

添加剂在毛细管电泳分离 DNA 中的作用研究进展

周 丹 王延梅*

(中国科学技术大学高分子科学与工程系, 合肥 230026)

摘要:使用无胶筛分介质的毛细管电泳(包括毛细管阵列电泳和微芯片电泳)是最重要的 DNA 分离技术之一。在低粘度的无胶筛分介质中加入某种添加剂是一种有效且简单的克服填充困难和提高 DNA 分离性能的方法。本文就各种添加剂(如多羟基化合物、粘土、金纳米粒子、乳胶粒等)对提高无胶筛分介质中 DNA 的分离性能的作用进行了综述。

关键词:毛细管电泳; DNA 分离; 无胶筛分介质; 添加剂; 作用

近年来,毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)作为一种高效、微量、高灵敏度及自动化的分离分析方法,已在医学、生物学等领域受到广泛关注,是分离带电生物大分子最有效、最广泛的技术之一^[1,2]。毛细管电泳是利用被分析离子在电场作用下移动的速率不同而达到分离目的的技术。DNA 的分离和序列分析是揭开遗传密码的关键,也是“人类基因组计划”(Human Genome Project, HGP)的核心研究内容之一^[3]。在 DNA 分离过程中,由于分离介质的性能直接影响 DNA 分子的迁移特性、分离度、读出长度、重现性、注入时间、注入压力以及毛细管寿命等,因此分离介质的研究是 DNA 分离与排序工作中最重要的组成部分之一^[4~6]。目前的分离介质主要采用无胶筛分介质,即非交联的高分子溶液。高分子溶液易于充入和洗出、操作简单、可重复使用、易于实现自动化分离。在无胶筛分介质中,高分子链相互缠绕形成稳固的缠结网络,类似凝胶中的筛孔,使 DNA 片段依据分子大小不同而得到分离。所以,目前无胶筛分介质已广泛用于毛细管电泳中,尤其是近来迅猛发展的毛细管阵列电泳(capillary array electrophoresis, CAE)和微芯片电泳(microchip-based electrophoresis, MCE)都要求使用具有高筛分能力的低粘度筛分介质以实现自动化分离^[4]。

常用的无胶筛分介质主要有线形均聚物[如线形聚丙烯酰胺(LPA)^[7]、聚 N, N-二甲基丙烯酰胺(PDMA)^[8]、聚乙烯(PEO)^[9]、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)^[10]、纤维素及其衍生物^[11]等]、共聚物(无规、接枝和嵌段共聚物)和混合物等。具有较高筛分能力和较长 DNA 读出长度的高分子溶液通常粘度也较高,因此需要使用高压系统注入或冲出毛细管,一方面增加了分析成本,另一方面导致难以实现筛分介质的自动化更换。因此,寻求具有高筛分能力的低粘度筛分介质仍是 DNA 高效分离的重要课题^[12]。测试和研制一种新的聚合物介质通常要花费大量的时间和精力,因为该过程涉及到许多有关分子结构、电场和溶液条件等方面的问题^[13]。近年来,在低粘度高分子溶液中加入各种添加剂(如多羟基化合物、粘土、金纳米粒子、乳胶粒等)经证明是非常有效和简单的方法,在添加剂存在下筛分介质可以在较低浓度下就达到高浓度(无添加剂)时的筛分能力,成为不增加粘度而提高分离能力的有效途径^[14]。下面介绍各种添加剂及其提高 DNA 分离性能的可能的作用机理。

1 多羟基化合物的作用

近年来,对一些用作新型添加剂的多羟基化合物(如丙三醇、甘露醇和葡萄糖等)进行了测试,这些添

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50373040),教育部留学回国人员科研启动基金资助项目,安徽省人才开发资金(2005Z026);

作者简介:周丹(1974-2021)女,硕士研究生,Chin. J. Chem. Lett. 2021, 52(12): 2021-2022. © 2021 Chinese Chemical Letter Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cn>

* **通讯联系人**,王延梅,女,理学博士,教授,主要从事 DNA 分离及测序的聚合物介质的合成及其聚集行为、聚合物/金属杂化材料的合成与电磁性能的研究, E-mail: wangyanm@ustc.edu.cn.

