中国科学: 化学 2016 年 第 46 卷 第 9 期: 859 ~ 866
SCIENTIA SINICA Chimica chem.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

论 文

镧、铈和铽作用于细胞的靶点差异

杨清[①②], 王丽红[①②], 何婧芳[②], 周青[①], 黄晓华[②*]

① 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122
② 江苏省生物医药功能材料协同创新中心, 南京师范大学化学与材料科学学院, 南京 210023
*通讯作者, E-mail: huangxiaohuanjnu@yahoo.com

收稿日期: 2016-02-17; 接受日期: 2016-05-10; 网络版发表日期: 2016-08-29
国家自然科学基金(编号: 21371100, 31170477, 21501068)、高等学校博士学科点专项基金新教师类(编号: 20130093120006)和江苏省优势学科资助项目

摘要 稀土可通过食物链进入生命体并累积已成为不争的事实, 但稀土离子的植物细胞化学行为尚不清楚. 本文通过 ^{140}La(III)、^{141}Ce(III)、^{160}Tb(III)在植物体内放射自显影技术和量子化学计算等研究发现, 化学性质相似的稀土离子 La(III)、Ce(III)、Tb(III)在细胞质膜和质膜外作用靶点显著不同, 即 Ce(III)主要与质膜物质发生键合, La(III)还能与细胞质膜外的细胞外物质和胞外基质分子键合, Tb(III)更可与细胞壁物质键合; La(III)和 Tb(III)与胞吞作用进入细胞的物质发生键合而进入细胞, Ce(III)尚未观察到此现象; La(III)和 Tb(III)与细胞质膜和质膜外物质通过配位共价键及分子间氢键形成稳定的路易斯酸碱配合物, Ce(III)则可能仅靠库仑力与细胞质膜物质发生作用. 由此导致 La(III)、Ce(III)、Tb(III) 3 种离子对细胞的作用靶点具有明显选择性, 其中 Ce(III)的选择性>La(III)>Tb(III). 可见, 3 种稀土离子不同数量 f 电子的成键活性所致细胞质膜及膜外靶分子键长、键角等参数差异, 将导致下游信号转导及细胞化学行为迥异, 终致其毒理不同. 本文结果可为科学探究稀土累积对生物危害的细胞学机理提供新的思考与借鉴, 也为稀土食品安全及人类健康预防提供重要指导.

关键词 稀土, 镧, 铈, 铽, 细胞化学行为

1 引言

伴随稀土(rare earth, RE)在冶金机械、石油化工、玻璃陶瓷、轻工纺织、新材料(永磁、储氢、超导、荧光、激光)、医药及农业等各领域中的广泛应用[1~6], 稀土在环境及植物系统的累积与日俱增[7,8]. 稀土抑制植物生长, 且随食物链进入人体诱发毒害, 已引起人们的普遍关注与担忧[9~11]. 在我国, 因稀土长时间、大范围、高强度使用对人类健康产生的危害, 不亚于镉、铅等重金属污染. 因此, 稀土的生物安全性问题早已成为国内外众多科学家关注的焦点.

生物无机化学、环境化学及生命科学专家历经长期研究发现, 稀土植物毒理学拓展有赖于稀土植物细胞化学行为的揭示[12~18]. 以往多种检测手段研究发现, 6~35 μM 处理剂量下的 La(III)或 Ce(III)可进入轮藻和伊乐藻细胞[19,20], 200 μM Eu(III)处理水葫芦后发现 Eu(III)可进入根细胞[21], 160~5000 μM La(III)处理小麦、大豆后, 才在细胞内观察到 La(III)[22,23]. 本

引用格式: 杨清, 王丽红, 何婧芳, 周青, 黄晓华. 镧、铈和铽作用于细胞的靶点差异. 中国科学: 化学, 2016, 46: 859–866
Yang Q, Wang LH, He JF, Zhou Q, Huang XH. Different targets of lanthanum(III), cerium(III) and terbium(III) action on cells. *Sci Sin Chim*, 2016, 46: 859–866, doi: 10.1360/N032016-00034

© 2016《中国科学》杂志社

课题组[24]首次通过电镜放射自显影技术, 直接观察到 30 μM La(III)或 Tb(III)处理辣根后, La(III)或 Tb(III)仅分布于细胞壁和细胞质膜上; 80 μM La(III)或 Tb(III)处理后, La(III)或 Tb(III)则见于辣根细胞内外. 其后, 采用放射自显影技术、激光共聚焦显微镜、全内反射荧光倒置显微镜、扫描电镜观察、电感耦合等离子质谱分析、电化学分析等交叉学科研究方法进一步发现, 稀土离子可以活化植物叶细胞长期进化后处于惰性的胞吞作用, 并随胞吞过程部分以纳米簇形式沉积在细胞内[24]. 实验还发现, 稀土与植物过氧化物酶的直接相互作用及其细胞膜结构和功能的改变, 是稀土植物毒害作用可能的细胞和分子机理之一[17,18,25], 尤其是高浓度稀土作用后可生成稀土结合蛋白[17,18,25]. 已有研究显示, 不同稀土离子的植物毒性存在差异[13,16], 但差异形成的细胞化学基础依然不清楚.

