

DOI: 10.13208/j.electrochem.140444

Artical ID:1006-3471(2015)01-0001-07

Cite this: *J. Electrochem.* 2015, 21(1): 1-7

Http://electrochem.xmu.edu.cn

# 双极电极-电致化学发光技术在生物分析中的应用

吴梅笙<sup>1,2</sup>, 徐静娟<sup>1\*</sup>, 陈洪渊<sup>1</sup>

(1. 南京大学 生命分析化学国家重点实验室, 化学化工学院, 江苏 南京 210093;

2. 南京农业大学理学院化学系, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 在微管道两端施加一定的电压时, 置于这个电场中的金属或半导体带与溶液的界面电势差达到一定的数值后, 就会引起溶液电活性物质在其两端发生氧化还原反应, 该金属或半导体带即称为双极电极 (BPE). BPE 与电致化学发光 (ECL) 技术的完美结合有诸多优点, 如浓度富集、灵敏度高、成本低、装置轻便且不需要外加光源等, 极适合生物分析检测. 本文综述了双极电极-电致化学发光技术在生物分析中的应用, 并展望相关发展趋势.

**关键词:** 双极电极; 电致化学发光; 钌联吡啶; 阵列传感器

**中图分类号:** O646

**文献标识码:** A

电致化学发光 (ECL) 是化学发光和电化学相结合的产物, 其通过在电极上施加一定的电压, 使电生物质之间或电生物质与体系中其他组分之间产生电子转移形成激发态, 当其激发态返回到基态即产生发光现象. 电致化学发光法的高灵敏度使其在生物传感和免疫分析方面得到广泛应用, 并成为生命分析化学领域的主要研究手段之一<sup>[1-8]</sup>. 传统的电致化学发光技术以三电极系统为基础, 分别用导线连接, 通过光电倍增管或者电荷耦合元件 (CCD) 检测工作电极表面 ECL 信号的变化以实现定量或定性分析. 随着微加工技术的发展, 电致化学发光装置发生了极大的变化. 双极电极作为一种导体, 一般置于溶液的微管道中. 当微管道两端施加电压时, 溶液和双极电极之间电势的差别, 使其一端成阳极, 另一端为阴极. 若外加电场足够大, 电活性物质会分别在阳极和阴极发生氧化和还原反应. 以钌联吡啶和三丙胺 (TPA) 为例, 其阳极发生氧化并发出较强的 ECL 信号, 同时氧气或其他电活性物质在阴极发生还原. 双极电极和外加电源之间无需导线相连, 故该检测装置的构建更简便. 此外, 被分析物不需要参与阳极的 ECL 反应, 仅通过对双极电极的电流产生影响实现检测,

从而极大地拓宽了 ECL 的应用范围. 钌联吡啶有较强的发光效率, 其 ECL 信号能实现可视化, 信号读出更简便快捷. 同时, 双极电极还易于阵列化, 利用 CCD 捕获每一传感界面上的 ECL 信号以实现多指标同时检测, 可提高单次分析中所获得的信息量. 双极电极信号放大较三电极系统更佳, 其阳极和阴极的分别修饰可实现高灵敏的 ECL 检测.

## 1 双极电极工作原理

### 1.1 开放式双极电极

开放式双极电极如图 1 所示, 将微电极集成在玻璃基底上, 然后置于 PDMS 芯片的微管道中. 当在微管道两端施加一定的电压 ( $E_{tot}$ ) 时, 就会沿着管道的方向产生电场. 此时, 处于其中的电极将成为等势体 (图 1B). 图 1C 为双极电极-电致化学发光装置的等效电路图. 微管道中总电流 ( $i_{channel}$ ) 可分为溶液中离子的迁移引起的电流 ( $i_s$ ) 及双极电极上法拉第反应的电子流动电流 ( $i_{bpe}$ ), 其大小取决于溶液电阻 ( $R_s$ ) 和双极电极电阻 ( $R_e$ ), 关系式如下:

$$\frac{i_{bpe}}{i_{channel}} = 1 - \frac{i_s}{i_{channel}} = \frac{R_s}{R_s + R_e}$$

当  $R_e \gg R_s$  时,  $i_{bpe} \ll i_{channel}$ , 溶液电场可视为均匀电场. 此时, 双极电极/溶液界面的电势差如下

