

碩士學位論文

광 산란 실험에 의한 단백질 입자
응고체의 프랙탈 구조연구

濟州大學校 大學院

物理學科



1997年 12月

광 산란 실험에 의한 단백질 입자
응고체의 프랙탈 구조연구

指導教授 金 斗 哲

金 永 姬

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

1997년 12월

金永姬의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長: _____

委 員: _____

委 員: _____

濟州大學校 大學院

1997년 12월

Light Scattering Study of the Fractal Structure
on Clustered Proteins

Young-Hee Kim
(Supervised by professor Doo-Chul Kim)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF
NATURAL SCIENCES

DEPARTMENT OF PHYSICS
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1997 年 12 月

목 차

Summary

| | |
|------------------------------|----|
| I. 서론 | 1 |
| II 이론적 배경 | 4 |
| 1. 프랙탈 구조와 프랙탈 차원 | 4 |
| 2. 프랙탈의 형성모델 | 7 |
| 3. 광 산란 이론 | 9 |
| III. 실험장치 및 실험방법 | 14 |
| 1. 실험장치 | 14 |
| 2. 시료제작 | 15 |
| IV 실험결과 | 16 |
| 1. pH변화에 따른 유효직경 측정 | 18 |
| 2. 침전제의 농도와 단백질 농도의 변화 | 26 |
| 3. 온도에 따른 변화 | 30 |
| V. 결론 | 34 |
| 참고 문헌 | 35 |



Summary

Using static and dynamic light scattering, the fractal dimension and the kinetics of the aggregation for a solution of the protein particles were investigated under various conditions of pH, the weight percentage of precipitation ammonium sulfate ($(NH_4)_2SO_4$), the concentration of protein, and temperature. Our results show that, for protein concentrations 6g/dℓ, 8g/dℓ, and 10g/dℓ at pH=3, the fractal dimensions are given by $D_f=1.78\pm 0.08$, 1.77 ± 0.08 , and 1.77 ± 0.08 , respectively, which agree with diffusion-limited cluster-cluster aggregation (DLCA) model. In this case, the radius of cluster grows with a power law $R\sim t^b$ with b being 1.56 ± 0.03 . By changing the concentration of protein at fixed ammonium sulfate (7.5wt%), the fractal dimensions are given by $D_f=2.08\pm 0.09$, 1.89 ± 0.09 , 1.76 ± 0.09 , and 1.75 ± 0.08 for 2g/dℓ, 4g/dℓ, 6g/dℓ, and 10g/dℓ, respectively. Furthermore, by changing the weight percentage of ammonium sulfate at fixed protein concentration, the fractal dimensions are given by $D_f=1.76\pm 0.09$, 1.83 ± 0.08 , 2.05 ± 0.09 , 2.07 ± 0.08 , and 2.05 ± 0.09 for 7.5wt%, 15wt%, 20wt%, 25wt%, and 30wt%, respectively. Thus, it is shown that the fractal dimensions decrease as the protein concentrations increase, but they increase with the weight percentage of ammonium sulfate. For the change of sample temperature, it is also shown that the cluster of aggregate does not grow with a time at low temperature ($\leq 60^\circ\text{C}$). However, the radius of cluster grows with $R\sim e^{at}$ at 65°C , and the average fractal dimension is given by 2.05 ± 0.06 , which agrees with reaction-limited cluster-cluster aggregation (RLCA) model.

I. 서론

자연계의 현상들은 매우 복잡한 성장과정을 통해 여러 가지의 제멋대로의 형태를 이루어 존재한다. 먼지 입자나 콜로이드상의 작은 입자들이 비가역적으로 달라붙어 형성하는 응집체는 성긴 나뭇가지 모형으로서 그 형태가 매우 불규칙하며 내부 밀도가 균일하지 않은데, 이런 구조물을 프랙탈 구조물 (fractal structure)이라고 한다. 프랙탈 구조는 불규칙한 응고 과정을 통해 이루어진 구조임에도 자체 유사성 (self-similarity)과 일반성 (universality)을 갖는다는 기초과학적 측면뿐만 아니라 지구나 행성의 복잡한 지형들의 생성 과정이나, 암세포의 구조 및 성장 메카니즘, 세라믹 재료를 이용한 새로운 재료개발 등에서 나타나는 구조로서 중요한 연구의 대상이 되어 왔다.

프랙탈 구조의 설명은 프랙탈 차원 (fractal dimension)에 의해서 이루어지는데 1961년 Eden의 격자모델을 시작으로 여러 모델에 대한 프랙탈 구조의 성장 메카니즘을 설명하기 위해 발전되어 왔다 (T. Visek 1992). 1981년에는 Witten 등은 단일 입자뿐만이 확산 운동에 의하여 응집체를 형성하는 diffusion-limited aggregation (DLA)모델을 제시하였다 (T. A. Witten 등 1981). 1983년에는 Meakin과 Kolb 등이 DLA모델을 보완하여 단일입자뿐만 아니라 응집체까지도 확산 운동을 하는 diffusion limited cluster-cluster aggregation (DLCA)모델에 의해 프랙탈 차원 D_f 의 값을 1.75로 제시되었으며, 응집체의 유체역학적 (hydrodynamic) 반경 (R)은 $R \propto t^{1/D}$ 인 시간의 함수로 성장된다고 보였다 (P. Meakin 등 1983, M. Kolb 등 1983). 여기서 t 는 응집시간이다.

반면에 DLCA모델에서는 응고물이 형성되는데 있어서 확산 속도에 의해서만 지배되는데 반해 응고물이 응고 반응속도에 의해 지배된다는 reaction-limited cluster-cluster aggregation (RLCA)모델이 Ball 등 (1987)과 Brown (1987)에 의해 제시되었다. 이 모델에서 프랙탈 차원은 2.1로 제시되었으며, 유체역학적 반경은 지수함수적으로, $R \propto e^{at}$ 로 성장된다고 보였다 (R. C. Ball 등 1987, W. D. Brown 등

1987). 여기서 α 는 실험조건에 의존하는 상수이며, t 는 응집 반응 시간이다.

응집체의 성장과정과 구조와의 관계, 프랙탈 차원 등에 관한 실험 연구는 전자현미경, 전산모의 실험 (computer simulation), 광 산란, X-선 산란 및 중성자 산란을 이용하여 이루어지고 있다 (D. W. Schaefer 등 1984, H. D. Bale 등 1984, P. Meakin 1983, R. Kapral 등 1986, D. A. Weitz 등 1985, L. L. Hoekstra 등 1992, J. C. Gimel 등 1994, Z. Zhou 등 1994). 콜로이드 (colloid)계에 대해서는 콜로이드 상태를 유지하게하는 입자 표면 전하의 감소에 의해 응집체가 형성되므로, 콜로이드 입자의 화학적 반응성, 운동 에너지, 유동성, 질량 등이 응집체의 형성과정에 영향을 미칠 수 있는 주요한 요인이 될 수 있다. 따라서 실험에서는 콜로이드의 표면 전하를 감소시키기 위해서 pH를 변화하거나, 염을 첨가한 실험 결과들이 발표되고 있다 (D. A. Weitz 등 1985, D. W. Schaefer 등 1984, J. E. Martin 등 1987). Weitz 등 (1985)은 피리딘 (pyridine)을 첨가한 금 (gold), 콜로이드의 동역학적인 응집현상을 연구하였으며, Schaefer 등 (1984)은 광 산란과 X선 산란 실험으로 염을 첨가한 실리카 (silica) 입자의 응집현상을 연구하여 프랙탈 차원이 2.12임을 보고하였다. Martin 등 (1987)도 광 산란 실험을 이용하여 실리카 콜로이드의 응집현상 연구에서 2.05의 프랙탈 차원값을 얻었으며, Aubert 등 (1986)은 pH변화와 염을 첨가한 실리카 콜로이드의 응집현상에서 프랙탈 차원이 2.08의 프랙탈 차원값을 얻었다. Balle 등 (1987)과 Cametti 등 (1989)은 광 산란 실험에 의하여 polystyrene latex의 응집현상에서 빠른 응집의 경우 프랙탈 차원이 1.75임을 밝히는 등, 금, 실리카, polystyrene, 콜로이드의 응집현상에 대한 많은 연구결과들이 발표되었다 (P. W. Rouw 등 1989). Hemker 등 (1990)은 광 산란 실험을 이용하여 중합체 PMAA (poly methacrylic acid)와 PEG (poly ethylene glycol)의 응집현상에서 프랙탈 차원이 1.75임을 보였으며, Gimel 등 (1994)은 열 변성에 의한 단백질의 응집현상을 연구하여 응집체의 프랙탈 차원이 2.02임을 발표하였다. 김 등 (Kim 등 1994, Kim 등 1995, Kim 등 1996, Kim 등 1997)은 polystyrene의 농도가 응집현상에 미치는 영향과, polystyrene 수용액의 이온 세기의 변화가 응집체의 동역학적인 성장과정에 미치는 영향 및 시료의 온도 변화가 콜로이드의 응집현상에 미치는 효과를 연구하였다.

대부분 응집현상 실험에서는 금, 실리카, polystyrene 입자들로 크기, 형태 및 화

학적 조성이 일정한 콜로이드 등을 사용하여 실온에서 이루어졌다. 그러나 실제로 자연현상이나 응용분야에서 나타나는 응집체들은 크기가 다양한 입자들로 형성될 수 있으며, 또한 입자의 표면은 매우 복잡한 기하학적 구조와 화학적 성질이 부분에 따라 다르다고 할 수 있다. 구상 단백질이 열에 의해 변성되면 매우 복잡한 분자구조의 변화가 나타나고 농도에 따라 응집되어 침전되거나 겔 (gel)형태로 바뀌게 된다. 이러한 과정에서 온도와 농도, pH등이 중요한 역할을 할 수 있다. 이와 같은 성질을 갖는 단백질이 pH, 침전제, 열 등에 의해 변성되는 과정에서 형성되는 프랙탈 구조의 성장 메카니즘과 프랙탈 차원에 대한 연구는 많이 이루어지지 않은 상태이다.

따라서 본 연구에서는 광 산란 실험 방법을 이용하여 단백질의 변성에 의한 프랙탈 구조의 성장 과정과 프랙탈 차원 등을 연구하여 입자의 크기와 형태가 일정한 콜로이드의 응집현상의 결과들과 비교 분석하고자 한다.



II. 이론적 배경

1. 프랙탈 구조와 프랙탈 차원

먼지 입자나 콜로이드상의 입자와 같은 작은 입자들은 비가역적으로 달라 붙어 응집체를 형성한다. 이때 각 응집체는 각 입자들을 잡아둘 수 있는 결합력의 범위를 넘어선 거대한 크기까지 성장한다.

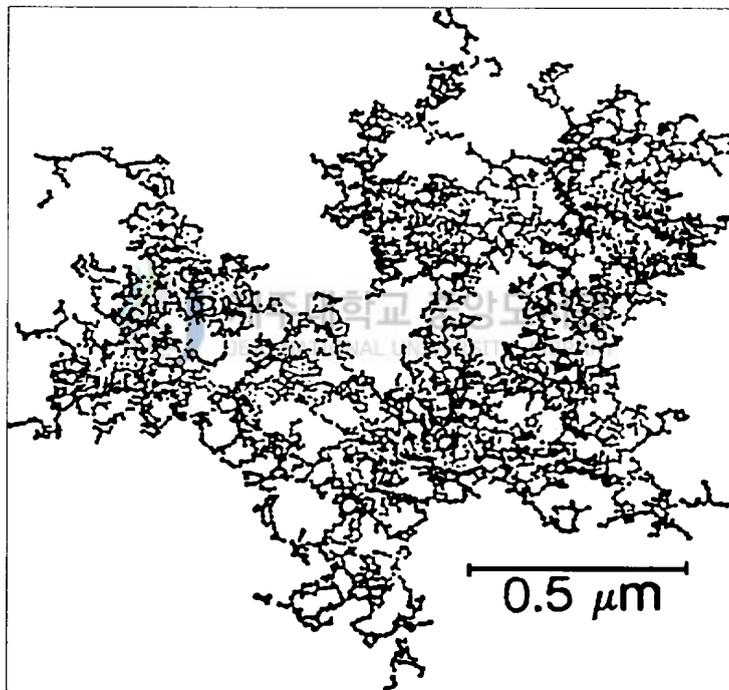


Fig. 1. The TEM image of typical gold colloid aggregate. This cluster contains 4739 gold particles (D. A. Weit 등 1984).