加剂可与纤维素及其衍生物一同作为分离介质用来分离双链 DNA(dsDNA)。

1.1 丙三醇

Cheng 和 Mitchelson^[15,16]发现,将丙三醇加入缠结的羟丙基甲基纤维素(HPMC-4000)的 1×TBE[即 89 mM 三羟甲基氨基甲烷(Tris), 89 mM 硼酸(Borate), 2 mM 乙二胺四乙酸(EDTA)]缓冲溶液中可以显著改善 dsDNA 分子的分离性能(从低于 100bp 到 1000bp)。他们认为这种改善是由于硼酸可以与丙三醇以及 HPMC-4000 反应生成二聚的硼酸/双二醇(1;2)络合物,其中硼酸充当中心连结点,从而形成了具有不同孔径的缠结网络。

由于纤维素及其衍生物、硼酸和丙三醇间的相互作用掩盖了 DNA 的构象效应,Liang 等^[17]以 LPA 和 PEO 作为分离介质,研究丙三醇引起的 DNA 构象变化对分离的影响,结果表明,无论是 PEO 还是 LPA,当添加 25%(v/v)的丙三醇时,都能够提高高分子量 dsDNA 的分离效率,但分离时间相应增加。所用的两种缓冲液{1×TBE 和 1×TTE[即 50 mM Tris, 50 mM N-三(羟甲基)甲基-3-氨基丙烷磺酸(TAPS), 2 mM EDTA]}都表现出类似的结果,但对 1×TBE 缓冲液的作用更加明显。该文作者认为性能的提高是由于丙三醇引起 DNA 的构象发生改变,这可由动态光散射结果得到证实。丙三醇可以增强磷酸酯基间的静电相互作用,减小聚核苷酸的水合作用范围,并与水竞争从而与碱基侧基形成氢键。硼酸与丙三醇形成的络合物对 DNA 的构象的影响比丙三醇本身的作用更强。

1.2 甘露醇

Han 等^[18]通过将甘露醇作为添加剂加入 HPMC-5 聚合物(10 kDa)溶液中(缓冲液为 TBE)来分离 DNA 片段(51~587 bp)也得到了类似的结果。该文作者认为分离性能提高的原因是 TBE 中的硼酸与甘露醇中的羟基生成了四硼酸络合物,该络合物在 HPMC-5 分子链间形成“桥”,从而在极低聚合物浓度下也能形成网络(见图 1^[19]),即降低了高分子溶液的临界缠结浓度 c^* (高分子开始缠结的浓度),因此可以调节高分子溶液的筛分特性。此外,缓冲液中的尿素使 DNA 分子保持变性状态,因而在 DNA 分析中也起着重要的作用。对于 2% 的 HPMC-5 而言,当甘露醇浓度为 6%(w/v)时,分离效果最好。该聚合物介质的粘度很低,只有 5.7 cp。

为了在微芯片上分离 dsDNA,绝大多数的早期工作中都是使用缠结的线形高分子溶液作为筛分介质。通常,这些介质的分子量很高,粘度也很大,不适合微芯片的应用。低分子量聚合物溶液的粘度较低,易于操作,但低分子量聚合物的临界缠结浓度 c^* 也较高因而分离能力低。Xu 等^[20,21]利用溶解于 TBE 或 TE(三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸,Tris-EDTA)缓冲液中的含有多羟基添加剂(如葡萄糖、丙三醇、甘露醇)的 HPMC-50(11.5 kDa)在无涂层的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)微芯片上分离 dsDNA。他们研究了主要的操作变量,如电场强度、荧光内插试剂的浓度、高分子溶液浓度和添加剂浓度的影响。通过向 2%HPMC-50/1×TBE 溶液中加入 8%甘露醇、8%葡萄糖或 10%丙三醇,在 30mm 长的 PMMA 微芯片通道内对 DNA 限制性片段进行了快速(170s)分离,分离性能优异,电场强度为 300 V/cm。芯片内壁不需要额外的涂敷。加入添加剂可以显著地提高 72~1353bp DNA 片段的分离度。含添加剂的介质的粘度较低,只有 40 cp。该溶液的性能优于高浓度 HPMC-50 溶液的性能。