收稿日期: 2014-11-12, 修订日期: 2014-12-01 \* 通讯作者, Tel: (86-25)83597924, E-mail: xujj@nju.edu.cn

国家自然科学基金项目 (No. 21025522, No. 21121091, No. 21305068) 资助

式:

$$\eta_a = E_{\text{elec}} - E_a$$

$$\eta_c = E_{\text{elec}} - E_c$$

$$\Delta E_{\text{elec}} = E_c - E_a = V_0 \times l_{\text{elec}} = \frac{E_{\text{tot}}}{l_{\text{channel}}} \times l_{\text{elec}}$$

其中,  $E_c$  和  $E_a$  分别代表溶液沿着电极方向位于  $x=0$  和  $x=l_{\text{elec}}$  处的电势,  $V_0$  代表微管道中的电场强度. 对一给定的电场, 电极长度越长, 双极电极上的电势差越大. 因电极表面溶液的电势连续变化, 故在  $E_c$  和  $E_a$  之间会有一点 ( $x=x_0$ ) 的电势与双极电极电势相同. 相应的电极可分为两部分: 阴极 ( $x < x_0$ ) 和阳极 ( $x > x_0$ ). 电极上任意一点与溶液之间的电势差  $\eta_{(x)}$  能够反映电极上发生电化学氧化还原的能力.

$$\eta_{(x)} = E_{\text{elec}} - E_{(x)} = V_0(x_0 - x) = \frac{\Delta E_{\text{elec}}}{l_{\text{elec}}}(x_0 - x)$$

从公式可以看出,  $\eta_{(x)}$  不仅受外加电场调控, 还与双极电极的长度以及管道的长度有关. 当外加电压足够大时, 电活性物质就能分别在双极电极的阳极和阴极发生氧化和还原.

### 1.2 闭合式双极电极

目前, 闭合式双极电极的研究报道虽然较少, 却有着独特的优势. 图 2 是闭合式双极电极的示意图(A)及等效电路图(B), 其双极电极是电路导通的必经之路. 从图 1B 和 2B 可以看出, 开放式体系双极电极和溶液为并联(式(1)), 而闭合式体系即为串联(式(2)).

$$E_{\text{tot}} = iR_{\text{channel}} + iR + iR_{\text{channel}} \quad \left( \frac{1}{R} = \frac{1}{R_s} + \frac{1}{R_{\text{BPE}}} \right) \quad (1)$$

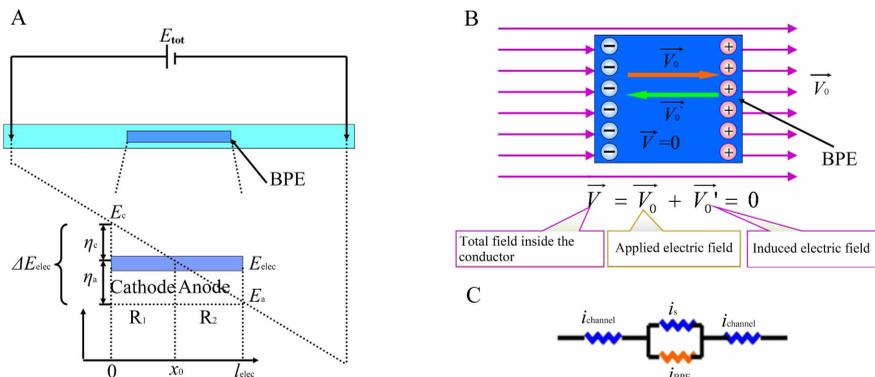


图 1 开放式双极电极工作原理 A. 开放式双极电极示意图; B. 等势体; C. 等效电路图

Fig. 1 Principle of open bipolar electrode strategy A. Schematic illustration of open bipolar electrode; B. Equipotential field; C. An equivalent circuit

$$E_{\text{tot}} = iR_{\text{channel}} + iR_{\text{BPE}} + iR_{\text{channel}} \quad (2)$$

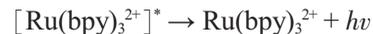
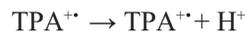
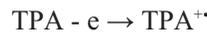
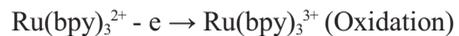
并联电路的总电阻小于任何一个分电阻, 在相同的外加电压下, 闭合式体系的电流比开放式体系的小, 使施加在溶液/双极电极界面上的电压 ( $iR_{\text{BPE}}$ ) 较开放式体系的大.

