

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

# **Impact of f-Block Elements on Lanthanide-dependent Biological Systems**

Helena Singer

aus

Bad Aibling, Deutschland

2023





### Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von §7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Prof. Dr. Lena J. Daumann betreut.

### Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, 17. Dezember 2023

---

Helena Singer

Dissertation eingereicht am: 20. Dezember 2023  
1. Gutachterin: Prof. Dr. Lena J. Daumann  
2. Gutachterin: Prof. Dr. Silvija Markic  
Mündliche Prüfung am: 16. Februar 2024



Diese Arbeit wurde in der Zeit von Januar 2019 bis Dezember 2023 am Department für Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München unter Anleitung von Frau Prof. Dr. Lena J. Daumann durchgeführt.



# Danksagung

Zu Beginn möchte ich meiner Betreuerin Lena Daumann danken, die es mir ermöglicht hat, in den letzten fünf Jahren meine Leidenschaft für die Forschung zu entdecken, diese gefördert hat, und mir die Freiheit gegeben hat mich zu entwickeln. Danke, für die Hilfestellungen am Anfang – und das stetig gewachsene Vertrauen über meine Promotionszeit hinweg. Die mir gezeigt hat, dass man an seine Arbeit glauben muss, egal wie oft man fällt.

Ein herzlicher Dank geht auch an die Didaktikabteilung der Chemie, an meine Zweitgutachterin Silvija Markic, und Kristina Hock, welche mich mit meinem Lehrprojekt tatkräftig unterstützt hat. Ich habe den Austausch mit euch sehr genossen. Danke Kristina, dass du mich als fachfremde Person an die Hand genommen hast. Gudrun Baltjan und Edith Karaghiosoff möchte ich für die Unterstützung bei der Seminarvorbereitung danken.

Mein Dank gilt auch der Prüfungskommission.

Danke an unsere Sekretärin Lida Holowatyj-den Toom, die uns immer behilflich war in den Tiefen des Bürokratie-Dschungels.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Kooperationspartner\*innen, die mich immer mit offenen Armen empfangen und ein offenes Ohr für unsere Herausforderungen hatten, und nie müde wurden, die Projekte mit uns zu realisieren. Hier besonders Cathleen Zeymer für die unkomplizierte und schnelle Proteinaufreinigung, die ich begleiten durfte. Arjan Pol und Huub Op den Camp, ihr habt mir alle wichtigen Grundlagen zu SolV gelehrt, und uns unterstützt, eine eigene Kultivierung aufzubauen. Danke für eurer Vertrauen.

An meine Dresdener Arbeitskolleg\*innen Robin Steudtner, Björn Drobot und Jérôme Kretzschmar geht ein herzliches Dankeschön, ebenso an Manja Vogel, Sindy Kluge, Susana Jiménez, Dominik Goldbach und Dirk Falkenberg. Hervorheben möchte ich vor allem Robin, welcher die letzten Jahre alle logistischen und organisatorischen Aufgaben übernommen hat, und auch außerhalb des Institutes immer für eine kulturelle Abwechslung gesorgt hat. Danke, durch dich ist Dresden meine zweite Heimat in der Promotion geworden.

Ein großes Dankeschön geht auch an meine Arbeitskolleg\*innen – ehemalige wie aktuelle. Ich freue mich, dass ich einige von euch inzwischen meine Freunde nennen darf – wer davon bleibt mein Geheimnis. Danke an: Violeta, für alle Bestellungen, Nagelsessions und

deine fleißige Teilnahme an den Sportstunden. Annika, für ein immer offenes Ohr und alle Einladungen zu dir nach Hause. Ioana, für deinen ausgezeichneten Musikgeschmack und deine Gastfreundschaft. Sophie, für die tolle Zeit in Dresden und deine erfrischende Art. Flipsy, für die andere tolle Zeit in Dresden, und dass ich dich als fähigen Nachfolger habe. Tri, für deinen unermüthlichen Humor. Mikey, für dein Zuhören, und die nette Labornachbarschaft. Doreen, für deine Ehrlichkeit, und das Aushalten meines Humors. Bere, für das an die Hand nehmen am Anfang meiner Promotion.

Danke an meine Familie, die mich seit Anfang an unterstützt haben, und mich meinen Weg haben gehen lassen.

Danke Markus. Für Alles.

# Zusammenfassung

Lanthanoide (Ln) – als Teil der f-Block Elemente – sind aus unserem alltäglichen Leben nicht mehr wegzudenken. Dabei spielen sie vor allem eine wichtige Rolle für die heutzutage dringend benötigten nachhaltigen und erneuerbaren Energien, z.B. als Bestandteile von Magneten in Windkraftanlagen, sowie in weiteren energieeffizienten Anwendungen wie Beleuchtungen und Elektrofahrzeugen. Trotz neuer Methoden und Technologien ist der Abbau, die Extraktion und die Trennung dieser Elemente nach wie vor ressourcen- und energieintensiv und verbunden mit der Mobilisierung von radioaktiven Elementen. Darüber hinaus liegen die Recyclingraten für Ln, hauptsächlich aufgrund der wirtschaftlichen Rentabilität, immer noch unter 2 %. Diese widersprüchlichen Umweltauswirkungen zeigen, dass neue Wege für das Recycling dieser kritischen und unverzichtbaren Elemente entwickelt werden müssen – um den Lebenszyklus zu verlängern, sowie den ökologischen Fußabdruck zu verringern. Ln sind ein wesentlicher Bestandteil von unserem täglichen Leben, sie spielen aber auch in der Biologie eine wichtige Rolle. In den letzten zehn Jahren wurde die biologische Relevanz von Ln im Zusammenhang mit methylotrophen Bakterien etabliert. Unter anderem wurde ein Schlüsselenzym des Stoffwechsels von Methylotropen identifiziert, eine Ln-abhängige Methanoldehydrogenase (XoxF). Des Weiteren wurde erstmalig der natürliche Ln-Chelator, Lanmodulin (LanM), dessen biologische Funktion noch nicht vollständig aufgeklärt ist, charakterisiert. Fortlaufend werden immer mehr biologische Systeme wie Bakterien, Hefen, Pilze und Algen entdeckt, die in der Lage sind, Ln zu adsorbieren, aufzunehmen, zu binden oder zu metabolisieren. Bis heute ist nicht vollständig geklärt, warum die Natur diese Elementgruppe nutzt. Aber mit jeder neuen Entdeckung, in diesem sich schnell entwickelnden Forschungsfeld, gewinnen wir mehr Erkenntnis und mechanistisches Verständnis darüber, wie sich eine hoch effiziente und selektive Ln-Aufnahme in diesen biologischen Systemen entwickelt hat. Dies hilft uns, neue bioinspirierte Strategien für die Rückgewinnung von f-Block Elementen zu entwickeln und ebnet den Weg für umweltfreundliche Trennmethode. Darüber hinaus ermöglicht die Ausweitung der Forschung von 4f zu den schwereren, radioaktiven 5f-Elementen einen allgemeinen Einblick in die potenzielle Rolle radioaktiver f-Block Elemente in biologischen Prozessen, was wiederum neue Methoden für die Chelatierung von Actinoiden (An) oder die Trennung von Ln/An eröffnet.

Um die Auswirkungen von f-Block Elementen – sowohl Ln als auch ausgewählter An – auf biologische Systeme zu erforschen, wurden in dieser Arbeit verschiedene Studien realisiert. Dazu gehören kinetische und mechanistische Untersuchungen von Ln-abhängigen und

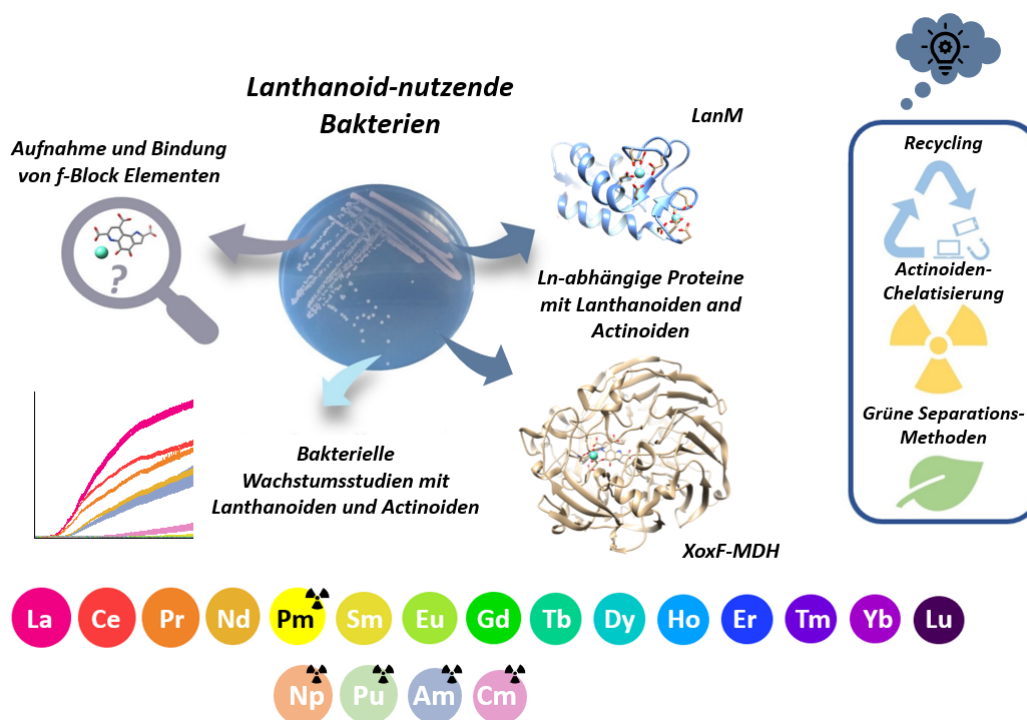
Ln-bindenden Proteinen sowie Wachstumsstudien mit zwei Ln-abhängigen bakteriellen Stämmen, sowohl im kleinen als auch im großen Maßstab. **Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob An in der Lage sind, die essentielle Rolle der 4f-Elemente im Ln-abhängigen bakteriellen Stoffwechsel zu übernehmen, und ob eine Präferenz für bestimmte Ln oder An vorliegt.**

In **Publikation 1** wurde beleuchtet, ob ausgewählte Actinoide, die schwereren und radioaktiven 5f-Elemente, auch von dem hochselektiven Ln-bindenden Protein LanM gebunden werden können. Darüber hinaus wurden die Bindungsaffinitäten der verschiedenen Ln und An verglichen, um festzustellen, ob ein Trend beobachtet werden kann. Die zeitaufgelöste laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie (TRLFS) mit  $\text{Eu}^{3+}$  und  $\text{Cm}^{3+}$  als lumineszente Sonden wurde genutzt, um das Konkurrenzverhalten zwischen allen Ln (außer Pm) und ausgewählten An (Np, Pu, Cm und Am) mit dem natürlichen Ln-Chelator LanM zu untersuchen. Relative Bindungsaffinitäten und Zeitkonstanten (die beschreiben, wie schnell das thermodynamische Gleichgewicht erreicht wird) von LanM mit jedem Ln und An wurden dafür bestimmt und verglichen. Bei Verwendung von  $\text{Eu}^{3+}$  als lumineszente Sonde für die Ln-Reihe lag die höchste relative Bindungsaffinität bei  $\text{Nd}^{3+}$  vor. Bei Nutzung von  $\text{Cm}^{3+}$  für die Fluoreszenzstudien von An mit LanM wurde sogar eine höhere relative Bindungsaffinität für das Actinoid  $\text{Am}^{3+}$  als für das Lanthanoid  $\text{Nd}^{3+}$  festgestellt, während  $\text{Nd}^{3+}$  und  $\text{Cm}^{3+}$  eine ähnliche Affinität zeigten. Pu und Np wiesen nur geringe Bindungsaffinitäten gegenüber LanM auf.

Basierend auf den vorangegangenen Ergebnissen wurde in **Publikation 2** die Auswirkung der Actinoide Pu, Am und Cm auf das Wachstum der Ln-abhängigen bakteriellen Stämme *Methylacidiphilum fumariolicum* SoIV und des *Methylobacterium extorquens* AM1  $\Delta mxaF$  Mutanten sowie auf XoxF-MDH untersucht. Diese An wurden gewählt, da ihre Ionen-Radien den frühen Ln ähneln und Am und Cm in einer stabilen +III-Oxidationsstufe vorliegen. Mit einem Farbstoff-gekoppelten Assay wurde die Substratumsetzung von XoxF-MDH mit verschiedenen An oder Ln im rekonstituierten, aktiven Zentrum quantifiziert. Mit den Actinoiden  $\text{Am}^{3+}$  und  $\text{Cm}^{3+}$  konnten Aktivitäten ähnlich zu den frühen Ln beobachtet werden, während mit Pu keine Methanolumwandlung nachgewiesen wurde. Beide methylo-trophen Bakterienstämme zeigten eine Biomassenzunahme bei Zugabe von  $\text{Am}^{3+}$  und  $\text{Cm}^{3+}$ . Dies war verbunden mit einer gleichzeitigen Abnahme der An-Konzentration aus dem Wachstumsmedium, was durch Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) und TRLFS-Messungen untersucht wurde. Mit Pu wurde kein positives Wachstumsverhalten beobachtet, höchstwahrscheinlich aufgrund der vielseitigen Redoxchemie von Pu, die hier vom metabolisch benötigtem +III-Zustand abweicht. Ein ähnliches Verhalten wurde bereits zuvor für die LanM-Bindungsstudien mit Np und Pu gezeigt, was auf die wichtige Bedeutung des Oxidationszustands hinweist. Die Kombination der *in vivo*-Wachstumsstudien und enzymatischen *in vitro*-Studien zeigt, dass methylo-trophe Bakterien bestimmte An anstelle von Ln nutzen können, um ihren C1-Stoffwechsel aufrechtzuerhalten – vorausgesetzt, sie besitzen die richtige Größe und einen stabilen +III-Oxidationszustand. Darüber hinaus wurde eine Präferenz für bestimmte An gegenüber den späten Ln beobachtet.



Abschließend konnten wir in **Publikation 3** zeigen, dass der bakterielle Stamm SolV effizient und selektiv Ln aus industriellen Abfällen, natürlichen Ln-haltigen Quellen und Bergbau-Abwässern extrahieren kann, trotz der Präsenz von großen Mengen an toxischen Schwermetallen. Wachstumsstudien unter verschiedenen Kultivierungsbedingungen in Kombination mit der Bestimmung der elementaren Zusammensetzung (mittels ICP-MS und optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma ICP-OES) des Wachstumsmediums, sowie eine anschließende Analyse der Biomasse zeigten ein unterschiedliches Wachstumsverhalten von SolV. Ammonium (neben CH<sub>4</sub> und CO<sub>2</sub>) ist essentiell für ein gutes bakterielles Wachstum und für die Aufnahme von Ln. Eine Kultivierung im größeren Maßstab sowie ein mehrzyklisches Verfahren enthüllten eine selektive Aufnahme insbesondere leichterer Ln durch den bakteriellen Stamm. Jedoch konnten durch Anpassung der verfügbaren Ln-Konzentration auch schwerere Ln aus verschiedenen Ln-Quellen entzogen werden. Durch zunächst ein kleines Screening, über Optimierungen bis hin zu einer erfolgreichen großtechnischen Anwendung in einem Bioreaktor wurde das Potenzial von SolV, als Plattform für die Trennung und Rückgewinnung von Ln und An zu agieren, gezeigt.



**Abbildung 1:** Überblick über die in dieser Arbeit behandelten Themen. Der Einfluss der abgebildeten Ln und An auf Ln-nutzende Bakterien und aus diesen Organismen isolierte Proteine wurde untersucht. Wachstumsstudien mit zwei verschiedenen bakteriellen Stämmen, mechanistische Untersuchungen von XoxF-MDH und Bindungsstudien mit LanM wurden realisiert. Die Ergebnisse ebnen neue Wege für das Recycling von f-Block Elementen, die Chelatierung von Actiniden und umweltfreundliche Trennmethode. Adaptiert von Daumann.<sup>[1]</sup>

Zusammenfassend ermöglichen alle präsentierten Ergebnisse tiefere Einblicke in die Auswirkungen von f-Block Elementen auf Ln-abhängige biologische Systeme. Die Größe der Elemente in Kombination mit einer stabilen +III-Oxidationsstufe spielen dabei eine entscheidende Rolle. Wir haben gezeigt, dass Ln-abhängige Bakterien und ihre Proteine, welche unterschiedliche Selektivitäten für f-Block Elemente aufweisen, für Anwendungen im Bereich Bioremediation, Recycling und Trennung von Ln und An verwendet werden können. Insbesondere der extremophile, streng Ln-abhängige bakterielle Stamm SolV erwies sich als vielversprechender Kandidat und fungierte als Plattform für die biologische Rückgewinnung von f-Block Elementen.

# Summary

Lanthanides (Lns) – as part of the f-block elements – have found their way into a variety of applications in our daily life. They are especially important for urgently needed sustainable and clean energy and transport applications such as efficient lighting, magnets in wind turbines and electric vehicles. Mining, extraction and separation of these elements is – despite new methods and technologies – still resource and energy intensive, along with the release of harmful radioactivity. Furthermore, recycling rates for Lns are still below 2 %, mostly because of economical reasons. These aspects of an adverse impact on the environment show that new ways for the recycling of these critical and indispensable elements need to be developed – to extend the life cycle as well as to reduce the environmental footprint. Lns have found their way into many aspects of our life, but also in biology they can play an important role. Over the last ten years, the biological relevance of Lns has been established in the context of methylotrophic bacteria. One of their key metabolic enzymes, a Lanthanide(Ln)-dependent methanol dehydrogenase (XoxF), was identified. Furthermore, lanmodulin (LanM), a natural Ln-chelator whose biological function has not yet been fully elucidated, was characterized. Various biological systems such as bacteria, yeast, fungi and algae have been found which are able to adsorb, uptake, bind or metabolize Lns. Up to this date, it is not completely understood why nature has chosen to especially use these elements. But with each new discovery in this rapidly emerging research field, more knowledge and mechanistic understanding is gained how these biological systems evolved a highly-efficient and selective Ln-uptake. This helps us to develop new bio-inspired strategies for recovery of f-block elements and paves new ways for green separation methods. In addition, extending the research from 4f to the heavier, radioactive 5f elements enables a general insight into a potential role of radioactive f-block elements in biological processes and brings up new methods for actinide (An) chelation or separation of f-block elements.

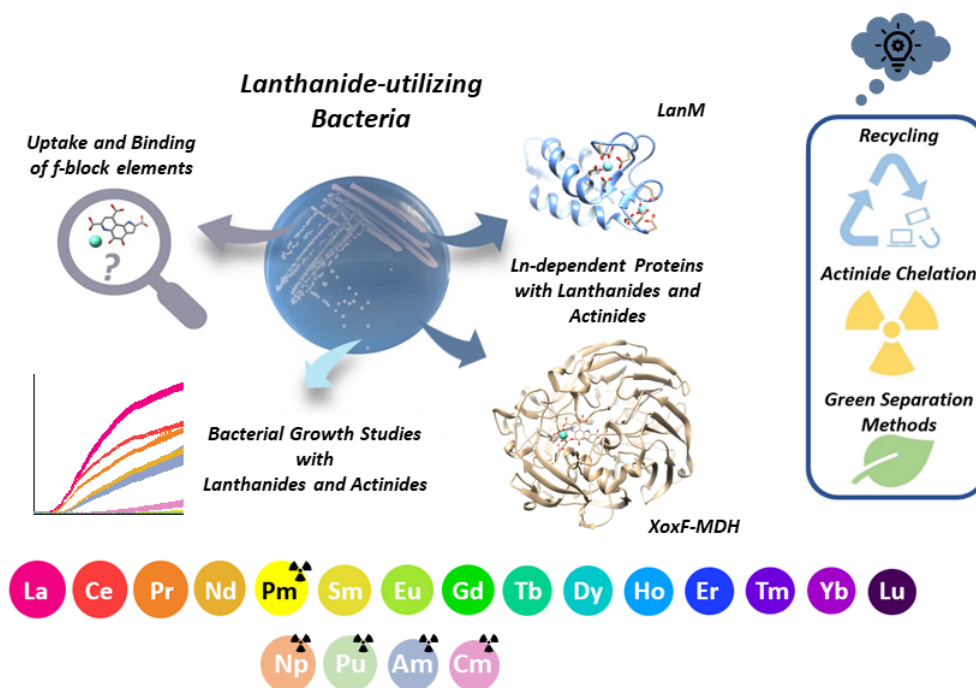
To explore the impact of f-block elements – Lns as well as selected actinides (Ans) – on biological systems, various topics were focused in this work. This includes kinetic and mechanistic investigations of Ln-dependent and Ln-binding proteins and growth studies with two Ln-dependent bacterial strains in small-scale up to large-scale application. **The aim of this work was to investigate if Ans are able to substitute the crucial role of 4f elements in Ln-dependent bacterial metabolism, and whether a preference for particular Lns or Ans can be identified.**

In **Publication 1**, we examined whether selected actinides, the heavier and radioactive 5f elements, can be also bound by the natural highly-selective Ln-binding protein LanM. In addition, we wanted to compare the binding affinities of the different Lns and Ans to evaluate if a trend can be observed. Time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS) with  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  as luminescent probes was used to study the inter-metal competition behavior of the natural Ln-chelator LanM with all Lns (except Pm) and selected Ans (Np, Pu, Cm and Am). Relative binding affinities and time constants (describing how fast the thermodynamic equilibrium is obtained) of LanM with each Ln and An were determined and compared. With  $\text{Eu}^{3+}$  as a luminescent probe for the Ln series, the highest relative binding affinity was observed for  $\text{Nd}^{3+}$ . When using the more sensitive  $\text{Cm}^{3+}$  for the fluorescence studies of An with LanM, even a higher relative binding affinity was displayed for the actinide  $\text{Am}^{3+}$  than for the lanthanide  $\text{Nd}^{3+}$ , while  $\text{Nd}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  bound with similar affinity. Pu and Np only revealed low binding affinities towards LanM.

Based on the previous, promising results, impact of the actinides Pu, Am and Cm on growth of the Ln-dependent bacterial strain *Methylobacterium extorquens* SolV and the *Methylobacterium extorquens* AM1  $\Delta mxaF$  mutant and XoxF-MDH was investigated further in **Publication 2**. These Ans were selected since their ionic radii are similar to the early Lns, and Am and Cm are available in a stable +III oxidation state. With an optimized dye-coupled assay, the substrate conversion rate of XoxF-MDH with different Ans or Lns in the reconstituted, active site was quantified. With the actinides  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$ , activities similar to the early Lns could be obtained while with Pu no MeOH conversion was detected. Both methylotrophic bacterial strains showed an increase of biomass with the addition of  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$ . In combination, a simultaneous depletion of the Ans from the growth medium was observed, which was shown by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and TRLFS measurements. Again, with Pu, no positive growth response was observed which is most probably because of the versatile redox chemistry of Pu – which deviates from the here metabolically needed +III state. A similar behavior was also shown previously for the binding of Np and Pu by LanM, pointing to the importance of the correct oxidation state. Combining the *in vivo* growth studies and the *in vitro* enzymatic and binding studies reveal that methylotrophic bacteria can utilize certain Ans instead of Lns to sustain their C1-metabolism, if they possess the correct size and a stable +III oxidation state. Moreover, a preference for certain Ans over late Lns was observed.

Lastly, we showed in **Publication 3** that the bacterial strain SolV can efficiently and selectively extract Lns from low-grade industrial waste sources, natural Ln-containing and post-mining waters, despite the presence of large amounts of toxic heavy metals. Growth studies in combination with the determination of elemental composition (with ICP-MS and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy ICP-OES) of the growth medium, and subsequent analysis of the biomass showed the influence of different conditions on the growth of SolV. Ammonium (besides  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$ ) is essential for a good bacterial growth and uptake of Lns. Upscaling and a multi-cyclic procedure revealed a selective depletion and uptake of especially lighter Lns by the bacterial strain. However, by adjusting

the concentration of available Lns, also heavier Lns could be removed from the different Ln-sources. By starting with a small-scale approach and going over multiple optimizations to a successful large-scale application in a bioreactor showed the potential of SolV as a platform for Ln and An separation and recovery.



**Figure 2:** Overview of the different topics presented in this work. The impact of the shown Lns and Ans towards Ln-utilizing bacteria and proteins isolated from these organisms was studied. Growth studies with two different bacterial strains, mechanistic investigations of XoxF-MDH and binding studies with LanM were performed. The obtained results pave new ways for the recycling of f-block elements, actinide chelation and green separation methods. Adapted from Daumann.<sup>[1]</sup>

In conclusion, all the obtained results provide a deeper insight into the impact of f-block elements on Ln-dependent biological systems. The ionic radius in combination with a stable +III oxidation play a key role. We showed that Ln-dependent bacteria and their proteins, displaying different selectivities for f-block elements, can be used for applications regarding bioremediation, recycling and separation of Ln and An. Especially the extremophilic, strictly Ln-dependent bacterial strain SolV was found to be a promising candidate, acting as a platform for bio-recovery of f-block elements.



# Contents

Danksagung	vii
Zusammenfassung	ix
Summary	xiii
<b>1 Introduction</b>	<b>1</b>
1.1 f-Block Elements	1
1.1.1 Lanthanides	3
1.1.2 Actinides	5
1.1.3 Properties: Similarities and Differences	6
1.2 Relevance of f-Block Elements in Biological Systems	11
1.3 Challenges and Open Questions regarding the Use and Recycling of f-Block Elements	15
1.3.1 Increasing Demand for Modern Technologies	15
1.3.2 Recycling and Recovery Approaches	17
<b>2 Aim of the study</b>	<b>21</b>
<b>3 Impact of f-Block Elements on Ln-dependent Bacteria and Proteins</b>	<b>23</b>
3.1 Binding Studies with the Highly Selective Ln-binding Protein LanM	24
3.2 Growth Studies of Ln-dependent Bacterial Strains and Mechanistic Investigations of XoxF-MDH	46
3.3 Bio-Recovery of f-Block Elements with the Bacterial Strain SolV	104
<b>4 Publications and presentations</b>	<b>141</b>
4.1 Publications Published as Part of this Thesis	141
4.2 Publications Published that are not Part of this Thesis	141
4.3 Publications Published Prior to this Thesis	142
4.4 Oral Presentations	143
<b>5 Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie</b>	<b>145</b>
5.1 Zusammenfassung	145
5.2 Das vertiefte Lehramtsstudium der Chemie und Biologie an der LMU	149

---

5.3	Stand der Vorarbeiten . . . . .	153
5.3.1	Digitalisierung . . . . .	153
5.3.2	Verknüpfung von Fachwissenschaft und Didaktik, Stärkung des Berufsfeldbezuges . . . . .	156
5.4	Projektziele . . . . .	158
5.5	Projektergebnisse . . . . .	159
5.5.1	Anforderungen . . . . .	159
5.5.2	Projektplan . . . . .	161
5.5.3	Maßnahme 1: Identifizierung von Quervernetzungen . . . . .	162
5.5.4	Maßnahme 2: Etablierung von Seminaren . . . . .	166
5.5.5	Maßnahme 3: Erstellung von Wissenslernkarten . . . . .	182
5.5.6	Maßnahme 4: Nachhaltige Sicherung der erstellten Materialien . . .	186
5.6	Ausblick . . . . .	189
<b>A</b>	<b>Appendix zu Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie</b>	<b>191</b>
A.1	Wissenslernkarten . . . . .	191
A.2	Vorlagen für Kurzprotokolle, Beurteilungen und Hilfestellungen für Studierende . . . . .	216
A.3	Evaluationsergebnisse der abgehaltenen Seminare . . . . .	223
A.4	Vorträge . . . . .	232
A.5	Posterpräsentationen . . . . .	233
<b>B</b>	<b>Bibliography and List of Abbreviations</b>	<b>235</b>



# Chapter 1

## Introduction

*...As the unseen maestros of the molecular orchestra, the f-block elements quietly compose the essential notes that resonate through the tapestry of our daily lives, orchestrating everything from the vibrant hues of our screens, silent power within nuclear technologies, nuanced rhythms of medical advancements, to the sustainable hum of clean energy technologies...\**

This poetic sentence, created by artificial intelligence, accurately captures the huge impact of f-block elements on all our lives nowadays. In doing so, these elements have entered many niches of our daily life. But despite their indispensability in modern technologies, there are downsides and challenges we have to face towards a responsible handling of available resources and a conscientious operation of legacy issues, also for future generations.

### 1.1 f-Block Elements

The lanthanides (Lns, or rare-earth elements REEs if Sc and Y are included) are the 14 elements ranging from Ce to Lu.<sup>[2]</sup> However by common practice La is also included, since lanthanoid means "like lanthanum".<sup>[3]</sup> They further can be divided into the light or early (La-Sm) and heavy or late (Eu-Lu) Lns, with Sm and Eu (and sometimes also Gd) being a borderline case, as they are assigned to light or heavy depending on the subdivision and cited literature.<sup>[4,5]</sup> One argument, also supported by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), for designating La to Gd as light Lns is that they have unpaired 4f electrons, whereas heavy (Tb-Lu) Lns have paired electrons.<sup>[6]</sup> The classification with a further subdivision into light (La-Nd), medium (Sm-Gd) and heavy (Tb-Lu) Lns is used in process engineering due to the precipitation and sedimentation during separation.<sup>[7,8]</sup> In the biochemistry community, the division is commonly made between La to Eu as light, and from Gd to Lu as heavy, most likely due to the biological relevance of Lns.<sup>[9,10]</sup> We will adapt this classification in the following work (Figure 1.1).

---

\*This phrase was generated with artificial intelligence, using ChatGPT 3.5

The Lns together with their heavier, radioactive siblings, the actinides (Ans) belong to the f-block elements. The Ans include the 14 elements Th to Lr, with Ac also generally included by common usage. Similar to the Lns, there exist also different subdivisions. One possible division is into light or early (Ac-Am) and heavy or late (Cm-Lr) Ans. Another classification commonly used in nuclear power industry is major (Pu, U) and minor Ans (Np, Am, Cm, Bk and Cf) which represents the composition of a spent nuclear reactor.<sup>[11]</sup> The transuranium elements include all elements with a higher atomic number than U. The classification does not end with the last actinide (An) Lr, but extends to the super heavy transactinides (Rf-Og, not shown in Figure 1.1).<sup>[12]</sup>

Lanthanides (Lns)															
4f	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 <u>Pm</u>	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
5f	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 <u>Np</u>	94 <u>Pu</u>	95 <u>Am</u>	96 <u>Cm</u>	97 <u>Bk</u>	98 <u>Cf</u>	99 <u>Es</u>	100 <u>Fm</u>	101 <u>Md</u>	102 <u>No</u>	103 <u>Lr</u>
Actinides (Ans)															
Major Ans				Minor Ans (Nuclear Energy)											
Light or early Ans (Common Terminology)					Heavy or late Ans										
Transuranium elements (IUPAC)															

**Figure 1.1:** Part of the periodic table showing the f-block elements and the different classifications. The Lns are shown with a blue background, while the Ans display a red background. A white font indicates that the elements occur naturally, while a black font together with a dashed outline highlights synthetic elements. Element symbols of radioactive elements are underlined.

The Lns and Ans appear as a pop-out at the bottom of the periodic table between the scandium (III) and titanium (IV) group, whereby La and Ac should correctly be assigned to the former group. The arrangement, which places Ans directly under the Lns, was not chosen arbitrarily.<sup>[13]</sup> In 1941, the known Ans (Th-Pu) were placed mistakenly as part of the d-block elements under the 5d elements Hf to Os, as Th and Pa showed chemical similarities towards Hf and Ta as well as Zr and Nb.<sup>[14]</sup> However, it was noticed that Np and Pu did not share any properties with Re, Os or Ru, but Np and Pu were very similar to Th and Pa.<sup>[15]</sup> The actinide concept or actinide hypothesis represented by Seaborg in 1944 suggested the placement of Th under Ce, and the corresponding addition of the actinide (An) series with increasing atomic number analogous to the Lns.<sup>[16]</sup> In this context, also the name "Actinides" was suggested, to emphasize the similarities.<sup>[15]</sup> This

initially controversially debated concept is nowadays widely accepted, and made a major contribution to the discovery of the transuranium elements.<sup>[14,17]</sup> Among other things, this led to the discovery of the elements Am and Cm based on an experimental setup deduced by the assumed similarities to Eu and Gd.<sup>[17]</sup> The relative lanthanide (Ln) elution positions of a cation exchange column were used for the chemical separation, identification and further characterization of the Ans.<sup>[13,18,19]</sup> However, the chemical properties of No showed the limits of the concept, since it is not prevalent in the expected +III state in solution, but exhibits a divalent ion.<sup>[20]</sup> The fast growing research field of Ans in the middle of the 20th century showed that the Ans have a unique chemistry and scopes, but also limitations of the An hypothesis were investigated.<sup>[13]</sup> Nevertheless, the actinide concept provided the framework and foundation for the characterization of the Ans.

Classified as inner transition metals, the Lns and Ans exhibit typical metallic properties. They partially fill their 4f or 5f orbitals respectively with increasing atomic number, resulting in the classification 4f elements for Lns, and 5f elements for Ans.<sup>[21]</sup> Lns and Ans have plenty of similarities when it comes to their properties such as the Ln or An contraction which can be attributed to their specific electron configuration. However, some of the properties could not be more different. For example, especially the early Ans have a more versatile redox chemistry with up-to-date known +II to +VII states while Lns are mainly limited to the +III state, with exceptions of +II and +IV.<sup>[22,23]</sup> Exactly these properties can be used beneficially, and show the potential of those elements for further investigations in new research advances.

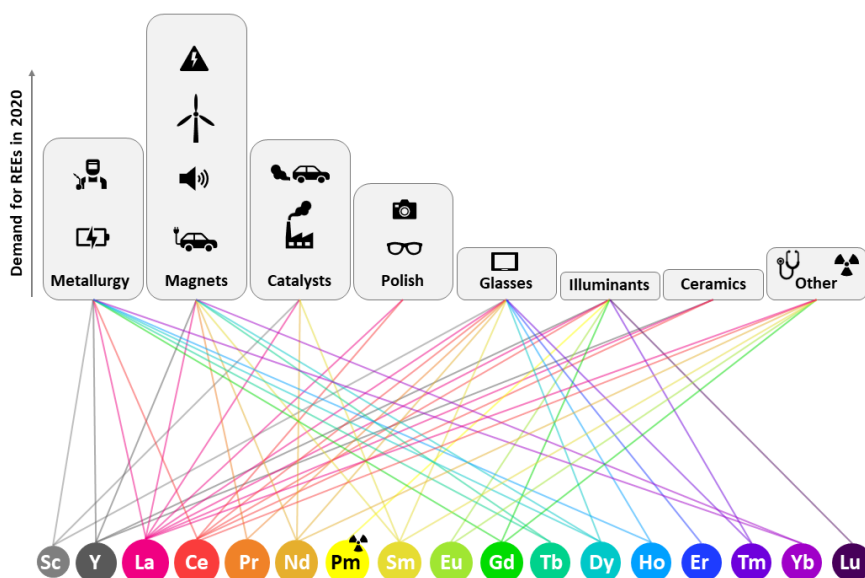
### 1.1.1 Lanthanides

**Note:** When looking at the occurrence and application of Lns, Sc and Y will be included and therefore the term REEs is used. Y is counted towards the heavy REEs (Gd-Lu), while Sc is not part of the two subgroups since it does not occur in deposits of light or heavy REEs.<sup>[24,25]</sup>

The REEs are not radioactive, with the exception of Pm, and occur naturally in significant amounts in the environment. The light Lns as well as Sc and Y occur with similar abundances to Cu or Zn.<sup>[26,27]</sup> The two rarest naturally occurring REEs, Tu and Lu, are still more common than Ag or Pt.<sup>[28-30]</sup> In general, the light REEs have a higher occurrence than the heavy REEs, and the ones with an even atomic number are more abundant than the immediately adjacent elements with odd atomic numbers (Oddo-Harkins rule).<sup>[31-33]</sup> Pm is one of the rarest elements on earth, its total presence was estimated to 500 g of <sup>147</sup>Pm, while all other isotopes are only available synthetically.<sup>[34,35]</sup> On the contrary to other metals such as Au or Ag, the REEs in ores naturally are present in a dispersed form and usually co-appear. It is probably due to this property in combination with the chemical and physical similarities that the discovery, separation and identification of all non-radioactive REEs took almost 100 years, starting with Y in 1794 and ending with Lu in 1907.<sup>[2]</sup> The first REEs were discovered as part of the mineral

gadolinite by Johann Gadolin. He named the mixture "yttria", which was later found to be a mixture of Y, and mainly heavy REEs. Ten years later, "ceria" was found by Klaproth, Berzelius and Hisinger which was mainly consistent of light REEs.<sup>[2,30,36]</sup> The correct identification and separation of each REE – as listed on the periodic table today – was a laborious and complicated task, marked by a multitude of heated debates and erroneously claimed new elements.<sup>[37,38]</sup>

The separation and large-scale production of these REEs are also subjects whose relevance and dynamics continue to this day. Main sources of REEs are the minerals bastnasite  $\text{LnFCO}_3$  and monazite  $(\text{Ln,Th})\text{PO}_4$  (both containing mainly light REEs) and xenotime  $(\text{Y,Ln})\text{PO}_4$  (higher concentration of heavy REEs), but more than 250 REE-containing minerals are known.<sup>[24]</sup> Light REEs tend to be present in carbonates and phosphates while heavy REEs are found as oxides.<sup>[24]</sup> First separation strategies using fractionated crystallizations were described by Carl Auer von Welsbach, Charles James and Georges Urbain in the early 20th century, and enabled the identification of the last missing REEs.<sup>[39–41]</sup> This process included a high number of tedious stages, but was the means of choice for high purity REE production until the ion exchange chromatography technology was discovered in the 1940s by Frank Speding.<sup>[42]</sup> This still included various steps, but was more efficient than procedures described before which is why this method was the golden standard until the 1970s. At this time solvent extraction methods developed for large industrial scale which also met the increasing demand for these elements, and is nowadays the preferred method for a commercial scale.<sup>[43]</sup>



**Figure 1.2:** Contribution of all REEs in different applications in 2020. The high of the different sectors displays the demand in 2020. Data and information was adapted from Pöttgen and Koltun.<sup>[7,37]</sup> The size of the different elements display the trends of the ionic radii of  $\text{REE}^{3+}$ .

The necessity to continually develop and improve large-scale separation methods was driven by the numerous applications of REEs. The first known application of a REE was with La in the form Auer von Welsbach developed "Auerlicht", a gas lamp with a La-containing mantle called "Actinophor".<sup>[36]</sup> Later, La was replaced with Ce and Th, which is nowadays still used. However, it would take another 100 years until the next major industrial application. The first REE-containing magnets were introduced to the market in the 1980s.<sup>[37]</sup> Since then, the application of REEs has strongly increased and REEs are indispensable in various high-tech and green technologies, driving innovation across multiple industries (Figure 1.2). These include e.g. clean energy applications (wind turbines, electric vehicles), environmental technologies (water treatment, catalysts), electronics (permanent magnets, catalysts, light-emitting diodes (LEDs)), ceramics and glass (glass polishing), medical applications (magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents, cancer treatment), communication sector (laser, fiber optics), military (radar guidance systems, night-vision goggles) and agricultural applications.<sup>[24,44]</sup>

### 1.1.2 Actinides

In contrast to the Lns, the Ans are all radioactive with decreasing half-lives with ongoing atomic number. Half-lives ranging from seconds ( $t_{1/2}({}^{230}\text{Am}) = 32 \text{ s}$ ), minutes ( $t_{1/2}({}^{260}\text{Lr}) = 3 \text{ min}$ ), hours ( $t_{1/2}({}^{259}\text{Lr}) = 1 \text{ h}$ ), days ( $t_{1/2}({}^{253}\text{Es}) = 20.47 \text{ d}$ ) to several million years ( $t_{1/2}({}^{235}\text{U}) = 7.04 \times 10^8 \text{ y}$ ) are known.<sup>[30]</sup> Only U and Th are considered to be present in significant amounts on earth which are in a similar concentration (Th = 8.5 ppm, U = 1.7 ppm) to the heavy Lns (0.3 to 4 ppm),<sup>[28]</sup> and were already discovered by Berzelius in 1829 (Th) and Klaproth in 1789 (U).<sup>[45]</sup> However, their radioactivity was first observed at the end of the 19th century by Schmidt, Curie and Becquerel.<sup>[45]</sup> Main source of the long-lived isotope  ${}^{232}\text{Th}$  is monazite which is also one of the main sources of REEs.  $\text{ThO}_2$  can reach up to 20 % by weight and  $\text{UO}_2$  up to 16 % in this ore.<sup>[46]</sup> Further Th sources are thorianite ( $\text{ThO}_2$ -based) and thorite ( $\text{ThSiO}_4$ -based).<sup>[47]</sup> For the naturally occurring, long-lived isotopes  ${}^{238}\text{U}$  (99.27 %),  ${}^{235}\text{U}$  (0.72 %) and  ${}^{234}\text{U}$  (0.0055 %),<sup>[48]</sup> various minerals are known which contain mainly  $\text{UO}_2$  and  $\text{U}_3\text{O}_8$  such as uraninite (formerly known as pitchblende) or coffinite.<sup>[49]</sup> For U and Th, the extraction is similar to the REEs and based on leaching with acids or bases, and subsequent separation by precipitation. When U is further used for nuclear fuel production, the concentration of  ${}^{235}\text{U}$  is increased e.g. with gas centrifugation or gaseous diffusion.<sup>[30]</sup> Ac and Pa belong to the rarest naturally occurring elements, since they are decay products of  ${}^{235}\text{U}$  and  ${}^{238}\text{U}$ , and can be found in low concentration in uranium ores (per tonne of ore 0.2 mg Ac and 0.3 to 3 ppm Pa).<sup>[50]</sup> Np and Pu isotopes are also present in atom scale in uranium ores due to neutron capture. But most of the Ans are synthetic products of the 20th century. The transuranium elements were synthesized and characterized from 1940 (Np) to 1958 (No) by Seaborg and his group based on heavy atom bombardment with neutrons in reactors, particles in accelerators, or resulting from nuclear detonations.<sup>[12]</sup> His efforts in the discovery of these elements were honored with naming the transactinide element seaborgium after him.

Each An provides at least more than one isotope, and most of them can exhibit a variety of isotopes. Accordingly, today there exist different applications, such as in the medical sector as radiopharmaceuticals for cancer treatment in targeted-alpha therapy ( $^{225}\text{Ac}$  and  $^{252}\text{Cf}$ ).<sup>[51,52]</sup> But when considering the applications of Ans, they are commonly and mainly known for their uses in the energy sector and the military industry, namely the production of atomic fission bombs.<sup>[50]</sup> In this context, mainly U as well as Th and Pu are used. For energy generation in nuclear reactors, enriched U is required (an increase in the  $^{235}\text{U}$  content from 0.7 to 3.5-5 %), which, upon neutron bombardment and subsequent decay, releases heat energy as a consequence of the nuclear chain reaction.<sup>[53]</sup> Once the reactor fuel is depleted, U, fission products, and minor actinides remain.<sup>[50]</sup> However, there is also ongoing research on  $^{232}\text{Th}$ , which is transformed into  $^{233}\text{U}$  through neutron absorption and serves as a fuel.<sup>[54]</sup> Th plays a role in composition of multicomponent alloys. Materials based on Mg and Th with the addition of elements such as Ag, Zr, Zn, or REEs are used in aviation technology and armored vehicles due to their high resistance to deformation and temperature, as well as their lightweight properties. Depleted U (with a lower content of  $^{235}\text{U}$ ) is used in the military sector as part of armors, bullets and bombshells. The high density and associated hardness play a role, as well as the pyrophoric effect. During the explosion, hot radioactive gases are produced, which is now viewed critically, particularly in terms of environmental impact.  $^{239}\text{Pu}$  is the key component of nuclear weapons, with its most known representative the "Fat Man" which exploded in Nagasaki in 1945.<sup>[50]</sup>

Due to radioactive decay, isotope dating of naturally occurring Ans is also used for age determination in various geological materials.<sup>[55]</sup> Another way to profit from the radioactive decay and its heat are thermoelectric generators in satellites, spaces probes and pacemakers ( $^{238}\text{Pu}$ ,  $^{241}\text{Am}$  and  $^{242}\text{Cm}$ ).  $^{241}\text{Am}$  was previously used as alpha particle source in ionization smoke detectors.<sup>[56]</sup>

However, applications are not developed solely based on radioactive emissions. The diverse redox chemistry, especially of the earlier members of the group, is also utilized. For example, tetravalent Th has been used as a efficient and long-lived catalyst in the Fischer-Tropsch synthesis, and depleted  $\text{UO}_2$  catalyzes the degradation of volatile organic compounds.<sup>[57,58]</sup> In addition, the light emitting properties of Th and U were used. Th as part of the incandescent gas mantle of the Auerlicht (see subsection 1.1.1) which still can be purchased today. U was added to glass for coloring purposes, resulting in a green fluorescence once irradiated with UV light. In the semiconductor industry, U can be used for Schottky diodes or for p-n-p transistors.<sup>[59,60]</sup>

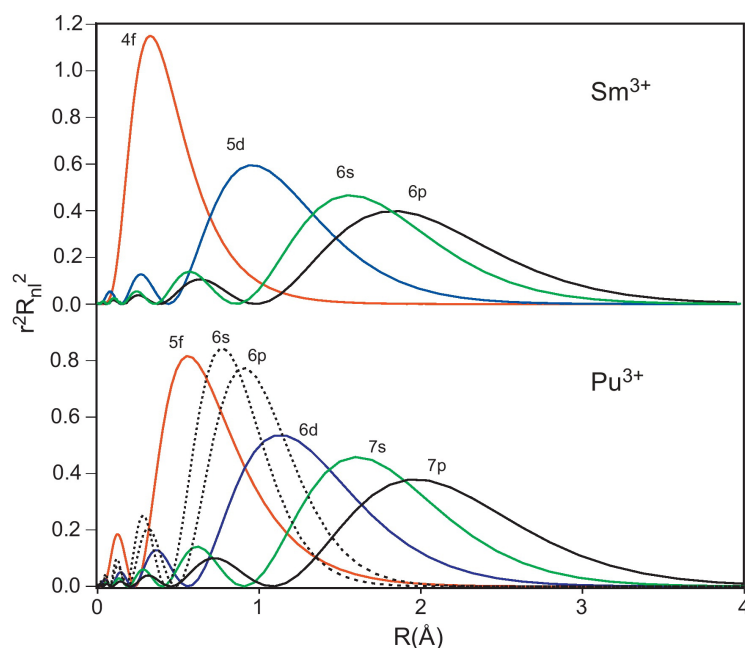
### 1.1.3 Properties: Similarities and Differences

**Note:** The following section is based on literature by Cotton,<sup>[30]</sup> Liddle,<sup>[50]</sup> Seaborg,<sup>[21,61]</sup> Moss,<sup>[12]</sup> Choppin,<sup>[22]</sup> Neidig<sup>[62]</sup> and Bilewicz.<sup>[63]</sup>

As stated above, the chemistry of Lns and Ans shows similarities, but also various differences, resulting in a complex system which is nowadays still an emerging field.

Lns and Ans belong both to the f-block elements, and one might expect that 4f and

5f orbitals result in a similar behavior, however, this is not the case. With increasing atomic number, the Ln-series partially fills their 4f orbitals, the An-series their 5f orbitals respectively. In this context, the nature of the bonding that Lns or Ans can form with other adjacent atoms or ligands is influenced by the orbitals (Figure 1.3). The bonding character and redox chemistry of the light Ans is intermediate between the chemistry of transition metals and the Lns. On contrary, the heavy Ans show similar properties to the Lns. Both systems exhibit decreasing ionic radii with an increasing atomic number, also known as the lanthanide or actinide contraction (Figure 1.4). Some of these properties are directly or indirectly related to the electronic configuration of these elements (Table 1.1).



**Figure 1.3:** Relativistic radial distribution functions for  $\text{Sm}^{3+}$  with 4f orbitals and  $\text{Pu}^{3+}$  with 5f orbitals. Reprinted from *Coordination Chemistry Reviews*, 257, 2, M.L. Neidig, D.L. Clark, R.L. Martin, Covalency in f-element complexes, 395.,<sup>[62]</sup> © Copyright (2012), with permission from Elsevier.

The 4f orbitals of the Lns are close to the nucleus, shielded by the additional 5s, 5p, and 6s orbitals (only small overlap with these orbitals). In the case of Ce, Gd, and Lu, the 5d orbital is also present. As a result, the electrons of the 4f orbitals can be described as localized. Consequently, the 4f orbitals are not strongly involved in bond formation, resulting in primarily ionic character and an electrostatic metal-ligand interaction. This pattern remains consistent across the Ln-series, resulting in a dominant +III oxidation state and only small chemical and physical differences.<sup>[22]</sup>

For the light Ans, the situation is different, since the 5f orbitals exhibit a larger distance to the nucleus than the 4f, which might result in a better metal-ligand interaction. In addition, the 5f orbitals are more spatially extended in comparison to the 4f orbitals, and have greater radial overlap with the outer 6d, 7s and 7p orbitals, allowing them to participate more easily in bonding. This increased participation in bonding suggests that

**Table 1.1:** Electronic configuration of the Lns and Ans.<sup>[12,30]</sup>

Z	Element	Electronic configuration	Z	Element	Electronic configuration
57	La	[Xe] 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	89	Ac	[Rn] 6d <sup>1</sup> 7s <sup>2</sup>
58	Ce	[Xe] 4f <sup>1</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	90	Th	[Rn] 6d <sup>2</sup> 7s <sup>2</sup>
59	Pr	[Xe] 4f <sup>3</sup> 6s <sup>2</sup>	91	Pa	[Rn] 5f <sup>2</sup> 6d <sup>1</sup> 7s <sup>2</sup>
60	Nd	[Xe] 4f <sup>4</sup> 6s <sup>2</sup>	92	U	[Rn] 5f <sup>3</sup> 6d <sup>1</sup> 7s <sup>2</sup>
61	Pm	[Xe] 4f <sup>5</sup> 6s <sup>2</sup>	93	Np	[Rn] 5f <sup>4</sup> 6d <sup>1</sup> 7s <sup>2</sup>
62	Sm	[Xe] 4f <sup>6</sup> 6s <sup>2</sup>	94	Pu	[Rn] 5f <sup>6</sup> 7s <sup>2</sup>
63	Eu	[Xe] 4f <sup>7</sup> 6s <sup>2</sup>	95	Am	[Rn] 5f <sup>7</sup> 7s <sup>2</sup>
64	Gd	[Xe] 4f <sup>7</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	96	Cm	[Rn] 5f <sup>7</sup> 6d <sup>1</sup> 7s <sup>2</sup>
65	Tb	[Xe] 4f <sup>9</sup> 6s <sup>2</sup>	97	Bk	[Rn] 5f <sup>9</sup> 7s <sup>2</sup>
66	Dy	[Xe] 4f <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup>	98	Cf	[Rn] 5f <sup>10</sup> 7s <sup>2</sup>
67	Ho	[Xe] 4f <sup>11</sup> 6s <sup>2</sup>	99	Es	[Rn] 5f <sup>11</sup> 7s <sup>2</sup>
68	Er	[Xe] 4f <sup>12</sup> 6s <sup>2</sup>	100	Fm	[Rn] 5f <sup>12</sup> 7s <sup>2</sup>
69	Tm	[Xe] 4f <sup>13</sup> 6s <sup>2</sup>	101	Md	[Rn] 5f <sup>13</sup> 7s <sup>2</sup>
70	Yb	[Xe] 4f <sup>14</sup> 6s <sup>2</sup>	102	No	[Rn] 5f <sup>14</sup> 7s <sup>2</sup>
71	Lu	[Xe] 4f <sup>14</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	103	Lr	[Rn] 5f <sup>14</sup> 7s <sup>2</sup> 7p <sup>1</sup>

a greater variety of oxidation states in Ans is present. Furthermore, the 5f orbitals can be involved in covalent interactions. For the heavy actinides, the influence of direct relativistic orbital contraction increases. Due to the relativistic increase in mass of the heavier Ans based on Einstein's theory of relativity ( $E=mc^2$ ), the 5f orbitals contract. This stronger attraction between the nucleus and electrons results in more localized electrons which are less available for participation in bonding, and the distance between the 5f orbital and the outer orbitals rises. Consequently, heavy Ans tend to exhibit more ionic characteristics in bonding. These relativistic effects are also strongly expected to affect the predicted electronic configuration of No and Lr, which is different to its siblings Yb and Lu. Due to the strongly relativistic effects, the 7p orbital is stabilized below the 6d orbital.<sup>[64]</sup> Theoretical calculations suggest that the stability of the +II oxidation state might be enhanced due to the influence of the special stability associated with the filled 5f<sup>14</sup> orbital and the 5f<sup>14</sup> 7s<sup>2</sup> electronic configuration.<sup>[12,50]</sup> But experimental investigations of No and Lr chemical properties are challenging due to its short half-life and limited availability, and much of the information is based on predictions and theoretical considerations.

## Oxidation States

The known oxidation states of Lns and Ans in solution and solid phase are shown in Table 1.2, the most prevalent state in solution is displayed in bold. The Lns exhibit a stable +III state in solution, with a few exceptions known of +II (Sm, Eu, Yb) and +IV (Ce, Pr, and Tb). The light Ans from Th to Pu exhibit various oxidation states from +I to +VII, and are stable in high oxidation states in solution. Ac and the heavy Ans



Am to Md and Lr are present in +III in solution, while No is +II. Especially in the field of Ans, it is expected that the number of possible oxidation states might increase in the future. It has been demonstrated only in the last decade that Th, U, Np, and Pu can also exhibit a +II oxidation state through different ligands,<sup>[65-68]</sup> and also for U the oxidation state +I was observed.<sup>[69,70]</sup> The +VIII state was also described for Pu, however this observation was not confirmed yet.<sup>[71,72]</sup> In general, lower oxidation states are promoted by an acidic environment while under basic conditions, higher oxidation states are preferred in solution.<sup>[22]</sup>

**Table 1.2:** Known oxidation states of Lns and Ans, the most common in aqueous environment is bold.<sup>[30,50,61]</sup> All displayed oxidation states are positive.

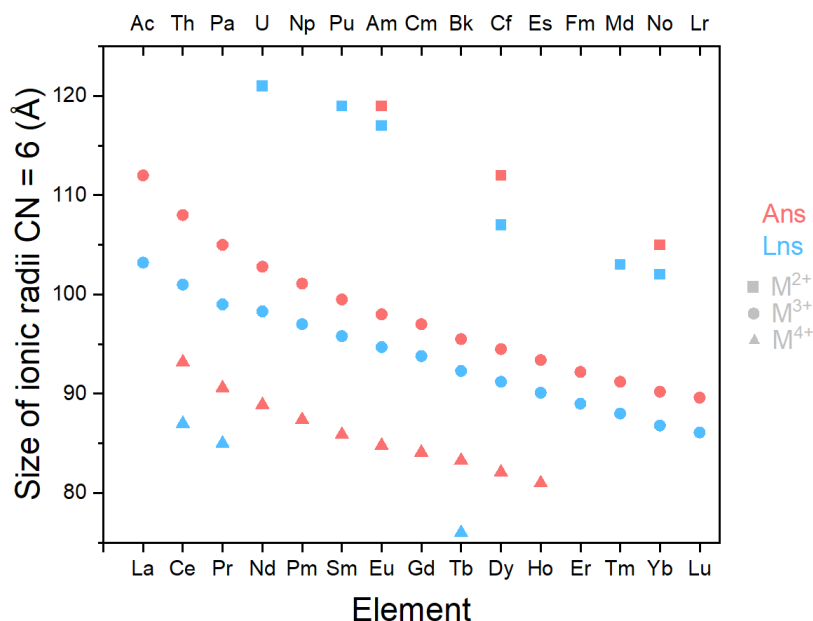
La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
		II	II	II	II	II			II	II		II	II	
<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>
	IV	IV	IV					IV	IV					
Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
			I											
	II		II	II	II	II			II	II	II	II	<b>II</b>	
<b>III</b>	III	III	III	III	III	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	III	<b>III</b>
	<b>IV</b>	IV	IV	IV	<b>IV</b>	IV	IV	IV	IV					
		<b>V</b>	V	<b>V</b>	V	V								
			<b>VI</b>	VI	VI	VI								
				VII	VII									

The Lns mainly display an ionic binding behavior in solution, with  $\text{Ln}^{3+}$  as the most prevalent form. For the Ans, the situation is different. They can be spherical (+II to +IV) and can form axial actinyl species  $(\text{O}=\text{An}=\text{O})^{n+*}$  (+V and +VI).  $\text{An}^{3+}$ ,  $\text{An}^{4+}$ ,  $\text{AnO}_2^+$ ,  $\text{AnO}_2^{2+}$  and  $\text{AnO}_5^{3-}$  are known, and various disproportionation reactions from one form to another were described. In this context, Pu is especially noteworthy as it can coexist simultaneously in four different oxidation states (+III, +IV, +V, +VI) in an aqueous solution.<sup>[21]</sup>

### Size of Ionic Radii

The Ln and An-series undergo a decrease of the internuclear ionic size with increasing atomic number (Figure 1.4), and this contraction is caused by their unique electronic configuration. The reduction of size is about 20 % from La to Lu and lightly more pronounced for Ac to Lr.<sup>[50]</sup> Since the 4f and 5f orbitals are diffuse and do not shield their outermost orbitals sufficiently, the valence orbitals are attracted towards the nucleus,

\* n = 1 or 2



**Figure 1.4:** Ionic radii of Lns and Ans in solution, as  $M^{2+}$ ,  $M^{3+}$  and  $M^{4+}$ . CN = 6 for all displayed radii. Based on the data provided by Seaborg and Choppin.<sup>[22,61]</sup>

and the electron cloud starts to contract.<sup>[73]</sup> In addition to the increased effective nuclear charge, relativistic effects also enhance the contraction.<sup>[63]</sup> As a consequence, the stability of a certain ligand with different Lns or Ans increases with ongoing atomic number, which is displayed for example with the well-studied ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA).<sup>[74]</sup> The extent of contraction also depends on the number of binding atoms, also known as the coordination number (CN). The higher the CN, the more pronounced the contraction.<sup>[75]</sup> In general for  $\text{Ln}^{3+}$ , CN can range from 2 to 12, but most prominent are CN of 8 or 9.<sup>[76]</sup> Ans also exhibit a variety of CNs (3 to 14), and due to their large ionic radii they are mainly present in higher CNs from 8 to 10.<sup>[77]</sup> The CN is dependent on the ionic size and oxidation state of the Lns or Ans, and the steric properties of the ligand. Since Lns and Ans are hard Lewis acids, complexes with ligands containing O and N are often described, while ligands with S and P are less often represented.<sup>[50]</sup> In a biological context, proteins with carboxyl groups might be preferred.<sup>[76]</sup>

Furthermore, the radii of selected Lns and Ans, are similar to the size of Ca ( $\text{Ca}^{2+}$ : 100 Å,  $\text{La}^{3+}$ - $\text{Lu}^{3+}$ : 103.2-86.8 Å,  $\text{Ac}^{3+}$ - $\text{No}^{3+}$ : 112-89.6 Å, for all CN 6) and they share the properties of hard Lewis acids.<sup>[21,22,78]</sup> Despite  $\text{Ca}^{2+}$  preferring the CN 7 and  $\text{Ln}^{3+}$  exhibiting a preference for higher coordination numbers in biological systems (CN = 8), the distances between these metals and their ligands do not differ significantly. For  $\text{Ca}^{2+}$ -O, an average distance of 2.43 Å was described while for  $\text{Ln}^{3+}$ -O values of 2.55 Å are given.<sup>[79,80]</sup> Ca plays a key role in various biological pathways and processes. Accordingly, f-block elements can replace Ca under specific conditions. This was already utilized for more than 50 years especially in the field of metalloproteins, as Lns and Ans exhibit a

variety of spectroscopic and magnetic properties that the relatively "silent" Ca does not possess.<sup>[76,81–83]</sup> This allows studies to better understand biological processes, and has been demonstrated, among others, in the case of Calmodulin, which binds to  $\text{Ca}^{2+}$  as well to the luminescent probes  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$ .<sup>[84]</sup>

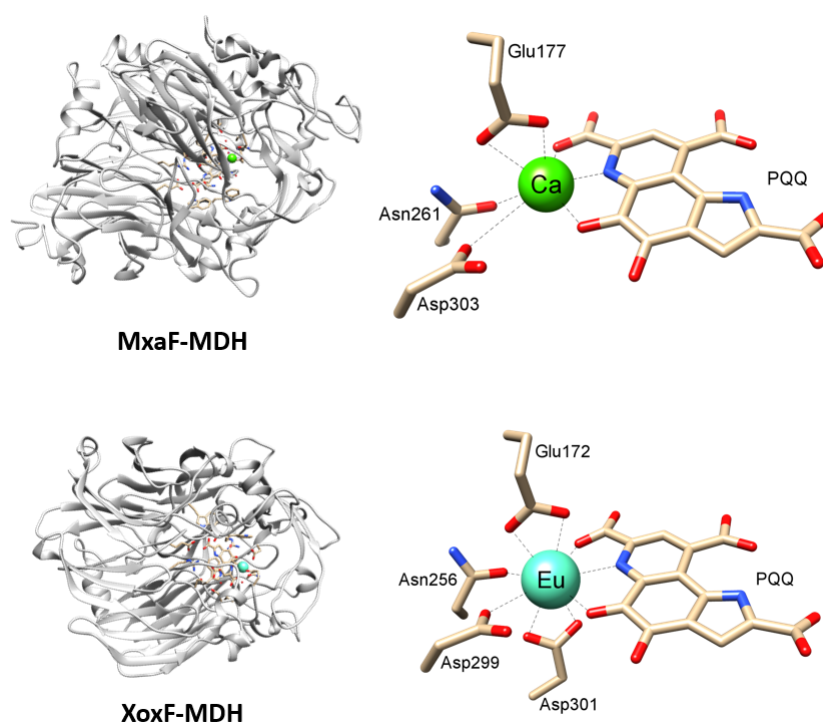
## 1.2 Relevance of f-Block Elements in Biological Systems

**Note:** The research area focusing on the impact of f-block elements on different biological systems, especially related to the development of bio-recovery and recycling strategies for these elements, has undergone a dynamic development in the last 10 years. Accordingly, this introduction represents a snapshot that contextualizes the most recent and relevant developments to this day. At the beginning of this dissertation, little was known about the influence of Ans on Ln-dependent biological systems. However, over the last 5 years, various questions, including those addressed by us, have been illuminated and more mechanistic understanding could be gained. Since the in this work presented publications address also this topic, additional introductions are available in the respective publications.

Even though Lns have been known as probes for Ca in biological systems for over a half century,<sup>[76,83,85]</sup> it was assumed for a long time that Lns could not play an essential biological role – caused by the name themselves, which allows the fallacy that their abundance is low. To be consider as a biological relevant element, two basic requirements must be fulfilled. They must be abundant in adequate concentrations and available in a form that can be absorbed, utilized, or retained by living organisms.<sup>[9,86]</sup>

In the course of evolution, Ln have made their way into may niches in biology, including extremophilic and mesophilic bacteria, capturing aquatic ecosystems, extreme environments and the phyllosphere of plants.<sup>[9,87,88]</sup> Adsorption of Lns towards extracellular molecules or the surfaces of organisms has been known for a long time, and mainly based on phosphates, hydroxyl groups and carboxylates, also in the context of recovery and separation of Lns.<sup>[89,90]</sup> However, these processes can be described as non-specific. The first results indicating a specific utilization of Lns in biological systems were reported in 2011 and 2012 by Kawai and Nakagawa.<sup>[91–93]</sup> Upon addition of  $\text{La}^{3+}$  or  $\text{Ce}^{3+}$ , an Ln-dependent methanol dehydrogenase was expressed in *Bradyrhizobium* sp. MAFF211645 and *Methylobacterium extorquens* AM1, while the the later bacterial strain could also grow with  $\text{La}^{3+}$  instead of  $\text{Ca}^{2+}$ . Surprisingly, these results did not gain much attention in the following years. This was until 2014, when Pol and coworkers published pioneering results on the biological relevance of Lns which have received a lot of interest.<sup>[94]</sup> They were able to cultivate the in 2007 discovered extermophillic methanotrophic bacterial strain *Methylococcus thermophilus* SolV under laboratory conditions.<sup>[94,95]</sup> Besides methane, high temperatures and an strongly acidic environment, growth could only be observed when volcanic mudpod water (acting as mother liquor) was added. Determination of

elemental composition revealed a high concentration of Lns in the solution, and this enhanced solubility of Lns might have been supported by the environmental conditions (strongly acidic and high temperatures). After substitution of the mudpod water with Lns, bacterial growth was observed, especially with the light Lns. With Eu and Gd, only a slight growth response could be observed, and the heavy Lns did not yield any exponential bacterial growth. They concluded that Lns must be essential for this bacterial strain, and a subsequent enzyme analysis, purification and crystallization revealed the first Ln-dependent methanol dehydrogenase (XoxF-MDH). Pyrroloquinoline quinone (PQQ)-dependent MDHs have been known for a long time, with the first Ca-dependent representative characterized by Anthony and Zatman in 1964.<sup>[96–98]</sup> They were isolated from various different methanotropic and methylotropic bacteria, since the in the periplasmic space located MDH is responsible for the conversion of methanol to formaldehyde as part of the C1-metabolism.<sup>[99]</sup> In addition, MDHs have been described that have Ba<sup>2+</sup> or Sr<sup>2+</sup> instead of Ca<sup>2+</sup> in their reconstituted active site (a Ca-free enzyme was initially expressed in a mutant, followed by the addition of an alkaline earth metal to MDH for kinetic studies).<sup>[100,101]</sup> But the significant difference between the newly discovered XoxF-MDH, and recently known MDHs was that this enzyme contained a Ln in its active site, an element group that has not been attributed biological relevance up to that moment (except the reports of Kawai and Nakagawa).



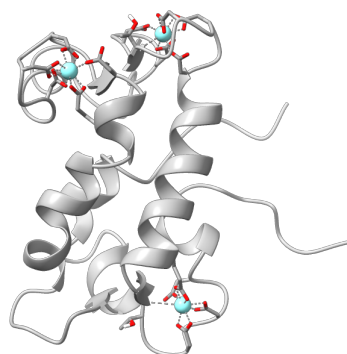
**Figure 1.5:** Total protein structures of the monomers (left) and close-up of the active sites (right) of MxaF-MDH from *M. extorquens* AM1 (PDB: 1H4I)<sup>[102]</sup> (top) and XoxF-MDH from *M. fumariolicum* SolV (PDB: 6FKW) (bottom).<sup>[103]</sup>

The XoxF-MDH showed structural similarities (Figure 1.5) to the already known Ca-MDH (MxaF-MDH) isolated from *Methylobacterium extorquens* AM1. Both metals act as hard Lewis acids, and are coordinated tridentately to the redox cofactor PQQ. The coordination of the remaining amino acids however was different, with Ca<sup>2+</sup> and a bidentate binding towards a glutamate residue and a monodentate binding towards an asparagine which results in a final CN of 7. Since Ln<sup>3+</sup> tend to exhibit a higher CN, an additional bidentate aspartate is present.<sup>[103]</sup> This additional aspartate residue was found to be essential for the XoxF-MDH, also ensuring the catalytic activity of the MDH.<sup>[104]</sup> In the course of developments, the role of the *xoxF* gene could also be elucidated, which was unknown for several years despite its strong resemblance to the *mxaF* gene.<sup>[105,106]</sup> For more than 50 years, it was assumed that methanol conversion in methylotrophic bacteria was only facilitated by the Ca<sup>2+</sup>-dependent MxaF-type MDH, encoded by the *mxaF* gene.<sup>[107,108]</sup> However, this misconception was overcome, and nowadays is established that XoxF-MDHs are even more broadly distributed than their Ca counterparts.<sup>[109,110]</sup> Ln-dependent bacteria can only possess the *xoxF* gene which results in strict Ln-dependence, or both genes *xoxF* and *mxaF* are present. However, the expression is up or down-regulated based on the availability of Lns. In the absence of Lns, *xoxF* is suppressed while *mxaF* is over-expressed. However, even nanomolar concentrations of Lns are sufficient in order to induce an up-regulation of *xoxF* while *mxaF* is suppressed.<sup>[111–113]</sup> Martinez-Gomez demonstrated that the expression of *xoxF* was triggered by the addition of only 2.5 nM Ln, and at a concentration of 25 nM Ln, *mxaF* was even repressed.<sup>[112]</sup> This is also called the "lanthanide switch". Accordingly, bacterial strains possessing the *xoxF* and *mxaF* genes are named as Ln-utilizing bacteria while the presence of only the *xoxF* gene defines Ln-dependent bacterial strains.<sup>[9]</sup> But not only *xoxF* and *mxaF* is affected by the presence or absence of Lns. New results indicate that different, individual Ln elements resulted in a strong change in the expression of various genes (lanthanome core, PQQ biosynthesis, Ln chelator (LC) cluster and Ln utilization and transport (lut) cluster) in methylotrophic bacteria.<sup>[114]</sup>

In 2018 Lanmodulin (LanM)\*, a highly-selective Ln-binding protein extracted from the Ln-utilizing bacterial strain *Methylobacterium extorquens* AM1, was described by Cotruvo and coworkers.<sup>[115]</sup> It contains four carboxylate-rich EF-hand binding motifs, which are usually associated with Ca<sup>2+</sup>-binding proteins.<sup>[116]</sup> Accordingly, LanM is also often referred to as a homolog of the well-characterized Ca<sup>2+</sup>-binding protein calmodulin, despite the selectivity of LanM for Ln was described to be ~10<sup>8</sup>-fold higher than for other metals such as Ca.<sup>[115,117,118]</sup> LanM undergoes a Ln-dependent cooperative conformational change from a disordered to an ordered structure. For three of the four EF-hands (EF1-3) picomolar affinities were determined (Figure 1.6) while EF4 only shows micromolar affinity for Lns.

---

\*Recent reports by Mattocks 2023 and DeBlonde 2023 now use *Mex*-LanM for LanM isolated from *Methylobacterium extorquens* AM1



**Figure 1.6:** Total protein structure of LanModulin with EF1-3 (high affinity) bound to  $Y^{3+}$ . Structural data is based on the solution-state NMR structure published by Cook *et al.* (PDB: 6MI5).<sup>[116]</sup>

In addition, LanM also displays different affinities among the Ln-series, the light Lns are favored over the heavy Lns.<sup>[115,118]</sup> Surprisingly, for selected Ans even a higher affinity than for Lns was present.<sup>[119,120]</sup> Since the discovery of LanM, various studies were performed to understand and evaluate the metal binding properties of LanM,<sup>[115–123]</sup> but also approaches for the selective recovery of Lns with immobilized LanM,<sup>[124]</sup> functionalized magnetic nanoparticles,<sup>[125]</sup> or based on centrifugal filters and subsequent desalting column were described.<sup>[121]</sup> Furthermore, different peptides based on the known amino acid sequences of the LanMs' EF-hand motifs were synthesized and studied to gain a deeper understanding of the structural environment for a highly selective binding motif.<sup>[126]</sup> In addition, it was recently shown that the selectivity of LanM for Lns and Ans could be changed by producing different variants of LanM. Therefore, the aspartate residue in the metal binding site (position 9) was replaced with asparagine, histidine etc. which then influenced the second-sphere interactions with Lns and Ans.<sup>[122]</sup> Up to this day, the biological function of LanM is not clarified despite its large presumed occurrence in various bacterial strains,<sup>[123]</sup> and under laboratory conditions no essential role of LanM for the Ln-uptake or the bacterial growth could be observed.<sup>[113]</sup> However, up-regulation of LanM as a response to the presence of lanthanides was noticed.<sup>[114,127]</sup>

The biochemistry of Ans is by far not as well investigated, and mainly based on the interaction of the major actinides U and Pu with biological targets such as proteins, deoxyribonucleic acid (DNA), ribonucleic acid (RNA) and cell walls.<sup>[128]</sup> The focus is to understand how Ans can be taken up, transported and incorporated, and their effects on human health.<sup>[12]</sup> Main interest is on proteins that are responsible for the metal transport in serum towards the target organs such as the liver, kidneys, and skeleton.<sup>[129,130]</sup> Especially the serum proteins transferrin and fetuin A were investigated,<sup>[131,132]</sup> but also interactions between U and non-metal proteins were found.<sup>[133]</sup> The proteins osteocalcin and sialoprotein (involved in bone remodeling) and osteopontin (responsible for mineralization) were inhibited by U.<sup>[134,135]</sup>

Besides the interactions of human targets with Ans, also bacteria are known to be affected by Ans. Despite their radioactivity, metal reducing bacterial strains able to use U for

their extracellular respiratory system,<sup>[136,137]</sup> while biomineralization of different Ans was reported for immobilized cells of *Citobacter* and *Pseudomonas* sp. strain EPS-1W.<sup>[138,139]</sup> Only Ac, Th, U, Pa are naturally occurring, but also Pu and minor Ans can be found in the aquatic or terrestrial environments due to anthropogenic contaminations. This can be caused by accidental releases in the context of energy production (nuclear power plants) and defense sector (nuclear weapons or uranium ammunition, nuclear submarines).<sup>[128,140]</sup> Accordingly, research also addresses questions regarding the interaction of environment and organisms with natural as well as artificial Ans, aiming to develop future innovative remediation and prevention strategies.<sup>[128]</sup> In addition, understanding how and if selectivity for certain Ans developed in biology, also for the development of biomimetic separation approaches, is crucial. As already mentioned above, proteins and bacterial strains dependent on Lns can also bind Ans, and consequentially mobilize them in the environment.

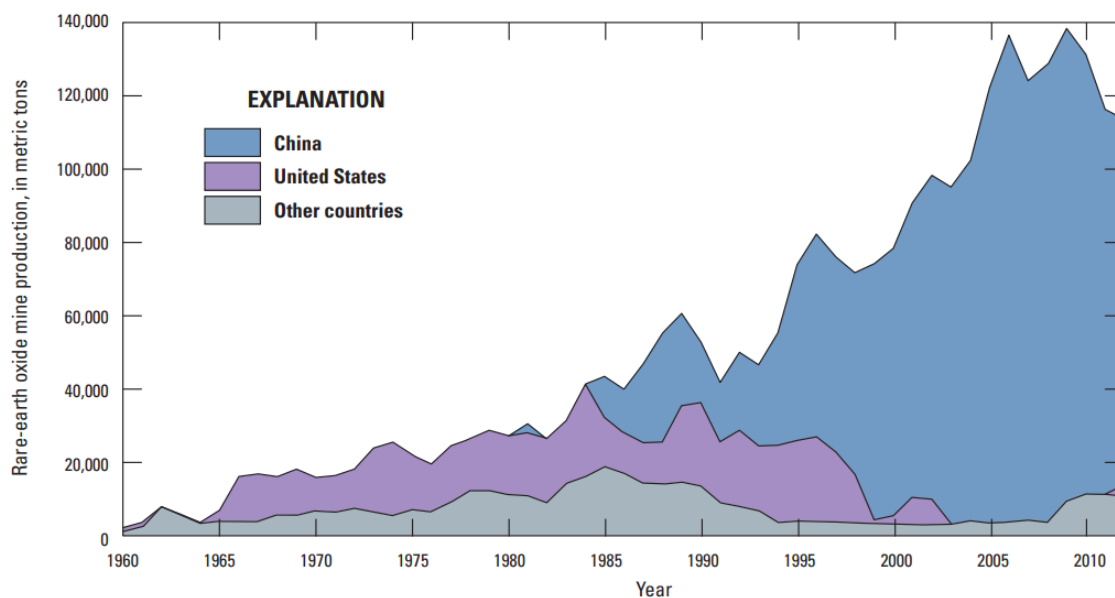
Understanding the interactions between f-block elements and biological systems not only enriches our fundamental understanding of Ln and An binding and uptake behavior, but also opens avenues for developing novel technologies regarding human health and environmental sustainability.

## 1.3 Challenges and Open Questions regarding the Use and Recycling of f-Block Elements

### 1.3.1 Increasing Demand for Modern Technologies

Even though the REEs are not that rare as their name indicates, they are considered as critical raw materials.<sup>[44,141]</sup> Especially for the development of renewable energies and modern technologies they play a key role. It is expected that the required amount of REEs used for high-performance permanent magnets and wind turbines will increase three to four times by the year 2040.<sup>[142]</sup> However, the largest increase for potential future technologies is assumed in electric traction motors for vehicles, from 1,930 tons in 2018 to 38,880 tons in 2040.<sup>[143]</sup> The increased demand is also reflected in the price of REEs. While in 2020 a ton of neodymium oxide was traded for 49,763 USD, the predicted price for 2025 is expected to rise to 77,500 USD per ton.<sup>[141,144]</sup> It has been shown over the years that the price of REEs can also fluctuate significantly, with the largest increase up to ten-times in 2010/2011.<sup>[145]</sup> The world's supply for REE is finite, and mainly dependent on China (Figure 1.7). They dominate the global production and mining of REE with 70 % of the world's total production in 2022 and 34 % of the worldwide reserves, earning them a monopoly position.<sup>[146]</sup> This dependence becomes even more evident when looking at the import numbers of the European Union. They obtain 98 % of their REEs from China.<sup>[147]</sup> Despite the increasing amount of produced REEs over the last years, this supply bottleneck for the critical materials carries a high risk which became strikingly apparent during the covid pandemic. Due to the interruption of REE production in China,

the worldwide market was strongly affected, resulting in significant delays in procurement and production chains of REE-containing products.<sup>[148]</sup>



**Figure 1.7:** Worldwide mine production of REE oxides by China, the United States and other countries (e.g. Australia, Brazil, Russia) from 1960 to 2016. Data was obtained from the U.S. Bureau of Mines (1961–96) and U.S. Geological Survey (1997–2016). Picture of Van Gosen 2019. © Copyright (2019) U.S. Geological Survey.<sup>[149]</sup>

Another point that should be critically reflected is the environmental impact resulting from the extraction, purification, and separation of REEs. Based on the source of REEs (ores or ion adsorption clays), the leaching has to be adapted based on the deposits to obtain concentrated REE-rich mixtures (step 1).<sup>[150]</sup> When ores are used, mining of the raw ore is followed by the beneficiation (includes crushing and grinding, sorting, flotation and leaching for separation from accompanying minerals) and the cracking process (roasting with acids such as HCl or H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to obtain soluble REE salts).<sup>[151]</sup> The extraction of ion adsorption clays starts with an *in situ* leaching with ammonium sulfate, and a subsequent precipitation step with ammonium bicarbonate.<sup>[151]</sup> Once the REE-concentrates are available, individual REE oxides are extracted by hydrometallurgical, electrometallurgical or pyrometallurgical methods (step 2).<sup>[150]</sup> For example, individual REE chlorides can be obtained through solvent extraction, which are then precipitated as oxalates or carbonates. In the subsequent calcination process, the precipitates are transformed into individual REE oxides.<sup>[151]</sup> Finally, the REE oxides undergo a metal refining process to obtain REE metals or alloys (Step 3), by electrolysis, gaseous or metallothermic reduction techniques.<sup>[150,151]</sup> All of these tedious steps produce high emissions and are energy and water consuming as well as require the use of harsh chemicals.<sup>[152]</sup> Furthermore, they mobilize radioactive Th and U as by-products in monazite. In addition, large amounts of



wastewaters and solid wastes are produced and cause environmental pollution due to the incorrect handling of waste.<sup>[151]</sup> The human health of the people can also be affected due to no or only minor occupational safety measures, or due to improper handling of chemicals and waste which is partially radioactive and highly hazardous. Various exposure pathways for the population come into play in this context, such as inhalation of dust, or uptake *via* the food chain (contaminated garden soils or water supply).<sup>[153]</sup> Long-term effects such as lung disease or pneumoconiosis are described among workers due to continuous exposure to cerium-containing dust.<sup>[154]</sup> Also, a connection between heart diseases and the ingestion of high Ce amounts was drawn.<sup>[5]</sup> Thus, individuals living in proximity to the mines showed a significantly elevated concentration of REEs, U, and other heavy metals in their urine.<sup>[155]</sup> At mining sites in India with a high radiation level, a relation towards different human health hazards was strongly suggested.<sup>[156]</sup> A connection between the deterioration of biodiversity and ecosystems and REE mining was also displayed.<sup>[157,158]</sup> To summarize, the extraction of REEs often comes with environmental impacts and an elevated health risk, which displays the urgency to develop sustainable and economically viable strategies for the REE production.<sup>[153]</sup> In addition, it is expected that the increasing demand for the REEs cannot only be fulfilled by primary sources.<sup>[159]</sup>

### 1.3.2 Recycling and Recovery Approaches

We have come a long way of over 100 years of research since the first separations of REEs up to large industrial separation strategies and multifaceted applications. However, we have to face that nowadays major improvements in the mining, extraction and separation of REEs are limited by three reasons:<sup>[160]</sup>

- (i) The different extraction methods still required harsh chemical and physical conditions in combination with the release of toxic and radioactive by-products.
- (ii) Since the ores always contain a mixture of REEs, all REEs need to be purified, even if some of them are unwanted, resulting in an inefficient overall purification.
- (iii) The ore extraction and its' efficiency is designed for ores with a high amount of REEs whereby low-grade material is not taken into account.

Secondary sources of REEs and the recycling of REEs from end-of-life (EOL) products (also known as urban mining) as well as the development of more environmentally friendly extraction and purification methods for REEs are still in their infancy, but have gained more attention in the last years. However, due to the increasing demand for REEs, this development is unavoidable, and holds great potential for development. This is also reflected in the numbers: currently, only 1 % of rare earth REEs are recovered from EOL products, while the remaining REE are removed as waste from the desired circular flow of materials.<sup>[161]</sup> The reasons for this are multifaceted. Among others, EOL only contain a low amount of REEs, the recovery of REEs from waste is still uneconomical since the prize for REEs from primary sources is lower, and the separation and removal from the extraction material after the recovery is challenging.<sup>[161]</sup> There exist different categories of potential secondary sources of REEs:<sup>[162]</sup>

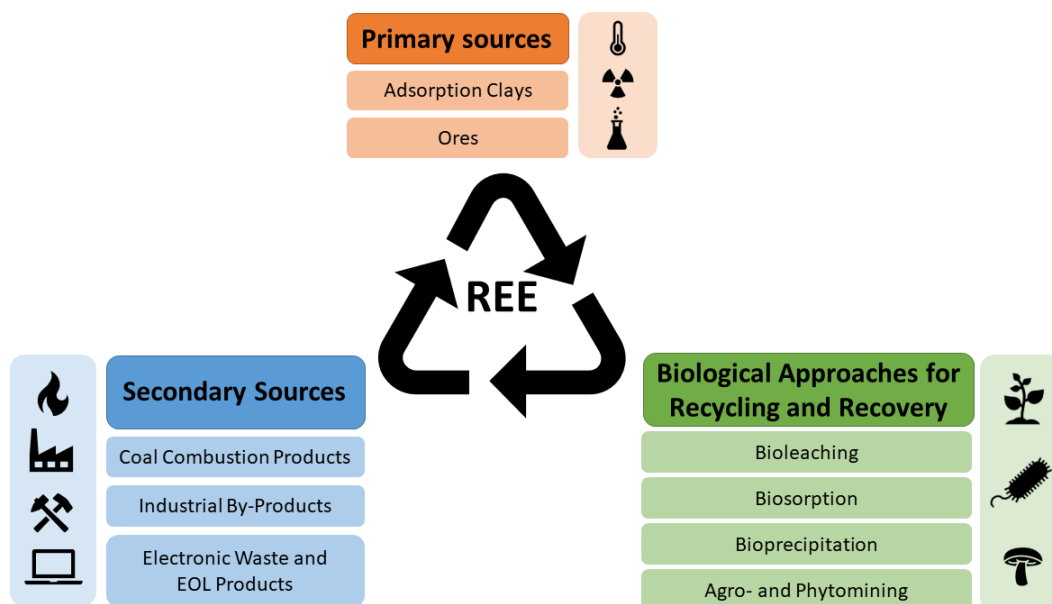
- (i) coal combustion products such as fly and bottom ashes,<sup>[163–165]</sup>
- (ii) industrial by-products and residues such as phosphogypsum,<sup>[166,167]</sup> bauxite residues (formerly known as red mud),<sup>[168,169]</sup> or mine waters,<sup>[170]</sup> and
- (iii) electronic waste and EOL products.<sup>[171,172]</sup>

The concentration of potentially recoverable REEs varies widely in the secondary sources.<sup>[162]</sup> Similar amounts of REEs as in ores are expected in phosphogypsum, powders from polishing processes and coal fly ashes,<sup>[173–175]</sup> while low quantities are obtained from displays.<sup>[176]</sup> Accordingly, recycling approaches and methods need to be tailored for each potential source, considering the varying amount of REEs and other elements and compounds present. There exist various reviews summing up the recent progress in the field of secondary REE recovery, showing the potential – but also the limitations.<sup>[171,174,177–180]</sup> REEs are already recovered from permanent magnets,<sup>[181,182]</sup> LEDs,<sup>[183]</sup> fluorescent lamps,<sup>[184]</sup> catalysts<sup>[185]</sup> or nickel metal hydride batteries.<sup>[186]</sup> Particularly when recycling EOL products, the starting materials for recycling exhibit different compositions, including oxides, metals, and polymer materials. Consequently, the actual process is often preceded by a pre-treatment in which the materials are initially disassembled, followed by physical separation and reduction of size. Most of the subsequent recovery methods for secondary sources are then based on hydrometallurgical routes which includes the leaching of REEs with acids such as HCl and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, similar to the REE leaching from primary sources.<sup>[187]</sup> But also pyrometallurgical separation strategies, based on high temperature melting of waste, are known for the recovery of REEs.<sup>[188]</sup> Both methods have some drawbacks. While hydrometallurgical methods require large amounts of chemicals and produce waste water, pyrometallurgical processes are energy intense which diminishes the environmentally friendly aspect in both cases.<sup>[188]</sup> However, it should not be overlooked that when recycling REEs, no radioactive by-products are generated, and even small quantities can be recovered and reintroduced into the life-cycle of REEs, which reduces the environmental impact.<sup>[189]</sup>

Furthermore, alternative, plant- and microbial-based approaches for the extraction and accumulation of REEs are known.<sup>[159,160,187,189–193]</sup> In contrast to chemical recovery methods, no large quantities of hazardous waste are produced.<sup>[191]</sup> This field can be divided into the four different categories: bioleaching, biosorption, bioprecipitation, and agromining/phytomining.

During bioleaching processes, also referred to as biohydrometallurgy, the REEs are extracted by microorganisms, using enzymatic activity or metabolic products. For this method, mainly extremophilic, thermophilic, mesophilic and heterotrophic bacteria are used. The bioleachate reaction is based on the bacterial iron/sulfur oxidation, released organic acids or hydrogen cyanide pathways.<sup>[191]</sup> Even small amounts of REEs can be recovered with this method, but constant growth conditions (pH, temperature, oxygen, nutrients) must be maintained. After the bioleaching process, the biomass and REE resources are removed, while the low grade REEs stay in solution. To obtain high purity REEs, solvent extraction, biosorption, ion exchange, precipitation, dialysis or electrowinning need to be performed subsequently.<sup>[194,195]</sup> Bioleaching for the recovery of

Cu, Pd, Pt or Mo is already established, targeting different sources such as electronic waste, contaminated soils or catalysts.<sup>[196–200]</sup> But also REE bioleaching was already established with different bacteria and fungi.<sup>[201–203]</sup>



**Figure 1.8:** Graphical representation of different REE sources (shown in orange and blue) and biological approaches for their recycling and recovery (green).

During biosorption, the REEs are bound to the cellular structure by the biomass itself or by molecules, however the REEs must already be available in solution. Electrostatic interactions, ion exchange or surface complex formation enable the biosorption process towards the biosorbent.<sup>[191]</sup> The subsequent desorption of the REEs can be enabled with acids, bases or chelators.<sup>[191]</sup> Under certain circumstances, the biosorbent can be regenerated, leading to high process efficiency and a reduced amount of waste, and extraction of REEs in the low concentration range is possible. Important factors for an highly-efficient and cost-effective recovery are temperature, pH, contact time, initial REE concentration and the biosorbent dosage.<sup>[171]</sup> Different microbes such as fungi, algae and bacteria have already extensively been tested.<sup>[159,171,204–208]</sup> But also a modified bacterial surface of *Escherichia coli* with lanthanide-binding tags was described.<sup>[209]</sup>

The bioprecipitation uses metabolites produced by the microorganism which then form REE-precipitates. This method is well known for different heavy metals.<sup>[210]</sup> For example, the metals Ni and Co can be removed from culture filtrates (of fungi *Aspergillus niger*) by precipitation as oxalates or phosphates from which the metals can subsequently be recovered at different pH values.<sup>[211]</sup> Phosphate-based precipitation was already shown for the recovery of Dy by the fungi *Penidiella* sp. strain T9.<sup>[212]</sup>

During agromining and phytomining, plants (e.g. *Dicranopteris linearis*) or mushrooms are used as REE-hyperaccumulator from REE-containing soils such as ion-adsorption

clays or mining waste materials. The process starts with the phytoextraction, followed by the enrichment phase and finally the extraction of REEs.<sup>[213]</sup> The phytoextraction is described as an environmentally friendly method which can generate REEs in a high quality, but requires care and large areas.<sup>[191]</sup> In addition, the selected hyperaccumulator should provide a high biomass production and should be able to tolerate high metal concentrations.<sup>[187]</sup>

Another way to deal with the increasing demand for REEs is the minimization and substitution of REEs in certain products. One possibility is the replacement of one REE with a different, more abundant, less critical or cheaper REE.<sup>[24]</sup> Thus, since the 1980s, permanent magnets based on SmCo have gradually been replaced by NdFeB permanent magnets. Substitution of Nd within the wind sector for magnets is scarcely possible, but nowadays less Dy is required due to better material efficiencies (reduction from 3-6 % to 1 % Dy).<sup>[214]</sup> However, the impact of substituting REEs in modern technologies is rather small, and only makes a minor contribution to the increasing demand.<sup>[152,215]</sup> A potential that has so far been little exploited on the other hand, lies in the development of recycling methods that do not rely on conventional separation and purification routes but instead align with the selectivity mechanisms evolved by biology for f-block elements. As described above, increasing importance is attributed to plant- and microbial-based approaches. To successfully advance these methods for bio-recovery strategies of f-block elements, it is essential to understand how the Lns and Ans are adsorbed, uptaken or metabolized by biological systems.

# Chapter 2

## Aim of the study

Lanthanides, as part of the f-block elements, are nowadays established as biological relevant metals. Especially the larger Lns, also referred to as light Lns (La-Eu), together with Gd, are known to be used by Ln-utilizing organisms, while the heavy Lns (Gd-Lu) only play a subordinate role. Despite the resembling chemical properties within the Ln series, nature has evolved a preferred uptake and developed metabolic pathways based on the light Lns. In this work, we want to extend the range from 4f to the heavier and radioactive 5f elements, since selected 5f representatives display chemical similarities to the 4f elements. Especially Np, Pu, Am and Cm are promising candidates, since their radii are similar to the light, biorelevant Lns such as Nd. While Np and Pu possess a rich redox chemistry with various oxidation states, Am and Cm are available in a stable +III oxidation state. By conducting growth studies of Ln-utilizing bacterial strains and mechanistic investigations of Ln-dependent proteins with An, we can gain a deeper insight into the role of Ans in biological processes – despite or even because of their potentially toxic effect due to radioactivity. Furthermore, if a tendency towards a selectivity for certain f-block elements is present, we can use this to develop new strategies for the bio-recovery of f-block elements based on the biological systems studied.