그림 1 에서와 같이 나무가지가 성글게 가지를 친 모양과 같이 형태가 매우 불규칙하며, 내부밀도가 균일하지 않은데, 이러한 구조물을 프랙탈 구조물이라 한다. 이런 프랙탈 구조물은 해안선의 모양이나 번개치는 모양, 구름이 형성되는 모양, 종양이 커가는 모양등에서 쉽게 관찰될 수 있다. 그리고 프랙탈 구조물은 그 형태가 매우 복잡하므로 유클리드 기하의 선이나 원 등의 개념으로는 표현이 불가능하다. 따라서 이들 프랙탈 구조물의 공간적 차원은 유클리드 차원과 달리 프랙탈 차원 (D_f)로 표현한다 (B. B. Mandelbrot 1977, H. E. Stanley 1986). 프랙탈 차원을 설명하기 위해 아래의 경우를 예로 들면, 그림 2-a는 길이가 1인 직선을 3등분하여 길이가 1/3인 세 개의 분할 직선을 만든 것이고, 그림 2-b는 한변의 길이가 1인 정사각형을 분할하여 만든 한변의 길이가 1/4인 16개의 정사각형을 나타낸 것이다.

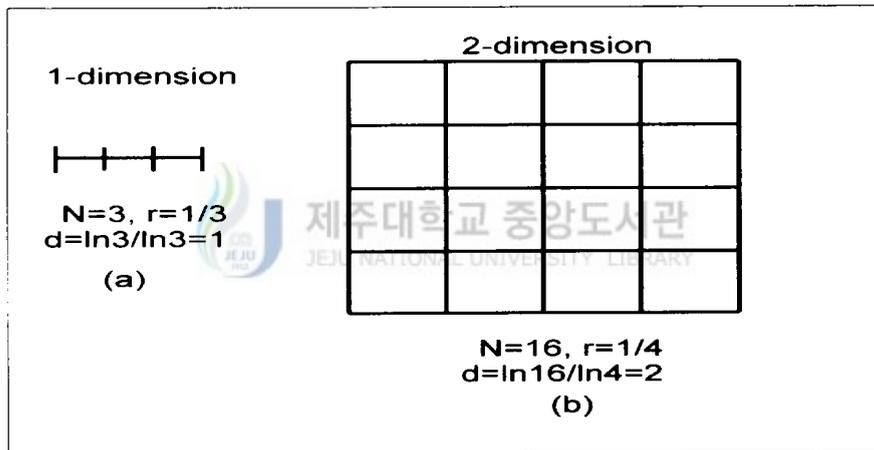


Fig. 2. The Euclid dimension.

이제 그림 2-a의 길이가 1/3인 분할 직선을 다시 3등분하면 길이가 1/9인 9개의 분할 직선을 얻을 수 있으며 n번 반복하는 경우 n차 분할 직선의 총 개수는 3^n 개이고 하나의 길이는 $1/3^n$ 이 될 것이다. 또한 그림 2-b의 정사각형도 n번 거듭하여 분할한다면 n차 분할 정사각형의 총 개수는 4^{2n} 이 될 것이다. 위의 두 예는 유클리드 도형

에 속하는 1차원과 2차원 도형으로서 분할과정을 거듭하여 만든 분할도형의 총 개수는 N , 한변의 길이를 r 이라 하면 1차원 도형인 선의 경우 두 변수사이에 $N = r^{-1}$ 의 관계가 성립하며, 2차원 도형인 정사각형의 경우 $N = r^{-2}$ 의 관계가 있다. 따라서 일반적인 이차원 유클리드 도형의 경우에는 $N = r^{-d}$ 의 관계가 성립하며 이때 차원 d 는 $d = \ln N / \ln(1/r)$ 의 관계에서 얻을 수 있다.

그림 3-a는 프랙탈 구조물에 속하는 삼각 koch curve이다. 이것은 길이가 1인 직선을 3등분하여 길이가 1/3인 세 개의 분할 직선을 만들고 가운데의 분할 직선 대신 이것과 길이가 동일한 두 개의 분할 직선을 빗대어 세워 만든 곡선이다. 이 분할 직선의 각 변에 대해 위의 분할 과정을 한번 더 시행한 경우 (그림 3-b 참조), 2차 분할 직선의 총 개수는 4²개이고, 한변의 길이는 1/3²이 될 것이며 분할 과정을 n 번 반복하는 경우에는 분할 도형의 총 개수는 4 ^{n} 개, 한변의 길이는 1/3 ^{n} 이 될 것이다. 이것은 유클리드 도형의 예에서와 마찬가지로 총 분할 도형의 개수 N 과 한변의 길이 r 사이에 $N = r^{-D_f}$ 의 관계를 가지며 삼각 koch curve의 경우 D_f 는 $D_f = \ln N / \ln(1/r) = \ln 4 / \ln 3 = 1.2618$ 로 정수가 아니다. 이때 D_f 는 유클리드 도형의 유클리드 차원과 대응하여 프랙탈 구조물의 프랙탈 차원이라 한다. 삼각 koch curve와 같은 프랙탈 구조물의 프랙탈 차원은 일반적으로 반드시 정수일 필요는 없다.

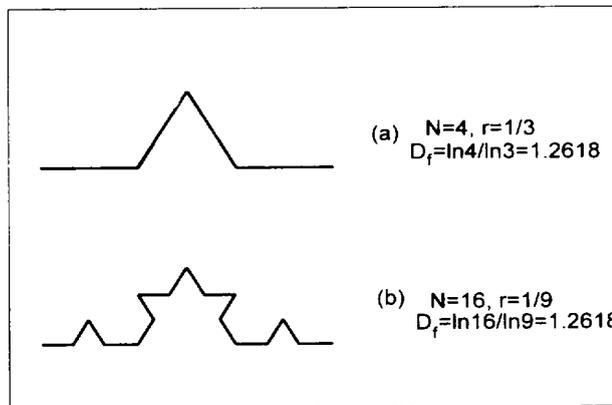


Fig. 3. The koch curve.

이때, 유클리드 차원 d 가 1차원, 2차원과 같은 정수의 값만 갖는데 비해 프랙탈 차원 D_f 는 분수의 값도 가능하며, 그 범위가 $1 < D_f \leq d$ 이다. 프랙탈 차원이 항상 1보다 큰 것은 프랙탈 구조물이 단락이 없이 독립된 것이기 때문이고, 프랙탈 차원이 유클리드 차원보다 작은 이유는 내부밀도가 균일하지 않기 때문이다.

이러한 프랙탈 구조물에는 몇가지 공통적인 특성이 있다.

첫째, 프랙탈 구조물의 구성입자보다 큰 분해능을 가지고 그 구조물을 관찰할 때 그 분해능의 크고 작음에 무관하게 그 형태와 특징이 변함없이 유지되는 특성 즉, 자체 유사성 (self-similarity)을 갖는다.

둘째, 프랙탈 차원과 같이 응집체를 특징짓는 임계지수나 scaling 함수등이 공간차원이 같을 경우, 삼각, 사각, 및 육각격자등 격자의 종류나 입자들간의 상호작용이 미치는 범위등과 같은 세부구조에 무관하며, 또한 프랙탈 구조물을 구성하는 기본입자의 형태에 무관할 때, 그 구조물은 일반성 (universality)를 가진다고 말한다.

셋째, 모든 프랙탈 구조물들은 그 내부의 밀도 - 밀도 상관함수가

$$\rho(r+r') \rho(r') > \sim r^{-(d-D_f)} \quad (2.1)$$

와 같이 멱급수 (power - law)형태를 만족한다. 여기서 D_f 는 프랙탈 차원, d 는 유클리드차원이다.



2. 프랙탈의 형성모델

콜로이드의 비가역적 응집현상은 프랙탈 구조의 성장메카니즘을 설명하기 위해 발전되어 왔는데, 이는 두가지 모델로 구별되어지고 있다.

2-1) Diffusion-limited cluster-cluster aggregation (DLCA)모델

단일입자뿐만 아니라, 응집체들은 확산운동을 하여 격자위를 임의로 돌아다니다 다른 응집체 끝 입자의 인접한 격자에 도달되면, 곧 결합하여 전체 질량이 각 응집체의 합과 같은 거대한 응집체를 형성하게 된다 (P. Meakin 등 1983, M. Kolb 등 1983). 응집체들은 다른 응집체의 내부로 침투해 들어가기 보다는 중심에서 멀어지

는 방향으로 계속 붙게되므로 내부에 빈 공간이 많은 응집체를 형성하게 된다는 모델로서 응집체의 유체역학적 반경은 $R \sim t^b$ 인 시간의 함수로 성장한다 (그림 4-a 참조). 여기서 b 는 $1/D_f$ 이고 t 는 시간이다. 3차원계의 프랙탈 차원 D_f 는 1.75로 보고된다.

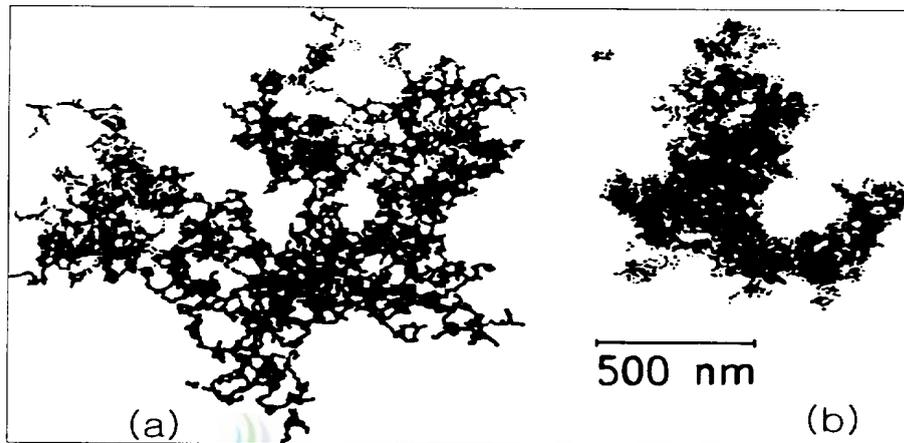


Fig. 4. The TEM image of clusters aggregated by (a) diffusion-limited kinetics and (b) reaction-limited kinetics (D. A. Weit 등 1984).

2-2) Reaction-limited cluster-cluster aggregation (RLCA)모델

입자들이나 응집체들이 서로 충돌할 때 붙을 수 있는 확률을 아주 작게 하여 응고반응 속도를 조절하여 응집체를 형성하는 모델이다 (W. D. Brown 등 1985, R. C. Ball 등 1987). 입자 또는 응집체들이 달라붙을 확률이 매우 작으므로 충돌 즉시 달라붙는 것이 아니라 응집체 내부로 침투해 들어가거나, 응집체들이 재구성하게 되는 기회가 생기게 될 수 있다. 따라서 DLCA모델의 프랙탈 구조보다 좀 더 속이찬 구조를 갖게 된다. 입자와 응집체들이 달라붙을 수 있는 확률이 매우 작아 응집체의 형성이 응집 반응속도에 의해 지배되고, 응집이 천천히 일어나므로 내부밀도가 큰

응집체를 형성하게 된다 (그림 4-b 참조). W. D Brown 등 (1985)과 R. C. Ball 등 (1987)은 이에 대하여 두 응집체가 붙을 확률이 충분히 작다고 가정하여 균일한 크기 (mono-dispersed)의 응집체와 다양한 크기 (poly-dispersed)의 응집체의 두 경우에 대해 컴퓨터 모의실험을 수행하였다 (W. D. Brown 등 1987). 그들의 결과에 의하면, 균일한 크기의 응집체와 다양한 크기의 응집체에 대하여 각각 $D_f=1.98, 2.11$ 이었다. 이러한 값으로부터 균일한 크기에 대한 응집체에 대해 서로 내부로 침투해 들어갈 가능성이 다양한 크기의 응집체 보다 더 적다는 것을 알 수 있다. 그러나 D. A. Weitz (1985), small-angle 실험을 한, P. Codastefano 등 (1987)이 실험을 통해 얻은 프랙탈 차원 D_f 는 2.1~2.2였다 (Weitz 등 1985, Bolle 등 1987). 이때 응집체의 유체역학적 반경은 $R \sim e^{\alpha t}$ 인 지수함수적으로 성장하고 여기서 α 는 실험조건에 의존하는 상수이며, t 는 응집반응시간이다.