## 2 双极电极-电致化学发光传感器

双极电极与电致化学发光技术的完美结合使其在生物分析中的应用得到了快速发展. 目前, 双极电极-电致化学发光技术已经成功地用于检测生物大分子(DNA<sup>[9]</sup>、糖化血红蛋白<sup>[10]</sup>、前列腺抗原<sup>[11]</sup>)、小分子( $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 、多巴胺、葡萄糖)<sup>[12-15]</sup>、细胞<sup>[16-19]</sup>以及催化剂的筛选<sup>[20]</sup>等.

### 2.1 双极电极-电致化学发光机理

施加在双极电极两端的电势差达到临界值时, 钉联吡啶和三丙胺在阳极发生氧化, 同时溶解氧在阴极还原. Bard 课题组详细研究了钉联吡啶及其共反应剂(三丙胺, TPA)之间的电致化学发光机理<sup>[21]</sup>, 并提出了几种不同的反应模式. 其常见反应模式如下:



$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  在电极上被氧化成  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ , 同时 TPA 也氧化成  $\text{TPA}^+$ , 并进一步发生脱质子反应. 此时  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$  和  $\text{TPA}^+$  之间发生氧化还原反应, 产生激发态的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ ,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$  返回基态时释放出光子. 研究表明, 电极表面的钉联吡啶还可不

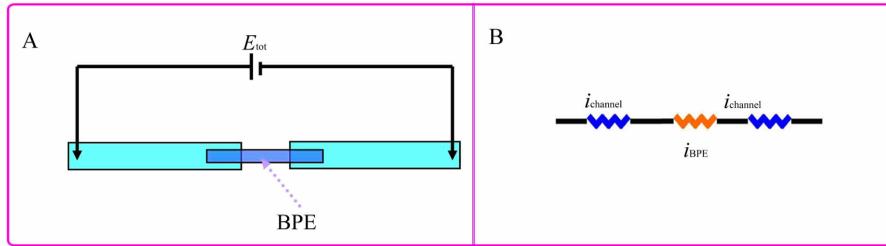
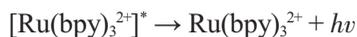
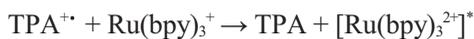
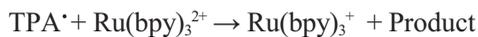
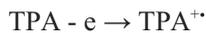


图 2 闭合式双极电极工作原理 A. 闭合式双极电极示意图; B. 等效电路图

Fig. 2 Principle of closed bipolar electrode strategy A. Schematic illustration of closed bipolar electrode; B. An equivalent circuit

直接氧化, 而通过下述过程产生发光:



TPA 首先在电极表面发生氧化生成  $\text{TPA}^{+\bullet}$ , 随之进一步脱质子生成  $\text{TPA}^{\bullet}$ ,  $\text{TPA}^{\bullet}$  可与  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  反应生成  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+\bullet}$ ,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+\bullet}$  再和  $\text{TPA}^{+\bullet}$  反应生成激发态的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ , 其返回基态时释放出光子。

## 2.2 信号放大

双极电极上 ECL 信号不仅与阳极的 ECL 反应有关, 还受阴极还原反应的调控。目前, 利用阴极的还原反应进行 ECL 调控分成两种主要方式: 一是可引入对氧气还原反应具有催化能力的物质<sup>[9,15,17,20]</sup>, 另者是加入比氧气或  $\text{H}^+$  更易还原的电活性物质<sup>[10,12,16]</sup>。Crooks 课题组将铂纳米粒子修饰的 DNA 组装至阴极, 增强 ECL 信号, 这主要归因于铂纳米粒子对氧气的还原反应的催化作用<sup>[9]</sup>。随之, Chi 课题组在双极电极阴极组装铂纳米粒子, 据此原理发展了一种简便的筛选催化剂的方法<sup>[20]</sup>。作者课题组将 Au 纳米膜电沉积于 ITO 阴极上得 Au-ITO 杂化电极<sup>[17]</sup>, 其阴极电极面积增大、氧气过电位降低, 催化氧气的还原反应。结果表明, 钌联吡啶在 Au-ITO 杂化电极上的 ECL 信号较 ITO 杂化电极提高了 4 倍。