## Chapter 3

# Impact of f-Block Elements on Ln-dependent Bacteria and Proteins

### 3.1 Binding Studies with the Highly Selective Ln-binding Protein LanM

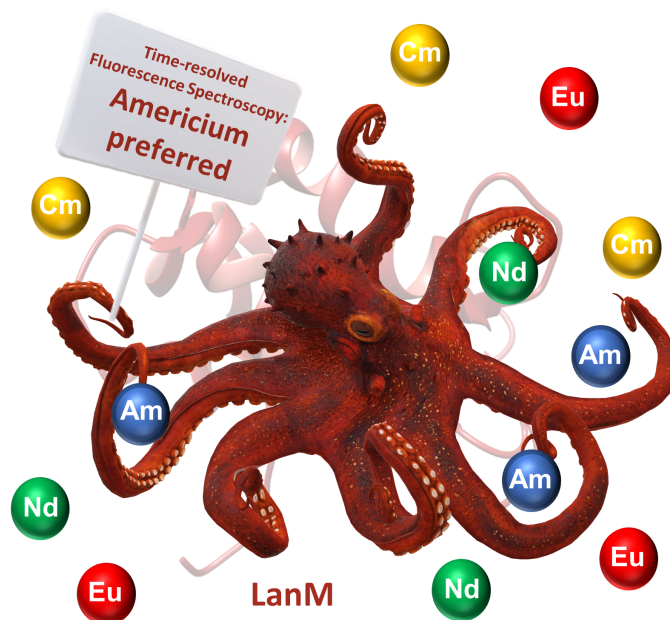


Figure 3.1: Graphical abstract of publication 1

#### Publication 1: Americium preferred: lanmodulin, a natural lanthanide-binding protein favors an actinide over lanthanides

Helena Singer, Björn Drobot, Cathleen Zeymer, Robin Steudtner, Lena J. Daumann

*Chem. Sci.* **2021**, *12* (47), 15581-15587.

DOI: 10.1039/D1SC04827A

**Summary:** In need of environmentally friendly methods for the separation and recycling of Lns and Ans, the binding of the protein LanM to Lns and Ans was studied using TRLFS.  $\text{Eu}^{3+}$  was used as a fluorescence probe to determine the relative binding affinities along the Ln series, with  $\text{Nd}^{3+}$  showing the highest relative affinity. Studies with  $\text{Cm}^{3+}$  and the selected Ans Np, Pu and Am as well as Nd, revealed that LanM preferentially binds to  $\text{Am}^{3+}$  over  $\text{Cm}^{3+}$  whilst  $\text{Nd}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  bind with similar relative affinity.

**Contribution:** LJD and HS conceptualized the idea and wrote the initial draft of this manuscript, LJD acquired funding for this project, all authors developed the methodology and were involved in review and editing of this manuscript. CZ and HS purified LanM. HS, BD and RS acquired the TRLF data and conducted lanthanide and actinide titrations.



BD wrote the code and fitted the TRLF data. LJD, CZ and RS provided the necessary resources and infrastructure for this work.

**Copyright:** This was published as an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

Cite this: *Chem. Sci.*, 2021, 12, 15581

All publication charges for this article have been paid for by the Royal Society of Chemistry

## Americium preferred: lanmodulin, a natural lanthanide-binding protein favors an actinide over lanthanides†

Helena Singer,<sup>‡a</sup> Björn Drobot,<sup>‡b</sup> Cathleen Zeymer,<sup>‡c</sup> Robin Steudtner<sup>‡\*b</sup> and Lena J. Daumann<sup>‡\*a</sup>

The separation and recycling of lanthanides is an active area of research with a growing demand that calls for more environmentally friendly lanthanide sources. Likewise, the efficient and industrial separation of lanthanides from the minor actinides (Np, Am–Fm) is one of the key questions for closing the nuclear fuel cycle; reducing costs and increasing safety. With the advent of the field of lanthanide-dependent bacterial metabolism, bio-inspired applications are in reach. Here, we utilize the natural lanthanide chelator lanmodulin and the luminescent probes  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  to investigate the inter-metal competition behavior of all lanthanides (except Pm) and the major actinide plutonium as well as three minor actinides neptunium, americium and curium to lanmodulin. Using time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy we show that lanmodulin has the highest relative binding affinity to  $\text{Nd}^{3+}$  and  $\text{Eu}^{3+}$  among the lanthanide series. When equimolar mixtures of  $\text{Cm}^{3+}$  and  $\text{Am}^{3+}$  are added to lanmodulin, lanmodulin preferentially binds to  $\text{Am}^{3+}$  over  $\text{Cm}^{3+}$  whilst  $\text{Nd}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  bind with similar relative affinity. The results presented show that a natural lanthanide-binding protein can bind a major and various minor actinides with high relative affinity, paving the way to bio-inspired separation applications. In addition, an easy and versatile method was developed, using the fluorescence properties of only two elements, Eu and Cm, for inter-metal competition studies regarding lanthanides and selected actinides and their binding to biological molecules.

Received 1st September 2021  
Accepted 25th October 2021

DOI: 10.1039/d1sc04827a

rsc.li/chemical-science

## Introduction

f-Block elements have become indispensable components for modern day life and are found in all high technologies, medicine and agriculture earning them the name Vitamins of Modern Industry.<sup>1,2</sup> Primary sources for lanthanides (Ln, or rare earth elements, REE, if Sc and Y are included) are carbonate minerals such as bastnaesite or the phosphate ores monazite or xenotime.<sup>3,4</sup> Since only mixtures of REE are available from these natural sources, extensive separation processes with highly engineered ion-exchange and solvent extraction routes are required.<sup>1,3</sup> These elaborate procedures are required due to the similar chemical properties (similar ionic radii, oxidation state +III) in the Ln series, which complicates the energy consuming

separation and requires a large number of process steps.<sup>1</sup> Furthermore, their ores contain the two naturally abundant actinides (An) uranium and thorium, generating a large amount of radioactive waste as by-products during REE mining. Considering the importance of REE for green energy resources and sustainable applications, a more environmentally friendly way would be recovering and recycling REE from end of life items (e.g. e-waste) or coal fly ash.<sup>5,6</sup> The separation of REE from An, as they occur together in mixtures in nuclear fuel cycles, is a similarly tricky endeavour and an active area of research.<sup>7,8</sup> In addition, efficient chelators for the clean-up of radioactive environmental spills are desired.

Nature has designed several ligands and proteins for efficient metal binding, with siderophores at the forefront. Inspired by these natural chelators, such as enterobactin and deferoxamine, researchers have developed highly specific synthetic chelators, for example 3,4,3-LI-1,2-HOPO, a very efficient lanthanide and actinide-binder.<sup>9,10</sup> Recent bio-inspired advances to tightly bind certain metal ions also include short peptides sequences known as lanthanide binding tags (LBT),<sup>11</sup> and entirely *de novo* designed metalloproteins with remarkable affinities for Ln.<sup>12,13</sup> Ten years ago, it was discovered that some bacteria also utilize Ln. These bacteria have evolved highly specific Ln uptake and Ln transport strategies. We have

<sup>a</sup>Department of Chemistry, Ludwig-Maximilians-University Munich, Butenandtstraße 5 – 13, 81377 München, Germany. E-mail: lena.daumann@lmu.de

<sup>b</sup>Institute of Resource Ecology, Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e.V., Bautzner Landstraße 400, 01328 Dresden, Germany. E-mail: r.steudtner@hzdr.de

<sup>c</sup>Department of Chemistry, Technische Universität München, Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching, Germany

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d1sc04827a

‡ Shared first author.

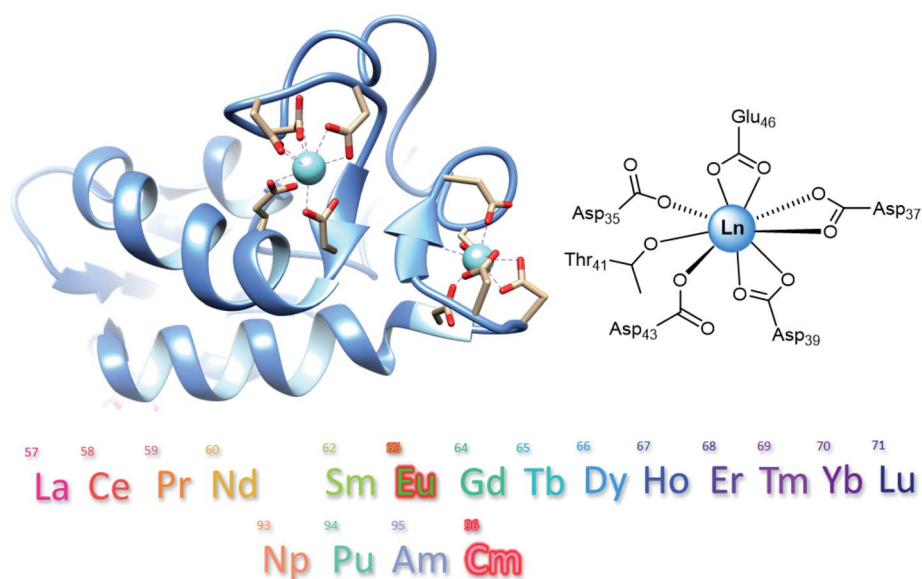


Fig. 1 NMR-determined structure of  $Y^{3+}$ -LanM with two of the high-affinity EF hands shown in more detail and close-up view of EF1. Below the Ln and An that were used to investigate inter-metal competition of LanM.  $Eu^{3+}$  and  $Cm^{3+}$  were used as luminescence probes.

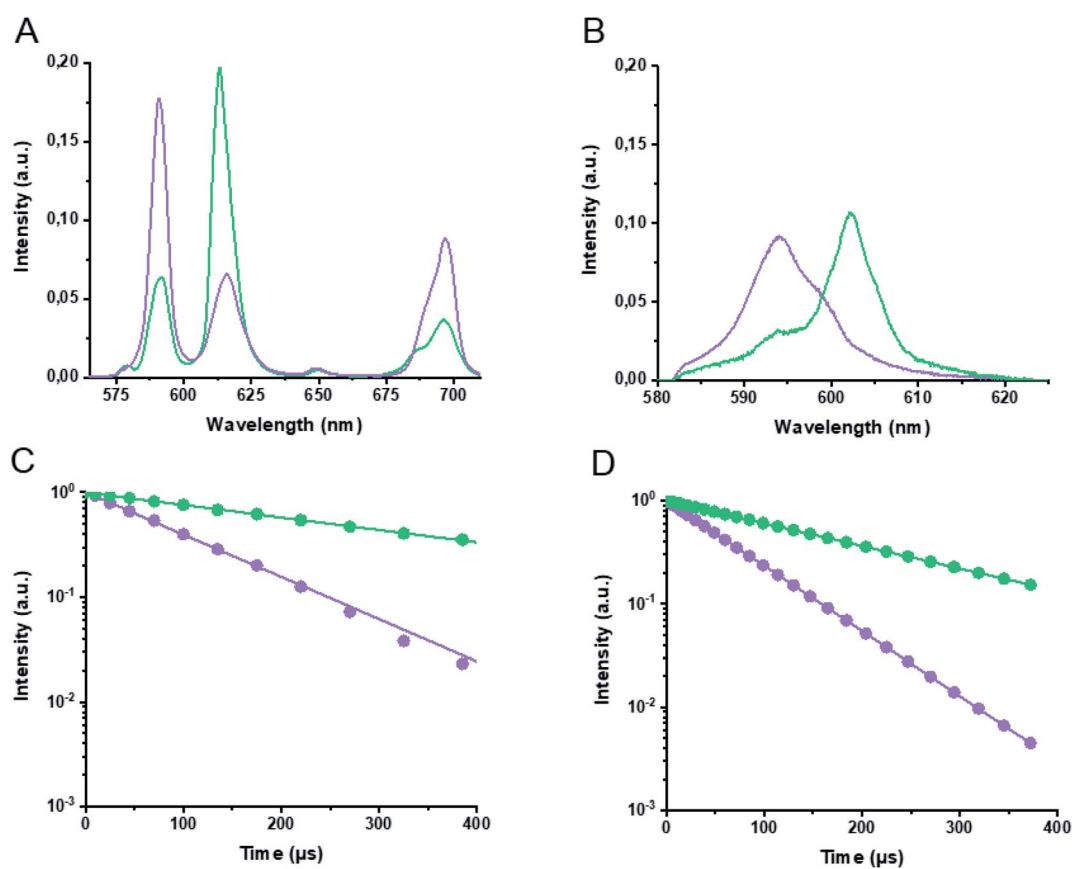


Fig. 2 (A) Deconvoluted  $Eu^{3+}$ -LanM and  $Eu^{3+}$ -aquo ion emission spectra from TRLFS data. (B) Deconvoluted  $Cm^{3+}$ -LanM and  $Cm^{3+}$ -aquo ion emission spectra from TRLFS data. (C) Luminescence decays with lifetime fits of  $Eu^{3+}$  species. (D) Luminescence decays with lifetime fits of  $Cm^{3+}$  species. Data of the Ln-/An-aquo ions shown in purple and LanM complexes in green. For studies with  $Eu^{3+}$ , an excitation wavelength of 394 nm was chosen while for  $Cm^{3+}$  titrations 396 nm was selected. Concentrations of  $1 \mu$ M LanM and  $5.5 \mu$ M  $Eu^{3+}$  or  $18$  nM LanM and  $100$  nM  $Cm^{3+}$  were used for the measurements.

previously shown that even the isolated natural cofactor pyrroloquinoline quinone (PQQ) of Ln-dependent metalloenzymes (methanol dehydrogenases) is capable to separate Ln by selective precipitation.<sup>14</sup> In addition to proposed small molecular weight lanthanophores,<sup>15–17</sup> small bacterial proteins, such as lanmodulin (LanM, Fig. 1),<sup>17–19</sup> occurring in the Ln-utilizing bacterium *Methylobacterium extorquens* AM1, have already been shown to be efficient chelators for REE extraction. LanM is an 11.8 kDa protein and has three high affinity sites for REE binding (EF1 to EF3) with picomolar affinity for these metal ions based on EF hand motifs.<sup>15,18</sup> Its promise as a selective extractant from electronic waste and lignite leachates has already

been demonstrated by Deblonde and Cotruvo.<sup>20</sup> During the preparation of this manuscript, a preprint stated that LanM is able to bind actinium with a higher affinity compared to, for example, the REE yttrium.<sup>21</sup> Previously, an NMR structure of LanM with  $Y^{3+}$  has been reported, and during the review process of this manuscript a study demonstrating binding of Am and Cm to LanM, was published.<sup>19,22</sup> Here, we evaluate the potential of LanM to bind the An neptunium, plutonium, americium and curium and compare the relative binding affinity§ of these An to each other and with the lanthanide series (Fig. 1) at pH 6.7 to mimic physiological conditions. The isolation of americium from lanthanides is of particular interest, as they occur

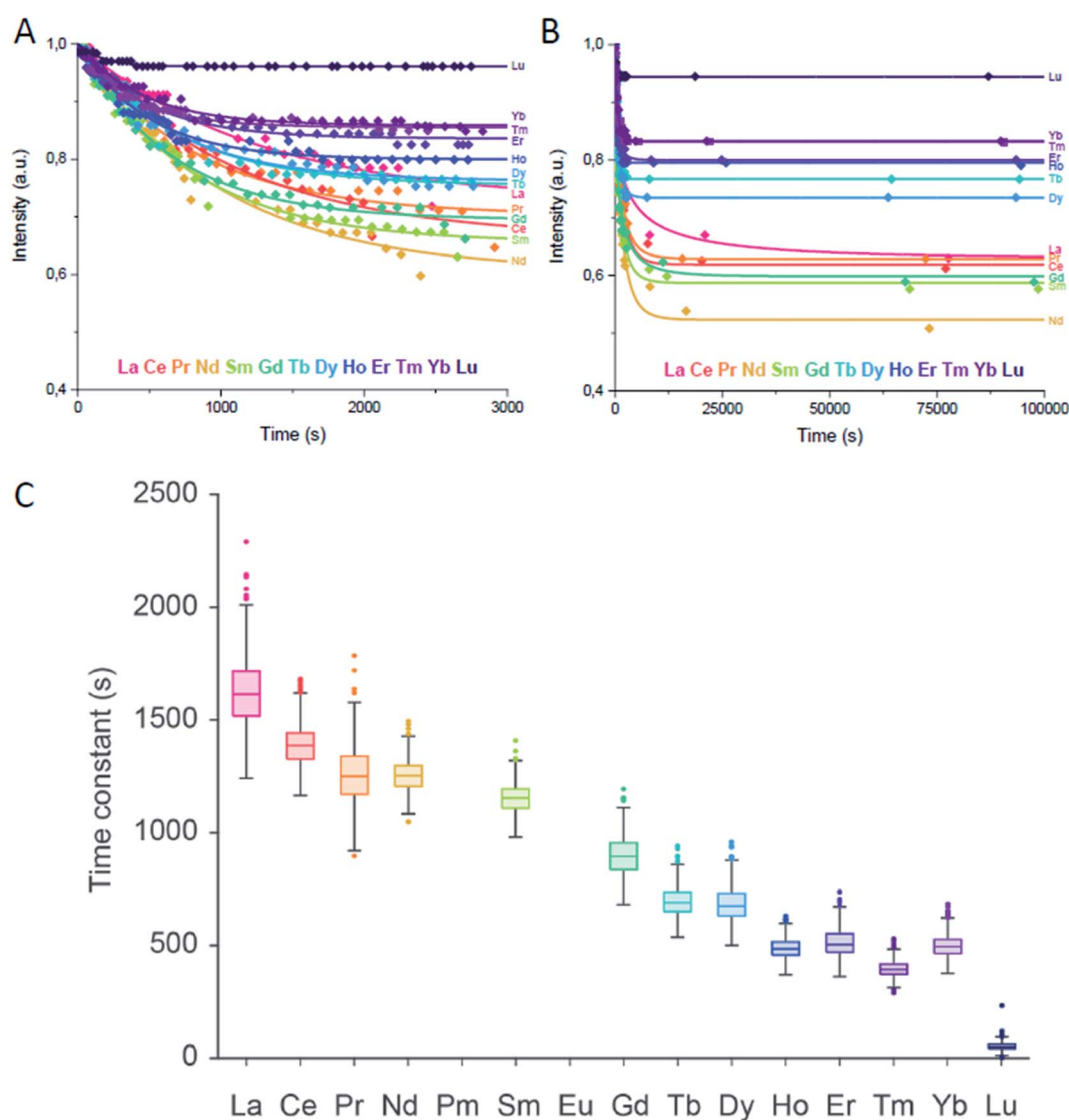


Fig. 3 Lanthanide addition: (A) intensity of the emission signal of the  $Eu^{3+}$ -LanM complex within the first 3000 seconds (50 minutes) after the addition of the second lanthanide based on emission spectra and subsequent PARAFAC analysis. (B) Intensity of the emission signal of the  $Eu^{3+}$ -LanM complex up to 100 000 seconds (28 hours) after addition of the second lanthanide based on emission spectra and subsequent PARAFAC analysis. The solid lines are first order decay fits with  $R^2 =$  La (0.97752), Ce (0.98773), Pr (0.91498), Nd (0.95209), Sm (0.95356), Gd (0.97783), Tb (0.98542), Dy (0.9809), Ho (0.97413), Er (0.96369), Tm (0.97539), Yb (0.97657), Lu (0.84107). Individual traces can be found in Fig. S2.† (C) A Monte Carlo approach was applied to evaluate the robustness of the fit (see ESI S2.3†). The box plot summarizes the fitted time constants of all the 1000 MC runs across the Ln series based on B. For the measurements, an excitation wavelength of 394 nm and concentrations of 1  $\mu$ M LanM, 5.5  $\mu$ M  $Eu^{3+}$  with additional 5.5  $\mu$ M  $Ln^{3+}$  were selected.

commonly together in nuclear waste and are challenging to separate.<sup>23,24</sup> Using time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS) in combination with the excellent luminescent properties of the two f-block elements Cm and Eu, enables inter-metal competition binding studies regarding the whole lanthanide series and selected actinides, revealing a relative affinity trend of LanM for the chosen elements.

## Results and discussion

First,  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  binding to LanM was evaluated with TRLFS and yielded emission spectra (after spectral deconvolution using parallel factor analysis, Fig. S1†). Corresponding luminescence lifetimes of 107  $\mu\text{s}$  and 367  $\mu\text{s}$  after excitation at 394 nm were determined for the  $\text{Eu}^{3+}$ -aquo ion (purple) and  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM (green), respectively, with the main emission maxima at 591 and 613 nm (Fig. 2A and C). The comparative analysis of the Ln binding to the LanM system provided the emission spectra of  $\text{Cm}^{3+}$ -aquo ion (purple) and  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM (green) with distinct emission maxima at 594 and 604 nm and lifetimes of 69  $\mu\text{s}$  and 198  $\mu\text{s}$  after excitation at 396 nm (Fig. 2B and D). The luminescence lifetimes for the  $\text{Eu}^{3+}$ - and  $\text{Cm}^{3+}$ -aquo ions are in good accordance to previously reported ones and the spectral characteristics of the formed  $\text{Eu}^{3+}$ - and  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM species match reported species of the calcium-binding protein calmodulin.<sup>25,26</sup> Due to the greater sensitivity and quantum yields of  $\text{Cm}^{3+}$  luminescence compared to  $\text{Eu}^{3+}$ ,<sup>27</sup> a lower concentration of 18 nM LanM and 100 nM  $\text{Cm}^{3+}$  was utilized, while for  $\text{Eu}^{3+}$  experiments a final concentration of 1  $\mu\text{M}$  of LanM and 5.5  $\mu\text{M}$   $\text{Eu}^{3+}$  was necessary. For both experiments, 5.5 equivalents of  $\text{Eu}^{3+}$  or  $\text{Cm}^{3+}$  were required to obtain a 100% occupation of all 4 EF hands of LanM which also corresponded with CD experiments (Fig. S6†).

Second, for inter-metal competition studies of LanM with different Ln and An, the lanthanide series with  $\text{Eu}^{3+}$  and An series (+Nd<sup>3+</sup>) with  $\text{Cm}^{3+}$  was investigated using TRLFS (Fig. 1). Two different experiments were conducted for each Ln and An series. First – Ln addition – (Fig. 3) where LanM (1  $\mu\text{M}$ ) was incubated and saturated with  $\text{Eu}^{3+}$  (5.5  $\mu\text{M}$ ) for 10 minutes and then subsequently a second lanthanide (5.5  $\mu\text{M}$ ) was added. Known from previous studies and experiments (see ESI†), LanM was able to bind  $\text{Eu}^{3+}$  immediately after addition without time delay. However, 10 minutes were chosen as equilibrium time ( $\text{Eu}^{3+}$  and LanM incubation) before the second Ln<sup>3+</sup> was added due to experimental setup and handling of samples as well as to ensure a proper mixing of the sample. Data acquisition was started immediately after adding the competing metal ion and the decrease in  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM signal intensity was observed over 50 min (Fig. 3A, individual spectra can be found in Fig. S2†). In particular, with the earlier Ln (reddish to green), a still persistent decrease of the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM signal was detected – while with the later Ln (blue to purple) such as  $\text{Lu}^{3+}$  a stagnating signal seemed to be already reached within the 50 minutes. After 28 hours (Fig. 3B), the final intensity of the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex was still remaining but had stagnated, indicating that thermodynamic equilibrium between Ln and LanM was reached. In a second experiment – Ln competition – a 1 : 1 mixture of  $\text{Eu}^{3+}$

and a second lanthanide (5.5  $\mu\text{M}$  each) were premixed and added simultaneously to 1  $\mu\text{M}$  of LanM. Incubation for 24 hours at room temperature was chosen to ensure that the thermodynamic equilibrium had been reached and the amount of the residual  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex was spectroscopically determined. By spectral deconvolution of all  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM emission spectra, the intensity ratio of  $\text{Eu}^{3+}$  towards the treated second Ln was calculated (Fig. 4). Based on these two experiments (Ln addition, Ln competition), we obtain two pieces of information overall: the time constants describing how fast the thermodynamic equilibrium is reached (Fig. 3C) and secondly, how strong the capability is of each Ln to replace the Eu from the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex representing the individual relative affinities (Fig. 4). Interestingly, the obtained time constants (Table S1†) and the relative affinities do not follow the same trend and thus the time constants are not solely determined by the relative affinity of the respective metal ions, thus other physical factors are likely at play here. Based on the time constants determination it can be concluded: the smaller the ionic radii of the Ln, the faster the exchange against the  $\text{Eu}^{3+}$  in  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex. The trend correlates with the typical Ln contraction and is most likely due to a kinetic effect based only on the size and Lewis acidity of the Ln. The trend regarding the relative affinity of the formed Ln<sup>3+</sup>-LanM complex does not linearly follow the Ln series, but rather peaks at Nd<sup>3+</sup>, meaning that Nd<sup>3+</sup> binds with equal relative affinity to LanM as  $\text{Eu}^{3+}$  (which was added for clarity as a theoretical point and set to 50% of  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex when 11 equivalents of  $\text{Eu}^{3+}$  are added to one equivalent of LanM, resulting in 50% of free  $\text{Eu}^{3+}$ -aquo species and 50% of  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex). It was shown recently that LanM reveals a unique, not yet understood trend regarding the affinities for different Ln (Fig. S5†). Unfortunately, affinities for only

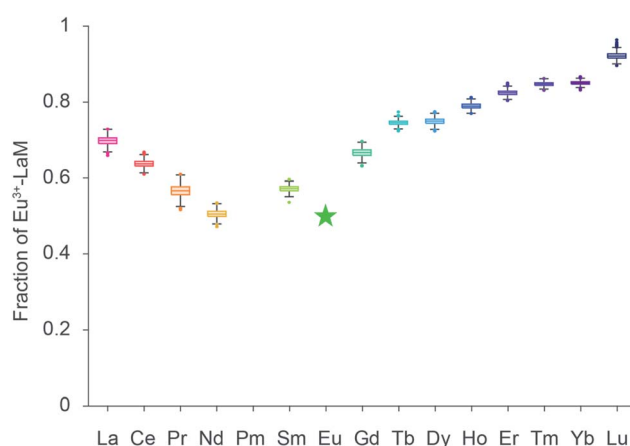


Fig. 4 Lanthanide competition: box plots (1000 MC runs, see ESI 2.3†) of the final intensity of the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM-complex emission 24 hours after simultaneous addition of equimolar amounts of  $\text{Eu}^{3+}$  and a second lanthanide ion based on collected emission spectra and subsequent PARAFAC analysis. For the measurements, an excitation wavelength of 394 nm and concentrations of 1  $\mu\text{M}$  LanM, 5.5  $\mu\text{M}$   $\text{Eu}^{3+}$  and 5.5  $\mu\text{M}$  Ln<sup>3+</sup> were selected. The green star data point was added for clarity and indicates an intensity of 50% of the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex.

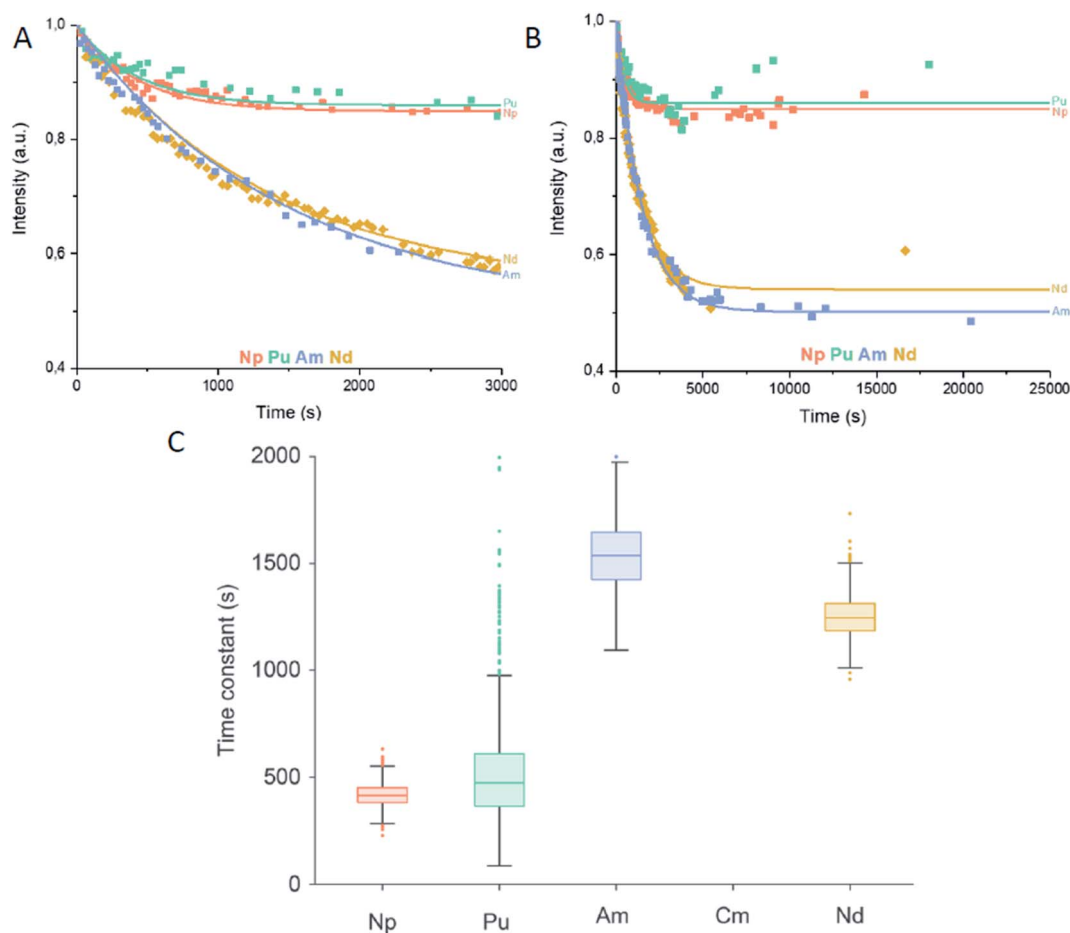


Fig. 5 Actinide addition: (A) intensity of the emission signal of the  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM complex within the first 3000 seconds (50 minutes) after the addition of the second actinide or  $\text{Nd}^{3+}$  based on collected emission spectra and subsequent PARAFAC analysis. (B) Intensity of the emission signal of the  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM complex up to 25 000 seconds (7 hours) after addition of the second actinide or  $\text{Nd}^{3+}$  based on collected emission spectra and subsequent PARAFAC analysis.  $R^2 = \text{Nd}$  (0.97383),  $\text{Am}$  (0.97056),  $\text{Pu}$  (0.92988),  $\text{Np}$  (0.96142). Individual traces can be found in Fig. S3† (C) Box plots of fitted time constants of the 1000 MC runs based on B (see Fig. S3†). For the measurements, an excitation wavelength of 396 nm and concentrations of 18 nM LanM, 100 nM  $\text{Cm}^{3+}$  with additional 100 nM  $\text{An}^{3+}$  or  $\text{Nd}^{3+}$  were selected.

selected Ln were reported (Table S4†). While our actual data gives no absolute values of dissociation constants  $K_d$ , a trend among the whole series (except Pm) is clearly visible with our developed method.

The Ln left of  $\text{Nd}^{3+}$  in the series bind with lower relative affinity to LanM, with  $\text{La}^{3+}$  occupying approximately 20% of LanM and  $\text{Eu}^{3+}$  80% when added in equimolar amounts. The Ln to the right side of  $\text{Nd}^{3+}$  with smaller ionic radii as well bind less efficiently to LanM than  $\text{Eu}^{3+}$ , with  $\text{Lu}^{3+}$  only 10% occupying LanM when  $\text{Eu}^{3+}$  is present. These results are both somewhat unexpected, but also in line what has been found for the activity of Ln-dependent methanol dehydrogenase isolated from *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV. Here, adding lanthanides to a partially occupied Eu-MDH yielded the highest activity with  $\text{Pr}^{3+}$  and  $\text{Nd}^{3+}$ , however, this might be just a coincidence.<sup>28</sup> Despite various factors such as the gadolinium break (referring to an often observed change in the chemical behavior after this lanthanide in the series<sup>29</sup>), it has been suggested that the natural abundance of the Ln has an impact and bacterial Ln

uptake and metabolism is designed to use the most abundant Ln.

After having experimentally verified that  $\text{Nd}^{3+}$  binds equally well as  $\text{Eu}^{3+}$  to LanM in our two lanthanide binding studies, we put forward this competitive approach for four trivalent An. The trivalent An –  $\text{Np}^{3+}$ ,  $\text{Pu}^{3+}$ ,  $\text{Am}^{3+}$ ,  $\text{Cm}^{3+}$  – were chosen to compete with  $\text{Nd}^{3+}$  as the strongest opponent of lanthanides for the LanM relative binding affinity.  $\text{Cm}^{3+}$  was used as comparable luminescence probe for the inter-metal competition studies. In the first experiment – An addition – LanM (18 nM) was added to  $\text{Cm}^{3+}$  (100 nM) and after 10 min, the equilibrated solution was treated with either  $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Np}^{3+}$ ,  $\text{Pu}^{3+}$  or  $\text{Am}^{3+}$  (100 nM, Fig. 5).

By monitoring the  $\text{Cm}^{3+}$  luminescence, the reduction of the  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM intensity over time was clearly visible with a faster leveling for  $\text{Np}^{3+}$  and  $\text{Pu}^{3+}$  than for  $\text{Nd}^{3+}$  and  $\text{Am}^{3+}$  (Fig. 5A and B). To obtain a clear picture of the thermodynamic equilibrium (An competition), equimolar amounts (100 nM each) of  $\text{Cm}^{3+}$  and respectively  $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Np}^{3+}$ ,  $\text{Pu}^{3+}$  or  $\text{Am}^{3+}$  were added to LanM and the intensity of  $\text{Cm}^{3+}$ -LanM complex were measured after 24 hours of incubation (Fig. 6).



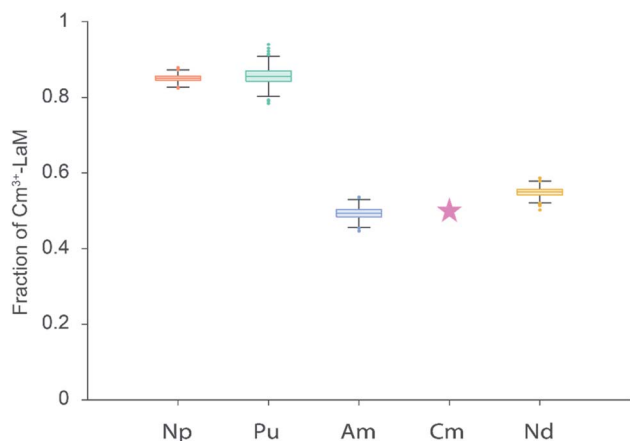


Fig. 6 Actinide competition: Box plots (1000 MC runs) of the residual intensity of the Cm<sup>3+</sup> emission 24 hours after simultaneous addition of equimolar amounts of Cm<sup>3+</sup> and a second Ln/An (Nd<sup>3+</sup>, Am<sup>3+</sup>, Pu or Np, respectively) based on collected emission spectra and subsequent PARAFAC analysis. For the measurements, an excitation wavelength of 396 nm and concentrations of 18 nM LanM, 100 nM Cm<sup>3+</sup> and 100 nM An<sup>3+</sup> or Nd<sup>3+</sup> were selected. The data point pink star was added for clarity and indicates an intensity of 50% of the Cm<sup>3+</sup>-LanM complex.

Again, the theoretical value of 50% for Cm<sup>3+</sup> (pink star) was added. In the An experiments we observe clearly two groups based on time constants (Fig. 5C) and on the amount of Cm<sup>3+</sup>-LanM complex in equilibrium (Fig. 6): Nd-Am and Np-Pu. The results show that the An f-block elements reveal similar relative binding affinities to LanM like that of the Ln f-block elements, which repeatedly underlines their chemical analogy. Secondly, Np and Pu display a smaller relative binding affinity to LanM compared to Cm<sup>3+</sup>, however, an exchange of Cm<sup>3+</sup> with the added An is observable; since the intensity of the Cm<sup>3+</sup>-LanM complex is distinctly reduced. The initial oxidation state of Np and Pu was +III, but Np and Pu reveal a manifold redox chemistry under certain conditions (Table S3†). In aqueous solution, Np is mainly present in +III to +VII with the most stable pentavalent dioxo form NpO<sub>2</sub><sup>+</sup>, while for Pu, a co-existence in equilibrium of four different oxidation states from +III to +VI has been reported.<sup>30</sup> Due to the more versatile redox chemistry of Np and Pu the oxidation to the penta- and hexavalent actinyl (AnO<sub>2</sub><sup>+</sup> and AnO<sub>2</sub><sup>2+</sup>) structures bearing a *trans*-dioxo motif (O<sub>ax</sub>=An(+V/VI)=O<sub>ax</sub>) are easily conceivable. The oxidation state most probably changed by varying the chemical environment of Np and Pu by dilution, as a function of the aqueous speciation or interaction with complexing agent. No spectroscopic method is available to examine the final oxidation state of Np and Pu in the nanomolar concentration range after the incubation with LanM. Reflecting the determined time constants for Np and Pu, LanM binds Np<sup>3+</sup> and Pu<sup>3+</sup> with lower relative affinities, comparable to the later, or very early Lns. In contrast, the *trans*-dioxo cations might be not able to effectively bind to LanM. Thirdly and surprisingly, the trivalent f-block element Am<sup>3+</sup> exhibits a higher relative affinity to LanM than Cm<sup>3+</sup> while Nd<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> bind very similarly. The high relative binding affinity is most probably due to the same most stable

oxidation states and ionic radii of the metal ions (Table S2†). Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> are both stable in the preferred +III oxidation state and have ionic radii that strongly resemble Nd<sup>3+</sup>.<sup>31</sup> A direct comparison between the Eu<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> systems and experimental setups is ambitious. For the Cm<sup>3+</sup> experiments, the concentrations were 50 times lower, and dilution effects, solubility, hydrolysis or carbonate complexation of Ln/An, as well as parameters affecting the kinetics, should only interfere (if at all) with minor contribution. To be able to draw a comparison between both Ln<sup>3+</sup>-LanM and An<sup>3+</sup>-LanM studies, Nd<sup>3+</sup> was chosen for both setups, enabling an estimation of relative affinity for all selected Lns and Ans. Nd<sup>3+</sup> was the best of the Ln series besides Eu<sup>3+</sup> to bind to LanM, but Am<sup>3+</sup> displayed an even higher relative binding affinity with a faster exchange rate. Finally, with all things considered and under the conditions chosen, LanM, a natural lanthanide-binding protein, favors an actinide over the lanthanides. In addition, we show a unique relative affinity trend of LanM for the Ln series that will also help in the future to develop new innovative bio-inspired strategies for Ln or An-recycling and separation. In addition, an easy and versatile method was developed, using Eu<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> as comparative luminescence probe, for inter-metal competition studies regarding lanthanides and selected actinides and their binding to biological molecules.

## Data availability

TRLFS data and MATLAB code available upon request (from b.drobot@hzdr.de)

## Author contributions

LJD and HS conceptualized the idea and wrote the initial draft of this manuscript, LJD acquired funding for this project, all authors developed the methodology and were involved in review and editing of this manuscript. CZ and HS purified LanM. HS, BD and RS acquired the TRLFS data and conducted lanthanide and actinide titrations. BD wrote the code and fitted the TRLFS data. LJD, CZ and RS provided the necessary resources and infrastructure for this work.

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## Acknowledgements

LJD acknowledges a grant from the Klaus-Tschira Boost Fund and support from the ERC Starting grant Lanthanophore.

## Notes and references

§ Here we use the term relative binding affinity, because absolute values cannot be obtained from the competition experiment performed. This relative binding affinity is based on comparing the average affinities of all four LanM EF-hands for different Ln and An under given conditions.

- 1 T. Cheisson and E. J. Schelter, *Science*, 2019, **363**, 489–493.

- 2 V. Balaram, *Geosci. Front.*, 2019, **10**, 1285–1303.
- 3 F. Xie, T. A. Zhang, D. Dreisinger and F. Doyle, *Miner. Eng.*, 2014, **56**, 10–28.
- 4 A. Jordens, Y. P. Cheng and K. E. Waters, *Miner. Eng.*, 2013, **41**, 97–114.
- 5 T. G. Ambaye, M. Vaccari, F. D. Castro, S. Prasad and S. Rtimi, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2020, **27**, 36052–36074.
- 6 R. C. Smith, R. K. Taggart, J. C. Hower, M. R. Wiesner and H. Hsu-Kim, *Environ. Sci. Technol.*, 2019, **53**, 4490–4499.
- 7 A. V. Gelis, P. Kozak, A. T. Breshears, M. A. Brown, C. Launiere, E. L. Campbell, G. B. Hall, T. G. Levitskaia, V. E. Holfeltz and G. J. Lumetta, *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 12842.
- 8 N. P. Bessen, J. A. Jackson, M. P. Jensen and J. C. Shafer, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **421**, 213446.
- 9 A. S. Ivanov, B. F. Parker, Z. Zhang, B. Aguila, Q. Sun, S. Ma, S. Jansone-Popova, J. Arnold, R. T. Mayes, S. Dai, V. S. Bryantsev, L. Rao and I. Popovs, *Nat. Commun.*, 2019, **10**, 819.
- 10 R. J. Abergel, P. W. Durbin, B. Kullgren, S. N. Ebbe, J. Xu, P. Y. Chang, D. I. Bunin, E. A. Blakely, K. A. Bjornstad, C. J. Rosen, D. K. Shuh and K. N. Raymond, *Health Phys.*, 2010, **99**, 401–407.
- 11 T. Hatanaka, N. Kikkawa, A. Matsugami, Y. Hosokawa, F. Hayashi and N. Ishida, *Sci. Rep.*, 2020, **10**, 19468.
- 12 S. J. Caldwell, I. C. Haydon, N. Piperidou, P.-S. Huang, M. J. Bick, H. S. Sjöström, D. Hilvert, D. Baker and C. Zeymer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2020, **117**, 30362.
- 13 J. A. Mattocks, J. L. Tirsch and J. A. Cotruvo, in *Methods Enzymol.*, ed. J. A. Cotruvo, Academic Press, 2021, vol. 651, pp. 23–61.
- 14 H. Lumpe, A. Menke, C. Haisch, P. Mayer, A. Kabelitz, K. V. Yusenko, A. Guilherme Buzanich, T. Block, R. Pöttgen, F. Emmerling and L. J. Daumann, *Chem. - Eur. J.*, 2020, **26**, 10133–10139.
- 15 J. A. Cotruvo Jr, *ACS Cent. Sci.*, 2019, **5**, 1496–1506.
- 16 L. J. Daumann, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2019, **58**, 12795–12802.
- 17 A. M. Ochsner, L. Hemmerle, T. Vonderach, R. Nüssli, M. Bortfeld-Miller, B. Hattendorf and J. A. Vorholt, *Mol. Microbiol.*, 2019, **111**, 1152–1166.
- 18 J. A. Cotruvo, E. R. Featherston, J. A. Mattocks, J. V. Ho and T. N. Laremore, *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 15056–15061.
- 19 E. C. Cook, E. R. Featherston, S. A. Showalter and J. A. Cotruvo Jr, *Biochemistry*, 2019, **58**, 120–125.
- 20 G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, D. M. Park, D. W. Reed, J. A. Cotruvo and Y. Jiao, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 11855–11867.
- 21 G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, Z. Dong, P. T. Wooddy, J. A. J. Cotruvo Jr and M. Zavarin, *Sci. Adv.*, 2021, **7**(43), eabk0273.
- 22 G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, H. Wang, E. M. Gale, A. B. Kersting, M. Zavarin and J. A. Cotruvo, *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**(38), 15769–15783.
- 23 J. M. Richards and R. Sudowe, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 4605–4608.
- 24 C. Marie, P. Kaufholz, V. Vanel, M.-T. Duchesne, E. Russello, F. Faroldi, L. Baldini, A. Casnati, A. Wilden, G. Modolo and M. Miguirditchian, *Solvent Extr. Ion Exch.*, 2019, **37**, 313–327.
- 25 B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff and S. Tsushima, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2019, **21**, 21213–21222.
- 26 C. Wilke, A. Barkleit, T. Stumpf and A. Ikeda-Ohno, *J. Inorg. Biochem.*, 2017, **175**, 248–258.
- 27 C. Moulin, P. Decambox and P. Mauchien, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1997, **226**, 135–138.
- 28 H. Lumpe, A. Pol, H. J. M. Op den Camp and L. J. Daumann, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 10463–10472.
- 29 G. Schwarzenbach and R. Gut, *Helv. Chim. Acta*, 1956, **39**, 1589–1599.
- 30 L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger, J. J. Katz and L. Morss, *The chemistry of the actinide and transactinide elements*, Springer, 2006.
- 31 G. T. Seaborg and D. E. Hobart, *Summary of the properties of the lanthanide and actinide elements*, Indian Association of Nuclear Chemists and Allied Scientists, India, 1996.



## Supporting Information

### **Americium preferred: Lanmodulin, a natural lanthanide-binding protein favors an actinide over lanthanides**

Helena Singer †, Björn Drobot †, Cathleen Zeymer, Robin Steudtner\* and Lena J. Daumann\*

## Table of Contents

1. Experimental Procedures.....	3
1.1. Molecular cloning, expression and protein purification of LanM.....	3
1.2. Preparation of An and Ln working solutions.....	3
1.2.1. Actinide solutions.....	3
1.2.2. Lanthanide solutions.....	4
1.3. Binding studies with TRLFS.....	4
1.3.1. $\text{Eu}^{3+}/\text{Cm}^{3+}$ titration to LanM.....	4
1.3.2. A to $\text{Eu}^{3+}$ -LanM or $\text{Cm}^{3+}$ -LanM – Ln/An addition.....	4
1.3.3. A/ $\text{Eu}^{3+}$ to LanM or A/ $\text{Cm}^{3+}$ to LanM – Ln/An competition.....	4
1.4. Binding studies with CD spectroscopy.....	5
2. Data analysis.....	6
Figure S1. Treatment of TRLFS data.....	6
2.1. Parallel factor analysis.....	6
2.2. Exchange kinetics.....	6
2.3. Monte Carlo approach for estimation of parameter errors.....	7
Figure S2. MC approach for the kinetic experiments with $\text{Eu}^{3+}$ .....	7
Figure S3. MC approach for the kinetic experiments with $\text{Cm}^{3+}$ .....	8
3. Results and Discussion.....	8
Figure S4. SDS-PAGE of LanM.....	8
Figure S5. Previously reported affinity constants for Ln and An of Ln-binding systems.....	9
Figure S6. CD-spectra of LanM with $\text{Eu}^{3+}$ .....	9
Table S1. Intensities of $\text{Eu}^{3+}$ -LanM and $\text{Cm}^{3+}$ -LanM signal and calculated time constants.....	10
Table S2. Ionic radii of Ln and An and their oxidation states.....	10
Table S3. Notes on the versatile redox chemistry of the actinides.....	11
Table S4. Published dissociation constants $K_d$ for Ln and LanM.....	11

## 1. Experimental Procedures

### 1.1. Molecular cloning, expression and protein purification of LanM

A synthetic gene coding for LanM from *M. extorquens* without its N-terminal signal sequence (amino acids 1-21) was ordered from TWIST Bioscience (USA) and subcloned into a modified pET29b expression vector coding for a C-terminal Strep-tag. This tag was used to avoid possible metal binding, as it would be the case for a His-tag. The amino acid sequence, molecular weight MW, and extinction coefficient  $\epsilon_{280}$  of the construct are listed below:

MPTTTTKVDIAAFDPDKDGTDLKEALAAGSAAFDKLDPKDGTDLDAKELKGRVSEADLKKLDPDNDGTLDKKEYLAAVEAQFKAANPD  
NDGTIDARELASPAGSALVNLIRGSAWSHPQFEK

MW = 13.1 kDa,  $\epsilon_{280} = 6990 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

The protein was produced in *E. coli* BL21 Gold in an overnight expression at 18 °C after induction with 0.5 mM IPTG. Cells were harvested by centrifugation and lysed by sonication in a lysis buffer containing 1.0 mg/ml lysozyme. Cleared cell lysate was loaded on a Strep-Tactin® affinity column (IBA, Germany). Protein purification was performed in the presence of EDTA following the standard protocol of the supplier: wash buffer (40 mM HEPES pH 8.0, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA), elution buffer (40 mM HEPES pH 8.0, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 2.5 mM d-desthiobiotin). The elution fraction was dialyzed twice against sample buffer (10 mM Tris/HCl pH 6.8, 100 mM KCl). The protein was concentrated in an Amicon® centrifugal device to a final concentration of 181  $\mu\text{M}$  and subsequently aliquoted and flash-frozen in liquid nitrogen. The purity was confirmed by SDS-PAGE (figure S4).

To study the ability of the purified apo-LanM to bind Lns, metal titrations with different Lns at various pHs were performed using CD spectroscopy (figure S6, with  $\text{Eu}^{3+}$  at pH 6.7) and an Arsenazo III dye coupled assay (data not shown). Similar results were obtained as described by Cotruvo and coworkers,<sup>1</sup> confirming that the slightly modified LanM is also able to bind Lns with a high affinity.

### 1.2. Preparation of An and Ln working solutions

#### 1.2.1. Actinide solutions

The used actinides and their decay products pose serious health hazards and should thus only be handled at institutions designed for their safe handling.

##### <sup>237</sup>Np

5.0 mg  $\text{NpCl}_4(\text{dme})_2$  (dme = 1,2-dimethoxyethane) was dissolved in 1 mL tetrahydrofuran. The solution was added to an excess (i.e. 10 mg) of potassium graphite ( $\text{KC}_8$ ) and stirred for 30 minutes showing a color change from pink to yellow-green. The potassium graphite was separated from the solution by centrifugation and the supernatant was evaporated until dryness. The residue was dissolved in 1 mL dimethyl sulfoxide (DMSO) yielding a greenish solution. This stock solution ( $c \approx 9 \text{ mM}$ ) was hence diluted (first: 1:100 v/v, second 1:3 v/v) to yield a solution of  $c \approx 30 \mu\text{M}$   $\text{Np}^{3+}$  in DMSO.

##### <sup>242</sup>Pu (92%) / <sup>238</sup>Pu (8%)

A 6 mM Pu(IV) stock solution (without Am) in 0.1 M HCl was used to produce a  $\text{Pu}^{3+}$  by electrochemical reduction. The potential was set to  $-0.6 \text{ V}$  for  $\text{Pu}^{3+}$  production. After approximately 120 minutes, all Pu(IV) was reduced to  $\text{Pu}^{3+}$ . The pure  $\text{Pu}^{3+}$  solution was obtained as a result. The vial with the solution was wrapped with parafilm and stored inside an inert gas glovebox for one week before commencing with the preparation of a  $\text{Pu}^{3+}$  stock solution at pH 4. 2.75 mL of this solution was diluted with 6.75 mL of MilliQ water to a total volume of 9.5 mL. The initial concentration of the  $\text{Pu}^{3+}$  stock solution for titration to a pH of approximately 4 was therefore 3.6 mM. The final pH adjustment to pH 3.95 take place by the addition of aliquots of NaOH under a constant voltage of  $-0.4 \text{ V}$  to prevent the formation of Pu(IV) polymers or colloids during the NaOH addition process. The final concentration of the  $\text{Pu}^{3+}$  solution was analyzed with liquid scintillation counting (LSC) and determined to be 3.4 mM.

##### <sup>243</sup>Am (100%)

$\text{Am}^{3+}$  stock solution (26  $\mu\text{M}$ ) in 0.001 M HCl was used.

##### <sup>248</sup>Cm (97.3%) / <sup>246</sup>Cm (2.6%) / <sup>245</sup>Cm (0.04%) / <sup>247</sup>Cm (0.02%) / <sup>244</sup>Cm (0.009%)

A 7.3 mM stock solution of the long-lived curium isotopes in 1.0 M  $\text{HClO}_4$  was used. In a first step, the background electrolyte was converted from  $\text{HClO}_4$  to HCl. To 500  $\mu\text{l}$  of the perchlorate solution were added 1.5 ml 5 M NaOH to shift the pH clearly in the alkaline region. Afterwards the solution was centrifuged (10 min with 13000 rpm) and the supernatant was discarded. The solid was dissolved in 500  $\mu\text{L}$  1 M HCl and the conversion repeated four times. The final concentration of the  $\text{Cm}^{3+}$  solution in 1 M HCl was analyzed with LSC and determined to be 7 mM.

## 1.2.2. Lanthanide solutions

All lanthanides  $\text{Ln}^{3+}$  were available as  $\text{LnCl}_3$  hydrates. 10 mM stocks were prepared in MilliQ water and stored at  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  until they were used.

## 1.3. Binding studies with TRLFS

Important: When working with actinides, special safety precautions need to be considered. All measurements were carried out in a radioactive controlled environment in compliance with regulations.

To study the binding of different lanthanides and/or actinides, fluorescence properties of  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  were used. All measurements were performed in a 2 mL quartz glass cuvette, and temperature was adjusted to  $25\text{ }^\circ\text{C}$  in the temperature-controlled cuvette holder. For sufficient and fast mixing, stirring speed of 1200 rpm was set. An excitation wavelength of 394 nm was chosen for binding studies regarding  $\text{Eu}^{3+}$ , for  $\text{Cm}^{3+}$  a wavelength of 396 nm was applied (Ekspla, NT230, ~5 ns pulse). The cuvette holder was connected to the spectrograph (Andor, SR-303i-A) via a light guide. Spectra were recorded with an ICCD (Andor iStar, DH320T-18U-63). Data deconvolution was performed with parallel factor analysis (PARAFAC, N-way toolbox for Matlab)<sup>2</sup> and is summarized in Figure S1.

All experiments were performed in a TRIS-KCl buffer (10 mM TRIS, 100 mM KCl, pH 6.7). This pH was chosen to mimic physiological conditions. With higher pH, most probably the amount of available Ln aquo ions might decrease due to hydrolysis. Ln solutions were available in 10 mM stocks in MilliQ water and were diluted to 1 mM in the buffer if required. Available An stock solutions (in detail described above) were adjusted to 30  $\mu\text{M}$  with the buffer. For  $\text{Cm}^{3+}$  binding studies, a 5  $\mu\text{M}$  solution of LanM in buffer was prepared while for studies with  $\text{Eu}^{3+}$  the frozen stocks with concentration of 181  $\mu\text{M}$  were used. When working with An, a final concentration of 100 nM of  $\text{Cm}^{3+}$  was not exceeded which was found to be good compromise between sensitivity and radioactivity. For fluorescence studies with  $\text{Eu}^{3+}$ , an amount of 5.5  $\mu\text{M}$  was used during the measurements.

Different experiments were carried out to shed light on various issues and will be described in the following. For competitive binding studies, different combinations of Ln and An were chosen.

Ln series:  $\text{La}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Ce}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Pr}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Nd}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Sm}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Ho}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Er}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tm}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Lu}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$

An series:  $\text{Np}/\text{Cm}^{3+}$ ,  $\text{Pu}/\text{Cm}^{3+}$ ,  $\text{Am}^{3+}/\text{Cm}^{3+}$ ,  $\text{Nd}^{3+}/\text{Cm}^{3+}$

### 1.3.1. $\text{Eu}^{3+}/\text{Cm}^{3+}$ titration to LanM

To see if the purified LanM is able to bind  $\text{Eu}^{3+}$  or  $\text{Cm}^{3+}$ , initial binding studies were performed to determine the exact amount of  $\text{Eu}^{3+}$  or  $\text{Cm}^{3+}$  which could be bound by LanM.

The protein LanM was diluted to a concentration of 1  $\mu\text{M}$  in the buffer in a total volume of 1000  $\mu\text{L}$ . A 1 mM  $\text{Eu}^{3+}$  solution was added in 0.5 and 1  $\mu\text{L}$  steps until a concentration of 10  $\mu\text{M}$  was reached. TRLFS parameters for the measurement were exponential step size  $5 \cdot 10^4$ , initial delay 288  $\mu\text{s}$ , gate width 500  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 5, gain 4000, 100  $\mu\text{m}$  slit width, grating 300 l/mm.

A 5  $\mu\text{M}$  dilution of LanM in buffer was titrated in 0.6  $\mu\text{L}$  steps to 1000  $\mu\text{L}$  of a 100 nM solution of  $\text{Cm}^{3+}$  in buffer. In total, 20 titration steps were performed to reach a concentration of 57 nM LanM. TRLFS parameters for the measurement were linear increasing step size  $3 \cdot 10^4$ , initial delay 275  $\mu\text{s}$ , gate width 100  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 25, gain 4000, 600  $\mu\text{m}$  slit width, grating 600 l/mm.

### 1.3.2. A to $\text{Eu}^{3+}$ -LanM or $\text{Cm}^{3+}$ -LanM – Ln/An addition

In addition, it was tested if different subsequently added Lns or Ans have an impact on LanM which has prior bound to  $\text{Eu}^{3+}$  (Ln series) or  $\text{Cm}^{3+}$  (An series).

For experiments regarding the Ln series, 1  $\mu\text{M}$  LanM was incubated with 5.5  $\mu\text{M}$   $\text{Eu}^{3+}$  for 10 minutes at room temperature with constant stirring. Then, 5.5  $\mu\text{M}$  of Ln was added and immediately after the addition the data acquisition was started. The measurements were initially carried out in short intervals, with ongoing time the intervals were increased. Spectra were collected until no more changes occurred. TRLFS parameters for the measurement were exponential step size  $5 \cdot 10^4$ , initial delay 288  $\mu\text{s}$ , gate width 200  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 5, gain 400, 100  $\mu\text{m}$  slit width, grating 300 l/mm.

The procedure for the An series was carried out in the same way but different concentration of An or  $\text{Nd}^{3+}$  and protein was used. 100 nM  $\text{Cm}^{3+}$  and the additional An or Nd was mixed in buffer. Shortly after addition of 18 nM LanM, the spectra collection was started. TRLFS parameters for the measurement were exponential step size  $20 \cdot 10^4$ , initial delay 275  $\mu\text{s}$ , gate width 600  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 5, gain 4000, 600  $\mu\text{m}$  slit width, grating 1200 l/mm.

### 1.3.3. $\text{A}/\text{Eu}^{3+}$ to LanM or $\text{A}/\text{Cm}^{3+}$ to LanM – Ln/An competition

Focusing the differences of preferred Ln binding of LanM, 5.5  $\mu\text{M}$  of  $\text{Eu}^{3+}$  and 5.5  $\mu\text{M}$  of Ln (see Ln series) were added to the cuvette in buffer. Then 1  $\mu\text{M}$  of LanM was added, and the mix was incubated for 24 hours at room temperature. Spectra were collected with parameters of linear increasing step size  $3 \cdot 10^4$ , initial delay 288  $\mu\text{s}$ , gate width 500  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 25,

gain 4000, input slit 100  $\mu\text{M}$ , grating 300l/mm. Spectra were collected before addition of LanM, shortly after addition of the protein, and after 24 hours incubation period.

For experiments regarding the An series or Ln/An series, 100 nM of  $\text{Cm}^{3+}$  and 100 nM of Ans or  $\text{Nd}^{3+}$  (see An series) in the cuvette with buffer. Subsequently, 18 nM of LanM were added and it was incubated for 24 hours at room temperature. TRLS parameters for the measurement were linear increasing step size 3+1\*x, initial delay 275  $\mu\text{s}$ , gate width 600  $\mu\text{s}$ , accumulations 200, kinetic series length 25, gain 400, 600  $\mu\text{m}$  slit width, grating 1200 l/mm. Spectra were collected before addition of LanM, shortly after addition of the protein, and after 24 hours incubation period.

#### **1.4. Binding studies with CD spectroscopy**

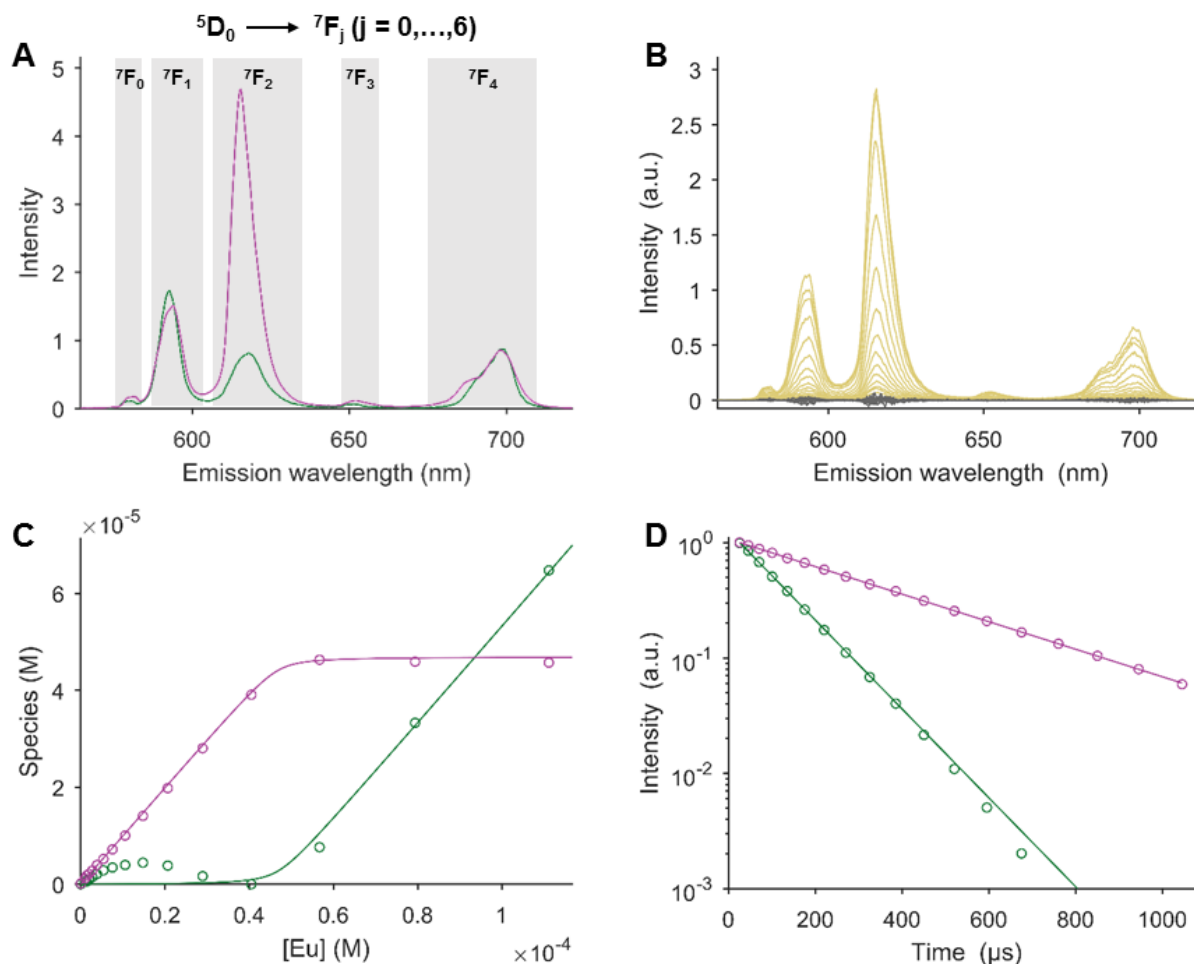
CD spectra were collected using a JASCO J-810 CD and ORD spectropolarimeter with thermostat-controlled cell holder in combination with software Spectra Manager Version 2.06.00.

Experiments to study a possible conformational change of apo-LanM and  $\text{Eu}^{3+}$  were carried out with frozen LanM stocks without further purification or washing procedure in a macro cuvette (QS) with 1 mm pathlength at 25 °C. For the stoichiometric titration with  $\text{Eu}^{3+}$ , 20  $\mu\text{M}$  of apo-LanM were diluted in TRIS-KCl buffer (10 mM TRIS, 100 mM KCl, pH 6.7) to a final volume of 200  $\mu\text{L}$ . The  $\text{Eu}^{3+}$  stock solution (10 mM) was prepared as described in 1.2.2. Each equivalent of metal corresponded to a volume of 0.4  $\mu\text{L}$  of the  $\text{Eu}^{3+}$  stock. Collection of spectra was started 2 minutes after metal addition. Spectra were scanned from 180 – 300 nm with 1 nm bandwidth, 0.5 nm data pitch, 50 nm/min scan rate, D.I.T. 4 seconds. Three accumulations were acquired, and spectra were baseline corrected with a previously collected buffer sample. Due to small volume changes, no correction of concentration was applied.

## 2. Data analysis

### 2.1 Parallel factor analysis (PARAFAC)

Data from time resolved laser-induced fluorescence spectroscopy were analyzed using PARAFAC as implemented for Matlab R2020b as N-way toolbox for Matlab.<sup>2</sup> This approach was previously successful applied on the interaction of a protein (calmodulin) with  $\text{Eu}^{3+}$ .<sup>3</sup>



**Figure S1.** **A** The emission spectrum of  $\text{Eu}^{3+}$  consists of several electronic transitions. Its main transitions origin from the  $^5\text{D}_0$  level to the J levels of the ground term  $^7\text{F}$  with  $j = 0, \dots, 6$ . Often transitions to the  $^7\text{F}_5$  and  $^7\text{F}_6$  transitions are not observable. Therefore, the graph shows only transitions up to  $j = 4$ . The  $^7\text{F}_j$  level can split into a set of crystal field levels. The maximum number of crystal field induced split levels is given by  $2j+1$  and depends on the symmetry of the crystal field. This splitting is responsible for the unsymmetrical shape of individual  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_j$  transitions. The species assignment is supported by the emission spectra based on the PARAFAC calculation. The  $\text{F}_1/\text{F}_2$  ratio of green spectrum is characteristic for the  $\text{Eu}^{3+}$  aquo ion. Changes in this ratio are indicative for  $\text{Eu}^{3+}$  complexation, here the formation of a  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex. **B** Comparison of  $t_0$  raw spectra (yellow) with the corresponding residuals demonstrate the goodness (grey) of the used PARAFAC model. **C** The distribution of the two PARAFAC species show the transition from the initial the  $\text{Eu}^{3+}$ -LanM complex (magenta) to the  $\text{Eu}^{3+}$  aquo ion (green) with increasing  $\text{Eu}^{3+}$  concentrations. **D** This assignment is further ensured by the luminescence lifetimes ( $\tau_{\text{aquo}} = 113 \pm 2 \mu\text{s}$ ,  $\tau_{\text{Eu(III)-LanM}} = 364 \pm 3 \mu\text{s}$ ). The extended lifetimes of  $\text{Eu}^{3+}$  complexes are usually explained by water molecule displacement from the  $\text{Eu}^{3+}$  coordination sphere.

### 2.2 Exchange kinetics

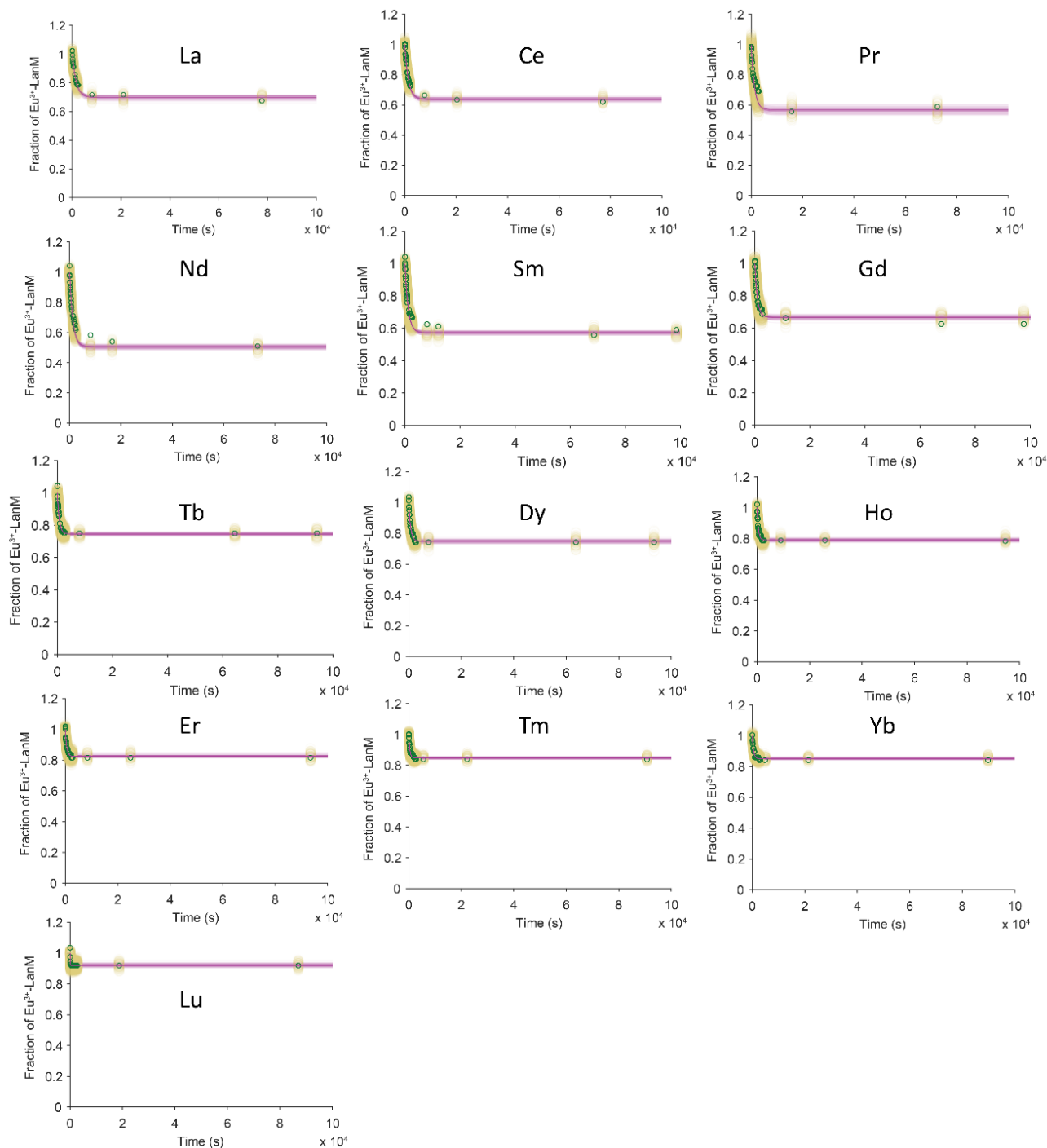
All exchange kinetics were fitted to an exponential decay including an offset term

$$I(t) = e^{-\frac{t}{\tau}} + c$$

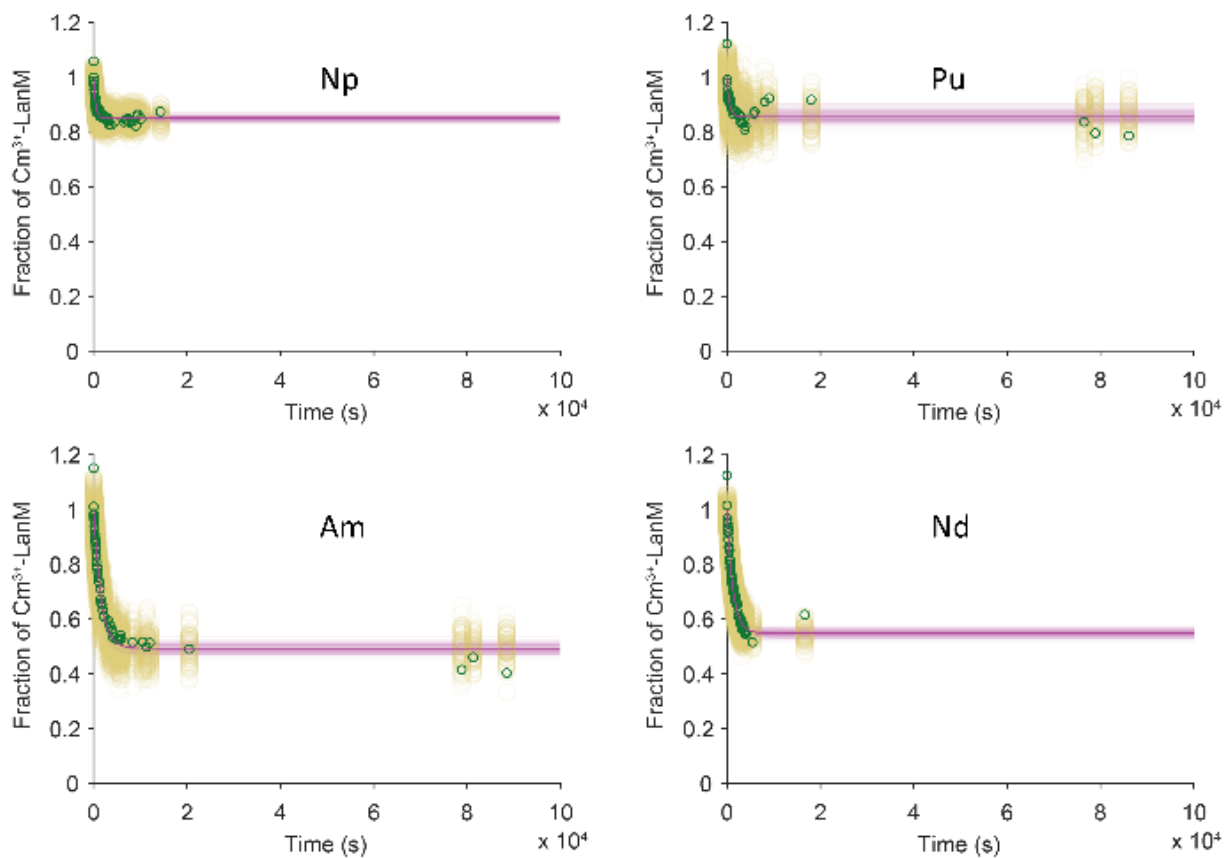
Here  $t$  is the time,  $\tau = 1/k$  the time constant and  $c$  the constant value corresponds to  $I_{(t \rightarrow \infty)}$ . Without exact knowledge about process details involved in the exchange of one f-element with another, the time constant is given as apparent time constant.

### 2.3 Monte Carlo approach for estimation of parameter errors

In order to provide robust estimates of parameter errors a Monte Carlo (MC) approach was used as previously described.<sup>3</sup> Synthetic generated noise of the same magnitude as the residuals was added to the data and the fitting procedure was repeated (1000 times). The synthetic data and corresponding fits for the kinetic experiments are given in Figure S2 and S3. All fitted constants  $c$  and time constants  $\tau$  of the 1000 MC runs were used for the box plots in the main manuscript.

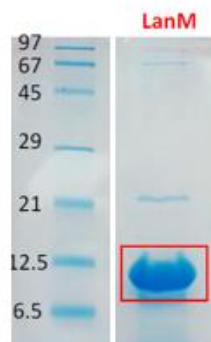


**Figure S2. B** MC approach for the exchange experiments with  $\text{Eu}^{3+}$ . MC in yellow compared to raw data in green (fits in magenta).



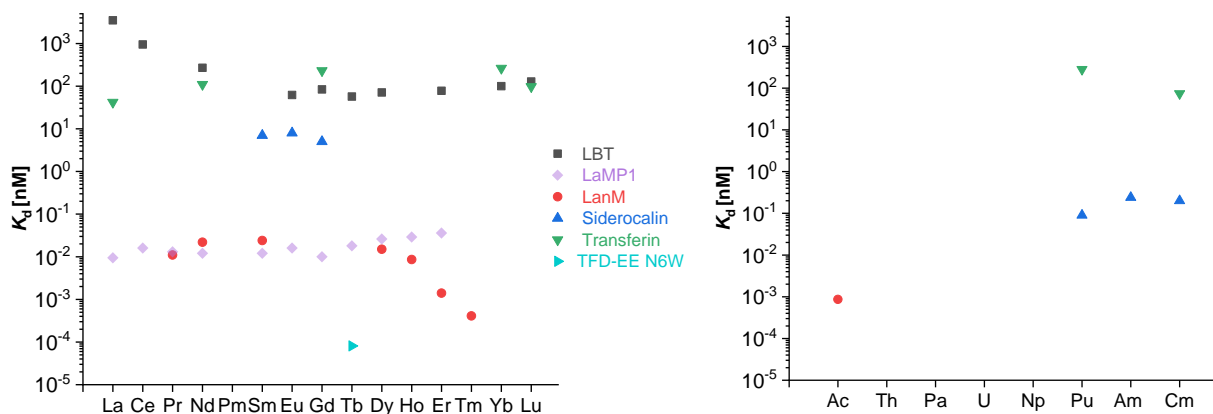
**Figure S3.** MC approach for the exchange experiments with Cm<sup>3+</sup>. MC in yellow compared to raw data in green (fits in magenta).

### 3. Results and Discussion

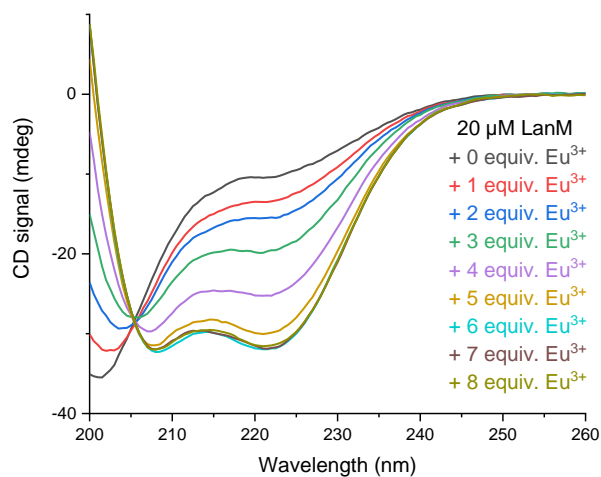


**Figure S4.** SDS-PAGE of the purified protein LanM.





**Figure S5.** Previously reported affinity constants for Ln and An of Ln-binding systems LBT<sup>4</sup> and LaMP1<sup>5</sup> or proteins which were described to bind Lns LanM,<sup>6,7</sup> TFD-EE N6W,<sup>8,9</sup> Siderocalin,<sup>10</sup> Transferrin<sup>11</sup>. Measurements regarding the LBT were performed with fluorescence spectroscopy at pH 7.0 in 10 mM N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES) buffer and 100 mM NaCl.  $K_d$  of LaMP1 was obtained by FRET ratios with EDDS-buffered metal solutions at pH 7.2 in 30 mM MOPS and 100 mM KCl. For LanM,  $K_d$  was determined with UV-Vis spectrophotometry at pH 5 in 100 mM KCl/K-acetate buffer. Studies regarding Siderocalin were done with fluorescence quenching analysis at pH 7.4 in 100 mM HEPES buffer. Pu was provided for the experiments in oxidation state +IV. Binding constants of Transferrin were obtained with HPLC measurements in  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  buffer at pH 7.4. TFD-EE N6W was studied with EGTA-buffered solutions in 25 mM HEPES and 100 mM NaCl at pH 7.5 in combination with sensitized luminescence.



**Figure S6.** CD-spectra of 20  $\mu\text{M}$  apo-LanM with addition of different equivalents of  $\text{Eu}^{3+}$ .

**Table S1.** Intensities of Eu<sup>3+</sup>-LanM and Cm<sup>3+</sup>-LanM signal of figure 4 and 6 and calculated time constants of figure 3C and 5C.

Element	Eu <sup>3+</sup> -LanM signal (%)	Cm <sup>3+</sup> -LanM signal (%)	Time constants (s)
La <sup>3+</sup>	69.71	-	1222.00
Ce <sup>3+</sup>	62.43	-	1094.30
Pr <sup>3+</sup>	58.92	-	811.48
Nd <sup>3+</sup>	49.73	51.77	986.60 (Eu) / 1334.80 (Cm)
Pm <sup>3+</sup>	-	-	-
Sm <sup>3+</sup>	60.38	-	767.52
Gd <sup>3+</sup>	67.35	-	648.95
Tb <sup>3+</sup>	68.31	-	692.92
Dy <sup>3+</sup>	78.16	-	647.12
Ho <sup>3+</sup>	76.49	-	483.83
Er <sup>3+</sup>	80.93	-	482.49
Tm <sup>3+</sup>	81.19	-	378.40
Yb <sup>3+</sup>	82.14	-	453.53
Lu <sup>3+</sup>	89.51	-	167.80
Np	-	76.50	426.15
Pu	-	69.02	416.87
Am <sup>3+</sup>	-	42.10	1461.80

**Table S2.** Ionic radii of Ln and An and their oxidation states<sup>12</sup>

Element	Ionic radius (pm) <sup>[a]</sup>	Oxidation states <sup>[b]</sup>
La	103.2	+ III
Ce	101.0	<b>+ III</b> , +IV
Pr	99.0	<b>+ III</b> , +IV
Nd	98.3	+ III
Pm	97.0	+ III
Sm	95.8	+ II, <b>+ III</b>
Eu	94.7	+ II, <b>+ III</b>
Gd	93.8	+ III
Tb	92.3	<b>+ III</b> , +IV
Dy	91.2	+ III
Ho	90.1	+ III
Er	89.0	+ III
Tm	88.0	+ III
Yb	86.8	+ II, <b>+ III</b>
Lu	86.1	+ III
Np	101.1	+ III, + IV, <b>+V</b> , +VI, +VII
Pu	99.5	+ III, <b>+ IV</b> , +V, +VI, +VII
Am	98.0	<b>+ III</b> , + IV, +V, +VI
Cm	97.0	<b>+ III</b> , + IV

[a] Ionic radii for +III oxidation state [b] in bold the most prevalent one, not well characterized or solid-state oxidation states were not included

The redox chemistry of Ans differs completely from the Lns. While Am and Cm only reveal a few oxidation states, Np and Pu have multitudes which also coexist. Factors like pH or the presence of reducing or oxidizing reagents as well as complexing agents and the concentration of the element itself play an important role. For a better overview, relevant notes on the oxidations important for the discussion are given.

**Table S3.** Notes on the versatile redox chemistry of the actinides<sup>12, 13</sup>

Element	Oxidation state	Ionic radius (pm) <sup>[a]</sup>	Note
Np	III	101.1	Np <sup>3+</sup> ; stable in aqueous acidic solution but gets easily oxidized in the presence of air to Np <sup>4+</sup> and NpO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
Np	IV	87.4	Np <sup>4+</sup> ; stable in aqueous solution but slow oxidation to NpO <sub>2</sub> <sup>+</sup> was observed with air, in low acidic environment also hydrolysis was described
Np	V	n.a.	Dioxo species NpO <sub>2</sub> <sup>+</sup> ; most stable form in aqueous solution, disproportionation $2 \text{NpO}_2^+ + 4 \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Np}^{4+} + \text{NpO}_2^{2+} + 2 \text{H}_2\text{O}$ only described at high concentrations or at strongly acidic environment, formation of hydroxides in neutral and basic environment
Np	VI	n.a.	Dioxo species NpO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> ; mainly present at acidic pH but reduction to NpO <sub>2</sub> <sup>+</sup> was described, formation of hydroxides in neutral and basic environment
Pu	III	99.5	Pu <sup>3+</sup> ; stable in aqueous acidic solution and on air but is easily oxidized to Pu <sup>4+</sup>
Pu	IV	85.9	Pu <sup>4+</sup> , only stable in highly acidic environment, with lower acidic conditions a disproportionation to Pu <sup>3+</sup> and PuO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> was described as well as the formation of colloidal hydrolysis products
Pu	V	n.a.	Dioxo species PuO <sub>2</sub> <sup>+</sup> , is unstable and disproportion to Pu <sup>4+</sup> and PuO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> was described, in aqueous solutions the formation of Pu <sup>3+</sup> and PuO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> was observed
Pu	VI	n.a.	Dioxo species PuO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> , reduction to Pu <sup>4+</sup> in acidic medium was described
Am	III	98.0	Stable and not easy to oxidize
Am	IV	84.8	Fluorides or carbonates in aqueous solution
Cm	III	97.0	Stable
Cm	IV	84.1	Fluorides CmF <sub>4</sub> in aqueous solution, CmO <sub>2</sub> , ion stable in aqueous solutions with highly complexing agents

[a] n.a. = not available

**Table S4.** Published dissociation constants  $K_d$  for Ln and LanM<sup>1, 6, 9</sup>

Please note that the different  $K_d$  were determined with various methods which explains the strong deviations. Also, intrinsic and apparent  $K_d$  are listed here.

	Average intrinsic $K_d$ <sup>[b]</sup>	Apparent $K_d$ <sup>[c]</sup>	Apparent $K_d$ <sup>[d]</sup>
3 La <sup>3+</sup> + LanM = La <sub>3</sub> LanM	n.d. <sup>[a]</sup>	n.d.	5.3 ± 0.6 pM
3 Pr <sup>3+</sup> + LanM = Pr <sub>3</sub> LanM	11 ± 1 pM	70 ± 10 pM	n.d.
3 Nd <sup>3+</sup> + LanM = Nd <sub>3</sub> LanM	22 ± 2 pM	n.d.	5.3 ± 0.6 pM
3 Sm <sup>3+</sup> + LanM = Sm <sub>3</sub> LanM	24 ± 6 pM	n.d.	6.6 ± 2.8 pM
3 Gd <sup>3+</sup> + LanM = Gd <sub>3</sub> LanM	n.d.	100 ± 10 pM	10 ± 4 pM
3 Tb <sup>3+</sup> + LanM = Tb <sub>3</sub> LanM	n.d.	n.d.	21 ± 2 pM
3 Dy <sup>3+</sup> + LanM = Dy <sub>3</sub> LanM	15 ± 4 pM	200 ± 50 pM	n.d.
3 Ho <sup>3+</sup> + LanM = Ho <sub>3</sub> LanM	8.6 ± 1.4 pM	260 ± 60 pM	2.5 ± 0.4
3 Er <sup>3+</sup> + LanM = Er <sub>3</sub> LanM	1.4 ± 0.2 pM	n.d.	n.d.
3 Tm <sup>3+</sup> + LanM = Tm <sub>3</sub> LanM	0.41 ± 0.13 pM	n.d.	n.d.

[a] n.d. = not determined [b] determined with UV-Vis spectrophotometry at pH 5 in 100 mM KCl/K-acetate buffer [c] determined with CD spectroscopy in combination with chelator-buffered solutions at pH 5, buffer with 20 mM acetate and 100 mM KCl [d] determined with CD spectroscopy at pH 7.0 in buffer 20 mM MOPS, 20 mM acetate and 100 mM KCl

## Supporting References

1. J. A. Cotruvo, E. R. Featherston, J. A. Mattocks, J. V. Ho and T. N. Laremore, *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 15056-15061.
2. C. Andersson and R. Bro, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 2000, **52**, 1-4.
3. B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff and S. Tsushima, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2019, **21**, 21213-21222.
4. M. Nitz, M. Sherawat, K. J. Franz, E. Peisach, K. N. Allen and B. Imperiali, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 3682-3685.
5. J. A. Mattocks, J. V. Ho and J. A. Cotruvo, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 2857-2861.
6. G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, D. M. Park, D. W. Reed, J. A. Cotruvo and Y. Jiao, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 11855-11867.
7. G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, Z. Dong, P. T. Woody, J. A. J. Cotruvo, M. Zavarin, *ChemRxiv* 2021, DOI 10.26434/chemrxiv.14763426.v1.  
This content is a preprint and has not been peer-reviewed. Now available as Capturing an elusive but critical element: Natural protein enables actinium chemistry. *Sci. Adv.* 2021, **7**, eabk0273.
8. S. J. Caldwell, I. C. Haydon, N. Piperidou, P.-S. Huang, M. J. Bick, H. S. Sjöström, D. Hilvert, D. Baker and C. Zeymer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2020, **117**, 30362.
9. J. A. Mattocks, J. L. Tirsch and J. A. Cotruvo, in *Methods Enzymol.*, ed. J. A. Cotruvo, Academic Press, 2021, vol. 651, pp. 23-61.
10. B. E. Allred, P. B. Rupert, S. S. Gauny, D. D. An, C. Y. Ralston, M. Sturzbecher-Hoehne, R. K. Strong and R. J. Abergel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015, **112**, 10342-10347.
11. G. J. P. Deblonde, M. Sturzbecher-Hoehne, A. B. Mason and R. J. Abergel, *Metallomics*, 2013, **5**, 619-626.
12. G. T. Seaborg and D. E. Hobart, *Summary of the properties of the lanthanide and actinide elements*, Indian Association of Nuclear Chemists and Allied Scientists, India, 1996.
13. L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger, J. J. Katz and L. Morss, *The chemistry of the actinide and transactinide elements*, Springer, 2006.



### 3.2 Growth Studies of Ln-dependent Bacterial Strains and Mechanistic Investigations of XoxF-MDH

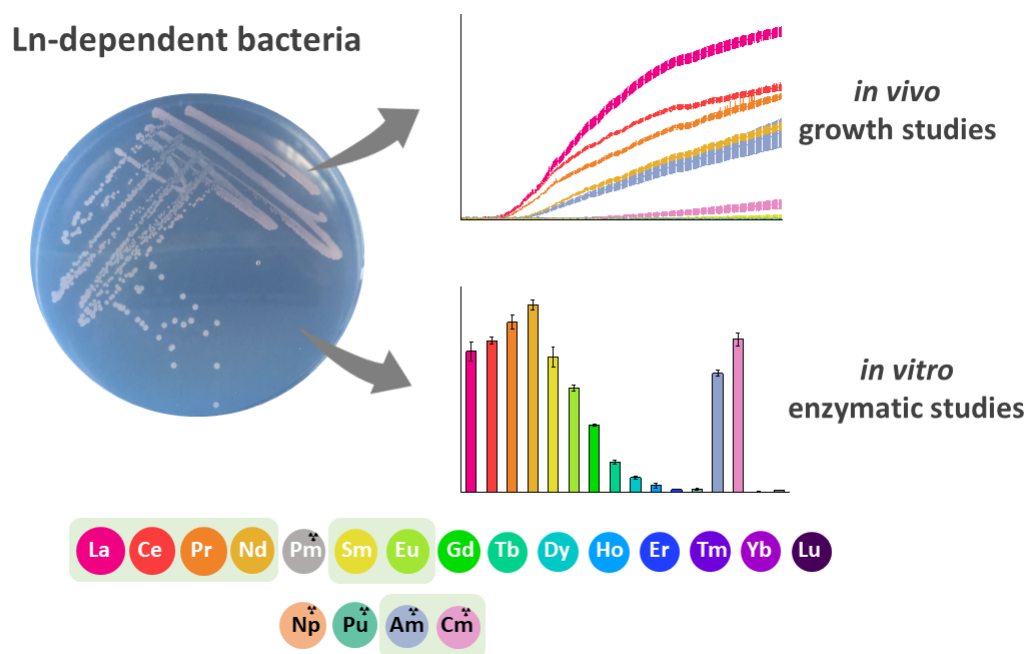


Figure 3.2: Graphical abstract of publication 2

#### Publication 2: Minor Actinides Can Replace Essential Lanthanides in Bacterial Life

Helena Singer, Robin Steudtner, Andreas S. Klein, Carolin Rulofs, Cathleen Zeymer, Björn Drobot, Arjan Pol, N. Cecilia Martinez-Gomez, Huub J. M. Op den Camp, Lena J. Daumann

*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (31), e202303669.