La(III)、Ce(III)和 Tb(III)具有不同的 4f 电子数、离子构型和离子势, 其生物毒性存在差异[17,18,25]. La(III)和 Ce(III)为环境中含量最多的两种稀土元素, Tb(III)在环境中含量虽少, 但其毒性比其他稀土元素强[12]. 鉴于此, 本文以食用植物辣根为代表, 采用电镜放射自显影和化学计算技术, 初步探讨了不同稀土离子[La(III)、Ce(III)和 Tb(III)]作用于植物细胞的化学行为, 为科学探究稀土累积对生物危害的细胞学机理, 以及稀土食品安全与人类健康预防等提供新的思考与借鉴.

2 实验部分

2.1 试剂

$^{140}La_2O_3$、$^{141}CeO_2$ 和 $^{160}Tb_4O_7$ 购于北京原子高科(中国). ^{140}La(III)按照文献[26]方法制备, ^{141}Ce(III)按照文献[16]方法制备, ^{160}Tb(III)按照文献[25]方法制备, 核乳胶由中国科学院北京理化研究所提供.

2.2 辣根培养和处理方法

本实验材料为盆栽辣根, 依据常规方法对其进行栽培管理[14], 室内培养温度为 20±1℃, 光照强度 8.0 klx, 光暗时间比为 12 h∶12 h. 当辣根长出 4 片真叶时, 选取长势相近的辣根植株, 分别用涂抹的方法, 把 ^{140}La(III)、^{141}Ce(III)和 ^{160}Tb(III)溶液涂抹在叶片上, La(III)、Ce(III)和 Tb(III)的化学浓度为 80 μM[18,24,26]. 在叶片上均匀涂抹一次, 以滴液为限[16], 12 h 后取样进行电镜放射自显影实验. 实验重复 4 次.

2.3 电镜放射自显影

La(III)、Ce(III)和 Tb(III)电镜放射自显影实验, 分别参照文献报道的实验方法[18,25,26]. 暗室红灯下将核乳胶和双蒸水按一定比例在 42℃水浴下稀释, 然后置于 20℃左右暗室中一段时间, 待其达到理想的半凝胶态时开始套膜. 所用核乳胶稀释度经实验摸索后选定. 将载有切片的铜网用双面胶固定在载玻片上, 用直径 4 cm 不锈钢丝环蘸取乳胶, 待环上形成理想的乳胶膜时即可平稳且快速地套在切片上. 待乳胶干燥后, 将载玻片放在暗盒内, 放好干燥剂后, 密封, 置−20℃冰箱中曝光. 8 d 后, 用 D-19b 显影液显影 3 min, 再用 F-5 酸性坚膜定影液定影 15 min, 流水冲洗, 晾干, 在 Hitachi H600B 型透射电子显微镜(日本)下观察, 拍照.

2.4 量子化学计算

利用 Accelrys 公司 Discovery Studio 2.5 软件[27]通过同源建模方法构建玻璃黏连蛋白(VN)分子模型. 基于 CHARMm 力场 Steepest Descent 和 Conjugate Gradient 连续优化, 溶剂环境为水, 离子强度为 0.1 M. 用 Ramanchandran Plot 检验建模结果可靠性[28]. 设定植物细胞质膜上和质膜外环境(pH 6.0~6.5), 对所构建 VN 分子模型进行分子动力学模拟并蛋白表面电荷分布计算[29]. 选取蛋白表面负电荷集中区域一个氨基酸残基进行与稀土相互作用的量子化学计算.

利用 Gauss View 05 构建磷脂分子模型, 再分别初步构建磷脂、VN 蛋白片断与稀土离子相互作用模型, 利用 Gaussian 09 软件对模型进行量子化学优化计算, 基于密度泛函理论的 B3LYP 方法, 添加溶剂效应(溶剂为水). 选用赝势基组[CEP-121G (La、Ce、Tb); 6-31+g* (C、O、H、N)]进行优化[30]. 结果利用 Gauss View 05 和 Diamond 3.2 分析作图.