Crooks 课题组将双极电极浸入苊基紫精 ( $\text{BV}^{2+}$ ) 和  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的混合溶液中, 虽然这两者之间并没有发生化学反应, 但是  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的 ECL 发生了明显的变化。这归因于  $\text{BV}^{2+}$  还原电位较  $\text{H}^+$  低, 因此, 其在较小的驱动电压下就可在阴极发生还原反应, 促进阳极表面  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的氧化反应<sup>[12]</sup>。他们后续又设计了双管道微芯片, 分别将双极电

极的阳极和阴极置于不同的管道, 用盐桥将这两根管道相连, 将双极电极的阴极浸入铁氰化钾溶液, 阳极浸入  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ , 此时铁氰化钾可取代氧气在阴极发生还原反应, 使驱动钌联吡啶反应的电压降低<sup>[10]</sup>。作者课题组将标记了二茂铁 (Fc) 的适配体组装至电极表面,  $\text{Fc}/\text{Fc}^+$  还原电位低于氧气的还原电位, 故双极电极两端发生氧化还原反应所需的外加驱动电压降低<sup>[16]</sup>。

## 2.3 生物分析

对双极电极的电化学性质已经有了详尽研究, 而双极电极-电致化学发光作为一种新兴的技术, 在生物分析方面的应用仍较少<sup>[9,10,14,17,22]</sup>。2001 年, Manz 课题组首先建立了双极电极-电致化学发光在生物分析方面应用的雏形<sup>[23]</sup>, 并将 U 型的 Pt 电极置于微管道中, 然后在微管道两端施加一定的电压, 当溶液有 L-缬氨酸, L-天(门)冬氨酸和 L-丙氨酸时, 钌联吡啶的 ECL 信号发生不同程度的下降, 随后双极电极的理论和实验研究有了较大的突破<sup>[12]</sup>。但直到 2008 年, Crooks 课题组才构建了第一支双极电极-电致化学发光传感器, 并用 Pt NPs 标记的 DNA 对氧气还原反应的催化作用以增强阳极的 ECL 信号<sup>[9]</sup>, 但该研究并未进行 DNA 的定量检测。2011 年, 作者课题组利用叶酸对钌联吡啶的信号有很强的猝灭作用, 首次实现了细胞表面受体的定量检测<sup>[18]</sup>。当叶酸/钌联吡啶混合溶液和肿瘤细胞共存时, 溶液中的叶酸会与细胞表面受体高特异性结合, 并被胞吞进入细胞, 使得溶液中钌联吡啶的 ECL 恢复, 进而估算 HL-60 细胞表面叶酸受体为  $(8.05 \pm 0.75) \times 10^{-18} \text{ mol} \cdot \text{cell}^{-1}$ , 且肿瘤细胞表面的叶酸受体含量明显高于正常细胞, 同时该方案还可用于研究细胞对叶酸的胞吞和胞吐现象。为将生物分子特异性地捕获在电极表面, 作者课题组还在双极电极的阳极构建了传感界面, 并实现了细胞内

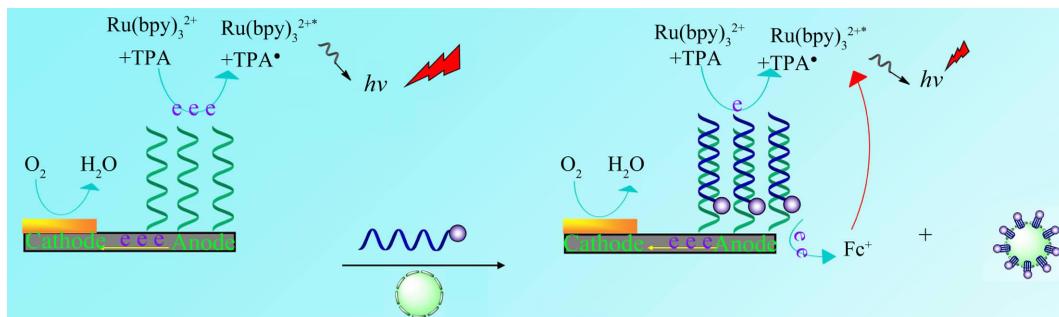


图 3 Au-ITO 杂化双极电极的细胞表面蛋白检测示意图<sup>[17]</sup>

Fig. 3 Schematic representation of Au-ITO hybrid BPE for cell surface protein detection<sup>[17]</sup>