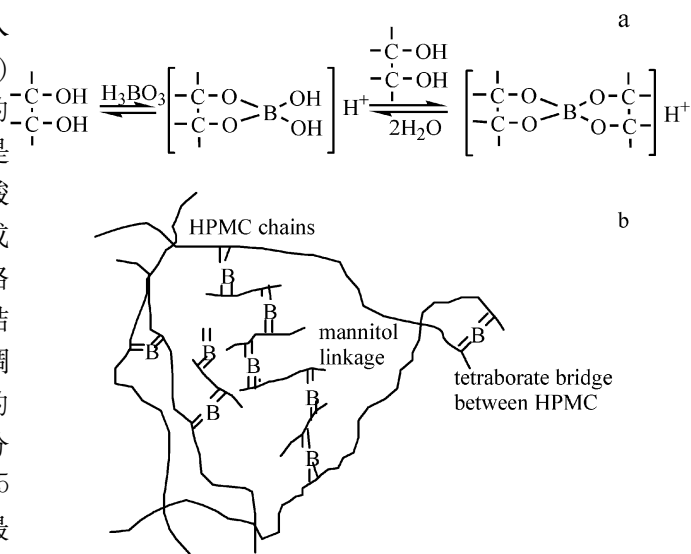


图 1 硼酸与甘露醇和 HPMC-5 中的羟基间的网络结构
(a) 硼酸与甘露醇的反应机理; (b) 形成新的筛分介质网络

Figure 1 Proposed network structures among boric acid, the hydroxyl group from mannitol and HPMC-5

(a) Proposed reaction mechanism between boric acid and mannitol;

(b) Network formed in the new sieving media

经测定 HPMC-50 的 c^* 为 3%, 所以 2% 的 HPMC-50 溶液属于稀的低粘度溶液。当溶液浓度低于 c^* 时, DNA 片段通过拖拉迁移过程中所碰到的介质分子而得到分离。被拖拉的介质分子数以及所引起的淌度的降低与 DNA 分子的长度成正比。此外, 如果缓冲体系选择 1×TE (无硼酸) 时, 也能获得显著增强的性能。这可能是由于多羟基添加剂可以与 HPMC-50 介质以及 DNA 分子形成氢键, 从而增大了稀 HPMC-50 对 DNA 的阻碍作用并增大了 DNA 与介质发生瞬态偶合的机会。该结果表明, 硼酸在多羟基-HPMC-50 溶液体系中并不是必不可少的条件。

2 蒙脱土的作用

根据 DNA 分离机理以及添加剂与聚合物之间的相互作用机理, 片状粘土将会是分离介质的一种极好的改性剂。由于将高粘度高分子溶液填充到毛细管中存在很大的困难, Liang 等^[13] 提出在低分子量 PDMA 溶液中加入少量蒙脱土来改善 DNA 分离的效果。加入粘土后, 介质溶液的粘度会有所增加。作者认为少量的粘土会改变高分子介质的结构, 即粘土和 PDMA 分子链相互作用形成新的结构。在 PDMA 链中的粘土层的功能类似一个“动态交联平盘”(如图 2^[13]), 粘土片将聚合物链连接在一起, 可以稳定网络的孔径, 从另一角度来看, 可以有效地增大 PDMA 的表观分子量, 从而提高了 PDMA 的筛分能力。在 5% w/v 的 PDMA (100 kDa) 溶液中只加入 $2.5 \sim 5.0 \times 10^{-5}$ g/ml 粘土, 就可以极大地提高 DNA 的分离效率和分离度, 而不影响分离速度。

使用粘土提高 DNA 分离性能也有一定的局限性: 一是“溶解性”, 纯粘土是疏水的, 不能溶解于水中。粘土在聚合物水溶液中的含量通常都非常低。否则粘土悬浮会变得很不稳定, 幸运的是, 即使很少量的粘土也足够调节聚合物的结构并提高分离介质的筛分能力。另一个局限是可以与粘土作用的高分子非常有限。