3. 광 산란 이론

빛의 산란현상은 물질과 전자기파의 상호작용이다. 진동수 ν 를 가진 빛을 물질에 입사하면 그 빛은 물질을 통과한 후 진동수가 ν 나 ν' 이 된다. 주파수가 변동하면 에너지 변화가 생기게 되므로 에너지 변환에 따라 광 산란을 구별할 수 있다.

가시광선을 이용한 광 산란 현상으로는 주파수 변동에 따라 $10 \sim 10^5$ Hz정도인 경우는 Rayleigh 산란, $10^9 \sim 10^{11}$ Hz인 경우는 Brillouin 산란, 10^{14} Hz이상인 경우는 Raman 산란으로 구별한다. Rayleigh 산란에서 산란광의 주파수 폭을 무시하고 입사광과 같은 주파수로 놓고 산란현상을 다루는 것은 탄성 광 산란 (elastic light scattering) 또는 정적 광 산란 (static light scattering)이라 하고, 산란광의 주파수 분포에 중점을 두어서 산란현상을 다루면 준 탄성 광 산란 (quasi-elastic light scattering) 또는 동적 광 산란 (dynamic light scattering) 이라고 한다.

이러한 원리에 따라 실험을 수행할 광 산란 실험의 개략도는 그림 5와 같다.

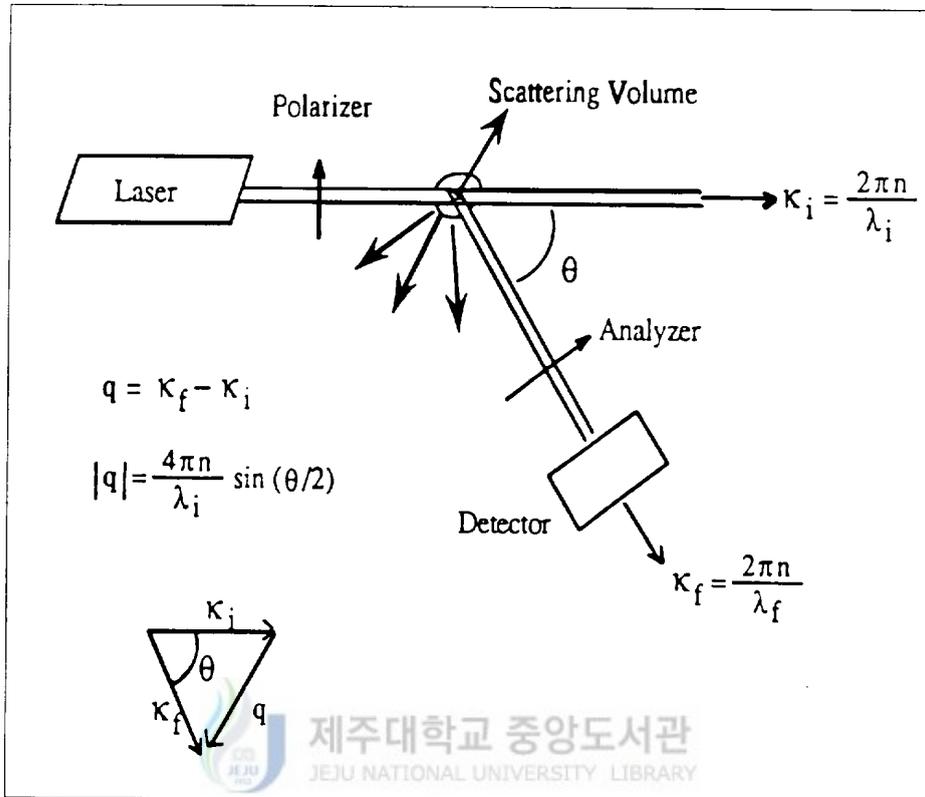


Fig. 5. A schematic representation of the light scattering experiment.

그림 5에서 전파벡터 (propagation vector) \mathbf{k} 는 빛의 진행방향을 나타내는데, $\mathbf{k} = 2\pi n/\lambda$ 로 정의된다. 여기서 n 은 매체의 굴절율이고, λ 는 광원의 파장을 나타내며, \mathbf{k}_i 와 \mathbf{k}_f 는 입사광의 진행방향과 산란광의 진행방향을 나타낸다. 이때 검지기 (detector)의 위치는 산란각 (θ)을 결정하게 되고 입사광과 검지기에 의해서 교차되는 영역은 산란부피 (scattering volume)를 결정하게 된다. 산란벡터는 $\mathbf{q} = \mathbf{k}_f - \mathbf{k}_i$ 로 정의되고, 산란벡터의 크기는

$$|q| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.2)$$

으로 주어진다.

3-1) 정적 광 산란

입사광의 파장보다 작은 입자의 산란인 경우 동일한 입자내의 서로 다른 입자소에서 산란된 빛들은 모두 동일한 위상 (phase)을 가지고 입사하므로 더해진다. 그러나 입자의 크기가 입사하는 빛의 파장보다 크거나 비슷한 경우($\geq \lambda/20$, λ 는 입사광의 파장), 큰 입자들의 각 입자소에서 산란된 빛들 사이에는 그림 6처럼 경로차가 생기 보강 또는 상쇄 간섭이 일어난다 (C. Tanford, 1961).

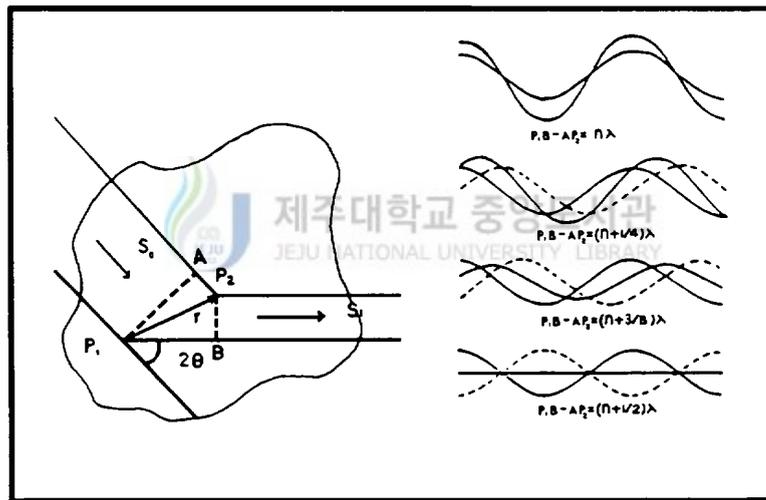


Fig. 6. Scattered light by two particles at P_1 and P_2 in the same cluster.

하여 풀면 산란광의 세기 $I(\mathbf{q})$ 는

$$I(\mathbf{q}) \propto \int \exp(i \mathbf{q} \cdot \mathbf{r}) r^{2-(d-D)} d\mathbf{r} \propto q^{-(3-(d-D))} = q^{-D} \quad (2.9)$$

를 얻을 수 있다. 이것은 $1/R \ll q \ll 1/r_0$ 인 영역에서 만족하는데, R 은 응고체의 평균반경이고, r_0 는 기본 입자의 반경이다 (T. Vicsek 1992). 따라서 광 산란 실험을 통해 산란각에 대한 빛의 세기 (I)를 산란벡터 (\mathbf{q})의 함수로 측정하면, 식 (2.9)에 의하여 $\ln(I) - \ln(q)$ plot하면 기울기에서 직접적으로 프랙탈 차원 D_f 를 구할 수 있다.

3.2) 동적 광 산란

동적 광 산란 실험에서는 상관 함수기 (correlator)를 이용하여 일정한 산란각에서 산란되는 빛의 상관함수 $C(\tau)$ 를 측정한다. 자체 상관함수 $C(\tau)$ 는

$$C(\tau) = 1 + A |g(\tau)|^2 \quad (2.10)$$

으로 주어진다 (B. J. Berne 등 1976). 여기서 $g(\tau)$ 는 산란 장의 자체 상관 함수이고 A 는 측정기기에 의존하는 상수이며, τ 는 감쇄시간을 나타낸다. 균일한 크기의 콜로이드 입자계에 대해서 $g(\tau)$ 는

$$g(\tau) = \exp(-D q^2 \tau) \quad (2.11)$$

로 주어지지만, 다양한 크기의 콜로이드 입자계에서는 규격화된 상관함수는 cumulants방법에 의하여

$$\ln(C(\tau) - 1) = \ln A - 2 \left(K_1 \tau - \frac{K_2}{2!} \tau^2 + \frac{K_3}{3!} \tau^3 + \dots \right) \quad (2.12)$$

로 주어진다 (B. J. Berne 등 1976, D. E. Koppel 등 1972). 여기서 K_1, K_2, K_3 등은 $C(\tau)$ 의 cumulant들인데 1차 cumulant $K_1 = q^2 D$ 이며, q 는 산란 벡터이고, D 는 병진 확산계수로 Einstein-Stokes 관계식에 의해 $D = k_B T / 6\pi\eta R$ 로 주어진다. 이때 η 는 용매의 점성계수, k_B 는 볼츠만 상수, T 는 절대온도, R 은 유체역학적 반경이다. 이 식에 의해 반경 R 를 구할 수 있다.

III. 실험장치 및 실험방법

1. 실험장치

본 연구의 실험을 수행하기 위한 실험장치에 대한 개략도는 그림 7과 같다.

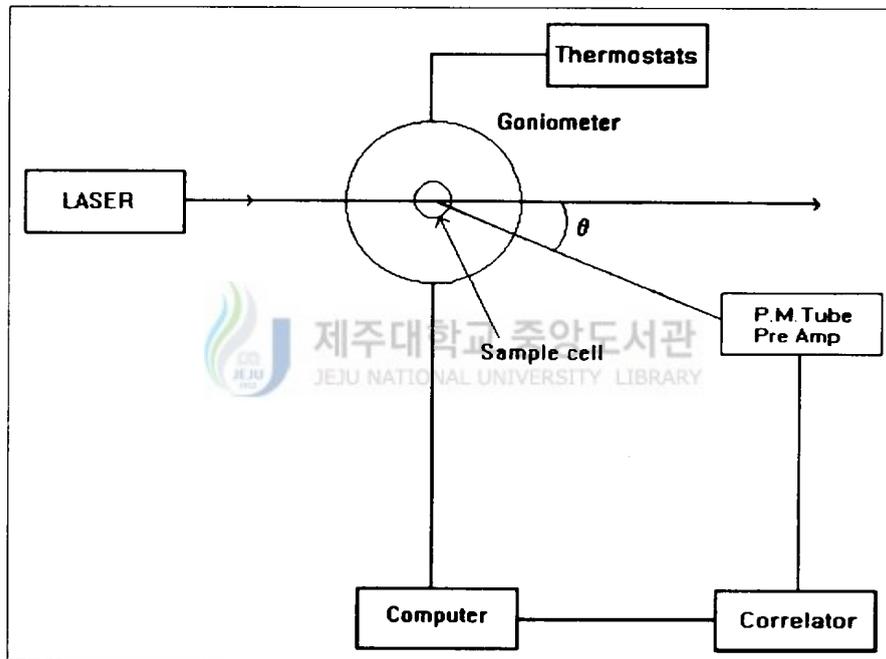


Fig. 7. The block diagram of experimental system.