mRNA 的检测<sup>[19]</sup>. 为提高 ECL 信号,将钌联吡啶包裹在硅球内部并修饰在硅球表面 ( $\text{RuSi@Ru(bpy)}_3^{2+}$ ),然后将该 ECL 纳米颗粒组装于 DNA 链的末端,与单分子标记 ( $\text{Ru(bpy)}_3^{2+}$ -NHS)相比,其信号增强了 24 倍,该传感器对于 DNA 的检测限低于  $10^{-16} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . 再以  $\text{CdSe@ZnS QDs}$  为载体将双链 DNA 转染进入细胞,并进行细胞内 c-Myc RNA 含量的定量检测. 检测结果显示,肿瘤细胞中的 c-Myc 水平明显高于正常细胞. 为提高 ECL 检测的灵敏度,还制备了 Au-ITO 杂化电极(图 3),以 Au 阴极促进氧气的还原,同时在阳极构建生物功能界面,通过二茂铁(标记于 DNA 末端)和钌联吡啶在阳极的竞争氧化反应以实现高灵敏的细胞表面蛋白检测<sup>[17]</sup>. 上述两种方法均通过在阳极构建传感界面实现生物分子的定量检测. 随后又在双极电极的阴极构建传感界面( $\text{Fc}$  标记的适配体),利用  $\text{Fc}^+$  的还原电位较氧气低,实现了细胞内 ATP 的检测<sup>[16]</sup>. 在阴极表面构建传感界面的方法可以有效避免阳极反应和阴极反应的化学干扰. 此外,在阴极表面的传感反应较阳极更加简便,只需要电活性物质在阴极发生还原反应即可,并不需要参与阳极的 ECL 过程.

钌联吡啶具有较强的发光效率,容易实现可视化检测. 作者课题组利用双极电极构建了电子开关,并用于前列腺抗原(PSA)的高灵敏成像检测<sup>[24]</sup>. 两根 ITO 双极电极间隔  $200 \mu\text{m}$ ,在双极电极表面修饰 PSA 抗体,当溶液有 PSA 及 Au NPs-PSA 二抗复合物存在时,就会在这两根电极及其间隔处形成夹心型结构,再通过 Au NPs 的催化沉积作用使银纳米粒子沉积于两根电极的间隔处,那么两支电极之间就会形成电子通路并成为一支完整的电极,这将使得双极电极的有效长度和导电性增

加,驱动钌联吡啶 ECL 的外加电压大幅下降,而只有一个 ECL 发光点,这与没有 PSA 的情况完全不同(两个发光点,钌联吡啶 ECL 信号分别在这两根双极电极的阳极产生). 尤其在新的驱动电压下,无目标分子存在时,钌联吡啶就没有 ECL 信号. 因此,可采用高浓度的钌联吡啶以提高 ECL 成像信号,这种强发光信号可用肉眼观测(图 4). Shannon 课题组据二茂铁对钌联吡啶电致化学发光信号的猝灭作用,实现了二茂铁的可视化检测<sup>[25]</sup>.

此外,可视化的双极电极-电致化学发光检测技术为传感器阵列的发展提供新契机. 将灵敏度高、能可视化检测的光学传感原理与阵列传感模式相结合,用成像技术对每一个双极电极进行可视化分析实现多信息的同时获取,极大地提高了分析效率和检测通量. Crooks 课题组曾用成像技术研究外加电压与双极电极长度、钌联吡啶的发光面积之间的关系<sup>[12]</sup>. 随后构建了 1000 个双极电极阵列,图像分析表明所有的双极电极上的 ECL

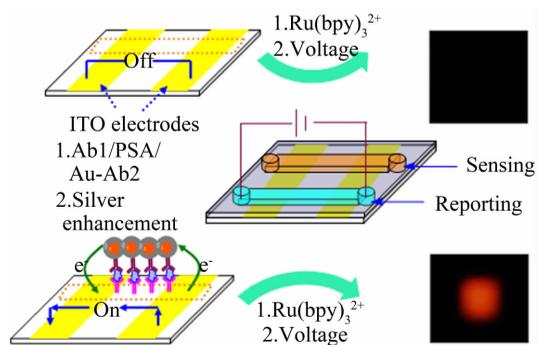


图 4 电子开关的可视化免疫分析示意图<sup>[24]</sup>

Fig. 4 Schematic illustration of the electrical switch fabricated by sandwich immune complex in sensing channel for direct optical readout in reporting channel<sup>[24]</sup>