3 金纳米粒子(gold nanoparticles, GNPs)的作用

在 PEO 介质中加入 GNPs 是一种改善 DNA 分离性能的有效方法。Huang 等^[12] 提出用含有 GNPs 的 PEO 溶液作为分离介质来分离 dsDNA 片段, 重点研究了 GNPs 的大小对分离度和分离速率的影响。为了避免毛细管壁与 DNA 的相互作用, 用 5.0% PVP 对毛细管进行了动态涂敷。使用含有 GNPs (3.5~56 nm) 的 PEO 溶液, DNA 的分离重现性好、速度快且分离度高。结果表明, PEO 和 GNPs 的大小以及 PEO 的浓度都对分离有影响。使用含 56 nm GNPs 的 0.2% PEO (8 MDa, $c^* = 0.07\%$, 旋转半径为 227 nm) 溶液可以在 5 min 内分离 8~2176 bp 的 DNA 片段。用含 13 nm GNPs 的 0.05% PEO (2 MDa) 溶液或用含 32 nm GNPs 的 0.05% PEO (4 MDa) 溶液可以分离出 5~40 kbp 的 DNA 片段。由于粘度极低 (<15 cP), 很容易进行筛分介质的自动更换, 所以说该介质对于毛细管阵列电泳的高效 DNA 分析具有极大的应用前景。

PEO 吸附在 GNPs 上, 较长的 PEO 链会有部分伸向溶剂中。DNA 片段与吸附在 GNPs 上的 PEO 相互作用, 这与用端部标记的自由溶液 (不含筛分介质) 电泳分离 DNA 相类似。

Lin 等^[22] 也做了类似的工作, 研究重点是 GNPs 对微芯片电泳分离 dsDNA 的影响, 仍使用 PEO 溶液作为分离介质。在分离通道上按顺序涂敷上 PVP、PEO 和 13 nm 的 GNPs 作为涂层, 可以有效地改善 DNA 分离的重现性和分离度。研究发现, 在 1.5% PEO 中加入 13 nm 的 GNPs 对于获得高分离度和高重现性而言是极为重要的。制备 1.5% PEO 溶液时使用氨基乙酸-柠檬酸盐缓冲液 (pH=9.2) 可以提高 GNPs 的稳定性。利用填充了含 GNPs 的 1.5% PEO 的三层涂敷的微芯片分离了 DNA 标记物 (8~2176 bp)。在 7 min 内

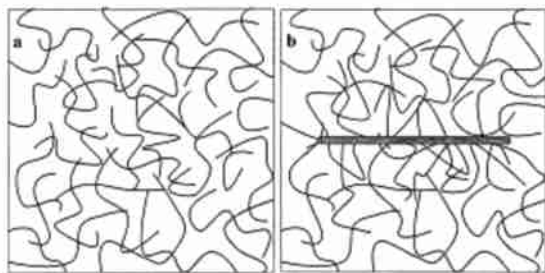


图 2 由线形短 PDMA 链形成的二维无规网络(左)和由 PDMA 和粘土片(充当交联盘)形成的二维无规网络(右)示意图

Figure 2 Schematic illustration of a two-dimensional random network formed by linear short PDMA chains (left) and by the same PDMA with clay sheet functioning as a “cross-linking plate” (right)

完成了聚合酶链式反应产物 UGT1A7 的分析,峰高和迁移时间的相对标准偏差值分别小于 2.3% 和 2.0%。

Chiou 等^[23]进一步研究了 pH 值以及 GNPs、PEO 和 EtBr(溴化乙啶)的浓度对 DNA 分离的影响。其中加入 EtBr 不仅可以改善 dsDNA 的可检测性,而且可以提高分离度。利用含有 $0.3 \times \text{GNPs}$ 和 $0.5 \mu\text{g/mL}$ EtBr 的 0.2% PEO(pH=9.0)在 7min 内完成了 DNA(21bp–23.1 kbp)的分离,实验结果的重现性非常好(所有 DNA 片段的迁移时间的相对标准偏差 RSD 都小于 0.5%)。研究表明,含 GNPs 的 PEO 用于 DNA 分离时具有以下优点:快速、分离能力高、重现性好及易于填充毛细管。