광원은 파장 $\lambda = 6328 \text{ \AA}$ 인 He-Ne 레이저를 사용하였으며, BIC (Brookhaven Instruments Cooperation)사의 BI-200SM goniometer와 BI 9000AT 자체상관함수기 (autocorrelator)로 구성된 상관함수 분광계 (correlation spectroscopy apparatus)를 이용하였다. Goniometer 중앙에는 원형 용기가 있고 이 원형 용기안에는 여과된 데칼린 (decalin)을 넣었다. 그리고 원형 용기에 연결된 온도 조절장치 (thermostats)를 이용하여 glycol을 순환시켜 일정한 온도를 유지하였다. 이때 원형용기의 온도는 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 이며, 실험실의 온도는 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. 정적 광 산란 실험의 경우는 goniometer를 15° 에서 90° 까지 5° 간격으로 회전시키면서 산란된 빛을 핀홀 (1mm)을 통과시켜, 광 증폭관 (photomultiplier tube)에 집적시키고, 컴퓨터로 처리하였다. 한편, 동적 광 산란 실험에서는 goniometer를 90° 에 고정시키고 산란된 빛을 광 증폭관을 통과하여 자체 상관 함수기에 집적시켜, 컴퓨터에 내장된 여러 가지 프로그램 (CONTIN)을 이용하여 응집체의 크기를 측정하였다.

2. 시료제작

본 연구에서 사용한 시료로 단백질은 소의 혈청을 이용한 알부민 (bovine serum albumin, Sigma chemical company)으로 구형 단백질이다. 단백질의 농도가 2, 4, 6, 8, 10g/dl인 시료를 사용하였고, 시료의 pH를 조절하기 위해 NaOH와 HCl를 이용하여, pH가 3, 5, 7, 9, 11인 시료를 만들었다. 응집체를 형성시키는 방법으로는 침전제 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 사용하여 단백질 시료에 첨가된 농도 (7.5, 15, 20, 25, 30wt%)의 침전제가 고루 섞이도록 하기 위하여 10분동안 stirring을 하였다. 또한, 단백질 분자가 온도변화에 의한 변성과정에서 형성되는 응집체를 보기위해 시료의 온도를 25, 30, 40, 50, 55, 60, 65°C 로 변화시켰다. 그리고 모든 시료에서 pore size가 $0.45\mu\text{m}$ 인 필터를 이용하여 먼지를 제거하였다.

이들 입자소간의 간섭은 입자소들의 분포와 시간에 따른 위치변화에 따라 달라지며, 이 현상으로부터 입자형태 및 이들의 형태 변화, 입자의 회전등에 관한 정보를 얻을 수 있다 (B. J. Berne 등 1978).

n개의 입자소를 가지며 산란 체적내에는 N 개의 분자들이 존재하는 용액이 있다고 하자. 이 용액에서 산란된 빛의 전기장은 각 산란 체적내의 각 입자소에서 산란된 빛들의 중첩으로 볼수 있으며

$$E_s(t) = \sum_j \alpha_j^i \exp i \mathbf{q} \cdot \mathbf{r}_j^i(t) \quad (2.3)$$

로 표시된다 (B. J. Berne 등 1978). 여기서 \mathbf{r}_j^i 를 i번째 분자내의 j번째 입자소의 위치벡터이고 α_j^i 는 i번째 분자내의 j번째 입자소의 분극률 (polarizability)를 나타낸다. 산란광의 전기장과 분극률과의 비례관계는 이 함수의 Fourier변환량과 분자내 입자소 위치에서의 밀도사이에서도 성립하므로

$$E_s(\mathbf{q}, t) \propto \rho^i(\mathbf{q}, t) \quad (2.4)$$

로 표현된다 (B. J. Berne 등 1978). 이때 $\rho^i(\mathbf{q}, t)$ 는 $\rho^i(\mathbf{r}, t)$ 의 공간에 대한 Fourier변환량이며

$$\rho^i(\mathbf{q}, t) = \int_V d^3r \exp(i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}) \rho^i(\mathbf{r}^i, t) \quad (2.5)$$

으로 표현된다. 실제로 계기를 통해 측정가능한 양은 산란된 빛의 세기이며, 이것은 전기장의 세기의 시간 상관함수에 비례한다 (B. J. Berne 등 1978).

$$I^p(\mathbf{q}, 0) = |E_s|^2 \propto |\rho(\mathbf{q}, 0)|^2 \quad (2.6)$$

$$= V \int \exp(i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}) \langle \rho(\mathbf{r}^i) \rho(\mathbf{r}^m) \rangle d^3r \quad (2.7)$$

이때 $\mathbf{r} = \mathbf{r}^i - \mathbf{r}^m$ 이고 희석된 용액내에서는 다른 분자사이에서는 상관관계가 성립하지 않으므로 산란광의 세기는

$$I_p = \langle \int_S d^3r \int_V d^3r^i \exp(i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}) \langle \rho(\mathbf{r}^i) \rho(\mathbf{r} + \mathbf{r}^i) \rangle \rangle \quad (2.8)$$

으로 표현된다.

한편, 프랙탈 구조물의 밀도-밀도 상관함수로 주어지는 식 (2.1)를 식 (2.8)에 대입

IV. 실험결과

입사광의 파장보다 작은 입자의 ($\lambda < \lambda/20$, λ 는 입사광의 파장) 산란의 경우는 산란된 빛의 세기가 산란각에 무관하게 된다. 실험 장치의 정확성 여부를 확인하기 위해 decalin 용액에서 산란된 빛을 측정하였다. 그림 8과 같이 산란된 빛의 평균에 대한 오차가 $\pm 3\%$ 범위내에 있어 실험장치가 잘 설치되었다고 할 수 있다.

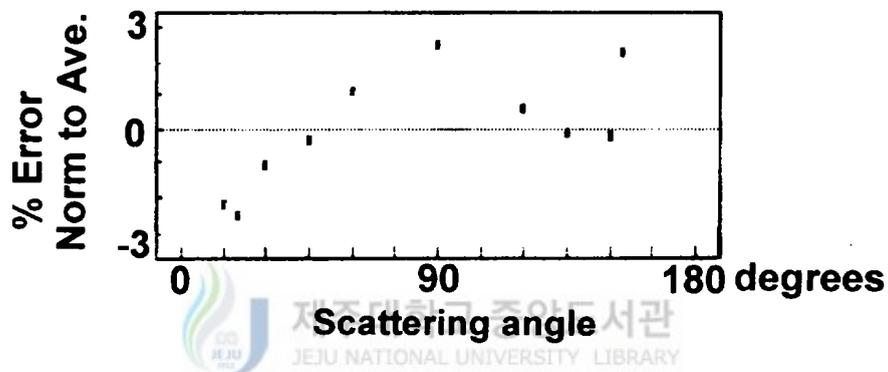


Fig. 8. The calibration results of experimental system.

동적 광 산란 실험에서 응집체의 크기를 계산하기 위해 자체 상관기와 컴퓨터 프로그램에서 얻어지는 (2.12)식의 1차 cumulant K_1 과 $D = k_B T / 6\pi\eta R$ 를 이용하면, 응집체의 반경 R 을 얻을 수 있다. 그림 9는 단백질 시료 2g/dl인 경우, 광산란 실험 결과 자체 상관 함수기에서 얻어진 상관함수를 나타낸 것이며, CONTIN 프로그램에 의해 얻어진 확산계수 (D)는 $1.082 \times 10^{-7} \text{cm}^2/\text{sec}$ 이며, 이로부터 계산된 단백질 분자의 평균 직경은 7.31nm이다. 같은 방법에 의해 다른 농도의 시료에 얻어진 단백질 분자의 유효직경은 표 1과 같으며, 평균직경이 $7.11 \pm 0.03 \text{nm}$ 임을 알 수 있었다.

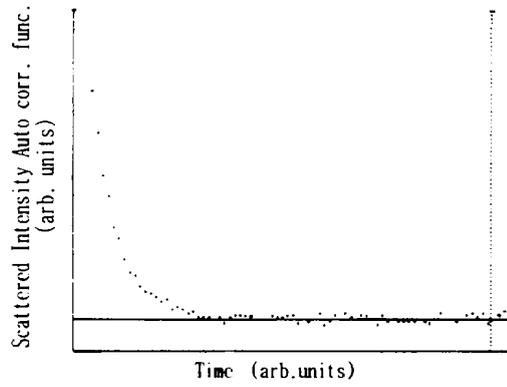


Fig. 9. The time - averaged autocorrelation function of the scattered intensity as a time.



Table 1. The effective diameter of bovin serum albumin concentration.

| con. (g/dℓ) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | average diam. |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------------------|
| effect. diam. (nm) | 7.31 | 7.01 | 7.41 | 6.81 | 7.01 | 7.11 ± 0.03 |

1. pH변화에 따른 유효직경 측정

단백질 분자 용액이 pH변화에 의한 변성을 연구하기 위해 NaOH와 HCl를 사용하여, pH 3, 5, 7, 9, 11인 시료를 만들었으며, 각 시료에서 광 산란 실험결과로 얻어진 단백질 분자의 평균 크기를 나타낸 것이 표 2이다.

Table 2. The effective diameter of bovin serum albumin for pH variety

(단위:nm)

| con. (g/dl) pH | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
|----------------------|------|------|------|------|------|
| 3 | 9.40 | - | - | - | - |
| 5 | 8.06 | 7.37 | 7.57 | 7.45 | 7.08 |
| 7 | 8.65 | 6.51 | 5.93 | 5.99 | 5.72 |
| 9 | 7.92 | 6.32 | 5.70 | 5.15 | 5.72 |
| 11 | 6.91 | 6.69 | 6.10 | 5.59 | 4.64 |

표 2에서 시료의 농도가 2g/dl 인 경우는 pH가 감소할수록 단백질 분자의 크기가 커지는 현상을 보였으나, 나머지 시료 (pH=3인 경우를 제외하고)에서는 pH에 관계없이 단백질 분자의 크기가 일정하여, 단백질 분자의 응집체가 형성되지 않음을 볼 수 있다.

시료가 강산성인 pH=3인 경우 단백질 용액은 변성에 의해 단백질 분자들이 달라붙어 프랙탈 구조를 형성함을 보였으며, 그림 10은 시간에 따른 응집체의 성장을 나타낸 것이다. 80분 동안은 응집체가 거의 성장하지 않았으나, 80분후에는 응집체의 반경은 단백질 분자들이 응고 반응시간에 따라 $R \sim t^b$ 을 만족시키며 성장함을 보여 DLCA모델에서 제시하는 $R \sim t^b$ 과 같은 형태를 보였으나, 실험에서 측정된 b 의 값은 1.56 ± 0.03 으로 DLCA의 모델에서 제시되는 값($1/D_f=0.57$)과는 일치하지 않았다.

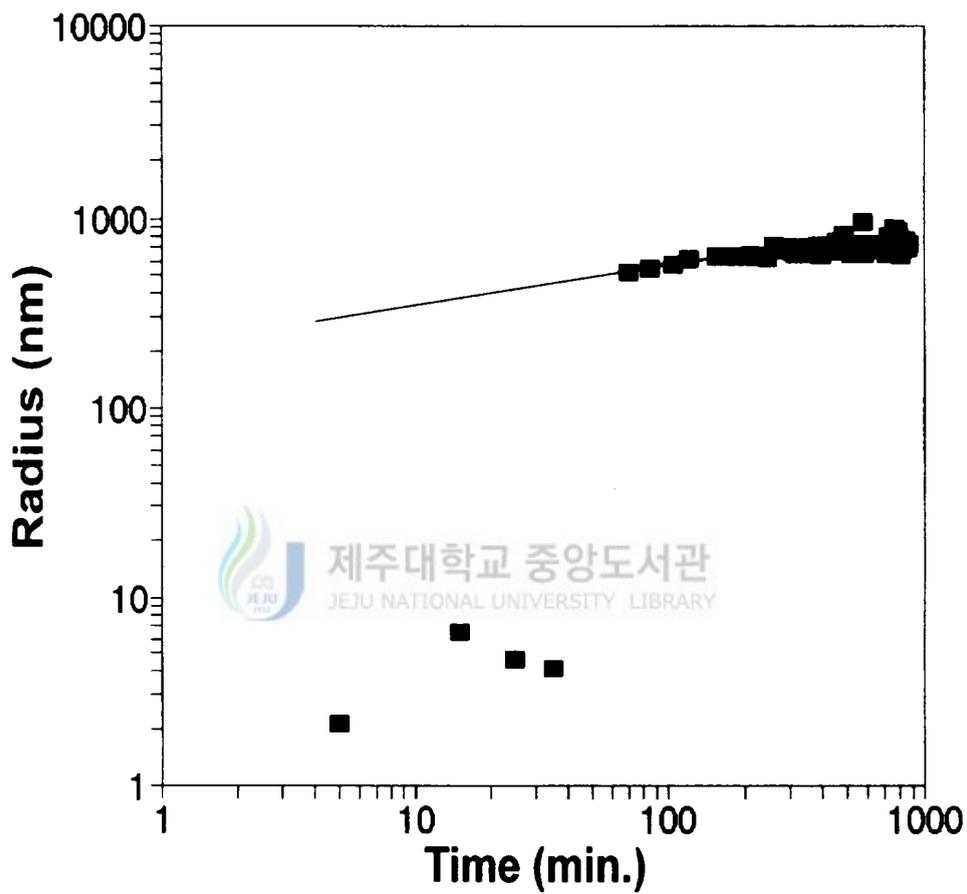


Fig. 10. The radius of cluster as a function of time (pH=3). The solid line represents the fit of $R \sim t^b$ with $b=1.56 \pm 0.03$.