信号都有着较好的一致性<sup>[20]</sup>. 后续又初步研究了糖化血红蛋白(HbA1c)模型的可视化传感器阵列<sup>[10]</sup>. 首先将生物识别分子组装于阴极表面, 当 HbA1c 被阴极捕获时, 它会阻碍铁氰化钾在阴极的还原反应, 从而导致 ECL 信号发生明显的变化. 该研究证明了双极电极阵列在可视化生物分析方面应用的可行性. Wang 课题组利用闭合的双极电极发展了可视化阵列芯片(图 5), 用于抗坏血酸、过氧化氢、葡萄糖以及三丙胺的检测<sup>[15]</sup>. Su 课题组

同样根据闭合的双极电极原理, 在双极电极阴极修饰辣根过氧化物酶, 实现了过氧化氢快速、灵敏的成像检测<sup>[23]</sup>.

随着双极电极-电致化学发光技术的进一步发展, 其玻璃基底进一步拓展至纸基芯片上, 纸基传感器在检测方面具有很大的优势——纤维质的材料. 该传感器是通过毛细现象实现流体运输, 因而无需外界驱动力. 最近, 作者课题组将双极电极和驱动电极印刷在纸基表面, 然后在双极电极阴极表面修饰壳聚糖和多壁碳纳米管(图 6), 当葡萄糖存在时, 组装的葡萄糖氧化酶就会催化葡萄糖产生过氧化氢, 增强阳极的 ECL 发光<sup>[22]</sup>.

### 3 展望

近年发展起来的双极电极-电化学发光技术, 其微型化器件的构建有着独特的优势, 已越得到关注. 下述展望双极电极-电致化学发光今后可能的发展趋势:

1) 高效信号放大技术: 提高 ECL 传感器的灵敏度对生物分子的高灵敏检测至关重要, 其最有效的方法即采用信号放大策略. 随着生物技术和纳米材料技术的迅速发展, 利用纳米材料、生物及

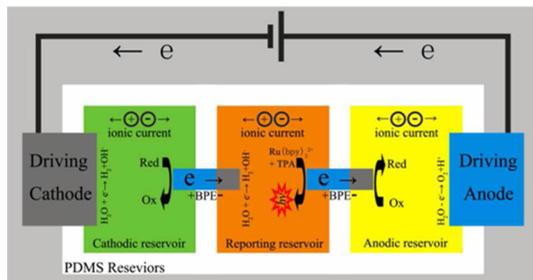


图 5 多管道闭合双极电极-电致化学发光成像分析示意图<sup>[15]</sup>

Fig. 5 Electrochemiluminescence sensing platform based on the multichannel closed bipolar system<sup>[15]</sup>