3 结果与讨论

通过 ^{140}La(III)、^{141}Ce(III)和 ^{160}Tb(III)同位素标记和电镜放射自显影技术, 本课题组探究了 La(III)、Ce(III)和 Tb(III)进入细胞的途径, 结果发现,

La(III)[24]、Ce(III) (另文报道)和 Tb(III)[24]均可通过胞吞作用进入细胞, 它们的细胞化学行为既相似, 又相异. 其中, 最为新颖的发现是, 它们作用于细胞的靶点显著不同. 本文以胞吞作用的第一过程, 即部分质膜凹陷为例, 展现 La(III)、Ce(III)和 Tb(III)作用于细胞的靶点, 具体报道如下.

3.1　La(III)作用于细胞的靶点

图 1 为 ^{140}La(III)胞吞作用过程中的细胞放射自显影图. 由图 1 可观察到: (1) 细胞壁上未见 ^{140}La(III)的显影(亮的部分), 表明 La(III)几乎不与细胞壁上的物质结合. (2) 在细胞质膜和细胞壁分离处(即两者中间部分)观察到 ^{140}La(III)显影, 表明 La(III)被细胞质膜和细胞壁中间的物质固定. 细胞生物学研究成果显示, 细胞质膜和细胞壁中间的物质为细胞外被物质和细胞外基质, 包括多糖、糖胺聚糖、蛋白聚糖、粘合素、纤连蛋白和 VN 等[31]. 根据 Lewis 酸碱理论可知, La(III)为 Lewis 酸, 细胞外被物质和细胞外基质分子中的 O 原子为 Lewis 碱, La(III)可与这些物质分子上的 O 原子发生配位键合[32]. (3) 质膜凹陷内部观察到了 ^{140}La(III)显影, 表明 La(III)被细胞质膜凹陷处的物质固定. 以往研究报道, 质膜凹陷处的物质主要是一些可通过胞吞作用进入细胞的极性大分子, 如蛋白和糖类等[31]. 根据 Lewis 酸碱理论[32], La(III)可与这些物质发生配位键合作用而被固定. (4) 细胞质膜被观察到最明亮的 ^{140}La(III)显影, 表明 La(III)被细胞质膜物质固定. 构成质膜本身的物质, 主要是多种蛋白和磷脂[31]. 根据 Lewis 酸碱理论, La(III)也易与这些物质发生配位键合作用. 综上所述, 可以得出, La(III)与细胞质膜、细胞外被物质和细胞外基质中物质发生多位点作用, 几乎不与细胞壁物质作用, 具有一定选择性.

3.2　Ce(III)作用于细胞的靶点

图 2 为 ^{141}Ce(III)胞吞作用过程中的细胞放射自显影图. 由图 2 可知, (1) Ce(III)与细胞壁物质未发生明显的配位键合作用, 此与 La(III)在细胞壁上显示的放射自显影相一致. (2) Ce(III)与细胞外被物质和细胞外基质几乎未发生显著的配位键合, 此与 La(III)的细胞行为很不相同. (3) Ce(III)几乎不与通过胞吞作用进入细胞的蛋白及多糖等极性大分子配位键合, 此与 La(III)的配位点显著不同. (4) Ce(III)与细胞质膜物质配位键合, 此点与 La(III)相同; Ce(III)处理后, 质膜亮度明显低于 La(III)处理组, 表明细胞质膜上 Ce(III)结合位点少于 La(III). 从化学与细胞学的观点看, Ce(III)和 La(III)与细胞作用位点的差异可能源于它们具有不同的价电子结构. La(III)的离子价电子层结构为[Xe]4f^0, 而 Ce(III)的离子价电子层结构为[Xe]4f^1, 即 La(III)的 4f 电子层上没有电子, 而 Ce(III)的 4f 电子层上含有 1 个电子. 从价电子层构型上看, Ce(III)与生物大分子上 O 或 N 具有更强的成键活性[33]. 而本文实验结果显示: La(III)结合位点多, Ce(III)结合位点少, 说明 Ce(III)与细胞相互作用所显示的选择配位能力大于 La(III). 其深层次的原因有待于细胞学与生物无机化学等交叉学科的深入研究.