시료를 pH=3으로 고정하여 단백질의 농도 변화에 따른 프랙탈 차원을 정적 광 산란 실험을 이용하여 구하였다. 정적 광 산란 실험에 의한 산란각 변화에 따라 측정된 산란광 세기를 분석하는 방법으로 $I(q) \propto q^{-D_f}$ 를 이용한다. 여기서 프랙탈 차원 D_f 는 식 (2.9)에서 산란벡터 (q)의 ln값과 산란광 세기 (I)의 ln값 사이의 선형관계에서 이 직선의 음의 기울기로부터 구할 수 있다.

그림 11은 단백질의 농도 6g/dl인 경우 시간에 따른 $\ln(I) - \ln(q)$ 를 나타낸 것이다. 응집이 일어나기 시작한 80분 후의 프랙탈 차원은 $D_f = 1.30 \pm 0.05$ 이었으며, 185분후에는 $D_f = 1.71 \pm 0.07$, 그리고 345분후에는 $D_f = 1.79 \pm 0.04$ 의 값을 얻을 수 있었다. 단백질의 농도 6g/dl에 대한 시간대별 프랙탈 차원값을 나타낸 것이 그림 10이며, 150분후의 평균 프랙탈 차원은 $D_f = 1.78 \pm 0.08$ 이었다.

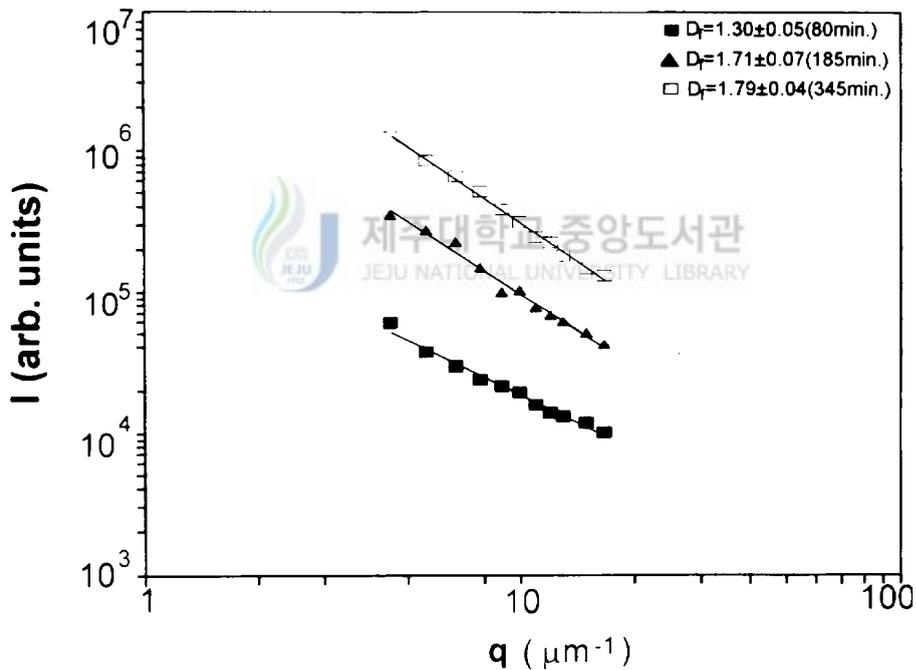


Fig. 11. The $\ln I$ vs $\ln q$ plots at protein concentration 6g/dl (pH=3).

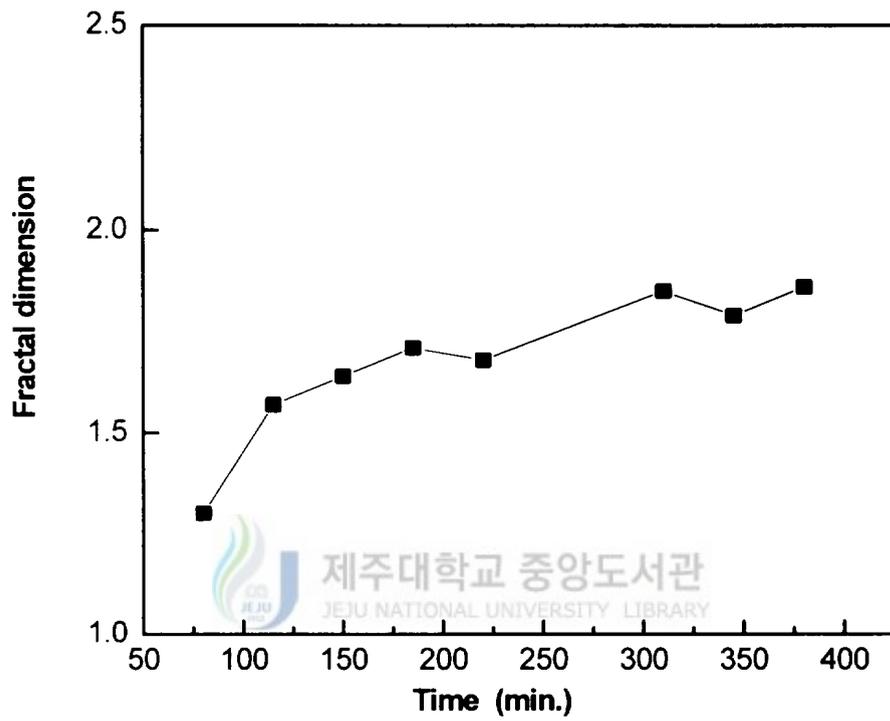


Fig. 12. The fractal dimension D_f with a time at protein concentration 6g/dl (pH=3).

그림 13은 단백질의 농도가 8g/dl인 경우 $\ln(I) - \ln(q)$ 를 나타낸 것으로 여기서 얻어진 프랙탈 차원값은 응집이 시작된 80분 후에 프랙탈 차원 $D_f = 1.38 \pm 0.05$ 이었으며, 150분후에는 $D_f = 1.69 \pm 0.07$, 그리고 465분 후에는 $D_f = 1.89 \pm 0.06$ 의 값을 나타낸 것이다. 그림 14는 같은 방법에 의해서 얻어진 8g/dl에 대한 시간대별 프랙탈 차원값을 나타내었으며, 단백질 농도가 6g/dl과 마찬가지로 150분 후의 평균 프랙탈 차원값은 $D_f = 1.77 \pm 0.08$ 의 비슷한 값을 얻을 수 있었다.

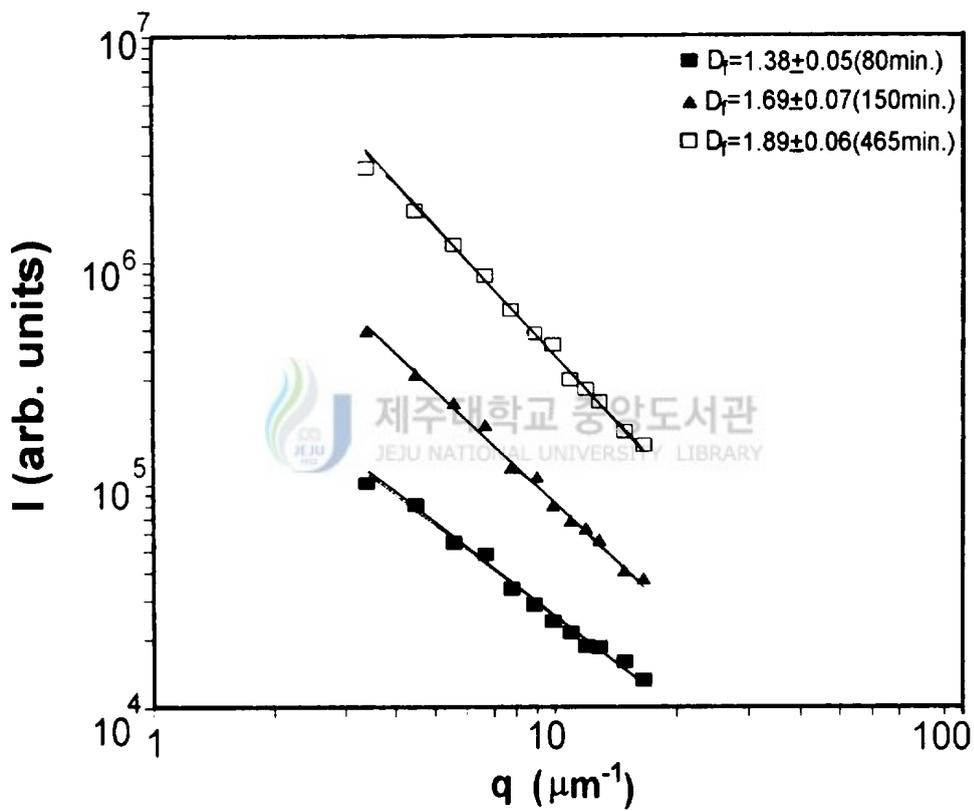


Fig. 13. The $\ln I$ vs $\ln q$ plots at protein concentration 8g/dl (pH=3).

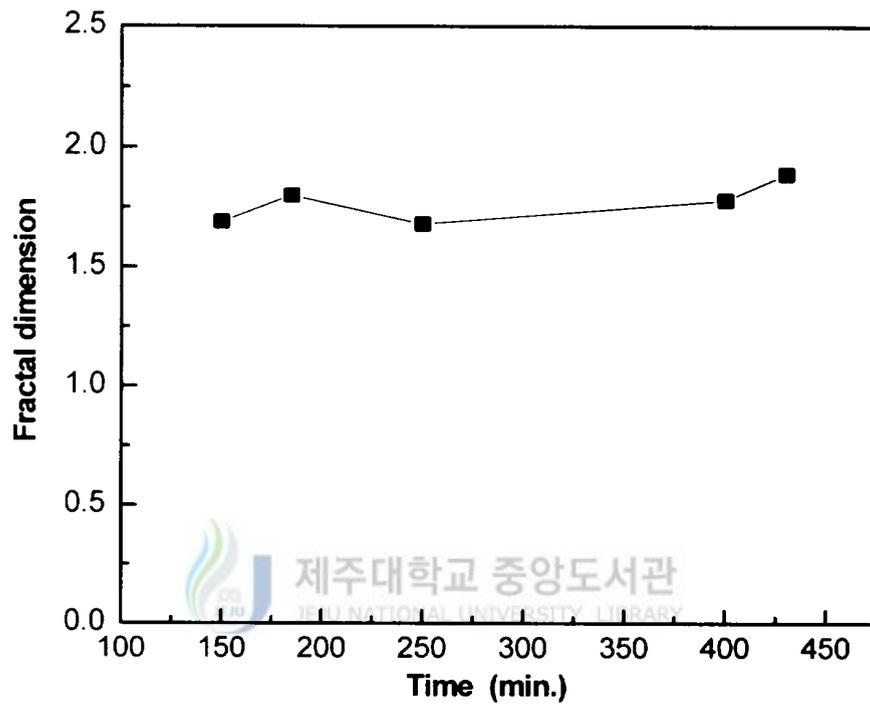


Fig. 14. The fractal dimension D_f with a time at protein concentration 8g/dl (pH=3).