DOI: 10.1002/anie.202303669 (Paper), DOI: 10.1002/anie.202306609 (Inside Cover)

**Summary:** Methylotrophic bacteria can utilize Ans instead of Lns to sustain their metabolism. Studies with two bacterial Ln-using strains demonstrate that the trivalent radioactive 5f elements americium and curium can support growth. Also, catalytic activity of the Ln-dependent methanol dehydrogenases XoxF with Ans is shown. For the first time it is established that An can play a beneficial role in biological metabolism.

**Contribution:** LJD and HS conceptualized the idea and wrote the initial draft of this manuscript, LJD acquired funding for this project, all authors developed the methodology and were involved in review and editing of this manuscript. Strain SolV was provided by AP and HOdC, the AM1  $\Delta$ mxoF mutant strain by NCMG. CZ, ASK and CR expressed and purified the XoxF-MDH from strain SolV in *E. coli*, HS and AP purified Eu-MDH from SolV. Growth studies were conducted by HS and RS. HS and RS acquired the TRLFS data. RS and BD wrote the code and fitted the TRLFS data. HS and RS conducted the LSC and ICP-MS measurements. HS conducted the enzymatic activity determination. LJD and RS provided the necessary resources and infrastructure for this work.

**Copyright:** This was published as an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License.

A Journal of the German Chemical Society

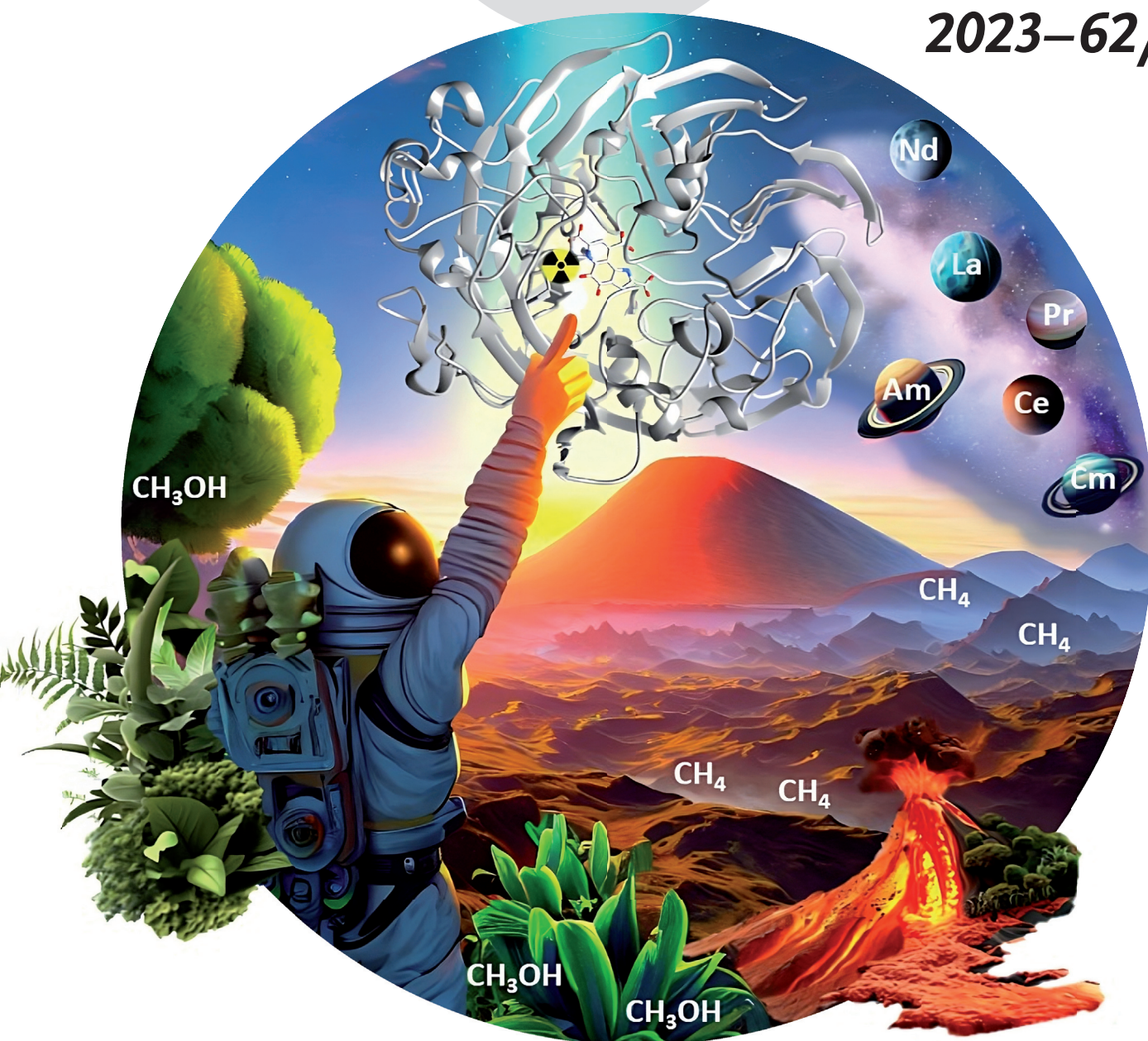
# Angewandte Chemie

GDCh

International Edition

www.angewandte.org

2023–62/31



## Exploring new fields:

Lanthanide-using bacteria that turn over methane or methanol in their metabolism can replace essential lanthanides by certain actinides. In their Research Article (e202303669), Lena J. Daumann et al. show that an extremophile isolated from a volcanic mud-pot as well as a methylotrophic laboratory strain can use americium and curium. In vivo growth experiments as well as in vitro studies with the key metabolic enzyme methanol dehydrogenase support that these actinides can sustain the one-carbon metabolism of these bacteria.

WILEY-VCH




**Lanthanide-Dependent Bacteria** Very Important Paper

 How to cite: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303669  
doi.org/10.1002/anie.202303669

# Minor Actinides Can Replace Essential Lanthanides in Bacterial Life\*\*

 Helena Singer<sup>+</sup>, Robin Steudtner<sup>+</sup>, Andreas S. Klein, Carolin Rulofs, Cathleen Zeymer, Björn Drobot, Arjan Pol, N. Cecilia Martinez-Gomez, Huub J. M. Op den Camp, and Lena J. Daumann\*

**Abstract:** Certain f-block elements—the lanthanides—have biological relevance in the context of methylotrophic bacteria. The respective strains incorporate these 4f elements into the active site of one of their key metabolic enzymes, a lanthanide-dependent methanol dehydrogenase. In this study, we investigated whether actinides, the radioactive 5f elements, can replace the essential 4f elements in lanthanide-dependent bacterial metabolism. Growth studies with *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV and the *Methylobacterium extorquens* AM1  $\Delta$ *mxoF* mutant demonstrate that americium and curium support growth in the absence of lanthanides. Moreover, strain SolV favors these actinides over late lanthanides when presented with a mixture of equal amounts of lanthanides together with americium and curium. Our combined *in vivo* and *in vitro* results establish that methylotrophic bacteria can utilize actinides instead of lanthanides to sustain their one-carbon metabolism if they possess the correct size and a +III oxidation state.

the exception of promethium) are widespread in the environment and the most abundant ones can be found in similar concentrations as copper and zinc in the earth's crust. They are essential for our daily life and find application in strong magnets, high-tech devices, materials for energy-efficient transport and medicine. Lns exhibit stable +III oxidation states and neighboring elements display very similar ionic radii, however, these gradually decrease along the series (=lanthanide contraction).<sup>[1]</sup> They exhibit highly similar chemical properties and coordination chemistry, making it difficult to separate these elements, which always occur as mixtures in ores and minerals. Since 2011 it is known that methylotrophic bacteria, such as *Methylobacterium radiotolerans*, can use Lns in their one-carbon (C<sub>1</sub>) metabolism, making these elements play an essential biological role. Nanomolar lanthanide (Ln) concentrations in the growth environment of these bacteria, such as *Methylobacterium extorquens* AM1 (Airborne Methylotroph #1, AM1), trigger a 'lanthanide switch' that results in the use of a Ln-dependent methanol dehydrogenase (XoxF-MDH) as the key metabolic enzyme.<sup>[2]</sup> In the absence of Lns, a calcium-dependent variant (MxoF-MDH) catalyzes the methanol oxidation.<sup>[3]</sup> Some bacteria have only a XoxF-type MDH and, consequently, Lns become essential for their C<sub>1</sub> metabolism. MDHs are quinoproteins bearing the redox cofactor pyrroloquinoline quinone (PQQ) and a Lewis acidic metal ion (Ln<sup>3+</sup> or Ca<sup>2+</sup>) in the active site. Bacteria that use Lns are now known to be widespread in the environment and can be found in many different ecosystems:

## Introduction

The 15 elements in the periodic table from lanthanum to lutetium are commonly referred to as lanthanides (Lns), where the 4f shell is gradually filled. These elements (with

[\*] H. Singer,<sup>+</sup> L. J. Daumann  
Department of Chemistry, Ludwig-Maximilians-University Munich  
81377 München (Germany)  
E-mail: lena.daumann@lmu.de

R. Steudtner,<sup>+</sup> B. Drobot  
Institute of Resource Ecology, Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e.V.  
01328 Dresden (Germany)

A. S. Klein, C. Rulofs, C. Zeymer  
Center for Functional Protein Assemblies & TUM School of Natural Sciences, Technical University of Munich  
85748 Garching (Germany)

A. Pol, H. J. M. Op den Camp  
Department of Microbiology, Research Institute for Biological and Environmental Sciences, Radboud University Nijmegen  
6525 AJ Nijmegen (The Netherlands)

N. Cecilia Martinez-Gomez  
Department of Plant and Microbial Biology, University of California Berkeley, CA 94720–3102 (USA)

[<sup>+</sup>] Co-first authors

[\*\*] A previous version of this manuscript has been deposited on a preprint server (<https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2022-zn3t4>).

© 2023 The Authors. Angewandte Chemie International Edition published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

aquatic, the phyllosphere of plants, soil and extreme environments such as volcanic mudpots.<sup>[4]</sup> However, it is still not completely understood why these bacteria evolved to use Lns. Even though light (La–Eu) and heavy (Gd–Lu) Lns can be mobilized by bacteria, light Lns (those with larger ionic radii) better stimulate growth and support high methanol oxidation activity in the volcanic methanotroph *Methylococcus fumariolicum* SolV (SolV).<sup>[1a,5]</sup> However, strains such as AM1 can be modified to more effectively use also heavy (smaller) Lns, such as gadolinium.<sup>[6]</sup>

The heavier 5f elements—the actinides (Ans)—share a number of key properties with their lighter Ln counterparts in the f-block series. Therefore, it is conceivable that associated biological functions of the Lns as 4f elements can be extended to the series of Ans, providing a general insight into the potential role of radioactive f-block elements in biological processes. The interest in the interaction between Ans and living systems is multifaceted and an emerging topic. It ranges from elucidating toxicity pathways to developing remedies for radiometal poisoning and bioinspired separation strategies. Studying microbe–actinide interactions has thus become increasingly important.<sup>[7]</sup> It has been shown that Ans can bind to a variety of biomolecules (e.g. those usually binding also Ca or Fe).<sup>[8]</sup> Still, since the discovery of the biological relevance of 4f elements a decade ago, it remains elusive whether 5f elements can also play an active role in metabolism, carrying out catalytic processes, or maybe even function better than the native metal ions. Previously, for the Ln-binding protein Lanmodulin (LanM) isolated from strain AM1, an even higher affinity of the actinides Ac, Am and Cm than for some Lns has been demonstrated.<sup>[9]</sup>

In this study, three Ans were chosen intentionally as they display similar properties as the light Lns: americium and curium are stable in the +III oxidation state, and their size matches Nd<sup>3+</sup> (ionic radius = 98.3 pm, with Am<sup>3+</sup> 98.0 pm and Cm<sup>3+</sup> 97.0 pm). Plutonium is similar to Pr<sup>3+</sup> in the +III oxidation state (99.0 pm, with Pu<sup>3+</sup> 99.5 pm), but possesses a richer redox chemistry.<sup>[10]</sup> Replacing the Lns with these Ans allowed us to probe the impact of size in combination with the oxidation state of metal ions in Ln-dependent biological systems. We thus investigated the effect of americium, curium and plutonium on the microbial life cycle of Ln-using and Ln-dependent bacteria as well as on the activity of Ln-dependent MDH.

## Results and Discussion

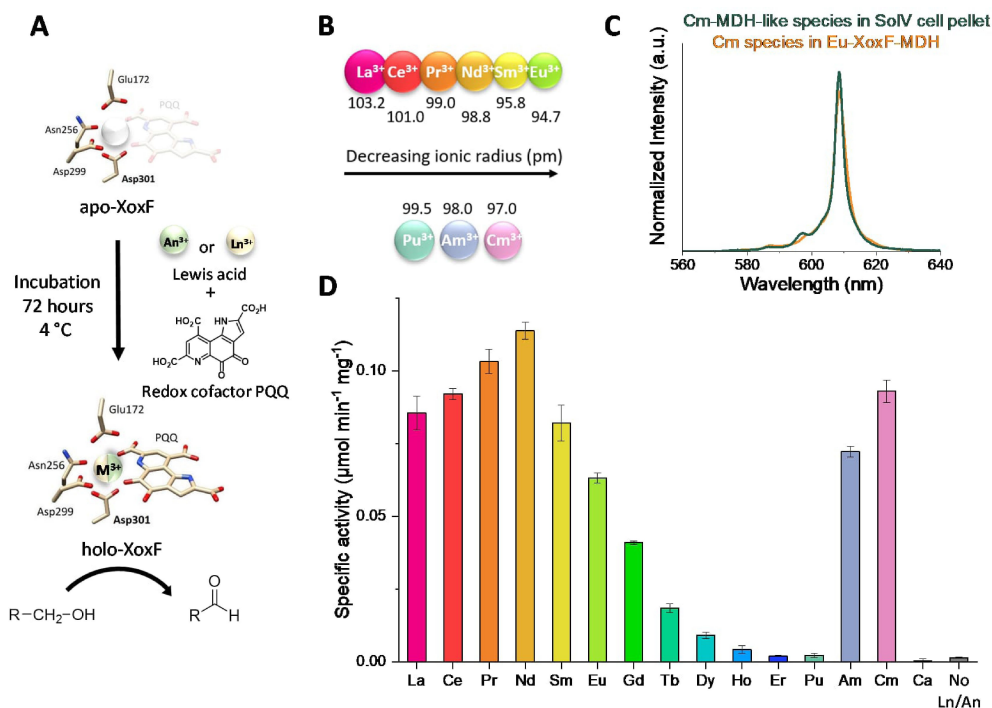
### Actinide reconstitution yields catalytically competent MDH in vitro

To test the capability of Ans to participate in the C<sub>1</sub> metabolism of Ln-dependent bacteria, we measured the enzymatic activity of Ln-dependent XoxF-MDH in the presence of various metal ions. We expressed the *xoxF*-gene of strain SolV recombinantly in *Escherichia coli* (*E. coli*) and studied the impact of the metal ion by in vitro reconstitution of purified metal-free apo-protein. Production

of soluble and functional apo-XoxF-MDH required adjustment of codon usage for *E. coli* and expression as a fusion protein with a maltose-binding protein (MBP) solubility tag, which was removed later on during purification (Supporting Information Material and Methods: Recombinant protein production of apo-XoxF-MDH in *Escherichia coli*, Figures S1–S3, Tables S2–S5). After incubating this apo-MDH with equimolar concentrations of the redox cofactor PQQ and the Ln or actinide (An) of interest (Figures 1B, S7 and S8), we obtained a fully functioning MDH (Figure 1A) which was able to oxidize methanol to formaldehyde, as verified by a dye-coupled assay (Figures S4 and S5). From La to Nd an increase in enzymatic activity was observed, followed by a sharp decrease or complete loss of methanol oxidation activity along the further series (Figure 1D). A similar trend was found with native Eu-MDH isolated from strain SolV (with 30 % of active sites not occupied by Eu<sup>3+</sup> and thus available for additional metal ions to bind).<sup>[5b,c]</sup> This rise and fall of activity within the series was previously speculated to be due to the higher Lewis acidity, and thus better activation of PQQ and substrate, as well as possibly better binding in the active site, among other factors.

Using the radioactive 5f elements Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> as Lewis acids for reconstitution of apo-XoxF-MDH yielded a similarly high enzymatic activity as for the light Lns (Figure 1D), while no substrate conversion could be detected for Pu-MDH, likely due to its versatile redox chemistry and deviation from the +III oxidation state under the chosen assay conditions.<sup>[11]</sup> Under the low concentrations used in the assay, spectroscopic characterization of the Pu species is not possible. Whether Pu is fully oxidized and thus unable to bind to MDH or whether Pu (in any oxidation state) does not yield a fully functioning MDH can not be discriminated from our experiment. Adding a 50-fold excess Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> to partial-apo Eu-MDH isolated from SolV (only 70 % active sites occupied by Eu, PQQ already bound) also showed an increase of specific activity with these two An similar to when La<sup>3+</sup> was added (Figure S6), supporting our observations with recombinantly expressed enzyme, that Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> can reconstitute MDH and yield a catalytically competent enzyme. As the long reconstitution times with recombinantly expressed enzyme prevented us to investigate the metal binding affinity of MDH using isothermal titration calorimetry (ITC), the results shown in Figure 1 present only a qualitative assessment of the activity with different metal ions. As previously discussed, the amount of metallated active sites may vary for each element due to differences in Lewis acidity, size and ligand exchange rates.<sup>[5c]</sup> Whether factors such as higher covalency in bonding, differences in polarizability and coordination number for Ans also play a role in substrate and cofactor activation, remain elusive from our experiments but will be subject of future studies.<sup>[12]</sup>

To verify that trivalent Ans are binding to the same site in the enzyme than Lns, we performed time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS). The excellent luminescence properties of Cm<sup>3+</sup> were used as a luminescence probe to identify the chemical environments of Eu-MDH incubated with Cm<sup>3+</sup> as well as of SolV cells



**Figure 1.** Evaluation of the impact of Ln and selected An on XoxF-MDH from SolV. A) Workflow of reconstitution of apo-XoxF-MDH purified from *E. coli* with metal and PQQ. B) The ionic radii of the selected Lns and Ans (of the six-coordinate ions) are based on Seaborg and Hobart.<sup>[10]</sup> C) Extracted and deconvoluted spectra of time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS) and subsequent parallel factor analysis (PARAFAC) of Eu-XoxF-MDH incubated with Cm<sup>3+</sup> (in orange) and cell pellet of strain SolV grown with Cm<sup>3+</sup> (in green); for both datasets an excitation wavelength of 396 nm was used. 1 μM of Eu-XoxF-MDH was incubated with 2 μM Cm<sup>3+</sup> in 20 mM piperazine-*N,N'*-bis(2-ethanesulfonic acid) (PIPES) buffer pH 7.2 for 2 h. For the displayed spectra of Cm-MDH-like species in the SolV cell pellet, spectra of the growth studies were recorded during the cultivation. A more detailed description of the speciation of the Cm-MDH-like species in the SolV growth studies with Cm<sup>3+</sup> can be found in ST. 1 and Figure S9. D) Enzymatic activity of reconstituted XoxF-MDH. Each bar shows the average of three replicates.

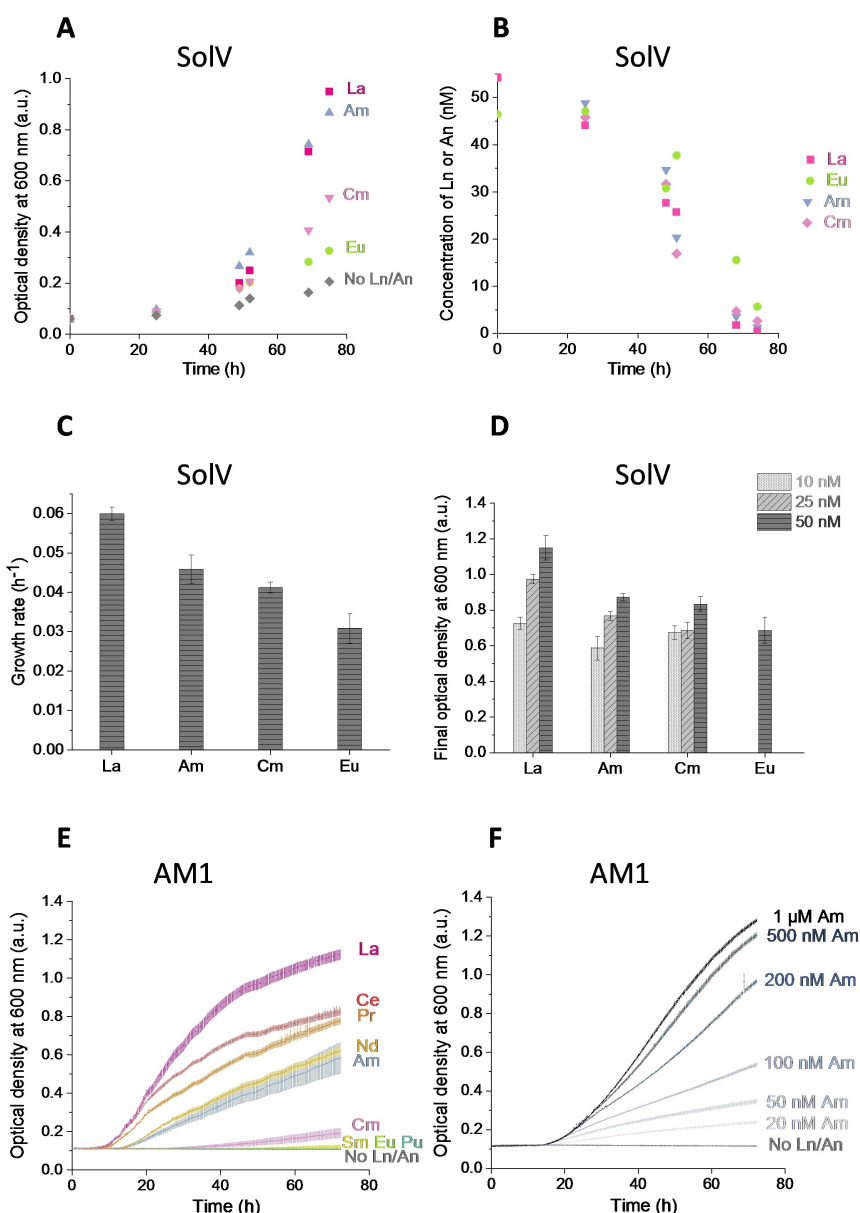
cultivated with Cm<sup>3+</sup> (Figures 1C and S9). In comparison to the free Cm<sup>3+</sup> aquo ion (593.5 nm/68 μs), the emission maximum in both systems shifts strongly to 608.5 nm with two additional, smaller bands at lower wavelengths. Overall, the luminescence characteristics of Eu-MDH incubated with Cm<sup>3+</sup> (608.5 nm/529 μs) and the Cm-MDH-like species observed in SolV cells (608.5 nm/341 μs) after cultivation with Cm<sup>3+</sup> match (Figure 1C). The long lifetimes represent 0 or 1 remaining water molecules in the first hydration sphere (ST. 1), which means Cm<sup>3+</sup> is similarly coordinated as Eu<sup>3+</sup> (8- to 9-fold coordinated in MDH).<sup>[4b,14]</sup> The difference in lifetime might be a result of quenching by the complex environment of the cell itself in comparison to the purified enzyme in solely buffer environment.

Ans support the catalytic turnover of methanol by acting as Lewis acids in the MDH active site similar to the Lns. Our *in vitro* results thus indicate that the right size and charge of the metal ion are crucial to yield an active enzyme. Since MDH plays a key role in the C<sub>1</sub> metabolism of methylophilic bacteria, we hypothesized that it should be feasible to replace Lns with Ans *in vivo*, assuming that cellular uptake, intracellular transport, and insertion into MDH are not discriminating between 4f and 5f elements.

### Two bacterial strains grow on actinides

We conducted growth experiments with two different Ln-dependent strains: *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV and *Methylobacterium extorquens* AM1 Δ*mxaF* (a knock-out mutant with no calcium-dependent MxaF-MDH). The methanotrophic strain SolV requires an atmosphere of air supplemented with CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>, 55 °C and a pH of 2–3 for optimal growth.<sup>[15]</sup> Sealed growth vessels were thus necessary (Figure S10). Glass bottles were not suitable for these experiments, as SolV can leach Lns in sufficient amounts to hamper the unambiguous assignment of An-dependent growth.<sup>[15,16]</sup> Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) measurements of the growth medium supplemented with Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> ruled out Ln impurities that could have otherwise stimulated growth (Table S1). Figure 2A shows the growth curves of strain SolV with the La<sup>3+</sup> and Eu<sup>3+</sup> compared to Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> at a concentration of 50 nM. La<sup>3+</sup> and Eu<sup>3+</sup> were chosen as representative Lns, since they differ in growth rates due to their ionic radii (Growth studies with all Lns except Pm are shown in Figure S12).<sup>[5b,15]</sup>

After addition of Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> to a strain SolV culture we observed a clear boost in growth similar to the



**Figure 2.** Ln- and An-dependent growth of strain SolV and strain AM1  $\Delta mxaF$  with selected Ln and An. A) Optical densities at 600 nm of strain SolV grown with 50 nM of Ln or An shown over time. Samples were incubated at 55 °C and 200 rpm for 5 days under a gas atmosphere of 85% air, 10% CH<sub>4</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. B) Determined supernatant concentrations of La<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>, Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> in the centrifuged biomass samples of the growth studies shown in A (for Ln with ICP-MS and An LSC analysis was used). C) Fitted growth rates of strain SolV based on the data shown in A. D) Optical density at 600 nm of strain SolV cultures after 96 h with 10, 25 and 50 nM of La<sup>3+</sup>, Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup> and Eu<sup>3+</sup>. For all strain SolV growth studies, data points show the average of three individual growth experiments (experimental replicates); for clarity, error bars were omitted at A but individual growth curves of all replicates are available in Figure S6. E) Ln- and An-dependent growth of AM1  $\Delta mxaF$  mutant strain with 100 nM Ln or An. F) An-dependent growth of AM1  $\Delta mxaF$  mutant strain with different concentrations from 20 nM to 1  $\mu$ M of Am<sup>3+</sup> in MP + M (125 mM MeOH) medium. For D, four independent replicates and for E duplicates were prepared.

light Lns. The concentration of Lns and Ans in the medium during growth decreased as liquid scintillation counting (LSC, for Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup>) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, for La<sup>3+</sup> and Eu<sup>3+</sup>, Figure 2B) demonstrate. The strongest decrease in metal concentration in the medium was observed after approximately 50–70 h,

matching perfectly with the exponential growth phase in this time frame (Figure 2A). Plutonium did not stimulate the growth of strain SolV above background levels (Figure S13) which was expected as this An did not yield an active MDH. The determined growth rates are shown in Figure 2C and doubling times in Figure S14. Maximum growth rate of

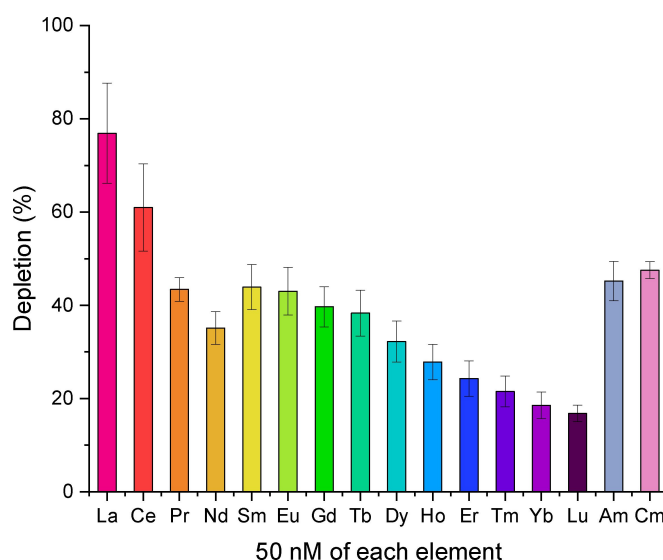
strain SolV was obtained with  $\text{La}^{3+}$  ( $0.0600 \text{ h}^{-1}$ ), followed by  $\text{Am}^{3+}$  ( $0.0459 \text{ h}^{-1}$ ) and  $\text{Cm}^{3+}$  ( $0.0412 \text{ h}^{-1}$ ), while the growth rate with the smaller  $\text{Eu}^{3+}$  ion ( $0.0308 \text{ h}^{-1}$ ) was lower, in line with previous studies.<sup>[5b,15]</sup> Background growth without Ln/An addition showed a linear increase without a clear exponential phase (Figure 2A). The data shown in Figure 2D and Figure S16 confirm that growth is proportional to Ln and An concentrations added (10 nM, 25 nM, 50 nM) and such a concentration dependence has been described previously by Pol *et al.* for the Lns.<sup>[15]</sup> When SolV is presented with a mixture of equal amounts (50 nM) of all Ln together with  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$ , the strain will deplete the f-block elements based on their size, even favoring the Ans over late Lns (Figure 3).

In addition to the native methanotrophic strain SolV, which is solely Ln-dependent, we used the Ln-utilizing AM1 strain. The methylotroph AM1 grows at neutral pH and 29°C in the presence and absence of Lns due to an additional Ca-MDH for the oxidation of methanol. Thus, we chose the mutant strain AM1  $\Delta\text{mxaF}$ , where the Ca-MDH pathway (MxaF) is knocked out to ensure sole dependence on f-block elements for MeOH oxidation.<sup>[17]</sup> This mutant strain is known to be able to grow, albeit poorly, on  $\text{Sm}^{3+}$ , but in contrast to strain SolV, not with  $\text{Eu}^{3+}$  (Figure S18).<sup>[2b]</sup> Growth studies using La–Eu, and the actinides Am, Cm and Pu were conducted using a plate reader, allowing for a continuous determination of optical densities at 600 nm ( $\text{OD}_{600}$ , Figure 2E,F). Again, the preference for larger f-block elements is reflected in the An growth experiments by clearly distinguishable trends in the increase of  $\text{OD}_{600}$ . The ions of almost identical size (Figure 2F),  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Nd}^{3+}$ , display very similar growth behavior.  $\text{Cm}^{3+}$  still triggers some growth, slightly better than  $\text{Sm}^{3+}$ , but for both ions

only minimal growth is monitored, in line with previous observations for  $\text{Sm}^{3+}$  and strain AM1.<sup>[2b]</sup> Plutonium addition to AM1  $\Delta\text{mxaF}$  shows as in strain SolV, again no increase of  $\text{OD}_{600}$  above background. Adding different concentrations of  $\text{Am}^{3+}$  (Figure 2F) to AM1  $\Delta\text{mxaF}$  also revealed a similar proportional growth response as  $\text{Nd}^{3+}$  (Figure S19), firmly demonstrating the dependence on Ans for growth. For the Ln and An dependent growth of AM1  $\Delta\text{mxaF}$ , the cut-off ionic size seems to be around 98 pm. This highlights that the ionic size in combination with a stable +III oxidation state is necessary to support bacterial growth.

## Conclusion

Selected Ans replace essential Lns in living organisms. Our *in vivo* studies with bacterial strains *Methylacidiphilum fumarolicum* SolV and *Methylobacterium extorquens* AM1  $\Delta\text{mxaF}$  as well as the *in vitro* results on Ln-dependent MDH from the latter strain give a coherent picture how the size and charge of the f-block elements influence the biological systems. We demonstrate that  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  that exhibit ionic radii comparable to the light Lns, such as  $\text{Nd}^{3+}$ , lead to a similar growth response as well as comparable enzymatic activity. LSC, ICP-MS and TRIFS data confirmed an uptake of Ln and An by strain SolV over time, which is in direct relation to the observed increase of biomass. Furthermore, spectroscopic results verified the formation of an Cm-MDH-like species in SolV biomass (ST. 1), which is identical to the Cm-signature in native MDH. Our results establish that An<sup>III</sup> ions of the right size can indeed be used by bacteria as essential elements for  $\text{C}_1$



**Figure 3.** ICP-MS analysis of SolV supernatant grown in the presence of equimolar concentrations of Ln and An. Graph shows the depletion of the individual Ln and An from growth medium by SolV after the stationary phase was reached. SolV was grown with 50 nM each of Ln and An. The samples were incubated at 55°C and 200 rpm for 5 days under a gas atmosphere of 85% air, 10%  $\text{CH}_4$  and 5%  $\text{CO}_2$ . Data points show the average of three individual growth experiments.



metabolism. Whether other Ans, such as plutonium, are taken up into AM1 and SolV and are incorporated in MDH (*in vivo* and *in vitro*) can not be directly determined by our experiments; however, the lack of MDH activity after reconstitution attempts and lack of growth with Pu (under the aerobic conditions used) hints towards the importance of a stable +III oxidation state for the enzymes and strains tested in this study.

Given the relevance of f-block elements for mankind, developing new strategies to separate, recycle, and bind these elements with high specificity is very important. These results have implications for future applications of the strains; AM1  $\Delta mxaF$  might be a potential candidate for cleaning up spills of radioactive material in the environment. It has been previously demonstrated that one of the Ln-dependent proteins of AM1, LanM, can tightly bind Ans, in some cases even with higher affinities than for Lns.<sup>[9]</sup> Further, methylotrophic bacteria, such as strain AM1, possess dedicated uptake mechanisms for the poorly bio-available Lns. A corresponding gene cluster has been recently characterized, suggesting the production of chelators similar to siderophores.<sup>[1b,18]</sup> It is well documented that Ans can bind to siderophores and siderophore-like molecules and that these are recognized by binding partners, such as siderocalin.<sup>[8d]</sup> Isolation of such chelators from Ln-dependent bacteria could thus advance chelating therapies for radioactive An poisoning and after accidental An spills.<sup>[19]</sup>

Extremophilic organisms thriving at low pH values, such as strain SolV, may be implemented in recycling of Lns and Ans from, for example, end-of-lifetime products, industrial feedstocks, or metal leachates. In the latter case, harsh chemical conditions, such as low pH values in combination with high temperatures, are required for a good solubility of the metals, which is tolerable for the extremophilic bacteria. In conclusion, the results presented herein pave the way for a future use of extremophilic bacteria in recycling and separation of Ln and An and provide insight into possible pathways of microbially driven mobility of radioactive elements in the environment.

#### Associated Content

Supporting Information is available for this paper. All data has been included in the manuscript or the Supporting Information. Correspondence and requests for all other materials should be addressed to Lena Daumann (lena.daumann@lmu.de)

#### Funding

European Research Council (ERC), Lanthanophore (LJD). German Scholars Organization Klaus Tschira Boost Fund Project 1 (LJD). Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) Projektnummer 392552271 (LJD). Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) Projektnummer 453748800 (CZ).

#### Author Contributions

LJD and HS conceptualized the idea and wrote the initial draft of this manuscript, LJD acquired funding for this project, all authors developed the methodology and were involved in review and editing of this manuscript. Strain SolV was provided by AP and HODC, the  $\Delta mxaF$  mutant strain by NCMG. CZ, ASK and CR expressed and purified the XoxF-MDH from strain SolV in *E. coli*, HS and AP purified Eu-MDH from SolV. Growth studies were conducted by HS and RS. HS and RS acquired the TRLFS data. RS and BD wrote the code and fitted the TRLFS data. RS conducted the LSC and ICP-MS measurements. HS conducted the enzymatic activity determination. LJD and RS provided the necessary resources and infrastructure for this work.

#### Acknowledgements

L.J.D. and H.S. thank Sophie Marie Gutenthaler for providing the infrastructure for AM1 cultivation. H.S. and R.S. thank Dr. Manja Vogel for support during cultivation at HZDR. We thank Prof. Georg Steinhauser for discussion of the topic. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

#### Conflict of Interest

Authors declare that they have no competing interests.

#### Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available in the supplementary material of this article.

**Keywords:** Actinides · Lanthanide-Binding Proteins · Lanthanide-Dependent Bacteria · Lanthanides · Methylotrophy

- [1] a) T. Cheisson, E. J. Schelter, *Science* **2019**, *363*, 489–493; b) K. N. Raymond, B. E. Allred, A. K. Sia, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2496–2505.
- [2] a) M. Farhan Ul Haque, B. Kalidass, N. Bandow, E. A. Turpin, A. A. DiSpirito, J. D. Semrau, F. E. Löffler, *Appl. Environ. Microbiol.* **2015**, *81*, 7546–7552; b) H. N. Vu, G. A. Subuyuj, S. Vijayakumar, N. M. Good, N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, *J. Bacteriol.* **2016**, *198*, 1250–1259; c) N. M. Good, R. S. Moore, C. J. Suriano, N. C. Martinez-Gomez, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4248; d) N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, in *Methane Biocatalysis: Paving the Way to Sustainability* (Eds.: M. G. Kalyuzhnaya, X.-H. Xing), Springer International Publishing, Cham, **2018**, pp. 67–82; e) P. Roszczenko-Jasińska, H. N. Vu, G. A. Subuyuj, R. V. Crisostomo, J. Cai, N. F. Lien, E. J. Clippard, E. M. Ayala, R. T. Ngo, F. Yarza, J. P. Wingett, C. Raghuraman, C. A. Hoerber, N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 12663–12663.
- [3] Y. Hibi, K. Asai, H. Arafuka, M. Hamajima, T. Iwama, K. Kawai, *J. Biosci. Bioeng.* **2011**, *111*, 547–549.

- [4] a) J. B. Glass, E. T. Cowan, K. H. Johannesson, *FEMS Microbiol. Lett.* **2020**, *367*, fnaa165; b) L. J. Daumann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 12795–12802; c) C.-E. Wegner, L. Gorniak, S. Riedel, M. Westermann, K. Küsel, *Appl. Environ. Microbiol.* **2019**, *86*, e01830-01819.
- [5] a) A. M. Shiller, E. W. Chan, D. J. Joung, M. C. Redmond, J. D. Kessler, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 10389; b) B. Jahn, A. Pol, H. Lumpe, T. R. M. Barends, A. Dietl, C. Hogendoorn, H. J. M. Op den Camp, L. J. Daumann, *ChemBioChem* **2018**, *19*, 1147–1153; c) H. Lumpe, A. Pol, H. J. M. Op den Camp, L. J. Daumann, *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 10463–10472.
- [6] N. M. Good, H. D. Lee, E. R. Hawker, M. Z. Su, A. A. Gilad, N. C. Martinez-Gomez, *Front. Microbiol.* **2022**, *13*, 820327.
- [7] a) J. R. Lloyd, J. C. Renshaw, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2005**, *16*, 254–260; b) J. C. Renshaw, J. R. Lloyd, F. R. Livens, *C. R. Chim.* **2007**, *10*, 1067–1077.
- [8] a) F. Brulfert, S. Safi, A. Jeanson, H. Foerstendorf, S. Weiss, C. Berthomieu, S. Sauge-Merle, É. Simoni, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *172*, 46–54; b) G. J.-P. Deblonde, M. Sturzbecher-Hoehne, A. B. Mason, R. J. Abergel, *Metallomics* **2013**, *5*, 619–626; c) B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff, S. Tsushima, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21*, 21213–21222; d) B. E. Allred, P. B. Rupert, S. S. Gauny, D. D. An, C. Y. Ralston, M. Sturzbecher-Hoehne, R. K. Strong, R. J. Abergel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 10342–10347.
- [9] a) H. Singer, B. Drobot, C. Zeymer, R. Steudtner, L. J. Daumann, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 15581–15587; b) G. J.-P. Deblonde, J. A. Mattocks, H. Wang, E. M. Gale, A. B. Kersting, M. Zavarin, J. A. Cotruvo, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 15769–15783; c) G. J.-P. Deblonde, A. Mattocks Joseph, Z. Dong, T. Woody Paul, A. Cotruvo Joseph, M. Zavarin, *Sci. Adv.* **2021**, *7*, eabk0273.
- [10] G. T. Seaborg, D. E. Hobart, *Summary of the properties of the lanthanide and actinide elements*, Indian Association of Nuclear Chemists and Allied Scientists, India, **1996**, p. 26.
- [11] D. L. Clark, S. S. Hecker, G. D. Jarvinen, M. P. Neu, in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* (Eds.: L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger), Springer Netherlands, Dordrecht, **2006**, pp. 813–1264.
- [12] a) A. N. Gaiser, C. Celis-Barros, F. D. White, M. J. Beltran-Leiva, J. M. Sperling, S. R. Salpage, T. N. Poe, D. Gomez Martinez, T. Jian, N. J. Wolford, N. J. Jones, A. J. Ritz, R. A. Lazenby, J. K. Gibson, R. E. Baumbach, D. Páez-Hernández, M. L. Neidig, T. E. Albrecht-Schönzart, *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 7230; b) K. M. S. Saxena, S. Fraga, *J. Chem. Phys.* **1972**, *57*, 1800–1801.
- [13] a) J. I. Kim, R. Klenze, H. Wimmer, W. Runde, W. Hauser, *J. Alloys Compd.* **1994**, *213–214*, 333–340; b) C. Wilke, A. Barkleit, T. Stumpf, A. Ikeda-Ohno, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *175*, 248–258.
- [14] N. A. Danaf, J. Kretzschmar, B. Jahn, H. Singer, A. Pol, H. J. M. Op den Camp, R. Steudtner, D. C. Lamb, B. Drobot, L. J. Daumann, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2022**, *24*, 15397–15405.
- [15] A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, *Environ. Microbiol.* **2014**, *16*, 255–264.
- [16] C. H. Evans, *Biochemistry of the Lanthanides*, Vol. 8, Springer Science & Business Media, **2013**.
- [17] C. J. Marx, L. Chistoserdova, M. E. Lidstrom, *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 7160–7168.
- [18] a) A. M. Zytneck, N. M. Good, C. C. Barber, M. T. Phi, S. M. Gutenthaler, W. Zhang, L. J. Daumann, N. C. Martinez-Gomez, *bioRxiv* **2022**, <https://doi.org/10.1101/2022.01.19.476857>; b) A. M. Ochsner, L. Hemmerle, T. Vonderach, R. Nüssli, M. Bortfeld-Miller, B. Hattendorf, J. A. Vorholt, *Mol. Microbiol.* **2019**, *111*, 1152–1166.
- [19] a) R. J. Abergel, in *Metal Chelation in Medicine*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2017**, pp. 183–212; b) É. Ansoborlo, B. Amekraz, C. Moulin, V. Moulin, F. Taran, T. Bailly, R. Burgada, M.-H. Hengé-Napoli, A. Jeanson, C. Den Auwer, L. Bonin, P. Moisy, *C. R. Chim.* **2007**, *10*, 1010–1019.

Manuscript received: March 13, 2023  
Accepted manuscript online: April 19, 2023  
Version of record online: May 10, 2023

## Supporting Information

### **Minor Actinides Can Replace Essential Lanthanides in Bacterial Life**

*H. Singer, R. Steudtner, A. S. Klein, C. Rulofs, C. Zeymer, B. Drobot, A. Pol,  
N. Cecilia Martinez-Gomez, H. J. M. Op den Camp, L. J. Daumann\**



## **Supporting Information for**

### **Minor Actinides Can Replace Essential Lanthanides in Bacterial Life**

Helena Singer, Robin Steudtner, Andreas S. Klein, Carolin Rulofs, Cathleen Zeymer, Björn Drobot, Arjan Pol, N. Cecilia Martinez-Gomez, Huub J.M. Op den Camp, Lena J. Daumann

Correspondence to: Lena J. Daumann,

Email: [lena.daumann@lmu.de](mailto:lena.daumann@lmu.de)

## Materials and Methods

### ***Preparation and concentration determination of Ln and An solutions***

The radioactive actinides (Ans) used and their decay products pose serious health hazards and should thus only be handled at institutions designed for their safe handling. All experiments were performed under special safety precautions in a radioactivity-controlled environment in compliance with regulations.

#### **(a) Ln solutions**

All Lanthanides  $\text{Ln}^{3+}$  (Lns) were available as  $\text{LnCl}_3$  hydrates. 10 mM stocks were prepared in MilliQ water and stored at  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  until they were used. They were diluted to similar concentrations in HCl as the An stocks (for Pu, 30  $\mu\text{M}$  in 100  $\mu\text{M}$  HCl; for  $\text{Am}^{3+}$  26  $\mu\text{M}$  in 1 mM HCl; for  $\text{Cm}^{3+}$  70  $\mu\text{M}$  in 100 mM HCl)

#### **(b) An solutions**

To exclude the presence of lanthanides (Lns) in the Ans solutions due to decay, spontaneous fission, or impurities, stocks of  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  were checked with inductively coupled plasma mass spectrometry (iCAP RQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA and NexION 350X ICP-MS, Perkin Elmer, Waltham, USA) for the possible presence of Ln. Prepared medium for strain SolV cultivation was analyzed for Ln concentration ( $\mu\text{g/L}$ , Table S1).

#### **$^{242}\text{Pu}$ (92%) / $^{238}\text{Pu}$ (8%)**

A 6 mM  $\text{Pu}^{4+}$  stock solution (without Am) in 0.1 M HCl was used to produce a  $\text{Pu}^{3+}$  by electrochemical reduction. The potential was set to  $-0.6\text{ V}$  for  $\text{Pu}^{3+}$  production. After approximately 120 minutes, all  $\text{Pu}^{4+}$  was reduced to  $\text{Pu}^{3+}$ , resulting in a pure  $\text{Pu}^{3+}$  solution. The vial with this solution was wrapped with parafilm and stored inside an inert gas glovebox for one week before commencing with the preparation of a  $\text{Pu}^{3+}$  stock solution at pH 4. 2.75 mL of this solution was diluted with 6.75 mL of MilliQ water to a total volume of 9.5 mL. The initial concentration of the  $\text{Pu}^{3+}$  stock solution for titration to a pH of approximately 4 was therefore 3.6 mM. The final pH adjustment to pH 3.95 took place by the addition of aliquots of NaOH under a constant voltage of  $-0.4\text{ V}$  to prevent the formation of  $\text{Pu}^{4+}$  polymers or colloids during the NaOH addition process. The final concentration of the  $\text{Pu}^{3+}$  solution was analyzed with liquid scintillation counter (LSC) and determined to be 3.4 mM. The solution was diluted to 30  $\mu\text{M}$  Pu in 100  $\mu\text{M}$  HCl for better handling.

#### **$^{243}\text{Am}$ (100%)**

An  $\text{Am}^{3+}$  stock solution (26  $\mu\text{M}$ ) in 1 mM HCl was used.

#### **$^{248}\text{Cm}$ (97.3%) / $^{246}\text{Cm}$ (2.6%) / $^{245}\text{Cm}$ (0.04%) / $^{247}\text{Cm}$ (0.02%) / $^{244}\text{Cm}$ (0.009%)**

A 7.3 mM stock solution of the long-lived curium isotopes in 1.0 M  $\text{HClO}_4$  was used. In a first step the background electrolyte was converted from  $\text{HClO}_4$  to HCl. To 500  $\mu\text{l}$  of the perchlorate solution

were add 1.5 ml 5 M NaOH raise the pH clearly in the alkaline region. Afterwards the solution was centrifuged (10 min at 19000 x g) and the supernatant was removed. The solid residue was dissolved in 500  $\mu$ L 1 M HCl. The precipitation and dissolution steps were repeated four times. The final concentration of the  $\text{Cm}^{3+}$  solution in 1 M HCl was analyzed with LSC and determined to be 7 mM. The solution was diluted to 70  $\mu$ M  $\text{Cm}^{3+}$  in 100 mM HCl for better handling.

### **(c) Concentration determination of Lns and Ans with ICP-MS and LSC analysis**

Samples of strain SolV grown with 50 nM of  $\text{Ln}^{3+}$ ,  $\text{Am}^{3+}$  and/or  $\text{Cm}^{3+}$  after indicated time intervals were centrifuged with 13 100 x g for 10 min at 20°C for separation of cell pellet and supernatant. 990  $\mu$ L of the supernatant were acidified with 10  $\mu$ L 65 %  $\text{HNO}_3$  and measured with inductively coupled plasma mass spectrometry (iCAP RQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA and NexION 350X ICP-MS, Perkin Elmer, Waltham, USA; ICP-MS) to determine the  $\text{La}^{3+}$  and  $\text{Eu}^{3+}$  concentration in the samples. 250  $\mu$ L aliquots of the  $\text{Am}^{3+}$  and  $\text{Cm}^{3+}$  containing supernatants were mixed with 5 mL scintillation cocktail ultima gold for liquid scintillation counting (HIDEX 300 SL, Hidex, Mainz, Germany; LSC). A simultaneous determination of  $\text{Cm}^{3+}$  and  $\text{Am}^{3+}$  by LSC is not possible since the alpha-emittance of both elements is summed up and cannot be extracted individually. Therefore, we used ICP-MS for the concentration analysis of mixed samples (Fig. 3). As an internal standard for  $\text{Cm}^{3+}$  and  $\text{Am}^{3+}$ , we used samples where different concentration of  $\text{Cm}^{3+}$  or  $\text{Am}^{3+}$  were determined with LSC.

### ***Recombinant protein production of apo-XoxF-MDH in Escherichia coli***

The recombinant production of apo Ln-dependent methanol dehydrogenase (apo-XoxF-MDH) from strain SolV in *Escherichia coli* (*E. coli*) is described in detail in the following. Briefly, to increase stability and solubility of apo-XoxF-MDH, we made use of a cleavable maltose-binding protein (MBP) fusion.

### **(a) Bacterial strains and culture conditions**

Cultivation of *E. coli* BL21-Gold(DE3) and DH10B strains was carried out in LB (Luria-Miller broth) liquid medium (*Carl Roth*, Karlsruhe, Germany: 10 g/L tryptone, 5 g/L yeast extract, 10 g/L NaCl) or on LB agar plates (addition of 1.5% agar) at 37 °C. Ampicillin (final concentration of 100  $\mu$ g/mL) or kanamycin (final concentration of 30  $\mu$ g/mL) were added as antibiotics to the culture medium. For transformation SOC liquid medium (5 g/L yeast extract, 20 g/L tryptone, 0.6 g/L NaCl, 0.2 g/L KCl, 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM  $\text{MgSO}_4$ , 20 mM glucose) was used as an alternative to LB medium. All cultivation media were prepared using distilled water and sterilized by autoclaving.

## **(b) Plasmid construction**

### **General**

The gene *xoxF*, encoding the XoxF-MDH from *Methylobacterium thermophilum* SolV, was synthesized by *Twist Bioscience* (South San Francisco, CA, USA) as a codon-optimised sequence for *E. coli*. The gene was amplified without the signal peptide sequence [*xoxF* (*M. thermophilum* SolV, UniProt ID I0JWN7): amino acid positions 1–34].

All restriction digestions and PCR reactions were purified by agarose gel electrophoresis using the Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System Kit (*Promega GmbH*, Walldorf, Germany) prior to the addition in assembly reactions.

After the assembly reaction of each construct, chemically competent *E. coli* DH10B cells were transformed *via* the heat shock procedure. After addition of the reaction mixtures cells were incubated on ice for 30 min, followed by a 45–90 s heat shock at 42 °C, addition of LB or SOC medium (750 µL) and incubation for 1 h at 37 °C while shaking at 500 rpm. Afterwards, transformed cells were cultivated overnight on ampicillin or kanamycin containing LB-agar plates at 37 °C. The successful assembly of the desired vector was tested by colony PCR and sequences were verified by sequencing.

### **C-terminal Strep-tag construct**

First, the synthesized *xoxF* gene was fused with a C-terminal *Strep*-tag. Therefore the gene was cloned into a pET29b(+) vector (*Novagen/Merck KGaA*, Darmstadt, Germany), which already contained the sequence for the *Strep*-tag.

### **Assembly of the construct**

The pET29b(+) vector was linearized using *Bam*HI and *Nde*I restriction enzymes and purified by agarose gel electrophoresis.

The *xoxF* gene coding for the XoxF-MDH of strain SolV was amplified *via* PCR (Table S2-S4) using Gibson Assembly primers #1 and #2. Amplification of the genes was confirmed and the product was purified by agarose gel electrophoresis. The vector was assembled using an isothermal Gibson Assembly (1 h, 50 °C).

### **N-terminal maltose-binding protein (*malE*) construct**

The *xoxF* gene fused with the C-terminal *Strep*-tag was cloned into a pQE-80L vector (*Qiagen GmbH*, Hilden, Germany), which already contained a fusion of a 6xHis-tag and the genes for the maltose-binding protein *malE* and a TEV protease cleavage site. The generated construct is shown in Fig. S1.

### **Assembly of the construct**

The gene coding for the XoxF-MDH fused with the C-terminal *Strep*-tag was amplified *via* PCR (Table S2-S4) using Gibson Assembly primers #3 and #4. Amplification of the gene was confirmed by agarose gel electrophoresis and the respective band was purified. The pQE-80L vector (*Qiagen GmbH*, Hilden, Germany), which already contained a fusion of the 6xHis-tag sequence

and the maltose-binding protein sequence (Fig. S1 and S2), was linearized using *Bam*HI and *Hind*III restriction enzymes and purified by agarose gel electrophoresis. The vector was assembled using an isothermal Gibson Assembly (1 h, 50 °C).

**DNA sequence of 6xHis:*malE*:*xoxF*:Strep (*M. fumariolicum* SolV)**

Underlined are the respective complementary binding sequences for the Gibson Assembly primers #3 and #4.

ATGAGAGGATCGCATCACCATCACCATCACGGATCTAAAATCGAAGAAGGTAAACTGGTAAT  
CTGGATTAACGGCGATAAAGGCTATAACGGTCTCGCTGAAGTCGGTAAGAAATTCGAGAAAG  
ATACCGGAATTAAGTCACCGTTGAGCATCCGGATAAACTGGAAGAGAAATTCACAGGTT  
GCGGCAACTGGCGATGGCCCTGACATTATCTTCTGGGCACACGACCGCTTTGGTGGCTACG  
CTCAATCTGGCCTGTTGGCTGAAATCACCCCGGACAAAGCGTTCCAGGACAAGCTGTATCC  
GTTTACCTGGGATGCCGTACGTTACAACGGCAAGCTGATTGCTTACCCGATCGCTGTTGAAG  
CGTTATCGCTGATTTATAACAAAGACCTGCTGCCGAACCCGCCAAAAACCTGGGAAGAGATC  
CCGGCGCTGGATAAAGAACTGAAAGCGAAAGGTAAGAGCGCGCTGATGTTCAACCTGCAAG  
AACCGTACTTCACCTGGCCGCTGATTGCTGCTGACGGGGTTATGCGTTCAAGTATGAAAAC  
GGCAAGTACGACATTAAGACGTGGGCGTGGATAACGCTGGCGCGAAAGCGGGTCTGACC  
TTCCTGGTTGACCTGATTA AAAACAAACACATGAATGCAGACACCGATTACTCCATCGCAGA  
AGCTGCCTTTAATAAAGGCGAAACAGCATGACCATCAACGGCCCGTGGGCATGGTCCAAC  
ATCGACACCAGCAAAGTGAATTATGGTGTAAACGGTACTGCCGACCTTCAAGGGTCAACCATC  
CAAACCGTTTCGTTGGCGTGCTGAGCGCAGGTATTAACGCCGCCAGTCCGAACAAAGAGCTG  
GCAAAAGAGTTCTCGAAAACCTATCTGCTGACTGATGAAGGTCTGGAAGCGGTTAATAAAGA  
CAAACCGCTGGGTGCCGTAGCGCTGAAGTCTTACGAGGAAGAGTTGGCGAAAGATCCACGT  
ATTGCCGCCACTATGGAAAACGCCAGAAAGGTGAAATCATGCCGAACATCCCGCAGATGT  
CCGCTTTCTGGTATGCCGTGCGTACTGCGGTGATCAACGCCGCCAGCGGTGCTCAGACTGT  
CGATGAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTAATTCGAGCTCGAACAACAACAATAACAATA  
ACAACAACCTCGGGATCGAGGGAACGACCGAAAACCTGTATTTTCAGGGATCCAACGATGA  
ACTCATAAAGTTAGAGAAGGAGCCTGGTCACTGGGTTATGCAGAATAAGAACTATGCGAACA  
CTCGATACAGCGAGCTCAACCAGATAAATACAAAGAACGTATCGCGCCTGCGCCTGGCGTG  
GTCATTCTACGGGCGCGCTTCGCGGTGATGAGGGTGGTCCCCTTGTGGTGGGTACCACA  
ATGTACGTGCACTCTGCATACCCCAATCACGTGTATGCTCTGGACCTGACACAGAAGCCGTA  
TGCCATAAAGTGGCAGTACACTCCAGTTCAAAACAGCCAGGCTGTTGCCGTGGCATGTTGC  
GATGTCTTAATCGTGGGCTGGCATAACGCTAACGGTAAAGATTTTCATGACTACTCTTGACGG  
CCAGATAATCGCTTTAGACGCAAACACTGGTAAGGAACTGTGGAAGATGAAACACGCTGAC  
GTTACCAAGGGCGAAACAATAACGGGCGCGCCCCTGGTTGTCAAGGACAAAGTCTTAGTCG  
GAGTTTCAGGTGGTGAAGTTTGGTGTGCGGGGTGCGGTTGGGGCTTACGACATTAACACGGG  
AAACAGAGTGTGGCTGGCGTACTCTCAGGGACCCGACGAGGAAGTGTCTCTGGACTCAGAT  
TTTAAACAAGGAGTTCCCTCAACACGGTGGACCGGGTACGGCACCAAGACCTGGCCGGGT  
GAGCAGTGGAAATTAGGAGGAGGAACGACCTGGGGCTGGTACTCCTATGACCCAGCCCTC  
GACCTTTTCTATTACGGAACGTGCAATCCGGGCACGTGGAACGCAGAGCAGCGAAAGGGCG  
GCGATAATAAATGGTCATGTACCATCTTCGCACGTGCGCCCGACACCGGCAAGGCCCGTTG  
GGCGTACCAAATGACCCCTGGGACAGCTGGGACTACGACGGTGTTAATGAAATGATCTTG  
CCAGACCTGACAGTTAAGGGAAAGAAGACTCCTTGCCTCGTACACTTTGACCGCAACGGATT  
CGGCTACGTGCTTGACCGGCGCACTGGCCAACTGATCGAGGCCAGCCGTTTCGTCTACGT  
CAATTGGGCAAAGGAGATCTCGAAGGAGAATGACCGCCCGGTAGAGATTCGCGAGAAGCGA  
ACCAAGCAAGGTGTCGACACTAAGGGAATCTGCCCTAACAGCATGGGCGGTAAAGACCAGC  
AACCGGCAGCTTTCTCCCCACAGACCGGCCTTCTACGTCCCCACTAATAACATGTGCATG  
AATTACGAGGGAGTAGAAGCGACTTACACCCGACGGCGCCCTACGTTGGGGCCAACGTCT  
TAATGTA CTCTGGTCAAGAGGAAAAGACGACTACTACGGCGCGTTTCATTTGTTACGACGCA  
CTGAAGGGAAAACGGGTCTGGGAAATACACGAACACTTTCCAGTTTGGAGCGGGCCCGTTG  
TAACGGCAGGCGGCCTGGCCTTTTACGGGACGATGGACGGTTGGTTCAAAGCTGTCGACAT  
TAAAACGGGGAAAGTCTTGTGGCAGCAGAACTGGGGAGTGGGATAATAGGTAACCCGATA  
ACATTCCTCGGCCCGACAAGAAACAGTATGTGCGCGTATATAGCGGGGTGGGTGGCTGGT  
TCGGCATCGCCGTTGCCAGAACCTGCCACCTGATGATCCGTACGCTGGGCTCGGTGCACT

AGGCGTCGCATATCAGGCTGGCTTACCTAAGGCAACGACTGTAGGCGGTGAACTGTACGTC  
TTCGCTTTGGAGGGATCCGCTTGGAGCCACCCGCAGTTCGAAAAATAA

**Amino acid sequence of the 6xHis:malE:soxF:Strep (*M. fumariolicum* SolV) product**

MRGSHHHHHHGSKIEEGKLVIIWINGDKGYNGLAEVGGKFEKDTGIKVTVEHPDKLEEKFPQVAA  
TGDGPDIIFWAHDRFGGYAQSGLLAEITPDKAFQDKLYPFTWDAVRYNGKLIAYPIAVEALSIIYN  
KDLLPNPPKTWEEIPALDKELKAKGKSALMFNLQEPYFTWPLIAADGGYAFKYENGYDIKDVGV  
DNAGAKAGLTFLVDLIKHKHMNADTDYSIAEAFNKGETAMTINGPWAWSNIDTSKVNYGVTVLP  
TFKGQPSKPFVGVLSAGINAASPNKELAKEFLENYLLTDEGLEAVNKDKPLGAVALKSYEEELAK  
DPRIAATMENAQKGEIMPNIQMSAFWYAVRTAVINAASGRQTVDEALKDAQTNSSNNNNNNNN  
NNNLGIEGTTENLYFQGSNDELIKLEKEPGQWVMQNKNYANTRYSELNQINTKNVSRRLAWSF  
STGALRGHEGGPLVVGTTMYVHSAYPNHVVYALDLTQKPYAIKWQYTPVQNSQAVAVACCDVVN  
RGLAYANGKIFMTTLDGQIILDANTGKELWKMKHADVTKGETITGAPLVVKDKVLVGVSGGEFG  
VRGRVGYDINTGNRWLAYSQGPDEEVLLDSDFNKEFPQHGGPGDGTKTWPGEQWKLG  
TTWGWYSYDPALDLFYGTSNPGTWNAEQRKGGDNKWSCTIFARRPDTGKARWAYQMTPWD  
SWDYDGVNEMILPDLTVKGGKTPCLVHFDRNGFGYVLDLDRRTGQLIEAQPFFVYNWAKEISKEND  
RPVEIPEKRTKQGVDTKGICPNSMGGKQQPAAFSPQTGLFYVPTNNMCMNYEGVEATYTAGA  
PYVGANVLMYSGHEGKDDYYGAFICYDALKGKRWVEIHEHFPVWSPVVTAGGLAFYGTMDG  
WFAVDIKTGKVLWQQKLGSGIIGNPITFLGPDKKQYVAVYSGVGGWFGIAVAQNLPDDPYAG  
LGAVGVAYQAGLPKATTVGGELYVFALEGS~~AWSH~~PQFEK

**(c) Recombinant expression and protein purification**

**General**

Gene expression of the SoxF:C-terminal *Strep*-tag fusion construct resulted in insoluble protein. Therefore, protein production was performed using the maltose-binding protein fusion construct. During the purification, the maltose-binding protein was cleaved off by addition of TEV protease during dialysis. Protein concentrations were determined by UV absorption at 280 nm using the calculated values presented in Table S5.

SDS-PAGE samples of each step of expression and purification were taken and the gel is depicted in Fig. S3.

**Recombinant expression**

A 5 L *Erlenmeyer* flask containing LB medium (1.5 L) and ampicillin (100 µg/mL) was inoculated to an optical density at 600 nm (OD<sub>600</sub>) of 0.05 with a pre-culture of *E. coli* BL21-Gold(DE3) harbouring the pQE-80L::6xHis:malE:soxF:Strep vector. The culture was incubated at 37 °C (180 rpm, orbit diameter 2.5 cm) until reaching an OD<sub>600</sub> of 0.4. Incubation was continued at 18 °C until reaching an OD<sub>600</sub> of 0.7, gene expression was induced with IPTG (final concentration 0.5 mM) and incubation was carried out for an additional 16 h. Cells were harvested by centrifugation (1.5 h, 4 100 x g, 4 °C) and stored at -20 °C as wet cell pellet. Yield of MDH was 2 mg/L.

## **Protein purification**

### **Ni-NTA wash buffer**

25 mM HEPES, pH 7.5  
300 mM NaCl  
20 mM Imidazol

### **Ni-NTA elution buffer**

25 mM HEPES, pH 7.5  
300 mM NaCl  
300 mM Imidazol

### **Dialysis buffer**

40 mM HEPES, pH 8.0  
150 mM NaCl  
0.5 mM EDTA

### **Strep wash buffer**

40 mM HEPES, pH 8.0  
150 mM NaCl

### **Strep elution buffer**

40 mM HEPES, pH 8.0  
150 mM NaCl  
2.5 mM Desthiobiotin

### **Storage buffer**

25 mM HEPES, pH 8.0  
100 mM NaCl

### **A) Cell lysis**

The frozen cell pellet was thawed and resuspended in Ni-NTA wash buffer (50 mL) containing DNase I (*AppliChem GmbH*, 0.05 mg/mL,  $\geq 3000$  U/mg) at 4 °C. The cells were lysed *via* sonication using a *Branson SFX 500* sonifier (*Emerson Electric Co.*, St. Louis, MO, USA; power-on time: 7 min, pulsed time: 5 s on, 7 s off, 30% power). After centrifugation (35 min, 11 000 x g, 4 °C), the clarified cell lysate was used for affinity chromatography.

### **B) 1<sup>st</sup> Ni-NTA column**

A column was loaded with High Density Nickel Agarose (*Jena Bioscience GmbH*, Jena, Germany; 5 mL column volume), washed with water and equilibrated with Ni-NTA wash buffer (3 x 20 mL). The cleared cell lysate was added to the column and gently mixed with the column matrix. The flow-through was collected and loaded onto the column a second time. Afterwards the flow-through was discarded and the column matrix washed with Ni-NTA wash buffer (3 x 15 mL). The fusion protein was eluted with Ni-NTA elution buffer (3 x 10 mL).

### **C) Dialysis and TEV-protease cleavage**

The elution fractions were combined, TEV protease (10% of XoxF-MDH) was added, and the solution was dialyzed against dialysis buffer (2 L) for 2 x 2 h using SnakeSkin Dialysis Tubing (*Thermo Fisher Scientific Inc.*, Waltham, MA, USA; 3500 MWCO). After dialysis the sample was centrifuged (10 min, 11 000 x g, 4 °C) to sediment any protein precipitate.

### **D) Strep-Tactin column**

The Strep-Tactin column was performed to separate the XoxF-MDH from the TEV protease and the cleaved off maltose-binding protein.

A column was loaded with Strep-Tactin Superflow high capacity resin (*IBA Lifesciences GmbH*, Göttingen, Germany; 10 mL column volume) and equilibrated with Strep wash buffer (3 x 40 mL). The protein solution was added to the column and gently mixed with the column matrix. After sedimentation of the column matrix, the flow-through was collected and loaded onto the column a second time. Afterwards the flow-through was discarded and the column matrix washed with Strep wash buffer (3 x 20 mL). The bound protein was eluted with Strep elution buffer (3 x 10 mL).

#### **E) 2<sup>nd</sup> Ni-NTA column**

The second Ni-NTA column was performed to purify the XoxF-MDH from any remaining maltose-binding protein fusion constructs.

A column was loaded with High Density Nickel Agarose (5 mL column volume), washed with water and equilibrated with Ni-NTA wash buffer (3 x 20 mL). The protein solution was added to the column and the flow-through was collected. Afterwards the column matrix was washed with Strep wash buffer (3 x 15 mL) and all wash fractions were collected and combined with the flow-through.

#### **F) Concentration and buffer exchange**

The combined protein solutions were concentrated using *Merck Millipore* Amicon Ultra centrifugal filter devices (*Merck KGaA*, Darmstadt, Germany; 30 kDa cut-off, 4 000 x g, 4 °C) to a final volume of 500 µL. Buffer exchange of the concentrated protein solution was performed using PD MiniTrap Sephadex G-25 prepacked columns (*GE Healthcare GmbH*, Solingen, Germany). The columns were equilibrated with the storage buffer and the XoxF-MDH was eluted using the storage buffer (1 mL). The protein samples were frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C with a final concentration of up to 3 mg/mL.



### **Preparation of XoxF-MDH for enzymatic activity determination**

For mechanistic studies regarding the apo-XoxF-MDH, no buffer exchange was performed, the stocks were quickly thawed and diluted in 100 mM 3-Morpholino-2-hydroxypropanesulfonic acid (MOPSO)/ N-cyclohexyl-2-aminoethanesulfonic acid (CHES) buffer, pH 7 to the required concentration. To obtain a reconstituted holo-XoxF-MDH, apo-XoxF-MDH purified from *E. coli* was incubated with pyrroloquinoline quinone (PQQ) and metal for 72 hours at 5°C. Concentrations of stock solutions were 2  $\mu\text{M}$  for apo-XoxF-MDH (in MOPSO/CHES buffer) and 4  $\mu\text{M}$  for  $\text{Ln}^{3+}$  (as chloride salts) or  $\text{An}^{3+}$  (in HCl) and PQQ (in MilliQ water). Based on this, 20  $\mu\text{L}$  of apo-XoxF-MDH and 10  $\mu\text{L}$  of  $\text{Ln}^{3+}/\text{An}^{3+}$  and PQQ were used for each sample of the activity determination (final concentration of all components in assay was 200 nM). The order of mixing the three components plays an important role, first PQQ was added, followed by the addition of apo-XoxF-MDH and an incubation time of 15 minutes. Then, the selected  $\text{Ln}^{3+}$  or  $\text{An}^{3+}$  was added. When  $\text{Ln}^{3+}$  and PQQ were mixed before the addition of apo-XoxF-MDH, no activity was detectable most probably because of the preferred formation of an Ln:PQQ complex instead of the reconstitution of the active site.

Purification of Eu-MDH was performed according to an earlier published protocol.<sup>[1]</sup> For partial-apo-Eu-MDH isolated from strain SolV, a different workflow was required since no incubation time was necessary for obtaining a holo-Eu-MDH. Furthermore, only  $\text{Ln}^{3+}$  or  $\text{An}^{3+}$  needed to be added but no additional PQQ. Preparation of the enzyme was done as described previously.<sup>[2]</sup> After the washing procedure, the concentration was determined by using an extinction coefficient of 158  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .

### **Enzymatic activity determination of XoxF-MDH with DCPIP/PES assay**

Enzymatic activity was determined by using a dye-coupled assay based on phenazine ethosulfate (PES) and 2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP), which enables to monitor the methanol consumption of the XoxF-MDH dependent on different Lns and Ans as metal ion in the active site (Fig. S4). The assay was carried out as described previously.<sup>[3]</sup> The decoloration of the assay mixture as a result of substrate consumption was followed spectrophotometrically at 600 nm by using a microplate reader (Epoch2, formerly BioTek, now Agilent, Santa Clara, USA). The commonly used protocol for the measurement is available in Fig. S5. All experiments were conducted in 96-well-plates, and a total volume of 200  $\mu\text{L}$  per well was used. Solutions of DCPIP (2 mM) and PES (100 mM) were prepared in MilliQ water and stored on ice. For preparation of the assay mix, PES and DCPIP stock solutions were diluted to concentration of 2 mM PES and 200  $\mu\text{M}$  DCPIP in required buffer. To alleviate possible background reactions, the assay mixture was incubated for 15 min at 45 °C in the dark in a dry block heater.<sup>[2]</sup> Buffer and MeOH (final concentration 50 mM) were added, and the mixture was incubated for 2 min at 45 °C in the plate reader. The reaction was started by adding reconstituted XoxF-MDH and substrate conversion was

monitored at 600 nm. Triplicates of each sample were prepared. The specific activity was calculated by using the pathlength corrected slope of 20 to 25 min after enzyme addition (calculation available in Fig. S4) with extinction coefficients of  $18.5 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  (20 mM PIPES buffer, pH 7) and  $19.54 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  (100 mM MOPSO/CHES buffer, pH 7) for DCPIP.

### **TRLFS measurements**

To monitor the speciation of  $\text{Cm}^{3+}$  during the growth study with strain *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV, time-resolved laser-fluorescence measurements (TRLFS) were performed. Samples of SolV were centrifuged with  $10\,000 \times g$  for 10 min. at  $20^\circ\text{C}$ . The supernatants were transferred to a 1 mL micro quartz glass cuvette and the centrifuged cell pellets were measured directly in the 1.5 mL centrifuge tubes. An excitation wavelength of 396 nm was chosen for binding studies regarding  $\text{Cm}^{3+}$  (NT230, ~5 ns pulse, Ekspla, Vilnius, Lithuania). The temperature-controlled cuvette holder ( $25^\circ\text{C}$ ) was connected to the spectrograph (SR-303i-A, Andor, Belfast, Northern Ireland) via a light guide. Spectra were recorded with an ICCD (iStar DH320T-18U-63, Andor, Belfast, Northern Ireland). Data deconvolution was performed with parallel factor analysis (PARAFAC, N-way toolbox for Matlab).<sup>[4]</sup>

### **Growth studies with *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV**

Strain SolV, originally isolated from a volcanic mudpot of the Solfatara crater in Italy<sup>[5]</sup>, was cultivated following the procedure of Pol *et al.*<sup>[1]</sup> For details on medium composition and preparation see Table S6 and Fig. S10. Polypropylene plastic cultivation flasks (Fig. S10) with medium and required concentration of Ln or An were inoculated to an optical density at 600 nm ( $\text{OD}_{600}$ ) of 0.06 at  $t = 0$  h with a pre-culture grown with  $50 \text{ nM La}^{3+}$ . For each replicate, 10 mL of the inoculated medium was used. Incubation was performed under a gas atmosphere of 85% air, 10 %  $\text{CH}_4$  and 5 %  $\text{CO}_2$  at  $55^\circ\text{C}$  with a shaking speed of 200 rpm.  $\text{OD}_{600}$  was measured with a cell density meter (Fisherbrand™ cell density meter model 40, Fisher Scientific, Waltham, USA) by sampling with a syringe through the butyl rubber stopper.

### **Growth studies with the *Methylobacterium extorquens* AM1 $\Delta\text{mxaF}$ mutant**

The AM1  $\Delta\text{mxaF}$  mutant strain was generated by using the vector pCM184 based on the protocol of Marx *et al.*<sup>[6]</sup> Cultivation was performed following the protocol of Delaney *et al.* for *Methylobacterium extorquens* with adaptations.<sup>[7]</sup> Composition of the minimal piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid) (PIPES) medium (MP, Table S7) and a scheme for cultivation (Fig. S17) are available in the SI. Colonies of the AM1  $\Delta\text{mxaF}$  mutant were transferred from minimal PIPES with 15 mM succinate (MP + S) agar plates and incubated for 48 hours in 3 mL MP + S medium at  $29^\circ\text{C}$  and 200 rpm. The cell pellet was washed twice with minimal PIPES with 125 mM MeOH (MP + M) medium, and then diluted with MP + M medium to an  $\text{OD}_{600}$  of 0.1. After pipetting 500  $\mu\text{L}$  of the

diluted cell suspension in 48-well plates, the selected Ln and An in required concentrations were added. Growth dependence on different Ln and An was monitored for 72 hours in 15 minute intervals (548 rpm, 29 °C) in a microplate reader (Epoch2, formerly BioTek, now Agilent, Santa Clara, USA).

## Supporting Information Text

### ST. 1 TRLFS measurements and PARAFAC analysis

Tracking uptake of Ln and An was used as second means to support the essential role of these elements for the strains investigated. Cm<sup>3+</sup> luminescence spectroscopy is a very sensitive spectroscopic method for studying the chemical environment of this ion. Cm<sup>3+</sup> emission spectra often show only one peak per Cm<sup>3+</sup> species. The second spectroscopic information, the Cm<sup>3+</sup> luminescence lifetime, is influenced by the presence of aqua ligands in the first coordination sphere. Based on the semi-empirical *Kimura* equation the remaining water molecules can be calculated (Eq.).<sup>[8]</sup>

$$N_{H_2O} = \frac{0.65}{\tau_{Cm^{3+}} [ms]} - 0.88$$

The species-specific luminescence features of the free Cm<sup>3+</sup> aquo ion are characterized by an emission maximum at 593.5 nm and a corresponding luminescence lifetime of 68  $\mu$ s. Small changes in the chemical environment (e.g. first coordination sphere) of the Cm<sup>3+</sup> ion, shifts emission maxima and changes luminescence lifetimes. Thus we investigated the uptake of Cm<sup>3+</sup> by SolV by exploiting its excellent luminescent properties with time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS) in combination with parallel factor analysis (PARAFAC) to separate and identify the present species.<sup>[9]</sup> The time-resolved spectra from supernatant (Fig. S9B) as well as from strain SolV cell pellets (Fig. S9C) were recorded for Cm<sup>3+</sup> at different time intervals. With Eu<sup>3+</sup>, no analyzable spectra could be obtained due to the low concentration (Cm<sup>3+</sup> fluorescence in these low concentrations is more sensitive due to higher quantum yields). The extracted Cm<sup>3+</sup> spectra, their luminescence lifetimes, and the distribution of the dedicated species are summarized in Fig. S9. In total, three different spectra were extracted (Fig. S9A). The major Cm<sup>3+</sup> species at the beginning of the experiment displays an emission maximum at 595.0 nm with luminescence lifetime of 75  $\mu$ s. In comparison to the free Cm<sup>3+</sup> aquo ion (593.5 nm/68  $\mu$ s), this species is shifted to higher wavelengths and exhibits longer luminescence lifetimes.<sup>[10]</sup> Due to the complex medium composition (Table S6), the acidic pH value and spectral characteristics, this Cm<sup>3+</sup> species is attributed to a CmCl<sup>2+</sup> species (Cm-Cl-species).<sup>[11]</sup> In Fig. S9B the species distribution of the supernatant manifests the strong decrease of the Cm-Cl-species over time which is in excellent accordance to the LSC data (Fig. 2B). With increasing bacterial growth, two further main species (magenta and green) arise in the supernatant as well as in the cell pellet. The emission maximum of both species shifts strongly to 608.5 nm with two additional, smaller bands at lower wavelengths. They clearly can be identified as two individual cell-associated species based on the luminescence lifetimes (37  $\mu$ s and 341  $\mu$ s) which is supported by the data collected for Eu-MDH soaked with Cm (Fig. 1C). To assign the occurring species, we measured an Eu-XoxF-MDH isolated from strain SolV saturated with Cm<sup>3+</sup> for comparison.<sup>[12]</sup> The luminescence characteristics of Eu-MDH incubated with Cm<sup>3+</sup> (608.5 nm/529  $\mu$ s) and the green species of the cell pellet observed in SolV

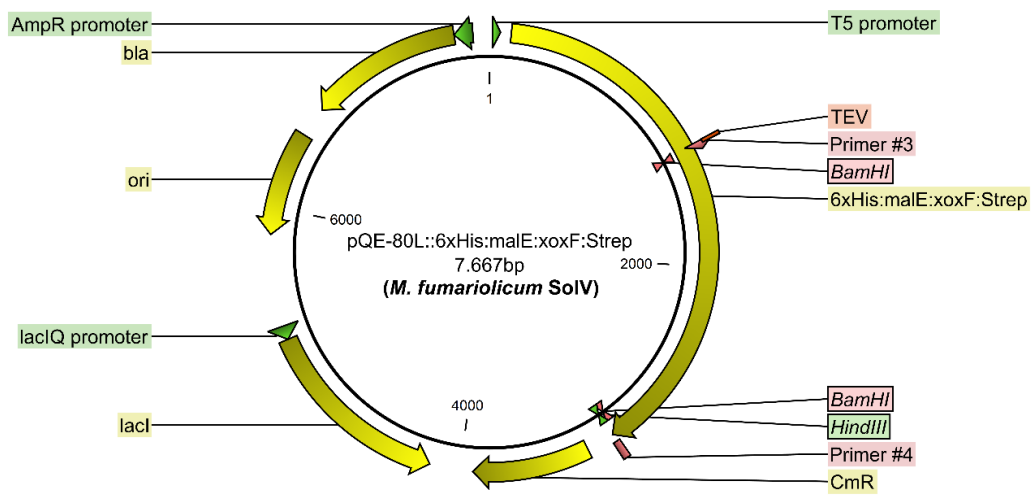
cells (608.5 nm/341  $\mu$ s) after cultivation with  $\text{Cm}^{3+}$  match (Fig. 1C). The long lifetimes represent 0 or 1 remaining water molecules in the first hydration sphere. The difference in lifetime might be a result of quenching by the complex environment of the cell itself in comparison to the purified enzyme in solely buffer environment. The dominance of this Cm-MDH-like species is not surprising, since 10% of the total protein amount of strain SolV consists of XoxF-MDH.<sup>[1]</sup> The second (magenta) species with the shorter lifetime of 37  $\mu$ s for  $\text{Cm}^{3+}$  is attributed to an incorporation /storage species or cell-surface species, possibly phosphate-based since strain SolV is known to accumulate polyphosphates.<sup>[13]</sup> The short lifetime reflects additional ligand-specific quenching processes other than the ones induced by associated OH-ligands from water<sup>[14]</sup> or may hint towards luminescence quenching by iron<sup>[15]</sup>, manganese, and copper<sup>[16]</sup>. The exact identification of this species and its role in cell-metabolism is part of future studies.

Especially the Cm-MDH-like species features an exceedingly high luminescence intensity compared to the other two species. This also explains why this species can still be detected in the supernatant due to few remaining cells. After repeated centrifugation of the supernatant, the signal of the species is significantly reduced (green star in Fig. S9B), confirming our assumption.

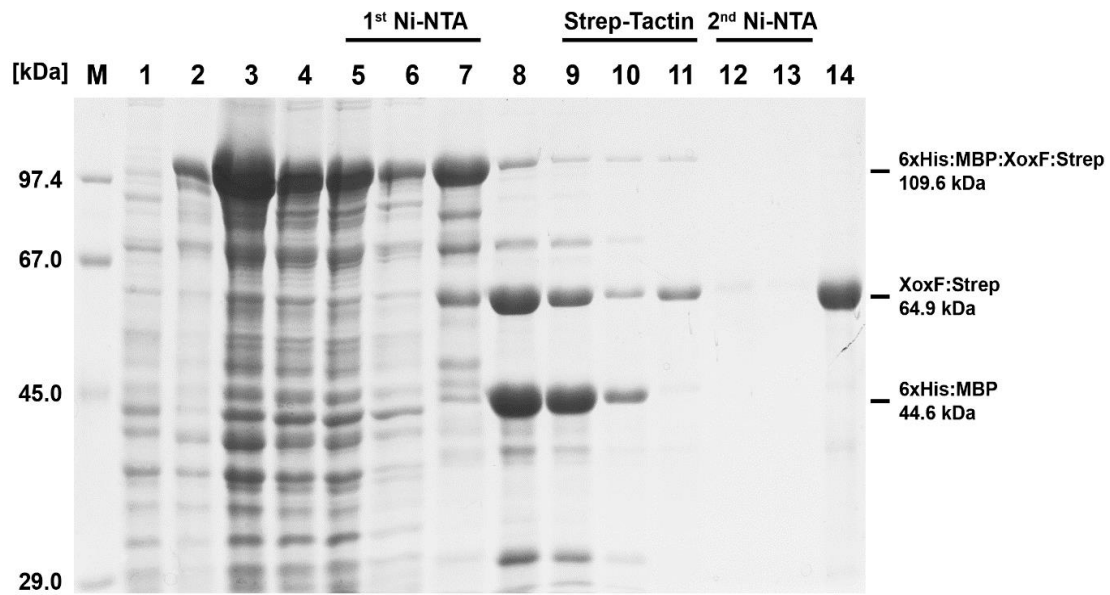
## Figures



**Fig. S1.** *N*-terminal maltose-binding protein (*malE*) construct. Final construct for production of the maltose binding protein-XoxF-MDH fusion with additional *Strep*-tag, His-tag and protease cleavage site.

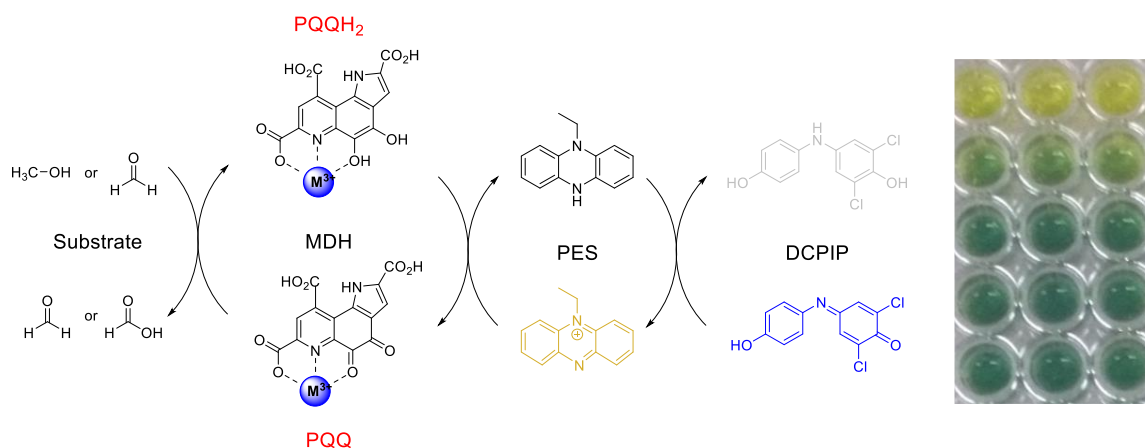


**Fig. S2.** Vector map of pQE 80L::6xHis:malE:xoxF:Strep (*M. fumariolicum* SolV).



**Fig. S3.** SDS-PAGE of the purification of the recombinantly produced apo-XoxF-MDH (*M. fumariolicum* SolV). [M: Marker (Serva Protein Test Mixture 6, 39207), 1: before induction, 2: after induction, 3: after lysis, 4: cleared *E. Coli* cell lysate, 5: flow through 1st Ni NTA, 6: wash 1st Ni NTA, 7: elution 1st Ni NTA, 8: after dialysis and TEV cleavage, 9: flow through Strep Tactin, 10: wash Strep Tactin, 11: elution Strep Tactin, 12: flow through 2nd Ni NTA, 13: wash 2nd Ni NTA, 14: concentrated XoxF:Strep.



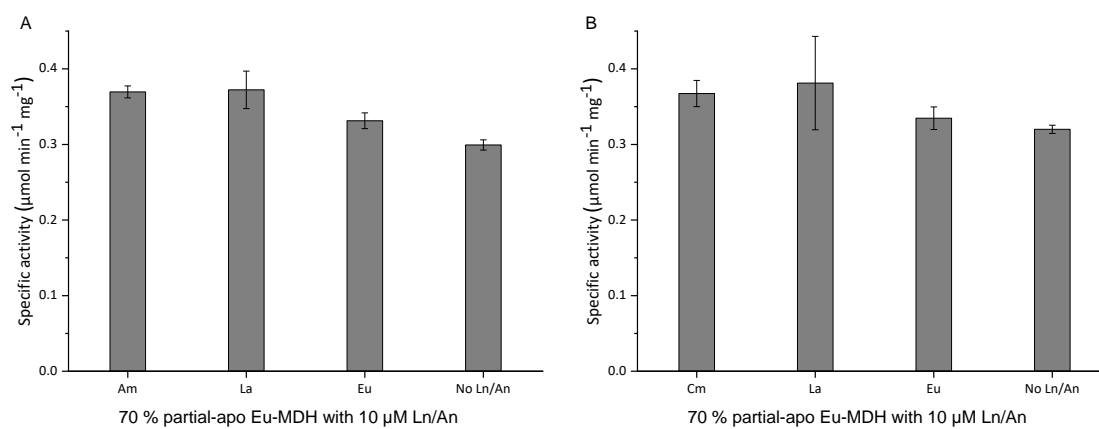


$$\begin{aligned}
 \text{specific activity } [\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}] &= \frac{\text{enzyme unit } U [\mu\text{mol min}^{-1}]}{\text{amount of enzyme } [\text{mg}]} \\
 \text{enzyme unit } U [\mu\text{mol min}^{-1}] &= \frac{-1 \cdot \text{initial rate of slope of measurement}}{\text{extinction coefficient } [\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}] \cdot \text{pathlength of cell } [\text{cm}]} \cdot 10^6 \\
 &\cdot \text{volume of assay } [\text{L}]
 \end{aligned}$$

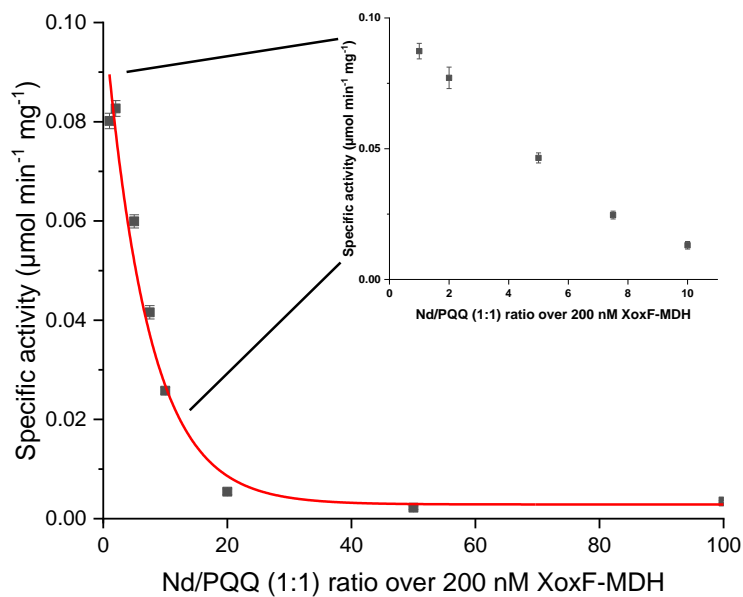
**Fig. S4.** Spectrophotometrical activity determination of MDH. Scheme of the dye-coupled assay based on PES and DCPIP for determination of enzymatic activity of XoxF-MDH with the equation for specific activity determination. On the right a photograph of a 96-well-plate where from the upper to the lower rows the substrate conversion rate decreases.

- 🔧 Temperature: Setpoint 45 °C
- 📡 Plate Out,In Add 160 µL assay mix with PES, DCPIP, MeOH and buffer
- 🕒 Delay for 0:02:00
- 📡 Plate Out,In Add 40 µL of reconstituted XoxF, PQQ and Ln/An
- 📈 Start Kinetic [Run 0:45:00, Interval 0:00:20]
  - 📡 Read: (A) 600
- 📈 End Kinetic

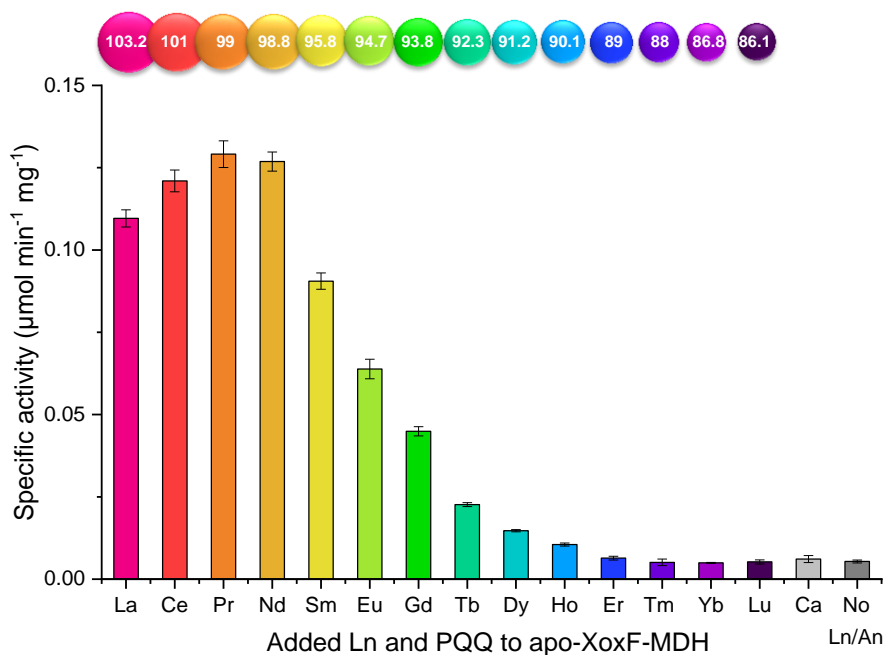
**Fig. S5.** Protocol for the determination of enzymatic activity with the dye-coupled assay based on DCPIP and PES. Measurements were carried out on the Epoch2 plate reader (formerly BioTek, now Agilent, Santa Clara, USA).