分离长链 dsDNA 时一般使用脉冲场凝胶电泳^[24],但该方法分离时间过长且难以实现自动化。虽然毛细管电泳可以快速高效地分离 DNA 分子^[7,18],但它并不适合高效地分离长链的 dsDNA(大于 1000 bp),因为电泳淌度逐渐变得与分子大小无关或者 DNA 被筛分介质所捕获^[25]。针对上述方法各自的缺点,Huang 等^[26]首次使用了纳米粒子填充的毛细管(NFCE)以分析长的 dsDNA 分子。为了避免 GNPs 的聚集并保证其与 DNA 分子间的相互作用,利用 PEO 通过非共价键结合生成 GNPs/聚合物复合物(GNPPs)的方法对 GNPs 进行改性。每个中性 GNPP 复合粒子的质量很大(对于 32 nm GNPs 约大于 2.0×10^8 Da/粒子)^[27],因而可使电泳过程中所碰到的 DNA 分子的运动速度变慢。与线形高分子溶液如 HEC 和 PEO 相比,GNPPs 分离长 dsDNA 的效率更高、时间更短。使用 NFCE 可以在 3min 内完成 λ -DNA(0.12–23.1 kbp)的分离,电场强度为 250 V/cm。对高分子的 DNA 标记物(8.27~48.5 kbp)的分离能力(理论塔板数达 10^6)表明,该方法非常有希望用于分析长链 DNA 分子(如染色体)。

NFCE 的分离机理与稀溶液瞬态缠结机理类似,在电泳分离过程中 DNA 分子与它所碰到的吸附在 GNPs 上的高分子短暂缠结,几乎为中性的 GNPPs(如图 3^[27])本身不流动,并降低 DNA 的迁移速率。与自由线形高分子相比,吸附在 GNPs 上的高分子更加刚硬并且伸展程度较小(取决于 GNPs 的大小和高分子链的长度),因而在流动时仅稍稍变形。由于 DNA 与吸附在 GNPPs 上的 EtBr 之间有强烈的插入作用,缠结的 GNPPs 与 DNA 间的相互解缠结时间会较长。更重要的是,每个 GNPP 粒子的质量比线形 PEO 分子要大得多,因此它更有能力降低缠结 DNA 片段的迁移速率。从这个意义上讲,GNPPs 的作用与端部标记自由溶液电泳中的标记基团的作用相似(即增加额外的摩擦力)。因为长的 DNA 片段更有可能与不止一个的 GNPPs 作用(取决于 DNA 的大小和构象),所以长的 DNA 片段比短的片段受到的拖拉力更大。因此,长 DNA 的淌度小于短 DNA。基于上述机理,GNPPs 的多分散性会导致 DNA 的区带展宽和分离度下降。换句话说,如果所制备的 GNPPs 的粒子质量为单分散的,则会进一步提高分离能力。

与使用含 GNPs 的 PEO 溶液(必须在低电场强度下进行)相比, NFCE 在分离大分子 DNA 方面具有优势。然而,GNPPs 的制备并不容易,还需要做大量的工作来降低粒径分布宽度和增强它们的稳定性,并且 NFCE 只适用于分离大分子 DNA^[27]。

4 PEGylated-乳胶粒的作用

PEGylated-乳胶即为表面上连有 PEG 链的聚苯乙烯乳胶。Tabuchi 等^[28]报道了利用掺杂了纳米粒子的高分子溶液作为分离介质的先进的微芯片电泳技术。使用这种介质可以提高 DNA 的分离性能。将不同量和不同大小(80、110、193nm)的 PEGylated-乳胶粒与传统高分子溶液(HPMC)混合用于微芯片电泳。与传统的 0.7% HPMC 介质相比,当混合介质中 HPMC 浓度为 0.49%(wt)、80nm 的 PEGylated-乳胶浓度为 2.25%(wt)时,对 dsDNA 分子(10 bp~2 kbp)的分离效率更高、分离淌度更大,且粘度很低(小于 5.5 cP)。分离性能与粒子的质量、粒径和浓度以及高

