.71	+/- 0.01	0.01	2.87	2.66	0.99
<i>p</i> (Å)	0.04	+/- 0.00	0.10	+/- 0.01	0.01	2.54	2.39	0.98

<sup>a</sup>Хеликсийн тэнхлэг дагуух шилжилт буюу алхам *P*, аминхүчлийн тоо *n*, хеликсийн радиус *r*, нэг аминхүчилд ноогдох шилжилт Δ*z*=*P*/*N*, хеликсийн гажилтын алдаа *p*=RMSD/sqrt(*N*-1), стандарт алдаа-SE [16].

<sup>b</sup>Хоёр бүлэг хэмжигдэхүүний гажилтын үнэлгээ  $S_{\overline{xy}}$ , элементийн тоогоор ялгаатай боловч ижил утгатай хэмжигдэхүүн агуулсан 2 бүлгийн статистик үнэлгээ *t*-тест, хүснэгтийн үнэлгээ *t*-хүснэгт (*t*-table), магадлалт ялгаа *t* % [17].

## V. ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Бид өндөр нарийвчлалтай тодорхойлогдсон уургуудыг өгөгдлийн сангаас авсан уургийн гурав-хэмжээст бүтцийн өгөгдөлд DSSP программаар хоёрдогч бүтцийн оноолт хийсэн. Оноолт хийгдсэн

өгөгдлөөс I ба II төрөл тус бүр 234 ба 218 β-эргэлт тодорхойлогдсон бөгөөд HELFIT программыг ашиглан анх удаа хеликсийн параметруудийг тодорхойлсон. Эндээс I ба II төрөл тус бүрийн хеликсийн параметрууд статистикийн хувьд хоорондоо 95-ээс 99% магадлалтай ялгаатай байгаа нь тогтоогдов. Иймээс бид

$\beta$ -эргэлтийн I болон II төрлийн хеликсийн параметруудийг дараах хүснэгтэнд оруулав (ХҮСНЭГТ.V).

ХҮСНЭГТ.V  $\beta$ -ЭРГЭЛТИЙН I БОЛОН II ТӨРЛИЙН ХЕЛИКСИЙН ПАРАМЕТР

Хеликсийн параметр <sup>a</sup>	$P$ (Å)	$n$	$r$ (Å)	$p$	$\frac{\Delta z}{\Delta}$ (Å)
I төрөл <sup>b</sup>	5.57	3.73	2.33	0.04	1.4 9
II төрөл <sup>b</sup>	3.29	4.51	2.88	0.1	0.7 3

<sup>a</sup>Хеликсийн тэнхлэг дагуух шилжилт  $P$ , нэг эргэлтэнд ноогдох аминхүчлийн тоо  $n$ , хеликсийн радиус  $r$ , хеликсийн гажилт  $p = \text{RMSD}/\sqrt{(N-1)}$ , нэг аминхүчлэлд ноогдох шилжилт  $\Delta z$  [3].

<sup>b</sup>Венкатачалам  $\beta$ -эргэлтийн I, II, (I', II') төрлүүдийг тодорхойлсон [11].

Ю-донг Кай, Гарни Ю, Коу-Чен Чоу нар тетрапептидийн дараалалд таамаглал хийж 20 уургийн гурав-хэмжээст бүтцийн өгөгдлөөс нийт 110 тетрапептид хэлхээ илэрүүлснээс 90  $\beta$ -эргэлтийг тогтоосон байдаг. Бид  $\beta$ -эргэлтийг ангилахад хамгийн өргөн хэрэглэдэг Ричардсоны тодорхойлсон ангиллыг ашиглан I болон II төрлийн 71  $\beta$ -эргэлт байгааг тогтоов. Ингээд ангилалт хийсэн  $\beta$ -эргэлтийн I, II төрөл тус бүрт HELFIT программыг ашиглан хеликсийн параметруудийг тодорхойлсон.  $\beta$ -эргэлтийн хоёр төрлийн хеликсийн параметрууд хоорондоо илэрхий ялгаатай боловч бид  $t$ -тестийн аргаар шалгаж, I болон II төрлийн хеликсийн параметрууд статистикийн хувьд хоорондоо 90-ээс 99% магадлалт ялгаатай байгааг тогтоов.