그림 15는 단백질의 농도 10g/dl에 대한 $\ln(I) - \ln(q)$ 를 나타낸 것으로, 80분 후에는 1.65 ± 0.08 이었으며, 185분 후에는 1.70 ± 0.04 , 그리고 540분 후에는 1.85 ± 0.04 의 프랙탈 차원값을 얻을 수 있었다. 시간대별 프랙탈 차원을 나타낸 것이 그림 16이고, 80분후의 평균 프랙탈 차원 $D_f = 1.77 \pm 0.08$ 을 얻을 수 있었다.

시료의 pH=3이고 단백질 분자의 농도변화에 따른 프랙탈 차원을 6g/dl인 경우 $D_f = 1.78 \pm 0.08$, 8g/dl인 경우 $D_f = 1.77 \pm 0.08$, 그리고 10g/dl인 경우 $D_f = 1.77 \pm 0.08$ 로서 단백질 분자의 농도에 관계없이 오차 범위내에서 DLCA모델 이론값 (1.75)에서 제시되는 프랙탈 차원과 거의 일치함을 보였다.

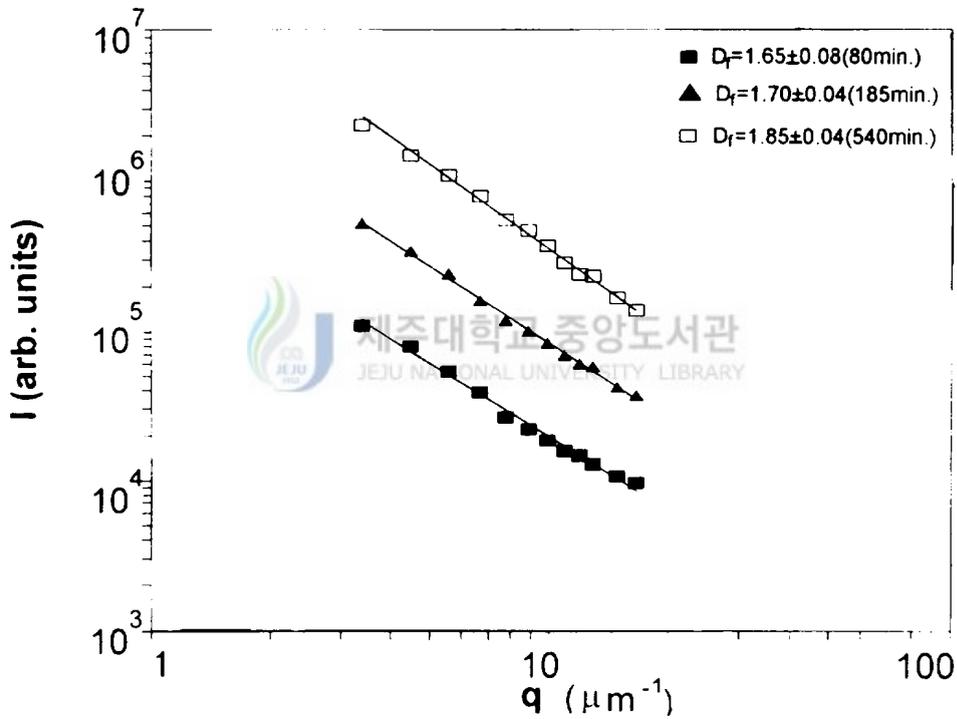


Fig. 15. The $\ln I$ vs $\ln q$ plots at protein concentration 10g/dl (pH=3).

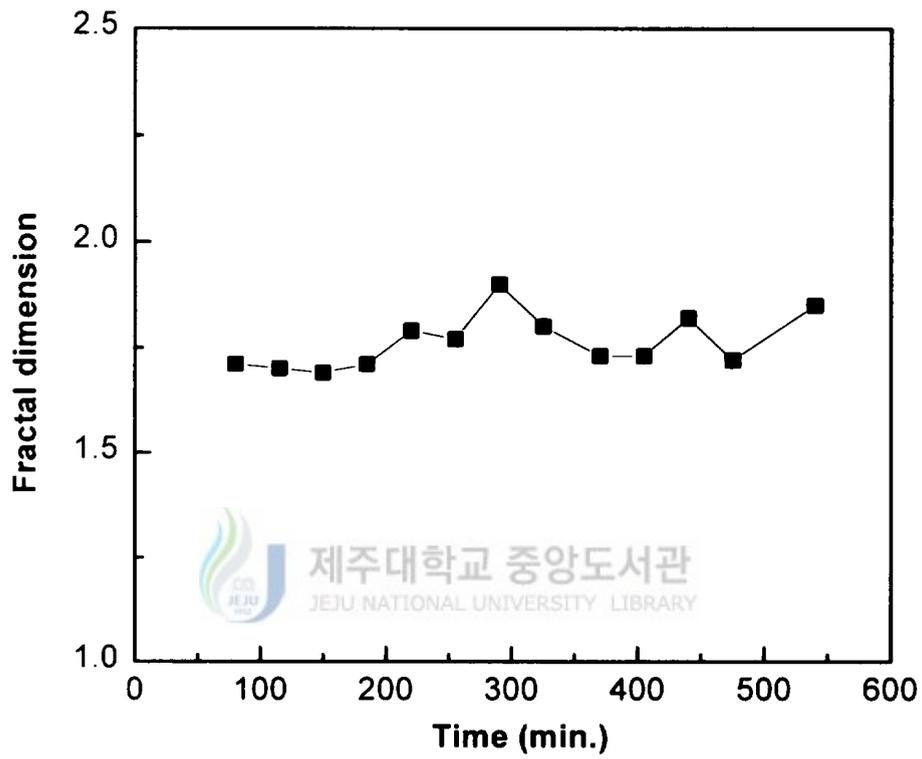


Fig. 16. The fractal dimension D_f with a time at protein concentration 10g/dl (pH=3).

2. 침전제의 농도와 단백질 농도의 변화

먼저 침전제 ($(NH_4)_2SO_4$) 농도를 7.5wt%로 고정시키고 단백질 용액의 농도를 변화시키면서 단백질 분자들이 응집체를 형성하도록 하였다. 이 경우 정적 광 산란 실험결과로 얻은 데이터를 $\ln(I) - \ln(q)$ 로 나타낸 것이 그림 17 이다. 여기서 단백질 용액의 농도가 2g/dl인 경우 프랙탈 차원은 2.08 ± 0.09 , 단백질 용액의 농도가 4g/dl인 경우는 1.89 ± 0.09 , 6g/dl인 경우는 1.76 ± 0.09 , 단백질 용액의 농도가 짙어져 10g/dl인 경우는 1.75 ± 0.08 의 값을 얻을 수 있었다. 이를 나타낸 것이 그림 18과 표 3인데, 단백질 용액의 농도가 증가할수록 프랙탈 차원이 감소함을 볼 수 있었다. 단백질 용액의 농도가 묽은 경우 (2g/dl)는 입자나 응집체들이 달라붙을 확률이 매우 작아서 응집체들간의 재구성에 의해 좀 더 속이찬 구조 즉, 보다 밀도가 높은 구조를 형성하며, RLCA에서 제시되는 프랙탈 구조 ($D_f=2.05$)를 형성한다고 볼 수 있다. 반면에 단백질 농도가 짙은 경우는 입자들이 충돌 즉시 달라붙고, 밀도가 낮은 응집체로 형성되어 DLCA모델에서 제시되는 프랙탈 구조 ($D_f=1.75$)를 형성한다고 볼 수 있다.

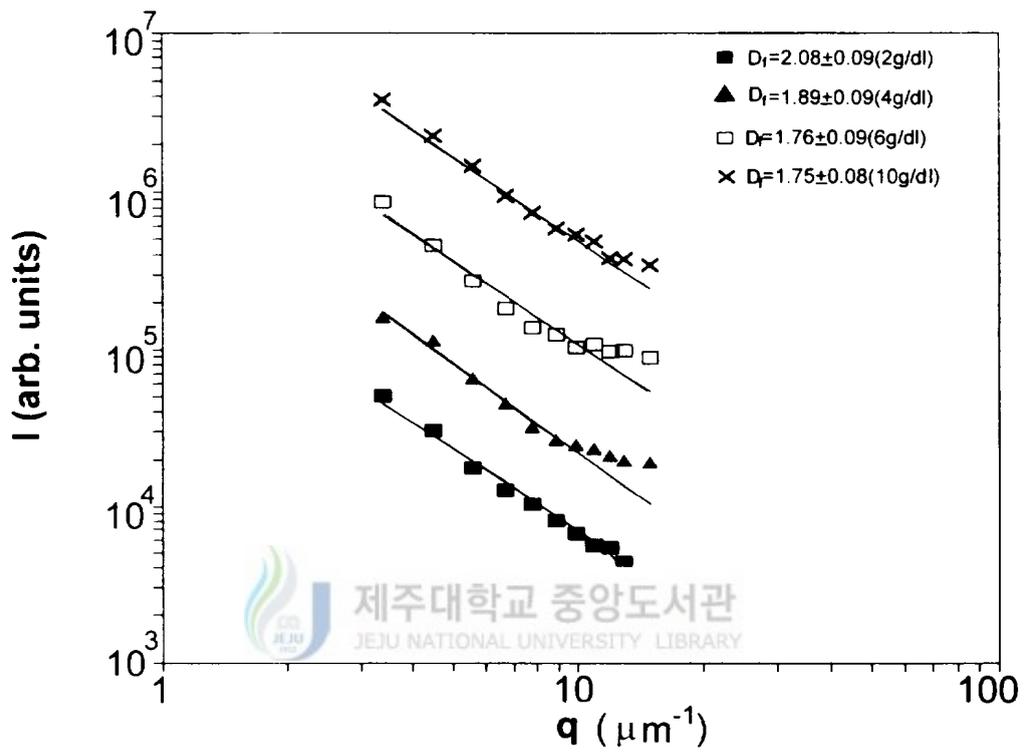


Fig. 17. The $\ln I$ vs $\ln q$ plots at for different protein concentrations at ammonium sulfate 7.5wt%.

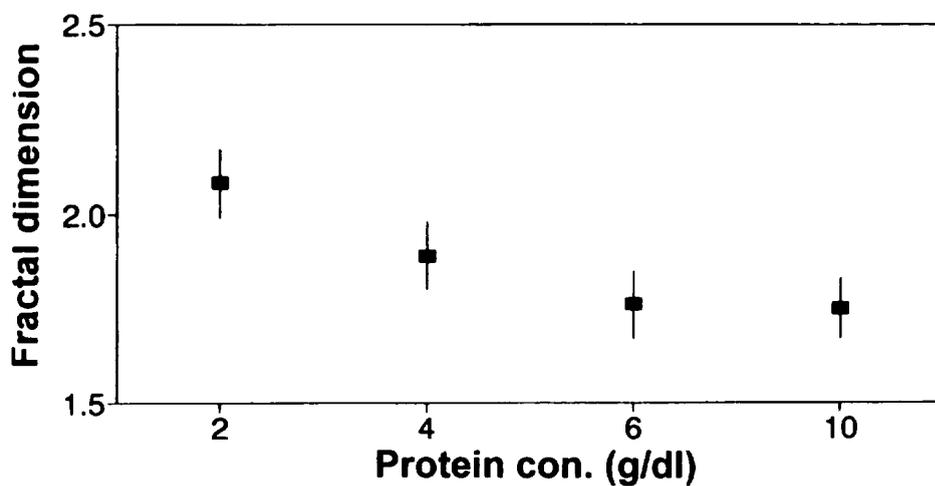


Fig. 18. The fractal dimension D_f for different protein concentrations.