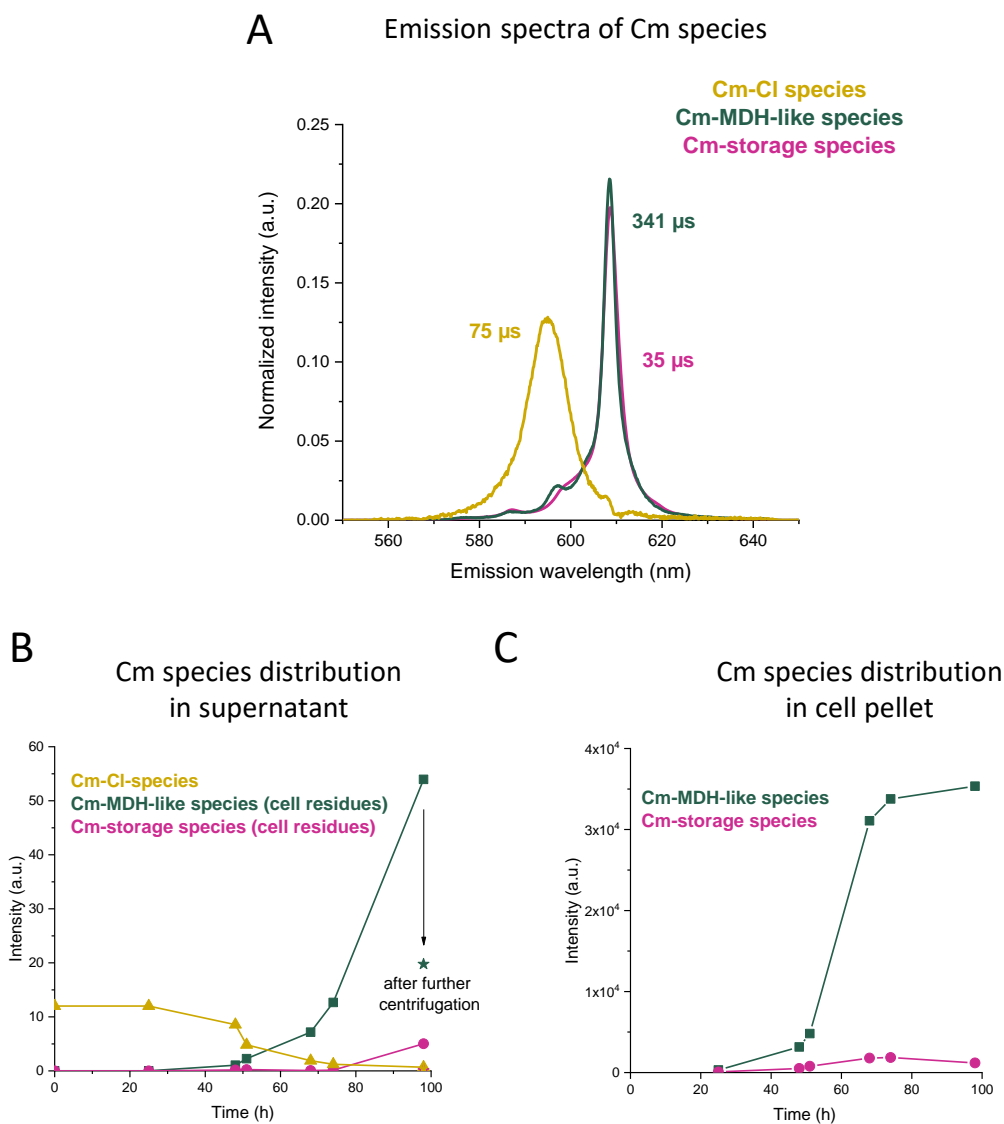
**Fig. S6.** Enzymatic activity determination of partial apo-Eu-MDH purified from strain SolV<sup>[1]</sup> with addition of Lns and Ans A) Am and B) Cm with the dye-coupled assay. Conditions were as follows: 200 nM Eu-MDH (70% of active sites occupied), 1 mM PES, 100 μM DCPIP, 10 μM Ln/An, 50 mM MeOH, 20 mM PIPES buffer pH 7.



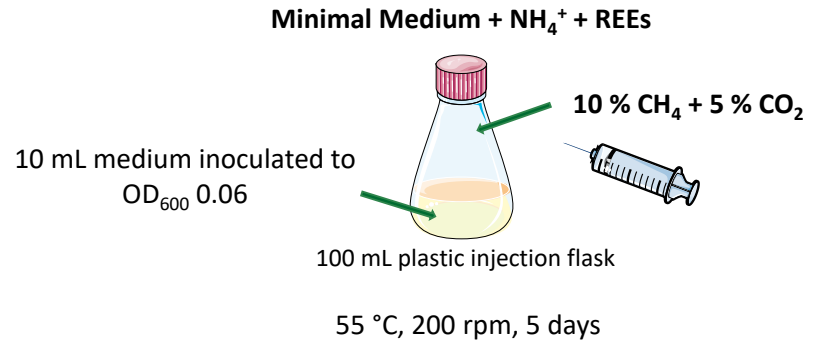
**Fig. S7.** Enzymatic activity determination of XoxF-MDH with different surplus of 1:1 Ln:PQQ ratios ranging from 1 (200 nM) to 100 (20 μM). XoxF-MDH, PQQ and Nd were incubated for 72 hours at 4 °C. Conditions were as follows: 200 nM XoxF-MDH, 200 nM to 20 μM Nd, 200 nM to 20 μM PQQ, 1 mM PES, 100 μM DCPIP, 50 mM MeOH, 100 mM MOPSO/CHES buffer pH 7. The assay was performed at 45 °C, and each data point shows the average of three replicates. For example, a ratio of 20 corresponds to a concentration of 200 nM XoxF-MDH, 4 μM Nd and 4 μM PQQ.



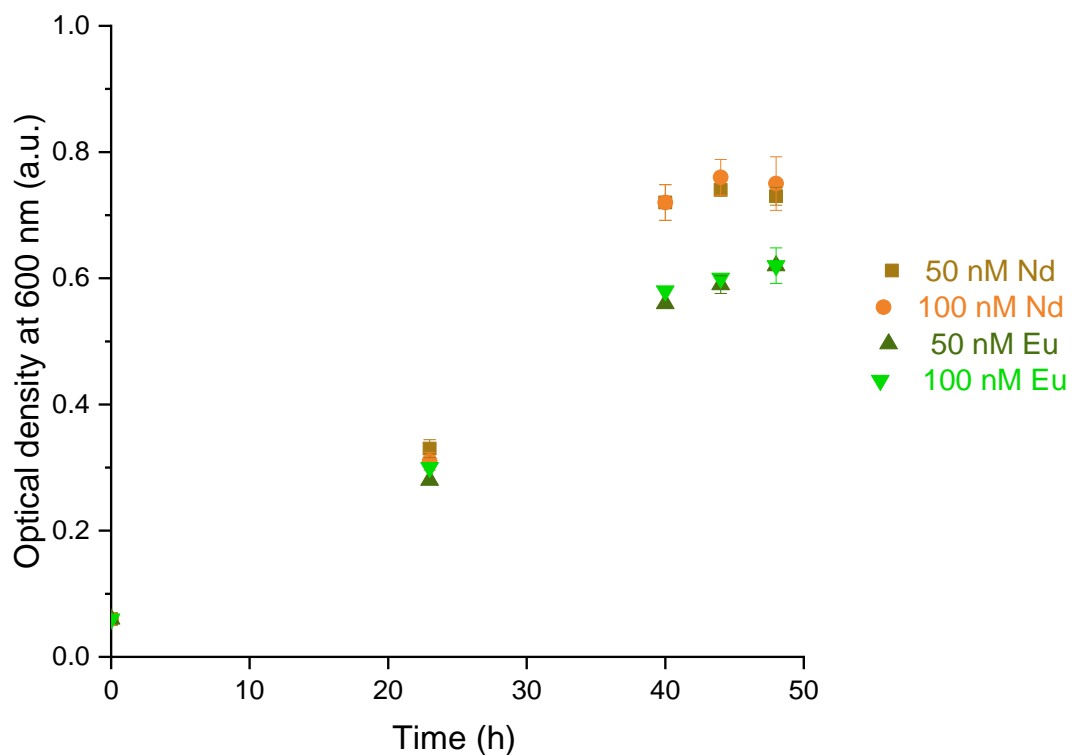
**Fig. S8.** Enzymatic activity determination of XoxF-MDH dependent on the added lanthanide or calcium analyzed with a colorimetric assay based on DCPIP and PES. XoxF-MDH, PQQ and metal were incubated for 72 hours at 4 °C. Conditions were as follows: 200 nM XoxF-MDH, 200 nM Ln, 200 nM PQQ, 1 mM PES, 100 μM DCPIP, 50 mM MeOH, 100 mM MOPSO/CHES buffer pH 7. The assay was performed at 45 °C, and each bar shows the average of three replicates. Please note that the values are slightly deviating from Fig. 1 as the data was collected right after purification of the enzyme in a different facility and with a different assay mix batch. The PES/DCPIP assay is known to be prone to fluctuations, hence comparison of absolute activity values between experiments should be made with caution.<sup>[3b]</sup>



**Fig. S9.** TRLFS data of supernatant and cell pellet of strain SolV grown with 50 nM  $\text{Cm}^{3+}$ . Cell pellets of the growth studies with  $\text{Cm}^{3+}$  shown in Fig. 2A as well as of supernatant were collected. A) Deconvoluted  $\text{Cm}^{3+}$  spectra of three different species present in the supernatant and cell pellet including the corresponding lifetimes based on the TRLFS data (excitation wavelength of 396 nm) in combination with PARAFAC analysis. The species shown in yellow was assigned to be  $\text{CmCl}^{2+}$  in the medium while the magenta and green species are cell-associated. The green species was assigned to a Cm-XoxF-MDH-like species while the magenta one represents a Cm-storage species. The data of the shown spectra is available in Tab. S8. B) and C) show the distribution of all three detected species in the supernatant and the cell pellet over time. Cell pellet and supernatant were separated by centrifugation (2 800 x g, 20 min). The star data points show the supernatant (98 hours) after an additional centrifugation step (13 100 x g, 45 min).

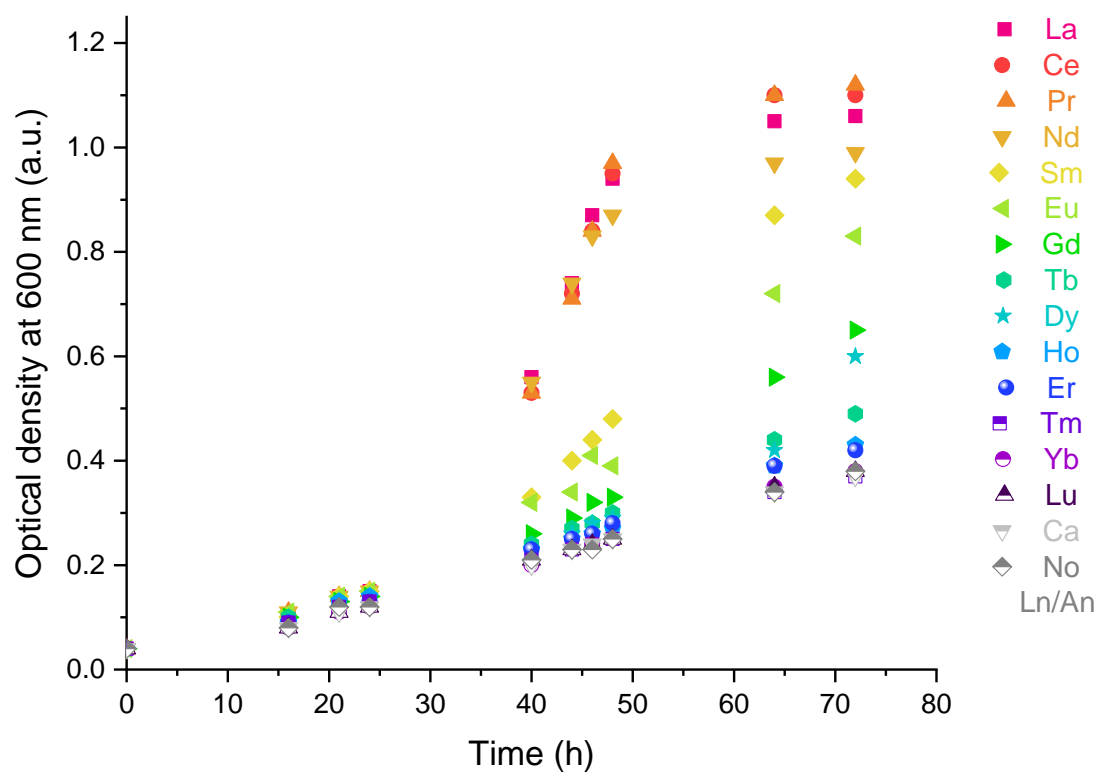


**Fig. S10.** Plastic cultivation flasks (injection or infusion bottles) for growth experiments of strain SolV with Lns and Ans. Flasks: polypropylene, volume 1000 mL, 500 mL and 100 mL; Stoppers: bromobutyl rubber, Ø 32 mm (for 1000 mL and 500 mL) or Ø 20 mm (100 mL); Caps: aluminum.

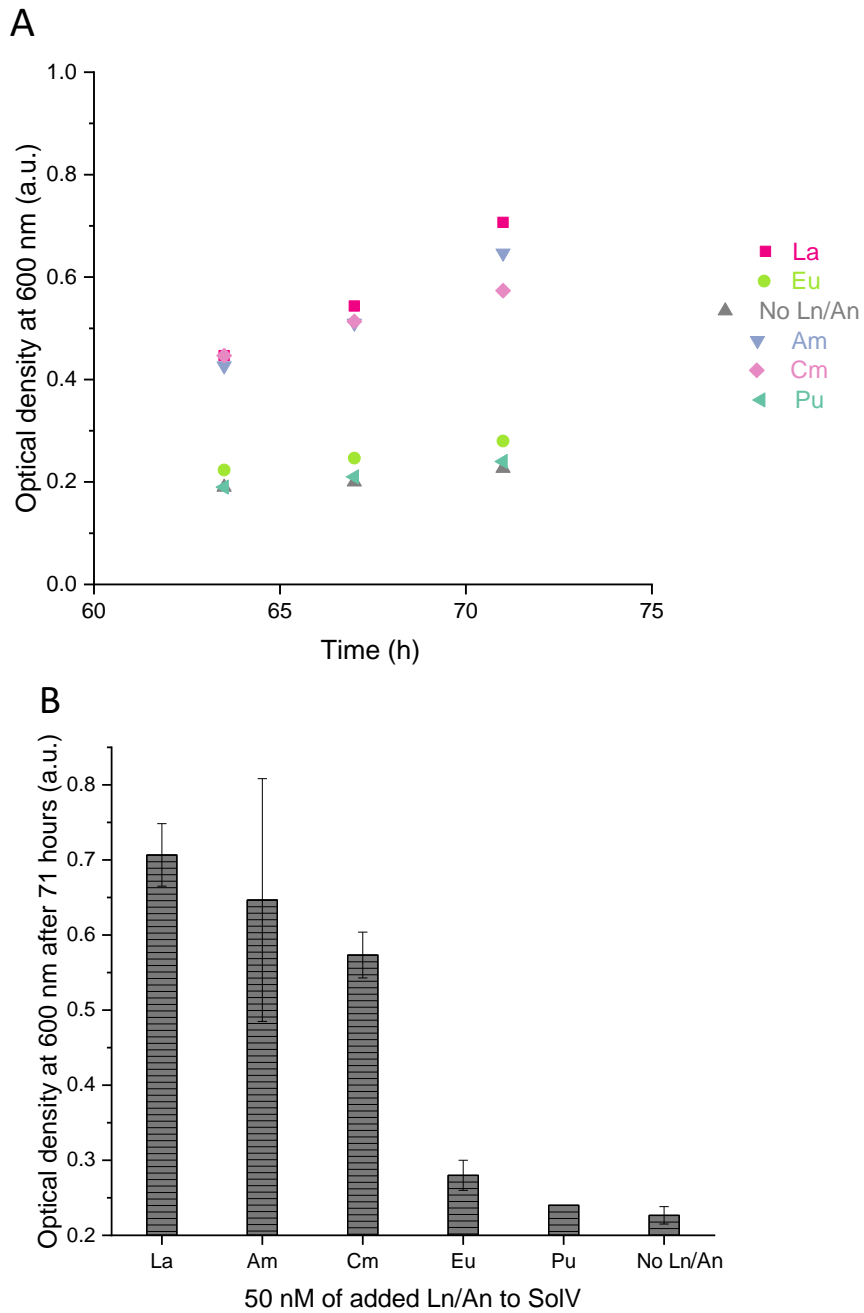


**Fig. S11.** Growth studies of strain SolV in 100 mL plastic flasks with 50 nM and 100 nM of  $\text{Eu}^{3+}$  and  $\text{Nd}^{3+}$ . Bottles were inoculated with a pre-culture grown with 50 nM  $\text{La}^{3+}$  to an  $\text{OD}_{600}$  of 0.06 at  $t = 0$  h. The samples were incubated at 55 °C and 200 rpm for 3 days under a gas atmosphere of 85% air, 10 %  $\text{CH}_4$  and 5 %  $\text{CO}_2$ . Optical densities of SolV were determined by sampling from the incubation vessels at regular time intervals. Data points show the average of 2 replicates.

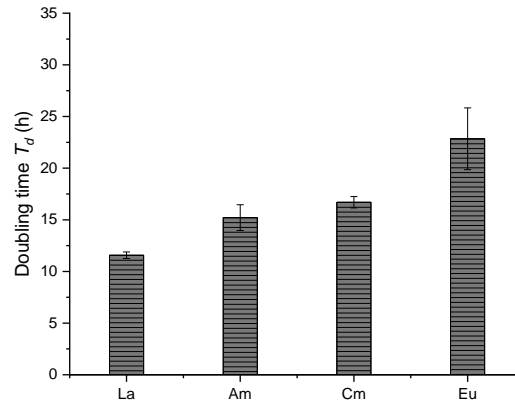




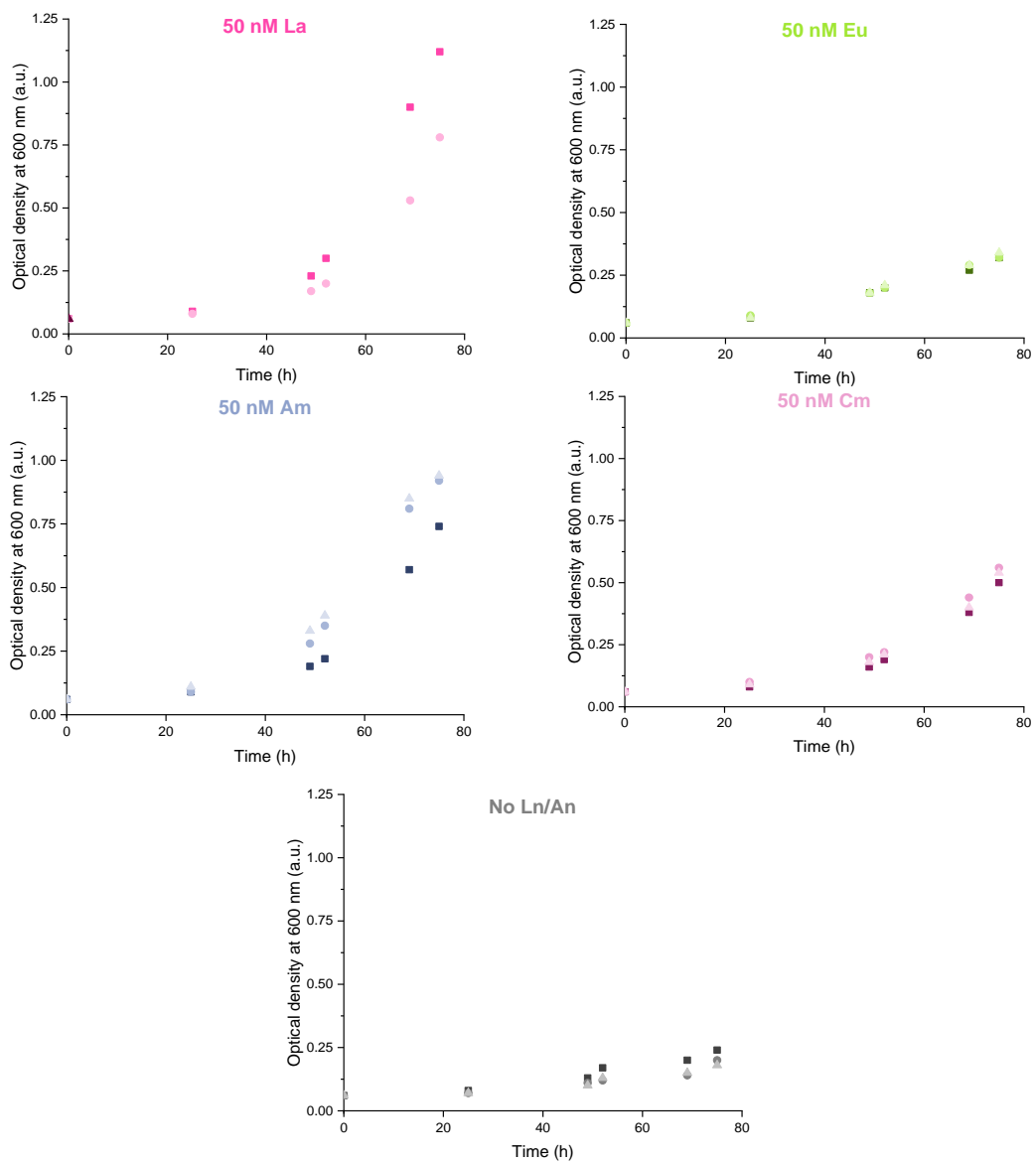
**Fig. S12.** Growth studies of strain SolV with 100 nM of Ln, Ca<sup>2+</sup> and without addition of Ln. Bottles were inoculated with a pre-culture grown with 50 nM La<sup>3+</sup> to an OD<sub>600</sub> of 0.06 at t = 0 h. The samples were incubated at 55 °C and 200 rpm for 3 days under a gas atmosphere of 85% air, 10 % CH<sub>4</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>. Data points show one replicate. Concentration of Ln was 100 nM but no differences between 50 nM and 100 nM were observed (Fig. S11), and due to the radioactivity of Cm<sup>3+</sup>, Am<sup>3+</sup> and Pu the concentration was lowered to 50 nM in the experiments.



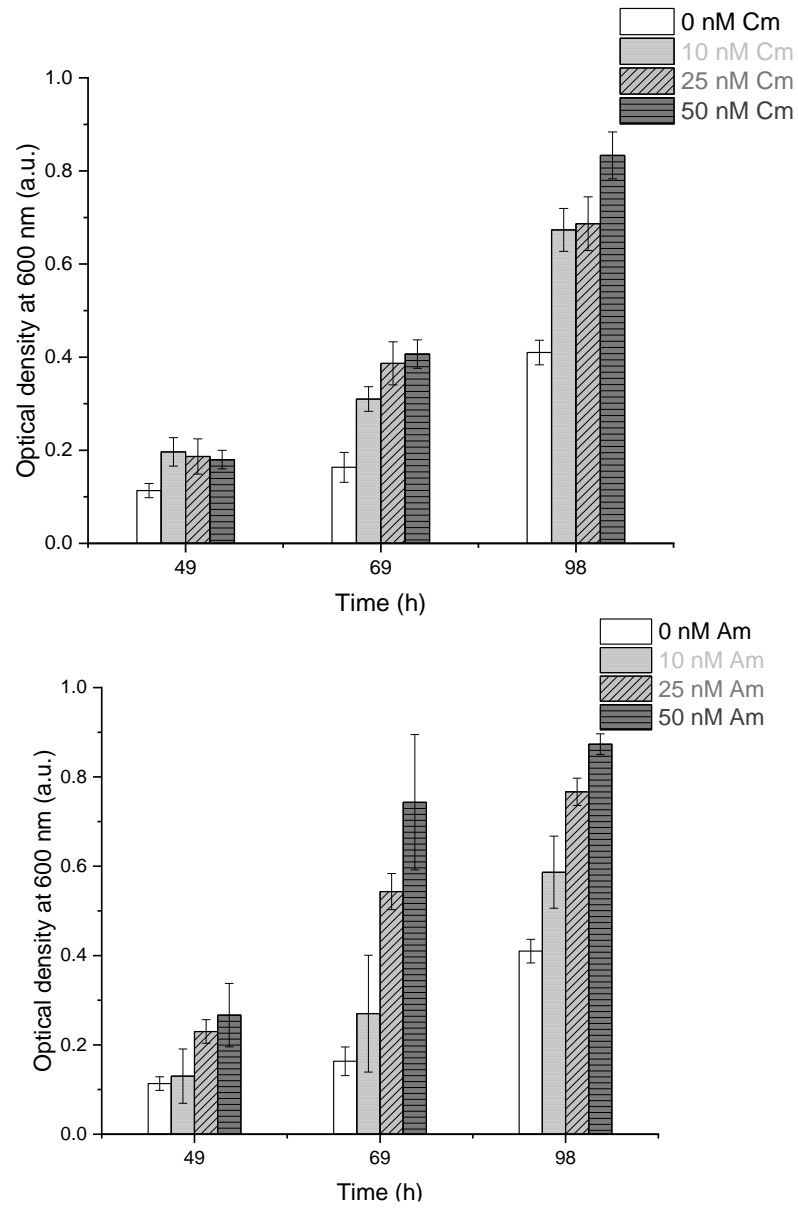
**Fig. S13.** A) Ln and An dependent growth of strain SolV with B) final OD<sub>600</sub> after 71 hours. Bottles with 50 nM of Ln or An were inoculated with a pre-culture grown with 50 nM La<sup>3+</sup> to a OD<sub>600</sub> of 0.06 at t = 0 h. The samples were incubated at 55 °C and 200 rpm for 5 days under a gas atmosphere of 85% air, 10 % CH<sub>4</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>. Data points show the average of three individual bottles, for clarity, error bars were omitted in the left graph.



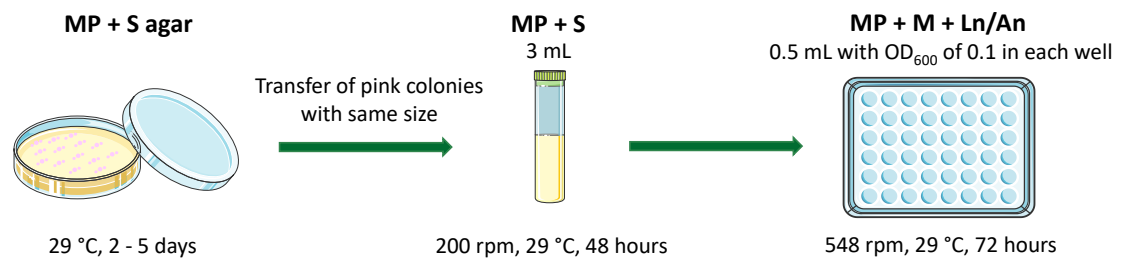
**Fig. S14.** Doubling times of SolV growth studies with Ln and An calculated from data presented in Fig. 2C.



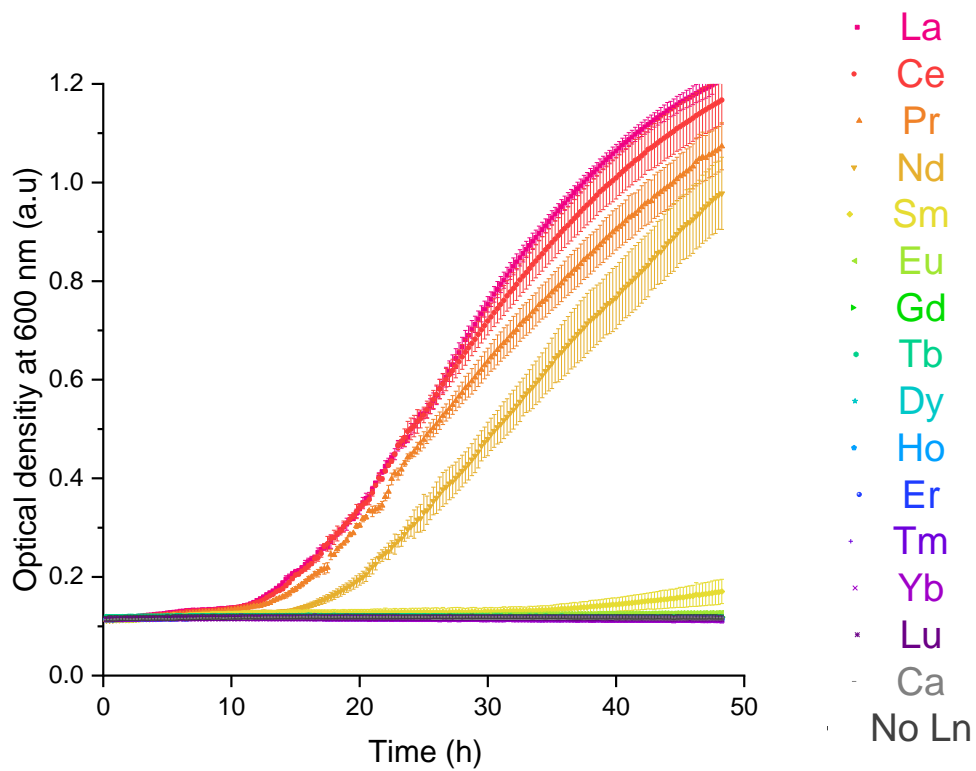
**Fig. S15.** Ln and An dependent growth of strain SolV. Data of all experimental replicates used to prepare Fig. 2A.



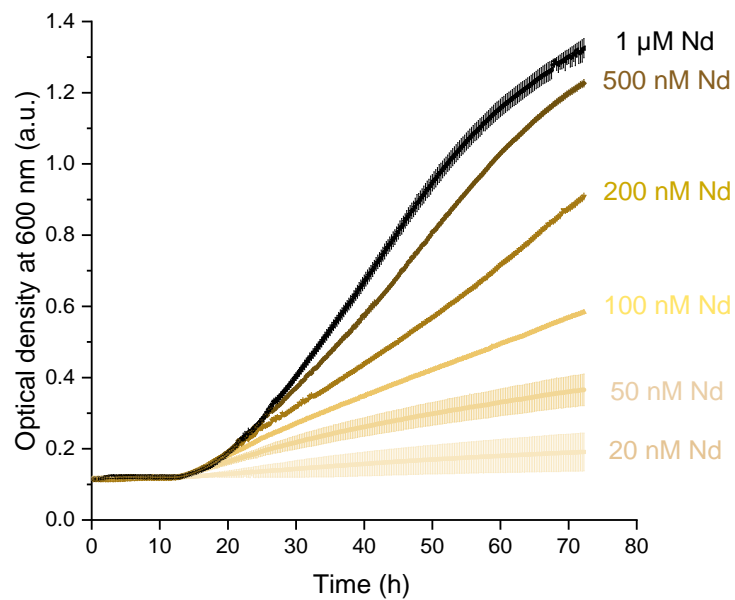
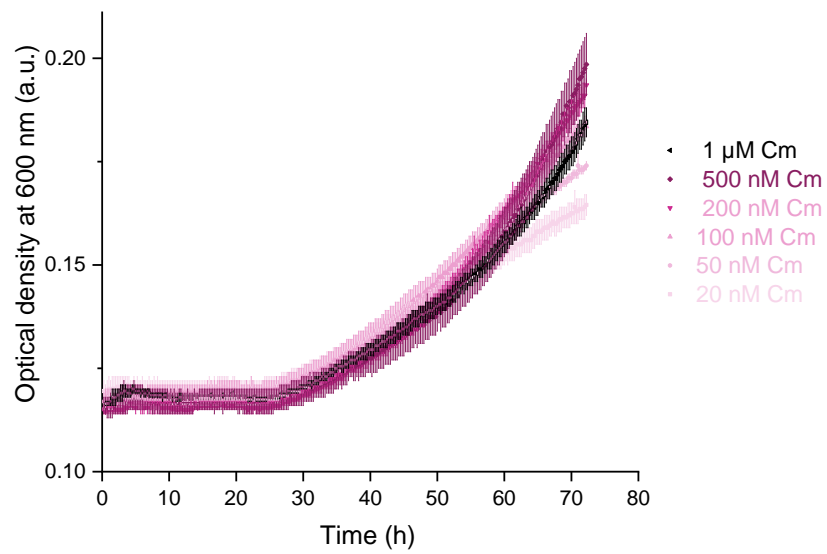
**Fig. S16.** An-dependent growth of strain SolV with different concentrations of Am<sup>3+</sup> and Cm<sup>3+</sup>.



**Fig. S17.** Scheme for cultivation of the *Methylobacterium extorquens* AM1  $\Delta mxaF$  mutant.



**Fig. S18.** Growth studies of the AM1  $\Delta mxaF$  mutant strain with 100 nM of different Ln in MP + M. Duplicates were prepared. For inoculation, cells grown on MP + S were used after washing and diluted to an  $OD_{600}$  of 0.1 at  $t = 0$  h. Cells were incubated for 72 hours at 29 °C.



**Fig. S19.**  $\text{Cm}^{3+}$  and  $\text{Nd}^{3+}$  dependent growth of the AM1  $\Delta\text{mxaF}$  mutant strain with different concentrations from 20 nM to 1  $\mu\text{M}$  of  $\text{Cm}^{3+}$  in MP + M. Duplicates were prepared. For inoculation, cells grown on MP + S were used after washing and diluted to an  $\text{OD}_{600}$  of 0.1 at  $t = 0$  h. Cells were incubated for 72 hours at 29  $^{\circ}\text{C}$ .



**Tables**

**Table S1.** ICP-MS analysis of strain SolV growth medium with An and Ln

<b>An/ Ln</b>	<b>Sc</b>	<b>Y</b>	<b>La</b>	<b>Ce</b>	<b>Pr</b>	<b>Nd</b>	<b>Sm</b>	<b>Eu</b>	<b>Gd</b>	<b>Tb</b>	<b>Dy</b>	<b>Ho</b>	<b>Er</b>	<b>Tm</b>	<b>Yb</b>	<b>Lu</b>
Am	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cm	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
La	nd	nd	7.53	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Eu	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	7.06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd = non-detectable, concentration lower than 0.01 µg/L; 7.53 µg/L = 54.2 nM La, 7.06 µg/L = 46.5 nM Eu

**Table S2.** Gibson Assembly primers used for cloning. The underlined sequences are complementary to the genes of interest.

<b>Primer #</b>	<b>Sequence (5'-3')</b>
<b>1</b>	TTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGA <u>AACGATGAACTCATAAAG</u> <u>TTAG</u>
<b>2</b>	TTCGAACTGCGGGTGGCTCCAAGCGGATCC <u>CTCCAAAGCGAAGAC</u> <u>GTAC</u>
<b>3</b>	AAACCTGTATTTTCAGGGATCCA <u>AACGATGAACTCATAAAGTTAG</u>
<b>4</b>	CCAAGCTCAGCTAATTAAGCTTT <u>TATTTTTCGAACTGCGG</u>

**Table S3.** Composition of PCR reactions for amplification of the *xoxF* gene.

<b>Component</b>	<b>Amount</b>
dNTPs (10 mM)	1 $\mu$ L
Template DNA (10 ng/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L
Primer for (10 mM)	2.5 $\mu$ L
Primer rev (10 mM)	2.5 $\mu$ L
Q5 buffer (5x)	10 $\mu$ L
Q5 High-Fidelity polymerase	1 $\mu$ L
DMSO	1.5 $\mu$ L
<i>ad aqua dest.</i>	to 50 $\mu$ L

**Table S4.** PCR programs used for amplification of the *coxF* gene.

<b>Step</b>	<b>Temp. [°C]</b>	<b>Duration</b>	<b>Cycle</b>
Initial denaturation	98	1 min	
Denaturation	98	10 s	35x
Annealing	58	30 s	
Elongation	72	50 s	
Final elongation	72	10 min	
	10	∞	

**Table S5.** Molecular weights and extinction coefficients.

<b>Protein</b>	<b>MW [kDa]</b>	<b><math>\epsilon_{280}</math> [<math>M^{-1}cm^{-1}</math>]</b>
<b>6xHis:MBP:XoxF:Strep</b>	109.6	231395
<b>XoxF:Strep</b>	64.9	163555

**Table S6.** Medium composition for growth medium of strain SolV.

Solution	Composition
Minimal medium (10x)	<p>2 mM MgCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mM CaCl<sub>2</sub></p> <p><b>Note:</b> All components except CaCl<sub>2</sub> were mixed and adjusted to pH 2.7 with 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. CaCl<sub>2</sub> was autoclaved separately and added afterwards to prevent the precipitation of calcium phosphates.</p>
Trace element (TE) solution	<p>200 mM FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 200 mM MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O, 300 mM CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O, 10 mM NiCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 10 mM CoCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O</p> <p><b>Note:</b> All components were dissolved one after the other in 1.5 % v/v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Solution will occur blue immediately after preparation but turns green after a few days.</p>
Growth medium for strain SolV	<p>Prepared according to Pol and coworkers<sup>[1]</sup></p> <p>1x Minimal medium, 20 µL/L TE, 8 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. All components were mixed and autoclaved. Ln or An were added afterwards.</p> <p><b>Note:</b> NH<sub>4</sub><sup>+</sup> available from a 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution in MilliQ water.</p> <p><b>Final concentration in the medium:</b></p> <p>200 µM MgCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 1 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 200 µM CaCl<sub>2</sub>, 4 µM FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 4 µM MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O, 6 µM CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O, 200 nM NiCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 200 nM ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 200 nM CoCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 200 nM Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O, 8 mM (NH<sub>4</sub>)SO<sub>2</sub>, pH 2.7</p>

**Table S7.** Medium composition for growth medium of strain AM1.

Solution	Composition
P-Solution (100x) PIPES solution (10x) C7 metal solution (1000x)	145 mM $K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$ , 188 mM $NaH_2PO_4$ 300 mM PIPES; was adjusted to pH 6.75 with NaOH 45.5 mM $HOC(COONa)(CH_2COONa)_2 \cdot 2H_2O$ , 1.2 mM $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 1 mM $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ , 18 mM $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 2 mM $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$ , 1 mM $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ , 2 mM $CoCl_2 \cdot 6 H_2O$ , 0.33 mM $Na_2WO_4 \cdot 2 H_2O$ ;
MgCl <sub>2</sub> (4000x) (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (250x) CaCl <sub>2</sub> (100000x)	<b>Note:</b> The solution was prepared in this exact order in MilliQ water and the added solid needs to be completely dissolved before adding the next substance. After preparation, the solution appeared yellow with light brownish precipitation, but after a few days a color change of the solution to yellow-brownish and dissolution of the solid is observed 2 M $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ 2 M $(NH_4)_2SO_4$ , 2 M $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$
Liquid medium Minimal PIPES (MP)	Prepared according to Delaney and coworkers. <sup>[7]</sup> 1x PIPES, 1x P-solution, 1x $MgCl_2$ , 1x $(NH_4)_2SO_4$ , 1x C7 metal solution, 1x $CaCl_2$
Liquid medium minimal PIPES with succinate (MP + S) Liquid medium minimal PIPES with Methanol (MP + M)	<b>Note:</b> All solutions listed below were autoclaved separately before use. To prepare the media, all components were mixed in MilliQ water and autoclaved afterwards again. <b>Final concentration in the medium:</b> 1.45 mM $K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$ , 1.88 mM $NaH_2PO_4$ , 30 mM PIPES, 45.5 μM $HOC(COONa)(CH_2COONa)_2 \cdot 2H_2O$ , 1.2 μM $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 1 μM $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ , 18 μM $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 2 μM $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$ , 1 μM $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ , 2 μM $CoCl_2 \cdot 6 H_2O$ , 0.33 μM $Na_2WO_4 \cdot 2 H_2O$ , 0.5 mM $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ , 8 mM $(NH_4)_2SO_4$ , 20 μM $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$ , pH 6.7
Liquid medium minimal PIPES with succinate (MP + S) Liquid medium minimal PIPES with Methanol (MP + M)	To MP medium, 15 mM disodium succinate $\cdot 6 H_2O$ were added.  125 mM of sterile filtered MeOH were added after autoclaving to the MP medium.
Solid plates MP + S	For making semi-solid agar plates, 15 g of Bacto Agar per liter of liquid medium (MP + S) was added and melted by the autoclaving process. Plates were poured after a short cooling phase.

**Table S8.** Data of the deconvoluted normalized emission spectra of the different Cm species displayed in Fig. S9A and 1C

Emission wavelength (nm)	Cm-storage species	Cm-MDH-like species	Cm-CI species	Cm species in Eu-XoxF-MDH
555.90995	5.28052E-5	4.9946E-5	0	4.56477E-5
556.04441	5.95512E-5	4.30322E-5	0	2.51766E-5
556.17886	6.17664E-5	3.1217E-5	0	0
556.31332	5.97859E-5	1.89048E-5	0	0
556.44776	5.47274E-5	5.21668E-5	1.62389E-4	3.55681E-5
556.5822	5.48732E-5	1.93108E-5	1.67241E-4	3.22873E-5
556.71664	5.88255E-5	0	2.686E-4	5.49176E-5
556.85107	6.06733E-5	0	7.67697E-4	5.42616E-5
556.98549	5.46833E-5	0	8.79768E-4	4.345E-5
557.11991	5.80477E-5	0	3.91761E-4	4.49605E-5
557.25433	6.39064E-5	0	4.50687E-5	0
557.38874	5.77731E-5	4.12149E-5	0	2.696E-6
557.52314	5.48917E-5	0	3.90512E-4	0
557.65754	6.14055E-5	0	4.36715E-4	3.20115E-5
557.79193	6.20254E-5	0	4.73895E-4	3.28829E-5
557.92632	5.88329E-5	0	6.16217E-4	3.32227E-5
558.0607	5.65448E-5	0	6.95095E-4	1.80982E-5
558.19508	5.62072E-5	0	6.79444E-4	0
558.32946	5.68058E-5	0	0.00106	1.62108E-5
558.46382	5.77938E-5	0	0.00135	4.08434E-5
558.59819	6.20533E-5	0	5.46739E-4	3.6547E-5
558.73254	6.02613E-5	3.19153E-5	0	2.89996E-5
558.86689	6.15077E-5	2.08697E-5	4.99578E-4	2.03398E-5
559.00124	6.10123E-5	0	1.14162E-4	0
559.13558	5.96421E-5	0	9.39466E-5	2.36226E-5
559.26992	5.90299E-5	0	3.48098E-4	3.18746E-5
559.40425	6.31349E-5	0	3.62134E-4	1.78978E-5
559.53858	5.92272E-5	1.58926E-5	2.44791E-4	4.52936E-5
559.6729	5.83062E-5	4.24035E-5	0	4.80065E-5
559.80721	6.46124E-5	4.44291E-5	2.58699E-4	2.8696E-5
559.94152	6.04555E-5	0	0.00104	3.26073E-5
560.07583	5.53323E-5	0	9.38486E-4	1.57076E-5
560.21013	6.28567E-5	3.03599E-5	1.22048E-4	1.8089E-5
560.34443	5.82038E-5	5.67671E-5	0	5.66425E-6
560.47872	6.48153E-5	3.44801E-5	0	8.34216E-6
560.613	6.05513E-5	4.31581E-5	0	3.50997E-5
560.74728	6.44533E-5	0	7.35758E-4	3.40911E-5
560.88155	6.10613E-5	2.05398E-5	8.11306E-4	2.97386E-5
561.01582	6.52835E-5	0	6.92238E-4	5.70438E-5
561.15009	5.82336E-5	3.64447E-5	2.34984E-4	2.31665E-5
561.28434	5.50069E-5	5.83246E-5	0	0
561.4186	5.89765E-5	0	2.88089E-4	0
561.55285	5.77842E-5	0	6.22489E-4	2.93192E-5
561.68709	6.19335E-5	1.30193E-5	5.1307E-4	0
561.82133	6.06739E-5	0	0.00137	0
561.95556	6.03293E-5	4.7311E-5	1.94751E-4	3.83268E-5
562.08979	6.92134E-5	0	7.90263E-4	3.52793E-5
562.22401	6.78063E-5	0	4.71946E-4	0
562.35823	6.19924E-5	0	0.00129	2.16898E-5
562.49244	6.61378E-5	0	9.93404E-4	3.39349E-5
562.62664	6.65887E-5	0	8.01955E-4	4.37582E-5
562.76085	6.85539E-5	6.1488E-6	2.94048E-4	1.66485E-5
562.89504	6.40096E-5	3.11271E-5	0	4.20755E-5
563.02923	6.46878E-5	6.23124E-5	0	9.47455E-6
563.16342	6.653E-5	3.62588E-5	0	4.46585E-5
563.2976	6.6473E-5	4.13313E-5	0	2.6104E-5
563.43177	6.40621E-5	0	8.24611E-4	5.01868E-5
563.56594	6.86745E-5	0	2.05966E-4	2.74592E-5
563.70011	6.55855E-5	0	9.16097E-4	1.96571E-5
563.83427	6.48006E-5	0	9.73238E-4	4.18764E-5
563.96842	6.66764E-5	0	0.00147	4.0666E-5
564.10257	6.78139E-5	0	0.00137	4.16126E-5
564.23672	6.7071E-5	0	0.00126	4.12927E-5
564.37086	7.20686E-5	0	0.00131	4.25834E-5
564.50499	7.39157E-5	1.15536E-5	8.67638E-4	2.58227E-5
564.63912	7.11293E-5	0	0.00154	6.10911E-6
564.77324	7.2749E-5	0	0.00127	0
564.90736	7.34748E-5	6.37727E-7	7.02992E-4	4.1754E-5
565.04147	7.27138E-5	0	7.8882E-4	5.57125E-5
565.17558	7.34184E-5	0	0.00147	4.81384E-5
565.30968	7.10322E-5	0	0.0012	4.83484E-5
565.44378	7.43965E-5	0	0.00135	3.58909E-6
565.57787	7.6072E-5	7.65258E-5	0	4.10431E-5
565.71196	7.76472E-5	1.03441E-4	0	1.88177E-5
565.84604	7.58388E-5	5.07877E-5	7.30881E-4	0
565.98012	7.65756E-5	0	0.00129	5.84913E-5
566.11419	8.10219E-5	0	0.0012	7.40254E-5
566.24826	8.55491E-5	4.66512E-5	6.22263E-4	7.68935E-5
566.38232	8.30622E-5	7.86984E-5	3.97801E-4	8.65789E-5
566.51637	8.50347E-5	5.78442E-5	8.17356E-4	6.97766E-5
566.65042	8.23332E-5	3.22995E-5	9.36753E-4	7.23793E-5
566.78447	8.64901E-5	5.51185E-5	6.35332E-4	5.66382E-5
566.91851	8.77584E-5	7.82898E-5	5.67916E-4	7.02908E-5



567.05255	9.15265E-5	1.05939E-4	2.91647E-4	6.44329E-5
567.18658	8.92865E-5	1.0685E-4	2.87014E-4	7.61114E-5
567.3206	9.42791E-5	1.03939E-4	0	6.03935E-5
567.45462	9.69854E-5	1.05125E-4	0	1.0376E-4
567.58863	9.54007E-5	7.78379E-5	0.00101	1.07268E-4
567.72264	9.92126E-5	6.07938E-5	0.00126	1.09409E-4
567.85665	1.05497E-4	8.05903E-5	5.464E-4	5.76285E-5
567.99065	1.02281E-4	9.56094E-5	6.45186E-4	4.55968E-5
568.12464	1.11596E-4	9.93958E-5	7.98427E-4	1.14674E-4
568.25863	1.04783E-4	1.21988E-4	0.00107	1.13196E-4
568.39261	1.14346E-4	8.87291E-5	0.00115	9.36122E-5
568.52659	1.14352E-4	1.03862E-4	0.00156	1.01963E-4
568.66056	1.1845E-4	1.41242E-4	0.00112	7.87992E-5
568.79453	1.20047E-4	1.19796E-4	0.0016	9.0953E-5
568.92849	1.24463E-4	1.06363E-5	0.0023	1.35773E-4
569.06245	1.28577E-4	5.3306E-5	0.00237	9.50084E-5
569.1964	1.28737E-4	6.21996E-5	0.00217	8.84223E-5
569.33035	1.36501E-4	4.3972E-5	0.00202	1.57331E-4
569.46429	1.34419E-4	8.70792E-5	0.00182	1.72245E-4
569.59822	1.44049E-4	1.47585E-4	0.00154	1.67315E-4
569.73216	1.49127E-4	1.70636E-4	9.98352E-4	1.78904E-4
569.86608	1.53324E-4	1.70598E-4	0.00142	1.83443E-4
570	1.5627E-4	1.47694E-4	0.00194	1.85837E-4
570.13392	1.66047E-4	1.24081E-4	0.00217	1.87815E-4
570.26783	1.64898E-4	2.08932E-4	0.00128	2.03581E-4
570.40173	1.69137E-4	1.57635E-4	0.00239	1.61795E-4
570.53563	1.79903E-4	1.28127E-4	0.00257	2.09851E-4
570.66953	1.83969E-4	2.30388E-4	0.00187	2.44637E-4
570.80342	1.91311E-4	2.00764E-4	0.00271	2.30558E-4
570.9373	2.01095E-4	2.66805E-4	0.002	2.51217E-4
571.07118	2.13182E-4	3.55235E-4	0.00122	2.43675E-4
571.20505	2.17051E-4	3.03178E-4	0.00194	2.29424E-4
571.33892	2.26152E-4	2.41038E-4	0.00305	2.62245E-4
571.47279	2.36251E-4	1.98321E-4	0.00378	2.59931E-4
571.60664	2.44174E-4	2.4815E-4	0.0033	3.07414E-4
571.7405	2.53408E-4	2.57133E-4	0.00333	3.12931E-4
571.87435	2.71064E-4	2.62562E-4	0.00361	3.03653E-4
572.00819	2.82451E-4	2.78491E-4	0.00417	3.15188E-4
572.14203	2.96455E-4	3.63605E-4	0.00347	3.65223E-4
572.27586	3.06675E-4	5.08389E-4	0.00233	3.4574E-4
572.40969	3.23466E-4	4.99834E-4	0.00295	3.73598E-4
572.54351	3.38699E-4	5.24814E-4	0.00342	3.85084E-4
572.67732	3.58241E-4	5.7674E-4	0.00254	3.94059E-4
572.81114	3.75127E-4	5.63866E-4	0.00322	4.19571E-4
572.94494	3.93739E-4	6.00496E-4	0.00313	4.11695E-4
573.07874	4.15889E-4	6.1436E-4	0.00337	4.40144E-4
573.21254	4.36921E-4	6.32209E-4	0.00434	4.88175E-4
573.34633	4.64176E-4	6.79089E-4	0.00395	5.03024E-4
573.48012	4.84161E-4	8.19307E-4	0.00356	5.30518E-4
573.6139	5.07093E-4	8.82895E-4	0.00301	5.5428E-4
573.74767	5.39726E-4	9.43604E-4	0.00212	5.73342E-4
573.88144	5.69153E-4	9.37528E-4	0.00356	6.09117E-4
574.01521	5.94782E-4	9.89271E-4	0.00421	6.39695E-4
574.14897	6.24217E-4	0.00104	0.00413	6.62565E-4
574.28272	6.56936E-4	0.00107	0.0044	6.83177E-4
574.41647	6.90042E-4	0.00114	0.00442	7.11608E-4
574.55021	7.31843E-4	0.0012	0.0043	7.31256E-4
574.68395	7.63903E-4	0.00124	0.00411	8.02202E-4
574.81768	7.90521E-4	0.00126	0.00489	8.52711E-4
574.95141	8.30467E-4	0.00128	0.00529	8.93364E-4
575.08514	8.65126E-4	0.00142	0.00537	9.21016E-4
575.21885	8.97625E-4	0.00142	0.00563	9.28712E-4
575.35257	9.38308E-4	0.00137	0.00598	9.81991E-4
575.48627	9.83527E-4	0.0015	0.00557	0.00103
575.61998	0.00101	0.00153	0.00618	0.00106
575.75367	0.00104	0.00164	0.00571	0.00112
575.88737	0.00108	0.00179	0.00509	0.00114
576.02105	0.00111	0.00175	0.00522	0.00119
576.15473	0.00115	0.00166	0.00579	0.00117
576.28841	0.00117	0.00165	0.00603	0.00123
576.42208	0.0012	0.00174	0.00542	0.00124
576.55575	0.00123	0.00175	0.0061	0.00129
576.68941	0.00126	0.00173	0.00626	0.00135
576.82306	0.00129	0.00168	0.00667	0.00142
576.95672	0.00131	0.00167	0.00627	0.00145
577.09036	0.00133	0.00188	0.00479	0.00148
577.224	0.00135	0.00173	0.00654	0.00153
577.35764	0.00138	0.0017	0.0077	0.00158
577.49126	0.0014	0.0017	0.00784	0.00167
577.62489	0.00142	0.00165	0.00797	0.00173
577.75851	0.00143	0.00173	0.0078	0.00175
577.89212	0.00145	0.00179	0.00737	0.0018
578.02573	0.00147	0.00177	0.00719	0.00186
578.15933	0.00149	0.00178	0.00786	0.00189
578.29293	0.00151	0.00164	0.0089	0.00195
578.42653	0.00153	0.00173	0.00832	0.00197
578.56011	0.00155	0.00164	0.00945	0.00199
578.6937	0.00157	0.00169	0.00897	0.00196
578.82728	0.00158	0.00172	0.00827	0.00195
578.96085	0.00162	0.00163	0.00857	0.00194
579.09441	0.00165	0.00165	0.00852	0.00189
579.22798	0.00167	0.00152	0.0094	0.00187
579.36153	0.0017	0.00164	0.00965	0.00185

579.49509	0.00172	0.00163	0.01043	0.00183
579.62863	0.00174	0.00173	0.01019	0.00188
579.76217	0.00177	0.00173	0.01027	0.0019
579.89571	0.0018	0.00163	0.01074	0.00193
580.02924	0.00183	0.0016	0.0103	0.00191
580.16277	0.00185	0.00166	0.01065	0.00192
580.29629	0.00188	0.0017	0.01032	0.00189
580.4298	0.0019	0.00176	0.01114	0.00194
580.56331	0.00193	0.00173	0.01137	0.00195
580.69682	0.00196	0.00173	0.0122	0.00197
580.83032	0.00198	0.00169	0.01311	0.00204
580.96381	0.002	0.00186	0.01204	0.00207
581.0973	0.00202	0.00195	0.01157	0.00209
581.23078	0.00206	0.00188	0.01272	0.00212
581.36426	0.00208	0.00202	0.01378	0.00214
581.49774	0.0021	0.00222	0.01388	0.00217
581.6312	0.00213	0.00235	0.01348	0.00219
581.76467	0.00218	0.002	0.01434	0.00229
581.89813	0.00221	0.00189	0.01547	0.00232
582.03158	0.00226	0.00201	0.0161	0.00238
582.16503	0.0023	0.00201	0.01623	0.00239
582.29847	0.00234	0.0021	0.01586	0.00241
582.43191	0.00239	0.00208	0.01601	0.00251
582.56534	0.00243	0.0022	0.01528	0.00254
582.69877	0.00249	0.00226	0.01613	0.00254
582.83219	0.00252	0.00228	0.01697	0.00258
582.9656	0.0026	0.00226	0.01787	0.00269
583.09901	0.00265	0.00246	0.0184	0.00273
583.23242	0.00271	0.00246	0.01954	0.00275
583.36582	0.00278	0.00249	0.02105	0.00285
583.49922	0.00285	0.00253	0.021	0.00297
583.63261	0.00291	0.00263	0.02043	0.00307
583.76599	0.003	0.00273	0.02177	0.00318
583.89937	0.0031	0.00297	0.02147	0.00324
584.03275	0.00318	0.00302	0.02217	0.00331
584.16612	0.0033	0.00315	0.02292	0.00348
584.29948	0.00342	0.00329	0.0232	0.0036
584.43284	0.00353	0.00331	0.02349	0.00373
584.5662	0.00365	0.00351	0.02223	0.00385
584.69954	0.0038	0.00356	0.02404	0.00396
584.83289	0.00395	0.00373	0.02567	0.00415
584.96623	0.00408	0.00393	0.02643	0.00433
585.09956	0.00425	0.00418	0.02686	0.00454
585.23289	0.00443	0.00422	0.02706	0.00477
585.36621	0.00463	0.00428	0.02709	0.00498
585.49953	0.00483	0.00452	0.0288	0.00515
585.63284	0.00503	0.00468	0.02959	0.00539
585.76615	0.00522	0.00481	0.02981	0.0056
585.89945	0.0054	0.00511	0.03074	0.00585
586.03275	0.00565	0.00528	0.02867	0.00616
586.16604	0.00585	0.0052	0.03001	0.00646
586.29933	0.00603	0.00514	0.03171	0.00658
586.43261	0.00619	0.00537	0.03366	0.0068
586.56588	0.00634	0.00548	0.03498	0.00695
586.69915	0.00645	0.00556	0.03526	0.00702
586.83242	0.00653	0.00562	0.03562	0.00714
586.96568	0.00662	0.00525	0.03638	0.00728
587.09894	0.00664	0.00516	0.03874	0.00729
587.23219	0.00664	0.00531	0.03778	0.00731
587.36543	0.00661	0.00535	0.03826	0.00724
587.49867	0.00657	0.0051	0.03997	0.00725
587.63191	0.00647	0.00528	0.04079	0.00719
587.76514	0.00638	0.00537	0.04198	0.00711
587.89836	0.00629	0.00526	0.04383	0.00696
588.03158	0.0062	0.00516	0.04519	0.00689
588.16479	0.00607	0.00524	0.04526	0.00681
588.298	0.00598	0.00524	0.04651	0.00667
588.4312	0.00587	0.00518	0.04765	0.00659
588.5644	0.00578	0.00519	0.04814	0.00662
588.6976	0.00566	0.00517	0.04963	0.00651
588.83078	0.00559	0.00518	0.0502	0.0064
588.96397	0.00549	0.00502	0.05232	0.00636
589.09714	0.00542	0.00506	0.0562	0.0063
589.23032	0.00536	0.00485	0.05789	0.00636
589.36348	0.00529	0.0049	0.05884	0.00634
589.49664	0.00522	0.00504	0.06078	0.00641
589.6298	0.00518	0.00505	0.06233	0.00632
589.76295	0.00515	0.00502	0.06423	0.00623
589.8961	0.00512	0.00496	0.06683	0.00634
590.02924	0.0051	0.00486	0.06973	0.00637
590.16238	0.00509	0.00501	0.07105	0.00643
590.29551	0.00508	0.00507	0.07421	0.0064
590.42863	0.00505	0.00533	0.07596	0.00648
590.56175	0.00506	0.0053	0.07713	0.00662
590.69487	0.00507	0.00528	0.07906	0.00655
590.82798	0.00509	0.00529	0.08071	0.00664
590.96108	0.00514	0.00522	0.0844	0.00669
591.09418	0.00517	0.00532	0.08519	0.00665
591.22727	0.00521	0.00541	0.08803	0.00674
591.36036	0.00525	0.00551	0.08927	0.00697
591.49345	0.0053	0.00568	0.08995	0.00698
591.62653	0.00535	0.0058	0.09367	0.00698
591.7596	0.00541	0.00585	0.09648	0.00704

591.89267	0.00545	0.00621	0.09699	0.007
592.02573	0.00554	0.00629	0.10026	0.00711
592.15879	0.00561	0.00635	0.10149	0.00735
592.29184	0.00572	0.00639	0.10399	0.00744
592.42489	0.00581	0.00646	0.10677	0.00759
592.55793	0.00592	0.00656	0.11038	0.00763
592.69097	0.00603	0.00689	0.11014	0.00781
592.824	0.00612	0.00708	0.11218	0.00792
592.95703	0.00626	0.00731	0.11317	0.00796
593.09005	0.00639	0.00741	0.11705	0.008
593.22306	0.00649	0.00775	0.1179	0.00811
593.35608	0.00666	0.00804	0.12063	0.00824
593.48908	0.00681	0.00825	0.12233	0.00839
593.62208	0.00697	0.00864	0.12361	0.00858
593.75508	0.00711	0.00899	0.12549	0.00879
593.88807	0.00733	0.0093	0.12472	0.00876
594.02105	0.00749	0.00981	0.12489	0.00894
594.15403	0.00769	0.01036	0.12525	0.00904
594.28701	0.00793	0.01081	0.1264	0.00927
594.41998	0.00814	0.01153	0.1273	0.00943
594.55294	0.00839	0.0119	0.12626	0.00962
594.6859	0.00864	0.01258	0.12506	0.00969
594.81885	0.00894	0.01345	0.12727	0.00987
594.9518	0.00925	0.0141	0.12829	0.01005
595.08475	0.00956	0.01478	0.12551	0.01024
595.21768	0.00993	0.01559	0.12499	0.01053
595.35062	0.01028	0.01604	0.12678	0.01071
595.48354	0.01065	0.01654	0.126	0.011
595.61647	0.01102	0.01742	0.12595	0.01129
595.74939	0.0114	0.01822	0.12518	0.01169
595.8823	0.01183	0.01887	0.1238	0.01204
596.0152	0.01228	0.01901	0.12389	0.01227
596.14811	0.01276	0.01959	0.1228	0.01279
596.281	0.01323	0.02051	0.11994	0.01309
596.41389	0.01374	0.02086	0.11818	0.01345
596.54678	0.01426	0.02108	0.11782	0.01397
596.67966	0.01476	0.02129	0.11754	0.01436
596.81254	0.01532	0.02153	0.11601	0.01481
596.94541	0.01595	0.0218	0.11575	0.01539
597.07827	0.01654	0.02157	0.11488	0.01604
597.21113	0.0171	0.02189	0.11143	0.01643
597.34399	0.01767	0.02181	0.11018	0.01678
597.47684	0.0182	0.02191	0.10804	0.01737
597.60968	0.01873	0.02121	0.10608	0.01782
597.74252	0.0192	0.02137	0.10419	0.01812
597.87536	0.01968	0.02116	0.10131	0.01859
598.00819	0.02009	0.02072	0.10104	0.01883
598.14101	0.0205	0.02038	0.09724	0.01902
598.27383	0.02087	0.0206	0.09455	0.01924
598.40664	0.02121	0.02037	0.09235	0.01946
598.53945	0.02158	0.02034	0.0907	0.01978
598.67225	0.02191	0.01993	0.0901	0.01995
598.80505	0.02218	0.01969	0.08903	0.01991
598.93785	0.0225	0.01959	0.08353	0.01998
599.07063	0.02277	0.01965	0.08298	0.02021
599.20342	0.02301	0.02023	0.07921	0.02031
599.33619	0.02332	0.02003	0.07718	0.02047
599.46896	0.02352	0.0203	0.07479	0.02081
599.60173	0.02383	0.02066	0.07284	0.02123
599.73449	0.02415	0.02047	0.06967	0.02158
599.86725	0.02451	0.0206	0.06822	0.02188
600	0.02469	0.02076	0.06726	0.02215
600.13275	0.02495	0.02109	0.06337	0.02246
600.26549	0.02535	0.02183	0.0625	0.02298
600.39822	0.02561	0.02189	0.06156	0.02332
600.53095	0.02588	0.02245	0.05899	0.02372
600.66368	0.02622	0.02298	0.05508	0.02429
600.7964	0.02665	0.02336	0.05405	0.02494
600.92911	0.02704	0.0238	0.05286	0.02544
601.06182	0.02734	0.02434	0.05235	0.02596
601.19453	0.02762	0.02466	0.04979	0.02638
601.32723	0.02794	0.02559	0.04801	0.02692
601.45992	0.02835	0.02609	0.04495	0.02747
601.59261	0.02875	0.02681	0.04349	0.02792
601.72529	0.02915	0.02778	0.04205	0.02839
601.85797	0.02953	0.02827	0.04133	0.02895
601.99064	0.02999	0.02911	0.0401	0.02955
602.12331	0.03056	0.02965	0.03798	0.03033
602.25597	0.03103	0.03096	0.03813	0.03086
602.38863	0.03156	0.03157	0.03692	0.03157
602.52128	0.03206	0.03263	0.03471	0.03203
602.65393	0.0325	0.03346	0.03423	0.0325
602.78657	0.03299	0.03424	0.03439	0.03305
602.91921	0.0334	0.03544	0.03277	0.03356
603.05184	0.03395	0.03657	0.03	0.03429
603.18447	0.03451	0.0373	0.03062	0.0349
603.31709	0.03515	0.0377	0.02987	0.03557
603.44971	0.03556	0.03873	0.02845	0.03605
603.58232	0.03611	0.03937	0.02823	0.03663
603.71492	0.03669	0.04018	0.02605	0.03719
603.84752	0.03743	0.04066	0.02488	0.03789
603.98012	0.03806	0.04147	0.02262	0.03846
604.11271	0.03896	0.04218	0.0239	0.03953

604.24529	0.03973	0.04287	0.02452	0.04062
604.37787	0.04071	0.04438	0.02374	0.04163
604.51045	0.04166	0.04465	0.02224	0.0426
604.64302	0.04288	0.04587	0.02078	0.04396
604.77558	0.0442	0.04672	0.02186	0.04538
604.90814	0.04557	0.04732	0.02173	0.04668
605.04069	0.04728	0.0491	0.0204	0.04858
605.17324	0.04925	0.05042	0.01862	0.05065
605.30578	0.05138	0.05233	0.02003	0.0529
605.43832	0.05363	0.05432	0.01802	0.05522
605.57085	0.05636	0.05651	0.01701	0.05794
605.70338	0.05944	0.05846	0.01714	0.06119
605.8359	0.06286	0.06181	0.01746	0.0646
605.96842	0.06651	0.06504	0.01639	0.06822
606.10093	0.07076	0.06824	0.01555	0.07255
606.23344	0.07585	0.07369	0.01469	0.07776
606.36594	0.08137	0.0793	0.01516	0.08346
606.49844	0.08738	0.08545	0.01546	0.08957
606.63093	0.09414	0.09176	0.01395	0.0964
606.76342	0.10135	0.09905	0.0145	0.10356
606.8959	0.10899	0.10718	0.01449	0.11124
607.02837	0.11765	0.11787	0.015	0.12015
607.16084	0.12612	0.12918	0.0143	0.12837
607.29331	0.13488	0.14068	0.0147	0.13652
607.42577	0.14342	0.15187	0.01513	0.14491
607.55822	0.15303	0.16373	0.01533	0.15403
607.69067	0.16171	0.1742	0.01524	0.16224
607.82312	0.17015	0.18569	0.01513	0.16983
607.95556	0.17727	0.19533	0.01444	0.1763
608.08799	0.18341	0.20203	0.01422	0.18136
608.22042	0.18921	0.20863	0.01307	0.18612
608.35284	0.19364	0.21313	0.01331	0.18938
608.48526	0.19695	0.21559	0.01228	0.192
608.61768	0.19761	0.21518	0.01158	0.19192
608.75008	0.197	0.21172	0.00983	0.19048
608.88249	0.19518	0.20585	0.009	0.18822
609.01488	0.19213	0.19842	0.00828	0.18497
609.14728	0.18805	0.19004	0.00696	0.18146
609.27966	0.18143	0.17837	0.00569	0.17521
609.41205	0.17529	0.168	0.00399	0.16962
609.54442	0.16815	0.15601	0.00379	0.16355
609.67679	0.16116	0.14434	0.00357	0.15775
609.80916	0.15383	0.13482	0.00365	0.1513
609.94152	0.14648	0.12502	0.00396	0.14519
610.07388	0.13912	0.11482	0.00338	0.13888
610.20623	0.13211	0.10759	0.00331	0.13287
610.33858	0.1251	0.09931	0.00422	0.12685
610.47092	0.11789	0.0934	0.00455	0.12035
610.60325	0.11138	0.08674	0.00363	0.11465
610.73558	0.10496	0.08175	0.0029	0.10899
610.86791	0.09912	0.07774	0.00399	0.10361
611.00023	0.09314	0.07367	0.00161	0.09817
611.13254	0.08737	0.06922	0.00414	0.09282
611.26485	0.08221	0.06535	0.00441	0.08808
611.39715	0.07715	0.06281	0.00296	0.08323
611.52945	0.07239	0.05962	0.00399	0.0786
611.66175	0.06828	0.05714	0.0041	0.07461
611.79403	0.0641	0.05457	0.00444	0.07059
611.92632	0.06043	0.05172	0.00454	0.0668
612.0586	0.057	0.04973	0.00491	0.06313
612.19087	0.05381	0.04842	0.00458	0.06003
612.32314	0.0509	0.04685	0.00456	0.05688
612.4554	0.04825	0.04491	0.00388	0.05399
612.58766	0.04562	0.04301	0.00521	0.05125
612.71991	0.04333	0.04178	0.00572	0.04873
612.85216	0.04111	0.04031	0.00476	0.04625
612.9844	0.03916	0.03892	0.00519	0.04399
613.11663	0.03725	0.03752	0.00496	0.04181
613.24887	0.03557	0.03617	0.00511	0.03991
613.38109	0.03414	0.03483	0.00508	0.03818
613.51331	0.03283	0.03399	0.00533	0.03665
613.64553	0.0314	0.03275	0.00569	0.03494
613.77774	0.03013	0.03168	0.00515	0.03348
613.90994	0.029	0.03113	0.0049	0.03226
614.04214	0.02792	0.0299	0.0037	0.03092
614.17434	0.02698	0.02852	0.00363	0.02987
614.30653	0.02609	0.02707	0.00512	0.02892
614.43871	0.0251	0.02645	0.00447	0.0279
614.57089	0.02426	0.02602	0.00328	0.02675
614.70307	0.02355	0.02495	0.0043	0.0259
614.83524	0.02278	0.02383	0.00372	0.02508
614.9674	0.02206	0.02299	0.00383	0.02419
615.09956	0.02139	0.02182	0.00411	0.02342
615.23171	0.02079	0.02089	0.00511	0.02278
615.36386	0.02013	0.02032	0.00316	0.02212
615.496	0.01957	0.01963	0.00308	0.02154
615.62814	0.01895	0.01904	0.00396	0.02078
615.76027	0.01842	0.01851	0.00325	0.02024
615.8924	0.01791	0.01752	0.00295	0.01973
616.02452	0.01744	0.01706	0.00268	0.01916
616.15664	0.01696	0.01658	0.00319	0.01866
616.28875	0.01653	0.01597	0.00373	0.01815
616.42086	0.0161	0.01488	0.00251	0.0176

616.55296	0.01569	0.0146	0.00388	0.01727
616.68506	0.01528	0.01428	0.00298	0.01691
616.81715	0.01488	0.01426	0.00206	0.01638
616.94923	0.01455	0.01378	0.00198	0.01615
617.08131	0.01424	0.01307	0.00225	0.01584
617.21339	0.01392	0.01255	0.00154	0.01549
617.34546	0.01356	0.01208	0.00263	0.01521
617.47752	0.0133	0.01193	0.00172	0.01491
617.60958	0.01304	0.01169	0.00103	0.01468
617.74164	0.01279	0.01116	0.00247	0.01434
617.87369	0.01253	0.01086	0.0026	0.01404
618.00573	0.0123	0.01045	0.00257	0.0138
618.13777	0.01204	0.01001	0.00317	0.01355
618.26981	0.01181	0.00944	0.00212	0.01335
618.40183	0.01159	0.00914	0.00192	0.01309
618.53386	0.01129	0.00893	0.00257	0.01267
618.66588	0.01106	0.00868	0.00285	0.0124
618.79789	0.01078	0.00872	0.00211	0.0121
618.9299	0.01055	0.00846	0.00223	0.01179
619.0619	0.01028	0.00824	0.0022	0.01141
619.1939	0.01001	0.00808	0.00233	0.01121
619.32589	0.00974	0.0078	0.00218	0.01087
619.45788	0.00946	0.0074	0.00261	0.01044
619.58986	0.00919	0.00737	0.00138	0.01028
619.72183	0.00893	0.00724	8.27408E-4	0.01003
619.85381	0.00863	0.00695	0.00135	0.00963
619.98577	0.00834	0.0066	0.0024	0.00924
620.11773	0.0081	0.00633	0.00245	0.00899
620.24969	0.00781	0.00626	0.00202	0.00876
620.38164	0.00756	0.00606	4.91602E-4	0.00844
620.51359	0.00732	0.00579	0.00274	0.00819
620.64553	0.00709	0.00563	0.00202	0.00789
620.77746	0.00685	0.00541	0.00163	0.00767
620.90939	0.00661	0.00551	7.50454E-4	0.00742
621.04132	0.00641	0.00544	0.00129	0.00721
621.17323	0.00623	0.00513	8.24824E-4	0.00697
621.30515	0.00605	0.00501	0.00259	0.00683
621.43706	0.00586	0.00486	0.00257	0.00674
621.56896	0.00568	0.00475	0.00232	0.00639
621.70086	0.0055	0.00502	0.00167	0.00633
621.83275	0.00535	0.0047	0.00146	0.00608
621.96464	0.00522	0.00462	0.00141	0.00588
622.09653	0.00509	0.00445	0.0028	0.00573
622.2284	0.00497	0.00431	0.00217	0.00558
622.36028	0.00483	0.00433	0.0017	0.00546
622.49214	0.00471	0.00428	0.00188	0.00526
622.62401	0.0046	0.00433	0.00187	0.00505
622.75586	0.0045	0.00398	0.00261	0.00499
622.88772	0.00442	0.00404	0.0015	0.00491
623.01956	0.0043	0.00408	0.00169	0.00479
623.1514	0.0042	0.00419	0.00124	0.00461
623.28324	0.0041	0.00413	0.00121	0.00445
623.41507	0.00401	0.00401	0.00207	0.00438
623.5469	0.00391	0.00414	0.00111	0.00423
623.67872	0.00383	0.00397	0.00272	0.00412
623.81053	0.00376	0.00381	0.00266	0.00402
623.94234	0.00365	0.0039	0.00132	0.00393
624.07415	0.00357	0.0038	0.00122	0.00379
624.20595	0.0035	0.0037	0.00218	0.00371
624.33774	0.00341	0.00372	0.00214	0.00364
624.46953	0.00333	0.00374	0.00206	0.00354
624.60132	0.00325	0.00358	0.00114	0.00343
624.7331	0.00317	0.00359	0.0012	0.00339
624.86487	0.00308	0.00354	0.0015	0.00328
624.99664	0.003	0.00354	7.32617E-4	0.00319
625.1284	0.00294	0.00331	0.00186	0.00316
625.26016	0.00286	0.00329	7.32835E-4	0.00302
625.39191	0.0028	0.00303	0.0016	0.00296
625.52366	0.00273	0.00324	2.36982E-4	0.00287
625.6554	0.00266	0.00333	0.00129	0.00285
625.78714	0.00259	0.00317	0.00166	0.00281
625.91887	0.00253	0.00303	0.00183	0.00268
626.0506	0.00249	0.00286	0.00203	0.00265
626.18232	0.00243	0.00299	0	0.0026
626.31404	0.00238	0.00282	0.00157	0.0025
626.44575	0.00234	0.00273	0.00176	0.00246
626.57746	0.00229	0.00272	0.00147	0.00243
626.70916	0.00224	0.00272	0.002	0.00238
626.84086	0.00221	0.00272	0.0011	0.00227
626.97255	0.00216	0.00285	6.56239E-4	0.00229
627.10423	0.00212	0.00278	0.00262	0.00227
627.23591	0.00208	0.00262	0.00226	0.00224
627.36759	0.00205	0.00252	0.00298	0.0022
627.49926	0.00202	0.00254	0.00164	0.00215
627.63092	0.00199	0.00248	0.00165	0.0021
627.76258	0.00196	0.00235	0.002	0.00208
627.89424	0.00193	0.00247	0.00113	0.00205
628.02588	0.00191	0.00254	0	0.002
628.15753	0.00189	0.00245	0.00137	0.00202
628.28917	0.00187	0.00223	0.00147	0.00195
628.4208	0.00184	0.00239	0.00125	0.00189
628.55243	0.00183	0.00226	0.00179	0.0019
628.68405	0.00181	0.00228	0.00155	0.00186

628.81567	0.0018	0.00235	0.0011	0.00184
628.94728	0.00177	0.00226	0.00164	0.00187
629.07889	0.00175	0.00233	5.3489E-4	0.00184
629.21049	0.00174	0.00224	6.53982E-4	0.0018
629.34209	0.00171	0.00212	0.00238	0.0018
629.47368	0.0017	0.00197	0.00241	0.00176
629.60527	0.00168	0.00202	0.00206	0.00177
629.73685	0.00166	0.00207	8.33804E-4	0.0017
629.86843	0.00164	0.00215	0.00121	0.00168
630	0.00162	0.00225	4.31976E-4	0.00164
630.13156	0.00159	0.00215	4.40596E-4	0.00166
630.26313	0.00157	0.00217	0.00129	0.00161
630.39468	0.00155	0.00204	0.00201	0.0016
630.52623	0.00153	0.00187	0.00148	0.00156
630.65778	0.00151	0.00202	0.00135	0.00154
630.78932	0.00149	0.00211	4.43321E-4	0.00157
630.92085	0.00148	0.00197	0	0.00156
631.05238	0.00146	0.00184	0.00163	0.00151
631.18391	0.00145	0.00179	0.0016	0.00148
631.31543	0.00142	0.00181	0.00144	0.00148
631.44694	0.0014	0.00185	1.67465E-4	0.00144
631.57845	0.00139	0.00169	0.0017	0.00144
631.70995	0.00137	0.00175	9.29739E-4	0.00144
631.84145	0.00135	0.00168	0.00147	0.00139
631.97294	0.00132	0.00176	0.00187	0.00138
632.10443	0.00132	0.00175	0.00132	0.00136
632.23591	0.0013	0.00167	0.00163	0.00135
632.36739	0.00128	0.00175	0.00127	0.0013
632.49886	0.00126	0.00172	6.86322E-4	0.00131
632.63033	0.00124	0.00167	0.00129	0.0013
632.76179	0.00123	0.00165	8.21572E-4	0.00127
632.89325	0.00122	0.00165	1.27477E-4	0.00124
633.0247	0.0012	0.00165	0.001	0.00123
633.15615	0.00118	0.00163	0.00104	0.00122
633.28759	0.00116	0.00157	0.00163	0.00123
633.41903	0.00114	0.00164	0	0.00121
633.55046	0.00114	0.00164	1.53976E-4	0.00116
633.68188	0.00112	0.00149	8.90712E-4	0.00116
633.8133	0.00111	0.00152	4.61427E-4	0.00114
633.94472	0.00108	0.00151	0	0.00112
634.07613	0.00107	0.00134	0.00136	0.00108
634.20753	0.00104	0.00149	9.86948E-4	0.0011
634.33893	0.00103	0.00151	4.62989E-4	0.00109
634.47033	0.00102	0.00143	0.00129	0.00105
634.60172	9.99344E-4	0.00142	8.38574E-4	0.00104
634.7331	9.82015E-4	0.00137	8.32259E-4	9.92646E-4
634.86448	9.66473E-4	0.00141	0.00141	9.68928E-4
634.99585	9.58658E-4	0.00133	0.00188	9.63744E-4
635.12722	9.41295E-4	0.00123	0.00158	9.81066E-4
635.25858	9.29157E-4	0.00129	0.00115	9.71139E-4
635.38994	9.13247E-4	0.00119	0.00129	9.67689E-4
635.5213	9.00432E-4	0.00123	0.0013	9.07845E-4
635.65264	8.78272E-4	0.00128	9.24933E-4	8.99348E-4
635.78399	8.72516E-4	0.00124	4.84832E-4	8.9659E-4
635.91532	8.5545E-4	0.00113	0.00204	8.94774E-4
636.04666	8.41932E-4	0.0012	0.00133	8.79654E-4
636.17798	8.35108E-4	0.00131	2.00251E-4	8.87454E-4
636.3093	8.16937E-4	0.00137	5.92461E-4	8.37698E-4
636.44062	8.07242E-4	0.00124	8.48174E-4	8.37848E-4
636.57193	7.9981E-4	0.00128	9.07182E-4	8.48164E-4
636.70324	7.81409E-4	0.00126	0.00163	8.18897E-4
636.83454	7.76166E-4	0.00125	0.00106	7.73543E-4
636.96583	7.70915E-4	0.00115	0.00134	7.76074E-4
637.09713	7.65874E-4	0.00103	0.00208	8.06674E-4
637.22841	7.52808E-4	0.00108	0.00195	7.68511E-4
637.35969	7.51123E-4	0.0011	0.00126	7.86388E-4
637.49097	7.46963E-4	0.0011	0	7.43644E-4
637.62224	7.37828E-4	0.00118	8.85463E-4	7.52187E-4
637.7535	7.26216E-4	0.00116	0.00115	7.16577E-4
637.88476	7.23042E-4	0.00108	0.0013	7.33182E-4
638.01601	7.08989E-4	0.00111	0.00139	7.20611E-4
638.14726	7.07024E-4	0.001	0.00121	7.07502E-4
638.27851	6.9364E-4	0.00117	4.32517E-4	7.01495E-4
638.40974	6.95505E-4	0.00106	9.44581E-4	6.78831E-4
638.54098	6.90518E-4	0.00108	2.74564E-4	6.74829E-4
638.67221	6.79245E-4	0.00108	7.85599E-4	6.74763E-4
638.80343	6.73727E-4	0.00115	2.33953E-4	7.18724E-4
638.93465	6.67775E-4	0.00115	0.00128	7.06768E-4
639.06586	6.63038E-4	0.00106	6.48076E-4	7.03272E-4
639.19707	6.58382E-4	0.00115	0	6.96703E-4
639.32827	6.54227E-4	0.00105	8.22341E-4	6.74198E-4
639.45947	6.48604E-4	0.00117	0.00164	6.60223E-4
639.59066	6.40319E-4	0.0012	0.00107	6.55132E-4
639.72184	6.36876E-4	0.00109	6.62249E-4	6.68508E-4
639.85303	6.35665E-4	0.00102	8.37152E-4	6.5495E-4
639.9842	6.36355E-4	0.00101	9.64637E-4	6.38579E-4
640.11537	6.27521E-4	0.00106	2.22129E-4	6.23278E-4
640.24654	6.20684E-4	0.00107	3.81586E-4	6.13157E-4
640.3777	6.17128E-4	0.00102	0.00137	6.45788E-4
640.50885	6.08346E-4	0.00117	0	6.41727E-4

## SI References

- [1] A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, *Environ. Microbiol.* **2014**, *16*, 255-264.
- [2] B. Jahn, A. Pol, H. Lumpe, T. R. M. Barends, A. Dietl, C. Hogendoorn, H. J. M. Op den Camp, L. J. Daumann, *ChemBioChem* **2018**, *19*, 1147-1153.
- [3] a) S. M. Gutenthaler, M. T. Phi, H. Singer, L. J. Daumann, in *Methods Enzymol.*, Vol. 650 (Ed.: J. A. Cotruvo), Academic Press, **2021**, pp. 57-79; b) B. Jahn, N. S. W. Jonasson, H. Hu, H. Singer, A. Pol, N. M. Good, H. den Camp, N. C. Martinez-Gomez, L. J. Daumann, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, *25*, 199-212.
- [4] a) R. Bro, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1997**, *38*, 149-171; b) B. Drobot, A. Bauer, R. Steudtner, S. Tsushima, F. Bok, M. Patzschke, J. Raff, V. Brendler, *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 3548-3555; c) C. Andersson, R. Bro, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2000**, *52*, 1-4.
- [5] A. Pol, K. Heijmans, H. R. Harhangi, D. Tedesco, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, *Nature* **2007**, *450*, 874-878.
- [6] a) C. J. Marx, L. Chistoserdova, M. E. Lidstrom, *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 7160-7168; b) H. N. Vu, G. A. Subuyuj, S. Vijayakumar, N. M. Good, N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, *J. Bacteriol.* **2016**, *198*, 1250-1259.
- [7] N. F. Delaney, M. E. Kaczmarek, L. M. Ward, P. K. Swanson, M.-C. Lee, C. J. Marx, *PLoS One* **2013**, *8*, e62957.
- [8] T. Kimura, G. R. Choppin, Y. Kato, Z. Yoshida, *Radiochim. Acta* **1996**, *72*, 61-64.
- [9] a) K. R. Murphy, C. A. Stedmon, D. Graeber, R. Bro, *Anal. Methods* **2013**, *5*, 6557-6566; b) T. Saito, H. Sao, K. Ishida, N. Aoyagi, T. Kimura, S. Nagasaki, S. Tanaka, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 5055-5060.
- [10] a) J. I. Kim, R. Klenze, H. Wimmer, W. Runde, W. Hauser, *J. Alloys Compd.* **1994**, *213-214*, 333-340; b) C. Wilke, A. Barkleit, T. Stumpf, A. Ikeda-Ohno, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *175*, 248-258; c) B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff, S. Tsushima, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21*, 21213-21222.
- [11] T. Fanghänel, J. I. Kim, R. Klenze, Y. Kato, *J. Alloys Compd.* **1995**, *225*, 308-311.
- [12] N. A. Danaf, J. Kretzschmar, B. Jahn, H. Singer, A. Pol, H. J. M. Op den Camp, R. Steudtner, D. C. Lamb, B. Drobot, L. J. Daumann, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2022**, *24*, 15397-15405.
- [13] M. C. F. van Teeseling, A. Pol, H. R. Harhangi, S. van der Zwart, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, L. van Niftrik, H. L. Drake, *Appl. Environ. Microbiol.* **2014**, *80*, 6782-6791.
- [14] S. Kuke, B. Marmodée, S. Eidner, U. Schilde, M. U. Kumke, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2010**, *75*, 1333-1340.
- [15] a) E. Hartmann, B. Brendebach, R. Polly, H. Geckeis, T. Stumpf, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *353*, 562-568; b) X. Tan, M. Fang, X. Wang, *Molecules* **2010**, *15*, 8431-8468.
- [16] C. Cano-Raya, M. D. Fernández Ramos, L. F. Capitán Vallvey, O. S. Wolfbeis, M. Schäferling, *Appl. Spectrosc.* **2005**, *59*, 1209-1216.

### 3.3 Bio-Recovery of f-Block Elements with the Bacterial Strain SolV

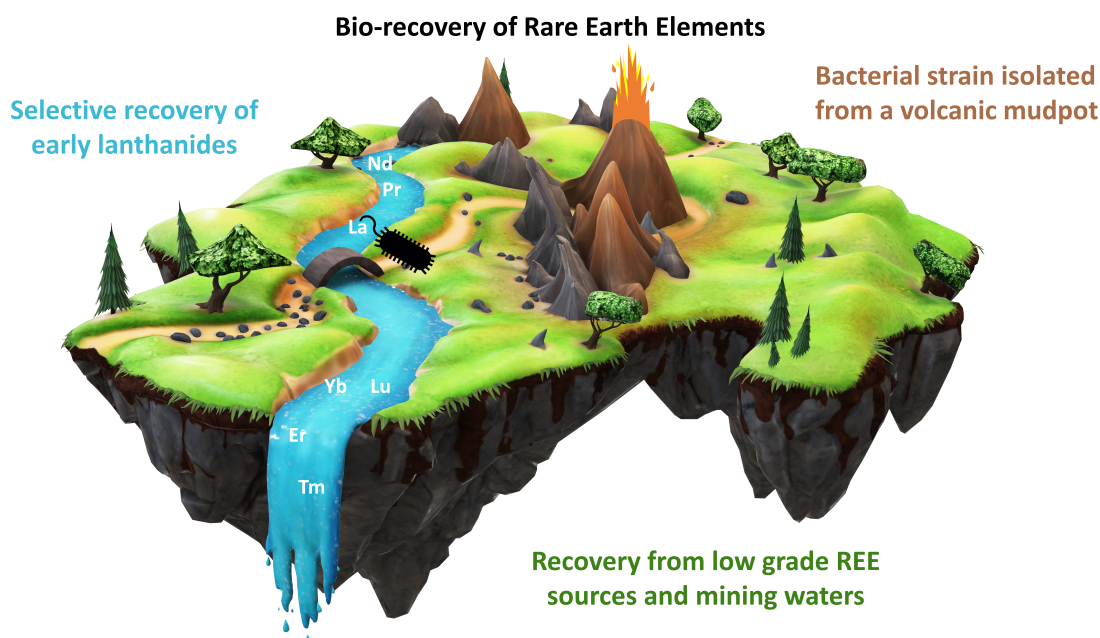


Figure 3.3: Graphical abstract of publication 3

**Publication 3: Learning from Nature: Recovery of rare earth elements by the extremophilic bacterium *Methylophilum fumariolicum***

Helena Singer, Robin Steudtner, Ignacio Sottorff, Björn Drobot, Arjan Pol, Huub J. M. Op den Camp, Lena J. Daumann

*Chem. Comm.* **2023**, 59 (59), 9066-9069.

DOI: 10.1039/D3CC01341C (Paper), DOI: 10.1039/D3CC90244G (Front Cover)

**Summary:** The extremophilic bacterial strain *Methylophilum fumariolicum* is presented as a biological platform for the recovery of REEs from a variety of natural and artificial REE sources as well as industrial post-mining and surface flooding waters with low REE concentrations. ICP-MS analysis before and after cultivation with the Ln-dependent bacterial strain revealed a selective uptake of light Lns, and upscaling as well as cyclic replicability were implemented for paving the way towards industrial application.

**Contribution:** LJD, HS and RS conceptualized the idea and wrote the initial draft of this manuscript, LJD acquired funding for this project, all authors developed the methodology



and were involved in review and editing of this manuscript. Strain SolV was provided by AP and HOdC. Growth studies and ICP-MS measurements were conducted by HS and RS, ICP-OES results were obtained by HS. HS and IS constructed the bioreactor. LJD, RS and BD provided the necessary resources and infrastructure for this work.