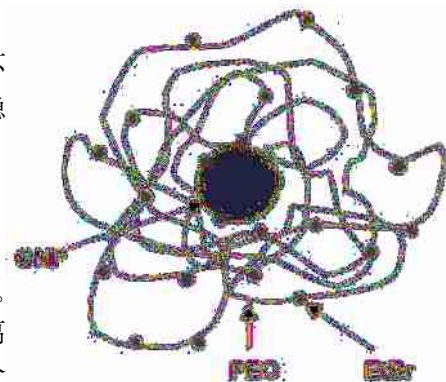


图 3 GNPPs 结构示意图
Figure 3 Proposed schematic illustration of GNPPs

分子溶液的浓度有关。使用含有乳胶纳米粒子的高分子溶液时的分离度较高、分离效率较高且分离淌度较大,这可能是由于缓冲液中较大的高分子筛分孔径(低浓度 HPMC 溶液有利于改善较大 DNA 片段的分

离性能)和粒子的结构阻碍(有利于改善小 DNA 片段的分离性能)之间的平衡所导致的。

5 结束语

快速、高效和灵敏的分离技术对于 DNA 的分析是至关重要的。使用无胶筛分介质的 CE(包括 CAE 和 MCE)是最重要的 DNA 分离技术之一。近年来迅速发展的微芯片技术要求使用具有高筛分能力的低粘度筛分介质以实现自动化分离。在低粘度的高分子溶液中加入各种添加剂(如多羟基化合物、粘土、金纳米粒子、乳胶粒等)经证明是一种非常有效且简单的方法,可以克服毛细管填充困难和提高 DNA 分离性能。

各种添加剂提高 DNA 分离性能的作用机理不完全相同:羟基化合物通过形成络合物或氢键来稳固介质网络或增强 DNA 与介质的偶合作用或使 DNA 构象发生变化;蒙脱土充当动态交联平盘从而使高分子链连接在一起并提高其表观分子量;GNPs 上吸附的 PEO 链与 DNA 相互作用类似于端部标记的自由溶液电泳,GNPs 可用瞬态缠结偶合机理来解释;而 PEGylated-乳胶粒则利用较大的高分子筛分孔径和粒子的结构阻碍之间的平衡来提高分离性能。但总的来说都是利用添加剂与介质或 DNA 之间的物理或化学作用来增强网络的强度或延长介质与 DNA 的作用时间,从而在不明显增加粘度的同时达到提高分离性能的目的。

充分利用现有的技术,可以制备并测试更多的用于 DNA 分离的添加剂,如有机高分子、金属纳米粒子和官能化的纳米粒子等。同时,还需进一步研究添加剂提高分离性能的原因,只有更加清楚地了解了作用机理,才能更好地指导实际工作并对实验结果进行解释。

参考文献:

- [1] 王前,许旭.化学进展,2003,15;275~287.
- [2] Sartori A, Barbier V, Viovy J L. Electrophoresis, 2003, 24; 421~440.
- [3] 秦向东,裴静,沈建红,等.现代仪器,2001,6; 9~12.
- [4] Albarghouthi M N. Hydrophilic poly-N-substituted acrylamide matrices for microchannel electrophoresis of DNA and proteins: matrix design, synthesis and characterization. Ph. D thesis. Northwestern University, 2002.
- [5] Chu B, Liang D. J Chromatogr A, 2002, 966; 1~13.
- [6] Ashton R, Padalay C, Kane R S. Current Opinion in Biotechnology, 2003, 14; 497~504.
- [7] Zhou H, Miller A W, Sosic Z, et al. Anal Chem, 2000, 72; 1045~1052.
- [8] Song L, Liang D, Fang D, Chu B. Electrophoresis, 2001, 22; 1987~1996.
- [9] Chang H T, Yeung S. J Chromatogr B, 1995, 669; 113~123.
- [10] Gao Q, Yeung E S. Anal Chem, 2000, 72; 2499~2506.
- [11] Gelfi C, Vigano A, Palma S D, et al. Electrophoresis, 2002, 23; 1517~1523.
- [12] Huang M F, Huang C C, Chang H T. Electrophoresis, 2003, 24; 2896~2902.
- [13] Liang D, Song L, Chen Z, Chu B. Electrophoresis, 2001, 22; 1997~2003.
- [14] 余胜兵,周平,胡继明.生物技术通讯,2004,15;523~526.
- [15] Cheng J, Mitchelson K R. Anal Chem, 1994, 66; 4210~4214.
- [16] Cheng J, Kasuga T, Mitchelson K R, et al. J Chromatogr A, 1994, 677; 169~177.
- [17] Liang D, Song L, Chen Z. J Chromatogr A, 2001, 931; 163~173.
- [18] Han F, Huynh B, Ma Y, Lin B. Anal Chem, 1999, 71; 2385~2389.
- [19] Du Ming, Flanagan J H, Lin B C, et al. Electrophoresis, 2003, 24; 3147~3153.
- [20] Xu F, Jabasini M, Baba Y. Electrophoresis, 2002, 23; 3608~3614.
- [21] Xu F, Jabasini M, Liu S Q, et al. Analyst, 2003, 128; 589~592.
- [22] Lin Y W, Huang M J, Chang H T. J Chromatogr A, 2003, 1014; 47~55.
- [23] Chiou S H, Huang M F, Chang H T. Electrophoresis, 2004, 25; 2186~2192.
- [24] Cole K D, Tellez C M. Biotechnol Prog, 2002, 18; 82~87.
- [25] Mitnik C, Salome L, Viovy J L, Heller C. J Chromatogr A, 1995, 710; 309~321.
- [26] Huang M F, Kuo Y C, Huang C C, et al. Anal Chem, 2004, 76; 192~196.
- [27] Lin Y W, Huang M F, Chang H T. Electrophoresis, 2005, 26; 320~330.