## VI. ДҮГНЭЛТ

Энэ ажлаар анх удаа HELFIT программыг ашиглан  $\beta$ -эргэлтийн хеликсийн параметруудийг тодорхойлсон бөгөөд  $\beta$ -эргэлтийн I болон II төрлийн хеликсийн параметрууд хоорондоо статистикийн хувьд хоорондоо ялгаатай байгааг тогтоов. Иймээс бид  $\beta$ -эргэлтийн I болон II төрлийг хеликсийн таван параметруудээр ангилсан.

## ИШЛЭСЭН МАТЕРИАЛ

- [1] L. Pauling, R. B. Corey, and H. R. Branson, "The structure of proteins; two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 37, pp. 205-11, Apr 1951.
- [2] J. S. Richardson, "The anatomy and taxonomy of protein structure," *Adv Protein Chem*, vol. 34, pp. 167-339, 1981.
- [3] P. Enkhbayar, B. Boldgiv, and N. Matsushima, "omega-Helices in proteins," *Protein J*, vol. 29, pp. 242-9, May 2010.

- [4] Y. D. Cai, H. Yu, and K. C. Chou, "Prediction of beta-turns," *J Protein Chem*, vol. 17, pp. 363-76, May 1998.
- [5] E. G. Hutchinson and J. M. Thornton, "A revised set of potentials for beta-turn formation in proteins," *Protein Sci*, vol. 3, pp. 2207-16, Dec 1994.
- [6] W. Kabsch and C. Sander, "Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features," *Biopolymers*, vol. 22, pp. 2577-637, Dec 1983.
- [7] K. C. Chou, "Prediction of beta-turns," *J Pept Res*, vol. 49, pp. 120-44, Feb 1997.
- [8] Y. D. Cai, X. J. Liu, X. B. Xu, and K. C. Chou, "Support vector machines for the classification and prediction of beta-turn types," *J Pept Sci*, vol. 8, pp. 297-301, Jul 2002.
- [9] G. D. Rose, L. M. Gierasch, and J. A. Smith, "Turns in peptides and proteins," *Adv Protein Chem*, vol. 37, pp. 1-109, 1985.
- [10] P. N. Lewis, F. A. Momany, and H. A. Scheraga, "Chain reversals in proteins," *Biochim Biophys Acta*, vol. 303, pp. 211-29, Apr 20 1973.
- [11] C. M. Venkatachalam, "Stereochemical criteria for polypeptides and proteins. V. Conformation of a system of three linked peptide units," *Biopolymers*, vol. 6, pp. 1425-36, Oct 1968.
- [12] C. M. Wilmot and J. M. Thornton, "Analysis and prediction of the different types of beta-turn in proteins," *J Mol Biol*, vol. 203, pp. 221-32, Sep 5 1988.
- [13] C.-T. Zhang and K.-C. Chou, "Prediction of  $\beta$ -turns in proteins by 1-4 and 2-3 correlation model," *Biopolymers*, vol. 41, p. 12, 6 DEC 1998 1998.
- [14] H. Kaur and G. P. Raghava, "A neural network method for prediction of beta-turn types in proteins using evolutionary information," *Bioinformatics*, vol. 20, pp. 2751-8, Nov 1 2004.
- [15] G. Wang and R. L. Dunbrack, Jr., "PISCES: recent improvements to a PDB sequence culling server," *Nucleic Acids Res*, vol. 33, pp. W94-8, Jul 1 2005.
- [16] P. Enkhbayar, S. Damdinsuren, M. Osaki, and N. Matsushima, "HELFIT: Helix fitting by a total least squares method," *Comput Biol Chem*, vol. 32, pp. 307-10, Aug 2008.
- [17] J. C. Moshe Pollak, "A comparison of the independent-samples t-test and the paired-samples t-test when the observations are nonnegatively correlated pairs," *Journal of Statistical Planning and Inference*, vol. 5, p. 14, 23 April 1980 1981.