Table 3. The fractal dimension for different protein concentrations and ammonium sulfate concentrations.

| protein con. (g/dl) | ammonium sulfate con. (wt%) | fractal dimension (D_f) |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 2 | 7.5 | 2.08 ± 0.09 |
| 4 | 7.5 | 1.89 ± 0.09 |
| 6 | 7.5 | 1.76 ± 0.09 |
| 10 | 7.5 | 1.75 ± 0.08 |
| 6 | 7.5 | 1.76 ± 0.09 |
| 6 | 15 | 1.83 ± 0.08 |
| 6 | 20 | 2.05 ± 0.09 |
| 6 | 25 | 2.07 ± 0.08 |
| 6 | 30 | 2.05 ± 0.09 |

한편, 단백질 용액의 농도를 6g/dl로 고정하고 침전제의 농도를 7.5wt%, 15wt%, 20wt%, 25wt%, 30wt%로 변화한 시료들에서 얻어진 광 산란 실험 데이터를 나타낸 것이 그림 19이며, 그림의 기울기에서 얻어진 프랙탈 차원 (D_f) 값은 침전제의 농도가 7.5wt%인 경우 1.76 ± 0.09 , 15wt%인 경우는 1.83 ± 0.08 , 20wt%인 경우는 2.05 ± 0.09 , 25wt%인 경우는 2.07 ± 0.08 , 그리고 30wt%인 경우는 2.05 ± 0.09 이었다. 침전제의 농도가 짙을수록 프랙탈 차원 값이 커짐을 볼 수 있다 (그림 19, 표 3). 이 현상은 응고 반응시간과 확산 시간과의 프랙탈 구조에 영향을 미치는 것으로 해석할 수 있으나 좀 더 연구를 해봐야 될 과제라고 생각된다.

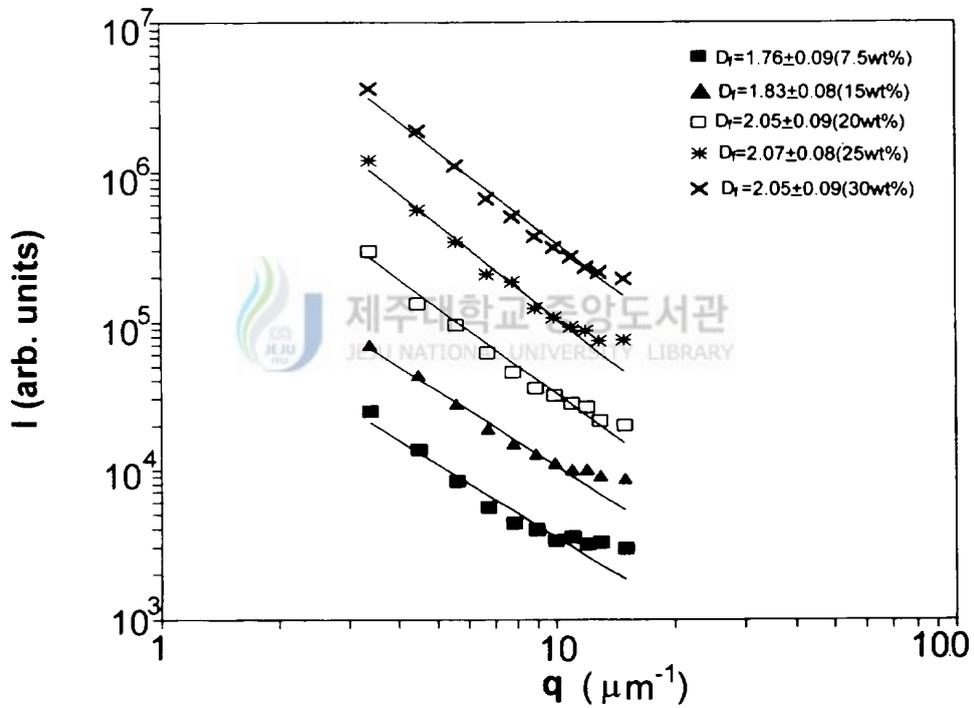


Fig. 19. The $\ln I$ vs $\ln q$ plots for different ammonium sulfates concentration at protein concentration 6g/dl.

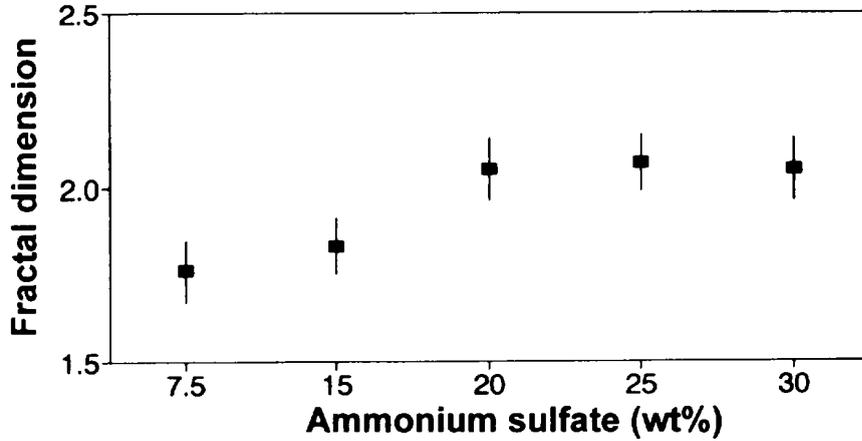


Fig. 20. The fractal dimension D_f for different ammonium sulfates.

3. 온도에 따른 변화



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

단백질은 여러 가지 원인으로 단백질의 상태 또는 성질이 변화하여 그 생물적 활성을 잃거나 또는 저하된다. 변성의 주된 원인은 열에 의한 것으로 볼 수 있는데, 단백질이 변성하면 결정성의 붕괴 및 분자량, 분자형태가 변화한다. 본 실험에서 온도에 따른 단백질의 변성을 확인하기 위하여 시료의 온도가 낮은 경우 ($\leq 60^\circ\text{C}$) 와 온도가 65°C 인 경우에 광 산란 실험을 하였다. 실험결과 열 변성에 의한 단백질 분자가 응고되면서 형성되는 응집체의 반경을 응고시간의 함수로 측정하였다. 온도가 낮은 경우는 응집체의 성장 현상은 관측할 수가 없었으나, 시료의 온도를 65°C 로 하였을 경우는 그림 21과 같이 단백질 분자가 변성되는 과정에서 응집되어 프랙탈 구조를 형성하며, 응집체의 성장이 $R \sim e^{\alpha t}$ 의 형태를 보였다. 여기서 상수 $\alpha = 0.0042 \pm 0.0001$ 이다.

그림 22는 정적 광 산란실험으로 측정된 산란된 빛의 세기를 $\ln(I) - \ln(q)$ 로 나타낸 것이다. 그림에서 구한 프랙탈 차원은 80분후에 1.90 ± 0.03 이고, 230분 후에는 2.05 ± 0.06 , 450분 후에는 2.08 ± 0.09 의 값을 얻을 수 있었다. 또한, 같은 방법에 의해 구해진 프랙탈 차원을 시간대별로 나타낸 것이 그림 23이며, 평균 프랙탈 차원은 2.05 ± 0.06 으로 RLCA의 단백질 분자의 변성 과정에서 형성되는 프랙탈 구조는 매우 천천히 진행되며, 밀도가 높은 프랙탈 구조를 형성되는 것을 확인할 수 있었다.

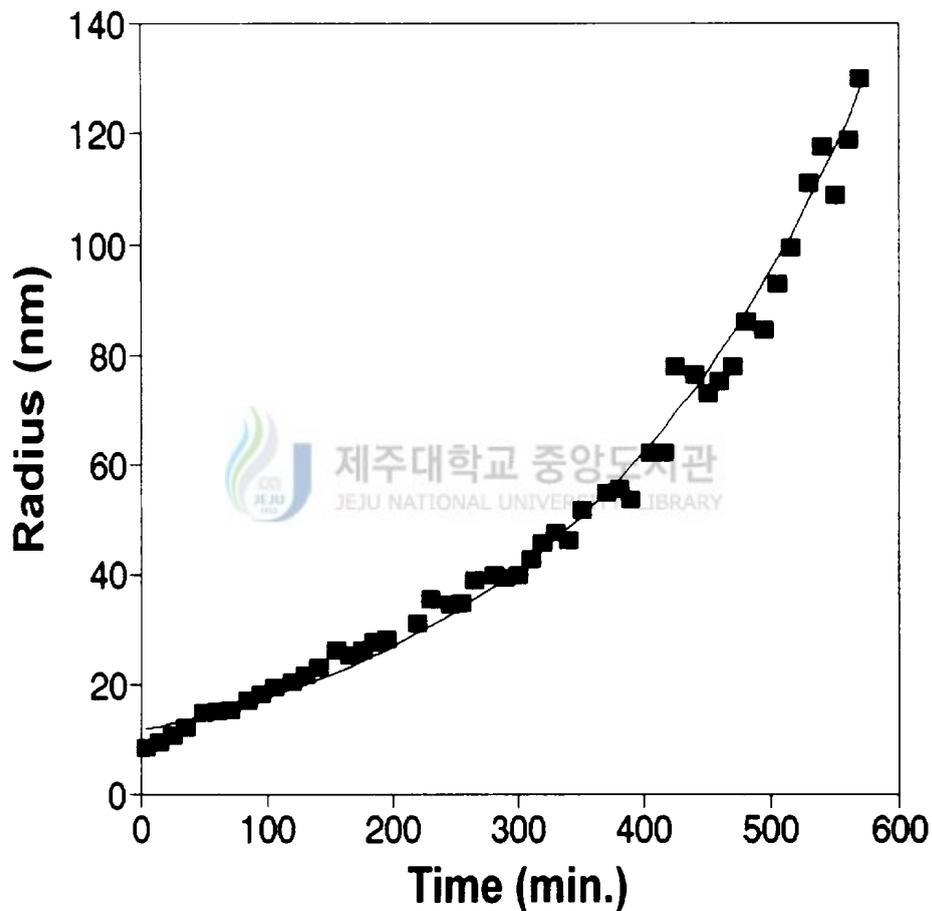


Fig. 21. The radius of cluster as a function of time at $T=65^{\circ}\text{C}$. The solid line represents the fit of $R \sim e^{at}$ with $a = 0.0042 \pm 0.0001$.

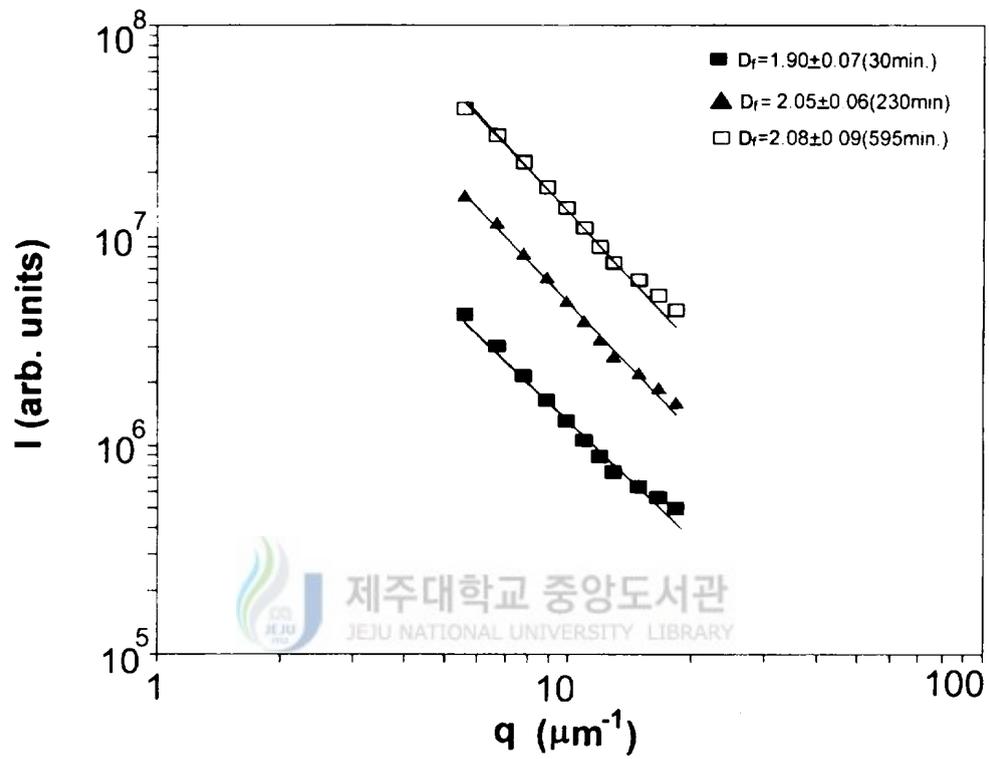


Fig. 22. The $\ln I$ vs $\ln q$ plot for aggregation times at $T=65^\circ\text{C}$.