**Copyright:** This was published as an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License.

# ChemComm

Chemical Communications

rsc.li/chemcomm



ISSN 1359-7345

**COMMUNICATION**

Lena J. Daumann *et al.*

Learning from nature: recovery of rare earth elements by the extremophilic bacterium *Methylococcus fumariolicum*


 Cite this: *Chem. Commun.*, 2023, 59, 9066

 Received 18th March 2023,  
Accepted 31st May 2023

DOI: 10.1039/d3cc01341c

rsc.li/chemcomm

## Learning from nature: recovery of rare earth elements by the extremophilic bacterium *Methylacidiphilum fumarolicum*†

 Helena Singer,<sup>a</sup> Robin Steudtner,<sup>ib</sup> Ignacio Sottorff,<sup>a</sup> Björn Drobot,<sup>ib</sup> Arjan Pol,<sup>c</sup> Huub J. M. Op den Camp<sup>ib</sup> and Lena J. Daumann<sup>ib</sup>\*<sup>a</sup>

**We present the extremophilic bacterium *Methylacidiphilum fumarolicum* SolV as a platform for the recovery of rare earth elements (REE). Strain SolV is able to selectively extract the light REE from artificial industrial waste sources, natural REE-containing and post-mining waters. Upscaling, different media composition and accumulation over several cycles were successfully implemented, underlining the potential for bio-recovery of REE.**

Modern life without rare earth elements (REE) can hardly be imagined today. The elements Sc, Y, La and the following 14 lanthanides (Ln) Ce to Lu have made their way into every aspect of our lives. REE are mainly obtained from primary sources such as the ore bastnaesite which also releases the radioactive elements thorium and uranium as by-products.<sup>1</sup> Secondary sources are hardly used to recycle REE (less than 2%) despite their large potential,<sup>2,3</sup> focusing end-of-life products (EOL)<sup>4,5</sup> such as fluorescent lamps,<sup>6</sup> or industrial by-products and residues like mining waters.<sup>7,8</sup> REE are crucial for new energy technologies, however their mining and refining poses environmental problems, since these processes are energy and material consuming. So, it appears indispensable to develop ecologically and economically compatible methods to recycle REE to extend the life cycle and reduce the environmental footprint of these elements.<sup>9</sup> Nowadays, recovery of REE from EOL is based on hydro- and pyrometallurgical strategies, electrochemical treatments, biometallurgical technologies, nanomaterials, siderophores as chelators, and physical methods.<sup>4,10</sup> All of them have in common that they have to face complex mixtures with non-REE in combination with low REE amounts.<sup>10</sup>

Not only mankind relies on REE, but in nature bacteria can be found that use these elements for their metabolism such as the methanotroph *Methylacidiphilum fumarolicum* SolV<sup>11</sup> or *Methylorubrum extorquens* AM1.<sup>12</sup> While strain SolV is strictly dependent on Ln, strain AM1 is able to switch between a Ln and Ca-based pathway.<sup>12</sup> Ongoing, proteins are identified which include the essential lanthanides (Ln) as Lewis acid in the active site (methanol dehydrogenase XoxF)<sup>13,14</sup> or can bind them such as LanModulin<sup>15–17</sup> or LanPepsy.<sup>18</sup> As a consequence, these biological systems have evolved a highly-efficient, selective Ln-uptake machinery that can be used to develop alternative approaches for bio-recovery of REE.<sup>19</sup> Connecting hydrometallurgy and biochemistry was already shown for various metals, mainly focusing on d-block elements.<sup>20,21</sup> Recently, copper-binding peptides were functionalized onto the surface of fungal mycelia,<sup>22</sup> and microorganisms can be genetically engineered to bioaccumulate heavy metals.<sup>20</sup> In addition, the field of biosorption and accumulation for REE, using bacteria, fungi or algae is progressing.<sup>10,23,24</sup> High adsorption capacities of REE were lately discovered for 12 cyanobacterial strains.<sup>25</sup> The Ln-utilizing bacterium strain AM1 was genetically modified for a selective uptake of heavier Ln, such as Gd.<sup>26</sup>

For our studies, we used the native Ln-dependent strain SolV<sup>11</sup> to accumulate and enrich certain Ln from a variety of natural and artificial REE sources. As an extremophile, strain SolV needs high temperatures up to 60 °C and an acidic environment of pH 2–3 for optimal growth.<sup>11</sup> Since metal ions display a good solubility in acids (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub> or HCl), this is also used by various hydrometallurgical metal recovery strategies.<sup>10,27</sup> Consequentially, many industrial waste waters are in an acidic matrix, with a high concentration of other elements e.g. Mg, Ca, Sr, Se, As, Fe, Al, Hg and U.<sup>5</sup> Since strain SolV is strictly Ln-dependent, and can tolerate these conditions, it is an ideal candidate for recovering REE from different low-grade sources. It has been previously shown that especially larger Ln such as La enhance growth of strain SolV, and in this regard, it is also interesting to examine the system for potential selectivity.<sup>11,14</sup> To ensure a complex mixture of elements with

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Ludwig-Maximilians-University Munich, 81377 München, Germany. E-mail: lena.daumann@lmu.de

<sup>b</sup> Institute of Resource Ecology, Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e.V., 01328 Dresden, Germany

<sup>c</sup> Department of Microbiology, Research Institute for Biological and Environmental Sciences, Radboud University Nijmegen, 6525 AJ Nijmegen, The Netherlands

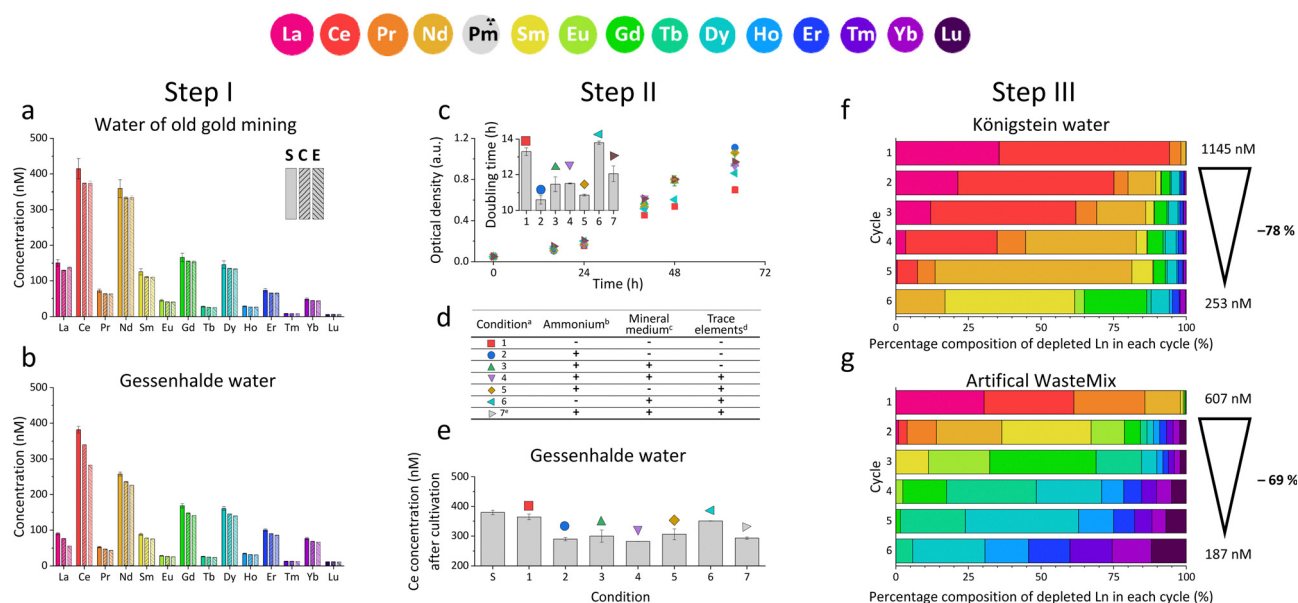
 † Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: <https://doi.org/10.1039/d3cc01341c>



high composition variability, we tested various REE sources – ranging from flooding waters, mining leachates, primary sources and EOL industrial waste (ESI† 1.1). Königstein and Gessenhalde water are redevelopment surface flooding waters from former uranium ore mining by sulfuric acid leaching. Other low-grade sources discussed and tested are post-mining waters, more specifically industrial decomposition waters from leaching of different ores (zinc blende, Li mica, quartz) which contain REE in low concentrations as by-products. To include a primary source with a high REE concentration in contrast, two digestion samples of bastnaesite were added. Finally, an industrial sample of an EOL product was screened. To analyse the potential of the bacterial strain SolV to selectively deplete REE from the different sources, ICP-MS analysis of the supernatants as well as of the bacterial cells were performed. Growth was monitored through optical density measurement at 600 nm ( $OD_{600}$ ). The amount of REE depleted by strain SolV, growth curves and thereof calculated doubling times helped us to understand how strain SolV can be used as bio-recovery system for Ln from a small-scale approach (Step I), to optimization (Step II and III) to larger-scale application (Step IV).

We initially investigated, whether SolV showed depletion of REE in the 10 different REE sources (ESI† Table S1, Fig. S20, S21, Step I). We analysed the REE concentration in the supernatant before (S) and after cultivation (E) with strain SolV as well as in the control (C) without added biomass to investigate precipitation formation that could hamper with the  $OD_{600}$  readout (Fig. 1a, b and Fig. S1, ESI†), in combination with

$OD_{600}$  measurements to monitor the bacterial growth (Fig. S2, ESI†). Fig. 1a shows the amount of REE in waste water from an old gold mine, where the Ln concentration does not significantly decrease in the presence of strain SolV. The slight reduction observed is comparable to the control which it is due to precipitate formation by the complex media matrix. Similar observations were made for Lithium mica (with strong precipitate formation in the control), water of ore leaching, and quartz leaching. In these samples some metal ions may be in too high concentration and thus toxic (e.g. As, Cr, Table S1, ESI†). In contrast, a significant decrease of the Ln amount in the presence of strain SolV was observed in the water coming from Königstein, Gessenhalde (Fig. 1b) and EOL waste. Leaching of zinc blende also showed a decrease of Ln concentration in the medium, but strong precipitate formation was present in the strain SolV and control, which hampered  $OD_{600}$  readout for growth experiments. Bastnaesite samples did not show a clear reduction of REE during the course of a three-day cultivation, very likely due to the high REE concentration (around 10  $\mu\text{M}$ ). As bacterial growth was observed, this REE source was investigated further in a diluted fashion. To confirm that depletion of Ln is selective within the series and over other elements and due to active uptake of Ln by SolV (and not a result of simple cell-wall adsorption), a control experiment without  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$  was conducted (including a measurement of all elements present). Without these gases, SolV cells are alive and intact but not growing. Fig. S3–S6 (ESI†) show that from a bastnaesite solution only P, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn and La/Ce concentrations



**Fig. 1** ICP-MS analysis of the Ln concentration in (a) water of an old gold mine and (b) Gessenhalde water supernatant after strain SolV was removed. All tested REE-containing solutions before (S) and after (E) cultivation with strain SolV, including a control without bacteria (C). (c) Growth behaviour of strain SolV measured as increase in  $OD_{600}$  and calculated growth rates (small bar chart) with Gessenhalde water and (e) Ce concentration in the supernatant in the beginning (S) and after cultivation (1–7) under (d) different media compositions 1–7. + was added; – was not added; <sup>a</sup> pH adjusted to 2.7 with  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and 10%  $\text{CH}_4$  and 5%  $\text{CO}_2$  added; <sup>b</sup>  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; <sup>c</sup>  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ; <sup>d</sup>  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ; <sup>e</sup> Medium autoclaved with all components. Depletion of different Ln in % by strain SolV in (f) Königstein water and (g) artificial WasteMix over 6 cycles of cultivation. Biomass was removed by centrifugation, and then fresh SolV biomass was added. Outline on the right shows the total Ln concentration after the 6 cycles, including total values and percentage. The bars display only the fraction of depleted Ln and their composition in each individual cycle.

are decreasing when SolV is actively growing. More importantly, other metals such as U or Pb are not taken up.

Based on the results of the first screening for potential candidates, we tested different media compositions (omitting/limiting N-source, salts for buffering, and metals for cofactors) to optimize the growth and Ln uptake by strain SolV (Step II). Ammonium (nitrogen source),<sup>28</sup> mineral medium (MM, minimal salts without additional nutritional supplements, mainly for buffering) and trace element solution (TE, providing cofactors for essential enzymes) were added to Gessenhalde and Königstein water in seven different combinations (Fig. 1d). The required gas supply, consistent of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> was indispensable for growth of the methanotrophic strain SolV, and therefore couldn't be omitted. CO<sub>2</sub> is required for the carbon fixation pathway,<sup>29</sup> while CH<sub>4</sub> is an energy source, as it is first oxidized by methane monooxygenases to methanol, and finally to CO<sub>2</sub>.<sup>30</sup> Fig. 1c shows the growth curves of strain SolV in Gessenhalde water under varying conditions, and calculated doubling times, which both indicated a reduced and limited growth behavior under condition 1 and 6 compared to the other tested medium compositions. This was also supported by the ICP-MS analysis (Fig. 1c), shown here with Ce (other elements in Fig. S7, ESI†). Under condition 1 and 6, almost no Ce was depleted by strain SolV within one incubation cycle whereas under better conditions 2–5 and 7 up to 25% of the initial Ce was removed. Similar observations were made for Königstein water (Fig. S8, S9, ESI†), EOL waste and bastnaesite samples (Fig. S10, condition 1,2,7, ESI†). Thus, ammonium, acting as a nitrogen source for growth, is the most crucial part of the media composition. It was shown that strain SolV is able to replace ammonium with atmospheric N<sub>2</sub> (under reduced oxygen concentrations <0.5%), however, a 2.8 times slower growth was observed,<sup>31</sup> which could also explain the higher doubling times, and reduced Ln depletion from the growth medium observed, when no ammonium was added. The addition of the components TE and MM was not necessary, as the ICP-MS/OES analyses revealed a sufficiently high concentration of these elements in the waste waters themselves. These results are particularly important for a potential industrial application, where processes with the least amount of (potentially costly) additives are economically feasible. Thus, recovery in a process that can be repeated the same way several times to remove the maximum amount of Ln from a single sample would be beneficial. Consequentially, we tested whether SolV bacteria can be added for several cycles to REE sources until maximum OD<sub>600</sub> was reached. The experimental setup was upscaled from 10 mL in Step I and II to a volume of 50 mL and the accumulation process was run up to six 72 h cycles while the biomass was removed by centrifugation after every cycle, and fresh bacterial cells were added for standardization of all samples (Step III). However, it is also possible to use the harvested biomass for starting a new growth cycle. Independent of the used REE source, the multi-cycle upscaling experiment (Step III) revealed that about 70% of the initial Ln amount was removed from the sources by strain SolV constantly in the 6 cycles (Fig. 1e, f and Fig. S11–15, ESI†). By ongoing cycling, it seems achievable to

deplete 100% of the Ln. Matching, the depleted Ln can be found in the lyophilized and subsequently disrupted cell pellet (Fig. 2b). Particularly noteworthy is that Ln are not removed randomly by strain SolV, but a clear trend is present, showing a selective uptake of Ln. First, the light Ln are completely removed, then the heavier Ln are depleted from the source. We already showed that when strain SolV is presented to equal amounts of Ln and selected actinides, the strain will deplete preferentially the light Ln over the heavier ones.<sup>11,14</sup> We proposed that this is mainly based on the size of these elements. While Ln have very similar coordination and chemical properties, they display a decreasing size with increasing atomic number along the series (Ln contraction). In addition, we assume that strain SolV evolved for a preferential uptake of the more abundant Ln, which are the larger ones in the series. Despite the versatile REE source composition, a trend for light Ln-preference is clearly observed. Following the up-scaling experiments, we performed a large-scale approach in a self-constructed batch reactor system with a continuous gas feeding to outline a possible industrial approach. 3.7 liters of Königstein water were mixed with medium, and bacterial cells of strain SolV were added to start the cultivation while a continuous supply of air, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> was provided. Samples for OD<sub>600</sub> measurements were collected at different time intervals (Fig. 3a), and supernatant samples from selected time points were analysed with ICP-MS, as well as the final biomass. As expected, a clear decrease in the total Ln concentration (Fig. 3b) occurred as the cultivation progressed, and again the light Ln were depleted first. In total, 47.4% of present Ln were removed from Königstein water by strain SolV, however, here a maximum in bacterial growth seemed to be reached due to flattening of the OD<sub>600</sub> values around 20. For further uptake of Ln, biomass might be removed while the supernatant should be fed to the bioreactor again. In total, 15 g of lyophilized bacterial cells were obtained from 3.7 L of medium, with mainly incorporated La, Ce, Pr and Nd (Fig. S18 and S19, ESI†), while within the cycling experiments around 50–70 mg of lyophilized biomass were obtained over 6 cycles with 50 mL of medium. A direct comparison to the cyclic experiments (Step III) is not possible, since different limiting

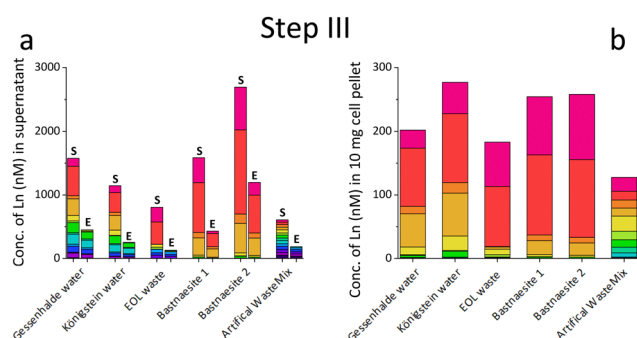


Fig. 2 (a) Concentration of Ln in different REE sources before (S) and after six cycles of cultivation (E) with strain SolV. (b) Concentration of Ln in 10 mg of the collected disrupted bacterial cell pellet (lyophilized and acidic microwave treatment), resuspended in 15 mL of MilliQ water, to enable a direct comparison between the different REE biomasses in the same unit (nM).

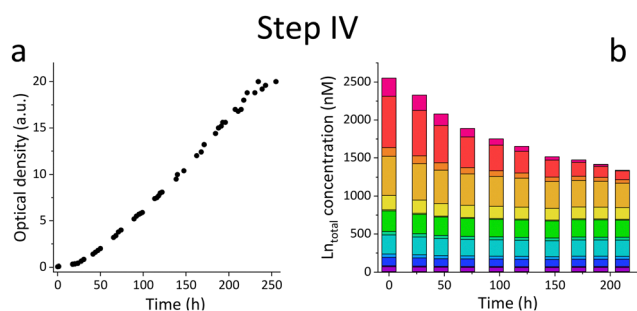


Fig. 3 (a) Growth of strain SolV in Königstein water performed in 3.7 L bioreactor displayed with  $OD_{600}$  measurements. (b) ICP-MS analysis of the total Ln concentration in the supernatant with ongoing cultivation time.

factors apply to a closed system such as bottles compared to a continuous gas-flow system. However, it was shown that under both setups, there is a significant as well as a selective removal of Ln from the REE sources by strain SolV.

The reported results are promising, the extremophilic strain *Methylococcoides burtonii* can be used to recover REE from a variety of low-grade sources. Other present elements play a subordinate role, since strain SolV shows sufficient growth even under minimal conditions, in combination with an acidic pH and high temperatures. Even the presence of toxic heavy metals such as Th and U in non-negligible concentrations did not impair the growth of strain SolV. Only the addition of ammonium,  $CH_4$ ,  $O_2$  and  $CO_2$  are essential for sufficient bacterial growth and Ln uptake. Also, the flexible procedure, as small-scale-, up-scale cycling, or large-scale approach shows the promising potential application. By carefully adjusting the REE concentration in the system, it is possible to control which Ln are absorbed at which time. At high concentrations ( $\mu M$  range), mainly the light ones are depleted, whereas at low concentrations (up to 100 nM), the heavier ones can also be removed in selected fractions. This study shows that using bacteria for the recovery of Ln hold great potential, since already existing biological systems which evolved for a selective Ln uptake can be used to pave new ways for, ultimately, the recycling of critical elements.

The authors are grateful to the Wismut GmbH, G. E. O. S. GmbH, Amberger Kaolinwerke GmbH and to the Applied Geology and Microbiology groups of Friedrich Schiller University Jena for the post-mining waters. We thank Falk Lehmann and Dr Manja Vogel for kindly providing EOL and bastnaesite samples. LJD greatly acknowledges the ERC Starting Grant Lanthanophor (945846), BD thanks the PepTight Projekt (BMBF 031B1122).

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## References

- 1 P. Fröhlich, T. Lorenz, G. Martin, B. Brett and M. Bertau, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2017, **56**, 2544–2580.
- 2 A. B. Patil, V. Paetzl, R. P. W. J. Struis and C. Ludwig, *Separations*, 2022, **9**, 56.
- 3 K. Binnemans, P. McGuinness and P. T. Jones, *Nat. Rev. Mater.*, 2021, **6**, 459–461.
- 4 C. Ramprasad, W. Gwenzi, N. Chaukura, N. Izyan Wan Azelee, A. Upamali Rajapaksha, M. Naushad and S. Rangabhashiyam, *Chem. Eng. J.*, 2022, **442**, 135992.
- 5 R. K. Jyothi, T. Thenepalli, J. W. Ahn, P. K. Parhi, K. W. Chung and J.-Y. Lee, *J. Clean. Prod.*, 2020, **267**, 122048.
- 6 C. Tunsu, M. Petranikova, C. Ekberg and T. Retegan, *Sep. Purif. Technol.*, 2016, **161**, 172–186.
- 7 M. Hermassi, M. Granados, C. Valderrama, C. Ayora and J. L. Cortina, *Sci. Total Environ.*, 2022, **810**, 152258.
- 8 S. Costis, K. K. Mueller, L. Coudert, C. M. Neculita, N. Reynier and J.-F. Blais, *J. Geochem. Explor.*, 2021, **221**, 106699.
- 9 P. S. Arshi, E. Vahidi and F. Zhao, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2018, **6**, 3311–3320.
- 10 T. G. Ambaye, M. Vaccari, F. D. Castro, S. Prasad and S. Rtimi, *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2020, **27**, 36052–36074.
- 11 A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *Environ. Microbiol.*, 2014, **16**, 255–264.
- 12 H. N. Vu, G. A. Subuyuj, S. Vijayakumar, N. M. Good, N. C. Martinez-Gomez and E. Skovran, *J. Bacteriol.*, 2016, **198**, 1250–1259.
- 13 H. Lumpe, A. Pol, H. J. M. Op den Camp and L. J. Daumann, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 10463–10472.
- 14 H. Singer, R. Steudtner, A. S. Klein, C. Rulofs, C. Zeymer, B. Drobot, A. Pol, N. C. Martinez-Gomez, H. J. M. Op den Camp and L. J. Daumann, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2023, e202303669.
- 15 G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, D. M. Park, D. W. Reed, J. A. Cotruvo and Y. Jiao, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 11855–11867.
- 16 H. Singer, B. Drobot, C. Zeymer, R. Steudtner and L. J. Daumann, *Chem. Sci.*, 2021, **12**, 15581–15587.
- 17 C.-E. Wegner, M. Westermann, F. Steiniger, L. Gorniak, R. Budhraj, L. Adrian and K. Küsel, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2021, **87**, e03144–03120.
- 18 J. L. Hemmann, P. Keller, L. Hemmerle, T. Vonderach, A. M. Ochsner, M. Bortfeld-Miller, D. Gunther and J. A. Vorholt, *J. Biol. Chem.*, 2023, **299**, 102940.
- 19 Z. Dong, J. A. Mattocks, G. J. Deblonde, D. Hu, Y. Jiao, J. A. Cotruvo, Jr. and D. M. Park, *ACS Cent. Sci.*, 2021, **7**, 1798–1808.
- 20 P. Diep, R. Mahadevan and A. F. Yakunin, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2018, **6**, 157.
- 21 M. J. Capeness and L. E. Horsfall, *Biochem. Soc. Trans.*, 2020, **48**, 1367–1378.
- 22 J. Urbina, A. Patil, K. Fujishima, I. G. Paulino-Lima, C. Saltikov and L. J. Rothschild, *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 16422.
- 23 F. Barmettler, C. Castelberg, C. Fabbri and H. Brandl, *AIMS Microbiol.*, 2016, **2**, 190–204.
- 24 R. M. Brown, A. Mirkouei, D. Reed and V. Thompson, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 2023, **173**, 113099.
- 25 M. Paper, M. Koch, P. Jung, M. Lakatos, T. Nilges and T. B. Brück, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2023, **11**, 1130939.
- 26 N. M. Good, H. D. Lee, E. R. Hawker, M. Z. Su, A. A. Gilad and N. C. Martinez-Gomez, *Front. Microbiol.*, 2022, **13**, 820327.
- 27 E. O. Opare, E. Struhs and A. Mirkouei, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 2021, **143**, 110917.
- 28 S. S. Mohammadi, A. Pol, T. van Alen, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *Front. Microbiol.*, 2017, **8**, 1901.
- 29 A. F. Khadem, A. Pol, A. Wiczorek, S. S. Mohammadi, K.-J. Francoijs, H. G. Stunnenberg, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *J. Bacteriol.*, 2011, **193**, 4438–4446.
- 30 N. Picone, S. S. Mohammadi, A. C. Waajen, T. A. van Alen, M. S. M. Jetten, A. Pol and H. J. M. Op den Camp, *Front. Microbiol.*, 2020, **11**, 604485.
- 31 A. F. Khadem, A. Pol, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *Microbiology*, 2010, **156**, 1052–1059.

## Supporting Information for

### Learning from Nature: Recovery of rare earth elements by the extremophilic bacterium *Methylophilum fumariolicum*

Helena Singer, Robin Steudtner, Ignacio Sottorff, Björn Drobot, Arjan Pol, Huub J.M. Op den Camp and Lena J. Daumann

Correspondence to: Lena J. Daumann,

Email: lena.daumann@lmu.de

## **1. Materials and Methods**

### **1.1 Description of all tested REE sources**

#### **Königstein water**

Königstein flooding water was provided by the Wismut GmbH. The former uranium mine of the WISMUT GmbH near Königstein (Saxony, Germany) was one of the biggest uranium mines in Eastern-Germany. Here, uranium was leached from sandstone by using sulfuric acid. Since 2001, controlled flooding of the mine has been implemented for remediation purposes.<sup>1</sup> Due to the leaching process, the flooding water reveals a low pH of 2.9 and high concentrations of uranium (13 mg/L) as well as other heavy metals.<sup>2</sup>

#### **Gessenhalde water**

Gessenhalde water was provided by the Applied Geology and Microbiology groups of Friedrich Schiller University Jena as part of the BMBF supported USER2 project. The Gessenhalde is on the ground of a former leaching heap, a legacy of the uranium mining activity, close to Ronneburg and located between the villages Kauern and Grobsdorf (eastern Thuringia). Similar to the Königstein site, uranium was leached with sulfuric acid from waste rocks with low uranium amount, as well as with acid mine drainage. Seepage water samples were collected at the research test site Gessenwiese (in cooperation with Applied Geology and Microbiology groups of Friedrich Schiller University Jena, BMBF supported USER2 project). A more detailed description of the history, composition and speciation of the Gessenhalde water is available in the listed literature.<sup>3</sup>

#### **Post-mining waters**

The post mining-waters, including water of an old gold mine; leaching zincblende, Lithium mica, water of ore leaching and quartz leaching (Wendelscheider Schwergut) were available from ore and quartz industries. Various mining degradation products were digested in acid by the company G.E.O.S. We used the extraction supernatants for our recovery experiment. Wastewater of an old gold mine and ore leaching, leaching zincblende, Lithium mica were provided by G.E.O.S. GmbH, samples of quartz leaching (Wendelscheider Schwergut) by Amberger Kaolinwerke GmbH.

#### **Bastnaesite samples**

The rock sample was delivered from Thor Lake in Canada as a lump of rock, and was prepared by various crushing steps until a particle size of 45 µm was reached to perform the extraction for rare earth element (REE) chlorides based on Kruesi.<sup>4</sup> Both bastnaesite samples 1 and 2 are from the same extraction, but with sample 2 an additional step was performed to remove Pb.

#### **Artificial WasteMix**

Based on the measured inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) analysis of all the tested post-mining waters, it was recognized that all of the sources included Mg, Al, Ca, Fe, Cu and Zn in high concentration. Thereof, this artificial WasteMix was prepared, with the following concentration: 1 mM FeCl<sub>3</sub> · 5 H<sub>2</sub>O and CuCl<sub>2</sub>; 100 µM MgCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, AlCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O, ScCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, ZnCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O, YCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 µM of all LnCl<sub>3</sub> · x H<sub>2</sub>O (Lanthanides, Ln) except Pm.



## 1.2 Cultivation of *Methylophilum thermophilum* SolV

The bacterial methanotrophic strain SolV was originally isolated from a volcanic mudpot within the Solfatara crater in Italy.<sup>5</sup> Cultivation was performed with a slightly modified procedure as described by Pol and coworkers<sup>6</sup> and is similar for the small-scale experiments with a procedure described already by our group.<sup>7</sup> All experiments of Step I to Step III were performed in polypropylene plastic flasks (100 mL for Step I and II, 500 mL for Step III) sealed with bromobutyl rubber stoppers, while for Step IV a self-constructed 3.7 L bioreactor made out of glass was used.

For the cultivation experiments shown in Step I (small-scale), 10 mL of autoclaved medium (exact composition in Tab. S2) were mixed with the sterile filtered REE sources (detailed amount in the figure captions). A pre-culture grown with 100 nM La<sup>3+</sup> was added for inoculation to an OD<sub>600</sub> of 0.06 at t = 0 h. Incubation was performed in 100 mL plastic flasks under a gas atmosphere of 85 % air, 10 % CH<sub>4</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> (added with a canula, Ø 0.40 mm, and a syringe) at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm for three days. In addition, samples with Bastnaesite 1 were prepared, without the addition of strain SolV and additional gases (no SolV, no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>), with biomass but without gases (SolV, no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>), and with strain SolV and gases (SolV, + CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>).

For the different medium compositions used for screening (Step II, Tab. 1), all individual components were added, including the different REE sources, and the volume was filled up to 10 mL with MilliQ water for each sample. pH was adjusted to 2.7 with 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Inoculation and incubation were performed as described in Step I for 64 hours. For the scaling-up cyclic experiments (Step III), 50 mL medium including the REE sources were added to 500 mL plastic flasks. Inoculation and incubation were done as already mentioned, and after 3 days of incubation, the bottles were opened, and the biomass was removed by centrifugation for 30 min at 7200 x g. The plastic flasks including the stoppers were rinsed three times with MilliQ water, and then the supernatant was added, including fresh bacterial cells (OD<sub>600</sub> = 0.06; pre-grown with 100 nM La<sup>3+</sup>). The bottles were crimped again, gas was inserted, and incubation was performed again. In total, 6 cycles were carried out. A similar procedure was also performed for the control samples without biomass including the centrifugation step to check for a possible precipitate formation due to versatile medium composition.

The large-scale experiment (Step IV) with Königstein water was performed in the self-constructed bioreactor (Fig. S16, S17). To remove remaining REE traces from prior cultivations, the bioreactor was stirred at 55 °C with 2 M HCl for 3 days while air supply was still connected to the system. After disposal of the acid, the system was flushed once with MilliQ water, and then again run for one day with EtOH and connected air supply for elimination of unwanted biological material. Then, all parts (with direct contact to biomass) were autoclaved except of the cultivation vessel itself. For inoculation 300 mL of pre-grown SolV cells with 100 nM La<sup>3+</sup> with an OD<sub>600</sub> = 0.77 were used, but to transfer mainly the biomass without the medium, the cell pellet was collected by centrifugation for 20 min at 4000 x g and resuspended in the lowest possible volume. 3.7 L of autoclaved and sterile filtered medium including the Königstein water were poured in the bioreactor, and biomass was added until an OD<sub>600</sub> of 0.07 was reached. Constant temperature of 55 °C during the cultivation was controlled with an external heating system in combination with an inbuilt heating jacket in the bioreactor itself. Mixing of the solution was enabled with a dumbbell-shaped magnetic

stirring bar to reduce shear stress to the cells, and speed of 500 rpm was set. Gas flow of air was adjusted to 1000 mL/min, while for CH<sub>4</sub> 750 mL/min and CO<sub>2</sub> 600 mL/min were regulated with needle valves. The gas and the air supply were connected with tygon tubing from pressure regulators (installed directly to the gas bottles) to the bioreactor inlets, and to ensure sterility of incoming gases, syringe filter units (PES membrane, 0.2 µm) were installed. Inside the bioreactor, the gas inlets were connected with silicon tubing (autoclavable) and gas diffusion stones to ensure the formation of small bubbles for a better solubility of the gases in the growth medium. To prevent the evaporation of medium at such a high gas flows in combination with a temperature of 55 °C, inverted reflux condensers were installed in the gas outlet (outcoming gas connected in spiral, ascending turns, while the outer part was constantly cooled), and temperature of the cooling water was set to 5 °C. To visibly check if any evaporation occurred, an impinger was additionally added to the gas outlet, however no liquid was poured into the bottle. The cultivation was performed for 250 hours, and samples of biomass were collected in regular time intervals via the sampling port.

### **1.3 Optical density measurements**

For collection of the samples during the growth studies (Step II), biomass was collected with a syringe and canula through the butyl stoppers. For Step I & III samples, bottles were opened at the end of the cultivation. Samples of Step IV were collected at regular time intervals via the sampling port. Optical density at 600 nm (OD<sub>600</sub>) was measured with a cell density meter (Fisherbrand™ cell density meter model 40, Fisher Scientific, Waltham, USA) in combination with PMMA semi-micro cuvettes. When necessary, samples were diluted 1:10 – 1:40 to enable a precise measurement. The OD<sub>600</sub> value shown for all measurements is the mean value over 5 measurements of one sample.

### **1.4 Preparation for ICP-MS analysis**

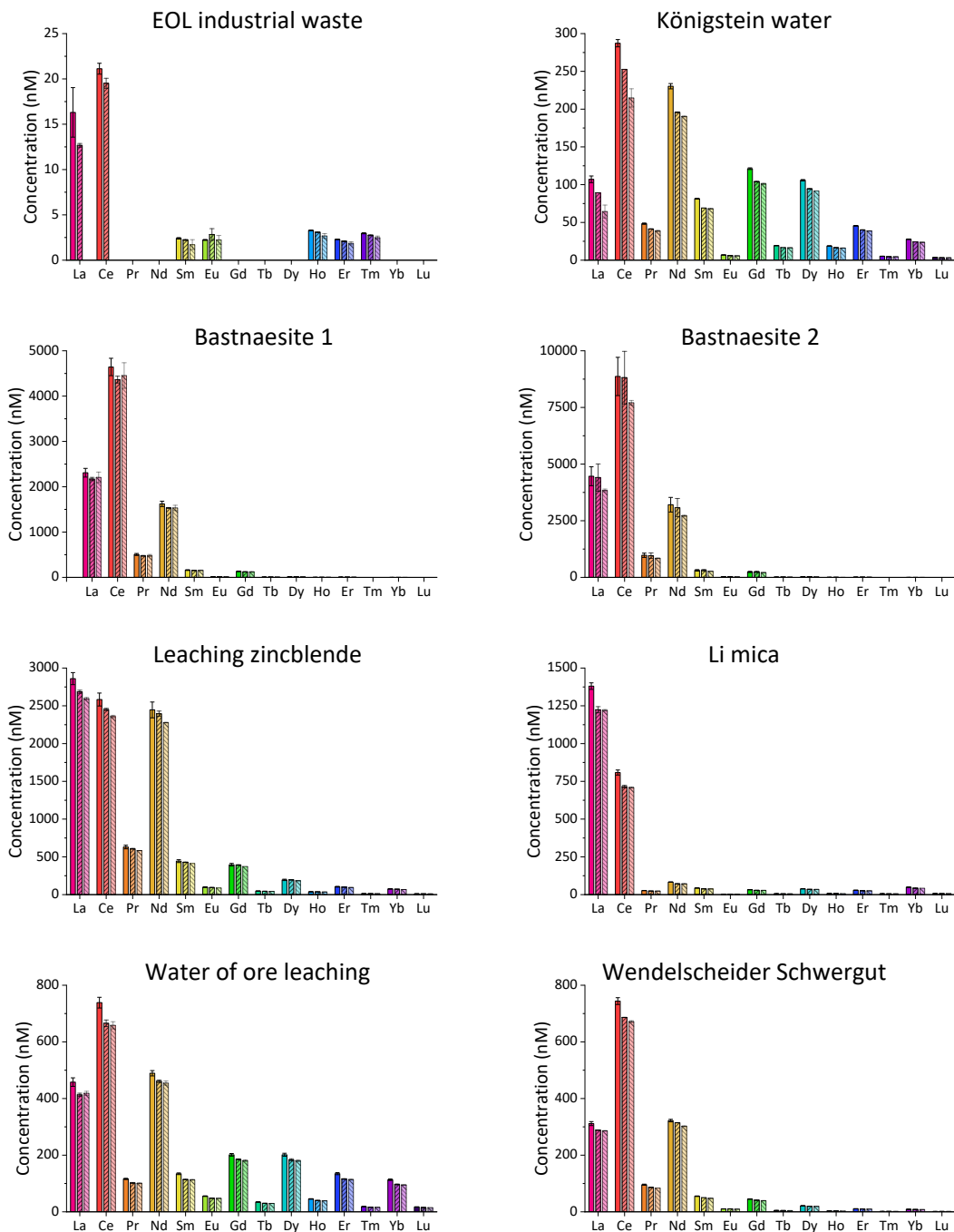
To separate biomass and supernatant, the samples were centrifuged for 30 min at 14 000 x g. 500 µL of the supernatant were acidified with 5 µL 65 % HNO<sub>3</sub>. For Ln concentration determination in the cell pellets in Step III, the biomass of all cycles was collected after each cycle and collected in a tube at RT. After the last cycle was finished, the remaining supernatant was removed by centrifugation at 7100 x g for 15 min, and the biomass was washed three times with 5 mL MilliQ water. The wash fractions were also collected and analyzed. The cell pellet was transferred, and lyophilized (alpha 1-2 LDplus lyophilizer, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Germany). Final mass after lyophilization: Königstein water 81.3 mg, Gessenhalde water 78.1 mg, Bastnaesite 1 70.6 mg, Bastnaesite 2 68.0 mg, Artificial WasteMix 61.7 mg, EOL waste 59.4 mg. For the microwave-assisted acid digestion, 10 mg of the cell pellet was transferred to a microwave vessel and mixed with 1000 µL 65 % HNO<sub>3</sub>. The digestion was performed in an Anton Paar Microwave 5000 (Graz, Austria) with the following steps: 5 min 180°C, 10 min 200°C, 15 min 220°C. After the procedure, the disrupted cell pellet solution was filled up to 15 mL with MilliQ water. No further acidification was necessary for the ICP-MS analysis. For the analysis of the biomass after the large-scale cultivation, similar procedure as described for Step III was carried out. 10 mL of the final biomass with OD<sub>600</sub> = 20.0 were used, and after the washing procedure and lyophilization, 53.7 mg of dry cells were obtained.

All samples were measured with ICP-MS (iCAP RQ, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA and NexION 350X ICP-MS, Perkin Elmer, Waltham, USA) to determine the concentration of the selected elements in the samples.

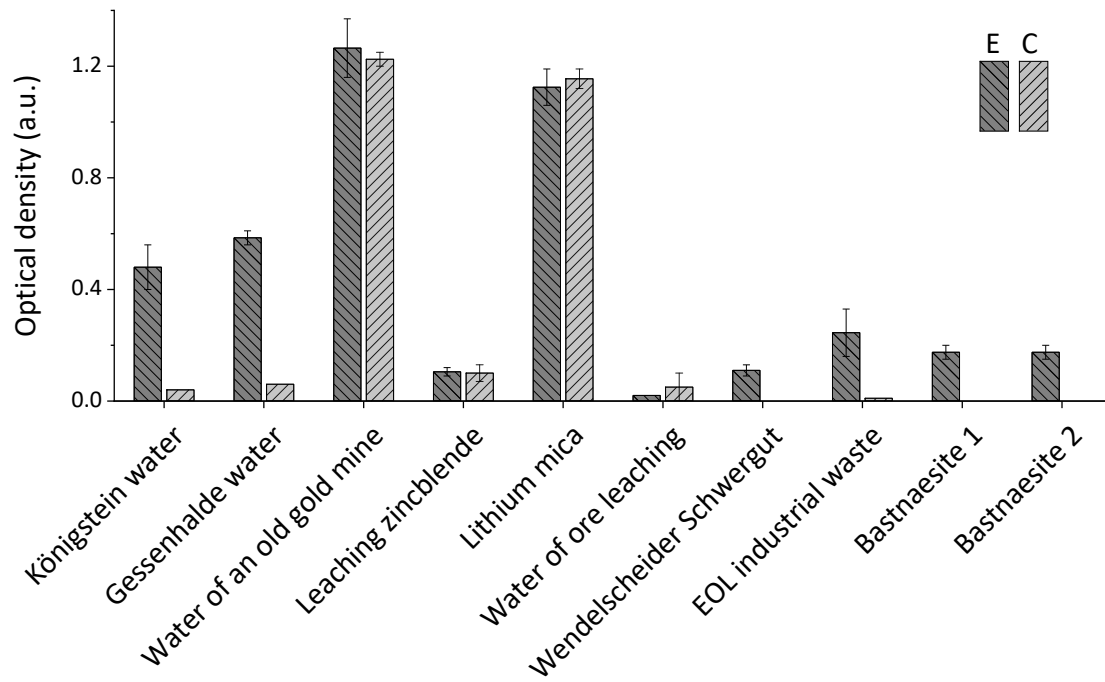
### **1.5 ICP-OES analysis**

For inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-OES) an Agilent ICP-OES 5800 instrument linked to an Agilent SPS4 autosampler was used (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The elemental composition of the different water samples was estimated by using the IntelliQuant mode with the following settings: pump speed: 12 rpm, uptake delay: 25 s, rinse time: 60 s, RF power: 1.2 kW, stabilisation time: 20 s, viewing mode: axial, nebuliser flow 0.7 L/min, plasma flow: 12 L/min, aux flow 1 L/min. All samples were sterile filtered (0.2 µM PES), and all REE sources were measured directly. Only samples of bastnaesite and EOL were diluted 1:5 with MilliQ water. Values were obtained in mg/L.

## 2. Figures

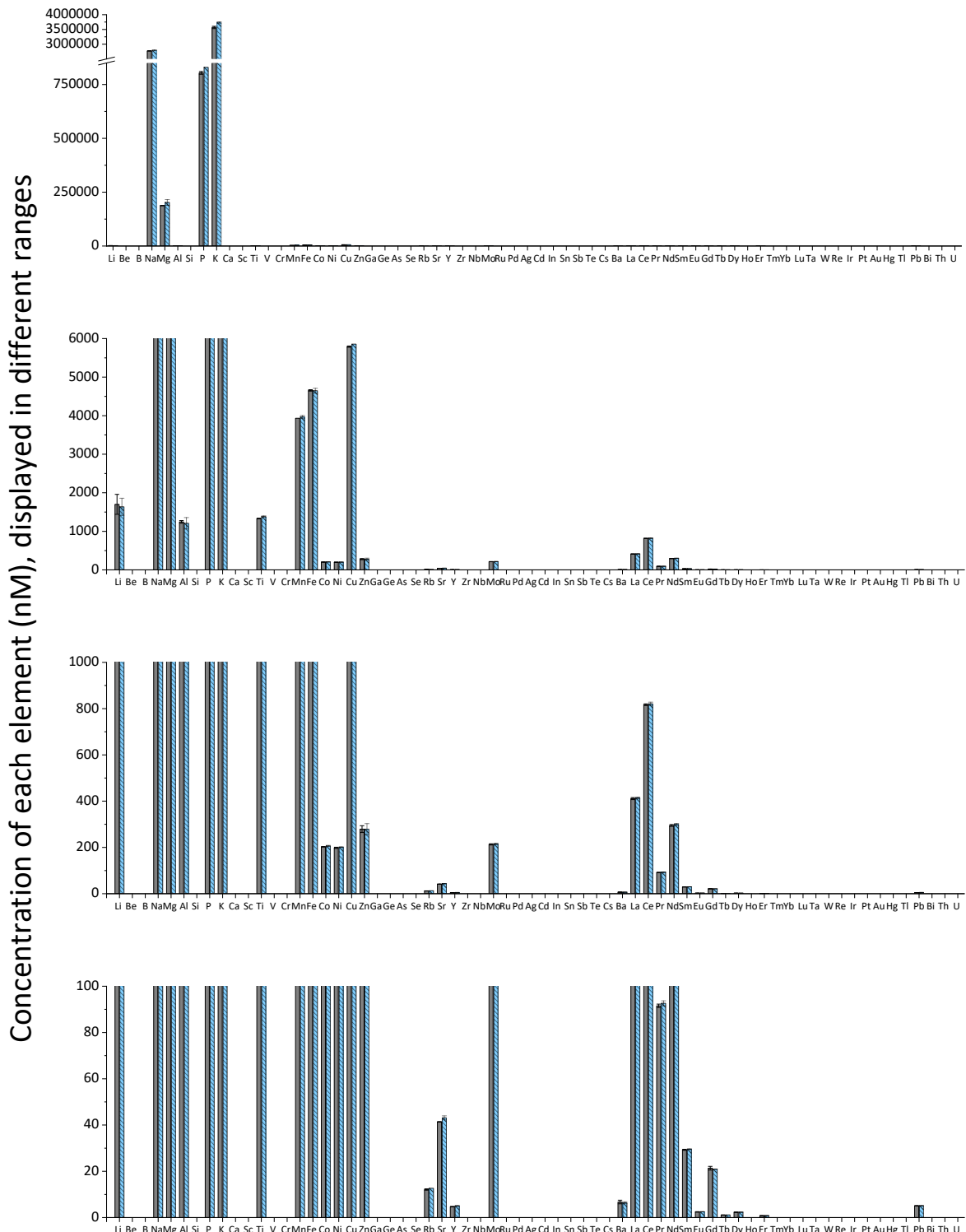


**Fig. S1.** Screening of concentration of Ln in different REE-containing sources. All potential REE-containing solutions before (left bar, no pattern) and after (right bar, left up to right down diagonal lines) cultivation with strain SolV, a control without inoculation with strain SolV (middle bar, left down to right up diagonal lines) was also analyzed with ICP-MS. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 3 days at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ . 10 mL of minimal medium as described in Tab. S1 was used, and REE-containing solutions (sterile filtered with 0.2  $\mu$ M PES) were added (1  $\mu$ L EOL industrial water, 2000  $\mu$ L Königstein water, 1  $\mu$ L Bastnaesite 1 and 2, 3000  $\mu$ L Leaching zinblendele, 1000  $\mu$ L Lithium mica, 1500  $\mu$ L water of ore leaching, 200  $\mu$ L Wendelscheider Schwergut). In control samples (without strain SolV) of water of an old gold mine, Lithium mica, and leaching zinblendele, precipitate formation was visible. Königstein and Gessenhalde water (Fig. 1a) showed only a slight precipitate formation, which was only visible after 1 hour of centrifugation at 14 000 x g.



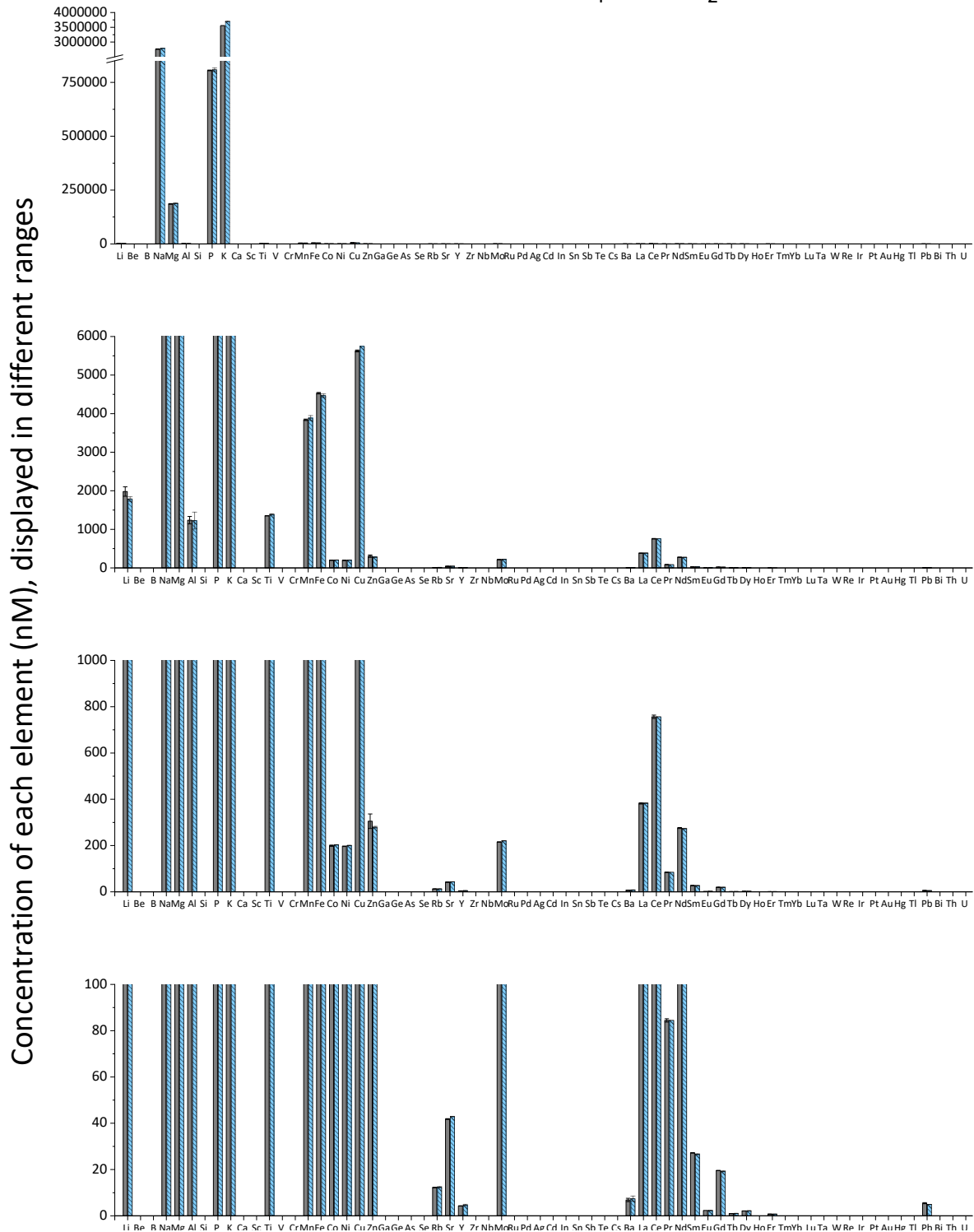
**Fig. S2.** Optical density at 600 nm for the different REE-containing sources of samples described in Fig. S1 when strain SoIV was added (E) and without added bacterial strain (C) after 3 days of cultivation. The high OD in the controls for certain sources (e.g. water of an old gold mine, Lithium mica, and leaching zinblendende) is due to precipitate formation.

### Bastnaesite 1, no SolV, no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>



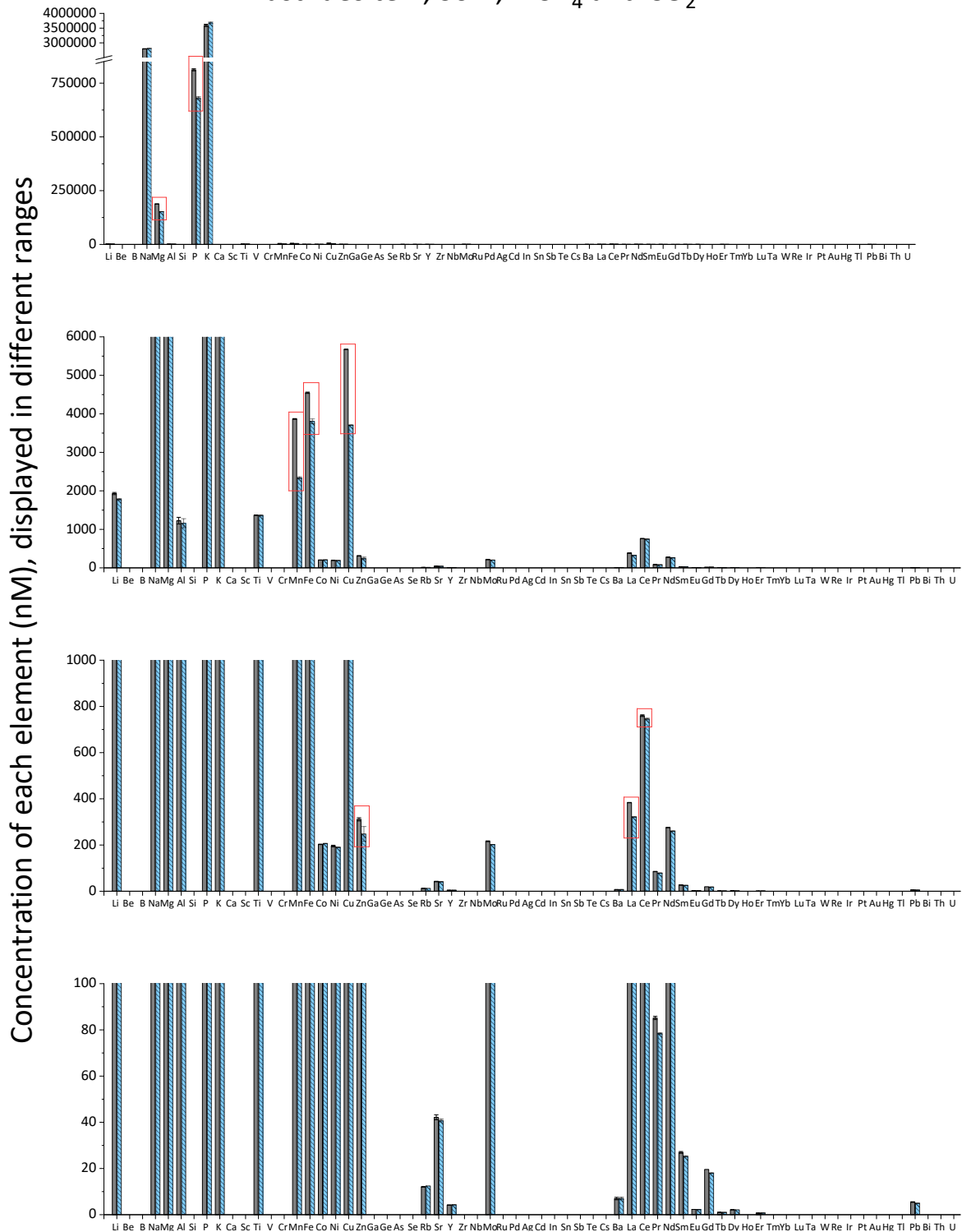
**Fig. S3.** Screening of concentration of all elements (detectable with ICP-MS) in Bastnaesite 1 samples, with no addition of strain SolV or CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>. The solutions before (grey left bar, no pattern) and after (blue right bar, left up to right down diagonal lines) the experiment were analyzed with ICP-MS. Cultivation was performed for 87 hours at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks and no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> was added. 10 mL of minimal medium as described in Tab. S1 was used, and 0.2 µL of Bastnaesite 1 (sterile filtered with 0.2 µM PES) was added.

### Bastnaesite 1, SolV, no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>



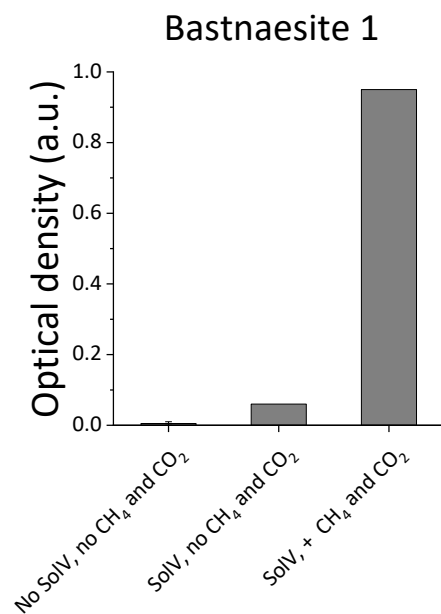
**Fig. S4.** Screening of concentration of all elements (detectable with ICP-MS) in Bastnaesite 1 samples, with addition of strain SolV but no additional CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>. The solutions before (grey left bar, no pattern) and after (blue right bar, left up to right down diagonal lines) the experiment were analyzed with ICP-MS. Starting OD<sub>600</sub> was set to 0.06, and cultivation was performed for 87 hours at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks and no CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> was added. 10 mL of minimal medium as described in Tab. S1 was used, and 0.2 µL of Bastnaesite 1 (sterile filtered with 0.2 µM PES) was added.

### Bastnaesite 1, SolV, + CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>

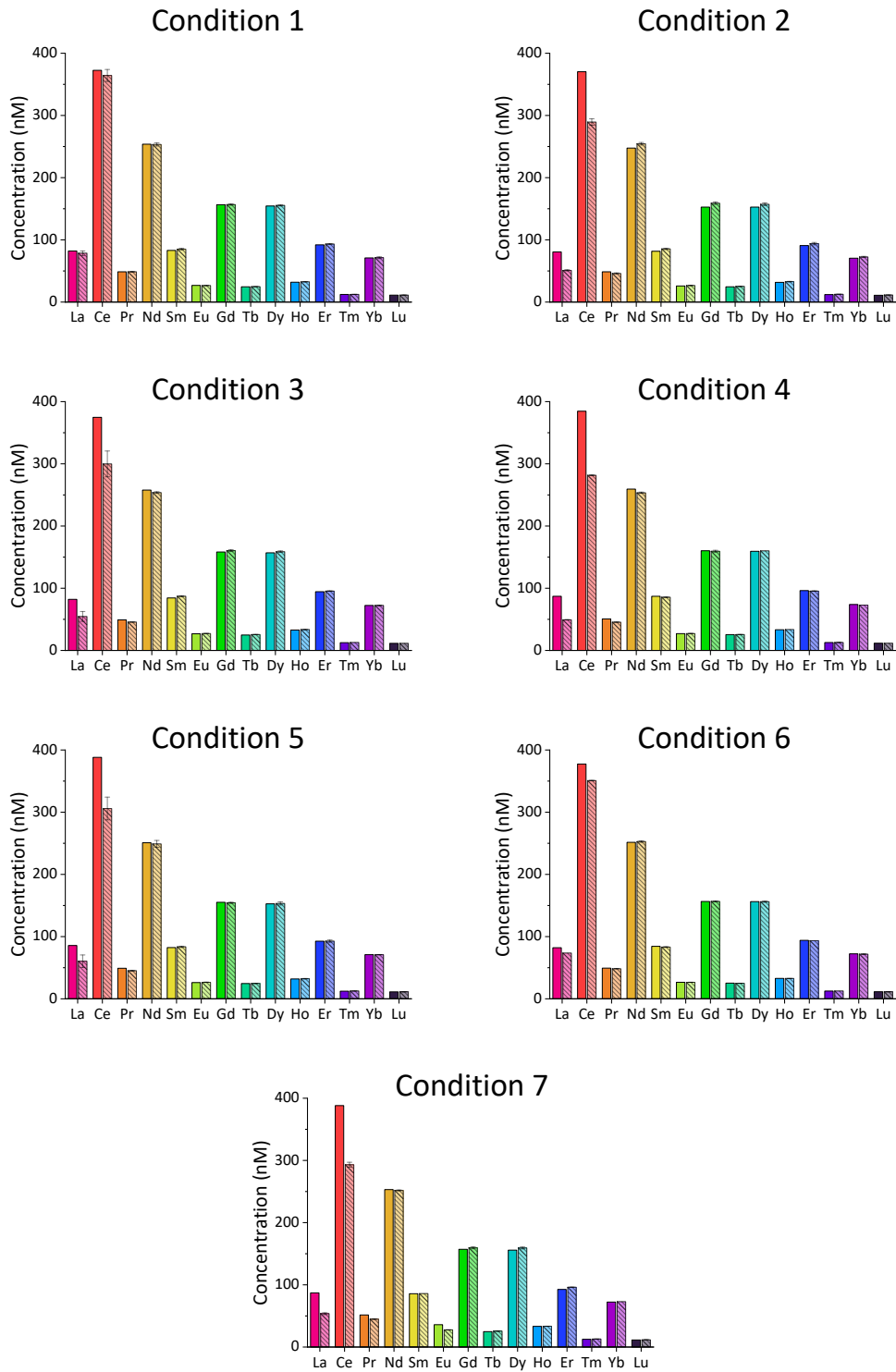


**Fig. S5.** Screening of concentration of all elements (detectable with ICP-MS) in Bastnaesite 1 samples, with addition of strain SolV, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>. The solutions before (grey left bar, no pattern) and after (blue right bar, left up to right down diagonal lines) the experiment was analyzed with ICP-MS. Starting OD<sub>600</sub> was set to 0.06, and cultivation was performed for 87 hours at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 % CH<sub>4</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>. 10 mL of minimal medium as described in Tab. S1 was used, and 0.2 μL of Bastnaesite 1 (sterile filtered with 0.2 μM PES) were added.

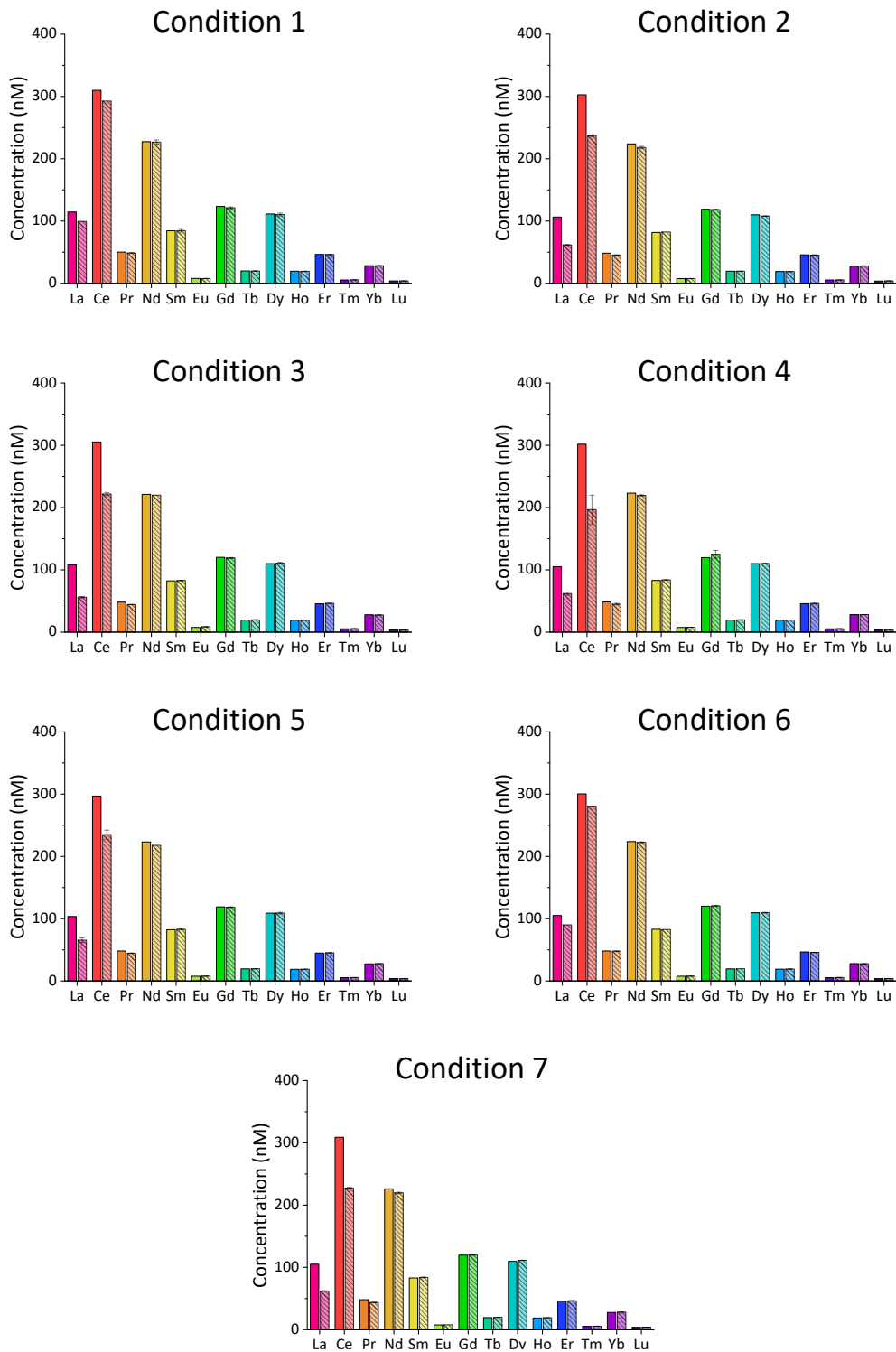




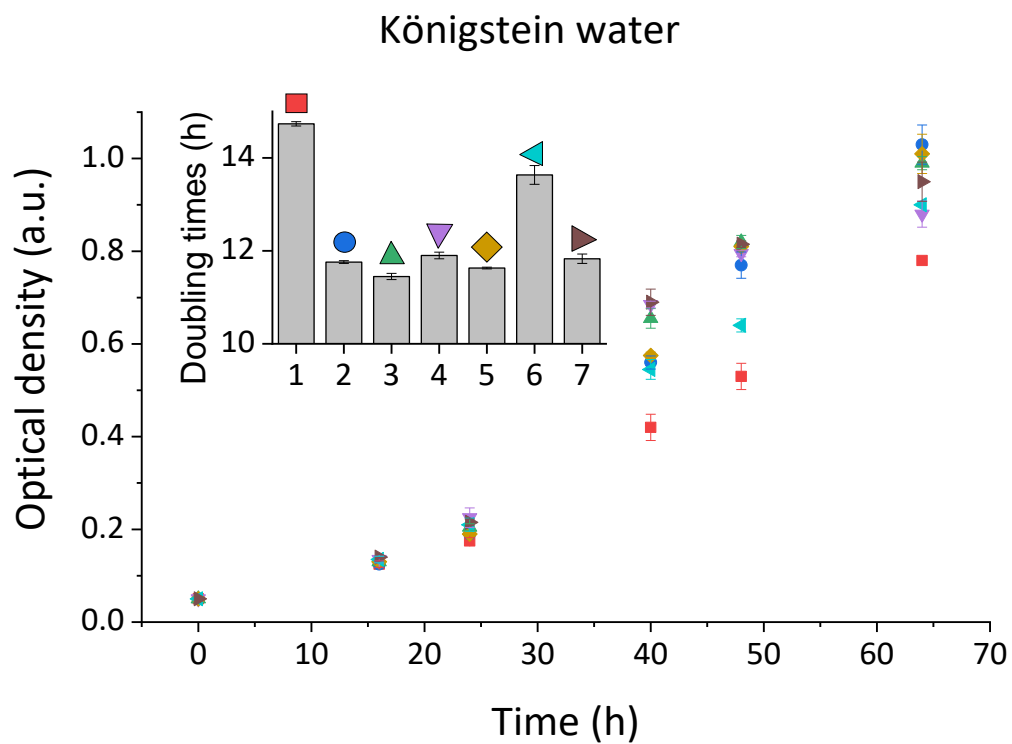
**Fig. S6.** Optical densities at 600 nm for the experiments regarding Bastnaesite 1 samples described in Fig. S3 – S5 under the different conditions. OD<sub>600</sub> was collected after 87 hours incubation at 55 °C (200 rpm).



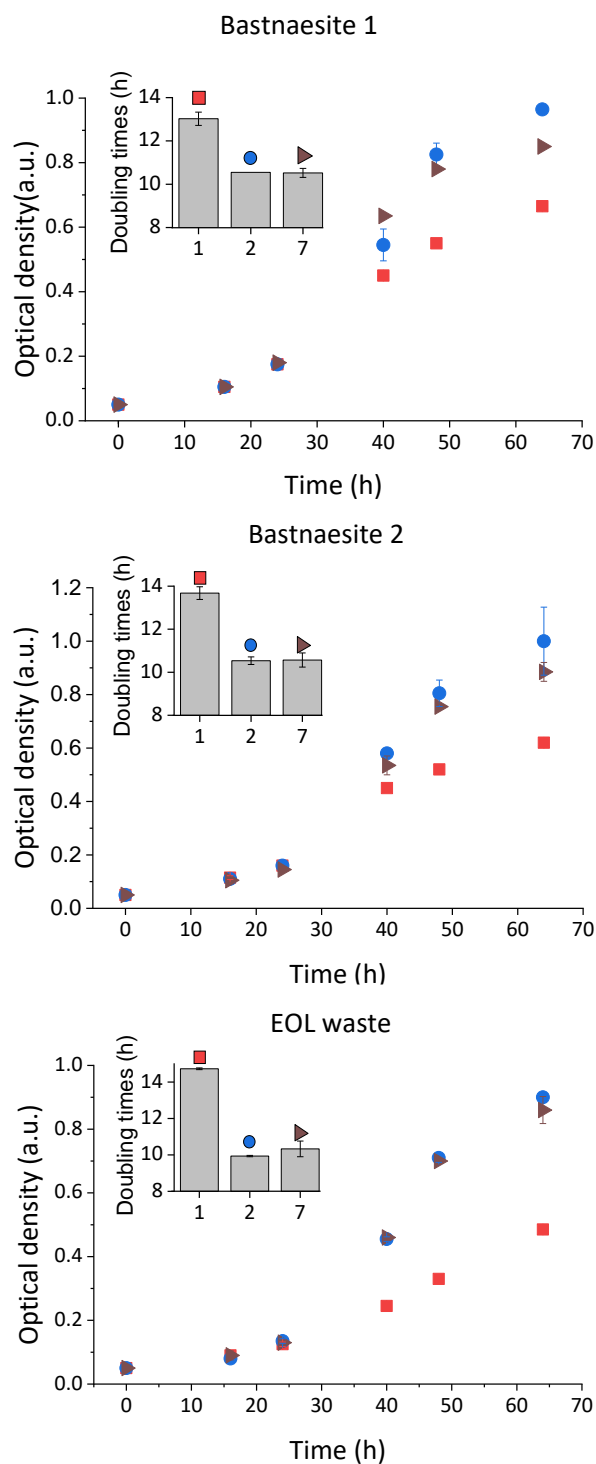
**Fig. S7.** Concentration of Ln in Gessenhalde water before (left bar, no pattern) and after cultivation (right bar, left up to right down diagonal lines) with strain SolV under different conditions determined with ICP-MS analysis. A detailed description of the different conditions can be found in the main manuscript (Tab. 1). For each sample, 10 mL of medium including 1 mL Gessenhalde water were prepared, and unless otherwise stated not autoclaved. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 70 h at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ .



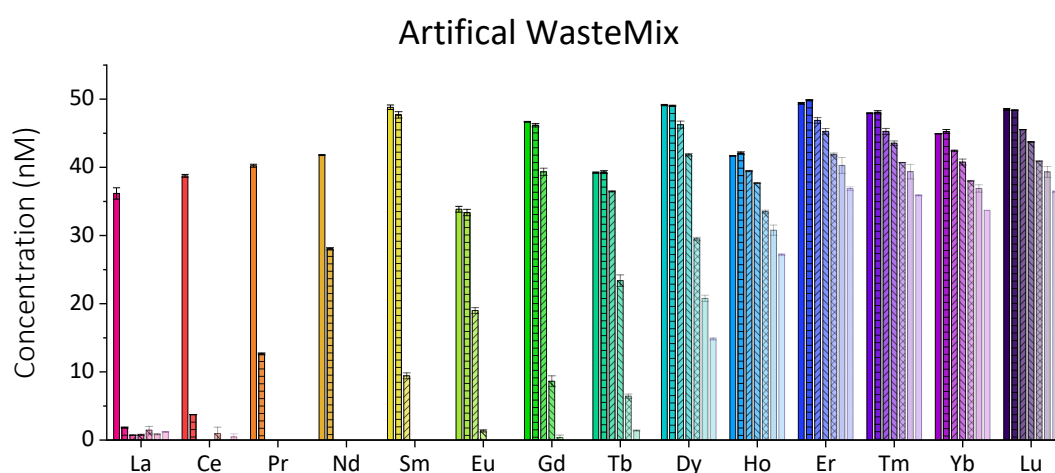
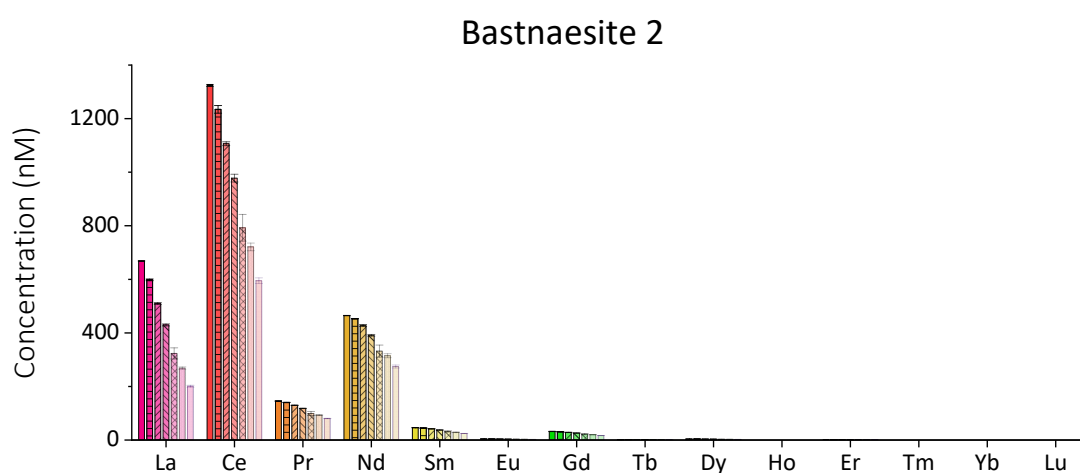
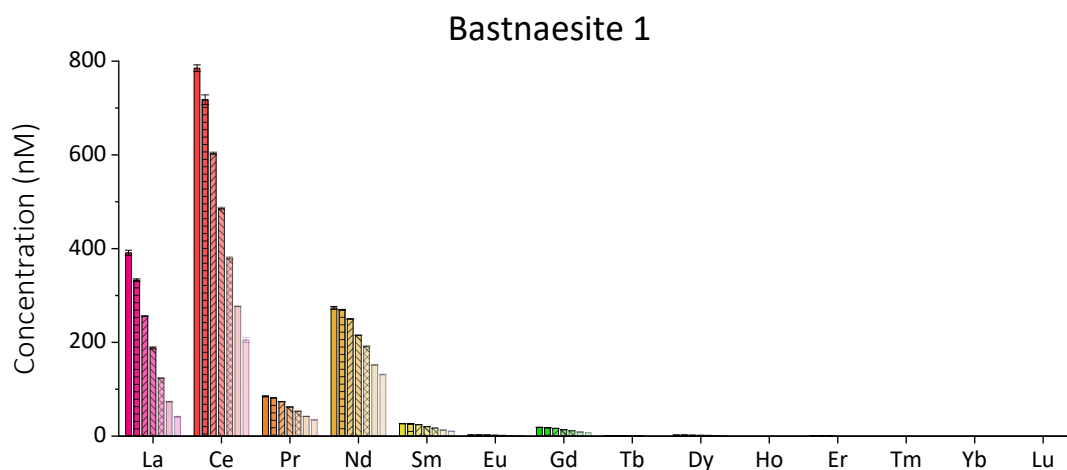
**Fig. S8.** Concentration of Ln in Königstein water before (left bar, no pattern) and after cultivation (right bar, left up to right down diagonal lines) with strain SoLV under different conditions determined with ICP-MS analysis. A detailed description of the different conditions can be found in the main manuscript (Tab. 1). For each sample, 10 mL of medium including 2 mL Königstein water were prepared, and unless otherwise stated not autoclaved. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 70 h at 55 °C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ .



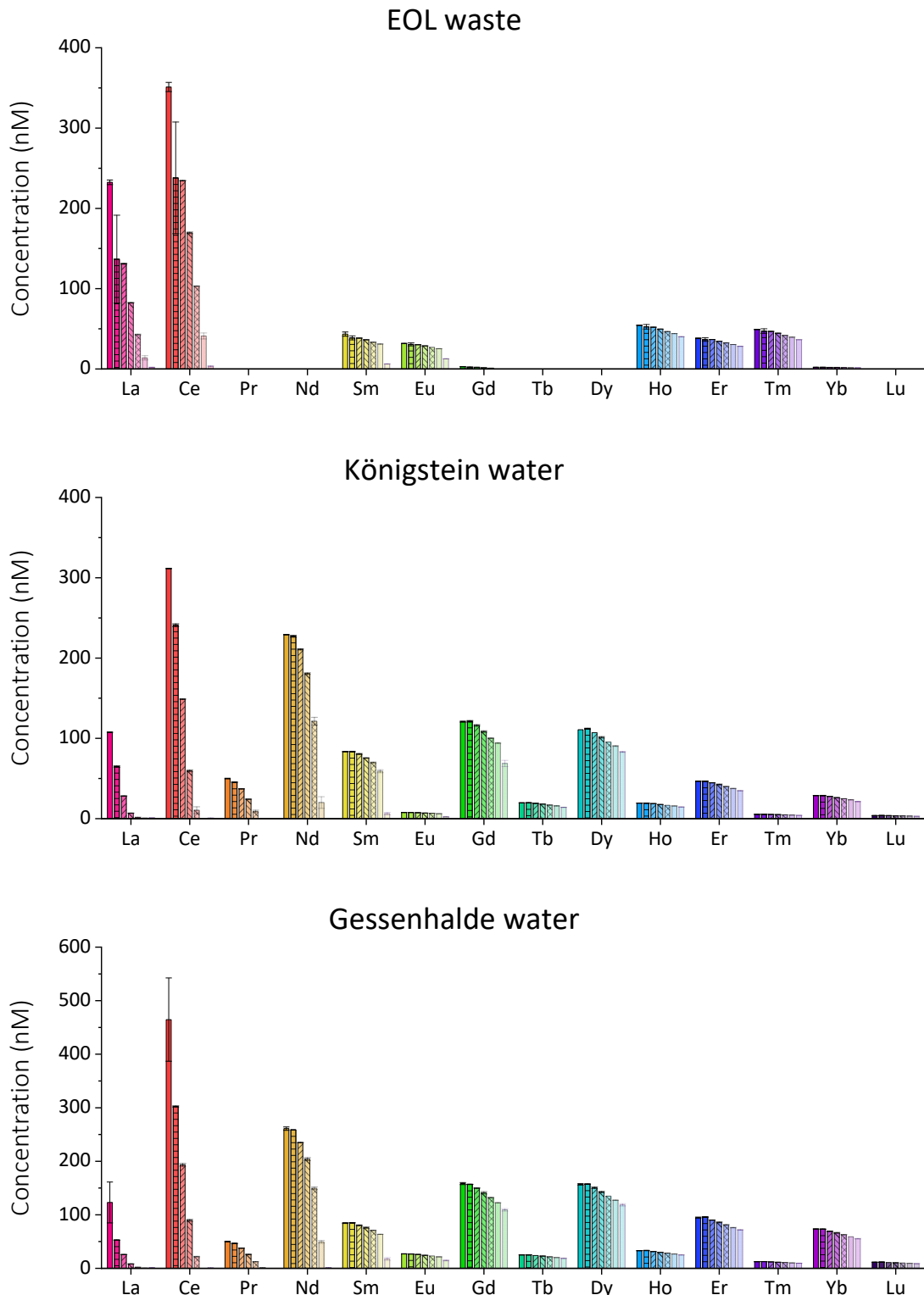
**Fig. S9.** Growth curves and rates of Königstein water under condition 1 to 7, indicated by different color and shape. Conditions were already described in Fig. S8. Samples were collected at regular time intervals with a syringe to maintain the gas atmosphere and  $OD_{600}$  was measured.



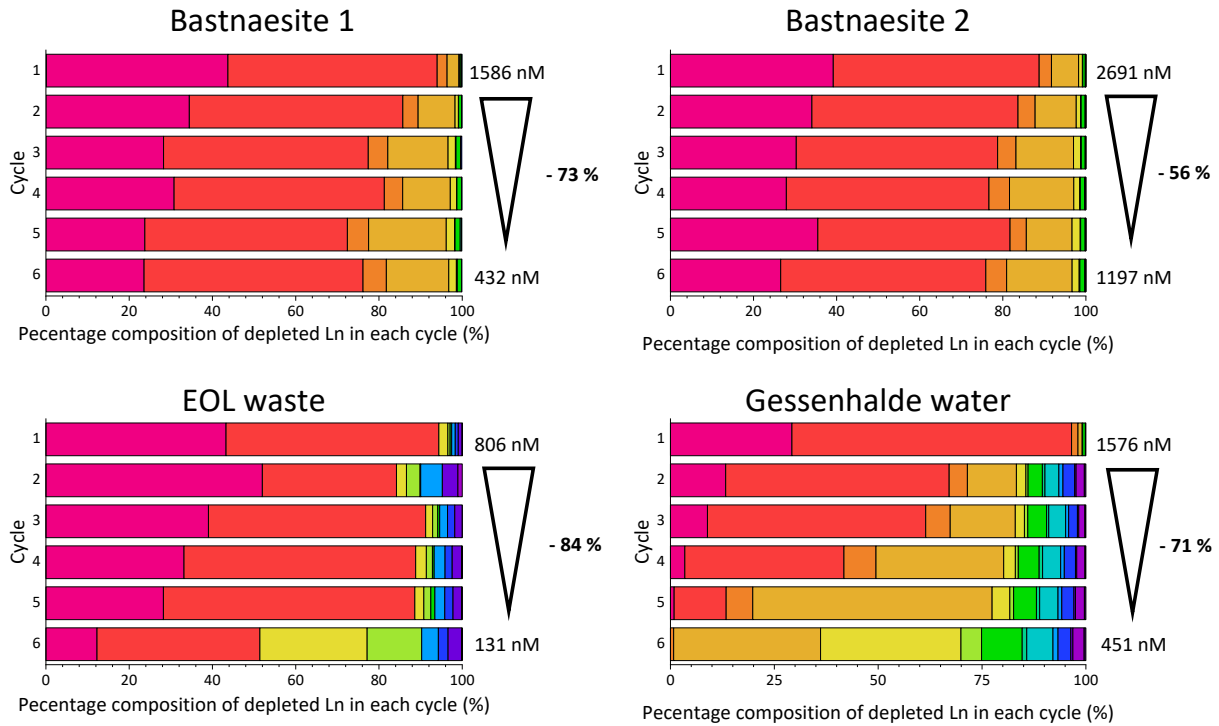
**Fig. S10.** Growth curves and rates of Bastnaesite 1 & 2 and EOL waste under condition 1,2 and 7. A detailed description of the different conditions can be found in the main manuscript (Tab. 1). For each sample, 10 mL of medium including 0.2  $\mu$ L bastnaesite or 20  $\mu$ L EOL waste were prepared, and unless otherwise stated not autoclaved. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 70 h at 55  $^{\circ}$ C with a shaking speed of 200 rpm in 100 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ . Samples were collected in regular time intervals with a syringe to maintain the gas atmosphere and  $OD_{600}$  was measured.



**Fig. S11.** Up-scaling approach of strain SolV with bastnaesite and artificial WasteMix up to 6 cycles. Concentration was determined with ICP-MS. The bar with no pattern shows the starting concentration, while the bars with pattern show from left to right the ongoing cycles. For each sample, 50 mL of medium including 1  $\mu$ L bastnaesite or 500  $\mu$ L artificial WasteMix were prepared. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 3 days at 55  $^{\circ}$ C with a shaking speed of 200 rpm in 500 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ . After the biomass was removed via centrifugation, fresh biomass was added and the cultivation was continued.

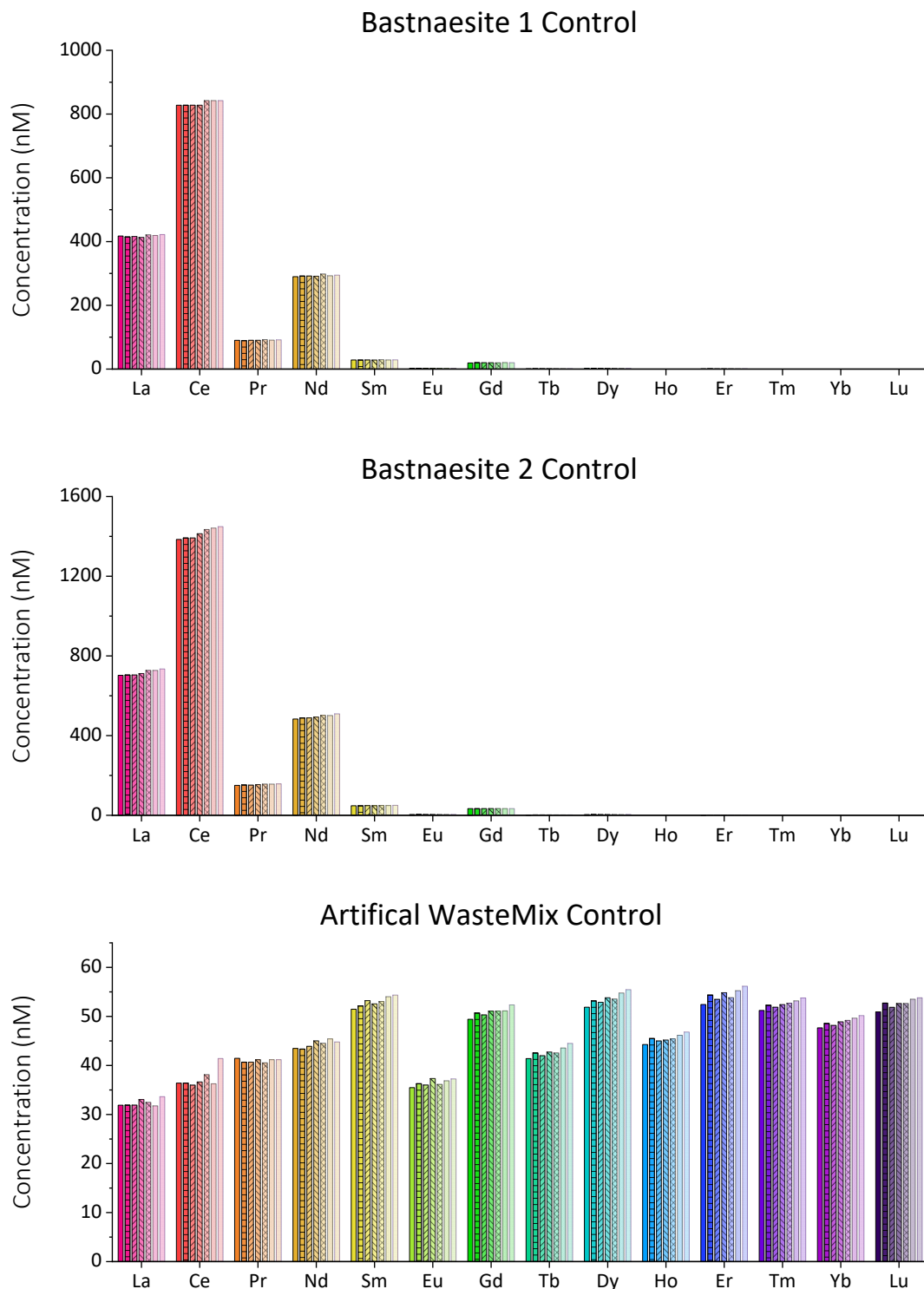


**Fig. S12.** Up-scaling approach of strain SolV with EOL waste, Königstein and Gessenhalde water up to 6 cycles. Concentration was determined with ICP-MS. The bar with no pattern shows the starting concentration, while the bars with pattern show from left to right the ongoing cycles. For each sample, 50 mL of medium including 100  $\mu$ L of EOL waste, 10 mL Königstein water or 5 mL Gessenhalde water were prepared. Starting  $OD_{600}$  was set to 0.06, and cultivation was performed for 3 days at 55  $^{\circ}$ C with a shaking speed of 200 rpm in 500 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $CH_4$  and 5 %  $CO_2$ . After the biomass was removed via centrifugation, fresh biomass was added and the cultivation was continued.

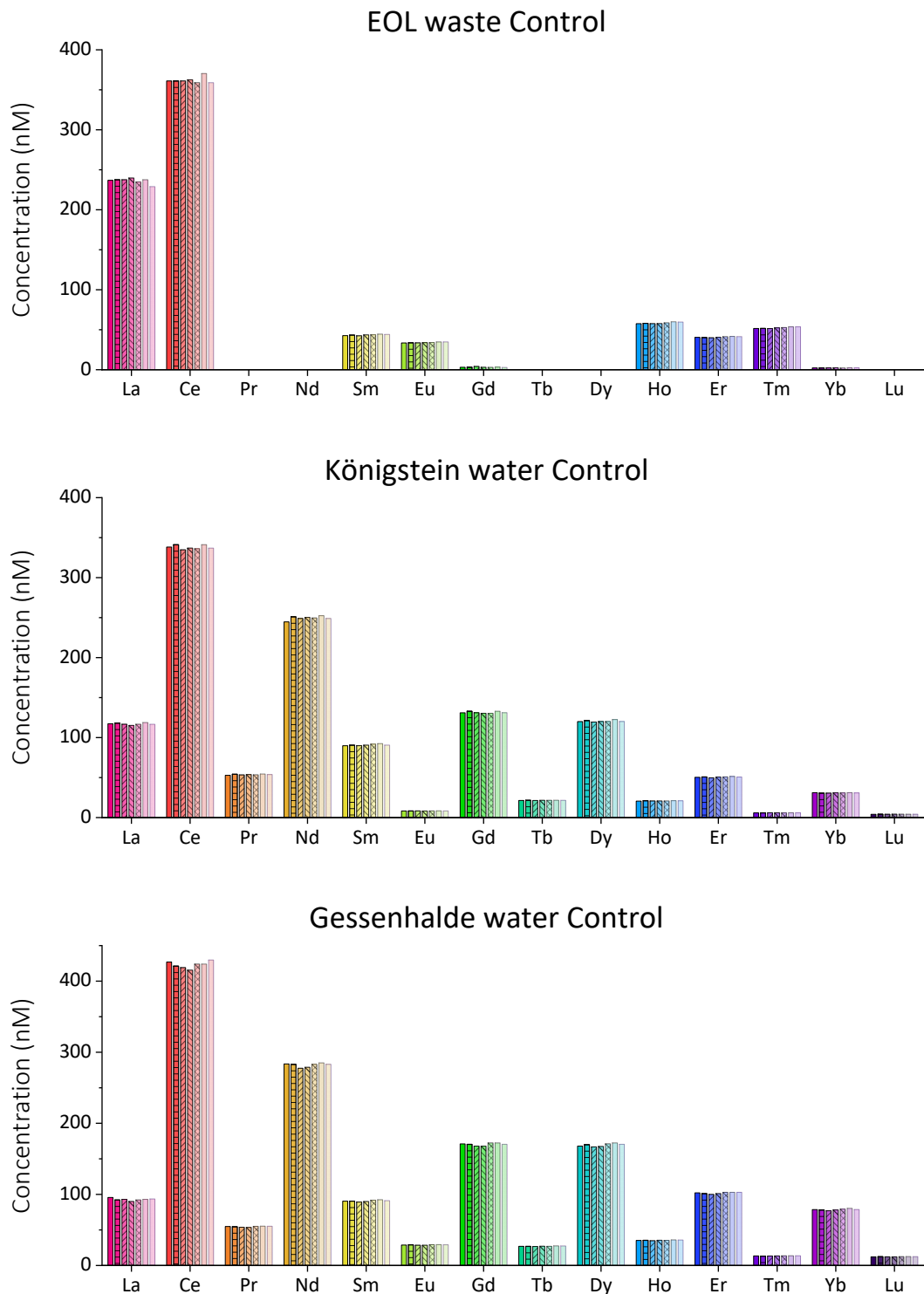


**Fig. S13.** Percentage Depletion of different Ln by strain SolV over 6 cycles in the different REE sources. Conditions for all samples as described in Fig. S11 and S12. Outline on the right shows the total Ln concentration in the beginning and after the 6 cycles, including total values and percentage. The bars display only the fraction of depleted Ln and their composition in each individual cycle.