[28] Tabuchi M, Katsuyama Y, Nogami K, et al. Lab on a Chip, 2005, 5, 199~204.

Progress in Effect of Additives in DNA Separation by Capillary Electrophoresis

ZHOU Dan, WANG Yan-mei*

(Department of Polymer Science and Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: The capillary electrophoresis (including capillary array electrophoresis—CAE and microchip electrophoresis—MCE) using non-gel sieving matrices is one of the most important techniques for DNA separation. Addition of certain additives into low viscous non-gel sieving matrices is an efficient and simple method to overcome the difficulty of filling capillaries and enhance DNA separation. This paper reviews the effect of additives (such as polyhydroxy compounds, montmorillonite clay, gold nanoparticles (GNPs), PEGylated-latex) on improved DNA separation by capillary electrophoresis in non-gel sieving matrices.

Key words: Capillary electrophoresis; DNA separation; Non-gel sieving matrices; Additives; Effect

(上接第 22 页)

[12] Storey R F, Thomas Q A. Polym Prepr, 2001, 42(1): 333.

[13] Wu Y X, Tan Y X, Wu G Y. Macromolecules, 2002, 35: 3801.

[14] Kostjuk S V. Polym Bull, 2004, 51: 277.

[15] Griffiths J E. J Chem Phys, 1968, 49(2): 642.

[16] Kistenmacher T J, Stucky G D. Inorg Chem, 1971, 10(1): 122.

[17] Rytter E, Kvisle S. Inorg Chem, 1985, 24: 640.

Kinetics and Mechanism of TiCl_4 Coinitiating Cationic Polymerization of Vinyl Monomer

QIU Ying-xin, WU Yi-xian*, ZHANG Cheng-long, ZHU han, WU Guan-ying

(Beijing University of Chemical Technology, Key Laboratory of Science and Technology of Controllable Chemical Reactions, Ministry of Education, Beijing 100029, China)

Abstract: The kinetics and mechanism of TiCl_4 coinitiating cationic polymerization of isobutylene (IB) or styrene (St) were discussed in this paper. The reaction order with respect to TiCl_4 could be either first-order or second-order due to the affection of the concentration of TiCl_4 or monomer, the donicity of electron donors, etc. And it has been suggested that the second-order dependency on TiCl_4 was attributed to the dimeric gegenions which formed via monomeric TiCl_4 ionizing a dormant tert-alkyl chloride chain end to create an activated chain with a monomeric gegenion TiCl_5^- , and then the monomeric gegenion reacted with another molecule of TiCl_4 to form the dimeric gegenion Ti_2Cl_9^- .

Key words: Cationic polymerization; Mechanism; Kinetics; Styrene; Isobutylene