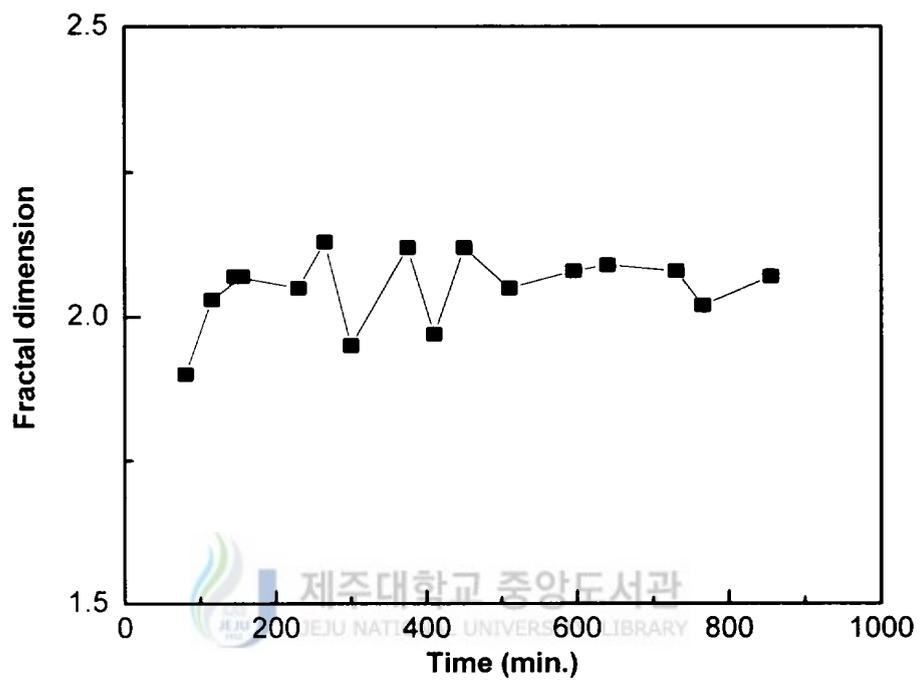


Fig. 23. The fractal dimensions D_f for aggregation times.

V. 결 론

광 산란 실험 방법을 이용하여 단백질의 pH, 침전제, 열 등에 의해 변성되는 과정에서 형성되는 프랙탈 구조와 프랙탈 차원에 대해 연구하였다.

첫째, 시료 알부민에 NaOH와 HCl를 사용하여 pH를 조절하였다. pH=3인 경우, 단백질 용액은 변성에 의해 단백질 분자들이 달라붙어 프랙탈 구조를 형성함을 보였으며, 응집체의 성장은 응고 반응시간에 따라 DLCA모델에서 제시하는 $R \sim t^b$ 과 같은 형태를 보였으나, 실험에서 측정된 b 의 값은 1.56 ± 0.03 으로 DLCA모델에서 제시되는 값 ($b=0.57$)과는 일치하지 않았다. 그리고 pH=3이면서, 단백질의 농도가 6g/dl, 8g/dl, 10g/dl인 시료에서 프랙탈 차원은 각각 1.78 ± 0.08 , 1.77 ± 0.08 , 1.77 ± 0.08 이었고, 이것은 DLCA모델의 이론값 (1.75)에 제시되는 프랙탈 차원과 오차 범위내에서 일치하였다.

둘째, ammonium sulfate를 침전제로 사용하여 침전제 농도를 7.5wt%로 고정시키고, 단백질 용액의 응집체를 형성하도록 하였다. 단백질 용액의 농도가 2g/dl, 4g/dl, 6g/dl, 10g/dl인 경우의 프랙탈 차원은 각각 2.08 ± 0.09 , 1.89 ± 0.09 , 1.76 ± 0.09 , 1.75 ± 0.08 의 값을 얻어, 단백질 용액의 농도가 증가할수록 프랙탈 차원이 감소하였다. 단백질 농도가 묽은 경우는 RLCA모델에서 제시하는 값 (2.05)과 일치하였으나, 농도가 짙은 경우는 DLCA모델에서 제시하는 값 (1.75)과 일치함을 볼 수 있다. 한편, 단백질 용액의 농도를 고정하고, 침전제의 농도를 7.5wt%, 15wt%, 20wt%, 25wt%, 30wt%로 변화한 시료들에서 프랙탈 차원은 각각 1.76 ± 0.09 , 1.88 ± 0.09 , 2.05 ± 0.09 , 2.07 ± 0.08 , 2.05 ± 0.09 로 침전제의 농도가 짙을수록 프랙탈 차원값이 커짐을 볼 수 있었다.

세째, 온도에 따른 변화로 시료 온도가 낮은 경우 ($\leq 60^\circ\text{C}$)는 응집체의 성장은 볼 수가 없었으나, 시료의 온도를 65°C 로 실험을 하였을 경우 단백질 분자가 변성되는 과정에서 프랙탈 구조를 형성하며, 이때 응집체의 성장은 $R \sim e^{at}$ 의 형태를 보였으며, 평균 프랙탈 차원은 2.05 ± 0.06 으로 RLCA모델에서 제시하는 값과 일치함을 볼 수 있었다.

참고 문헌

- Aubert. C., and Cametti. P. Codastefano, and P. Tartaglia, 1986, *Phys. Rev.* **A35**, 837.
- Balle. G. C., Cametti, P. Witzius and D. S. Cannel, 1987, *Phys. Rev. Lett.* **52**, 2371.
- Berne. B. J., and R. Pecore, 1976. Dynamic Light Scattering, Wiley, New York, 376 pp.
- Choi Byung Il, and Tong Kun Lim, 1987. Study on the Fractal Structures of Clustered Proteins and Its Dependence on the Concentration of Precipitants and Protein by Laser Light Scattering Experiments. *Saemulli* **27**(4), 389.
- Choi S. U., and T. K. Lim, 1988. A Study on the Fractal Structure of Aggregate Particles Formed by Monomers of Red Shap. *Saemulli*. **29**(1), 43.
- Derjaguin. B. W., and L. Landau, 1941. *Acta. Phys. Chim. Debricina*. **14**, 633.; Verwey. E. J and J. Th. G. Overqweek, 1948. Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. Elsevier, Amsterdam.
- Huglin. M. B., 1972. Light Scattering from Polymer Solution, Academic Press, London and New York, 885 pp.
- Hemker. D. J., and C. W. Frank, 1990. *Macromolecules*, **23**, 4404.
- Kim. D. C., J. Y. Ryu. T. K. Lim, J. 1996. *J. Kor. Phys. Soc.* **29**, 460.
- Kim. D. C., J. Y. Ryu. 1996. Polystyrene Aggregation Progress Using Dynamic Light Scattering. *J. Kor. Phys. Soc.* **29**(4), pp. 460 ~ 465.
- Kim. D. C., M. H. Kang, C. K. Choi, J. Y. Ryu, D. L. Kim. T. K. Lim, 1996. *J. Kor. Phys. Soc.* **31**, 271.
- Kim. Y. 1995. *J. Kor. Phys. Soc.* **27**, 345.

- Kopwl. D. E., 1972. *J. Chem. Phys.* **54**, 4814.
- 강명화, 김두철, 홍성락, 1996, 동적 광 산란 실험에 의한 콜로이드 응집의 온도 효과에 관한 연구. *J. of Basic Sciences*. Cheju Nat. Univ. **9**(1). pp. 79~86.
- 김두철, 강명화, 강창희, 현동걸, 1994. *제대논문집*. **39**, 61.
- 김두철, 강명화, 임동건, 1995. *새물리*, **35**, 644.
- Mandelbort. B. B., 1977. *Fractal : Form, Chance and Dimension*. W. H. Freeman. San Francisco.
- Martin. J. E., 1987. *Phys. Rev. A*. **36**, 3415.
- Rawn. J. D., 1989. *Biochemistry*, Cololina Biologycal Supply Company, North Calolina.
- Rim Young Hoon, and Kyun Nahm, 1992, Light Scattering and Fractals from Heterocoagulated Aggregates. *Korean Applied Physics*. **5**(5), 553 pp.
- Roh. I. H., W. K. Jang, and T. K. Lim, 1989. *Saemulli*, **29**(2), 111pp.
- Schaefer. D. W., J. E. Martin, P. Witzius, and D. S. Cannel, 1984. *Phys. Rev. Lett.*, **52**, 2371.
- Stanely. H. E., 1986. *On Growth and Form*, Martinus Nijhoff Publishers, 308 pp.
- Tanford Charles, 1961, *Physical Chemistry of Macromolecules*, University of Tokyo Press., pp. 275~315.
- Tang. P., D. E. Colflesh, and B. Chu. J., 1988. *Colloid. Interface. Sci*, **126**, 304.
- 안혜영, 임동건, 1987, *새물리* **26**, 319.
- Vicsek. T, 1992. *Fractal Growth Phenomena*, 2nd ed, World Scientific Publishing Co., Singapore, London,488 pp.
- Weit. D. A., M. Oliveria, 1984, *Phys. Rev. Lett.*, **52**, 1433.
- Weitz. D. A., J. S. Huang, M. Y. Lin, and J. Sung, 1985. *Phys. Rev. Lett.*, **54**, 1416.
- Witten. T. A. and L. M. Sander, 1981. *Phys. Rev. Lett.*, **47**, 1400.
- Wilcoxon. J. P., J. E. Martin, and D. W. Schaefer, 1989. *Phys. Rev.*, **A39**, 2675.

감사의 글

때로는 꾸지람으로, 때로는 따뜻한 웃음으로 항상 저를 조언과 격려로 가르쳐 주신 김두철 교수님께 진심으로 이 기회를 빌어 깊은 감사를 드립니다.

그리고 바쁘신 중에도 부족한 논문을 세심하게 심사해 주신 최치규 교수님과 류재연 교수님께 이 기회를 빌어 깊은 감사를 드립니다.

또한 항상 관심과 격려를 아끼지 않으시는 홍성락 교수님, 고정대 교수님, 김용주 교수님, 1년 동안 미국 Brown 대학에 객원 교수로 계신 현남규 교수님의 따뜻한 격려와 물리학과에 오신지 얼마 안 되셨지만 늘 따뜻하게 대해주시는 유영훈 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

제가 대학원 생활을 잘 할수 있도록 옆에서 많이 도와주시고, 친동생 이상으로 신경을 써주시고 실험할 때 많은 도움 주신 강명화 선생님, 논문 실험에 있어서 sample 만들 때 도움 주신 생물학과 한태완 선생님께도 깊은 감사를 드립니다.

저에게는 대학원 생활이 누구보다도 바쁘게 지난 것 같습니다. 특히 대학원 생활과 조교생활을 동시에 해나가는 것은 많은 어려움이 있었습니다. 하지만 김미정 선생님과 김현주 선생님 그리고 여러 교수님의 배려와 주위의 격려가 있지 않았으면 이런 좋은 결과과 나오지 않았으리라 생각합니다. 이에 깊은 감사를 드립니다.

그리고 항상 옆에서 격려해주시고 도와주신 물리학과 선배님, 후배님, 친구들에게도 고마움을 전합니다.

2년동안의 학위 이수과정동안 열심히 밤도 새면서 서로의 고민도 얘기하고, 연구에 몰두하기도 하면서 아름다운 추억거리를 만든 호정 선배님, 지연, 경숙.

이 모든 분들이 저의 대학원 생활을 잊을 수 없는 아름다운 추억의 한 페이지를 채웁니다.

저의 든든한 기둥이자 저의 마음의 안식처인 부모님.
힘들어 하는 저에게 칭찬과 꾸지람을 아끼시지 않고, 누구 못지않게 저를 믿어주시
는 부모님께 이 논문을 바칩니다.

항상 뒤에서 용기를 북돋아 주시는 할머니, 오빠, 새언니, 언니, 동생들 모두 나의
사랑하는 사람들입니다.

이 모든 분들께 깊은 감사를 드리며, 앞으로의 행복과 건강을 기원합니다.

1997년 12월

김 영 희