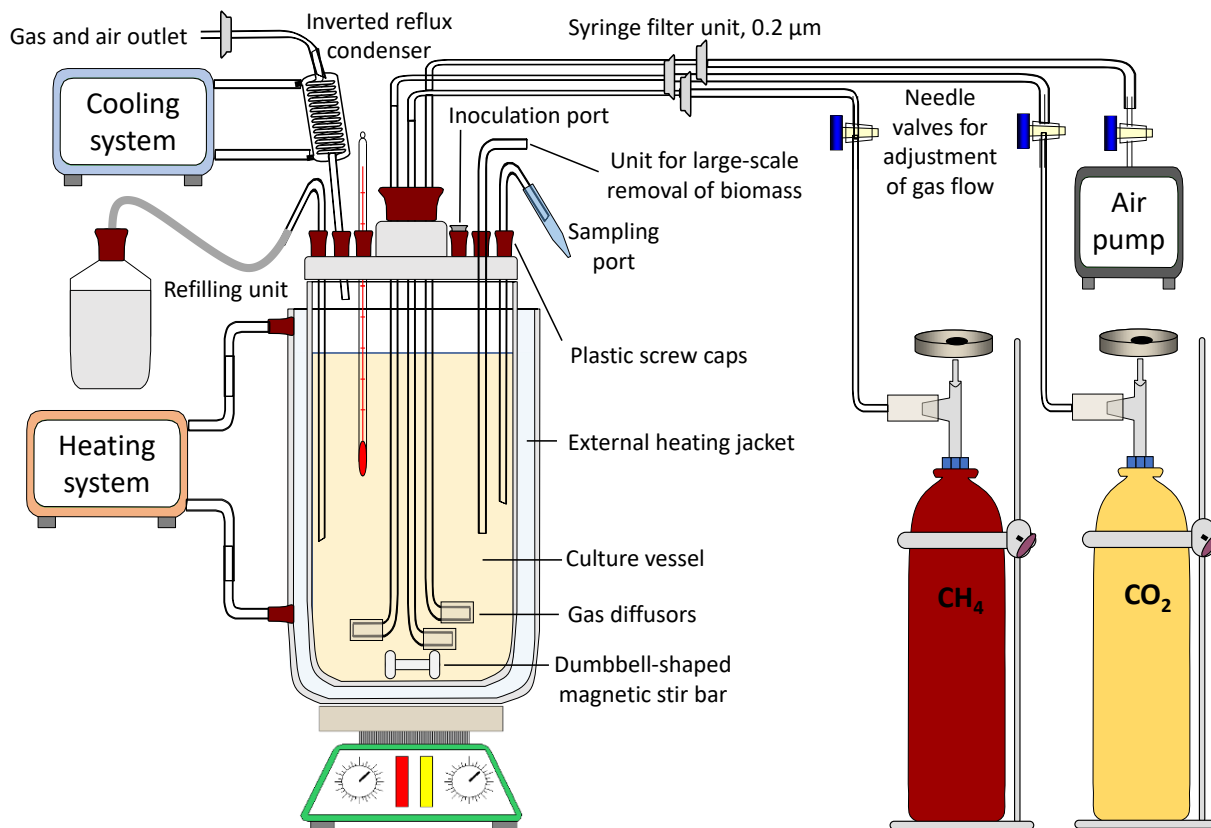




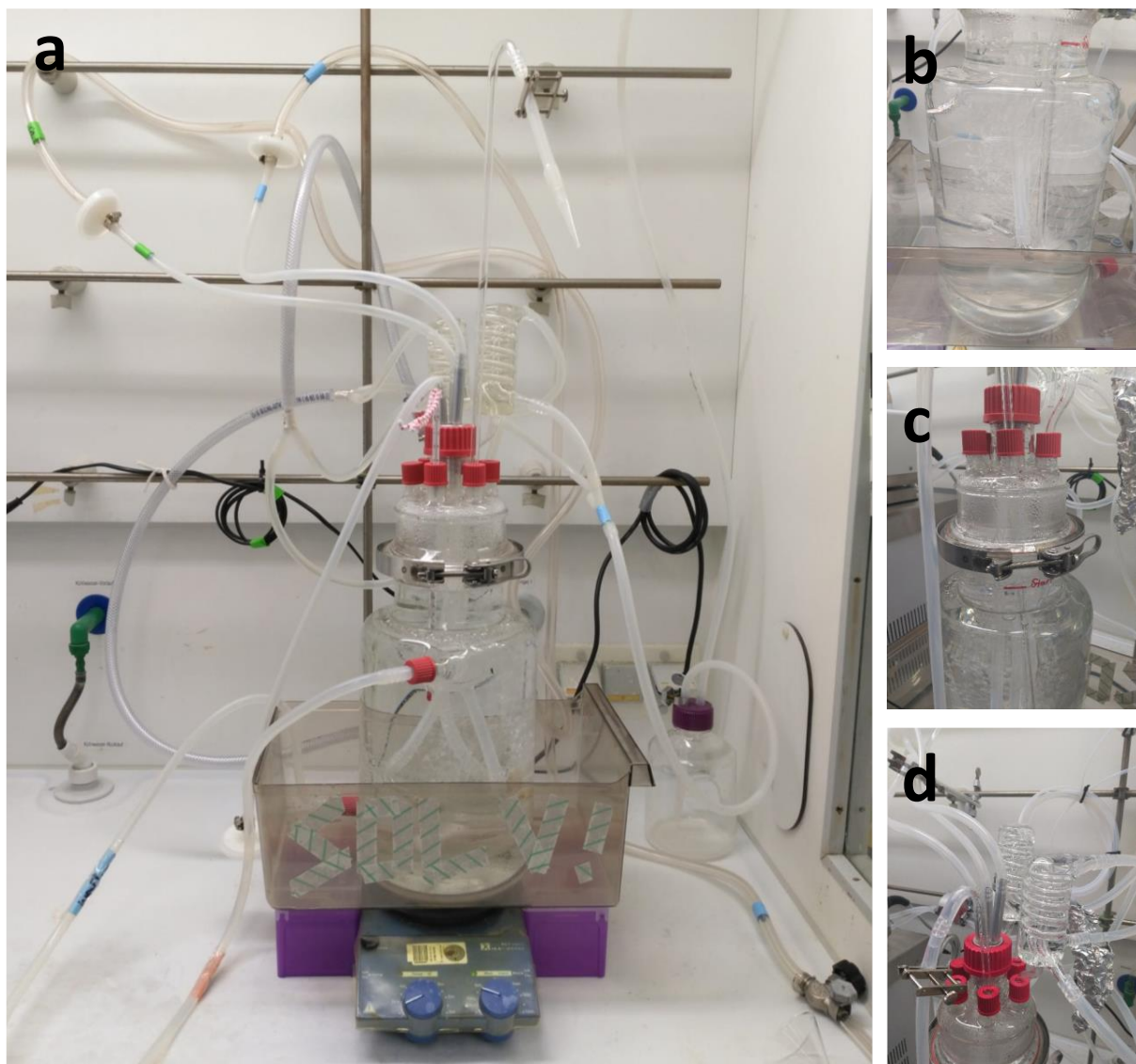
**Fig. S14.** Control of the up-scaling approach with bastnaesite and artificial WasteMix up to 6 cycles. Concentration was determined with ICP-MS. The bar with no pattern shows the starting concentration, while the bars with pattern show from left to right the ongoing cycles. For each sample, 50 mL of medium including 1  $\mu$ L bastnaesite or 500  $\mu$ L artificial WasteMix were prepared. No bacterial cells were added, and the medium with the REE source was incubated for 3 days at 55  $^{\circ}$ C with a shaking speed of 200 rpm in 500 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 % CH<sub>4</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>. In none of the control samples, precipitate formation could be observed.



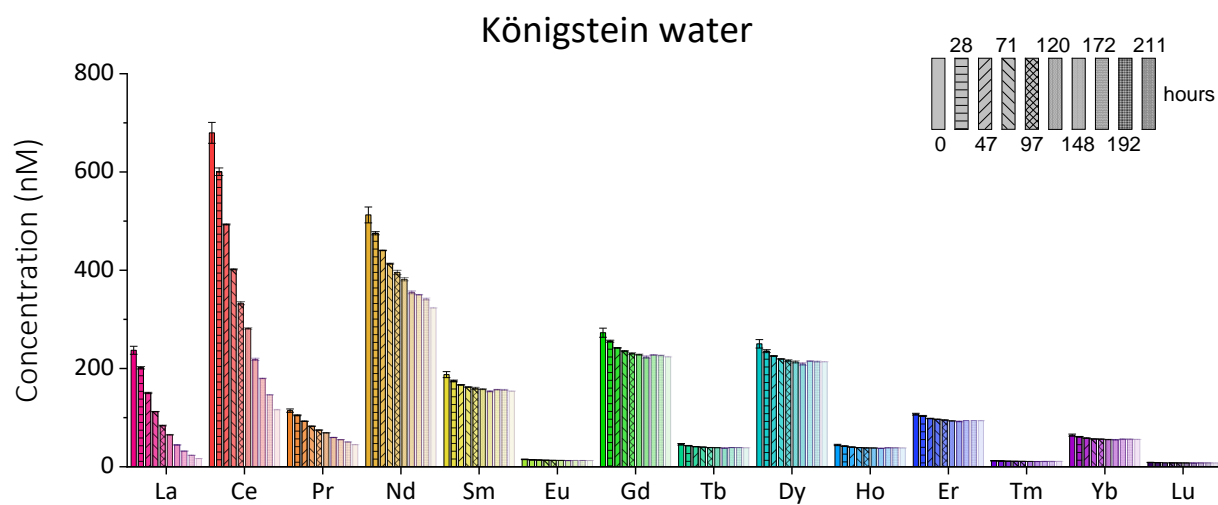
**Fig. S15.** Control of the up-scaling approach with EOL waste, Königstein water and Gessenhalde water up to 6 cycles. Concentration was determined with ICP-MS. The bar with no pattern shows the starting concentration, while the bars with pattern show from left to right the ongoing cycles. For each sample, 50 mL of medium including 100  $\mu$ L of EOL waste, 10 mL Königstein water or 5 mL Gessenhalde water were prepared. No bacterial cells were added, and the medium with the REE source was incubated for 3 days at 55  $^{\circ}$ C with a shaking speed of 200 rpm in 500 mL plastic serum flasks with an atmosphere of 85 % air, 10 %  $\text{CH}_4$  and 5 %  $\text{CO}_2$ . No precipitate formation was observed in EOL samples, in Königstein and Gessenhalde water only during the first cycle minimal precipitation was observed (no discernible turbidity, only visible after 1 hour of centrifugation at 14 000 x g)



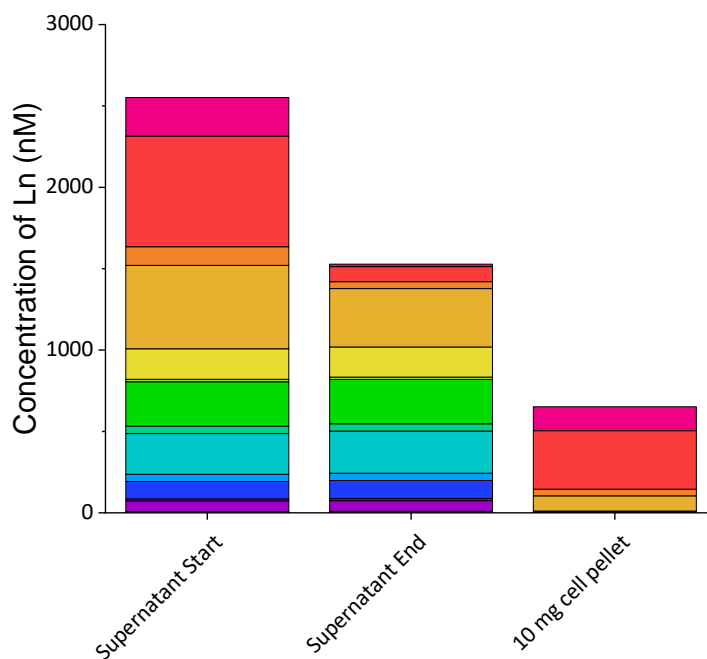
**Fig. S16.** Scheme of the constructed bioreactor for large-scale cultivation of strain SolV. Heating and cooling system is based on a refrigerated circulator (Haake F6 C40) and a recirculating heated chiller bath (Haake F3 CH). For air supply, a diaphragm vacuum pump (LABOPORT® Mini, N 86 KT.18, 5,5 l/min, 160 mbar) was used. Quality of CH<sub>4</sub> ≥ 99,5 mol %, CO<sub>2</sub> ≥ 99,9 Vol.%. The gas and air supply were connected with Tygon tubing while for the autoclavable connections (syringe filter to bioreactor, gas diffusers) a silicon tubing was used.



**Fig. S17.** Pictures of the constructed bioreactor for large-scale cultivation of strain SoIV. (a) shows the bioreactor without cooling/heating system, as well as gas bottles and vacuum pump. (b) displays the culture vessel of the bioreactor, with gas inlets connected to silicon tubing and diffusion stones. (c) Removable cap of the bioreactor, sealed with a silicon ring and a clamp. (d) Upper part of the cap with all the different connectors (GL 32 screw caps, can be modified as required to closed and with hole) and the cooled, inverted reflux condensers to minimize the evaporation during the cultivation.



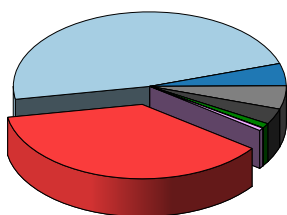
**Fig. S18.** ICP-MS analysis of the Ln concentration in the supernatant during cultivation of strain SolV with Königstein water. The samples were collected in the indicated time intervals (in the legend label, shown in different patterns). For preparation of medium, 600 mL of autoclaved medium were mixed with 400 mL Königstein water, and together autoclaved and sterile filtered. In total 3.7 L of the prepared medium was used. Cultivation was started by adding biomass to an OD of 0.07. Temperature was set to 55 °C, and gas was regulated (1000 mL/min air, 750 mL/min CH<sub>4</sub>, 600 mL/min CO<sub>2</sub>), stirring speed of 500 rpm was adjusted. Cultivation was run for 250 hours.



**Fig. S19.** ICP-MS analysis of the Ln concentration in the supernatant in the beginning, as well as after 250 hours of cultivation with strain SolV and Königstein water, and concentration of Ln in 10 mg of the collected disrupted bacterial cell pellet (lyophilized and acidic microwave disruption) after 250 hours. Conditions for the cultivation as described in Fig. S18. For the collection of the cell pellet, 10 mL of the final biomass were collected, centrifuged and washed three times with MilliQ water. The pellet was lyophilized, and total weight was 53.7 mg. 10 mg of the cell pellet were digested with acid and microwaved for disruption, and afterwards resuspended in 15 mL of MilliQ water, to enable a direct comparison between the different REE biomasses in the same unit (nM).

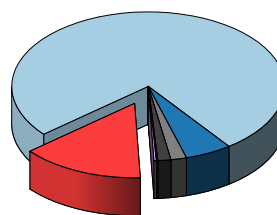
										Alkali metals Alkaline earth metals															Nonmetals Halogens																									
										Transition metals																				Rare earth elements																				
										Metals																				Actinides																				
										Metalloids																																								
H																	B	C	N	O	F	Ne																												
Li	Be																	Al	Si	P	S	Cl	Ar																											
Na	Mg	Sc*	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr																																	
K	Ca	Y*	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe																																	
Rb	Sr	Ln	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn																																	
Cs	Ba	An	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Og																																	
Fr	Ra																																																	
	La				Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu																																
	Ac				Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr																																

Bastnaesite 1



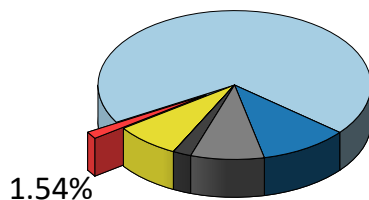
37.1%

Bastnaesite 2



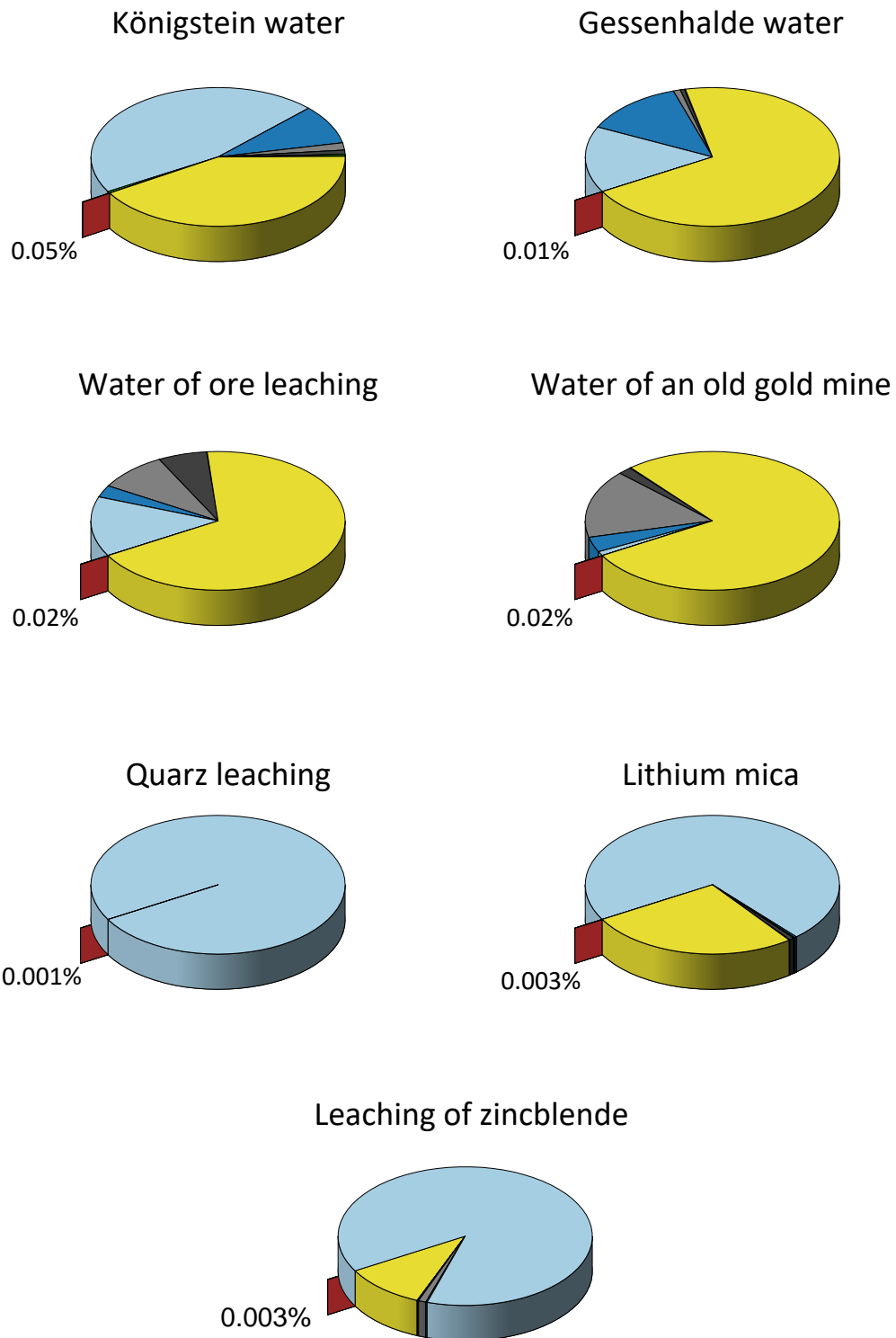
14.6%

EOL waste



1.54%

**Fig. S20.** Percentage of the composition of the different tested REE sources, divided in alkali metals (light blue), alkaline earth metals (dark blue), transition metals (light grey), metals (dark grey), metalloids (dark green), nonmetals (yellow), halogens (pink), rare earth elements including scandium and yttrium and the lanthanides (red), and actinides (light green). The number displayed is the percentage of REE in the REE source. The periodic table shows the measurable elements in colors, including the group where they belong to. Elements with no filling and a dotted box were not measurable with the IntelliQuant mode. Amount in mg/L of each element was detected with ICP-OES. For all samples, the amount of all elements in mg/L was summed up, and the respective amounts of each group were calculated in percentage.



**Fig. S21.** Percentage of the composition of the different tested REE sources, divided in alkali metals (light blue), alkaline earth metals (dark blue), transition metals (light grey), metals (dark grey), metalloids (dark green), nonmetals (yellow), halogens (pink), rare earth elements including scandium and yttrium and the lanthanides (red), and actinides (light green). A more detailed description of the elements included is shown in Fig. S20. The number displayed is the percentage of REE in the REE source. Amount in mg/L of each element was detected with ICP-OES. For all samples, the amount of all elements in mg/L was summed up, and the respective amounts of each group were calculated in percentage.



### 3. Tables

**Tab. S1. ICP-MS analysis of the different REE sources.** Concentration in µg/L; 1: Königstein water; 2: Gessenhalde water; 3: Water of an old gold mine; 4: Leaching zinblend; 5: Lithium mica; 6: Water of ore leaching; 7: Quartz leaching (Wendelscheider Schwergut); 8: EOL industrial waste; 9: Bastnaesite 1; 10: Bastnaesite 2; Periodic table shows in black the elements which can be determined with ICP-MS

H																	He	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	Ln	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra	An	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Og	
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Element in µg/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Li	80.9	205.5	6760	1160	187000	5140	10.3	377.5	4035	6540
Be	26.1	13.6	254	148	399	103	12.2	5.665	507	547.5
B	97.8	2.8	3.45	74.75	358	110	15.15	96.25	543	2310
Na	35900	40550	431000	4590000	3790000	420000	3800000	42325	60300	150500
Mg	15200	193500	7240000	679000	121000	3820000	4110	18450	204000	244000
Al	14700	24850	7010000	299000	1070000	5540000	28200	33025	668000	809000
Si	15700	12950	21350	62400	42800	4385	63150	1745	78200	56500
P	<100	<100	323000	<100	175000	253000	5100	54400	5935	12700
K	8380	3900	76700	144	2110000	53800	43600	29800	489500	801000
Ca	181000	515500	20700000	376000	199000	321000	12500	104500	1450000	1690000
Sc	12.8	15.4	1780	136	25.55	1130	188	21.69	<1	61.4
Ti	93.6	892.5	1095	1605	1155	26500	538.5	20000	18100	28450
V	<0.1	1.85	12.3	23.35	92.25	15850	113.5	808	112.5	175
Cr	32.0	<1	7390	815	3660	4110	148	1650	377.5	572.5
Mn	6680	84000	2270000	509000	120000	1220000	895	1477.5	20350	31900
Fe	15800	14350	38600000	976000	294000	7530000	17400	80975	792000	964000
Co	163	6520	129000	5540	284	75600	13.9	710.25	620.5	1260
Ni	350	12400	11300	7070	12100	8110	38	3635	618.5	936
Cu	34.2	7970	2210000	71100	7080	1830000	2600	40225	9385	15400
Zn	7670	11400	1170000	1770000	17000.0	743000	217.0	28675	35550	55650

<b>Ga</b>	1.93	2.105	1700	16.1	99.1	907	84.7	21150	9460	421000
<b>Ge</b>	<0.1	1.635	<0.1	4.31	5.20	16.1	2.32	36.85	22300	37200
<b>As</b>	3.91	<5	156000	17300	458	55800	112	116	57900	95950
<b>Se</b>	58.5	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	22300	34750
<b>Rb</b>	59.6	5.89	0.8035	1.67	87200	261.5	166.5	376.5	2175	3650
<b>Sr</b>	763	755	69400	22.6	244	8230	372	1210	17200	31250
<b>Y</b>	429	1840	2050	1120	190	981	845	15400	17400	21100
<b>Zr</b>	<5	<5	235	12.5	12.0	657	177.0	6870	1835	4175
<b>Nb</b>	<1	<1	4.78	<1	<1	5.66	<1	<1	3470	5625
<b>Mo</b>	<0.1	2.445	2.345	1.945	3.535	381.5	6.92	20.8	161.5	248
<b>Ru</b>	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<b>Pd</b>	<1	6.08	21.8	<1	0.800	11.1	8.05	585.5	316	495.5
<b>Ag</b>	<1	<1	269	11.7	10.8	9.04	1.04	83.95	95.95	146.5
<b>Cd</b>	46.8	91.35	2260	17400	21.5	1900	4.29	77.85	280	504.5
<b>In</b>	<0.1	<0.1	68.2	38.1	<0.1	35.6	0.679	0.653	22.5	34.4
<b>Sn</b>	<0.1	2.32	111	16.3	1.80	20.1	2.27	3.4	678	1345
<b>Sb</b>	<1	<1	858	136	<1	11.7	1.635	63.8	83.4	111.5
<b>Te</b>	<1	<1	92.6	<1	<1	145	<1	397	73.6	7575
<b>Cs</b>	7.41	<1	738	4.41	2220	428	6.43	26.2	90.65	162
<b>Ba</b>	12.2	12.7	12700	<1	45.0	18.3	3230	41250	89700	1680000
<b>La</b>	75.1	113	1450	1100	1340	244	2120	2545	2570000	3120000
<b>Ce</b>	212	524	3370	2610	711	373	4950	7107.5	4850000	4880000
<b>Pr</b>	35.4	70.9	54.05	326	22.6	83.35	636	0.9995	569000	677000
<b>Nd</b>	163	359	1700	1300	<0.1	242	2280	47	1900000	2360000
<b>Sm</b>	65.6	121	353	59	37	71	404	478	190000	231000
<b>Eu</b>	5.08	41.3	123	307	0.600	28	42	408	15300	19400
<b>Gd</b>	85.1	244	445	365	31	122	384	11	162000	138000
<b>Tb</b>	15.7	41.6	63	47	6	20	29	1	10800	12200
<b>Dy</b>	89.1	239	382	241	39	135	191	0.786	12200	14600
<b>Ho</b>	15.8	57.2	75	41	10	30	24	681	1180	1410
<b>Er</b>	38.8	150	215	108	32	93	106	488	1460	1760
<b>Tm</b>	4.76	22.2	29	14	8	13	10	614	102	133
<b>Yb</b>	25.5	124	182	86	53	89	88	35	1330	1490
<b>Lu</b>	3.46	21.2	28	12	9	14	9	0.111	2570000	167
<b>Ta</b>	<1	<1	<1	<1	2.41	<1	<1	13.55	4.51	7.32
<b>W</b>	<1	<1	<1	<1	<1	701.5	18.3	11.2	319	471.5
<b>Re</b>	<0.1	<0.1	<0.1	0.24	0.3275	<0.1	<0.1	<0.1	0.3235	0.7095
<b>Ir</b>	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
<b>Pt</b>	<1	<1	0.269	<1	<1	0.267	<1	<1	18.95	3.43
<b>Au</b>	<10	<10	36.8	<10	<10	1.36	<10	<10	<10	<10
<b>Hg</b>	<1	<1	<1	5.16	5.84	11.35	1.775	4.495	10.8	8.47
<b>Tl</b>	8.90	1.67	<1	<1	328	14.35	4.41	<1	<1	1.275
<b>Pb</b>	685	<1	266000	<1	69.5	2670	352	474	45200	38000
<b>Bi</b>	<1	<1	529	2.25	<1	72.5	3.355	57.7	8.275	14
<b>Th</b>	11.8	<1	134.5	99.7	<1	117.5	1800	17.6	3570	7490
<b>U</b>	6550	262	1990	609	20.6	1870	161	9.94	415.5	601.5

**Tab. S2. Medium composition for growth medium of strain SolV.**

Solution	Composition
Minimal medium (10x)	<p>2 mM MgCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mM CaCl<sub>2</sub></p> <p><b>Note:</b> All components except CaCl<sub>2</sub> were mixed and adjusted to pH 2.7 with 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. CaCl<sub>2</sub> was autoclaved separately and added afterwards to prevent the precipitation of calcium phosphates.</p>
Trace element (TE) solution	<p>200 mM FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 200 mM MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O, 300 mM CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O, 10 mM NiCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 10 mM CoCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 10 mM Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O</p> <p><b>Note:</b> All components were dissolved one after the other in 1.5 % v/v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Solution will occur blue immediately after preparation but turns green after a few days.</p>
Growth medium for strain SolV	<p>Prepared according to Pol and coworkers<sup>6</sup></p> <p>1x Minimal medium, 20 μL/L TE, 8 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup> for cultivation in bottles, for the bioreactor experiments the TE concentration was increased to 80 μL/L and 30 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. All components were mixed and autoclaved. The different REE sources were sterile filtered with 0.2 μM PES syringe filters and added to the autoclaved medium for bottle cultivation while for the large-scale bioreactor experiments, the prior autoclaved medium was mixed with Königstein water and again together autoclaved. During the sterilization process, precipitate formation occurred which was removed by filtration (0.2 μM, PES membrane).</p> <p><b>Note:</b> NH<sub>4</sub><sup>+</sup> available from a 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution in MilliQ water.</p>

## SI References

1. B. Merkel, *Uranium mining and hydrogeology II Proceedings*, Sven von Loga, Germany, 1998.
2. T. Arnold, N. Baumann, E. Krawczyk-Bärsch, S. Brockmann, U. Zimmermann, U. Jenk and S. Weiß, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2011, **75**, 2200-2212.
3. A. Grawunder, M. Lonschinski, D. Merten and G. Büchel, *Geochemistry*, 2009, **69**, 5-19.
4. P. R. Kruesi and G. Duker, *JOM*, 1965, **17**, 847-849.
5. A. Pol, K. Heijmans, H. R. Harhangi, D. Tedesco, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *Nature*, 2007, **450**, 874.
6. A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten and H. J. M. Op den Camp, *Environ. Microbiol.*, 2014, **16**, 255-264.
7. H. Singer, R. Steudtner, A. S. Klein, C. Rulofs, C. Zeymer, B. Drobot, A. Pol, N. C. Martinez-Gomez, H. J. M. Op den Camp and L. Daumann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2023, e202303669.

# Chapter 4

## Publications and presentations

### 4.1 Publications Published as Part of this Thesis

**Learning from Nature: Recovery of rare earth elements by the extremophilic bacterium *Methylophilum fumariolicum***

H. Singer, R. Steudtner, I. Sottorff, B. Drobot, A. Pol, H.J.M. Op den Camp, L.J. Daumann

*Chem. Comm.* **2023**, 59 (59), 9066-9069.

**Minor Actinides Can Replace Essential Lanthanides in Bacterial Life**

H. Singer, R. Steudtner, A.S. Klein, C. Rulofs, C. Zeymer, B. Drobot, A. Pol, N.C. Martinez-Gomez, H.J.M. Op den Camp, L.J. Daumann

*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, 62 (31), e202303669.

**Americium preferred: lanmodulin, a natural lanthanide-binding protein favors an actinide over lanthanides**

H. Singer, B. Drobot, C. Zeymer, R. Steudtner, L.J. Daumann

*Chem. Sci.* **2021**, 12 (47), 15581-15587.

### 4.2 Publications Published that are not Part of this Thesis

**Assessing Lanthanide-Dependent Methanol Dehydrogenase Activity: The Assay Matters**

M.T. Phi, H. Singer, F. Zäh, C. Haisch, S. Schneider, H.J.M. Op den Camp, L.J. Daumann  
*bioRxiv* **2023**, manuscript under review at ChemBioChem

**Studies of Pyrroloquinoline Quinone Species in Solution and in Lanthanide-dependent Methanol Dehydrogenases**

N. Al Danaf, J. Kretzschmar, B. Jahn, H. Singer, A. Pol., H.J.M. Op den Camp, R. Steudtner, D.C. Lamb, B. Drobot, L.J. Daumann  
*Phys. Chem. Chem. Phys.* **2022**, *24* (25), 15397-15405.

#### **Activity assays of methanol dehydrogenases**

S.M. Gutenthaler, M.T. Phi, H. Singer, L.J. Daumann  
*Methods Enzymol.* **2021**, *650*, 57-79.

#### **Neodymium as Metal Cofactor for Biological Methanol Oxidation: Structure and Kinetics of an XoxF1-Type Methanol Dehydrogenase**

R.A. Schmitz, N. Picone, H. Singer, A. Dietl, K.-A. Seifert, A. Pol, M.S.M. Jetten, T.R.M. Barends, L.J. Daumann, H.J.M. Op den Camp  
*Mbio* **2021**, *12* (5), e01708-21.

#### **Understanding the chemistry of the artificial electron acceptors PES, PMS, DCPIP and Wurster's Blue in methanol dehydrogenase assays**

B. Jahn, N.S.W. Jonasson, H. Hu, H. Singer, A. Pol, N.M. Good, H.J.M. Op den Camp, N.C. Martinez-Gomez, L.J. Daumann  
*J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, *25* (2), 199-212.

### **4.3 Publications Published Prior to this Thesis**

#### **Sulfur mustard alkylates steroid hormones and impacts hormone function in vitro.**

R. Lüling, H. Singer, T. Popp, I. Boekhoff, H. Thiermann, L.J. Daumann, K. Karaghiosoff, T. Gudermann, D. Steinritz  
*Arch. Toxicol.* **2019**, *93* (11), 3141-3152.

#### **Highly active enzymes immobilized in large pore colloidal mesoporous silica nanoparticles**

D. Gößl, H. Singer, H.Y. Chiu, A. Schmidt, M. Lichtnecker, H. Engelke, T. Bein  
*New J. Chem.* **2019**, *43*, 1671-1680.

#### **Systematic dimensional reduction of the layered $\beta$ -FeSe structure by solvothermal synthesis**

J. Stahl, E. Shlaen, H. Singer, D. Johrendt  
*Dalton Trans.* **2018**, *43*, 3264-3271.

## 4.4 Oral Presentations

### **Selective Uptake and Binding of Lanthanides and Actinides in Methylophilic Bacteria**

H. Singer, R. Steudtner, B. Drobot, C. Zeymer, N.C. Martinez-Gomez, H.J.M Op den Camp, L.J Daumann

**11<sup>th</sup> international conference on f-elements (ICFE-11)**, Strasbourg (France), 2023

### **Selective Uptake and Binding of Lanthanides and Actinides using Lanthanide-dependent Bacteria: Paving a new way for bio-recovery of critical elements?**

H. Singer, R. Steudtner, C. Zeymer, B. Drobot, N.C. Martinez-Gomez, H.J.M Op den Camp, L.J Daumann

**10. Radiochemischer Workshop (RCA)**, Dresden (Germany), 2023

Award: 1<sup>st</sup> prize in talks

### **Radioactive elements curium and americium support methylophilic bacterial life**

H. Singer, R. Steudtner, C. Zeymer, B. Drobot, N.C. Martinez-Gomez, H.J.M Op den Camp, L.J Daumann

**XXXI. Tage der Seltenen Erden (Terrae Rarae)**, Leipzig (Germany), 2022

Award: Best student oral contribution





# Kapitel 5

## Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie

### 5.1 Zusammenfassung

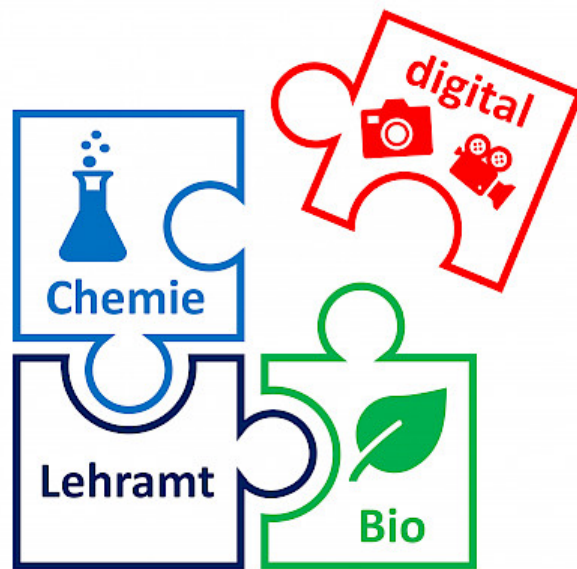


Abbildung 5.1: Logo des Projekts „Vernetztes Curriculum“.

Chemie und Biologie sind thematisch benachbarte Fächer, wobei fächerverbindende sowie fachübergreifende Aspekte vorhanden sind. Diese thematische Nähe wird auch bei der Wahl der in Bayern möglichen Fächerkombinationen im vertieften Lehramtsstudiengang von Studierenden genutzt: So entscheiden sich ca. 83 % der Studierenden im vertieften Lehramt (Gymnasium) an der Universität München für die Kombination Chemie und Biologie, und lediglich 17 % für die Kombination Chemie und Geographie (Abfrage beim Studierendensekretariat der LMU, Stand 2022). Besonders in Teilfächern wie Biochemie

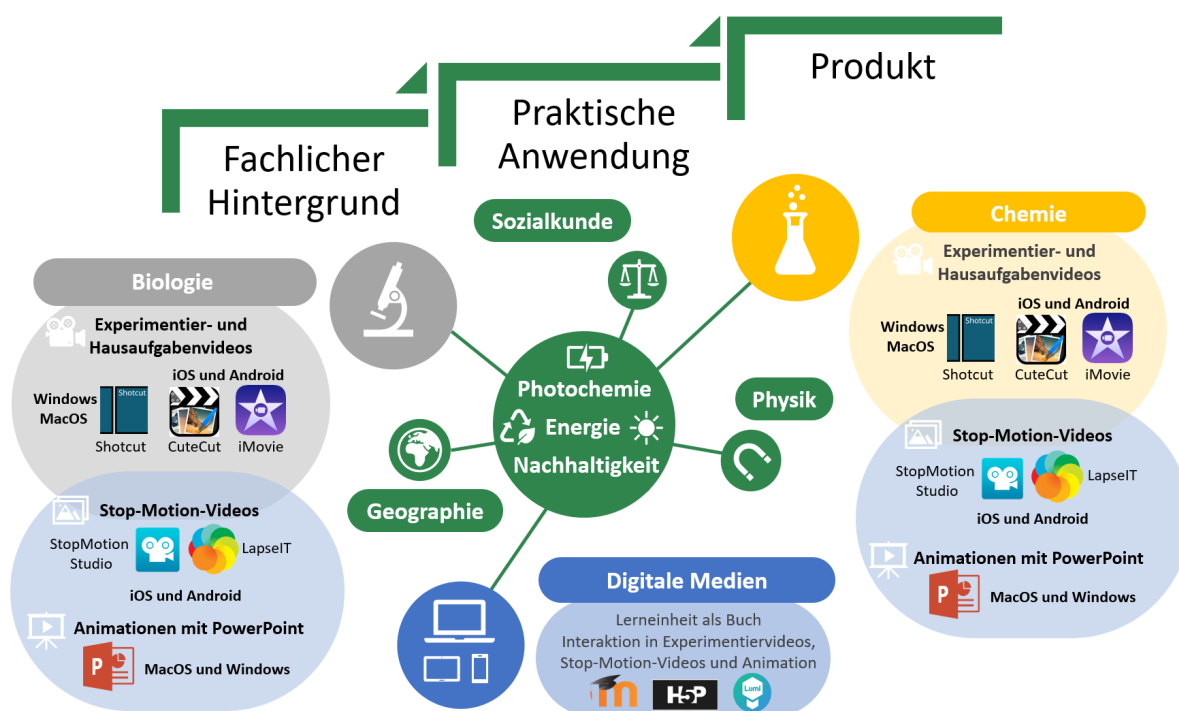
oder Molekularbiologie werden die offensichtlichen Bezüge und Überschneidungen deutlich, aber auch in anderen Bereichen sind dieselben Konzepte vorhanden, wie zum Beispiel Redoxchemie oder das Säure-Base-Konzept. Nicht nur im Lehramtsstudium hat das fächerverbindende Lernen Einzug gehalten, auch der aktuelle kompetenzorientierte LehrplanPLUS in Bayern fordert Inhalte aus den einzelnen naturwissenschaftlichen Fächern zu verknüpfen. Damit werden vernetztes Denken und die Fähigkeit verschiedenste Aufgaben- und Problemstellungen lösen zu können, gestärkt. Das Fachprofil Chemie zeigt bei übergreifenden Bildungs- und Lernzielen auf, wie weitere Vernetzungen und Überschneidungen zu anderen Fächern geschaffen werden können.

Trotz dieser Nähe profitieren Lehramtsstudierende mit der Fächerkombination Chemie und Biologie kaum von den zahlreichen Bezügen, da diese nur selten von den Studierenden selbstständig erkannt werden. Dies liegt unter anderem daran, dass die Zusammenhänge erst im fortgeschrittenen, vertieften Studium behandelt werden. Diese lernen die Studierenden in den zeitlich sehr beschränkten Lehramtscurricula nur in knappen Auszügen kennen. Vorangegangene, vom Münchener Zentrum für Lehrerbildung (MZL)-geförderte Projekte und Aktivitäten im Rahmen mehrerer Multiplikatoren-Projekte haben gezeigt, dass vor allem durch die Betonung von Zusammenhängen ein motivierenderes Studienklima geschaffen werden kann. Entsprechend wurde versucht, die Lehrveranstaltungen der Chemie zu optimieren. Das Hauptübel jedoch – die viel zu geringe Zeit für jedes einzelne Fach eines Lehramtsstudiengangs – setzte einem in Klausur- und Staatsexamensleistung messbaren Erfolg enge Grenzen. Eine deutliche Verbesserung des Studienerfolgs sollte nun mit dem „Vernetzten Curriculum Chemie/Biologie“ erreicht werden. Dabei wird versucht, ein nachhaltiges Verständnis für die Konzepte der Fächer und einer Verknüpfung von fächerverbindendem Wissen zu fördern.

In der ersten Phase des durch das Münchner Zentrum für Lehrerbildung geförderten Projekts sollen bereits direkte sowie auch indirekte Überschneidungen zwischen relevanten Vorlesungen der Biologie und Chemie identifiziert, und Themenschwerpunkte erfasst werden (Maßnahme 1). Diese sollen basierend auf den Pflichtveranstaltungen aus Biologie und Chemie, welche die Lehramtsstudierenden während des Studiums absolvieren, ausgewählt werden. Anschließend sollen die Themenschwerpunkte nochmals aufgearbeitet werden, mit einer kurzen Einführung in die entsprechenden Themen, um als Wissenslernkarten die Vernetzungen zwischen den verschiedenen Themengebieten auch visuell darstellen zu können (Maßnahme 3).

Des Weiteren hat sich durch die Corona-Pandemie gezeigt, dass es unabdingbar für angehende Lehrkräfte ist, Konzepte und Ressourcen für Online-Unterricht zu kennen und diese auch anzuwenden. Die schnell voranschreitende Digitalisierung bietet vielfältige Möglichkeiten, Unterrichtsinhalte ebenfalls zu verknüpfen. Deshalb wurde im Verlaufe des Projekts und im Zuge der Corona-Pandemie der Fokus verstärkt auch auf die Einbindung von digitalen Lehr-Lernmaterialien gelegt, um die Studierenden mit den „Werkzeugen“ des E-Learnings vertraut zu machen. Im Zuge des Projekts sollen Seminare für Lehramtsstudierende durchgeführt und etabliert werden, welche die Studierenden bei der Erstellung von fächerverbindenden, naturwissenschaftlichen digitalen Lehr-Lernszenarien unterstützen (Maßnahme 2). Die Lehramtsstudierenden sollen zu konkreten Themen

wie Photochemie, Nachhaltigkeit oder Energie selbständig fächerverbindende Aspekte reflektieren und dafür digitale Lehr-Lernszenarien ausarbeiten (Abbildung 5.2). Die Behandlung der genannten Themen kann aus vielen verschiedenen Perspektiven erfolgen. Dabei können ökologische, ökonomische und soziale Komponenten berücksichtigt werden, welche in unterschiedlichen Schwerpunkten und Konzepten eine Anknüpfung an den LehrplanPLUS in verschiedenen Jahrgangsstufen bieten. Zusätzlich können bei den Themen die Ziele für nachhaltige Entwicklung (SDGs) hervorgehoben werden.<sup>[216]</sup> Dementsprechend eignen sich diese Themen hervorragend für ein fächerverbindendes und fachübergreifendes Seminar im vertieften wie nicht vertieften Lehramtsstudiengang.



**Abbildung 5.2:** Übersicht über die im Seminar behandelten Themen, Inhalte, und verwendeten Software-Tools zur Erstellung von fächerverbindenden, naturwissenschaftlichen und digitalen Lehr-Lernszenarien. Die Studierenden können, nachdem ihnen der fachliche Hintergrund vermittelt wurde, in der praktischen Anwendung ein eigenes Lehr-Lernprodukt erstellen. Die Oberthemen Photochemie, Energie und Nachhaltigkeit können dabei aus verschiedenen Perspektiven beleuchtet werden. So können beispielsweise Aspekte aus der Sozialkunde, Geographie und Physik inkludiert werden, wobei der Fokus aber auf chemischen und biologischen Betrachtungen liegt.

Des Weiteren werden didaktische Aspekte beleuchtet. Die Studierenden reduzieren für die interaktive Lerneinheit die fachlichen Inhalte didaktisch passgenau für eine von ihnen gewählte Zielgruppe und erstellen mithilfe von Tools entsprechende Lerninhalte dafür eigenständig. Die verwendeten (digitalen) Tools sind kostenlos und plattformunabhängig verfügbar im Sinne der digitalen Barrierefreiheit. Die Studierenden schlüpfen selbst in die Rolle des *Content Creators*, bauen Berührungspunkte bei der Verwendung von digitalen Tools ab und werden in die Lage versetzt, diese später im Unterricht einzusetzen. Die

Lernmaterialien und das Gesamtkonzept werden im Sinne der didaktischen Rekonstruktion kontinuierlich reflektiert.<sup>[217,218]</sup> Zusätzlich wird die Scientific Literacy der Studierenden gefördert und die thematischen Bezüge und Verknüpfungen der beiden Wahlfächer (hier: Chemie und Biologie, oder Chemie und Geographie) deutlich. Da die einzelnen Tools wie z.B. Stop-Motion-Videos direkt im Unterricht auch von Schülerinnen und Schülern unter Anleitung der Lehrkraft erstellt und verwendet werden können, wird auch das methodische Training gefördert. Neben dem Einüben neuer Unterrichtsformate und Methodentools können die Studierenden diese selbst später gewinnbringend im Schulunterricht anwenden. Basierend auf unterschiedlichen Inhalten aus digitaler Bildung, Fachwissenschaft und Fachdidaktik kann im Seminar für Studierende eine Lernumgebung geschaffen werden, in welcher die Verzahnung von Fachwissenschaft und Fachdidaktik an konkreten Beispielen aufgezeigt wird.

Die resultierenden Materialien, zusammen mit den in Maßnahme 3 erarbeiteten Wissenslernkarten, werden als Open Educational Ressource in einem frei zugänglichen Moodle-Kurs gepflegt und kontinuierlich erweitert (Maßnahme 4). Dadurch wird ein nachhaltiger Mehrwert nicht nur für die Studierenden, sondern auch für Dozierende, Lehrkräfte und Interessierte generiert.

## 5.2 Das vertiefte Lehramtsstudium der Chemie und Biologie an der LMU

Für das Lehramtsstudium für Gymnasien sind in Bayern verschiedene Fächerkombinationen möglich, wobei das Studium neben den Erziehungswissenschaften das vertiefte Studium zweier Fächer bzw. eines Doppelfachs umfasst. Mit Chemie als Unterrichtsfach ist lediglich als weiteres Fach Biologie, Englisch, Geographie, Informatik, Mathematik oder Physik vorgesehen. Im vertieften Lehramtsstudiengang Chemie (Unterrichtsfach 1) wird als weiteres Unterrichtsfach (Unterrichtsfach 2) an der LMU lediglich Biologie und Geographie angeboten, wobei der Großteil der Studierenden (83 %) sich für ersteres entscheidet. Die Studierenden müssen dabei in den zwei Unterrichtsfächern jeweils insgesamt 105 ECTS einbringen (Abbildung 5.3), welche sich mit 93 ECTS aus Fachwissenschaft, und 12 ECTS aus Fachdidaktik zusammensetzen. Des Weiteren müssen Erziehungswissenschaften (36 ECTS), Schulpraktika (9 ECTS) und Wahlpflichtmodule (18 ECTS) absolviert werden. Die Studierenden nehmen im Anschluss an der ersten Staatsexamensprüfung teil, und nach zwei Jahren Referendariat folgt das zweite Staatsexamen. Alternativ kann nach dem (bestandenen) ersten Staatsexamen auch eine Promotion angestrebt werden. Um den Lehrberuf ausüben zu können, werden jedoch ein Referendariat sowie ein bestandenes zweites Staatsexamen vorausgesetzt.



**Abbildung 5.3:** Übersicht und Studienverlauf über die im vertieften Lehramtsstudiengang zu absolvierenden Leistungen, die ECTS-Punktverteilung in Klammern angegeben.

Das Chemie- sowie das Biologie-Lehramtsstudium setzen sich aus Fachwissenschaft und Fachdidaktik zusammen. Diese zwei Schwerpunkte greifen oft ineinander, und werden parallel, oder aufeinander aufbauend abgehalten. So werden teilweise fachwissenschaftliche Grundlagen benötigt, um an fachdidaktischen Veranstaltungen teilnehmen zu können. Beispielsweise kann das fachdidaktische Modul in der Chemie P5: „Grundlagen des fachbezogenen Lehrens und Lernens“ erst nach der erfolgreichen Teilnahme am fachwissenschaftlichen Modul P2: „Analytische Chemie“ absolviert werden. Durch die Modularisierung des Studienganges ist der empfohlene zeitliche Rahmen eng gesteckt, sowie eine freie Wahl von Vorlesungen begrenzt, und Wahlmöglichkeiten (als Wahlpflichtmodule) und der freie Bereich sind erst im fortgeschrittenen Studium vorgesehen (bezieht sich auf Studienstart vor 2020/2021). Zur Übersicht wurden die Vorlesungen der Fachwissenschaften in Chemie und für Biologie im Folgenden dargestellt (Abbildung 5.4), wobei Studierenden mit Studienbeginn ab dem Wintersemester 2020/2021 ein verändertes modularisiertes Curriculum in Biologie durchlaufen. Dabei wurden unter anderem die Module neu untergliedert und die empfohlene Reihenfolge verändert, wobei der Fokus nun auf der allgemeinen und organismischen Biologie (P1, P3), der Physiologie (P4, P5), der Molekular- und Zellbiologie (P6, P7), sowie der Ökologie, Verhaltensbiologie und Evolutionsbiologie (P8, P13) liegt. Die Schwerpunkte wurden dabei größtenteils beibehalten, lediglich Zellbiologie ist nun verpflichtend, dies war im alten Curriculum optional. Zusätzlich findet sich jetzt ein Modul zu Grundlagen der Mathematik in dem neuen Curriculum, sowie ein Grundmodul zur Allgemeinen und Organismischen Biologie (P1) zu Beginn des Studiums. Dieses soll breitgefächerte, themenverbindende Einblicke in die verschiedenen Aspekte des Biologiestudiums ermöglichen. Des Weiteren wurden die Wahlpflichtmodule jetzt bereits im vierten Semester beginnend angesiedelt, und nicht wie davor erst im neunten Semester. Ziel der Umstrukturierung des Biologie-Curriculums war es, unter anderem, die Themenbereiche besser aufeinander zu beziehen, und mögliche Vernetzungen und Verknüpfungen ersichtlicher für die Studierenden herauszuarbeiten. Da das Projekt bereits im Jahr 2019 begonnen hat, beziehen sich alle Ergebnisse auf das Biologie-Curriculum vor der Veränderung 2020/2021, jedoch sollten die Querbezüge auch auf das neue Curriculum anwendbar sein, da die Kernbereiche und Grundkonzepte für das Biologiestudium trotz Umstrukturierung im Wesentlichen gleichgeblieben sind. Im Curriculum nach der alten Studienordnung werden in den ersten beiden Semestern Botanik und Zoologie (P1-P3) fokussiert, anschließend werden auch Aspekte der Mikrobiologie (P4), Humanbiologie (P5) sowie der Genetik (P8) behandelt. Auch absolvieren die Studierenden Veranstaltungen im Bereich Ökologie (P6) und Tierphysiologie (P9). Dies ist auch mit den Aufgabengruppen des ersten Staatsexamens abgestimmt. So können die Studierenden aus einer von drei Aufgaben aus den Bereichen Zoologie (inkludiert Aspekte der Genetik, Evolutionsbiologie und Ökologie) und Humanbiologie (mit Inhalten der Tierphysiologie) wählen, ebenso für den Bereich Botanik (mit Mikrobiologie und Genetik) und die Fachdidaktik ist eine Wahl vorgesehen.

## 5.2 Das vertiefte Lehramtsstudium der Chemie und Biologie an der LMU 151

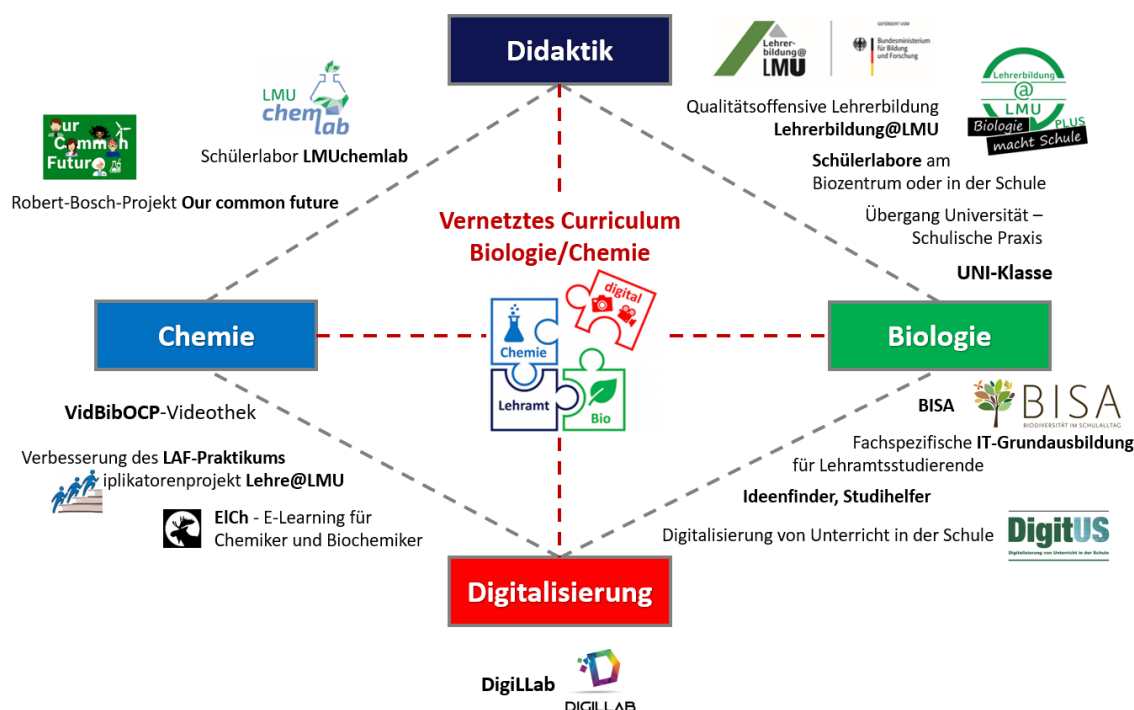
Vorlesungen der Fachwissenschaften aus der <b>Chemie</b>	Vorlesungen der Fachwissenschaften aus der <b>Biologie</b>	
	Vor 2020/2021	Nach 2020/2021
<b>P1: Allgemeine Anorganische und Organische Chemie</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Allgemeine und Anorganische Chemie I</li> <li>• Organische Chemie I</li> </ul>	<b>P1: Botanik</b>  <b>P2: Zoologie</b>	<b>P1: Allgemeine und Organismische Biologie</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vielfalt des Lebens</li> <li>• Grundlegende Prinzipien der Biologie</li> </ul>
<b>P2 und P3: Analytische Chemie I und II</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Analytische Chemie I</li> <li>• Analytische Chemie II</li> </ul>	<b>P3: Diversität und Evolution Eukaryotischer Organismen</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Systematik I und II</li> <li>• Artenvielfalt Botanik</li> <li>• Artenvielfalt Zoologie</li> </ul>	<b>P2: Grundlagen der Mathematik</b>  <b>P3: Methoden der Organismischen Biologie</b>
<b>P4 und P7: Physikalische Chemie I und II</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Physikalische Chemie I</li> <li>• Physikalische Chemie II</li> </ul>	<b>P4: Mikrobiologie</b>  <b>P5: Humanbiologie</b>	<b>P4: Physiologie</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Physiologie der Mikroorganismen/Pflanzen</li> <li>• Tier- und Humanphysiologie</li> </ul>
<b>P6: Biochemie</b>	<b>P6: Ökologie und Evolution</b>	<b>P5: Methoden der Physiologie</b>
<b>P10: Physik</b>	<b>P8: Genetik und Humanbiologie II</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Genetik I</li> <li>• Humanbiologie II</li> </ul>	<b>P6: Molekular- und Zellbiologie</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Grundlagen der Molekularbiologie</li> <li>• Grundlagen der Zellbiologie</li> </ul>
<b>P11: Anorganische Chemie</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anorganische Chemie II</li> <li>• Anorganische Chemie III</li> </ul>	<b>P9: Tierphysiologie</b>	<b>P7: Methoden der Molekular- und Zellbiologie</b>
<b>P13: Organische und Naturstoff-Chemie</b>		<b>P8 und P13: Ökologie, Verhaltensbiologie und Evolutionsbiologie</b>

**Abbildung 5.4:** Module und die zugehörigen Vorlesungen im vertieften Studium mit Fächerkombination Biologie und Chemie. Aufgeführt sind die den Fachwissenschaften zugeordneten Veranstaltungen. Aufgrund der Neustrukturierung des Biologie-Curriculums ab dem Wintersemester 2020/2021 werden ehemalige sowie aktuelle Module aufgeführt, wobei die aktuellen ausgegraut sind.

Das Chemiestudium im vertieften Bereich hat als Ziel Grundlagen (P1) und fortgeschrittenes (P11, P13) Wissen in anorganischer und organischer Chemie zu vermitteln. Zusätzlich werden auch Veranstaltungen zu analytischer Chemie (P2, P3) absolviert, meist als Ergänzung zu den Praktika, welche vor allem anorganische Schwerpunkte setzen. Zusätzlich werden physikalische Themen (P4, P7, P10) im fortschreitenden Studium behandelt. Dadurch wird versucht, den Studierenden im Studienfach Chemie ein bereitgefächertes Wissen in anorganischer, organischer und physikalischer Chemie zu vermitteln. Dieses basiert zunächst auf Grundvorlesungen, welche dann im weiteren Verlauf in fortgeschrittenen Veranstaltungen vertieft werden können. Zusätzlich werden zu den einzelnen Schwerpunkten auch Praktika angeboten. Für Biochemie ist ein eigenes Modul (P6) vorgesehen. Auch im vertieften Studium der Fachwissenschaften Chemie werden alle Grundlagen für die Staatsexamensbereiche Anorganische/Physikalische Chemie sowie Organische/Bioorganische Chemie vermittelt. Zusätzlich wird auch der Bereich Fachdidaktik der Chemie abgedeckt werden.



## 5.3 Stand der Vorarbeiten



**Abbildung 5.5:** Übersicht über die vorangegangenen und aktuell geförderten Projekte im Bereich Biologie, Chemie, Didaktik und Digitalisierung. Überschneidungen bzw. Zuordnungen zu zwei Themenbereichen werden dadurch gezeigt, dass die Projekte zwischen den Themen platziert sind. Das Logo des vernetzten Curriculums ist zentral eingeordnet, da es Aspekte aus allen vier Disziplinen beinhaltet.

### 5.3.1 Digitalisierung

Der Lehramtsstudiengang sowie Bachelor- und Masterstudiengang im Fach Chemie an der LMU sind darauf ausgelegt, gründliche Fachkenntnisse zu vermitteln und Studierende mit experimentellen Methoden vertraut zu machen. Hierbei wird besonderer Wert auf die Teilfächer Anorganische Chemie, Organische Chemie, und Physikalische Chemie gelegt. Zusätzlich zu Modulen mit den grundlegenden Vorlesungen, Übungen und Praktika wird den Lehramtsstudierenden an der LMU ein fundierter Einblick in die Fachdidaktik ermöglicht. Dabei wird auch die dynamisch fortschreitende Digitalisierung in der Lehramtsausbildung berücksichtigt (Tabelle 5.1). Die Didaktik-Abteilung setzt dabei auf den Einsatz von Tablets und Videopräsentationen, besonders im Modul Fachunterricht Konzeption und Gestaltung (P12) sowie im Wahlpflichtmodul Fachdidaktisches Erforschen, Urteilen und Weiterentwickeln von Praxis (P9). Studierende können im Kontext der didaktischen Konzeption von Schulstunden den Einsatz von digitalen Medien ausprobieren und erlernen, um die Methoden und Tools anschließend auch in ihrem eigenen Unterricht verwenden zu können.

**Tabelle 5.1:** Derzeit vorhandene Module mit Fokus auf digitalen Methoden der Chemiedidaktik.

Modulbezeichnung	Modulteile	Art der Veranstaltung	Semester
P12: Fachunterricht - Konzeption und Gestaltung	Übungen im Demonstrieren und Vortragen (je ein anorganisch-chemischer, physikalisch-chemischer und organisch-chemischer Teil)	Übung	7
P15: Fachdidaktisches Erforschen, Urteilen und Weiterentwickeln von Praxis	Einsatz des Computers in der Unterrichtspraxis für alle Lehramtsstudierende	Seminar	Ab 4.
	Einsatz von Medien im Chemieunterricht, Verwendung und Gestaltung herkömmlicher und neuer Medien, Computereinsatz und Rhetorik	Seminar	Ab 4.

Des Weiteren wurde in einem von Januar 2016 bis Ende 2018 bewilligten Projekt „Begleitende E-Learning-Angebote zu fachwissenschaftlichen Grundvorlesungen in der Chemie“ versucht, Motivation durch Querbezüge im Fach Chemie selbst zu erzeugen. Schwerpunkt war das chemische Fortgeschrittenen-Praktikum für Lehramtsstudierende (LAF), bei dem die Lehrinhalte so verändert wurden, dass Zusammenhänge zwischen den Teildisziplinen der Chemie sichtbar werden. Als Folge von Gesprächen mit den Studierenden wurde neben neuen Praktikumsinhalten ein ca. 100-seitiges Skript für die begleitende Vorlesung zu diesem Praktikum erarbeitet. Zusätzlich entstand ein Internetangebot „Ein Thema – zwei Perspektiven: Freiwillige Selbstkontrolle Chemie und Biologie“, welches eine freiwillige Selbstkontrolle des Studienerfolges und eine Wiederholung von Erlerntem aus dem Grundstudium, zur Erschließung neuer Zusammenhänge, ermöglicht. Jedoch befand sich dieser Moodle-Kurs im Aufbau, und wurde aufgrund des Projektendes nicht weiter vervollständigt. Es wurde jedoch versucht, die bereits erstellten Materialien im kommenden Projekt zu integrieren.

Auch die praktische Ausbildung der (Lehramts)studierenden wird durch digitale Inhalte unterstützt und verbessert. Die VidBibOCP-Videothek hat zum Ziel, den Studierenden den Einstieg in grundlegende Arbeitstechniken und Handgriffe durch die Bereitstellung von Videos zu erleichtern. Darunter finden sich Tutorials zum Erlernen einer Arbeitstechnik, wobei grundlegende Prinzipien sowie die praktische Umsetzung, sowie häufige Fragen und Fehler erläutert werden. Auch finden sich Step-by-Step Videos für jeden Versuch im organisch-chemischen Praktikum für Lehramtsstudierende wieder. Des Weiteren werden „Dont’s“, mögliche Gefahrenquellen oder typische Fehler in kurzen Sequenzen gezeigt. Nicht nur in Veranstaltungen explizit für den Lehramtsstudiengang werden E-Learning-Angebote und die Medienkompetenz von Lehrenden und Studierenden gefördert.

Auch in Vorlesungen des Bachelor- und Masterstudienganges Chemie, welche ebenfalls von Lehramtsstudierenden besucht werden, werden vermehrt flexible Lehr-Lern-Formate mit innovativen Interaktionsformen etabliert. Beispielsweise werden die abgehaltenen bioanorganischen Vorlesungen durch die Socrative App, welche das Stellen von interaktiven

**Tabelle 5.2:** Derzeit vorhandene Module mit digitalen Inhalten der Biologiedidaktik.

Modulbezeichnung	Modulteile	Art der Veranstaltung	Semester
P7: Grundlagen der Biologiedidaktik	Vorlesung und Übung: Grundlagen der Biologiedidaktik für das Gymnasium	Vorlesung und Seminar	4 bzw. 5
P 10: Konzeption und Gestaltung von Biologieunterricht	Naturwissenschaftliche Arbeitsweisen: Gymnasium	Übung	6
P12: Forschungspraktikum	Erstellen von Erklärvideos für den Naturwissenschaftlichen Unterricht	Seminar	Ab 8.
	Digitale Medien im Biologieunterricht	Seminar	Ab 8.

Fragen ermöglicht, unterstützt. Des Weiteren wurde mit „ElCh - E-Learning für Chemiker und Biochemiker“ eine Plattform geschaffen, welche Inhalte der Spektroskopie-Vorlesungen visuell unterstützt.

Der Lehramtsstudiengang der Biologie und die Didaktik-Abteilung legen ebenfalls den Fokus auf die stetig fortschreitende Digitalisierung und die einsetzbaren, digitalen Tools für den Biologieunterricht (Tabelle 5.2). So sind in dem Modul „Grundlagen der Biologiedidaktik“ (P7) Vorstellungen von und Einführungen in verschiedenste digitale Tools für den Unterricht vorgesehen. Im Modul „Konzeption und Gestaltung von Biologieunterricht“ (P10) wird in einer Einführung in Naturwissenschaftliche Arbeitsweisen unter anderem das Thema Messwerterfassung für den Biologieunterricht an Schulen integriert. Als biologiedidaktisch, vertiefende Veranstaltungen können Vorlesungen zur Erstellung von Erklärvideos für den Naturwissenschaftlichen Unterricht sowie zu digitalen Medien im Biologieunterricht gewählt werden.

Auch wurde im Zuge des zunehmenden Einsatzes von digitalen Medien das durch die Initiative Digitaler Campus Bayern geförderte Projekt „Fachspezifische IT-Grundausbildung für Lehramtsstudierende des Faches Biologie“ realisiert. Hierbei wurde das Studienangebot für einen IT-gestützten Fachunterricht erweitert, wobei mediendidaktische und medientechnische Kompetenzen fokussiert wurden, um IT-Kenntnisse auch im Biologieunterricht zielgerichtet einsetzen zu können. Unter anderem konnten die Studierenden IT-Grundkenntnisse erwerben, Einblicke in die Erstellung von multimedialen Unterrichtsmaterialien (Lehrvideos, LearningApps) erhalten, sowie anschließend Unterrichtsszenarien in Moodle umsetzen.

Mit einem ähnlichen Förderzeitraum wie dieses Projekt wurde „DigitUS – Digitalisierung von Unterricht in der Schule“ gefördert. Dieses Universitäten-übergreifende Projekt hat sich zum Ziel gesetzt, ein empirisches Modell zu entwickeln, welches die Gelingensbedingungen für den Einsatz von digitalen Medien im Schulunterricht beleuchtet. Neben infrastrukturellen Bedingungen und Professionswissen von Lehrkräften soll auch der Einfluß von Lehrkräftefortbildungen zum effektiven Einsatz von digitalen Medien im Unterricht untersucht werden.

Ebenfalls wird eine laufende Kooperation des DigiLLab der LMU und das Kompetenznetzwerk Medienbildung und Digitalisierung gefördert, welche ein interdisziplinäres Kompetenzzentrum für ein erfolgreiches Unterrichten in einer digitalen Welt aufbauen. Dabei soll gemeinsam mit verschiedenen Fachdidaktiken (u.a. der Biologie) an der medienbezogenen Qualifizierung geforscht, und eine räumliche und medientechnische Infrastruktur für verschiedene Angebote geschaffen werden. Hierfür werden digitale Lernumgebungen entwickelt, und Studierende und Lehrpersonen bei der Umsetzung von Medienprojekten betreut.

Als großangelegtes Förderprojekt der Biologiedidaktik wurde von 2016 an „Biologie macht Schule (PLUS)“ durch die Qualitätsoffensive Lehrerbildung realisiert. Dabei soll die Vermittlung von fundiertem Fachwissen eng verknüpft werden mit einem gleichzeitigen Bezug zum Berufsfeld. Ziel war es, praxisorientierte Veranstaltungsangebote zu intensivieren, digitale Inhalte für Studierende und Lehrkräfte bereitzustellen, und diese Maßnahmen langfristig in das vorhandene Lehramtscurriculum zu integrieren. Dabei wurden verschiedenste Maßnahmen im Projekt als Säulen bezeichnet, welche auch die Entwicklung und Nutzung von digitalen Medien inkludieren. Innerhalb der Säule „Online Plattform für Schülerkontakte mit digitalen Medien“ ist das Projekt „Ideenfinder“ angesiedelt, welche verschiedenste digitale Inhalte (Videos, Unterrichtseinheiten mit Video-Tutorials, etc.) für den Biologie-Unterricht anbieten. Unter anderem finden sich darunter auch Materialien und Beiträge zu aktuellen Forschungsergebnissen aus der Biologie für die Schulpraxis. Das Projekt BISA – Biodiversität im Schulalltag ist als interaktive Website aufgebaut, wobei die Aspekte Lernen, Spielen und Entdecken beleuchtet werden. Mithilfe des Studihelfers wurde eine Plattform geschaffen, wobei die Studierenden die konkreten Unterrichtsbezüge basierend auf dem Lehrplan PLUS in Lernbereiche und Basiskonzepte untergliedert wiederfinden können. Ein Bezug zu den einzelnen Vorlesungsmodulen und entsprechenden Vorlesungen wird gegeben, hinterlegt mit den dazugehörigen Staatsexamensaufgaben. Für die Studierenden wurde hiermit eine klar ersichtliche, und vorlesungsübergreifende Verknüpfung für das im Staatsexamen benötigte Wissen und den entsprechenden Vorlesungen, sowie den entsprechenden Inhalten im Lehrplan geschaffen.

### **5.3.2 Verknüpfung von Fachwissenschaft und Didaktik, Stärkung des Berufsfeldbezuges**

Neben einer fachlich fundierten Ausbildung für die Fachwissenschaften selbst legen die Didaktik-Abteilungen der LMU auch einen Fokus auf die Verknüpfung von Fachwissenschaft und Fachdidaktik, und versuchen durch mehrere Projekte und Vorlesungsangebote einen Berufsbezug herzustellen. So bieten beide Abteilungen Schülerlabore an. Die Chemie-Didaktik ermöglicht es Schulklassen der Sekundarstufe 1 selbständig zu experimentieren und zu forschen in einer Lernumgebung, welche an den aktuellen Lehrplan gekoppelt ist. Dabei werden auch Kooperation, Inklusion und Sprachsensibilität berücksichtigt, sowie gestufte Lernhilfen und Tablets eingesetzt.

Den Lehramtsstudierenden wird im Zuge eines fachspezifischen Erweiterungsseminars die Betreuung von Schülerinnen und Schülern im Schülerlabor ermöglicht. Des Weiteren wurde durch das Förderprogramm „Our common future“ das Projekt „Innovative Methoden zum Recycling von Seltenerd-Metallen aus Alltagsgegenständen“ ermöglicht, bei welchem eine Schulklasse der Oberstufe im Rahmen eines W-Seminars an der Universität zum Thema Nachhaltigkeit forschen konnte, ebenfalls betreut durch Lehramtsstudierende. Auch die Didaktik der Biologie hat im Zuge des „Biologie macht Schule (PLUS)“ Schülerlabore geschaffen, um das Angebot an Veranstaltungen und Seminaren zu erweitern, für eine praxisorientiertere Gestaltung der fachwissenschaftlichen sowie der fachdidaktischen Lehramtsausbildung. Die integrierten Schülerlabore stärken den Berufsfeldbezug, da die Studierenden mit Schülerinnen und Schülern einen Praktikumstag an der Fakultät zu verschiedensten Themen (z.B. Wurzelsymbiose und Gentechnik als Schlüssel der Nachhaltigen Ernährung?, Nahrungsnetz im Ökosystem See, Artenvielfalt) selbständig betreuen und organisieren. Dadurch wird auch der Transfer von praxisorientierten Versuchen in den Schulunterricht erleichtert. Zusätzlich wurde das Schülerlabor-Angebot im Zuge des „Biologie macht Schule ToGo“-Projekts noch weiter ausgebaut. Die Studierenden absolvieren zunächst Veranstaltungen an der Fakultät und erhalten dabei Input zur Fachwissenschaft (z.B. Einweisung in die Geräte und Materialien) und Didaktik (z.B. Einbettung in den Lehrplan, Biologiedidaktische Grundlagen). Auch setzen sie sich näher mit ihrem Material-Koffer auseinander, welcher im Anschluss im Schulunterricht an einer externen Schule eingesetzt wird. Anschließend erfolgt anhand des Feedbacks aus der Schule, einer Selbstreflexion sowie Reflexion in der Gruppe eine Bewertung des Lehr- und Lernerfolges.

Darüber hinaus wurde auch eine UNI-Klasse an einem Münchner Gymnasium eingerichtet, in welcher die Studierenden in einem Seminar Unterrichtsstunden und deren Konzepte erproben und evaluieren können mithilfe von technischer Unterstützung (Kamerasystem, Akustikraum). Dabei liegt der Fokus auf biologiespezifischen Unterrichtsqualitätsmerkmalen und Arbeitsweisen. Es handelt sich um einen naturwissenschaftlichen Fachraum, wobei unter anderem ein flexibles Mobiliar genutzt wird, um Arbeiten mit verschiedenen Sozialformen und (digitalen) Medien zu ermöglichen. Die videographische Aufzeichnung der Stunden wird ebenfalls für die Reflektion von und für Lehr- und Forschungszwecken genutzt. Ziel ist es u.a., das fachdidaktische Wissen sowie den Praxisbezug zu fördern, auch im Sinne der Professionalisierung aller drei Phasen der Lehrkräfteausbildung.

Zusätzlich wurde das Praxismodul „Übergang Universität – Schulische Praxis“ von der Didaktik der Biologie eingeführt, in welchem verschiedene Vertreter aus der Unterrichtspraxis (z.B. Seminarlehrerkräfte) Workshops schulartspezifisch zu zahlreichen Themen (z. B. Schalenmodell zur Unterrichtsplanung, Inklusion beim naturwissenschaftlichen Arbeiten) in den Pflicht- und Wahlpflichtfächern anbieten. Dadurch soll ebenfalls der Berufsfeldbezug gestärkt werden durch einen frühzeitigen Kontakt mit dem Praxisfeld Schule.

## 5.4 Projektziele

Das interdisziplinäre Projekt „Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie“ verknüpft die Fachwissenschaften Biologie und Chemie mit Aspekten der Digitalisierung und unter fachdidaktischen Gesichtspunkten. Hauptziel des Projekts ist es, dass die Lehramtsstudierenden ein Verständnis für die Konzepte ihrer Fächer entwickeln, dieses vertiefen, und anwenden können. Dabei sollen Querbezüge nicht nur in den offensichtlich überlappenden Teilfächern mit biochemischen Inhalten gesucht werden, sondern es sollen Kernbereiche der Chemie und Biologie aufeinander bezogen werden. Das Fachwissen der einzelnen Fächer soll gefördert, Inselwissen verknüpft, und fächerverbindende naturwissenschaftliche Aspekte hervorgehoben werden. Dabei sollen die Studierenden möglichst aktiv eingebunden werden, was unter anderem durch die abgehaltenen Seminare erreicht werden soll. Auch werden die Studierenden im Einsatz und der Erstellung von fächerverbindenden, digitalen Lehr-Lerninhalten geschult, welche im Schulalltag immer mehr eine zentrale Rolle spielen. Die Studierenden setzen sich dabei mit verschiedenen digitalen Lehrformaten auseinander, planen, konzipieren und realisieren diese, auch unter der Berücksichtigung von fachdidaktischen Aspekten. Zusätzlich soll das Projekt losgelöst werden von der universitären Ebene, und auch anwendbar auf den Schulunterricht sein, in analoger sowie digitaler Form. Mit all den genannten Maßnahmen soll erreicht werden, dass sich die Lehramtsstudierenden in einem breit aufgestellten, naturwissenschaftlichen Curriculum sehen, fächerverbindende Konzepte erkennen und diese auch in ihrem zukünftigen Unterricht berücksichtigen und anwenden können.

## 5.5 Projektergebnisse

### 5.5.1 Anforderungen

Zu Beginn des Projekts im Januar 2019 wurde versucht, in einen Erfahrungsaustausch mit den verschiedenen Zielgruppen des Projekts zu treten, um die Anforderungen an das Projekt zu definieren (Abbildung 5.6). Dafür wurde zunächst Kontakt zu Dozierenden der für das vertiefte Biologie- sowie Chemie-Lehramtsstudium relevanten Vorlesungen hergestellt, um diese auf das Projekt aufmerksam zu machen sowie Zugriff auf die Vorlesungsmaterialien und Inhalte zu erhalten. Bis auf einige wenigen Ausnahmen konnten Vorlesungsunterlagen für das Lehramtsstudium im vertieften Bereich mit Fächerkombination Biologie/Chemie bereitgestellt werden. Die Resonanz der Dozierenden auf das Projekt war durchwegs positiv. Mit den bereitgestellten Unterlagen erfolgte anschließend eine Identifizierung von Quervernetzungen zwischen Chemie und Biologie-Vorlesungen (später als Maßnahme 1 definiert). Einerseits wurden direkte thematische Überschneidungen gesucht, andererseits wurde versucht, gleiche Konzepte und Grundlagen in den verschiedenen Themenbereichen zu finden. Diese wurden im Zuge der Kick-off-Veranstaltung im Februar 2019 den Dekanen der beiden Fakultäten, Koordinatorinnen und Koordinatoren, sowie Mitwirkende der Didaktik-Abteilungen präsentiert, diskutiert und weitere Quervernetzungsbezüge beim Treffen identifiziert. Zusätzlich wurden auch Schlüsselpersonen und Ansprechpartner benannt. Auch wurde der Wunsch geäußert, dass die Ergebnisse des Projekts den Dozierenden zur Verfügung gestellt werden, damit diese über mögliche Vernetzungsmöglichkeiten informiert werden, um diese auch gewinnbringend in ihre Vorlesungen einbringen zu können.

Die Lehrkräftefortbildung des Schülerinfotages 2019 wurde ebenfalls genutzt, um das Projekt und dessen Ziele auch Lehrkräften zu präsentieren und Eindrücke zu erhalten, basierend auf den Erfahrungen der Lehrpersonen aus ihrem Studium und den Unterricht an Schulen. (Hierbei handelt es sich um individuelle Meinungen, nicht um allgemeingültige, belegte Aussagen.) Zunächst wurden die Lehrkräfte zu Erfahrungen bezüglich ihrer Vorbereitung auf das Staatsexamen befragt. Hier zeigten sich deutliche Unterschiede. Lehrkräfte, welche bereits das modularisierte Lehramtsstudium (aktuell, Prüfungsordnung ab Wintersemester 2009/2010) durchlaufen haben, beklagten die kaum vorhandene Flexibilität und Auswahlmöglichkeiten bzw. Spezialisierungsmöglichkeiten. Lehrpersonen, welche vor der Modularisierung ihr Studium abgeschlossen hatten, merkten an, dass sie um einiges freier in der Wahl ihrer Schwerpunkte waren, und ihr Studium stark nach ihren persönlichen Interessen ausrichten konnten. Dies wurde kontrovers aufgefasst, da einerseits mehr Zeit für die Auseinandersetzung mit dem Stoff sowie zur Reflexion vorgesehen war, sich jedoch dadurch auch meist die Studienzeit verlängerte. Auch wurde angemerkt, dass die Vorbereitung auf das Staatsexamen vor der Modularisierung als aufwendiger beschrieben wurde, da gewisse Inhalte am Ende des Studiums erstmals gelernt werden mussten. Dementgegen stand, dass durch die Modularisierung die meisten Inhalte mit einer benoteten Klausur am Ende der Veranstaltung abgeprüft werden, wodurch die Inhalte bereits hier das erste Mal gelernt und reflektiert werden müssen. Auch wurde u. a. eruiert,



**Abbildung 5.6:** Von Studierenden, Dozierenden und Lehrkräften formulierte Wünsche und Anforderungen an das Projekt Vernetztes Curriculum. Diese wurde zu Beginn des Projekts durch Gespräche mit den entsprechenden Zielgruppen herausgearbeitet, bzw. waren durch vorangegangene Projekte bekannt.

ob eine Verknüpfung von Chemie und Biologie sowie Chemie und Geographie möglich oder wünschenswert ist und die Frage diskutiert, ob sich Lehrkräfte während ihres Studiums eine stärkere Verknüpfung und Verzahnung ihrer Fächerwahl gewünscht hätten. Hier wurde vor allem deutlich, dass ein Zusammenwachsen der Fachbereiche Biologie und Chemie zu einem naturwissenschaftlichen Studium nicht unbedingt erwünscht ist, da in der Schule wieder eine strikte Trennung zwischen den zwei Disziplinen vorherrscht. Es wurde angemerkt, dass die meisten Schulen aber versuchen, die gleichen Lehrpersonen für die Kombination Biologie/Chemie in einer Klasse einzusetzen. Dadurch kann durch die Lehrkraft selbst ein direkter Bezug hergestellt werden, oder auf fächerverbindende und fächerübergreifende Themen hingewiesen werden, wovon vor allem die Schülerinnen und Schüler profitieren. Die Idee einer Konzipierung eines Seminars, in welchem Lehramtsstudierende selbst aktuelle Themen aus biologischer und chemischer Sicht erarbeiten, mit gelernten Wissensbausteinen verknüpfen und fächerverbindende Konzepte herausarbeiten, wurde sehr positiv aufgefasst. Es wurde angemerkt, dass die Themenwahl nicht nur anhand des Lehramts-Curriculums erfolgen sollte, sondern auch mit schulischen Inhalten des LehrplanPLUS abgestimmt sein sollte. Die Idee, die erstellten Materialien anschließend auf einer frei zugänglichen Plattform im Sinne der Open Educational Resources (OER) für eine Nutzung im Schulunterricht bereitzustellen, wurde ebenfalls begrüßt.



Studierende wurden ebenfalls in Vorarbeiten (MZL-geförderte Projekte und Aktivitäten im Rahmen mehrerer Multiplikatoren-Projekte) befragt, wie die Motivation für die einzelnen Studienfächer über die Semester hinweg hochgehalten werden kann. Des Weiteren wurde auch versucht, Ursachen eines vor allem in der Chemie beobachteten und bei den Lehrenden zunehmend beklagten geringen Lernerfolgs zu ermitteln und Maßnahmen zu identifizieren, wie dieser Missstand behoben werden kann. Als ein zentraler Punkt wurde herausgearbeitet, dass u.a. durch die Betonung von Zusammenhängen in den unterschiedlichen Fächern ein besserer Lernerfolg erreicht werden kann. Ein immer wieder genannter Punkt war ebenfalls die mangelnde Einsicht in Zusammenhänge. Währenddessen wurde im Anfängerbereich evaluiert, wo sich Lehramtsstudierende durch spezifische Lernhemmnisse behindert sehen. Hier wurden vor allem Lücken in der Vorbildung identifiziert, die es gleich zu Studienbeginn erschweren, von den Dozenten hergestellte Bezüge zum Schulstoff und zum Alltag als solche zu erkennen. Die genannten Punkte wurden ebenfalls für die Planung des Projekts berücksichtigt.

## 5.5.2 Projektplan

Basierend auf Wünschen, Anforderungen und dem Feedback von Dozierenden und Lehrkräften (Abbildung 5.6), und nach Sichtung der Vorarbeiten wurde ein Konzept und Projektplan für das „Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie“ erstellt (Abbildung 5.7), und dieser über die vierjährige Laufzeit konkretisiert.

Das Projekt wurde in vier Maßnahmen unterteilt, welche auch teilweise ineinander greifen. Zunächst wurden zu Beginn des Projekts 2019 die Inhalte der Pflichtvorlesungen in Biologie und Chemie gesichtet, um Quervernetzungen zwischen den relevanten Grundvorlesungen für das vertiefte Lehramt zu identifizieren (Maßnahme 1). Anschließend wurden die Themengebiete nochmals in Seminaren aufgegriffen, um die Studierenden aktiv einzubinden, und eine selbständige Reflektion von verschiedenen fächerverbindenden Aspekten zu ermöglichen (Maßnahme 2). Auch sollten die Studierenden in den Seminaren in der Nutzung von digitalen Tools geschult werden, um diese sicher und gewinnbringend in ihrem eigenen Unterricht einbringen zu können. Der Start der Seminare wurde für das Wintersemester 2019/2020 angedacht, wobei verschiedene Konzepte bis Mitte 2022 erprobt wurden. Auch wurde dabei eine Befragung der Studierenden nach dem Seminar durchgeführt, ob sie nun thematische Vernetzungen besser identifizieren können. Parallel zur Etablierung von verschiedenen Seminaren sollten die identifizierten Quervernetzungen genutzt werden, um Wissenslandkarten zu erstellen (Maßnahme 3). Einerseits wurden alle Vernetzungen thematisch gruppiert und bezogen aufeinander dargestellt, andererseits sollten die einzelnen Themen kurz und prägnant aufgearbeitet werden. Dafür wurden verschiedene digitale Lösungen getestet. Die Wissenslandkarten entstanden parallel zur Abhaltung des Seminars, dafür wurde der Zeitraum bis Mitte 2022 vorgesehen. Abschließend wurden die erarbeiteten Ergebnisse nachhaltig gesichert, und für alle Interessenten (Studierende, Dozierende, Lehrkräfte) sollten diese frei zugänglich sein (Maßnahme 4). Dafür wurde die Moodle-Plattform genutzt, ein eigens dafür eingerichteter Kurs wurde mit einem Gastzugang erstellt. Die Bekanntmachung der Materialien sollte



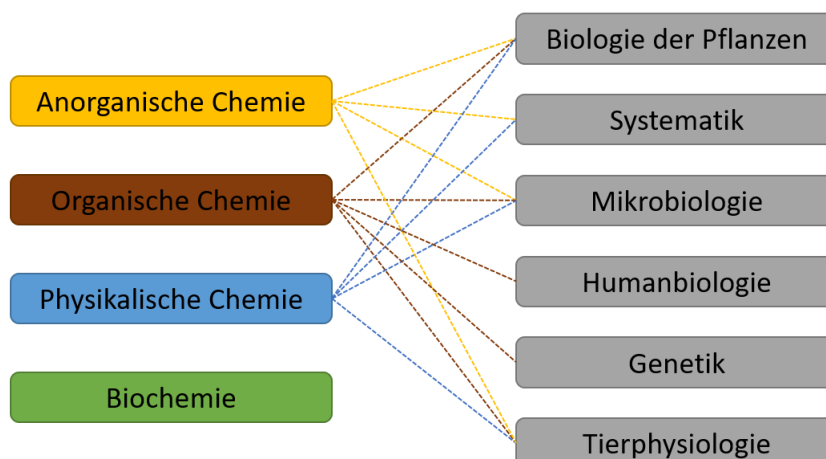
**Abbildung 5.7:** Projektplan, Maßnahmen und zeitlicher Verlauf des Projekts Vernetztes Curriculum. Dabei sollen die von 2019 bis 2022 realisierten Maßnahmen zu einer Verbesserung des Studienerfolges im Sinne eines nachhaltigeren Verständnisses der Studierenden beitragen.

über die Webseiten der Biologie- und Chemie-Didaktiken erfolgen, des Weiteren wurden die Ergebnisse auch auf Tagungen und Lehrkräftefortbildungen vorgestellt und Workshops angeboten. Das Seminar kann final an die Chemie-Didaktik übergeben werden, hier wäre es möglich, eine Studie zum Wissensgewinn bezüglich der fächerverbindenden Aspekte nach Absolvierung des Seminars zu entwickeln. Auch sollen die Dozierenden nochmals am Ende des Projekts kontaktiert werden, um sie auf die potentiellen Vernetzungsmöglichkeiten hinzuweisen.

### 5.5.3 Maßnahme 1: Identifizierung von Quervernetzungen

Bemerkung: Der Lehramtsstudiengang Biologie wurde zum Semester 2020/2021 umstrukturiert. Die identifizierten Quervernetzungen beziehen sich dabei auf die Module, welche vor 2020/2021 im Curriculum verankert waren.

Im ersten Teil des Projekts wurden direkte sowie auch indirekte Überschneidungen zwischen



**Abbildung 5.8:** Direkte (thematische) und indirekte (konzeptuelle) Überschneidungen ausgehend von den relevanten Vorlesungen der Chemie mit Veranstaltungen aus der Biologie. Dabei wurden Inhalte des Biologie-Curriculums mit einem Studienstart vor dem Wintersemester 2020/2021 genutzt. Überschneidungen mit Vorlesungen der Biochemie wurden hierfür nicht inkludiert, da hierbei vor allem thematische Überschneidungen vorlagen, welche separat nochmals betrachtet wurden.

relevanten Vorlesungen der Biologie und Chemie identifiziert und die Themenschwerpunkte erfasst, basierend auf den Vorlesungsinhalten des vertieften Lehramtsstudiums. Ziel war es zunächst, einen Überblick über die vielfältigen Vorlesungsinhalte und Themen des Lehramtscurriculum zu erhalten. Hierfür wurden die Inhalte der einzelnen Vorlesungen auf thematische, wiederkehrende Überschneidungen und gleiche Konzepte hin analysiert, welche in fast allen Fächern vorhanden sind. Ziel war es, diese Themensammlungen anschließend nochmals für die Wissenslandkarten aufzugreifen (Maßnahme 3). Inhalte der Biochemie wurden hierfür zwar aufgeführt, jedoch nicht näher betrachtet, da viele biochemische Vorlesungsinhalte in verschiedenen Vorlesungen aus der Chemie (z.B. in P13) und Biologie (z.B. P4) behandelt werden, und hier vor allem thematische Überschneidungen vorliegen. Diese wurden nicht als Konzepte, sondern als wiederkehrende, essentielle Themen angeführt. Die Konzepte wurden anschließend entsprechend der vorhandenen Überschneidungen thematisch aufgeführt (Tabelle 5.3), und Vernetzungsmöglichkeiten visuell aufgezeigt (Abbildung 5.8).

Anschließend wurden basierend auf den analysierten Vorlesungen zentrale Konzepte des Chemiestudiums herausgearbeitet, welche innerhalb der Chemie-Vorlesungen, aber auch in Veranstaltungen der Biologie als Konzepte wiederkehrend waren. Zu diesen gehören:

- Redoxreaktionen
- Säure-Base-Reaktionen
- Löslichkeit
- Komplexe

- Salze und ihre Strukturen
- Thermodynamik
- Reaktionskinetik
- Katalyse
- Wechselwirkungen
- Stereochemie
- Farben
- Grundlagen der Organischen Chemie
- Photochemie (lichtinduzierte Prozesse)
- Metalle in der Biologie
- Zellatmung

**Tabelle 5.3:** Überschneidungen zwischen den verschiedenen Vorlesungen basierend auf den aufgeführten Konzepten.

Modul (Biologie)	Bezeichnung	Konzepte aus anderen Vorlesungen: <sup>a</sup> Anorganische Chemie, <sup>b</sup> Organische und Naturstoff-Chemie, <sup>c</sup> Physikalische Chemie, <sup>d</sup> Allgemeine Chemie und Biochemie
P1	Botanik/Biologie der Pflanzen	Grundlagen der Mikroskopie, <sup>c</sup> Oxidationen/Reduktionen, <sup>a,b,d</sup> Wasser und Organische Verbindungen, <sup>b,d</sup> Zucker mit Fischer-Projektion und Halbacetalbildung, <sup>c</sup> Aminosäuren, <sup>b</sup> Konzept von Polarität und Hydro- und Lipophilie, <sup>b</sup> DNA, <sup>b</sup> Photosynthese und Kohlenstoffkreislauf, <sup>d</sup> Licht als elektromagnetische Welle, <sup>c</sup> Säuren <sup>b,d</sup>
P3	Diversität und Evolution Eukaryotischer Organismen: Systematik	Uranzerfall, <sup>a,c,d</sup> Thermodynamik <sup>c</sup>
P4	Mikrobiologie	Landwirtschaft mit Stickstoffkreislauf, <sup>d</sup> Biogas, <sup>b</sup> Oxidationen/Reduktionen, <sup>a,b,d</sup> Enthalpie, <sup>c</sup> Stoffwechselwege, <sup>b,d</sup> Fettsäuren <sup>b</sup> Lipide, <sup>b</sup> Citratzyklus, <sup>d</sup> Eisen-Schwefel-Proteine, <sup>d</sup> Anaerobe Atmung - Sauerstoff <sup>d</sup>
P5	Humanbiologie	DNA <sup>b</sup>
P8	Genetik und Humanbiologie: Genetik	DNA, <sup>b</sup> Aminosäuren <sup>b</sup>
P9	Tierphysiologie	Stickstoffverbindungen, <sup>a,d</sup> Sauerstoff, <sup>a,b,d</sup> Licht als elektromagnetische Welle, <sup>c</sup> Ideale Gasgleichung <sup>c</sup>

Als wiederkehrende Themen wurden identifiziert:

- Stickstoff-Kreislauf und Haber-Bosch-Verfahren
- Wichtige industrielle Herstellungsprozesse
- Wichtige Nachweisreaktionen von Ionen und Nicht-Ionen
- Enzyme
- Blut
- Vitamine
- Gentechnik
- Gifte und ihre Wirkung
- Fette und Tenside
- Terpene und Steroide
- Kohlenhydrate
- Aminosäuren
- Nucleinsäuren

Zu den einzelnen Konzepten und Themen wurden kurze, prägnante Erklärungen sowie entsprechende Untergliederungen erstellt. Diese wurden zunächst in einem zusammenhängenden Dokument gesammelt, werden aber für die Erstellung der Wissenslandkarten in Maßnahme 3 genutzt.