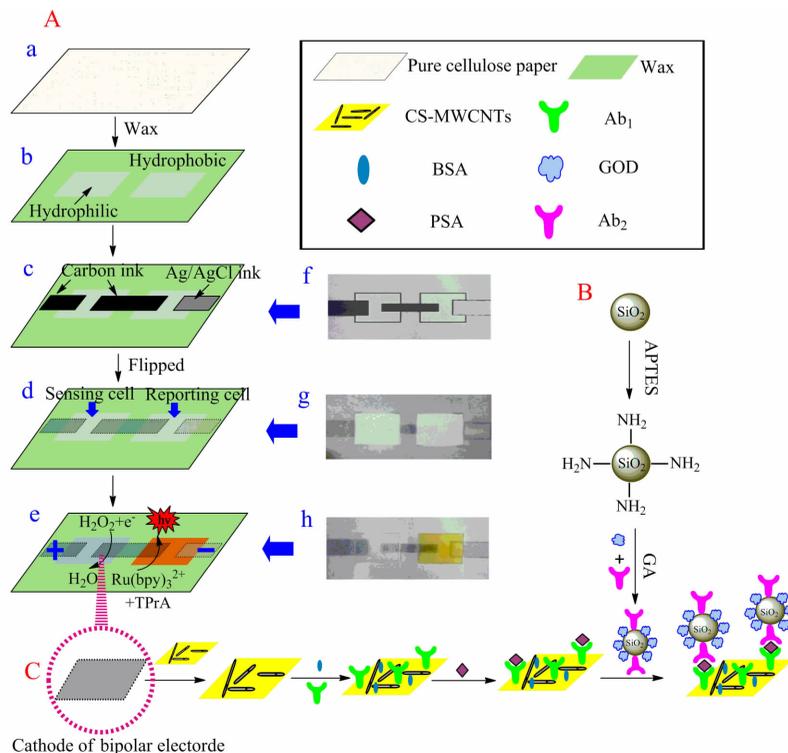


图 6 纸基双极电极-电致化学发光用于葡萄糖检测示意图<sup>[22]</sup>

Fig. 6 Paper-based bipolar electrode-ECL strategy for glucose detection<sup>[22]</sup>

电化学等多种技术放大检测信号, 将成为双极电极-电致化学发光传感器的重要研发方向。

2) 新型高效发光试剂: 钌联吡啶有较强的发光效率, 但随着 ECL 生物分析技术应用的日益广泛及纳米科学的发展, 溶液相钌联吡啶电致化学发光已经不能满足需求。近年, 高效 ECL 纳米材料已引发广泛关注。纳米材料的 ECL 性能取决于其形貌以及结构组成, 形貌可控、无毒、具有 ECL 活性良好的纳米材料合成将成为双极电极-电致化学发光技术发展的当务之急。

3) 可视化传感器阵列: 双极电极易于阵列化, 双极电极-电致化学发光技术已用于可视化分析, 但其主要用于单一组分的检测。可视化传感器阵列的关键在于在一块芯片上构建不同传感机理单元以提高其传感性能, 在此基础上可提升检测的准确性, 有效降低现有单一检测中假阳性与假阴性率过高的缺陷问题。此外, 据可视化图像处理技术的传感器阵列数据直观、灵敏度高、通量高。开发新技术、新材料和微加工工艺, 促进可视化传感器阵列的集成化、微型化以及高度自动化, 这将对生物研究起着极大的推动作用。

4) 纸基传感器: 纸基分析技术价格低廉、可一次性使用, 装置便携、易于大规模生产, 并且纸基生物传感器对变化的颜色更敏感。可将纸基分析技术和双极电极-电致化学技术相结合并用于可视化生物分析。

## 参考文献(References):

- [1] Jie G, Wang L, Yuan J, et al. Versatile electrochemiluminescence assays for cancer cells based on dendrimer/CdSe-ZnS-quantum dot nanoclusters[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(10): 3873-3880.
- [2] Wang J, Shan Y, Zhao W W, et al. Gold nanoparticle enhanced electrochemiluminescence of cds thin films for ultrasensitive thrombin detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(11): 4004-4011.
- [3] Zhou H, Liu J, Xu J J, et al. Ultrasensitive DNA detection based on Au nanoparticles and isothermal circular double-assisted electrochemiluminescence signal amplification[J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(29): 8358-8360.
- [4] Tian C Y, Xu J J, Chen H Y. A novel aptasensor for the detection of adenosine in cancer cells by electrochemiluminescence of nitrogen doped TiO<sub>2</sub> nanotubes[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48 (66): 8234-8236.
- [5] Wang J, Zhao W W, Li X R, et al. Potassium-doped graphene enhanced electrochemiluminescence of SiO<sub>2</sub>@CdS nanocomposites for sensitive detection of TATA-binding protein[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(51): 6429-6431.
- [6] He L J, Wu M S, Xu J J, et al. A reusable potassium ion biosensor based on electrochemiluminescence resonance energy transfer[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49 (15): 1539-1541.
- [7] Li L L, Chen Y, Lu Q, et al. Electrochemiluminescence energy transfer-promoted ultrasensitive immunoassay using near-infrared-emitting CdSeTe/CdS/ZnS quantum dots and gold nanorods[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1529.
- [8] Zhang H R, Xu J J & Chen H Y. Electrochemiluminescence ratiometry: A new approach to DNA biosensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(11): 5321-5325.
- [9] Chow K F, Mavré F O, Crooks R M. Wireless electrochemical DNA microarray sensor[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(24): 7544-7545.
- [10] Chang B Y, Chow K F, Crooks J A, et al. Two-channel microelectrochemical bipolar electrode sensor array[J]. *Analyst*, 2012, 137(12): 2827-2833.
- [11] Wu M S, Yuan D J, Xu J J, et al. Electrochemiluminescence on bipolar electrodes for visual bioanalysis[J]. *Chemical Science*, 2013, 4(3): 1182-1188.
- [12] Zhan W, Alvarez J, Crooks R M. Electrochemical sensing in microfluidic systems using electrogenerated chemiluminescence as a photonic reporter of redox reactions[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124 (44): 13265-13270.
- [13] Zhang X, Chen C, Li J, et al. New insight into a microfluidic-based bipolar system for an electrochemiluminescence sensing platform[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(11): 5335-5339.
- [14] Wu S Z, Zhou Z Y, Xu L R, et al. Integrating bipolar electrochemistry and electrochemiluminescence imaging with microdroplets for chemical analysis[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 53: 148-153.
- [15] Zhang X W, Li J, Jia X F, et al. Full-featured electrochemiluminescence sensing platform based on the multi-channel closed bipolar system[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(11): 5595-5599.
- [16] Shi H W, Wu M S, Du Y, et al. Electrochemiluminescence aptasensor based on bipolar electrode for detection of adenosine in cancer cells[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 55: 459-463.
- [17] Wu M S, Yuan D J, Xu J J, et al. Sensitive electrochemiluminescence biosensor based on Au-ITO hybrid bipolar electrode amplification system for cell surface protein detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(24):