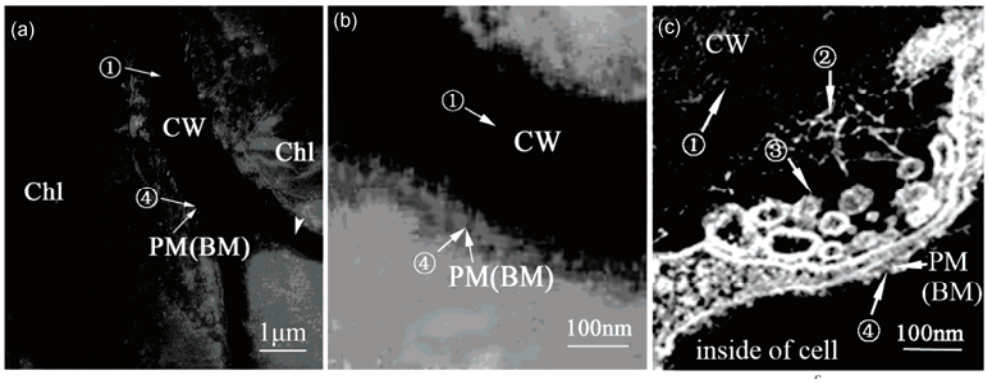


图 1　La(III)处理后, 辣根细胞中 La(III)分布的电镜放射自显影图. (a) 0 μM La(III); (b) (a)图三角箭头所指部分的放大图; (c) 80 μM La(III). CW: 细胞壁; BM: 生物膜; PM: 质膜; Chl: 叶绿体. ①代表细胞壁上物质; ②表示细胞壁和细胞质膜间的物质; ③代表通过胞吞作用进入细胞的物质; ④代表细胞质膜上物质

3.3 Tb(III)作用于细胞的靶点

图 3 为 ^{160}Tb(III)胞吞作用过程中的细胞放射自显影图. 由图 3 可知, (1) Tb(III)与细胞壁物质发生了显著而大量的配位键合作用, 此与 La(III)和 Ce(III)作用于细胞的靶点不同. (2) Tb(III)与细胞外被物质和细胞外基质发生显著配位键合, 此与 La(III)相似, 却与 Ce(III)不同. (3) Tb(III)可与通过胞吞作用进入细胞的蛋白及多糖等极性大分子发生大量配位键合作用, 此与 Ce(III)作用靶点异, 却与 La(III)作用靶点同. 其中, Tb(III)作用靶点更多于 La(III). (4) Tb(III)与细胞质膜上物质发生配位键合作用, 此点与 La(III)和 Ce(III)的细胞行为相同. 正如我们所知, Tb(III)的离子价电子层结构为[Xe]4f^8, Tb(III) 4f 电子层上含有 6 个单电子, 其成键活性显著强于 La(III)和 Ce(III)[33]. 经过计算发现, Tb(III)的离子势(0.0704)明显大于 Ce(III) (0.0561)和 La(III) (0.0526), 其成键能力最强. 综上所述可知: 与 La(III)和 Ce(III)相比, (1) Tb(III)的成键活性更强, 当其进入细胞后, 会因配位导致生物分子结构的改变、功能降低或丧失, 这与以往报道的 Tb(III)几乎没有生物活性或具有毒性结果相一致[33]; (2) Tb(III)的细胞作用靶点广谱, 近乎没有选择性; (3) La(III)、Ce(III)和 Tb(III)电镜放射自显影显示的配位靶点数目是 Tb(III)>La(III)>Ce(III), 这与已报道的 La(III)、Ce(III)和 Tb(III)对细胞的毒害效应的实验结果[Tb(III)毒害效应>La(III)>Ce(III)]相一致[13,16].

3.4 La(III)、Ce(III)、Tb(III)与细胞膜和膜外物质相互作用

3 种稀土离子的细胞学行为差异源自于其与细胞物质的作用能力不同. 因此, 我们利用分子动力学模拟和量子化学计算方法进一步研究 3 种稀土离子与细胞物质的相互作用. 选取磷脂和 VN (一种广泛

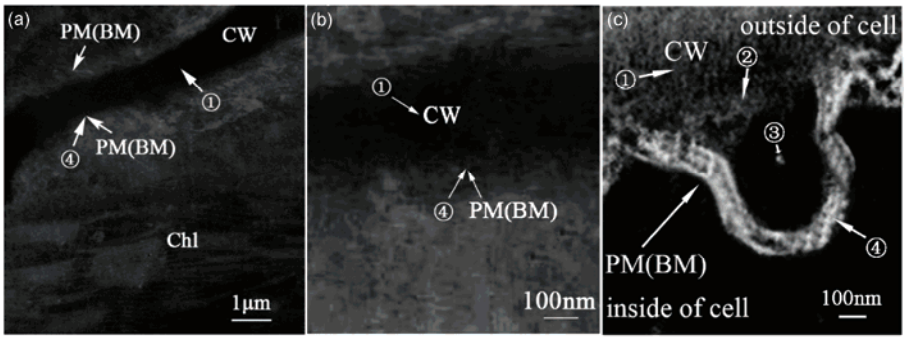


图 2 Ce(III)处理后, 辣根细胞中 Ce(III)分布的电镜放射自显影图. (a) 0 μM Ce(III); (b) (a)图三角箭头所指部分的放大图; (c) 80 μM Ce(III). CW: 细胞壁; BM: 生物膜; PM: 质膜; Chl: 叶绿体. ①代表细胞壁上物质; ②表示细胞壁和细胞质膜间的物质; ③代表通过胞吞作用进入细胞的物质; ④代表细胞质膜上物质