**Tabelle 5.4:** Im Wintersemester (WiSe) oder Sommersemester (SoSe) abgehaltene und im Zuge des Projekts entwickelte Seminare (je 2 SWS, 3 ECTS), einbringbar im Freien Bereich.

Zeitraum	Titel des Seminars	Themen und Schwerpunkte	Format
WiSe 2019/2020	Aus 2 mach 1: Seminar zur Verknüpfung von Studieninhalten aus Chemie und Biologie/Geographie mit aktuellen Themen	Vortragsreihe zu verschiedenen, fächerverbindenden Themen von Studierenden	Präsenz
WiSe 2020/2021	Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie, Einsatz von iPads im Unterricht	Erstellung einer interaktiven Lehr-Lerneinheit zum Thema „Chemie mit Licht“	Online mit Präsenz
SoSe 2021	Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie	Erstellung einer interaktiven Lehr-Lerneinheit zum Thema „Redoxreaktionen in Chemie und Biologie“	Online mit Präsenz
WiSe 2021/2022	Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie	Erstellung einer interaktiven Lehr-Lerneinheit zum Thema „Energie in Chemie und Biologie“	Präsenz mit Online
SoSe 2022	Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie	Erstellung einer interaktiven Lehr-Lerneinheit zum Thema „Energie in Chemie und Biologie“	Präsenz

### 5.5.4 Maßnahme 2: Etablierung von Seminaren

Im weiteren Verlauf des Projekts wurde ab Mitte 2019 die Konzipierung von Seminaren konkretisiert, welche den Erwerb von fächerverbindendem Wissen und deren Reflexion durch Studierende aktiv fördern (Tabelle 5.4). Dabei liegen die Vorteile auf der Hand. Die Studierenden werden mit dem Projekt und dessen Problematik konfrontiert und müssen sich selbständig und proaktiv mit vernetzenden Themen auseinandersetzen, dies wurde bereits in der Anfangsphase des Projekts von Lehrkräften gefordert. Die Projektleiterinnen übernehmen die Betreuung der Studierenden aus didaktischer sowie fachwissenschaftlicher Sicht und bieten eine Themenauswahl an. Diese sind an den Curricula und dem LehrplanPLUS orientiert, wobei die Materialien und Ergebnisse aus Maßnahme 1 genutzt werden. Die von den Studierenden erstellten Materialien und erarbeiteten Ergebnisse können für die weitere Projektentwicklung genutzt werden. Hierfür sollen die im Zuge der Seminare generierten Inhalte auf einer Online-Plattform zentral gesammelt und bereitgestellt (Maßnahme 4) werden.

#### Wintersemester 2019/2020

Im Wintersemester 2019/2020 konnte erstmals ein Seminar mit dem Titel „Aus 2 mach 1: Seminar zur Verknüpfung von Studieninhalten Chemie und Biologie/Geographie mit aktuellen Themen“ angeboten werden. Dabei wurde das Seminar als wechselnde Vortragsreihe von Studierenden für Studierende konzipiert, wobei die Vortragenden

Themen aus chemischer und biologischer (bzw. geographischer) Perspektive beleuchteten. Die erarbeiteten Themen sollten Studierende anschließend im Zuge eines Vortrags ihren Kommilitonen präsentieren, wobei der Fokus auf der Nutzung von digitalen Medien wie Tablet und Videoeinsatz gelegt wurde. So vertieften Studierende nicht nur die fachwissenschaftlichen Inhalte ihrer beiden Fächer, sondern wurden mit verschiedenen Methoden zum Einsatz digitaler Medien im Unterricht vertraut gemacht, und konnten diese direkt erproben. Dabei wurden unter anderem, falls möglich und thematisch passend, Versuche im Labor aufgezeichnet. Den Studierenden wurde eine hohe Autonomie gegeben. Sie konnten selbst entscheiden, welches digitale Medium sich, zusätzlich zu den „klassischen“ Folien, für die Präsentation ihres Themas eignete (kurzes selbstgedrehtes Video, Audio, Screencast, interaktive Quizze etc.). Des Weiteren sollten die Studierenden während des Vortrags aktiv mithilfe der Audience Response Anwendung Socrative, welche das anonyme Beantworten von Fragen ermöglicht, eingebunden werden. Um eine Reflexion der vielfältigen Lehrinhalte zu gewährleisten, war es verpflichtend für die Anrechnung des Seminars Übungsaufgaben zu bearbeiten. Diese kurzen Lernzielkontrollen wurden ebenfalls von den Vortragenden vorbereitet, abgestimmt mit Fragestellungen aus vorangegangenen Staatsexamensaufgaben. Hierbei erfolgte die Beantwortung von Multiple-Choice sowie Freitext-Fragen online über die Plattform Moodle. Die Etablierung des Seminars bot somit den Lehramtsstudierenden die Möglichkeit bereits erlerntes Inselwissen aus Chemie- sowie Biologie-Vorlesungen zu verknüpfen und dabei aktuelle Themen zu erarbeiten sowie diese didaktisch ansprechend für ihre Kommilitonen zu präsentieren. Zusätzlich konnten sie auch durch die anderen, von ihren Kommilitonen vorgestellten Themen weitere Einblicke gewinnen, und ihr Wissen durch die verpflichtenden Übungsaufgaben verfestigen. Das Seminar wurde für Lehramtsstudierende im fortgeschrittenen (ab dem 4. Semester) und vertieften Studium mit Fächerkombination Biologie und Chemie empfohlen. Jedoch waren auch Personen mit dem Fächerschwerpunkt Geographie/Chemie, und zukünftige Mittelschul- und Realschullehrkräfte anwesend. Studierende aus fast allen Semestern besuchten die Veranstaltung, jedoch war der Großteil im fortgeschrittenen Studium, oder kurz vor dem ersten Staatsexamen. Neben einer Auswahl von Themen konnten die Studierenden ebenfalls eigene Vorschläge einbringen. Als Zeitrahmen wurden 30 Minuten pro 2er-Team, oder 15 Minuten als Einzelvortrag angesetzt. Neun Studierende haben an dem Seminar teilgenommen, und es wurden sechs Vorträge abgehalten zu den Themen:

- Seltene Erden – weder selten, noch Erden
- Boden als Lebensgrundlage
- Kosmetik und die Chemie dahinter
- Tattoos – Chemie in unserer Haut
- Plastik – Gefahr für den Lebensraum Wasser
- Doping

Nach der Wahl ihres Themas konnten die Studierenden dieses mithilfe von mehreren bereitgestellten Literaturquellen erarbeiten, und anschließend bei einer Besprechung Feedback von den Kursleiterinnen erhalten. Das Weiter sollte, wenn möglich, Anschauungsmaterial bereitgestellt werden. Zum Thema Seltene Erden wurden verschiedene Seltenerd-Salze bereitgestellt und diese während des Vortrages dem Publikum als Anschauungsmaterial gereicht. Zusätzlich wurde ein Versuch konzipiert, welcher die Wirkungsweise des Medikaments Fosrenol zur Behandlung von Hyperphosphatämie visualisiert und im Schulunterricht durchführbar ist. Zum Thema Boden als Lebensgrundlage wurden ausgewählte Minerale gezeigt. Beim Thema Kosmetik wurde ein Hautmodell vorgestellt sowie der Versuch Pflegelotion als Schauminhibitor aus dem Magazin Chemkon fotografisch festgehalten und die Proben präsentiert.<sup>[219]</sup> Studierende, die das Thema Tattoos beleuchteten, präsentierten eine Tätowiermaschine und weitere benötigte Utensilien. Begleitend zur Präsentation zum Thema Plastik im Wasser wurde versucht, Mikroplastik aus verschiedenen Pflegeprodukten herauszufiltern, jedoch konnte keine Niederschlagsbildung bei den gewählten Produkten beobachtet werden. Das Thema Doping wurde mithilfe von gebastelten Strukturmodellen der anabolen Substanzen aufgelockert. Die einzelnen Vorträge wurden von den Studierenden gegenseitig anonym evaluiert, hinsichtlich dem genutzten Material, der Vortragsweise und der fachlichen Gestaltung (Fragebogen in Abschnitt A.2). Nicht nur die Studierenden konnten die Vorträge gegenseitig evaluieren, auch das Seminar selbst wurde evaluiert, basierend auf dem von der Universität bereitgestellten Evaluationsbogen für Lehrveranstaltungen. Jedoch muss an der Stelle angemerkt werden, dass dieser nicht auf das Konzept einer Vortragsreihe ausgelegt ist. Feedback zum Konzept wurde über den Kommentarbereich angegeben. Positiv wurde die Unterstützung der Studierenden bei der Vorbereitung und thematischen Absteckung des Themas durch die Dozierenden angeführt. Auch wurde das Seminar als sehr interessant beschrieben, wobei viele neue Informationen aus verschiedenen Themenbereichen gewonnen, viele Zusammenhänge hergestellt und das bestehende Wissen deutlich erweitert werden konnte. Vor allem die chemischen Betrachtungen wurden hervorgehoben. Als zu verbessernde Punkte wurden angemerkt, dass noch mehr das Thema Verknüpfung in den Vordergrund gerückt, und dass die Vorträge auch in einen schulischen Kontext gesetzt werden sollten. Hierzu ist anzumerken, dass ein Lehrplanbezug zwar nicht verpflichtend gefordert war, dieser aber von einigen Vortragenden vorbereitet wurde, was einen deutlichen Mehrwert darstellte. Auch wurde angemerkt, dass eine engere Verknüpfung mit dem Unterrichtsstoff und die Anpassung der Experimente an die schulische Praxis wünschenswert gewesen wäre. Unterschiedlich wurden auch die Anforderungen an die Präsentation und die thematische Gestaltung beurteilt. Während einige Studierende gerne noch mehr Materialien, Vorlagen und Hilfestellungen zur Verfügung gehabt hätten, forderten andere mehr Autonomie und didaktische Freiheit bei der Erstellung der Vorträge. Dies war jedoch abhängig davon, in welchem Fachsemester die Studierenden sich befanden, mit fortgeschrittener Studienzeit wurde vor allem eine freiere Gestaltung der Vorträge und Inhalte gefordert. Des Weiteren wurde angemerkt, dass Vorträge zu fachfremden Themen zwar interessant waren, jedoch nicht unbedingt einen Mehrwert für das eigene fächerverbindende Wissen darstellten, was möglicherweise

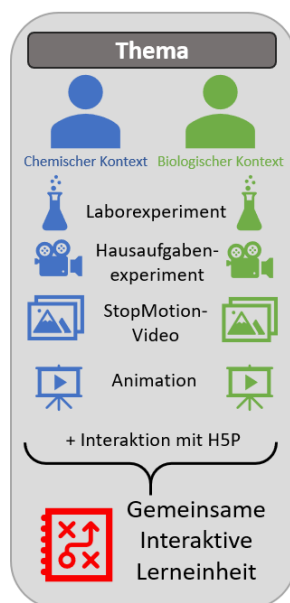


an den unterschiedlichen Fächerkombinationen lag.

Basierend auf dem Feedback wurden Maßnahmen definiert, und das Konzept des Seminars überarbeitet. Das zukünftige angebotene Seminar sollte zusätzlich zum fächerverbindenden Aspekt verstärkt den Fokus auf digitale Medien legen. Deshalb wurden die Vorträge durch die Erstellung einer interaktiven Lerneinheit ersetzt, wodurch die Studierenden neue Konzepte und digitale Möglichkeiten nutzen konnten. Als Plattform wurde Moodle genutzt, sowie verschiedene Programme zur Erstellung von Lerneinheiten, Interaktion und Feedback mit den Studierenden getestet und diskutiert. Auch hier wurden die Studierenden aktiv geschult durch Einführungen in die entsprechenden Softwares. Die Zielgruppe des Seminars wurde nochmals überarbeitet. Studierende mit der Fächerkombination Chemie und Biologie sollten dabei vorwiegend angesprochen werden, welche sich im fortgeschrittenen Studium befanden. Optimal hat sich hierbei vor allem die Zielgruppe Fachsemester 4 bis 8 herausgestellt, da diese bereits einige Grundvorlesungen absolviert haben. Die Veranstaltung wurde mit einer Anwesenheitspflicht (im Rahmen der zulässigen Bestimmung aufgrund der Corona-Pandemie) durchgeführt, die sich auf die ganze Seminarzeit erstreckte. In dieser Zeit erarbeiteten die Studierenden gemeinsam mit den Dozierenden ihre fächerverbindende Lerneinheit. Hier konnte jederzeit auf die fachlichen Voraussetzungen der Studierenden eingegangen, und die Menge und Art der Hilfestellungen justiert werden. Dementsprechend wurde die Teilnehmenden-Anzahl limitiert, um eine gute individuelle Betreuung durch die Kursleiterinnen gewährleisten zu können. Zu Beginn führten die Studierenden eine Literaturrecherche zu ihrem gewählten Thema durch, in welcher sie bereits selbständig potentielle Verknüpfungsmöglichkeiten herausarbeiteten. Als verpflichtende Aufgabe wurde die Eingliederung in den Lehrplan gefordert. Die Studierenden konzipierten die Lerneinheit für eine von ihnen bestimmte Zielgruppe, wodurch ein klarer Bezug zum Schulalltag geschaffen wurde. Auch wurden didaktische Betrachtungsweisen näher beleuchtet. Zusätzlich wurden didaktische Konzepte und Theorien im Laufe des Seminars besprochen, und diese auch auf die Lerneinheiten angewendet.

### **Wintersemester 2020/2021**

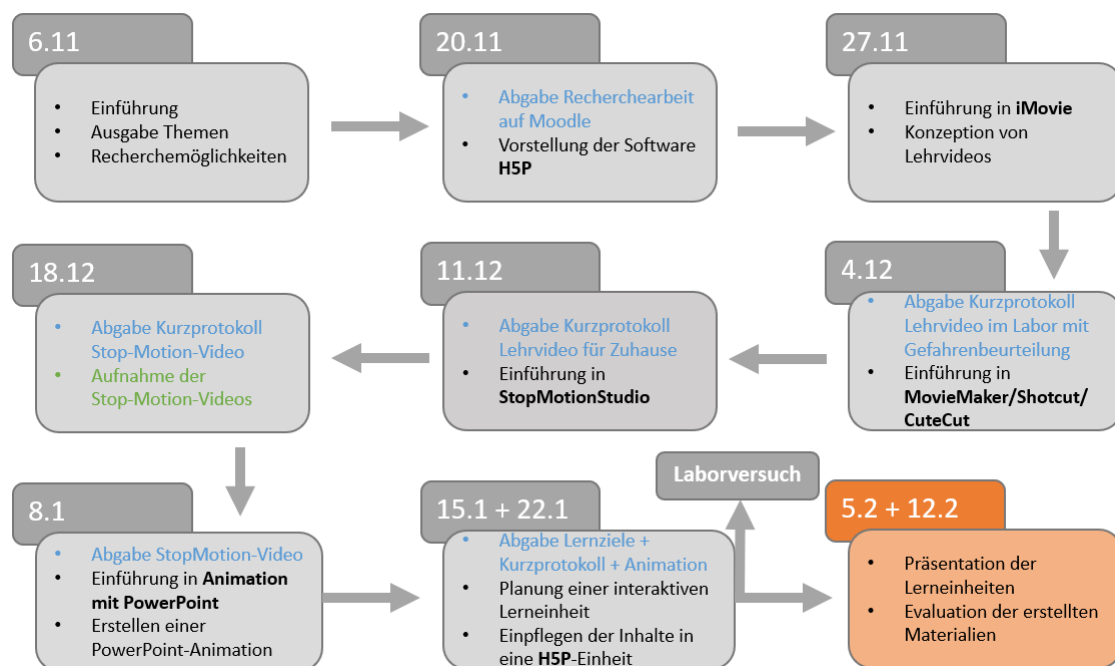
Im Wintersemester 2020/2021 wurde erstmals die Veranstaltung „Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie, Biologie und Geographie, Einsatz von iPads im Unterricht“ zusammen mit Dr. Kristina Hock abgehalten (Abbildung 5.10). Diese richtete sich an Lehramtsstudierende mit der Fächerkombination Biologie und Chemie (vertieft) ab dem 4. Semester. Durch die Corona-Pandemie und die Förderung der eUniversity wurde der Fokus des Projekts neben der fächerübergreifenden Vernetzung auch auf die Erstellung von fächerübergreifenden, digitalen Lehr-Lerninhalten gerichtet. Dies war vor allem dadurch bedingt, dass die Veranstaltungen nicht wie geplant in Präsenz stattfinden konnten, sondern als Hybridmodell (Online mit Präsenzveranstaltungen zum Laborexperiment, Seminar wurde zusätzlich aufgezeichnet, und über LMUcast5 den Studierenden zur Verfügung gestellt). Ziel war es, die Studierenden aktiv einzubinden, anstatt diese lediglich fächerübergreifende Inhalte präsentieren zu lassen. Zusätzlich



**Abbildung 5.9:** Aufgabenstellung und Ziel des Seminars „Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie, Biologie und Geographie, Einsatz von iPads im Unterricht“. Die Studierenden beleuchten ein von ihnen gewähltes Thema aus chemischer und biologischer Perspektive. Sie konzipieren und realisieren selbstständig verschiedene Inhalte. Durch das Tool H5P können Interaktionen hinzugefügt werden. Anschließend pflegen die Studierenden ihre interaktiven Inhalte in eine Lerneinheit ein.

wurde im Verlauf der Pandemie deutlich, dass die zukünftigen Lehrkräfte auch in der eigenen Erstellung von digitalen, interaktiven Lehrinhalten geschult werden sollten. Dementsprechend wurde das angebotene Seminar ausgerichtet. Die Studierenden sollten eine interaktive, zusammenhängende Lerneinheit für den Schulunterricht planen, gestalten und die Lernmaterialien selbst erstellen (Abbildung 5.9). Die Überthemen waren dabei vorgegeben, und mussten fächerübergreifend behandelt werden. Die Studierenden konnten eigene Aspekte einbringen, und diese auf die von ihnen gewählte Zielgruppe anpassen. So wurde klar der Schulbezug geschaffen. Die einzelnen interaktiven Inhalte (Laborexperiment, Hausaufgabenexperiment, StopMotion-Video, Animation mit PowerPoint, Interaktion mit H5P) wurden von den Studierenden selbst konzipiert und realisiert. Dazu wurden Einführungen in die zu verwendenden Softwares gegeben. In den anschließenden, abgehaltenen Übungen führten die Studierenden kleinere Aufgaben mit den behandelten Softwarepaketen aus. Als Tools wurde Freeware verwendet, welche plattformunabhängig zugänglich ist, bzw. wurde für verschiedene Endgeräte entsprechende, kostenlose Software behandelt. Für die Aufzeichnung von Lernvideos sowie der Stop-Motion-Filme wurde die Möglichkeit angeboten bereitgestellte iPads von der Chemiedidaktik zu nutzen. Auch bei der Aufnahme der einzelnen Lerninhalte wurden die Studierenden unterstützt. Abschließend wurde von den Kursteilnehmenden auf der Plattform Moodle eine interaktive Lerneinheit zu dem entsprechenden Thema erstellt, und diese von den Kommilitonen am Ende des Semesters bearbeitet und evaluiert. Alle Materialien wurden zentral auf einem Moodle-Kurs gesammelt. Folgende Inhalte wurden im Seminar behandelt:

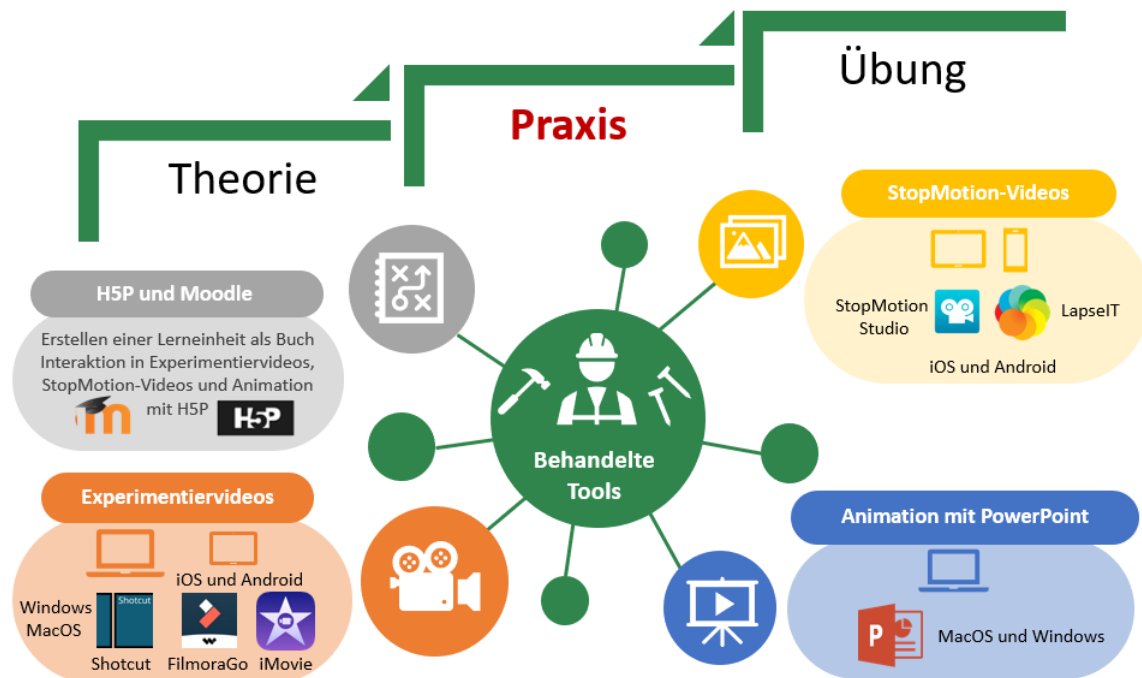
- Recherchemöglichkeiten (Nutzung von Online-Ressourcen)
- Beurteilung von bereits erstellten Materialien (z.B. Lernvideos, Webseiten etc.)
- Vorstellung von Audience Response Systemen für interaktive Lehrveranstaltungen
- Erstellung von interaktiven Lernbausteinen mit LearningApps und H5P
- Aufnahme, Schnitt und Vertonung von Lernvideos im Labor und Zuhause mit iMovie, Shotcut, MovieMaker oder CuteCut
- Planung und Realisierung von Stop-Motion-Filmen mit der App StopMotionStudio und LapseIT
- Nutzung von Microsoft Office PowerPoint zur Erstellung von Animationen
- Erstellung einer interaktiven Lerneinheit mit H5P in Moodle basierend auf dem Material „Buch“
- Finale Präsentation der zusammenhängenden, interaktiven Lerneinheit mit den genutzten Tools und Evaluation und Feedback durch Studierende und Kursleiterinnen



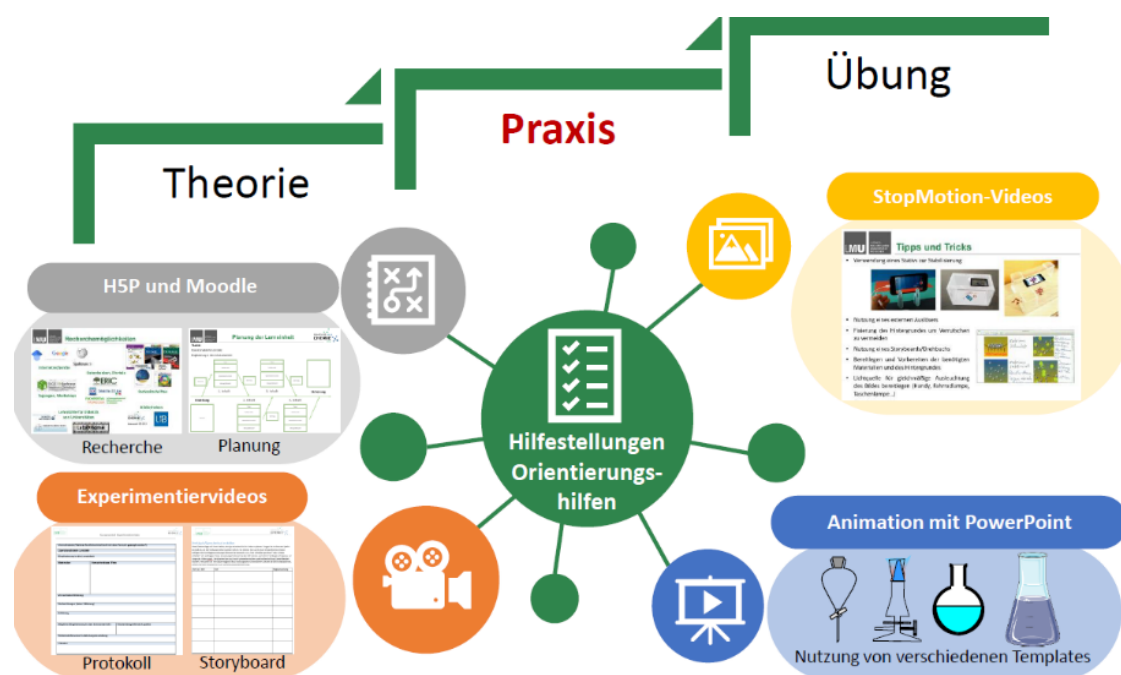
**Abbildung 5.10:** Aufbau, Inhalt und zeitlicher Verlauf der im Wintersemester 2020/2021 abgehaltenen Veranstaltung. Die Arbeitsaufträge für die Studierenden sind in blauer Schrift angegeben. Die behandelten Softwares und Tools sind hervorgehoben.

Das Seminar setzte sich aus drei großen Teilbereichen zusammen: Theorie, Praxis und Übung. Der Theorieteil umfasste dabei u.a. folgende Konzepte und Inhalte:

- Arbeitsgedächtnis nach Baddeley
- Multimedialernen nach Mayer
- Cognitive Load Theory und Anpassung der Belastung
- Designprinzipien für Multimedia-Anwendungen nach Mayer
- Lernen durch Lehren
- Verbesserung der Akzeptanz und Effektivität des Chemieunterrichts
- Stellung von Experimenten im Unterricht
- Stellung von Hausaufgabenexperimenten
- Gute Bildung mit E-Learning
- 4-Felder-Analyse für E-Learning
- Evaluation von interaktiven Inhalten



**Abbildung 5.11:** Im Seminar behandelte Praxis-Inhalte. Die Softwares und Tools sind nach Experimentiervideos, Stop-Motion-Videos, Animation mit PowerPoint und H5P/Moodle gruppiert.



**Abbildung 5.12:** Im Seminar behandelte Praxis-Inhalte. Angegeben werden die bereitgestellten Hilfestellungen zu den einzelnen Inhalten.

Im Praxisteil des Seminars wurden Protokolle sowie Storyboards für die entsprechenden Inhalte vorgestellt, welche den Studierenden als Orientierungsrahmen dienen (Abschnitt A.2, Abbildung 5.11 und 5.12). Hierbei war es verpflichtend, dass die Studierenden Kurzprotokolle für das Experimentiervideo, das Hausaufgabenvideo, die Animation mit PowerPoint und das Stop-Motion-Video erstellen. Dabei sollten die Versuchsziele, operationalisierte Lernziele und eine Eingliederung in die Lerneinheit kurz aufgeführt werden. Für die Labor- und Hausaufgabenexperimente wurde das benötigte Material angegeben, und eine Versuchsskizze angefertigt. Die Versuchsdurchführung, Beobachtungen und Erklärungen wurden beschrieben. Für die Animation und das Stop-Motion-Video wurde eine Skizze der gezeigten Abläufe gefordert, auch hier sollten, wenn notwendig, die Beobachtungen und Erklärungen dokumentiert werden. Eine Eingliederung in den Schulunterricht musste für alle Protokolle vorgenommen, und die fächerverbindenden Aspekte und Literatur aufgeführt werden. Für das Hausaufgaben- und Experimentiervideo wurde ein Storyboard vorausgesetzt, welches den Sprechertext für die nachträgliche Vertonung aufführt. Eine Gefährdungsbeurteilung mit Entsorgungsprotokoll für das Laborexperiment wurde ebenfalls gefordert. Dieses inkludierte die Reaktionsgleichungen, die den Versuch beschreiben, einschließlich gefährlicher Nebenreaktionen, GHS-Einstufung und Kennzeichnung der verwendeten Chemikalien. Vorsichtsmaßnahmen, für eine sichere, dem Gefahrenpotential des Versuches angemessene Durchführung sowie eine korrekte Entsorgung mussten ebenfalls aufgeführt werden. Wenn notwendig, sollte auch eine Ersatzstoffprüfung durchgeführt, und der Versuch als Lehrer- oder Schülerversuch unter gewissen Voraussetzungen klassifiziert

werden. Zusätzlich zu Protokollen als Orientierungsrahmen wurden im Seminar praktische Aspekte der einzelnen Inhalte besprochen (z.B. Beleuchtung und korrekter Aufbau einer Versuchsapparatur bei Experimentiervideos, Modulation der Sprache bei der Vertonung etc.), um möglichst hochwertige Lehr-Lern-Inhalte zu generieren. Für die Aufzeichnung der Videos verwendeten die Studierenden die Kameras ihrer Handys oder Tablets. Es war möglich lediglich die Kamerafunktion zu nutzen, um verschiedene aneinanderhängende Clips aufzuzeichnen. Von den meisten Studierenden wurde hingegen die Applikation iMovie (iOS, MacOS) genutzt, um die Videos bereits schneiden und bearbeiten zu können. Als Alternative wurde CuteCut (iOS, Android) angeboten. Zur Erstellung von Stop-Motion-Videos wurde die App StopMotionStudio und LapseIT vorgestellt, und auch hier wurden praktische Tipps und Tricks zur Durchführung (z.B. Nutzung eines externen Auslösers, Fixierung des Hintergrundes, indirekte gleichmäßige Ausleuchtung) gegeben. Die Erstellung von Animationen und der Export als Video wurde mit Microsoft PowerPoint gezeigt. Nach der Aufnahme der verschiedenen Videos bearbeiteten die Studierende diese, wenn notwendig, und vertonten diese. Es erfolgte mit der Software Shotcut (MacOS, Windows, Linux), zusätzlich konnte auch MovieMaker verwendet werden. Anschließend wurden die Videos in Moodle als H5P-Inhalt in Moodle eingefügt, und verschiedene Interaktionen mit der Anwendung „Interaktives Video“ eingebaut. Auch konnten weitere H5P-Inhalte wie „Multiple Choice“, „Lücken-Text“, „Memory“, „Karteikarten“ etc. erstellt werden, und in die Lerneinheit eingebaut werden. Um den Studierenden die Möglichkeit zu geben, die Inhalte in der Plattform Moodle als Aktivität/Material „Buch“ anzulegen, wurde ein separater Moodle-Kurs genutzt. Die Studierenden wurden in der Funktion „Studentischer Trainer“ hinzugefügt, und so konnten sie eigenständig Inhalte erstellen, und ihren Kursbereich verwalten. Die erstellten, interaktiven Lehr-Lern-Inhalte mit H5P wurden über das Semester hinweg von den Studierenden in ihr „Buch“ eingepflegt, und mit weiteren Informationen und überleitenden Texten verbunden zu einer zusammenhängenden Lerneinheit. Final konnten vier interaktive Lerneinheiten von Studierenden zum Überthema „Chemie mit Licht“ erarbeitet werden:

- Farbstoffe
- Chemie mit Licht – Sehprozesse
- Faszination Photolumineszenz
- Sehprozesse - Farbsehen

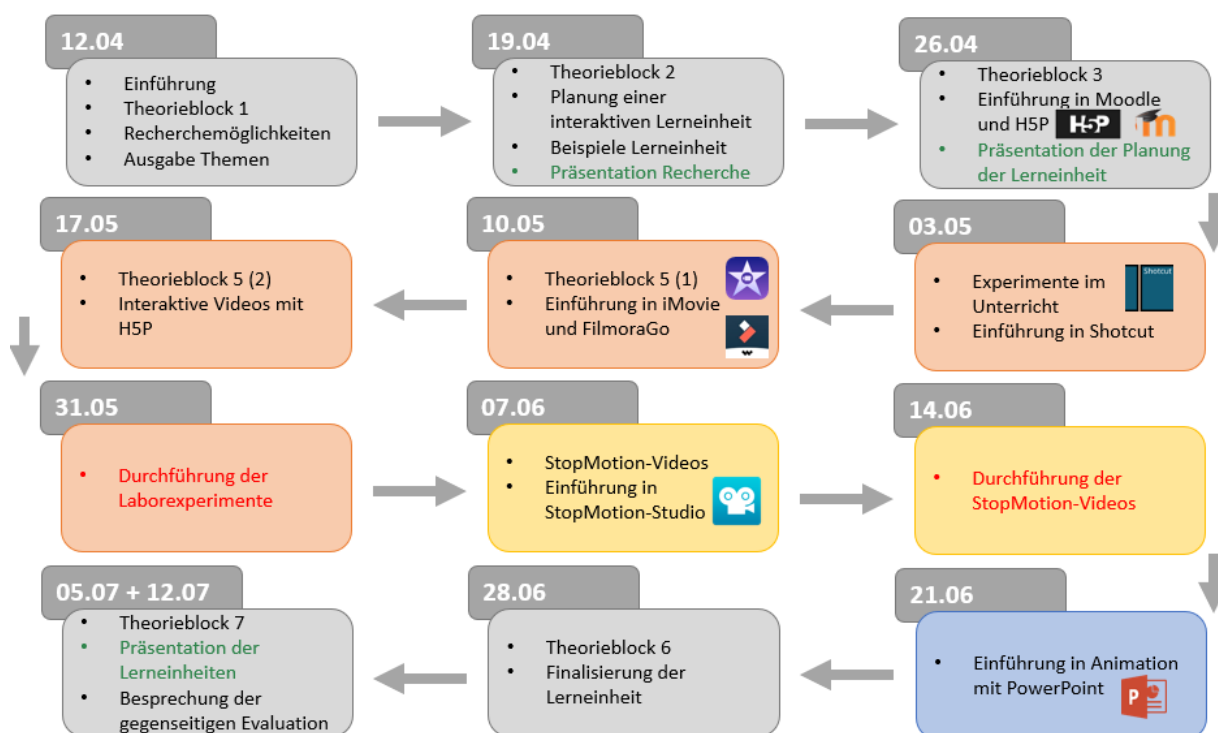
Diese wurden in der finalen Seminareinheit von den Studierenden vorgestellt, zusammen mit einer Konzept-Planung ihrer Lerneinheit. Die Studierenden erhielten Feedback zu ihrer geplanten Einheit und deren Ausführung von den Kursleiterinnen und Kursteilnehmenden, und die interaktiven Inhalte wurden von den Studierenden gegenseitig getestet.

Die Evaluation des im WS 20/21 erstmals abgehaltenen Seminars fiel positiv aus, hierfür wurde der von der Fakultät bereitgestellte Evaluationsbogen genutzt (Abschnitt A.3). Die Studierenden hatten ebenfalls die Möglichkeit in der letzten Seminarstunde Kritik,

Anregungen und Lob am Seminarkonzept anzubringen. Positiv erwähnt wurde, dass die Studierenden mit den vorgestellten Softwares selbst arbeiten mussten um ihre Inhalte zu erstellen. Dabei wurde vor allem deutlich, dass die ersten „Berührungsängste“ mit den Programmen den Studierenden genommen werden konnten. Des Weiteren waren alle Studierende mit ihrem fertiggestellten Lernprodukt zufrieden. Von einigen Studierenden wurde angemerkt, dass sie es sich selbst nicht zugetraut hätten vor dem Seminar eine eigene interaktive Online-Einheit zu erstellen. Dementsprechend war das Lernergebnis für diese Studierende vor allem sehr positiv. Als negativer Punkt wurde angemerkt, dass die Arbeitsbelastung zeitweise sehr hoch war, und mit teilweise 5 Stunden pro Woche angegeben wurde. Zusätzlich wurde erwähnt, dass das Schreiben der Vertonung im Zuge des Storyboards oft als sehr aufwendig – jedoch nicht als besonders hilfreich empfunden wurde. Dies wurde für die im Sommersemester wieder stattfindende Veranstaltung angepasst, und die Kurzprotokolle nochmals überarbeitet. Auch hatten die Studierenden vorgeschlagen, eine zusätzliche Übung in das Seminar zu integrieren, in welcher gemeinsam eine kleine Aufgabe/ein kleines Projekt mit der behandelten Software durchgeführt wird. Dies wurde ebenfalls für das Sommersemester geplant. Ein weiterer erwähnter Punkt war, dass die Studierenden zwar angaben viel Input bezüglich digitalisierter Lernmedien erhalten zu haben, jedoch wurde der fächerübergreifende Aspekt weniger stark fokussiert.

### Sommersemester 2021

Für die im Sommersemester 2021/2022 stattfindende Veranstaltung „Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie“ (auch als Online-Seminar aufgrund der geltenden Corona-Vorschriften, Abbildung 5.13) wurden einige Verbesserungen und Veränderungen integriert. Dabei war das Ziel, vor allem die Arbeitsbelastung für die Studierenden zu verringern und sie kontinuierlich und gleichmäßig über die gesamte Seminarzeit zu verteilen. Unter anderem wurde lediglich pro interaktiven Inhalt ein aktualisiertes Kurzprotokoll gefordert, und nicht wie bisher ein ausführliches Protokoll, ein Storyboard und eine Gefährdungsbeurteilung mit Entsorgungsprotokoll. Um jedoch nicht die Sicherheit im Labor und Zuhause außer Acht zu lassen, wurde eine ganze Seminarstunde zum Thema Sicherheit und der Plattform DEGINTU (Gefahrstoffinformationssystem für den naturwissenschaftlichen technischen Unterricht der Gesetzlichen Unfallversicherung) sowie zur rechtlichen Stellung von Hausaufgaben-Experimenten abgehalten. Ziel der Übung war es die verwendeten Chemikalien bezüglich ihrer Gefahren mit DEGINTU zu analysieren und einen eigenen Versuch in der Versuchsdatenbank anzulegen, wobei dies direkt im Seminar stattfand. Zusätzlich wurde der Theoriestoff neu angeordnet in Themen-Blöcke (Abbildung 5.14) und es wurde versucht eine ausgewogene Mischung aus Theorie, Praxis und Übung in jeder Seminareinheit zu schaffen. Hierdurch wurde der teilweise sehr theorielastige Teil aufgelockert und durch die Übung angewendet. Auch wurde die Anzahl der besprochenen Softwares reduziert (keine Behandlung von MovieMaker und CuteCut), da sich gezeigt hat, dass die Studierenden entweder iMovie (wenn iPad vorhanden), oder Shotcut (an PCs, plattformunabhängig) verwendeten zum Bearbeiten der Videos.



**Abbildung 5.13:** Aufbau, Inhalt und zeitlicher Verlauf der im Sommersemester 2021 abgehaltenen Veranstaltung. Alle grünlich hinterlegten Blöcke behandeln allgemeine zur Erstellung der interaktiven Inhalte relevante Seminarstunden. Einheiten, welche den Experimentiervideos zugeordnet werden, sind in orange hinterlegt. Auf Inhalte zu Stop-Motion-Videos weist ein gelber Hintergrund hin. Ein blauer Hintergrund steht für Einheiten zur Animation mit PowerPoint. Die von den Studierenden zu haltenden Präsentationen sind in grüner Schrift abgebildet.

Dementsprechend wurde der Fokus auf diese zwei Softwares gelegt. Alternativ wurde FilmoraGo hinzugenommen (auf mobilen Endgeräten, Plattformunabhängig), jedoch keine Einführung in die Software gegeben. Durch die Neustrukturierung konnte mehr Zeit für eine intensivere Auseinandersetzung mit den einzelnen Softwares geschaffen werden. Auch wurden Übungen in die Seminarstunden integriert. Die Studierenden arbeiteten an Beispielen mit den besprochenen Softwares. Zusätzlich wurde auch die selbständige Arbeit mit der Plattform Moodle fokussiert. Gemeinsam mit den Studierenden wurden die erstellten Inhalte sowie die Interaktionen mit H5P kontinuierlich eingepflegt. Dabei ging es vor allem darum, dass die Studierenden bereits während dem Seminar die interaktive Lerneinheit erstellen und fortlaufend erweitern, und auftretende Probleme im Seminar direkt besprochen werden konnten. Auch wurden Kurzpräsentationen zu den einzelnen Inhalten verstärkt gefordert. Dies inkludierte die Recherche zum eigenen Thema, die konzeptuelle Planung der Lerneinheit, und die geplanten interaktiven Inhalte. Dadurch konnten die Studierenden ihre vorbereiteten Materialien kurz in einer entspannten Atmosphäre vorstellen, und erhielten direkt Feedback zu ihren Inhalten, bevor sie diese realisierten. Dies führte auch dazu, dass die Arbeitsaufträge gewissenhaft und



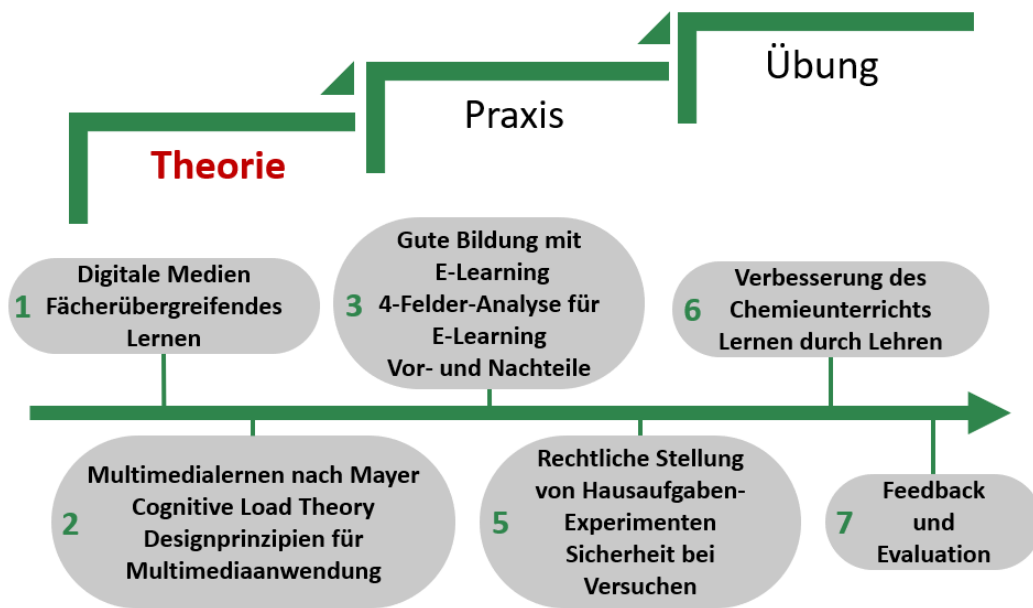


Abbildung 5.14: Im Seminar behandelte Theorie-Inhalte, unterteilt in verschiedene Blöcke.

regelmäßig bearbeitet wurden. Zusätzlich wurde zu Beginn des Seminars gefordert, dass die Studierenden sich bereits anfangs mit der konzeptuellen Planung ihrer Lerneinheit auseinandersetzen, und dieses nicht wie im letzten Semester am Ende des Seminars durchführen. Um den fächerübergreifenden Aspekt stärker zu fokussieren, wurden die interaktiven Lerneinheiten neu konzipiert. Dabei sollten die Studierenden dieses Semester in Zweier-Gruppen zusammenarbeiten, um eine gemeinsame Einheit zu realisieren. Es wurde gefordert, dass der chemische und biologische Kontext gleichermaßen beleuchtet werden muss. Den Studierenden wurde es freigestellt, ob eine Person jeweils nur einen Kontext beleuchtet, oder ob beide gleichermaßen biologische und chemische Aspekte darstellen. Zusammengefasst wurden folgende Veränderungen vorgenommen:

- Neuordnung des Theorielehrestoffs in Theorieblöcke
- Klarere Strukturierung jeder Seminareinheit in Theorie – Praxis – Übung
- In der 2. Seminarstunde: Präsentation der konzeptuellen Planung der Lerneinheit
- Reduktion der geforderten Arbeitsaufträge auf Kurzprotokolle, optionale Erstellung von Storyboards
- Ersetzen der Abgabe von Arbeitsaufträgen durch Kurzpräsentationen mit gleichem Fokus
- Fokus auf plattformunabhängige Software wie Shotcut oder FilmoraGo
- Arbeiten in 2er-Gruppen, um fächerübergreifenden Aspekt zu stärken, mit gleicher Verteilung von chemischen und biologischen Inhalten

- Gemeinsame, assistierte Einpflegung der erstellten Inhalte in Moodle
- Erhöhung des Anteils an Übungen

Als Oberthema wurde „Redoxreaktionen in Chemie und Biologie“ gewählt, und die folgenden interaktiven Lerneinheiten erstellt:

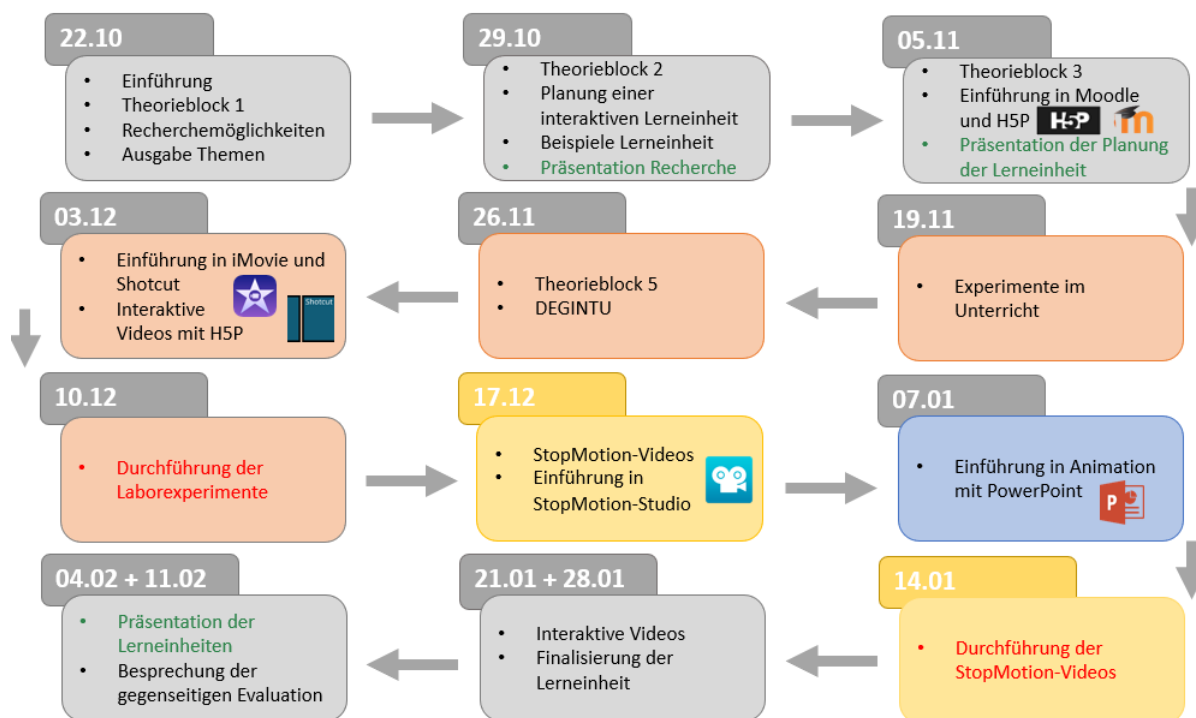
- Erneuerbare Energie nachhaltig Speichern - Energiespeicher der Zukunft?
- Wie funktioniert eine Kamera?

Die Veranstaltung wurde am Ende ebenfalls evaluiert mittels einer eigens für die Veranstaltung entworfenen anonymen Evaluation. Zusätzlich wurde eine Feedback-Runde im Plenum durchgeführt, in welcher die Studierenden positive Gesichtspunkte und Aspekte mit Verbesserungspotential erläutern konnten. Die Ergebnisse finden sich im Anhang (Abschnitt A.3). Erneut wurde hervorgehoben, dass die Studierenden vor allem die eigenständige Erstellung ihrer Lerninhalte positiv bewertet, und die Einführungen in die verschiedenen Software-Tools als hilfreich empfunden hatten. Auch konnte beobachtet werden, dass der Arbeitsaufwand nun geringer eingeschätzt wurde von den Studierenden, jedoch noch immer überdurchschnittlich für eine 3 ECTS-Veranstaltung. Auch wurde angemerkt, dass teilweise Theorieaspekte bereits in anderen Veranstaltungen behandelt wurden.

### **Wintersemester 2021/2022**

Mit Beginn des Wintersemesters 2021 konnte das Seminar erstmalig in Präsenz stattfinden (Abbildung 5.15). Basierend auf der vorangegangenen Befragung und der Plenumsdiskussion wurde das Seminar nochmals optimiert. Der Theorieteil wurde teilweise verkürzt, und die Studierenden bereits zu Beginn des Seminars zu ihrem Vorwissen befragt. So war es möglich individueller auf die Studierenden einzugehen, und entsprechend flexibel die Theorieblöcke anzupassen. Auch wurden die Themen Auswahlhilfe für und Kartographierung von digitalen Tools nicht mehr behandelt. Zusätzlich wurde der Anteil an Übungen erhöht, was auch in den Präsenzveranstaltungen nochmals einen größeren Stellenwert einnahm. Die Studierenden waren angehalten ihre eigenen Endgeräte für die Übungen zu nutzen. Des Weiteren wurde die Anzahl an vorgestellten Tools erneut reduziert, da durch die vorangegangenen Veranstaltungen klare Tendenzen erkennbar waren. Für die Aufnahme von Videos wurde nur noch iMovie gezeigt, und die Bearbeitung von Videos auf Shotcut beschränkt. Die Aufnahme von Stop-Motion-Videos erfolgte mit der App StopMotionStudio. Zur Erstellung von interaktiven H5P-Inhalten wurde die Software Lumi eingeführt, welche auch offline genutzt werden kann. Es hatte sich gezeigt, dass es bei gleichzeitiger Nutzung und Bearbeitung der H5P-Inhalte von Studierenden (in der Funktion: studentische Trainer/in) innerhalb des Moodle-Kurses zu erheblichen Verzögerungen und Fehlermeldungen kam. Dementsprechend wurden die H5P-Inhalte zunächst mit Lumi erzeugt, und abschließend in die interaktive Lerneinheit hochgeladen. Zusätzlich wurde durch die Studienzuschkommission der

Fakultät für Chemie und Pharmazie ein Antrag für Lehrhilfsmaterialien bewilligt. Durch die Förderung konnten Materialien wie Stative, verschiedene Beleuchtungen und eine Fotobox erworben werden, welche die Qualität der aufgenommenen Videos nochmals deutlich steigerten. Die Studierenden konnten das Material auch für die Aufzeichnung der Hausaufgabenexperimente, welche nicht im Seminar erstellt wurden, benutzen.



**Abbildung 5.15:** Aufbau, Inhalt und zeitlicher Verlauf der im Wintersemester 2021/2022 abgehaltenen Veranstaltung. Alle grünlich hinterlegten Blöcke behandeln allgemeine zur Erstellung der interaktiven Inhalte relevante Seminarstunden. Einheiten, welche den Experimentiervideos zugeordnet werden, sind in orange hinterlegt. Auf Inhalte zu Stop-Motion-Videos weist ein gelber Hintergrund hin. Ein blauer Hintergrund steht für Einheiten zur Animation mit PowerPoint. Die von den Studierenden zu haltenden Präsentationen sind in grüner Schrift abgebildet.

Als Hauptthema wurde „Energie in Chemie und Biologie“ festgelegt, und einige Themen aus den vorangegangenen Veranstaltungen nochmals aufgegriffen. Von den Studierenden wurden zwei interaktive Lerneinheiten erstellt und am Ende der Veranstaltung vorgestellt:

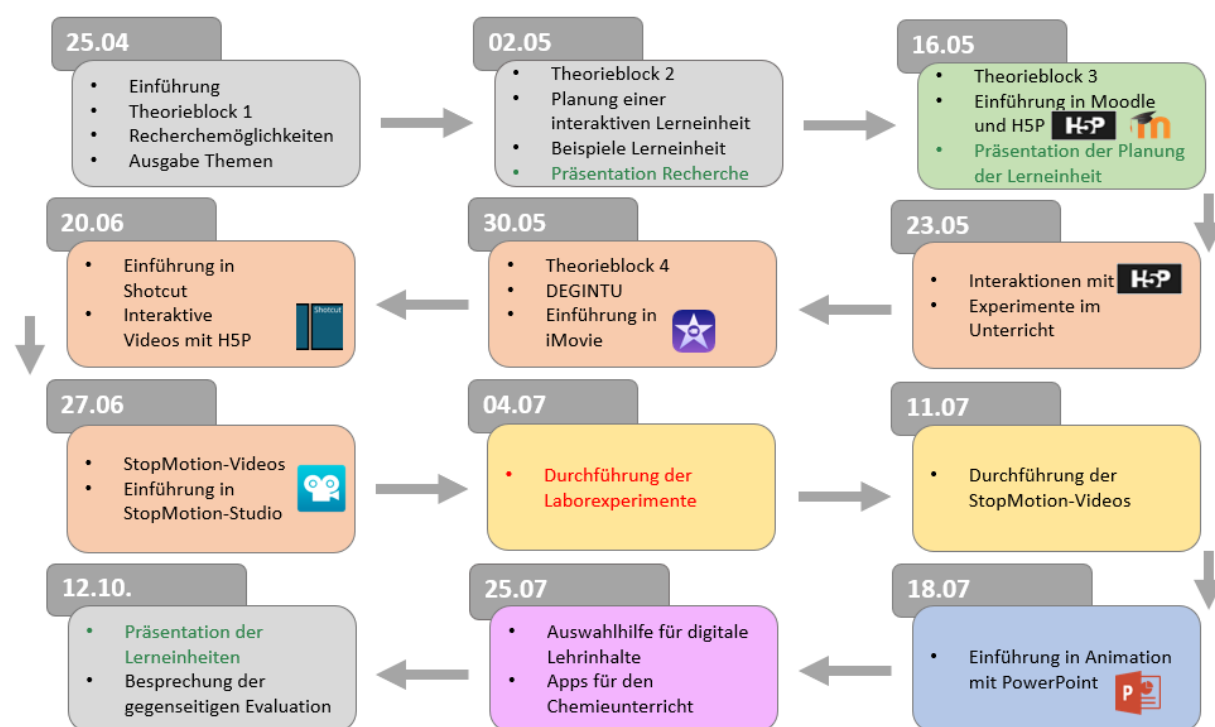
- Nachhaltige Energiekonzepte
- Mikroplastik im Ökosystem Meer und im Labor

Die Veranstaltung wurde erneut evaluiert und die Bewertung fiel wiederholt sehr positiv aus (Abschnitt A.3). Die Arbeitsbelastung und die Aufteilung zwischen Theorie, Praxis und Übung wurde größtenteils angemessen für eine 3 ECTS Veranstaltung eingeschätzt. Auch das Maß an Interaktivität während des Seminars (durch Gruppenarbeit

und Plenumsdiskussionen) wurde als passend angegeben. Vor allem die Bereitstellung der Stative, Beleuchtungsmaterialien und der Fotobox wurde von den Studierenden positiv hervorgehoben, und alle Kursteilnehmenden waren zufrieden mit ihren erstellten Lerneinheiten. Die Studierenden gaben an, die erlernten Fähigkeiten auch in ihrer zukünftigen Unterrichtsplanung berücksichtigen zu wollen, und Berührungsängste bezüglich dem Arbeiten mit verschiedenen Softwares abgebaut zu haben.

### Sommersemester 2022

Im Sommersemester 2022 wurde die Veranstaltung zum vierten Mal abgehalten, wieder in Präsenz (Abbildung 5.16). Als Oberthema wurde erneut „Energie in Chemie und Biologie“ festgelegt, und auch ein Unterthema für Teilnehmende im nicht-vertieften Studium mit einem breiteren Themenangebot angeboten.



**Abbildung 5.16:** Aufbau, Inhalt und zeitlicher Verlauf der im Sommersemester 2022 abgehaltenen Veranstaltung. Alle grünlich hinterlegten Blöcke behandeln allgemeine zur Erstellung der interaktiven Inhalte relevante Seminarstunden. Einheiten, welche den Experimentiervideos zugeordnet werden, sind in orange hinterlegt. Auf Inhalte zu Stop-Motion-Videos weist ein gelber Hintergrund hin. Ein blauer Hintergrund steht für Einheiten zur Animation mit PowerPoint. Zusätzlich wurde eine Einheit zu Apps für den Chemieunterricht abgehalten, hier in violett hinterlegt. Die von den Studierenden zu haltenden Präsentationen sind in grüner Schrift abgebildet.

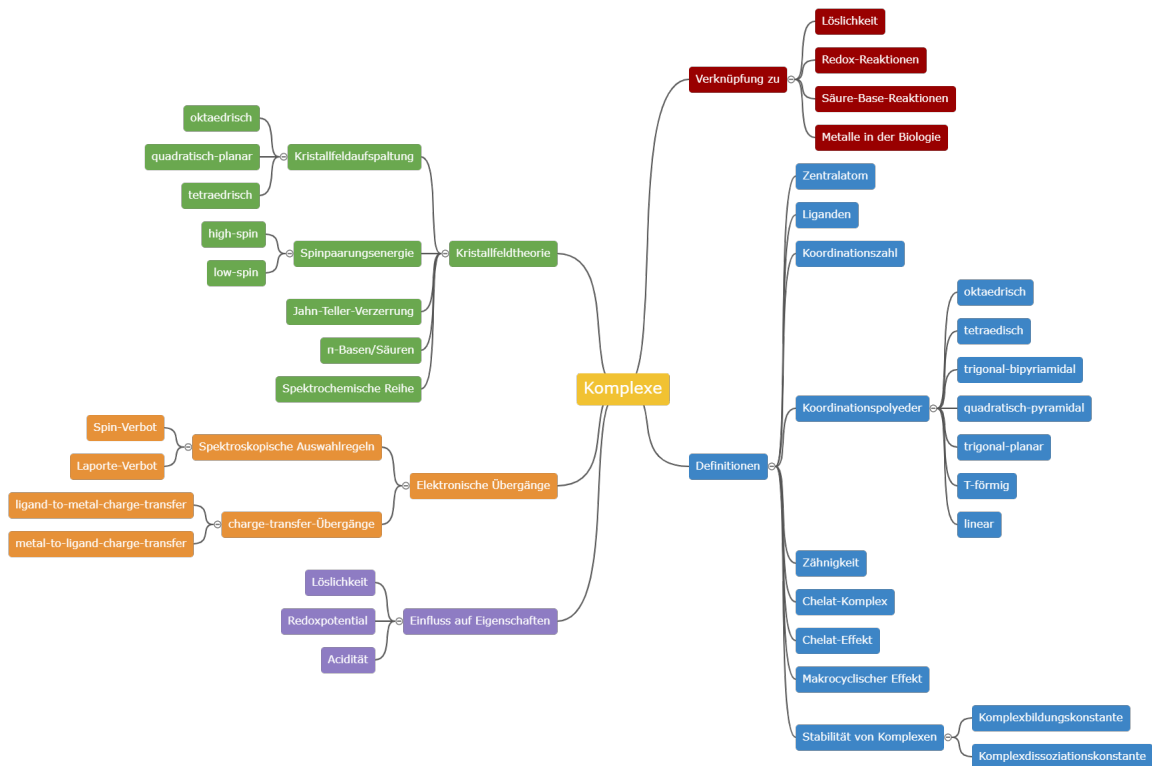
Lediglich kleinere Optimierungen wurden am Gesamtkonzept vorgenommen, um vor allem noch mehr Zeit für Übungen zu schaffen. Unter anderem wurde eine gesamte Seminareinheit für die Bearbeitung von Videos mit Shotcut geschaffen. Des Weiteren wurde, auf Wunsch

der Studierenden, eine weitere Stunde zur Verwendung von verschiedenen Apps für den Chemie-Unterricht mit den Schwerpunkten chemische Formeln, Versuchsaufbauten und chemische Animationen abgehalten. Die Studierenden testeten dabei die verschiedenen Applikationen in Gruppen. Zum Erstellen von chemischen Formeln wurde King-Draw Chemical Structure Editor, chemSketch und Chirys Draw getestet. Chemix wurde für die Zeichnung von Versuchsaufbauten verwendet, während chemische Animationen mit Flipa-Clip realisiert wurden. Anschließend präsentierten die Studierenden die getesteten Softwares, und schilderten ihre Erfahrungen, sowie positive als auch negative Aspekte im Plenum. Auch wurde die finale Präsentation der interaktiven Lerneinheiten nicht in der letzten Seminarstunde angesetzt, sondern am Ende der vorlesungsfreien Zeit, wodurch mehr Zeit für die Finalisierung der Lerneinheit vorgesehen war. Es wurden 3 interaktive Lerneinheiten erstellt:

- Fieber als Immunreaktion
- Mobilität der Zukunft
- Ohne Energie kein Leben!

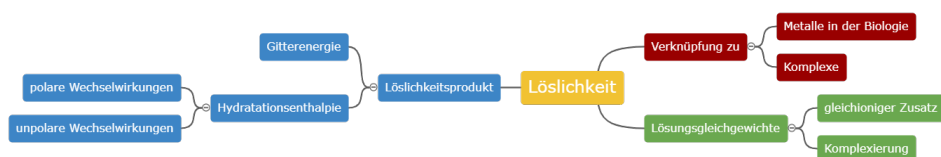
Zusätzlich wurde die Evaluation für das Seminar angepasst und erweitert, und erstmals auch Fragen zu fächerverbindenden Aspekten und Fachwissen erstellt (Abschnitt A.3). So schätzten die Studierenden, dass sie nach Besuch des Seminars fächerverbindende Aspekte zukünftig leichter erkennen können. Auch gaben die Teilnehmenden an, dass sie auf fachwissenschaftlicher Ebene ihr Wissen vernetzen konnten.

## 5.5.5 Maßnahme 3: Erstellung von Wissenslernkarten



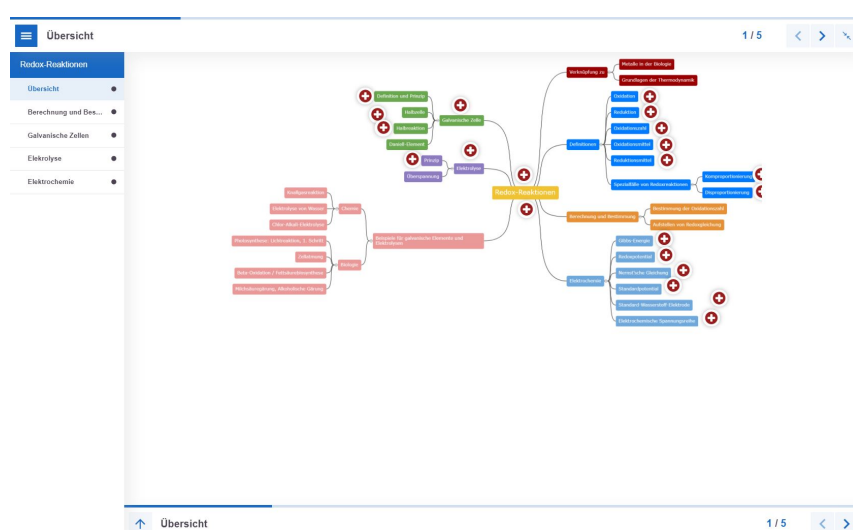
**Abbildung 5.17:** Wissenslernkarte zum Thema Komplexe. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

Die in der Maßnahme 1 identifizierten Quervernetzungen wurden nochmals näher beleuchtet, und für die Studierenden aufbereitet. Zu den zentralen Konzepten und Kernthemen wurden zunächst Wissenslernkarten (in Form einer Mind-Map) zu allen in Maßnahme 1 gesammelten Themen erstellt, diese zeigen verschiedenste, essentielle Aspekte auf. Des Weiteren wurden auch Verknüpfungsmöglichkeiten zu anderen Themenschwerpunkten und Konzepten aufgeführt. Diese Zusammenhänge sind exemplarisch für die Themen Löslichkeit und Komplexe gezeigt (Abbildung 5.17 und 5.18), weitere Karten sind im Anhang aufgeführt (Abschnitt A.1).



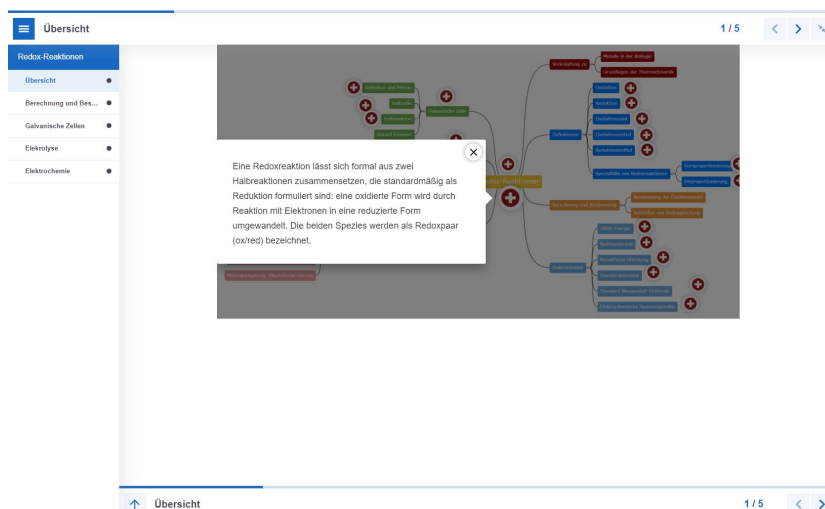
**Abbildung 5.18:** Wissenslernkarte zum Thema Löslichkeit. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

Entsprechende Erklärungen zu den einzelnen Aspekten wurden anschließend erstellt, und zunächst in einem zusammenhängenden Dokument gesammelt. Anschließend wurden verschiedene Programme und Tools zur interaktiven Darstellung der Wissenslernkarten getestet. Unter anderem wurde die Software Adobe Captivate 2019 genutzt, um eine ansprechende Lernumgebung zu schaffen, und die erarbeiteten Inhalte verständlich und untergliedert zu vermitteln. Diese wurde aber final nicht genutzt, da die Erstellung mit einem sehr großen Zeitaufwand verbunden war, und zeitgleich der Funktionsumfang von interaktiven H5P-Inhalten deutlich zugenommen hatte. So wurden die H5P-Inhalte „Interaktive Präsentation“, „Interaktives Buch“, „Info-Hotspots auf Bild“ und „Aufklappbarer Text“ getestet zur Darstellung. „Info-Hotspots auf Bild“ war vor allem für kleinere Wissenslernkarten geeignet. Für die komplexeren Zusammenhänge bot sich das „Interaktive Buch“ an. Dafür wurden „Info-Hotspots auf Bild“, sowie „Aufklappbarer Text“ und die „Interaktive Seite“ kombiniert. Dies wird nun exemplarisch für das Thema Redoxreaktionen als interaktives Buch gezeigt. Die Übersicht wurde basierend auf der angelegten Wissenslernkarte erstellt, welche als Grundlage für die „Info-Hotspots auf Bild“ diente (Abbildung 5.19).



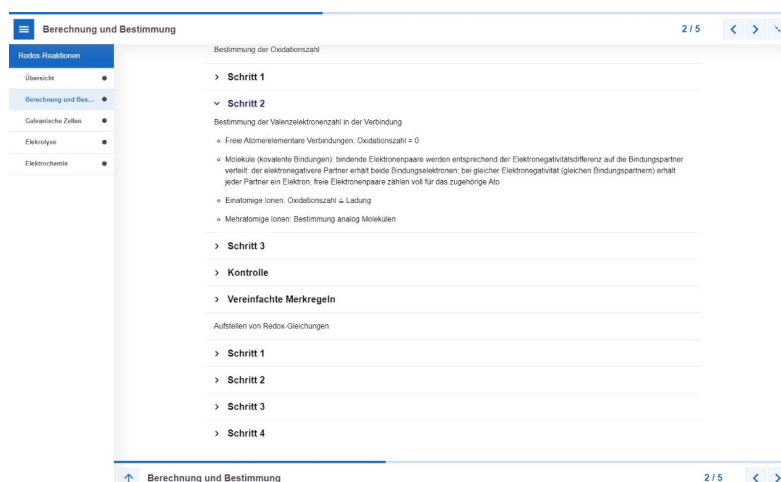
**Abbildung 5.19:** Ansicht der Übersicht der interaktiven Wissenslernkarte zum Thema Redoxchemie, erstellt mit dem interaktiven Buch-Tool von H5P. Gezeigt ist die Übersicht der Wissenslernkarte als „Info-Hotspots auf Bild“.

Die in Maßnahme 1 gesammelten Kurzinformationen wurden angewendet, und entsprechend als Hotspots angelegt. So wird durch das Klicken auf das rote Plus-Zeichen ein Textfeld geöffnet, welches eine Erklärung zu dem entsprechenden Begriff beinhaltet (Abbildung 5.20).



**Abbildung 5.20:** Ansicht der Übersicht der interaktiven Wissenslernkarte zum Thema Redoxchemie. Hier wird die Funktionsweise von „Info-Hotspots auf Bild“ nochmals genauer gezeigt.

Für komplexere Informationen und weitere Erklärungen wurden zusätzliche interaktive Seiten innerhalb des interaktiven Buches generiert. Diese enthalten klassische Text und Bild-Bausteine, können aber ebenfalls durch aufklappbaren Text ergänzt werden. So werden zum Unterthema Berechnung und Bestimmung die Bestimmung der Oxidationszahl und das Aufstellen von Redox-Gleichung kurz erläutert, unterteilt in verschiedene, aufklappbare Texte (Abbildung 5.21). Die Erläuterungen zur Galvanischen Zelle bestehen ebenfalls aus Bildern, Texten und aufklappbaren Texten (Abbildung 5.22). Die Formeln wurden hierfür als Bilder eingefügt, da der Texteditor von H5P selbst keinen Modus zum Erstellen von Formeln aufweist, und die Formeln alternativ über das zeitintensive Übertragen der einzelnen Komponenten in Unicode realisiert hätten werden müssen.



**Abbildung 5.21:** Ansicht von weiteren Inhalten der interaktiven Wissenslernkarte zum Thema Redoxchemie, hier gezeigt als interaktive Seite mit aufklappbaren Textbausteinen.



Galvanische Zellen 3/5

$\Delta G = -\Delta E \cdot n \cdot F = U \cdot I \cdot t = E_{el}$   $\Delta G < 0 \rightarrow$  freie  $E_{el}$

DE entspricht der Elektromotorischen Kraft (EMK, Energiedifferenz, durch die eine Galvanische Zelle Arbeit leisten kann) einer Galvanischen Zelle.

Die räumlich getrennte Reduktionshalbzelle und Oxidationshalbzelle werden verbunden, sodass ein unidirektionaler Ladungstransfer auftritt.

Der **Pluspol** stellt hierbei den Ort der **Reduktion** dar. Dieser wird **Kathode** genannt.

Der **Minuspol** stellt hierbei den Ort der **Oxidation** dar. Dieser wird **Anode** genannt.

> Daniell-Element

Anode  
Ort der Oxidation

Kathode  
Ort der Reduktion

Elektronen

Diaphragma

**Abbildung 5.22:** Ansicht von weiteren Inhalten der interaktiven Wissenslernkarte zum Thema Redoxchemie, hier gezeigt als interaktive Seite mit Text- und Bildbausteinen.

Anhand der vielzähligen Möglichkeiten von H5P-Inhalten kann für jedes der bearbeiteten Themen eine Wissenslernkarte mit zusätzlichen Informationen geschaffen werden, basierend auf dem bereits in Moodle integrierten Tool. Dies wurde aber zunächst nur exemplarisch für einige ausgewählte Themen wie Redoxchemie realisiert. Die Wissenslernkarten, welche die Themengebiete und ihre Aspekte aufzeigen (als Bilder), sowie diese erläutern (als zusammenhängendes Dokument), sind gesammelt auf dem in Maßnahme 4 erstellten Moodle-Kurs vorhanden, und können jederzeit verwendet, ergänzt und weiterentwickelt werden. Die Studierenden nutzten diese bereits auch zur Vorbereitung der von ihnen gewählten Themen im Zuge des Seminars als Orientierungshilfe.

### 5.5.6 Maßnahme 4: Nachhaltige Sicherung der erstellten Materialien

Alle erstellten Inhalte sind abschließend im Sinne der Open Educational Ressource verfügbar. Hierfür wurde der bestehende Kurs „Fächerverbindende Aspekte“ (<https://moodle.lmu.de/course/view.php?id=12425>) auf der Plattform Moodle genutzt, und über einen Gastzugang (Visu\_Gast) können alle Inhalte eingesehen und heruntergeladen werden. Die Verlinkung wird über die Website der Didaktik der Chemie erfolgen. Auch wurde bei verschiedenen Workshops (digital.together des MZLs) und Lehrkräftefortbildungen im Zuge der an der Fakultät für Chemie und Pharmazie angebotenen Schülerinfotage die Projektziele und Ergebnisse sowie der Zugang zum Moodle-Kurs Lehrkräften präsentiert und bereitgestellt.

Der Moodle-Kurs besteht aus verschiedenen Themenblöcken, welche alle im Projekt erarbeiteten Ergebnisse und Materialien beinhalten. Diese inkludieren eine allgemeine Einführung in fächerverbindende Aspekte, Informationen zum Seminar inklusive den Seminarunterlagen, weiterführenden Materialien, Online-Inhalten sowie der Seminaraufzeichnung aus dem Wintersemester 2020/2021. Letztere wurde vor allem von den Studierenden bei den Einführungen in die unterschiedlichen Software-Tools gerne genutzt. Im Anschluss werden Beispiele für interaktive Lerneinheiten angegeben, gefolgt von Informationen und Materialien zur Planung einer interaktiven Lerneinheit. Als Tools zur Erstellung von interaktiven Inhalten werden H5P (als Aktivität im Moodle-Kurs, extern über die Website [h5p.org](http://h5p.org), oder mit der Software Lumi) und Learningapps vorgestellt, und neben verschiedenen Beispielen auch Anleitungen angeboten. Ein Kapitel zum Thema Sicherheit beinhaltet verschiedene Rechtsbeispiele, Diskussionen zum Versicherungsschutz bei Hausaufgaben-Experimenten, sowie ein Gefährdungs- und Entsorgungsprotokoll für Experimente. Des Weiteren wird DEGIN TU vorgestellt, inklusive einer Anleitung zur Nutzung des Online-Portals, die aktuelle Richtlinie zur Sicherheit im Unterricht (RiSU2019) und eine Übersicht über die Zuständigkeiten im Bereich Chemie an Schulen hinterlegt. Ein Video zeigt, wie der Export eines eigens angelegten Versuches als PDF auf DEGIN TU durchgeführt werden kann. Unter dem Abschnitt „Erstellung von Lehrvideos“ werden Softwares zum Bearbeiten von Videos auf verschiedenen Endgeräten und Betriebssystemen (MacOS, Windows, Linux, iOS, Android) vorgestellt, und deren Vor- und Nachteile sowie Funktionsumfang aufgelistet. Eine Vielzahl von Tutorials als Videos oder Weiterleitungen zu verschiedenen Webseiten sind zu den Softwares iMovie, Shotcut und CuteCut hinterlegt. MovieMaker wird ebenfalls kurz vorgestellt. Als Orientierungshilfen sind Vorlagen für ein Storyboard und Kurzprotokoll vorhanden. Des Weiteren sind zwei Beispielvideos, mit ausgefülltem Kurzprotokoll und Storyboard zum Thema Phosphoreszenz als Laborexperiment und zum Einfluss von Reinigungsmitteln auf die Farbigkeit von Rotkohl als Hausaufgabenexperiment vorhanden. Zur „Erstellung von Stop-Motion-Videos“ werden verschiedene Beispiele verlinkt, und die Apps StopMotionStudio und LapseIt kurz vorgestellt. Weitere Softwares sind angegeben, werden aber nicht näher beschrieben. Für die Software StopMotionStudio sind verschiedene Video-Tutorials und Dokumente zur Handhabung vorhanden, und

wichtige Tipps und Tricks für die Erstellung von hochwertigen Videos aufgeführt. Ebenfalls wird erneut eine Vorlage für ein Kurzprotokoll angeboten, und Beispiele zum Thema Bohr'sches Atommodell und Energiestufenmodell Fluoreszenz inklusive der entsprechenden Kurzprotokolle hinterlegt. Für die „Erstellung von Animationen“ kann PowerPoint von Microsoft Office genutzt werden, auch hier sind wieder mehrere Tutorials verlinkt, unter anderem eine Anleitung zum Export der Animation als Video. Ebenfalls werden verschiedene Templates angegeben, welche lizenzfrei verschiedene, für den Biologie und Chemie-Unterricht relevante Grafikelemente (z.B. Labor- und Glasgeräte) zur Verfügung stellen. Darüber hinaus wird auf verschiedene Softwares hingewiesen, mit welchen das Zeichnen von chemischen Strukturen möglich ist. Des Weiteren ist ein Beispiel als PowerPoint-Folie downloadbar, wobei die in der Vorschau gezeigte Animation (Entzünden eines Bunsenbrenners) realisiert wurde. Auch hier wurde als zusätzliche Hilfestellung ein Kurzprotokoll hinterlegt.

Nach den Anleitungen und zusätzlichen Materialien zur Erstellung der verschiedenen digitalen Inhalte wurde ein Abschnitt zu fächerverbindenden Aspekten und Themen im vertieften Lehramtsstudium mit Fächerkombination Biologie und Chemie integriert. Neben einem Einführungstext in die Thematik sind die erstellten Wissenslernkarten hinterlegt (aus Maßnahme 1 und 3). Diese wurden thematisch gruppiert, und können als Bild heruntergeladen werden. Auch ist ein zusammenhängendes Dokument downloadbar, welches die verschiedenen Aspekte erläutert. Zu einigen Themen sind bereits interaktive H5P-Inhalte erstellt worden (Maßnahme 3).

Final finden sich verschiedene fächerverbindende Materialien, welche von den Studierenden im Zuge der Seminare erstellt, und nochmals überarbeitet wurden (Maßnahme 2). Die im Seminar „Aus 2 mach 1: Seminar zur Verknüpfung von Studieninhalten aus Chemie und Biologie/Geographie mit aktuellen Themen“ erstellten Vorträge wurden als Buch eingepflegt, zusammen mit passenden Staatsexamensaufgaben. Zur möglichen Eingliederung in den Schulunterricht wurden die Aspekte Basiskonzepte, Fachwissen, Erkenntnisgewinn, Kommunikation und Bewertung beleuchtet. Trotz der potentiellen Eingliederung in den Schulunterricht handelt es sich bei den aufbereiteten Vorträgen um Inhalte und Aspekte, welche vor allem im vertieften, fortgeschrittenen Studium behandelt werden. Dementsprechend ist die primäre Zielgruppe Studierende, die ihr Wissen vertiefen, und ein Thema aus biologischer und chemischer Sicht betrachten möchten. Folgende Themen wurden aufbereitet (Beispiel 1 – 4):

- Tätowierungen und ihre biologischen und chemischen Grundlagen
- Kosmetik und die Chemie dahinter
- Doping
- Seltene Erden - weder selten, noch Erden!

Zum Thema Calciumoxalat aus chemischer und biologischer Sicht (Beispiel 5) wurden verschiedene Aspekte umrissen, und entsprechende Fragen zum selbständigen Überprüfen

des Wissenstandes der Studierenden erstellt. Diese inkludieren im chemischen Bereich stoffchemische Aspekte, sowie die qualitative und quantitative Analyse. Biologische Anknüpfungspunkte finden sich in der Mikrobiologie, Physiologie und Anatomie sowie der Botanik. Zusätzlich wurden auch Literaturempfehlungen und Lehrbücher hinterlegt, und Stichworte herausgearbeitet.

Die weiteren, im Verlauf des Seminars „Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie“ erstellten Lerneinheiten zu den Bereichen Nachhaltigkeit, Chemie mit Licht, und Energie sind anschließend hinterlegt (Beispiel 6 – 16). Dabei sind neben den eigentlichen interaktiven Lerneinheiten (als Buch) die erstellten H5P-Inhalte, sowie die gesamte Dokumentation vorhanden. Teilweise wurden auch noch zusätzliche Materialien wie Arbeitsblätter und Advance Organizer erstellt. Alle Materialien und erstellten interaktiven Inhalte können entweder als gesamte Einheit oder separat und entsprechend der OER heruntergeladen werden, angepasst und verwendet werden. Die folgenden Lerneinheiten stehen inklusive der Materialien zur Verfügung:

- Fieber als Immunreaktion
- Mobilität der Zukunft
- Ohne Energie kein Leben!
- Mikroplastik im Ökosystem Meer und im Labor
- Nachhaltige Energiekonzepte
- Erneuerbare Energien
- Wie funktioniert eine Kamera?
- Farbstoffe
- Chemie mit Licht - Sehprozesse
- Sehprozesse - Farbsehen
- Faszination Photolumineszenz

Final sind noch drei weitere Beispiele (Beispiel 17 - 19) angegeben, welche Übungen zu einer Vertonung von Lehrvideos anbieten. Dabei werden Videos zum Thema Oberflächenspannung, dem Heronbrunnen und der Flammsonde angeboten, welche eigenständig vertont werden können. Beispiele einer möglichen Vertonung sind ebenfalls hinterlegt.

## 5.6 Ausblick

Die Projektförderung ist Ende 2022 nach vier Jahren Förderphase ausgelaufen, ein Nachfolgeprojekt wurde nicht eingeworben. Die im Zuge des Projekts erstellten Materialien wurden gesammelt in einem Moodle-Kurs zur Verfügung gestellt, dieser ist auch mit einem Gastzugang nutzbar. Darauf zu finden sind alle Teilergebnisse des Projekts. Die gesamten, erstellten Wissenslernkarten sind mit den entsprechenden Erklärungen zugänglich. Der Hauptfokus liegt aber auf den im Seminar erstellten Materialien zu den interaktiven, fächerverbindenden Lerneinheiten sowie alle nötigen Einführungen zu Softwaretools und Hilfestellungen. Diese können nun von Studierenden, aber auch von Lehrkräften und Interessierten genutzt werden. An einer langfristigen Einbettung und Sicherung der Materialien sind wir sehr interessiert, eine direkte Verlinkung über die Didaktik der Chemie Website wurde bereits angestoßen. Zusätzlich wird auch versucht, die Lerneinheiten über die Didaktik der Biologie zu vernetzen. Abschließend ist geplant, alle zu Beginn des Projekts informierten Stellen nochmals zu kontaktieren, um kurz den Projektverlauf zu beschreiben, und auf die Materialsammlung im Moodle Kurs hinzuweisen.

Mithilfe der bereits erstellten, fächerverbindenden digitalen Materialien und dem entwickelten Seminar ist es zukünftig auch möglich den nachhaltigen Effekt des Seminars und die Wissensvernetzung im Sinne der didaktischen Rekonstruktion zu untersuchen, wenn das Seminar erneut angeboten wird. Das Konzept des Seminars, Seminarmaterialien, Einführungen in die einzelnen Softwaretools, Orientierungshilfen wie Kurzprotokolle und bereits erstellte Lerneinheiten als Anschauungsbeispiele sind bereits vorhanden, und können bei einem erneuten Abhalten des Seminars genutzt werden. Mithilfe einer Fragebogenerhebung im Prä-Post-Design kann einerseits untersucht werden, ob die Studierenden selbst fächerverbindendes Fachwissen besser erkennen und Vernetzungen identifizieren können. Andererseits kann die Frage behandelt werden, ob die Studierenden Kenntnisse im Umgang mit digitalen Tools erlangen und diese auch anwenden können. Dies wurde bereits im letzten Durchgang des Seminars kurz angeschnitten, jedoch wurden die Studierenden lediglich nach dem Seminar befragt. Basierend auf den geleisteten Vorarbeiten eignet sich dieses Thema hervorragend für eine Zulassungsarbeit in der Chemiedidaktik, begleitend durch einen wissenschaftlichen Mitarbeiter, welcher das Seminar abhält.



# Anhang A

## Appendix zu Vernetztes Curriculum Chemie/Biologie

### A.1 Wissenslernkarten

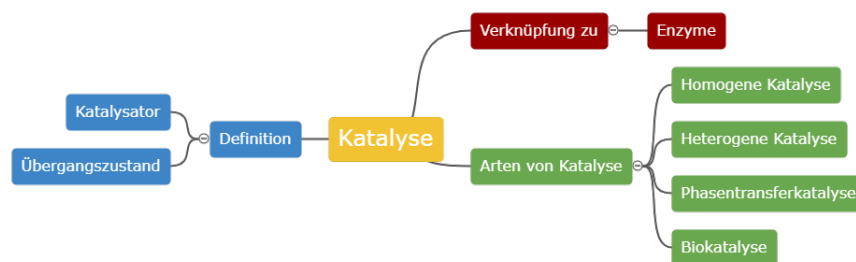


Abbildung A.1: Wissenslernkarte zum Thema Katalyse. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

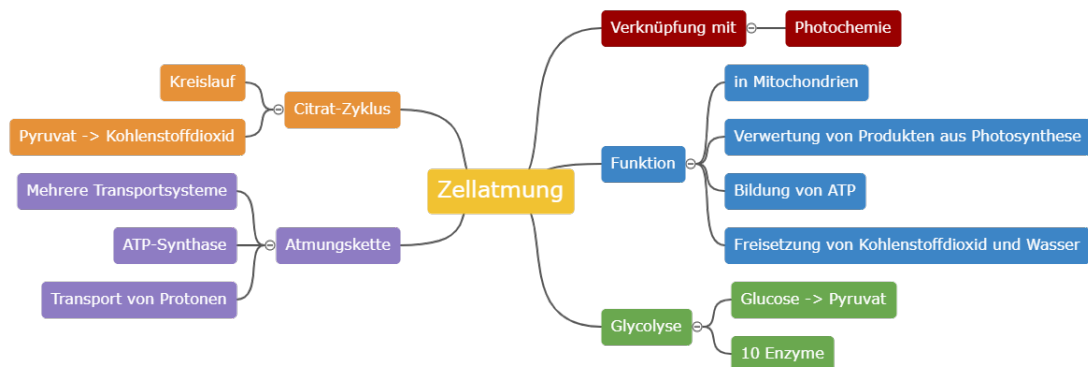


Abbildung A.2: Wissenslernkarte zum Thema Zellatmung. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

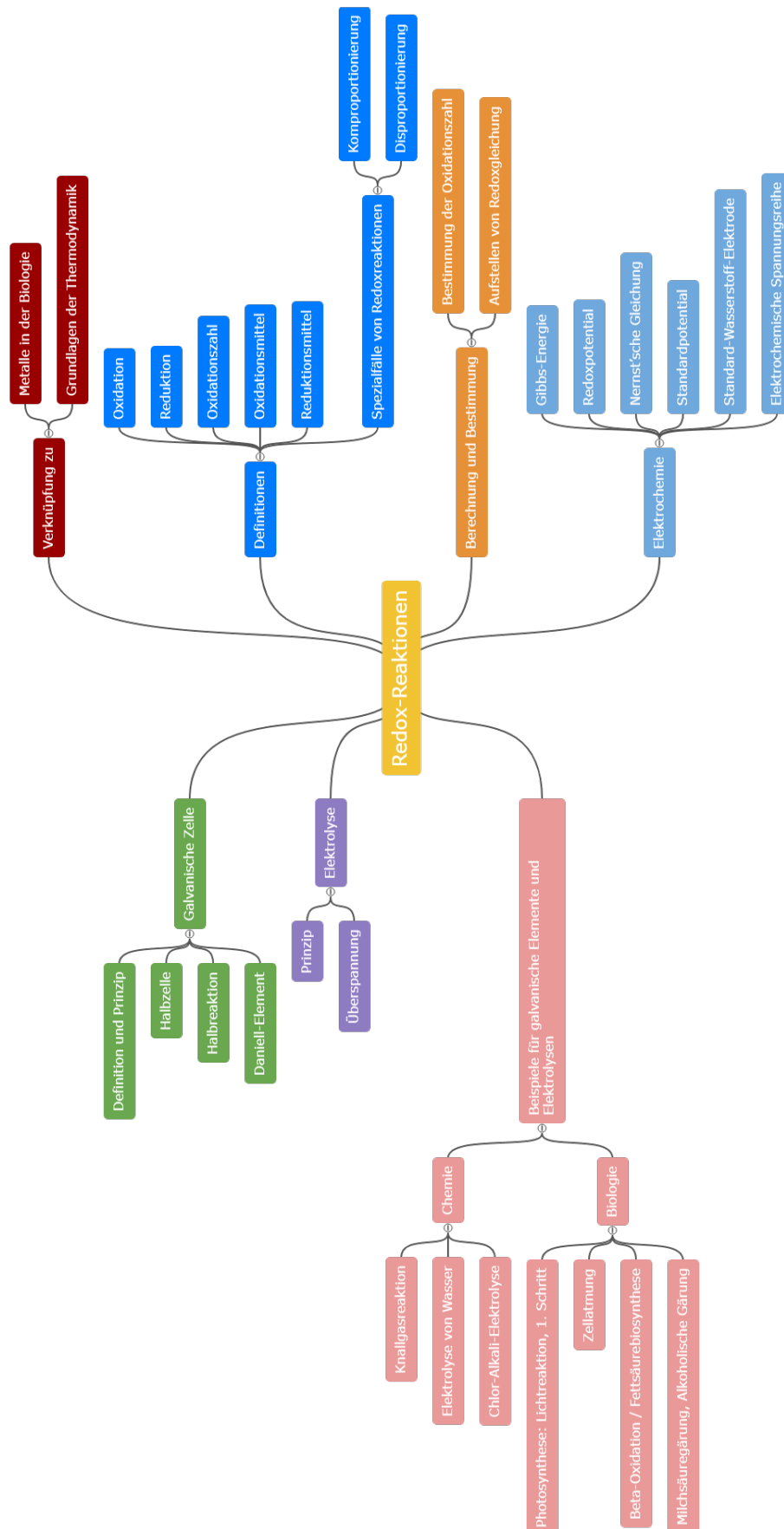


Abbildung A.3: Wissenslernkarte zum Thema Zellatmung. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



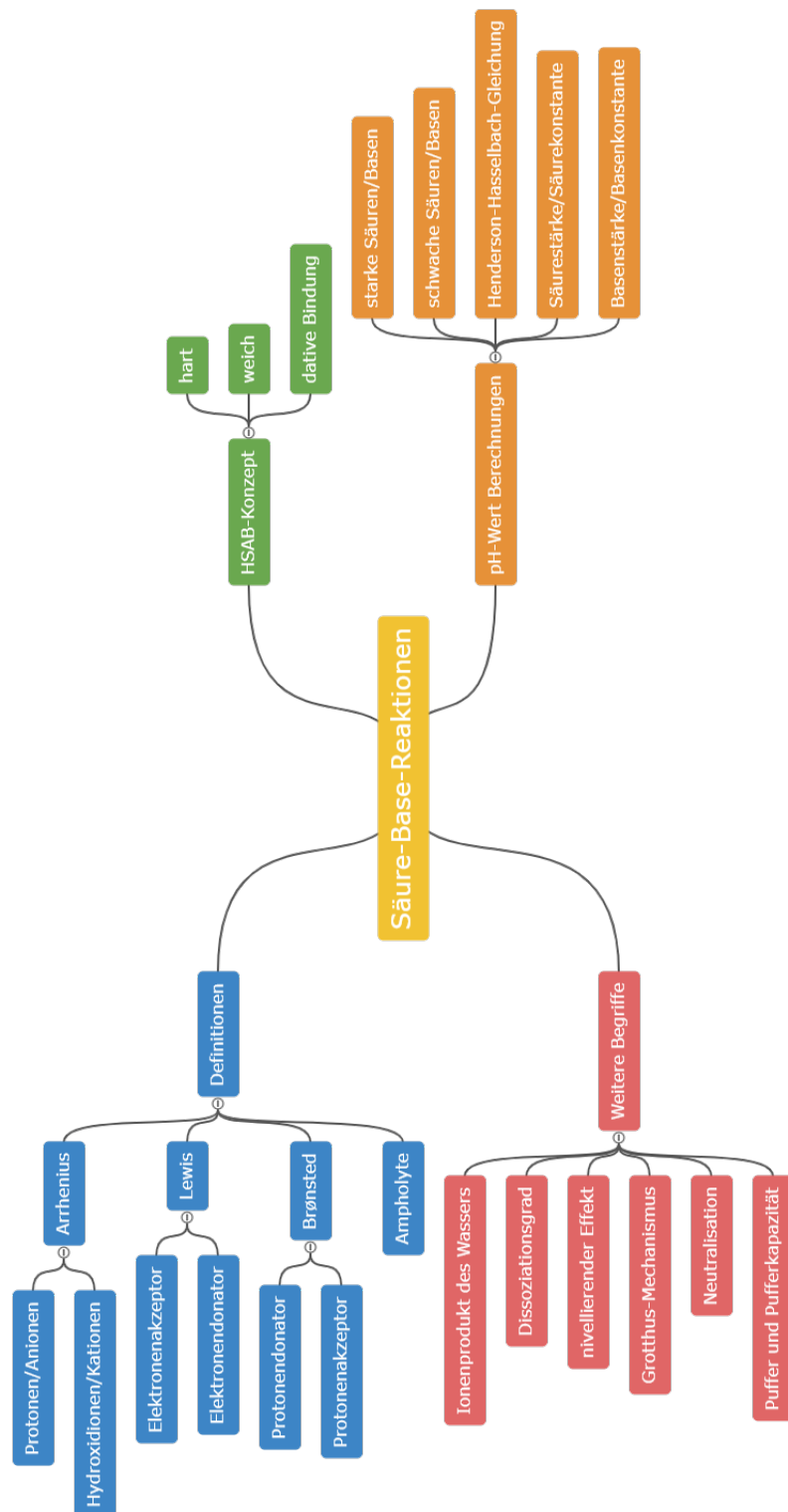
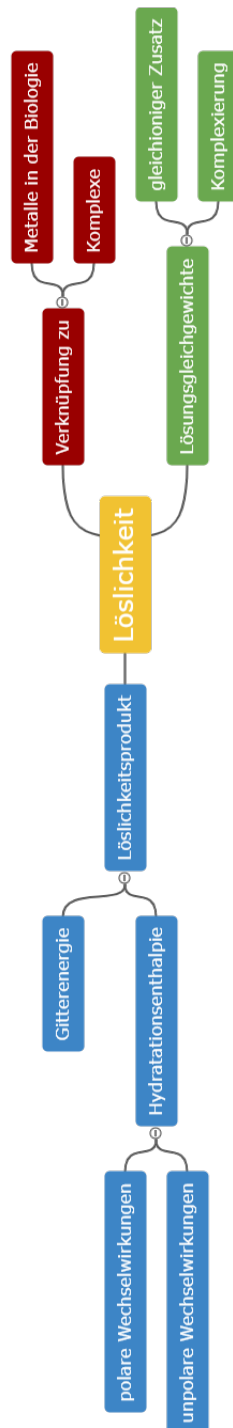


Abbildung A.4: Wissenslernkarte zum Thema Säure-Base-Reaktionen.