- 11960-11965.
- [18] Wu M S, Xu B Y, Shi H W, et al. Electrochemiluminescence analysis of folate receptors on cell membrane with on-chip bipolar electrode[J]. *Lab on A Chip*, 2011, 11(16): 2720-2724.
- [19] Wu M S, Qian G S, Xu J J, et al. Sensitive electrochemiluminescence detection of c-Myc mRNA in breast cancer cells on a wireless bipolar electrode[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(12): 5407-5414.
- [20] Lin X M, Zheng L Y, Gao G M, et al. Electrochemiluminescence imaging-based high-throughput screening platform for electrocatalysts used in fuel cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(18): 7700-7707.
- [21] Miao W, Choi J P, Bard A J. Electrogenerated chemiluminescence 69: The Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II), (Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)/Tri-*n*-propylamine (TPrA) system revisited—A new route involving TPrA<sup>•+</sup> cation radicals[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124(48): 14478-14485.
- [22] Feng Q M, Pan J, Zhang H R, et al. Disposable paper-based bipolar electrode for sensitive electrochemiluminescence detection of cancer biomarker[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(75): 10949-10951.
- [23] Arora A, Eijkel J, Morf W E, et al. A wireless electrochemiluminescence detector applied to direct and indirect detection for electrophoresis on a microfabricated glass device[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(14): 3282-3288.
- [24] Wu M S, Yuan D J, Xu J J, et al. Electrochemiluminescence on bipolar electrodes for visual bioanalysis[J]. *Chemical Science*, 2013, 4(3): 1182-1188.
- [25] Wang T, Fan S, Erdmann R, et al. Detection of ferrocenemethanol and molecular oxygen based on electrogenerated chemiluminescence quenching at a bipolar electrode[J]. *Langmuir*, 2013, 29(51): 16040-16044.
- [26] Chow K F, Mavre F, Crooks J A, et al. A large-scale, wireless electrochemical bipolar electrode microarray[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(24): 8364-8365.

## Electrochemiluminescence Assay Based on Bipolar Electrode for Bioanalysis

WU Mei-sheng<sup>1,2</sup>, XU Jing-juan<sup>1\*</sup>, CHEN Hong-yuan<sup>1</sup>

(1. *State Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093, China*; 2. *Department of Chemistry, College of Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*)

**Abstract:** Bipolar electrodes (BPEs) are electronic conductors which are usually embedded into microchannels. The potential difference at the BPE/solution interface is obtained by applying a voltage at the two ends of the microchannel. When it reaches a critical value, the redox reaction takes place at both poles of the BPE simultaneously. Compared with other detection methods, the electrochemiluminescence (ECL) platform based on BPE possesses the advantages of concentration enrichment, high sensitivity, low cost, portable sensor system, no need for a light source, which is quite suitable for bioanalysis. This paper reviews the ECL-BPE strategy for bioanalysis and proposes the future research trends.

**Key words:** bipolar electrode; electrochemiluminescence; Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>; biosensor array