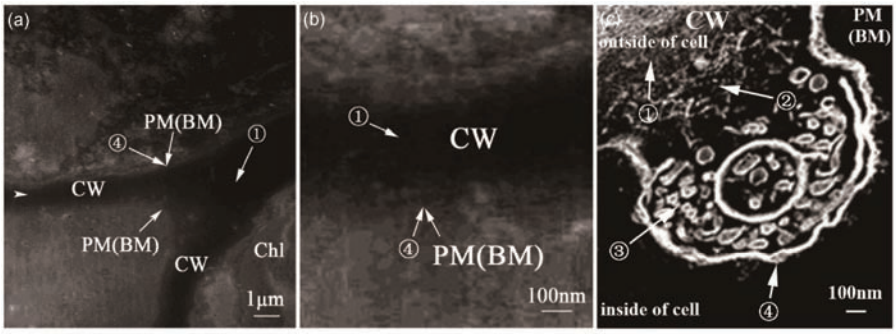


图 3 Tb(III)处理后, 辣根细胞中 Tb(III)分布的电镜放射自显影图. (a) 0 μM Tb(III); (b) (a)图三角箭头所指部分的放大图; (c) 80 μM Tb(III). CW: 细胞壁; BM: 生物膜; PM: 质膜; Chl: 叶绿体. ①代表细胞壁上物质; ②表示细胞壁和细胞质膜间的物质; ③代表通过胞吞作用进入细胞的物质; ④代表细胞质膜上物质

存在于细胞基质中的蛋白[34])中一个暴露在外的氨基酸残基(甘氨酸)分别作为细胞膜物质和细胞膜外物质的代表, 利用化学计算方法模拟 La(III)、Ce(III)、Tb(III)水合离子与这两种物质的相互作用.

由图 4 结果可知, $La(H_2O)_7^{3+}$ (图 4(a))和 $Tb(H_2O)_7^{3+}$ (图 4(c))均与磷酸基团中 O 形成一个配位键从而与磷酸基团形成配合物. La–O1 和 Tb–O1 键长分别为 2.5209 和 2.8230 Å, La–O1 键长在正常范围内[35], Tb–O1 键长比正常 Tb–O 键长略长[36]. 同时, $La(H_2O)_7^{3+}$和 $Tb(H_2O)_7^{3+}$中 H 与磷酸基团中的 O 形成氢键(La 配合物中包含 1 个氢键, 键长为 2.0878 Å, Tb 配合物中包含 2 个氢键, 键长分别为 1.8935 和 1.6750 Å), 以增强配合物的稳定性. $Ce(H_2O)_7^{3+}$与磷酸基团之间不能形成共价键(图 4(b)), Ce 与 O1 间距离为 3.2200 Å, 远大于正常 Ce–O 键长[37], 说明 $Ce(H_2O)_7^{3+}$与磷酸基团之间可能通过静电相互吸引作用结合.

图 4(d)~(f)为 La(III)、Ce(III)、Tb(III)水合离子与甘氨酸残基相互作用的模拟结果. 结果显示, $La(H_2O)_7^{3+}$ (图 4(d))和 $Tb(H_2O)_7^{3+}$ (图 4(f))均可与甘氨酸羧基中的 O 形成一个配位键从而与甘氨酸形成配合物. La–O1 和 Tb–O1 键长分别为 2.4925 和 2.2803 Å, 均在正常范围内[35,36], 说明 $La(H_2O)_7^{3+}$和 $Tb(H_2O)_7^{3+}$均可与甘氨酸形成稳定配合物. 同时 $La(H_2O)_7^{3+}$和 $Tb(H_2O)_7^{3+}$中 H 与甘氨酸分子中的 O 形成氢键(La 配合物中包含 1 个氢键, 键长为 1.5904 Å; Tb 配合物中包含 3 个氢键, 键长分别为 1.6367、2.3415 和 2.6423 Å), 以增强配合物的稳定性. $Ce(H_2O)_7^{3+}$与甘氨酸之间也不能形成共价键(图 4(e)), Ce 与 O1 间距离为 4.6214 Å, 远大于正常 Ce–O 键长[37], 说明 $Ce(H_2O)_7^{3+}$与甘氨酸分子之间也可能通过静电相互吸引作用结合. 同时 Ce 与甘氨酸相互作用中 Ce–O 键长大于 Ce 与磷酸基团相互作用中 Ce–O 键长, 说明 Ce 与甘氨酸相互作用更弱.

由此可知: La(III)、Ce(III)、Tb(III)通过不同作用方式与细胞膜物质和膜外物质结合; La(III)和 Tb(III)可与这些物质上的 O 配位键合形成配合物而存在于细胞膜和膜外物质中; 同理, 细胞膜和膜外物质中其他带有负电荷且含有 O 的物质也可选择性地结合 La(III)和 Tb(III); La(III)和 Tb(III)与这些物质的作用方式存在差异, 可通过氢键个数反映, 如 La(III)形成 1 个氢键, 而 Tb(III)可生成 2 或 3 个氢键, 这可能与 Tb 具有更强配位活性有关; Ce(III)可与细胞膜物质之间可能通过静电库仑力相互作用而结合于细胞膜.

1917 年钱崇澍和 Ostenhout[38]发表的铈对水绵植物生理作用的论文, 开创了生命系统中稀土生物活性研究之先河. 从此, 中外科学家对稀土作用于植物的正负效应机制探究, 方兴未艾[9,19]. 迄今人们一直难以形成共识的关键问题之一是稀土作用于细胞的靶点与机理.

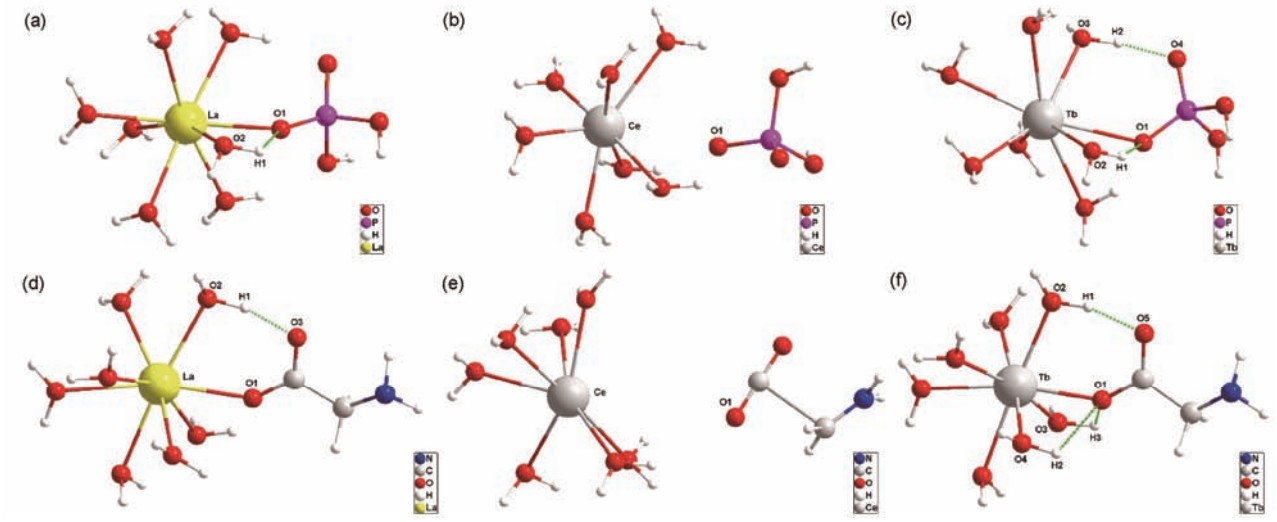


图 4　La(III)、Ce(III)、Tb(III)水合离子与磷酸和 VN 氨基酸残基作用量子化学计算模拟图. (a) $La(H_2O)_7^{3+}$与磷酸基团相互作用; (b) $Ce(H_2O)_7^{3+}$与磷酸基团相互作用; (c) $Tb(H_2O)_7^{3+}$与磷酸基团相互作用; (d) $La(H_2O)_7^{3+}$与 VN 残基相互作用; (e) $Ce(H_2O)_7^{3+}$与 VN 残基相互作用; (f) $Tb(H_2O)_7^{3+}$与 VN 残基相互作用(网络版彩图)

4 结论

本文通过 ^{140}La(III)、^{141}Ce(III)、^{160}Tb(III)在植物体内放射自显影技术和分子动力学模拟及量子化学计算细致探究, 获得较为直观的 4 点重要信息: (1) 具有相似化学性质的稀土离子 La(III)、Ce(III)、Tb(III), 在细胞质膜外和质膜上的作用靶点及作用方式呈现显著差异. La(III)、Ce(III)、Tb(III) 3 种稀土离子对细胞的作用靶点具有选择性, 其中 Ce(III)的选择性>La(III)>Tb(III). La(III)和 Tb(III)可通过与细胞质膜外和质膜物质分子间相互作用而生成配合物(Tb 显示出更强的配位能力), 且通过它们间形成的氢键来增强配合物稳定性, 从而使 La(III)和 Tb(III)被牢固地固定在细胞质膜和细胞外. Ce(III)可能主要依靠库仑力与细胞质膜物质相互吸引而结合在细胞质膜上; (2) La(III)、Ce(III)、Tb(III)与细胞质膜和质膜外物质作用靶点及作用方式差异, 势必导致细胞质膜外和质膜上的靶点物质分子所调控的细胞生物学功能相异[31]. 这与近百年来所报道的 La(III)、Ce(III)、Tb(III)化学性质相似, 但生物学效应不同[12]的结论一致; (3) La(III)、Ce(III)、Tb(III) 3 种稀土离子与细胞质膜外和质膜上的靶分子结合后, 其稀土离子与靶分子相互作用方式所致该分子键长、键角等参数的微小差异, 将会导致下游信号转导产生明显差别, 造成下游细胞化学反应迥异, 最终导致其生物学效应差异[31]; (4) La(III)、Ce(III)、Tb(III)具有不同数量 f 电子而致成键活性不同, 是 3 种稀土离子在细胞质膜外和质膜上作用靶点及作用方式不同, 并最终表现为生物学效应相异的一个不容忽视的致因.

当然, 也不能忽视细胞本身具有高度智能化, 其对于稀土离子和其他重金属离子如何选择性响应? 此类问题的解决, 有待于交叉学科的深入研究并值得科学工作者们重点关注. 此外, 稀土在溶液中以多种离子形式存在, 如 RE^{3+}、$RE(OH)^{2+}$、$RE(OH)_2^+$和 $RE(OH)_3$, 它们与细胞上物质的结合能力是否存在差异, 稀土离子作用于其他细胞的靶点如何? 也是未来科学工作者关注的重要内容之一. 本研究结果可为建立稀土在食品及植物中的限量标准、科学评价稀土累积对生物的危害及环境风险提供新的思考, 也为稀土食品安全及人类健康预防提供重要指导意义.

致谢 感谢不列颠哥伦比亚大学周洁敏女士对稀土电镜放射自显影工作的帮助, 感谢北京大学黄春辉院士对稀土配位化学和邓兴旺教授对细胞学方面给予的指导与帮助.

参考文献

1 徐灿, 曲晓刚. 中国科学: 化学, 2014, 44: 506–520
2 Gai S, Li C, Yang P, Lin J. *Chem Rev*, 2014, 114: 2343–2389
3 He F, Yang G, Yang P, Yu Y, Lv R, Li C, Dai Y, Gai S, Lin J. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 3966–3976
4 Yang P, Gai S, Lin J. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 3679–3698
5 Gao P, Liu GD, Jia CZ, Ding XJ, Chen ZL, Dong YM, Zhao X, Jiao WW. *Org Geochem*, 2015, 87: 35–54
6 Vijayakumar R, Marimuthu K. *J Alloys Compd*, 2016, 665: 294–303
7 Kunnemeyer J, Terborg L, Meermann B, Brauckmann C, Moller I, Scheffer A, Karst U. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 2884–2890
8 Ding SM, Liang T, Zhang CS, Huang ZC, Xie YN, Chen TB. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 2686–2691
9 Zaichick S, Zaichick V, Karandashev V, Nosenko S. *Metallomics*, 2011, 3: 186–194
10 杨晓改, 范云周, 冯敏, 刘会雪, 王夔. 中国科学: 化学, 2014, 44: 521–530
11 Hu Z, Richter H, Sparovek G, Schnug E. *J Plant Nutr*, 2004, 27: 183–220
12 Redling K. Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry. Doctor Dissertation. München: Ludwig-Maximilians-Universität München, 2006
13 Wang LH, Huang XH, Zhou Q. *Chemosphere*, 2008, 73: 314–319
14 Wang LH, Zhou Q, Huang XH. *Chemosphere*, 2009, 77: 1019–1025
15 Wen B, Liu Y, Hu XY, Shan XQ. *Chemosphere*, 2006, 63: 1179–1186
16 Ye YX, Wang LH, Huang XH, Lu TH, Ding XL, Zhou Q, Guo SF. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2008, 71: 677–684
17 Guo SF, Wang LH, Lu TH, Ding XL, Huang XH. *J Electroanal Chem*, 2010, 644: 80–84
18 Guo XS, Zhou Q, Lu TH, Fang M, Huang XH. *Ann Bot*, 2007, 100: 1459–1465

19 Li Z, Zhang Z, Jiang W, Yu M, Zhou Y, Zhao Y, Chai Z. *Plant Sci*, 2008, 174: 496–501
20 Chu WY, Cai SJ, Fu YY, Li FF, Xu T, Qiu H, Xu QS. *Acta Physiol Plant*, 2014, 36: 2491–2499
21 Kelley C, Curtis AJ, Uno JK, Berman CL. *Water Air Soil Poll*, 2000, 119: 171–176
22 Gao YS, Zeng FL, Yi A, Ping S, Jing LH. *Biol Trace Elem Res*, 2003, 91: 253–265
23 de Oliveira C, Ramos SJ, Siqueira JO, Faquin V, de Castro EM, Amaral DC, Techio VH, Coelho LC, e Silva PHP, Schnug E, Guilherme LR. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 122: 136–144
24 Wang LH, Li JG, Zhou Q, Yang GM, Ding XL, Li XD, Cai CX, Zhang Z, Wei HY, Lu TH, Deng XW, Huang XH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 12936–12941
25 Guo SF, Cao R, Lu AH, Zhou Q, Lu TH, Ding XL, Li C, Huang XH. *J Biol Inorg Chem*, 2008, 13: 587–597
26 Wang L, Zhou Q, Lu T, Ding X, Huang X. *J Biol Inorg Chem*, 2010, 15: 1063–1069
27 Discovery Studio, in Secondary. San Diego: Accelrys Software Inc., 2009
28 Cai Z, Ouyang Q, Zeng D, Nguyen KN, Modi J, Wang L, White AG, Rogers BE, Xie XQ, Anderson CJ. *J Med Chem*, 2014, 57: 6019–6029
29 Jiang N, Wang L, Du C, Ding X, Huang X. *Environ Chem Lett*, 2011, 9: 191–196
30 Frisch M, Trucks G, Schlegel H, Scuseria G, Robb M, Cheeseman J, Montgomery Jr J, Vreven T, Kudin K, Burant J. Pittsburgh: Gaussian Inc., 2009
31 Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. New Jersey: Wiley, 2002
32 Miessler GL, Tarr DA. *Inorganic Chemistry*. Englewood: Prentice-Hall, 1991
33 黄春辉. 稀土配位化学. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997
34 Leavesley DI, Kashyap AS, Croll T, Sivaramakrishnan M, Shokoohmand A, Hollier BG, Upton Z. *IUBMB Life*, 2013, 65: 807–818
35 Ay B, Yildiz E, Protasiewicz JD, Rheingold AL. *Inorg Chim Acta*, 2013, 399: 208–213
36 Masuya A, Igarashi C, Kanesato M, Hoshino H, Iki N. *Polyhedron*, 2015, 85: 76–82
37 咸春颖, 林苗. 无机化学学报, 2003, 19: 1030–1032
38 Chien SQ, Ostenhout WJ. *Baranical Gazette*, 1917, 63: 406–409

Different targets of lanthanum(III), cerium(III) and terbium(III) action on cells

Qing Yang[1,2], Lihong Wang[1,2], Jingfang He[2], Qing Zhou[1], Xiaohua Huang[2*]

[1] *State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China*

[2] *Jiangsu Collaborative Innovation Centre of Biomedical Functional Materials, School of Chemistry and Materials Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China*

**Corresponding author (email: huangxiaohuanjnu@yahoo.com)*

Abstract: It is indisputable that rare earth elements (REEs) can accumulate in organisms through food chain. However, the cytochemical behaviours of REEs are still unknown. Here, by using electron microscopic autoradiography of ^{140}La(III), ^{141}Ce(III) and ^{160}Tb(III) in plants and quantum chemical calculation etc., it was discovered that these REEs, which have similar chemical properties, interacted with different targets in/out of plasma membrane. Ce(III) mainly bound to substances in plasma membrane, La(III) also bound to the substances of cellular matrix and cell coat, and Tb(III) could even bind to substances in cell wall. La(III) and Tb(III) could enter cells by binding to these substances entered cells through endocytosis, however, Ce(III) was not observed to have this behaviour. La(III) and Tb(III) could form stable Lewis acid-base complexes with substances in/out of plasma membrane by forming coordination bonds and hydrogen bonds, while Ce(III) could bind to substances in plasma membrane only through electrostatic force. Therefore, these REEs obviously presented different selectivity in binding targets, which is the selectivity of Ce(III)>La(III)>Tb(III). Thus, the different binding activities of these three REEs, which originate from the different number of f electrons, would result in different parameters (such as bond length, angle, etc.) of the targets in/out of plasma membrane, and then this would make different downstream signal transduction and cytochemical behaviors, which would finally show different toxic effects. The results could provide some new thinking and references for scientifically assessing the damage effect of the accumulation of REEs on living orgnaisms and the environmental risk of REEs, and also provide the important guides for food safety and human health.

Keywords: rare earth, lanthanum, cerium, terbium, cytochemical behaviour

doi: 10.1360/N032016-00034