**Abbildung A.5:** Wissenslernkarte zum Thema Zellatmung. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

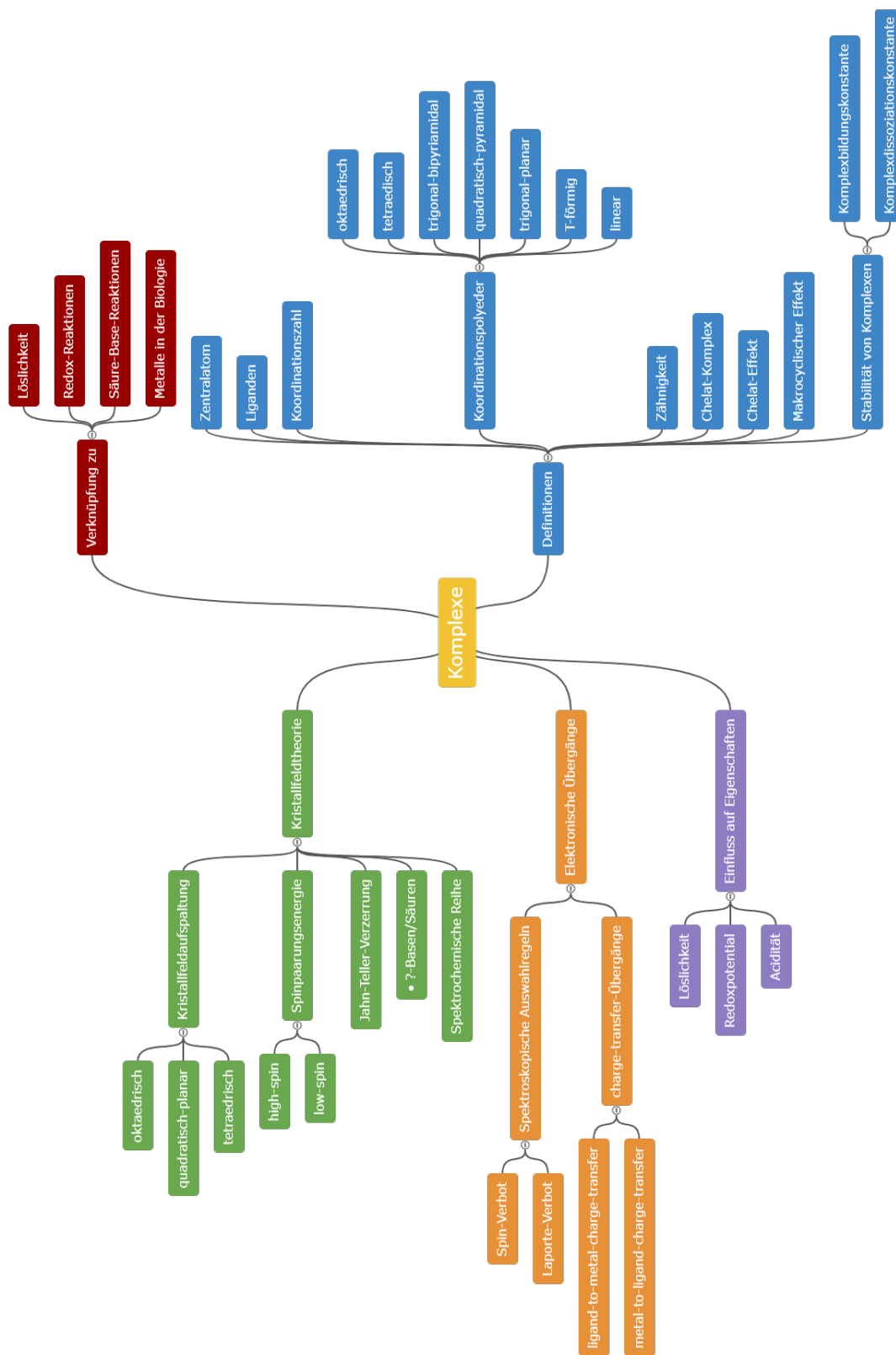


Abbildung A.6: Wissenslernkarte zum Thema Zellaftung. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

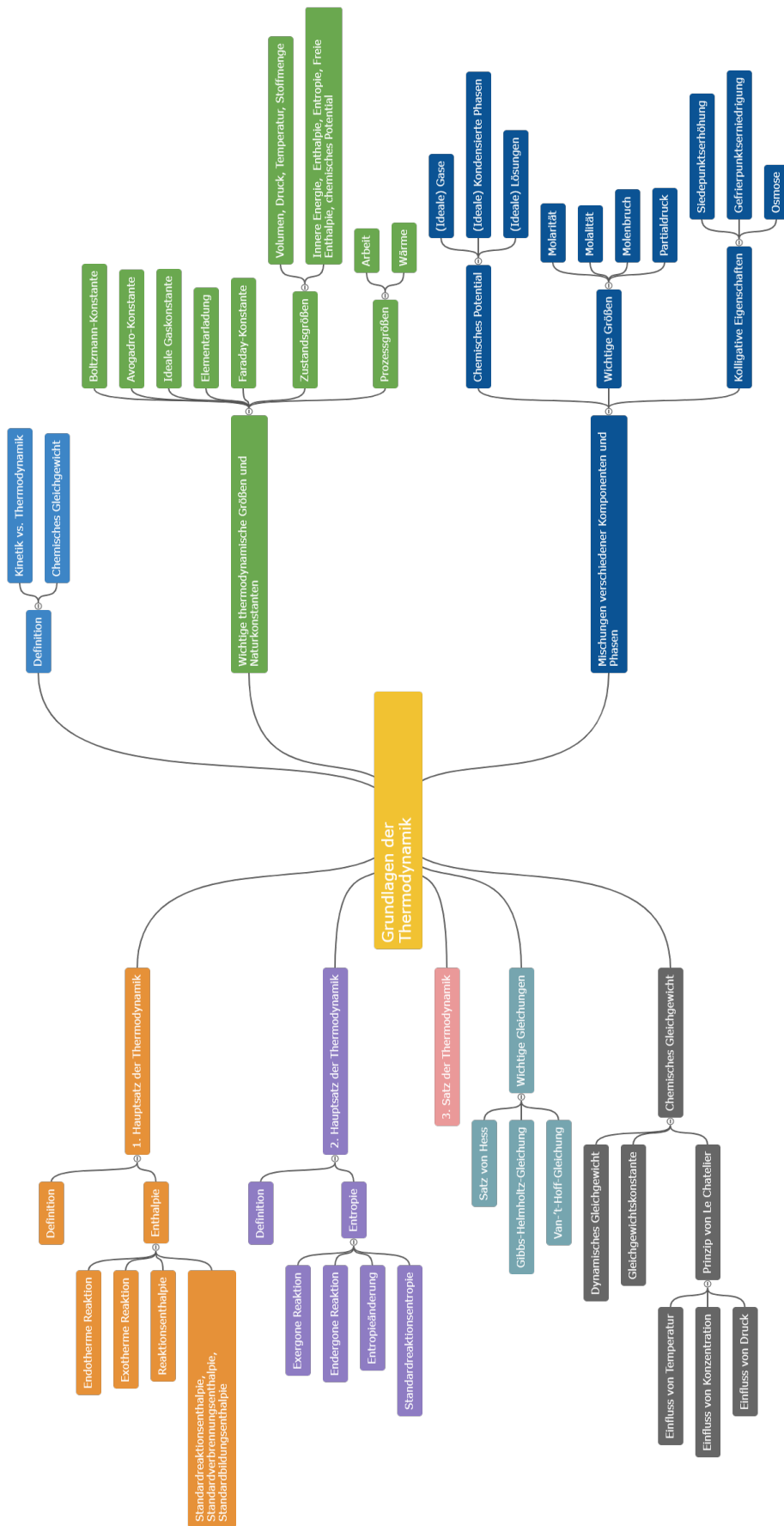


Abbildung A.7: Wissenslernkarte zum Thema Reaktionskinetik.

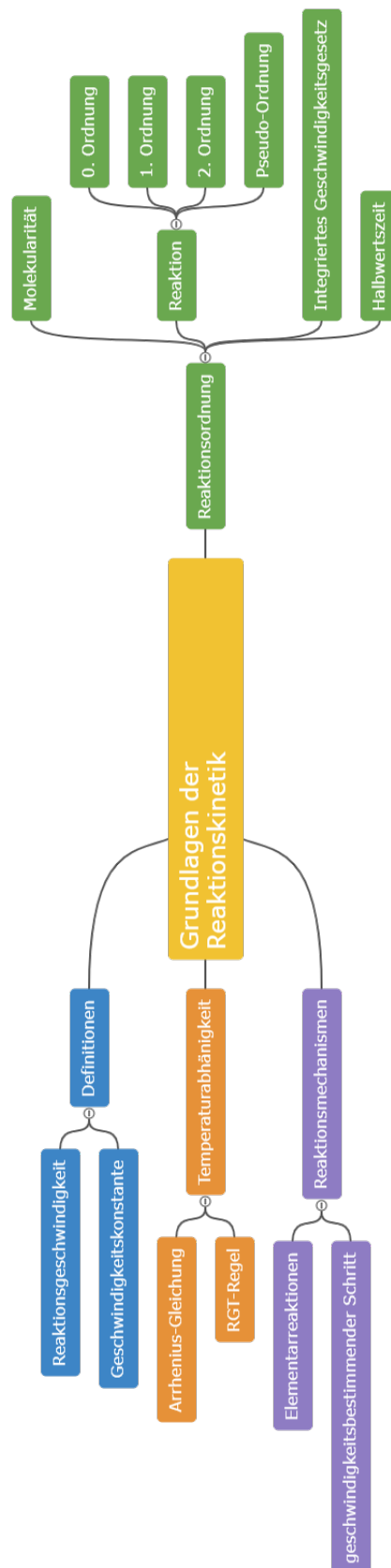


Abbildung A.8: Wissenslernkarte zum Thema Reaktionskinetik.

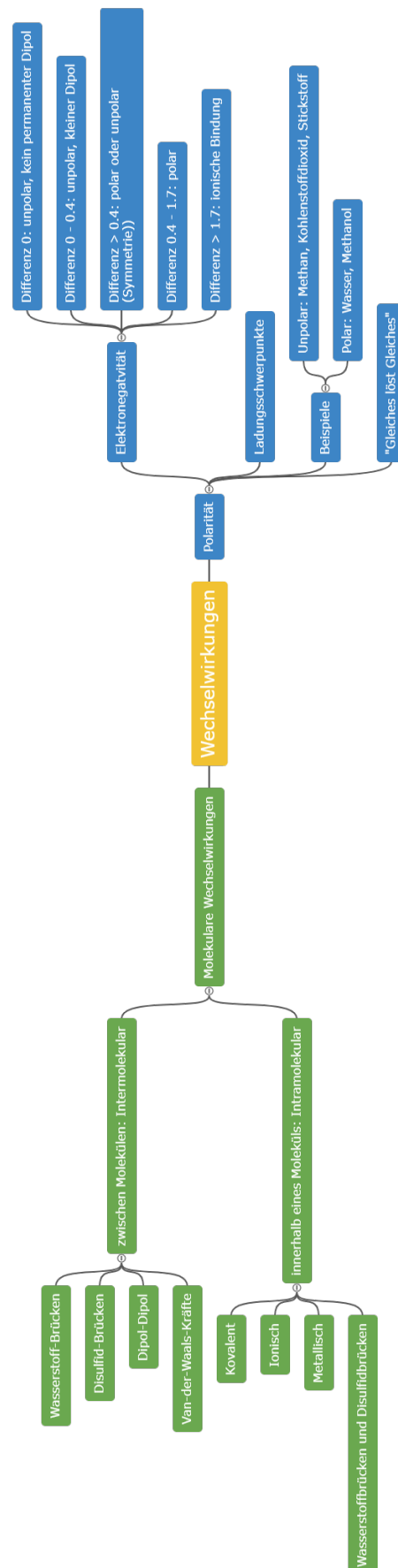


Abbildung A.9: Wissenslernkarte zum Thema Wechselwirkungen.

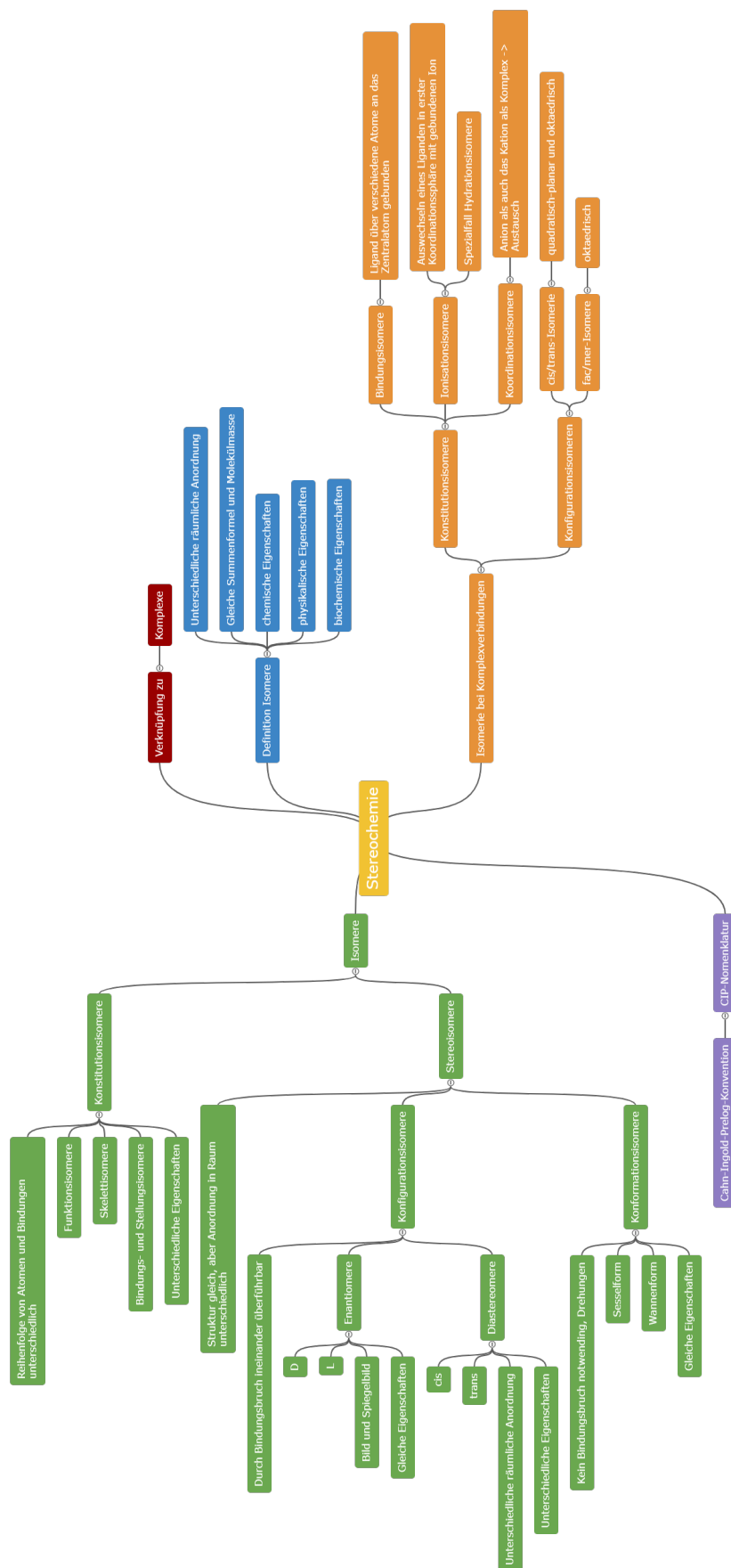
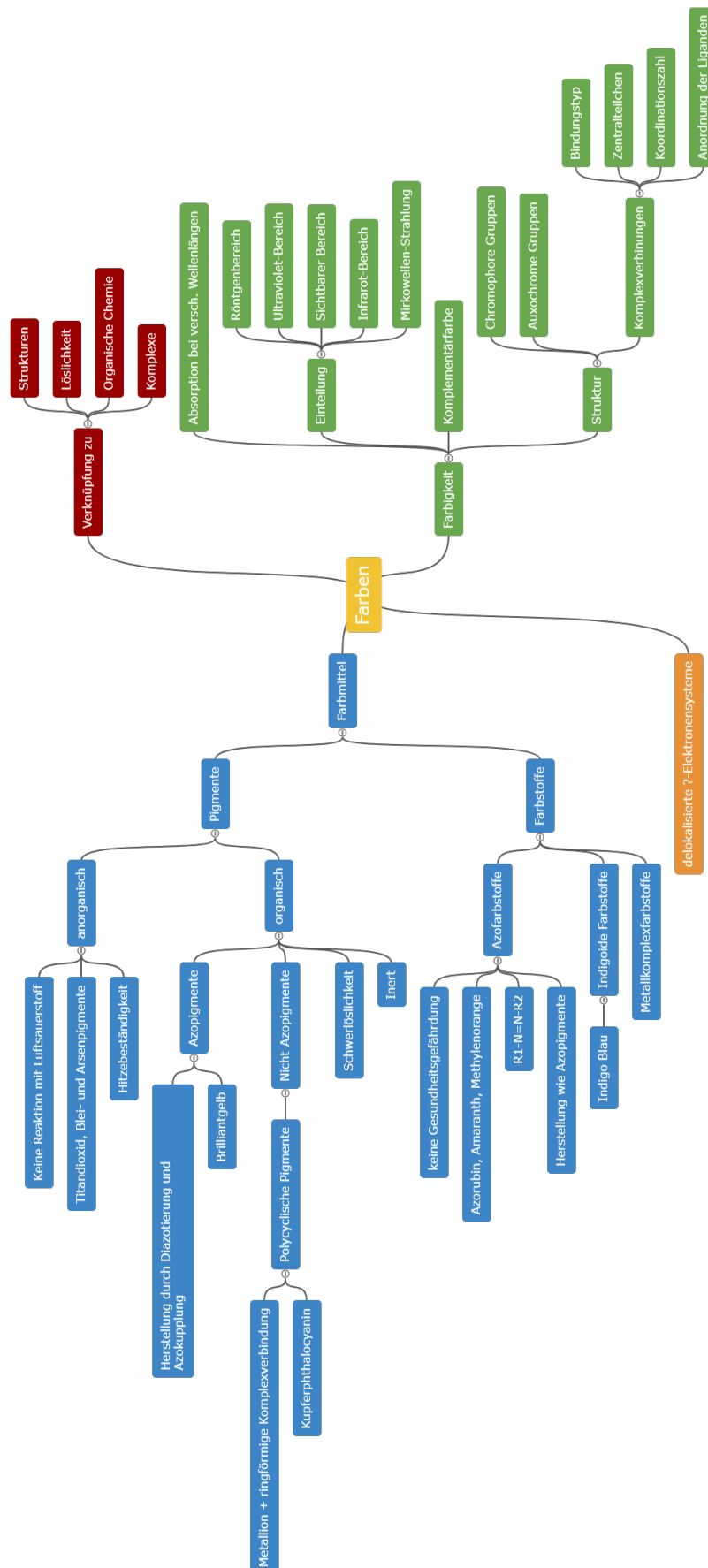


Abbildung A.10: Wissenslernkarte zum Thema Stereochemie. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.11:** Wissenslernkarte zum Thema Farben. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



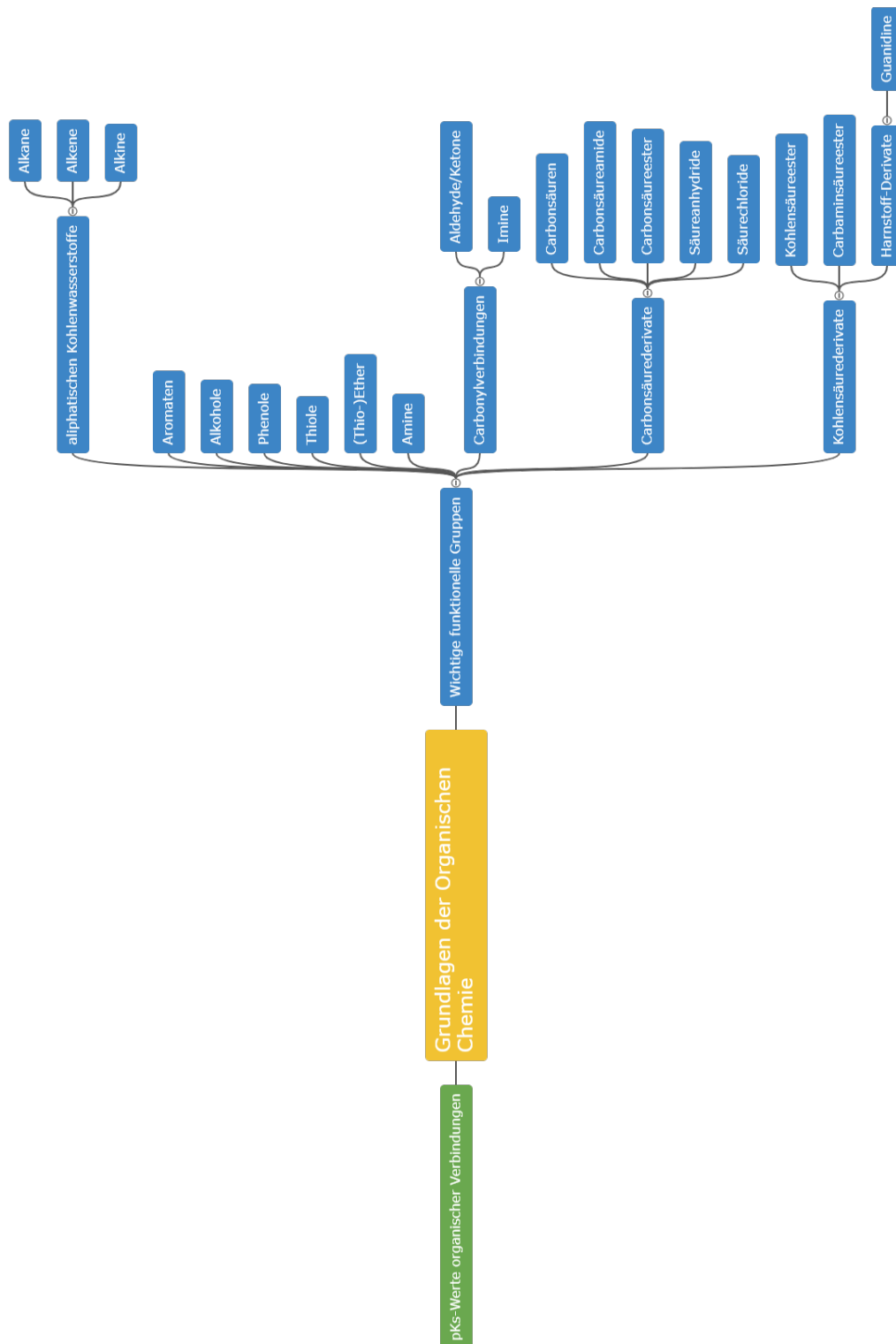


Abbildung A.12: Wissenslernkarte zum Thema Organische Chemie.

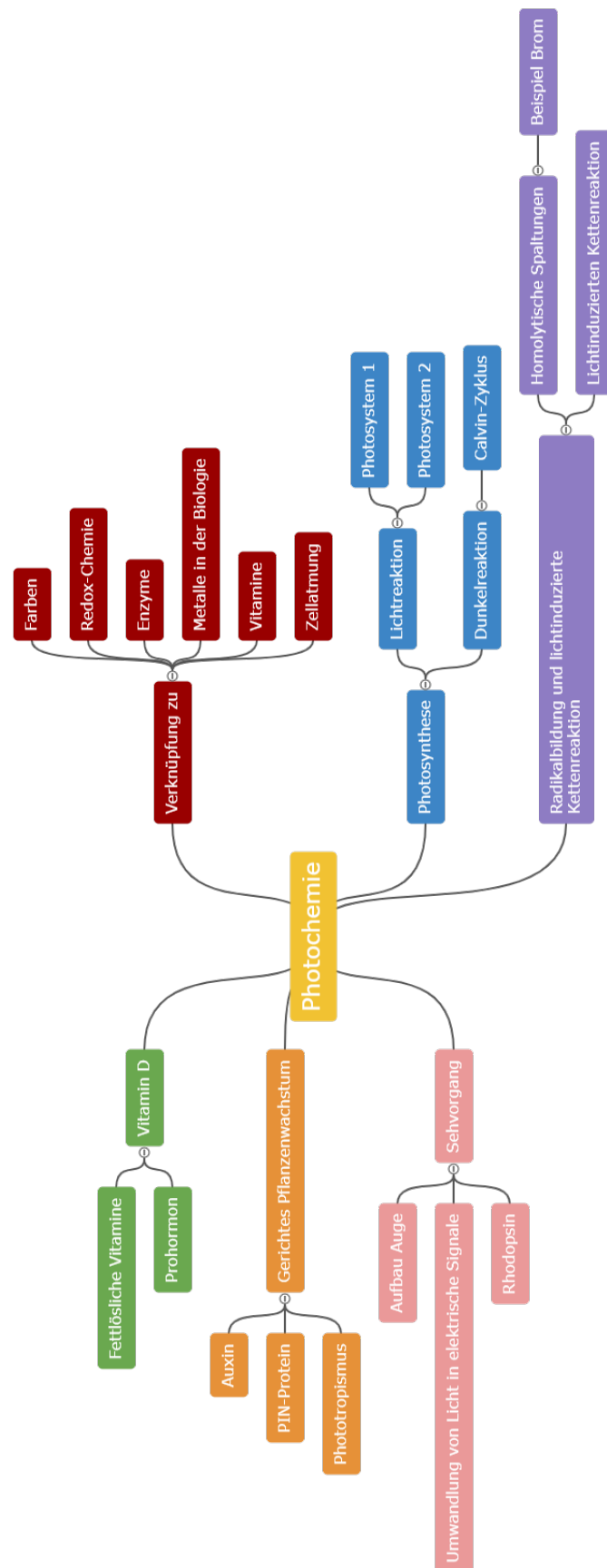


Abbildung A.13: Wissenslernkarte zum Thema Photochemie.

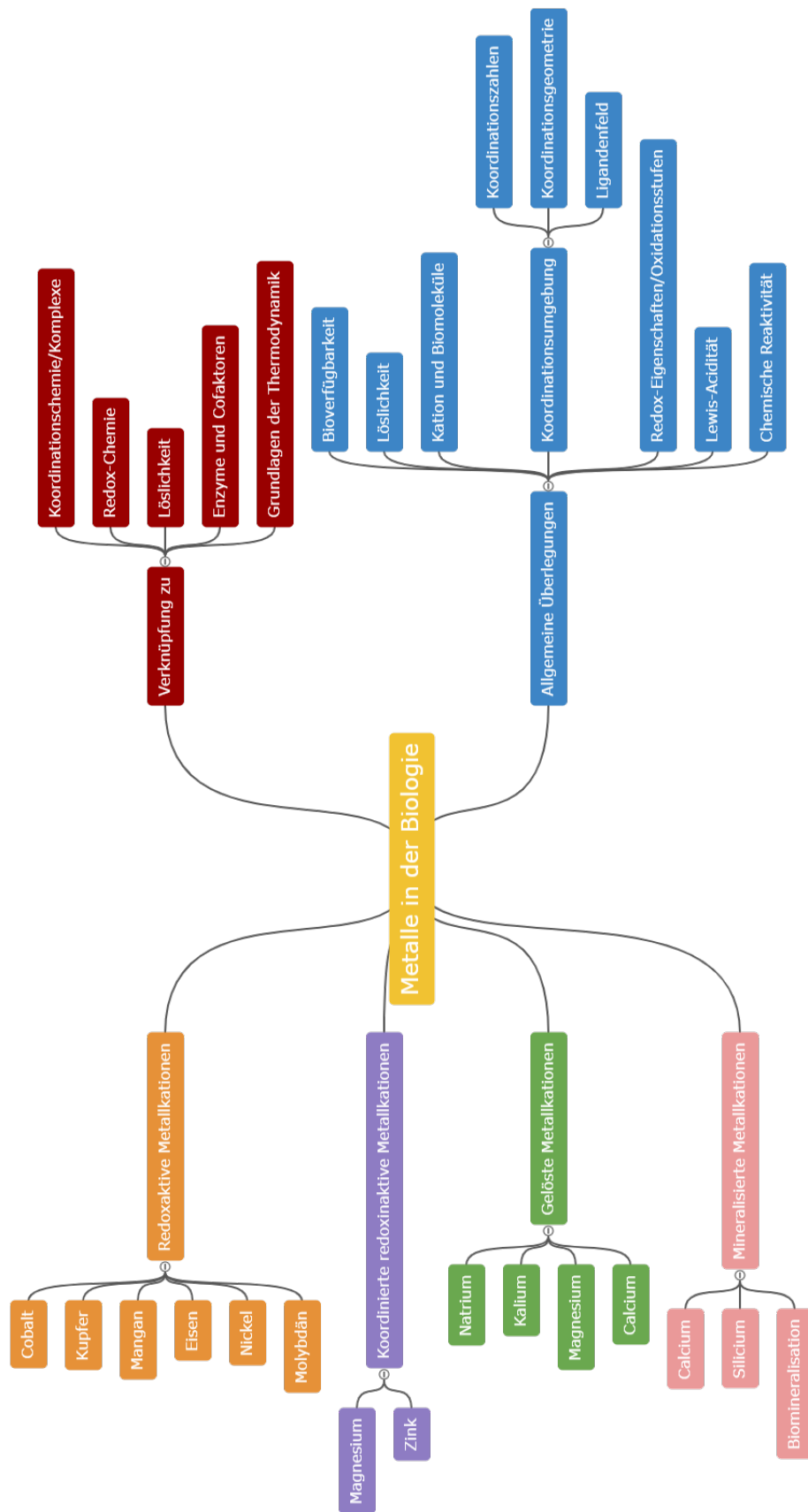
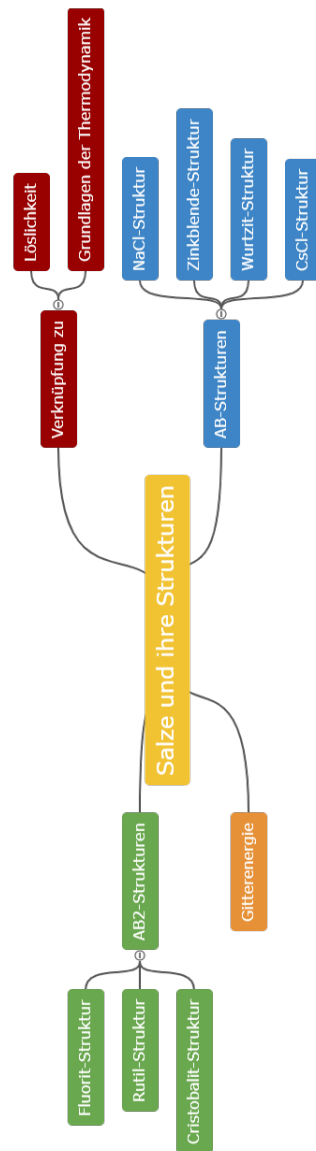


Abbildung A.14: Wissenslernkarte zum Thema wichtige Metalle. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.15:** Wissenslernkarte zum Thema Salze. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

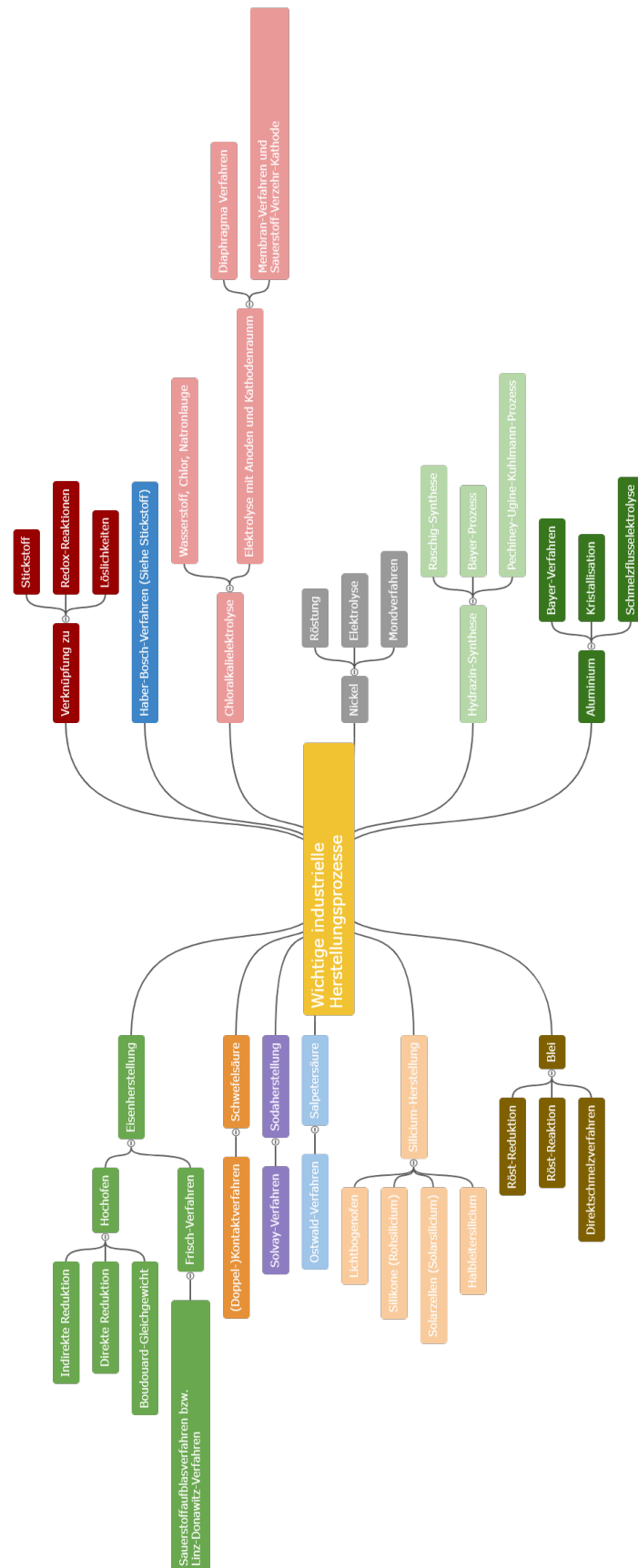
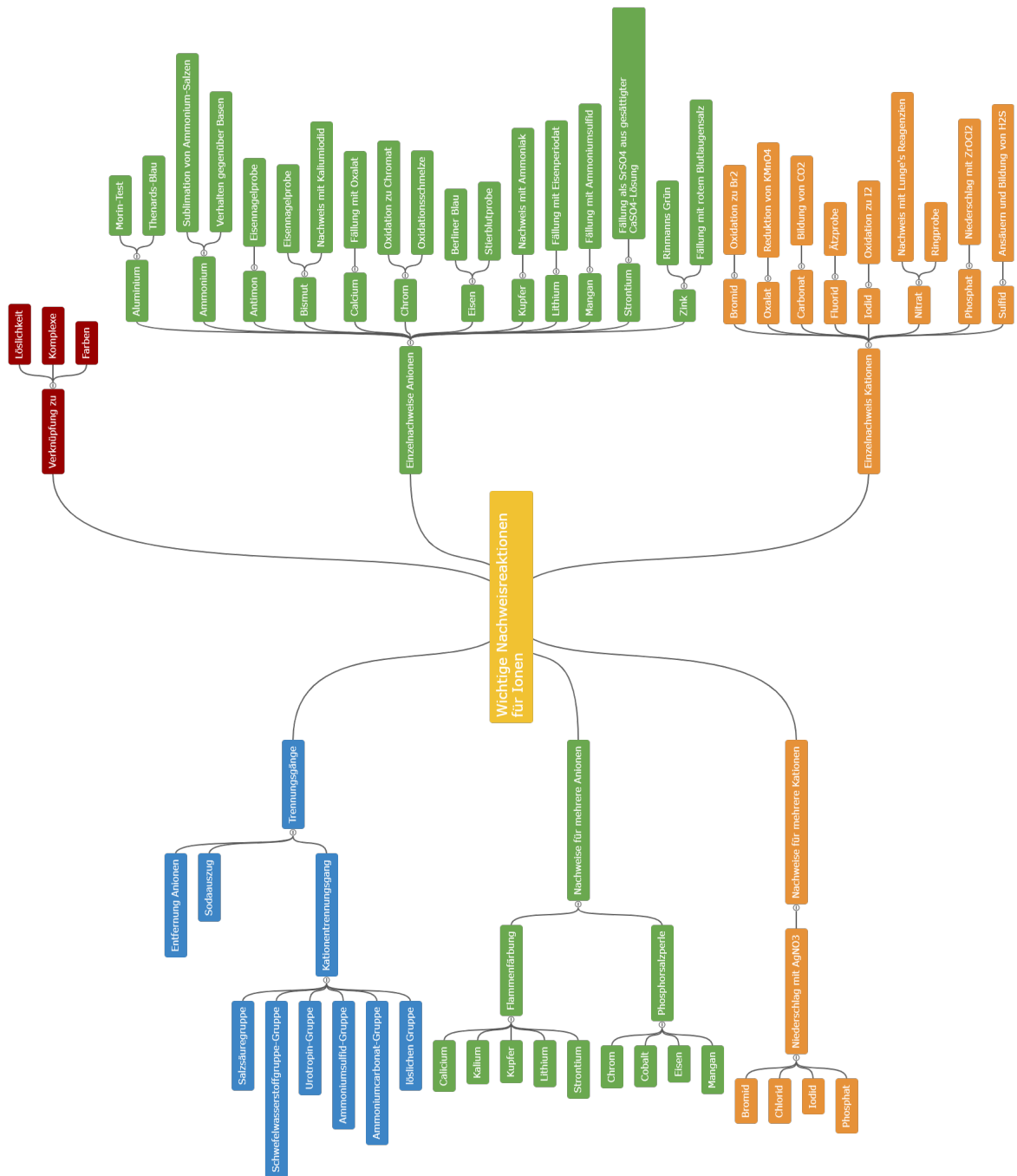
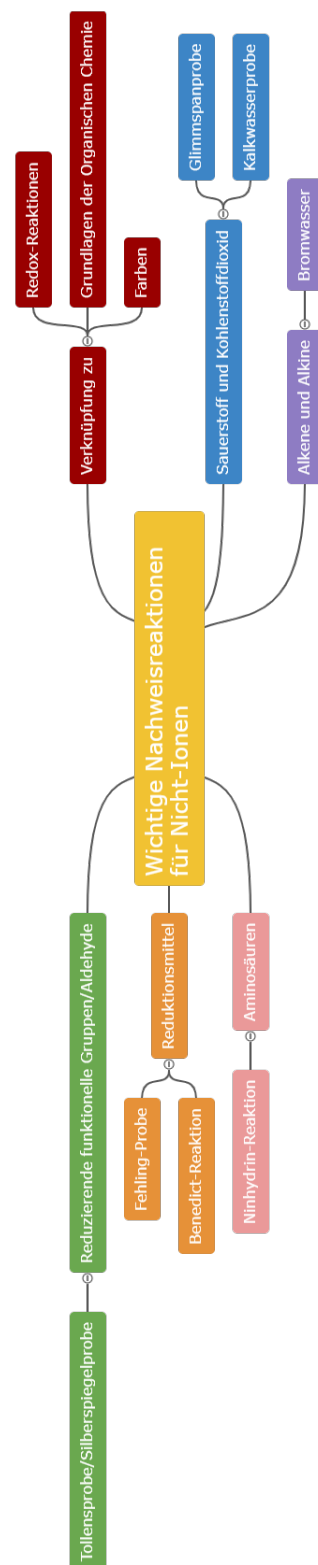


Abbildung A.16: Wissenslernkarte zum Thema wichtige Herstellungsprozesse. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.17:** Wissenslernkarte zum Thema Nachweise von Ionen. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.18:** Wissenslernkarte zum Thema Nachweise von Nichtionen. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

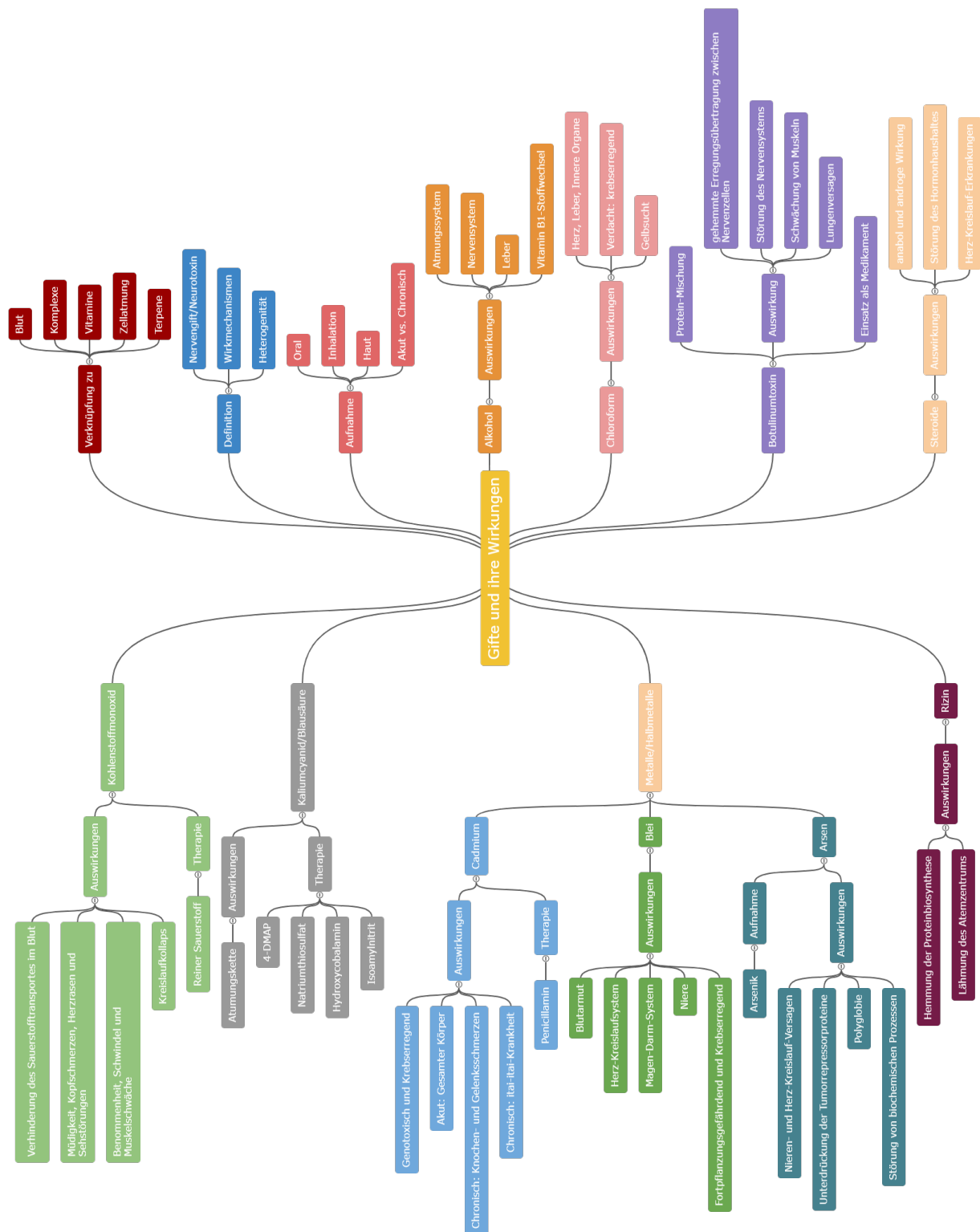


Abbildung A.19: Wissenslernkarte zum Thema Gifte. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



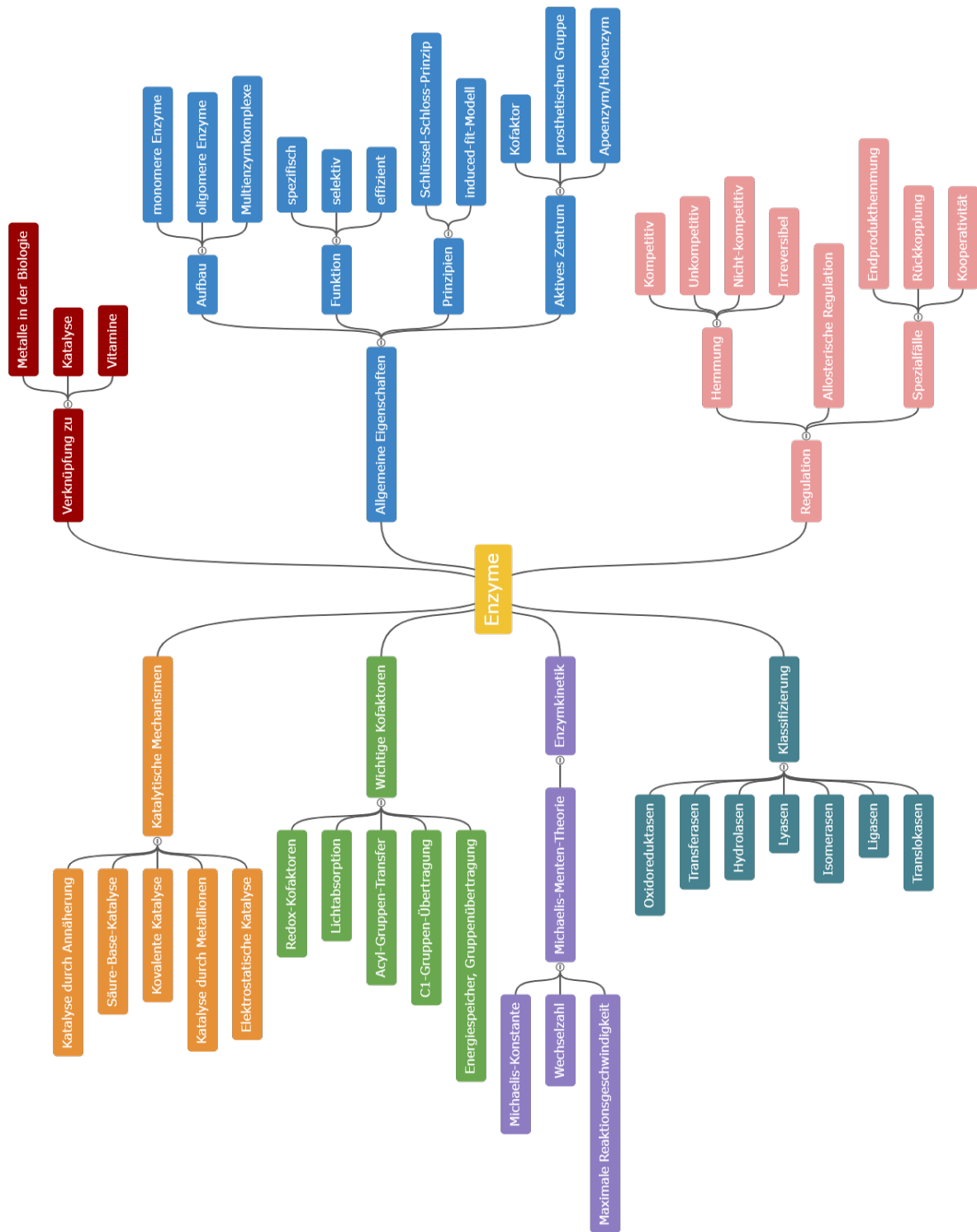
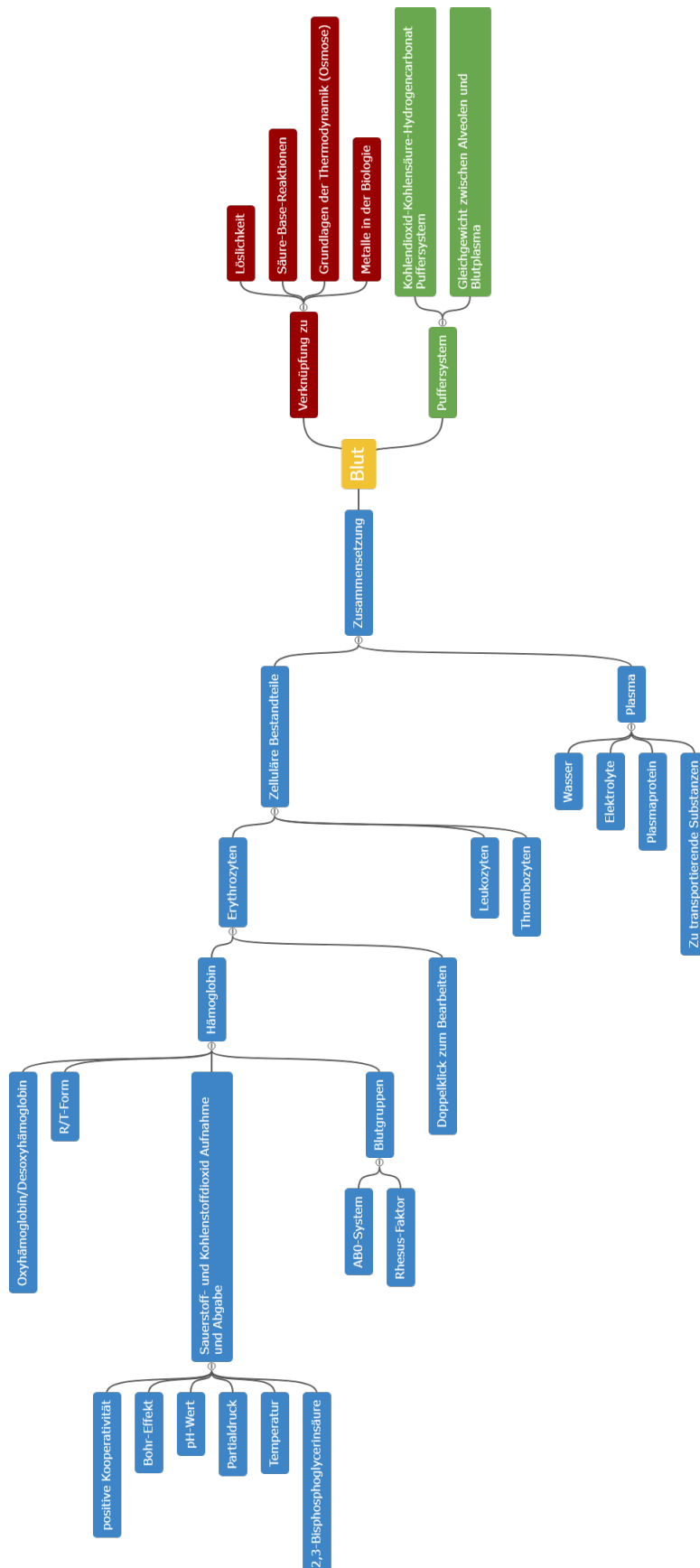
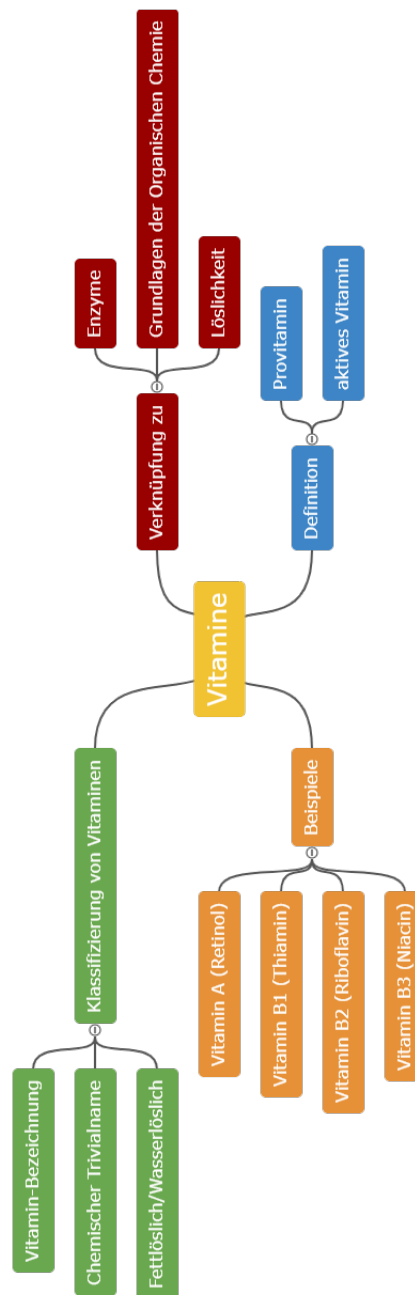


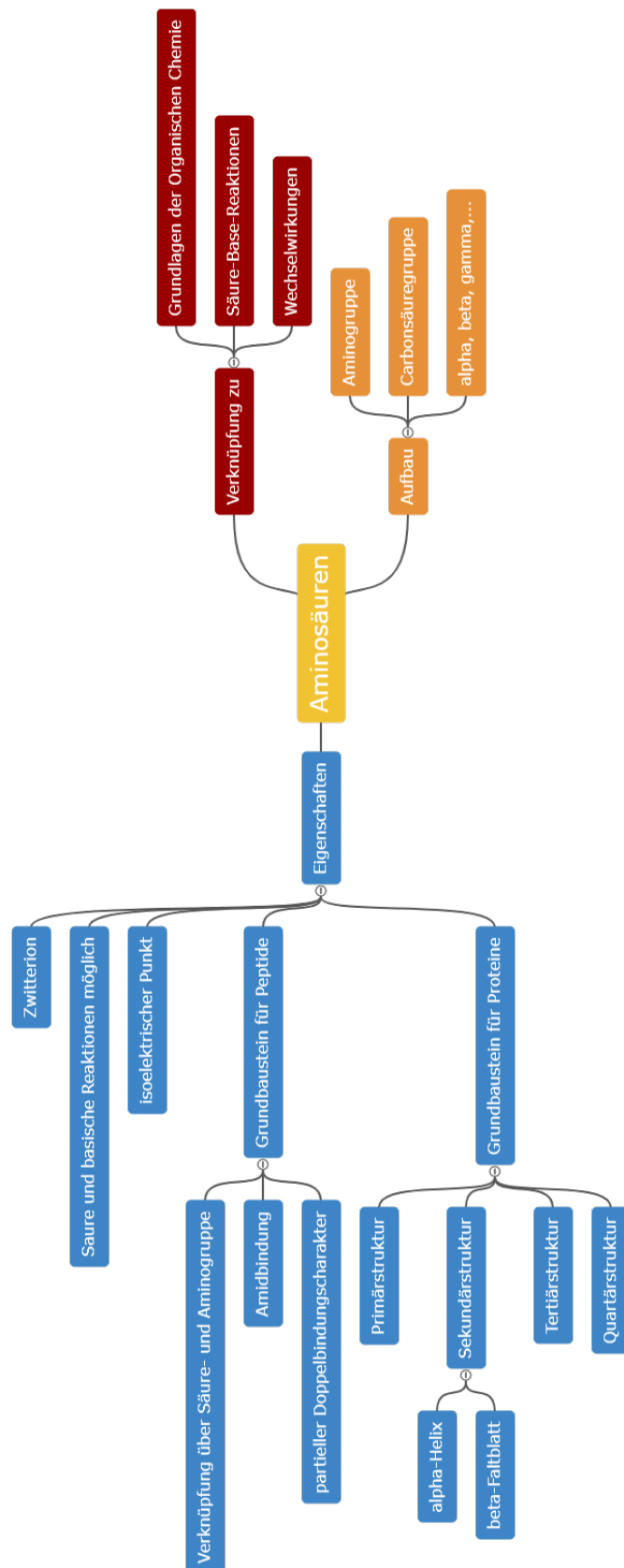
Abbildung A.20: Wissenslernkarte zum Thema Enzyme. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.21:** Wissenslernkarte zum Thema Blut. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.22:** Wissenslernkarte zum Thema Vitamine. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.23:** Wissenslernkarte zum Thema Aminosäuren. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

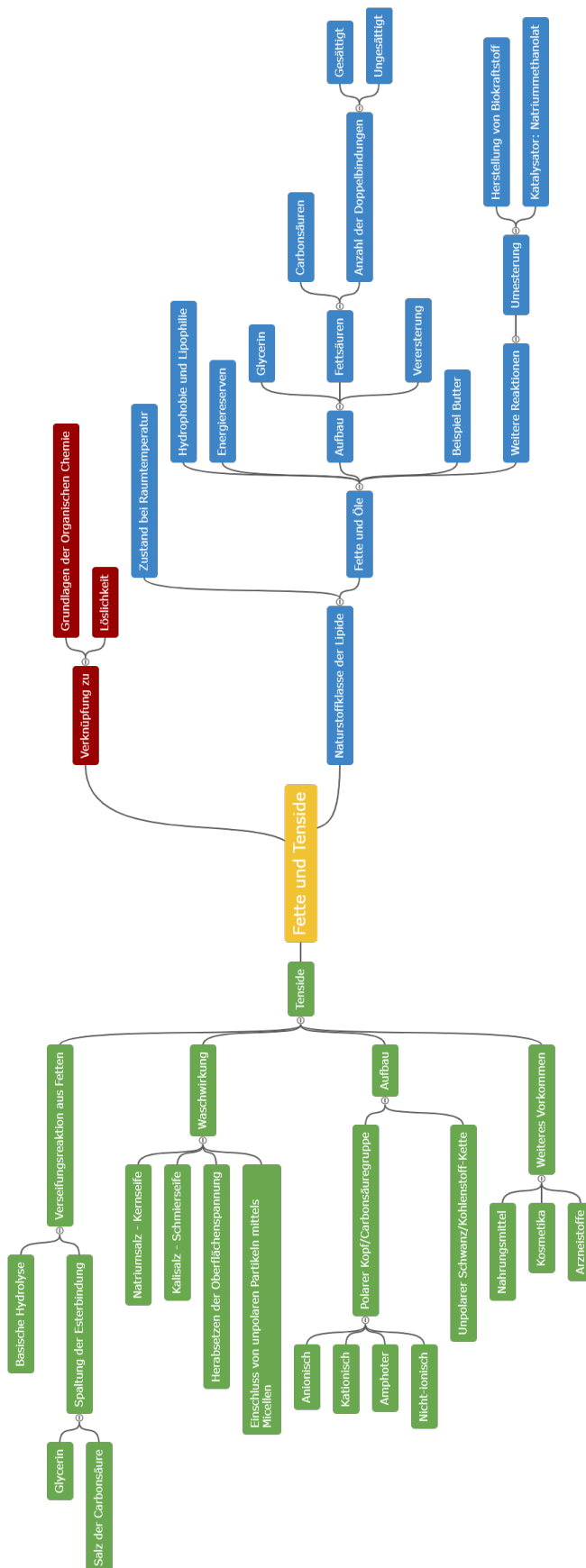
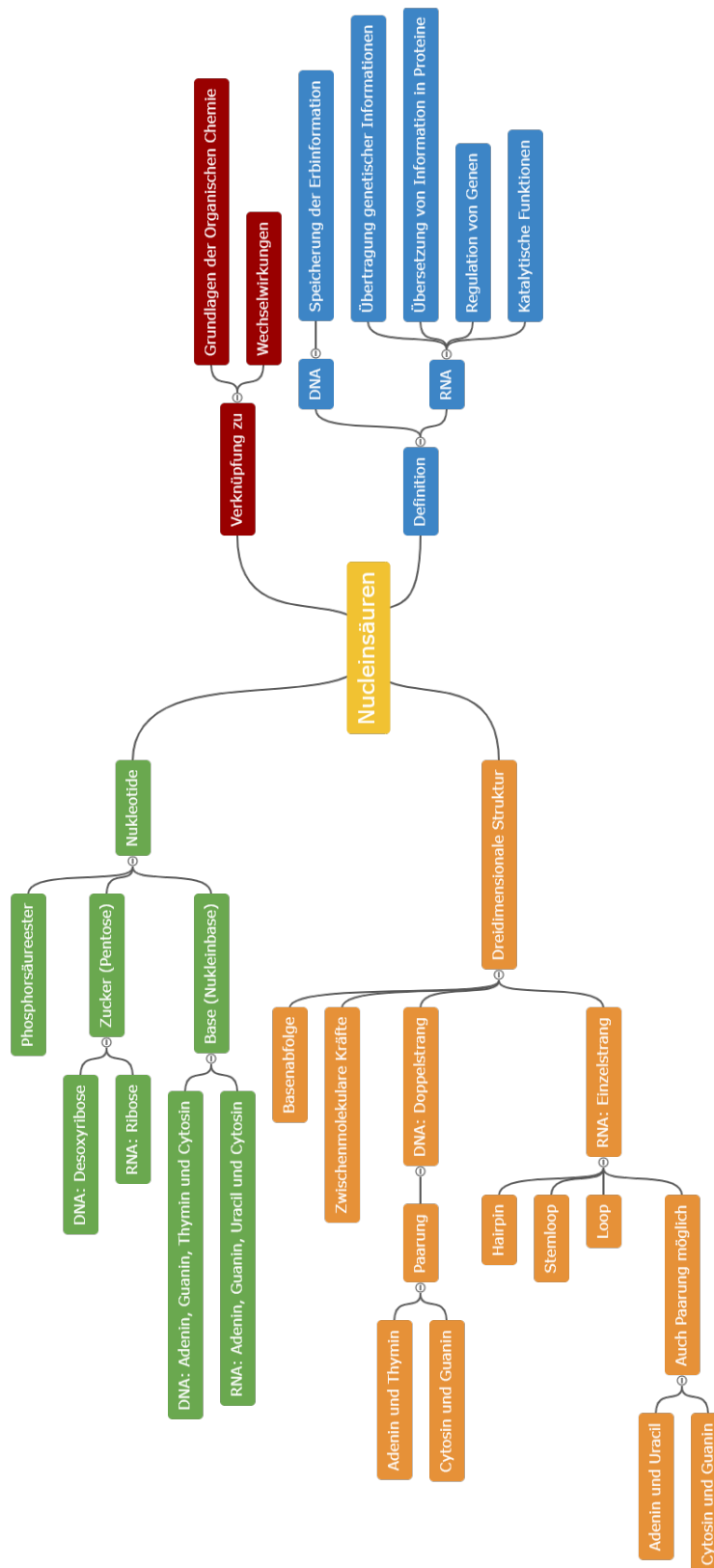


Abbildung A.24: Wissenslernkarte zum Thema Fette. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.25:** Wissenslernkarte zum Thema Nucleinsäuren. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

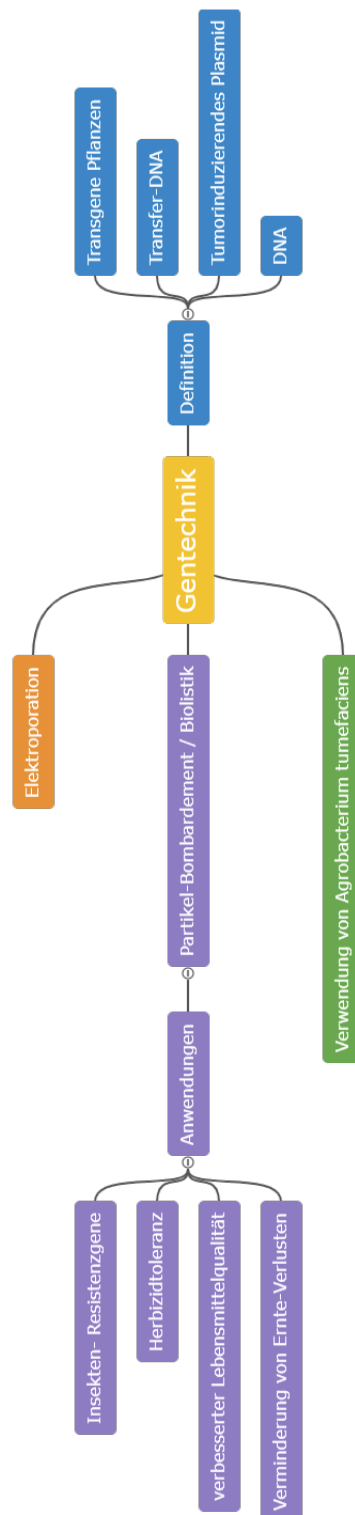
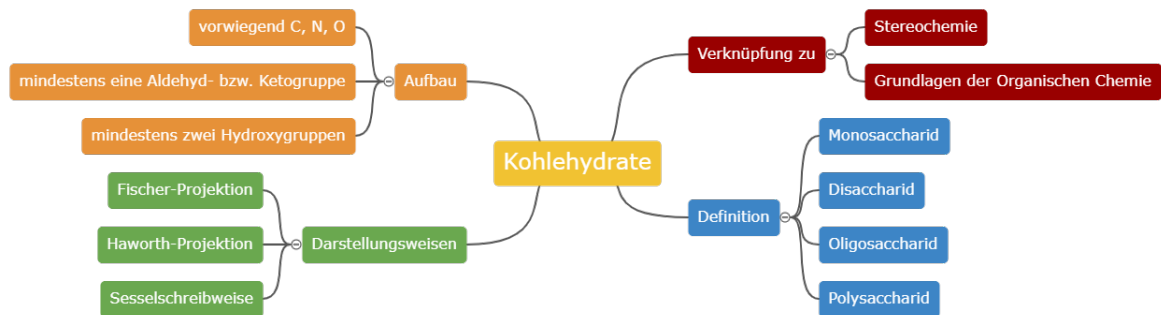
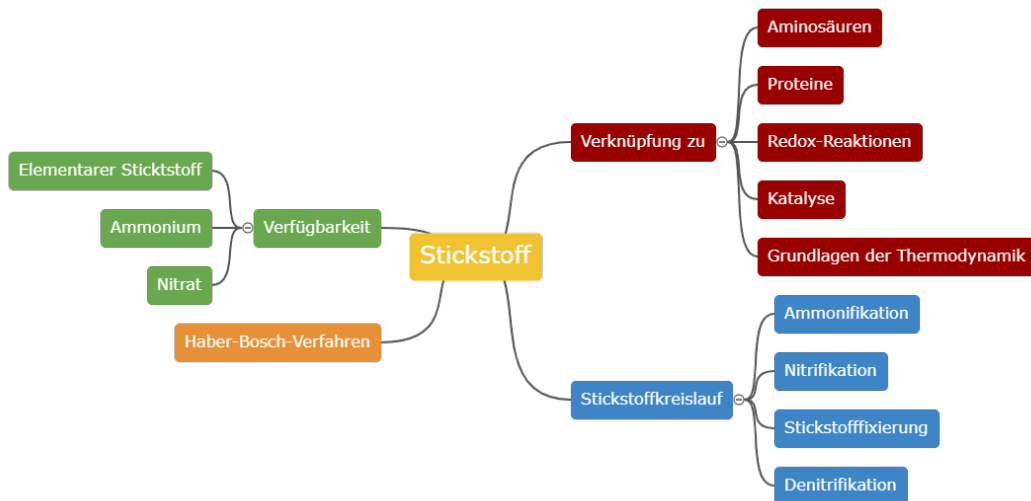


Abbildung A.26: Wissenslernkarte zum Thema Gentechnik.



**Abbildung A.27:** Wissenslernkarte zum Thema Kohlehydrate. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.



**Abbildung A.28:** Wissenslernkarte zum Thema Stickstoff. Mögliche Verknüpfungen zu anderen Themengebieten sind in rot angegeben.

## A.2 Vorlagen für Kurzprotokolle, Beurteilungen und Hilfestellungen für Studierende





LUDWIG-  
MAXIMILIANS-  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN



## SEMINAR „AUS 2 MACH 1 - SEMINAR ZUR VERKNÜPFUNG VON STUDIENINHALTEN AUS CHEMIE UND BIOLOGIE/GEOGRAPHIE MIT AKTUELLEN THEMEN

### Bewertungsbogen

Präsentiertes Thema:

<b>Genutztes Material</b>	Ich stimme <b>voll</b> zu				Ich stimme <b>nicht</b> zu
Die Folien waren ansprechend gestaltet.					
Text und Bilder waren in einem ausgewogenen Verhältnis vorhanden.					
Die Socratic-Fragen wurden sinnvoll platziert.					
Die Socratic-Fragen waren inhaltlich sinnvoll.					
Anschauungsmaterial war vorhanden und wurde sinnvoll eingesetzt.					

<b>Vortragsweise</b>					
Die Vortragenden wirkten motiviert.					
Die Vortragenden konnten sich klar und deutlich artikulieren.					
Die Vortragenden sprachen frei.					
Die Vortragenden sprachen zu den Studierenden.					
Die Vortragenden haben zum aktiven Mitdenken angeregt.					
Der zeitliche Umfang war angemessen.					

<b>Fachliche Gestaltung</b>					
Die Gliederung war durchdacht und Themen wurden logisch verknüpft.					
Ich habe viele neue Informationen erhalten.					
Die Inhalte hätte ich auch bei einer Google-Suche finden oder in einem Lehrbuche nachlesen können.					
Die Vortragenden haben sich intensiv mit dem Thema auseinandergesetzt.					
Die Vortragenden konnten auf gestellte Fragen eingehen und diese kompetent beantworten.					
Das Thema wurde ausreichend aus verschiedenen Kontexten beleuchtet.					
Neue Verknüpfungen wurden mir deutlich.					

GESAMTNOTE:

Weitere Bemerkungen:

<b>Versuchsziele (Welcher fachliche Inhalt soll mit dem Versuch gezeigt werden?)</b>	
<b>Operationalisierte Lernziele</b>	
<b>Eingliederung in die Lerneinheit</b>	
<b>Materialien</b>	<b>Versuchsskizze / Foto</b>
<b>Versuchsdurchführung</b>	
<b>Beobachtungen (keine Erklärung)</b>	
<b>Erklärung</b>	
<b>Mögliche Eingliederung in den Schulunterricht</b>	<b>Fächerübergreifende Aspekte</b>
<b>Sicherheitshinweise/ Gefährdungsbeurteilung</b>	
<b>Literatur</b>	

**Gefährdungsbeurteilung und Entsorgungsprotokoll**

<b>Versuch:</b>	<b>Name:</b>
	<b>Datum:</b>

**1. Reaktionsgleichung(en), die den Versuch beschreiben, einschließlich gefährlicher Nebenreaktion(en):**

**2. GHS-Einstufung und Kennzeichnung:**

GHS-Nr. 01 02 03 04 05 06 07 08 09

GESTIS Stoffdatenbank: <http://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp>  
 DEGINTU-Gefahrstoffinformationssystem für den naturwissenschaftlich-technischen Unterricht: <https://degintu.dguv.de/>

Lfd. Nr.	Ausgangsstoffe/Edukte	Konzentration	GHS-Nr.	Signalwort	H-Nummern	WGK
----------	-----------------------	---------------	---------	------------	-----------	-----

Lfd. Nr.	Produkte	Konzentration (fakultativ)	GHS-Nr.	Signalwort	H-Nummern	WGK
----------	----------	----------------------------	---------	------------	-----------	-----

**3. Vorsichtsmaßnahmen für eine sichere, dem Gefahrenpotential des Versuches angemessene Durchführung:**

Schutzbrille    
  Schutzhandschuhe    
  Abzug    
  geschlossenes System    
  Lüftungsmaßnahmen    
  Brandschutzmaßnahmen

Weitere Maßnahmen: z.B. Gasflaschentransport

**4. Entsorgung gemäß der in der Didaktik gültigen Entsorgungsvorschriften:**

Vorbehandlung nötig: nein  ja  folgende:

Lfd. Nr.	Restmüll	Sondermülltonne für trockene Betriebsmittel	Ausguss	Kanister für Säuren und Laugen	Kanister für Metallsalzlösungen pH<7 <input type="checkbox"/> pH>7 <input type="checkbox"/>	Kanister für organische Lösemittel	Raumluft	Abzug

**5. Ersatzstoffprüfung / Substitution:**

In der Schule müssen die Stoffe mit der jeweils geringsten Gefährdung, die dem Lehrzweck genügen, eingesetzt werden.

RiSU: <https://www.kmk.org/service/servicebereich-schule/sicherheit-im-unterricht.html>

DEGINTU-Gefahrstoffinformationssystem für den naturwissenschaftlich-technischen Unterricht: <https://degintu.dguv.de/>

Schülerversuch möglich:  Unter folgenden Voraussetzungen:.....

Nur Lehrerversuch:

Handzeichen Labor:



## Kurzprotokoll Animation mit PowerPoint

<b>Versuchsziele (Welcher fachliche Inhalt soll mit der Animation gezeigt werden?)</b>	
<b>Operationalisierte Lernziele</b>	
<b>Eingliederung in die Lerneinheit</b>	
<b>Skizze des Setups/Anfangsbildes</b>	<b>Skizze der ablaufenden Prozesse</b>
<b>Beobachtungen (keine Erklärung)</b>	
<b>Erklärung</b>	
<b>Mögliche Eingliederung in den Schulunterricht</b>	<b>Fächerübergreifende Aspekte</b>
<b>Literatur</b>	



## A.3 Evaluationsergebnisse der abgehaltenen Seminare

**Evaluation Wintersemester 2020/2021**

**Veranstaltung:** Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie, Einsatz von iPads im Unterricht

**Inhaltliche Gestaltung**

(1 = trifft nicht zu, 5 = trifft voll zu)

Der inhaltliche Umfang war passend.	1 0	2 0	3 1	4 0	5 2
Die inhaltliche Strukturierung war gut.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
Der Umfang des Vorlesungsmaterials passte.	1 1	2 0	3 1	4 0	5 1
Ausführlicheres Vorlesungsmaterial wäre wünschenswert.	1 0	2 0	3 0	4 1	5 1

**Methodisch-didaktische Gestaltung**

(1 = trifft nicht zu, 5 = trifft voll zu)

Die Inhalte wurden verständlich vermittelt.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
Ich konnte der Online-Vorlesung gut folgen.	1 0	2 0	3 1	4 0	5 2
Die Zusammenhänge wurden mir deutlich.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 5
Ich wurde in der Vorlesung zum aktiven Mitdenken angeregt.	1 0	2 0	3 0	4 1	5 2
Die Online-Veranstaltung folgte einer nachvollziehbaren Gliederung über das Semester hinweg.	1 0	2 0	3 1	4 1	5 1
Durch die Nutzung verschiedener Online-Lehrmethoden gestaltete sich die Veranstaltung abwechslungsreich.	1 0	2 0	3 1	4 0	5 2
Welche der folgenden Lehrmethoden wurden in der Online-Veranstaltung eingesetzt und falls ja, wie hilfreich fanden Sie diese für das Verständnis des Lehrstoffs? (1 = wenig hilfreich, 5 = sehr hilfreich)					
reines Vorlesungsskript (z.B. PDF, ohne Audio/ Video)	1 0	2 0	3 0	4 0	5 2
Vorlesungsskript als Video, inkl. Audio	1 0	2 0	3 0	4 0	5 1
Live (Zoom-)Vorlesung - nicht aufgezeichnet	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
Live (Zoom-)Vorlesung - aufgezeichnet und als Video bereitgestellt	1 0	2 0	3 0	4 0	5 1
Diskussion mit Dozierenden per E-Mail	1 0	2 0	3 0	4 1	5 2
Diskussion mit Dozierenden per Online-Forum	1 0	2 0	3 1	4 0	5 0
Diskussion mit Dozierenden per Live-Zoom-Meeting	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
externe Lehrvideos (z.B. YouTube)	1 0	2 0	3 0	4 1	5 1
Selbstlerntests, Aufgaben (z.B. über Moodle)	1 0	2 0	3 1	4 1	5 1
Literatur (bereitgestellt)	1 1	2 0	3 0	4 0	5 1
Literatur (selbst zu recherchieren)	1 1	2 0	3 0	4 0	5 0

**Dozentin/Dozent**

(1 = trifft nicht zu, 5 = trifft voll zu)

Die Dozentin/der Dozent wirkte motiviert.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
Die Inhalte wurden gut präsentiert.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3
Die Vortragsweise war klar.	1 0	2 0	3 0	4 0	5 3



Die Dozentin/der Dozent ist auf Fragen der Studierenden eingegangen.	1	2	3	4	5
	0	0	0	0	3

### Lernerfolg

(1 = trifft nicht zu, 5 = trifft voll zu)

Die Anforderungen entsprachen meinen Vorkenntnissen.	1	2	3	4	5
	2	1	0	0	0
Ich habe in der Vorlesung viel Neues gelernt.	1	2	3	4	5
	0	0	0	0	3
Die Inhalte hätte ich ebensogut allein aus einem Buch lernen können.	1	2	3	4	5
	3	0	0	0	0
Mein Interesse am Stoffgebiet verstärkte sich.	1	2	3	4	5
	0	0	0	1	2
<b>Arbeitsaufwand (Workload)</b>					
In welchem Umfang haben Sie das Angebot (Skript, Zoom-Meetings, Arbeitsaufträge, Literatur, etc.) in dieser Veranstaltung genutzt?	ca. 75 % vollständig (100 %)	ca. 50 %	ca. 25 %	gar nicht (0 %)	
	2	1	0	0	0
Wie viele Stunden haben Sie im Durchschnitt pro Woche für die Vor- und Nachbereitung der Vorlesung (ohne Übung) aufgebracht?	< 1 Std.	1-3 Std.	3-5 Std.	> 5 Std.	
	0	1	1	1	

### Gesamturteil

Welche "Schulnote" würden Sie der Online-Vorlesung geben?	1	2	3	4	5	6
	0	1	1	1	0	0
Welche "Schulnote" würden Sie der Dozentin/dem Dozenten geben?	1	2	3	4	5	6
	1	2	0	0	0	0
Insgesamt bin ich mit der digitalen Umsetzung dieser Lehrveranstaltung im Vergleich zu meinen bisherigen Erfahrungen in der Präsenzlehre zufrieden.	Ja	Nein	Keine Angabe			
	3	0	0			
Wenn Sie die Wahl hätten, würden Sie diese Lehrveranstaltung in der Online-Version oder in der klassischen Präsenzform wählen?	Als reine Online-Version	Als reine Präsenzlehre	Als eine Mischung aus Online- und Präsenzlehre.			
	0	2	1			
Was sollte man von der Online-Veranstaltungsform beibehalten, was war z.B. besonders hilfreich?	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inhalte, Apps, Skripte, Webseiten</li> </ul>					
Was könnte bei der Online-Veranstaltungsform besser gemacht werden?	<ul style="list-style-type: none"> <li>Manche Erklär-Passagen verbessern</li> <li>Vorher die vorhandenen Geräte abfragen</li> <li>Weniger Leistungsnachweise für 3 ECTS</li> </ul>					

## Evaluation Sommersemester 2021

## Veranstaltung: Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie

Weshalb haben Sie die Veranstaltung besucht? (Mehrere Nennungen möglich)	Mich haben die behandelten Themen angesprochen.	Ich habe noch 3 ECTS benötigt.	Keine Klausur am Ende.	Die Veranstaltung hat zeitlich gut in meinen Stundenplan gepasst.	Andere Gründe.	
4	4	4	2	4	1	
Technische Voraussetzungen: Die Dozierenden waren gut zu verstehen und sehen.			Ja 4	Nein 0	Keine Angabe 0	
Die Dozierenden sind in der Lehrveranstaltung auf Fragen und Anmerkungen der Studierenden eingegangen.			Ja 4	Nein 0	Keine Angabe 0	
Fragen wurden auch außerhalb der Vorlesung ausreichend beantwortet.			Ja 4	Nein 0	Keine Angabe 0	
Ich habe in der Vorlesung viele neue Inhalte gelernt.			Ja 2	Nein 0	Teilweise 2	Keine Angabe 0
Ich möchte die erlernten Inhalte in Zukunft in meiner Unterrichtsplanung berücksichtigen.			Ja 4	Nein 0	Vielleicht 0	Keine Angabe 0
Wenn Sie vor und nach der Vorlesung vergleichen: Wurden Berührungspunkte bezüglich des Arbeitens mit verschiedenen Softwaren verringert?		Ja 3	Nein 0	Ich hatte davor keine Berührungspunkte 1		
Die Aufteilung zwischen Theorie, Praxis und Übung war ausgewogen.				Ja 3	Nein 1	Keine Angabe 0
Falls Sie gerade bei vorherigen Frage Nein angegeben haben, welchen Teil hätten Sie sich verstärkt gewünscht?			Theorie 0	Praxis 1	Übung 0	Keine Angabe 0
Thema Arbeitsbelastung: Wie schätzen Sie Ihre persönliche Arbeitsbelastung ein?	Die Arbeitsbelastung war zu hoch für eine 3 ECTS Vorlesung	Die Arbeitsbelastung war angemessen für eine 3 ECTS Vorlesung	Die Arbeitsbelastung war niedrig für eine 3 ECTS Vorlesung			
2	2	0				
Thema Interaktivität: Es wurde versucht, Sie in der Lehrveranstaltung aktiv und interaktiv einzubinden. Beurteilen Sie dies bitte!	Ich hätte mir weniger Interaktion gewünscht.	Ich fand das Maß an Interaktion gut.	Ich hätte mir mehr Interaktion gewünscht.	Keine Angabe.		
0	4	0	0	0		
Die Seminarinhalte entsprachen meinen Erwartungen.				Ja 4	Nein 0	Keine Angabe 0
Welcher Aspekt/Welche Aspekte sollten Ihrer Meinung nach noch stärker behandelt werden? Wo hätten sie sich noch mehr Informationen gewünscht?	Recherchemöglichkeiten (Nutzung von Online-Ressourcen)		Beurteilung von bereits erstellten Materialien (z.B. Lernvideos, Webseiten etc.)	Erstellung einer interaktiven Lerneinheit mit H5P in Moodle	Aufnahme, Schnitt und Vertonung von Lernvideos im Labor und Zuhause	
	0		0	0	2	
	Planung und Realisierung von Stop-Motion-Filmen	Nutzung von PowerPoint zur Erstellung von Animationen	Finale Präsentation einer zusammenhängenden Lerneinheit mit den genutzten Tools und Evaluation		Keinen Aspekt	
0	0	0		2		
Welche Inhalte haben Sie besonders interessiert?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Shotcut, nach dem Seminar fällt mir die Nutzung viel einfacher und werde vermutlich dessen Nutzung in mein eigenes Unterrichtsgeschehen einbinden um Videos für den Unterricht zu bearbeiten.</li> <li>• Videos produzieren und schneiden</li> <li>• Ich fand so ziemlich alles ganz interessant</li> </ul>					

<p>Welche Inhalte fanden Sie nicht so spannend?</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• im Bereich der PowerPoint Animationen konnte ich nichts neues lernen</li> <li>• Manchmal zu viel Überschneidung mit bereits bekannten Themen aus den EWS Vorlesungen</li> <li>• Teilweise bestimmte Theorie Aspekte, da diese schon x mal in anderen Seminaren behandelt wurden.</li> </ul>						
<p>Würden Sie die Veranstaltung weiterempfehlen?</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="1082 353 1161 412">Ja</th> <th data-bbox="1161 353 1257 412">Nein</th> <th data-bbox="1257 353 1402 412">Keine Angabe</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="1082 412 1161 434">4</td> <td data-bbox="1161 412 1257 434">0</td> <td data-bbox="1257 412 1402 434">0</td> </tr> </tbody> </table>	Ja	Nein	Keine Angabe	4	0	0
Ja	Nein	Keine Angabe					
4	0	0					
<p>Über weitere Kommentare, Anregungen, Kritik etc. würde ich mich sehr freuen. Sie können diese in das Textfeld schreiben.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vermutlich schwer umzusetzen, dennoch die Theorieinhalte so gering wie möglich zu halten um "noch" mehr Zeit in die Praxis zu legen.</li> <li>• Nur für die 3 ECTS ist es ziemlich viel Arbeit, aber die gute Arbeits- und Lernatmosphäre hat das ausgeglichen; die Arbeit im Team fand ich sehr schön</li> <li>• vieles der Theorie war bereits aus den besuchten EWS-Vorlesungen bekannt.</li> </ul>						

## Evaluation Wintersemester 2021/2022

## Veranstaltung: Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie

Weshalb haben Sie die Veranstaltung besucht? (Mehrere Nennungen möglich)	Mich haben die behandelten Themen angesprochen.	Ich habe noch 3 ECTS benötigt.	Keine Klausur am Ende.	Die Veranstaltung hat zeitlich gut in meinen Stundenplan gepasst.	Andere Gründe.	
3		1	0	1	1	
Technische Voraussetzungen: Die Dozierenden waren gut zu verstehen und sehen.				Ja 3	Nein 0	Keine Angabe 0
Die Dozierenden sind in der Lehrveranstaltung auf Fragen und Anmerkungen der Studierenden eingegangen.				Ja 3	Nein 0	Keine Angabe 0
Fragen wurden auch außerhalb der Vorlesung ausreichend beantwortet.				Ja 3	Nein 0	Keine Angabe 0
Ich habe in der Vorlesung viele neue Inhalte gelernt.			Ja 2	Nein 0	Teilweise 1	Keine Angabe 0
Ich möchte die erlernten Inhalte in Zukunft in meiner Unterrichtsplanung berücksichtigen.			Ja 3	Nein 0	Vielleicht 0	Keine Angabe 0
Wenn Sie vor und nach der Vorlesung vergleichen: Wurden Berührungspunkte bezüglich des Arbeitens mit verschiedenen Softwaren verringert?		Ja 2	Nein 0	Ich hatte davor keine Berührungspunkte 1		
Die Aufteilung zwischen Theorie, Praxis und Übung war ausgewogen.				Ja 3	Nein 0	Keine Angabe 0
Thema Arbeitsbelastung: Wie schätzen Sie Ihre persönliche Arbeitsbelastung ein?	Die Arbeitsbelastung war zu hoch für eine 3 ECTS Vorlesung 1	Die Arbeitsbelastung war angemessen für eine 3 ECTS Vorlesung 2	Die Arbeitsbelastung war zu niedrig für eine 3 ECTS Vorlesung 0			
Thema Interaktivität: Es wurde versucht, Sie in der Lehrveranstaltung aktiv und interaktiv einzubinden. Beurteilen Sie dies bitte!	Ich hätte mir weniger Interaktion gewünscht. 0	Ich fand das Maß an Interaktion gut. 2	Ich hätte mir mehr Interaktion gewünscht. 1	Keine Angabe. 0		
Die Seminarinhalte entsprachen meinen Erwartungen.				Ja 3	Nein 0	Keine Angabe 0
Welcher Aspekt/Welche Aspekte sollten Ihrer Meinung nach noch stärker behandelt werden? Wo hätten sie sich noch mehr Informationen gewünscht?	Recherchemöglichkeiten (Nutzung von Online-Ressourcen) 0	Beurteilung von bereits erstellten Materialien (z.B. Lernvideos, Webseiten etc.) 1	Erstellung einer interaktiven Lerneinheit mit H5P in Moodle 0	Aufnahme, Schnitt und Vertonung von Lernvideos im Labor und Zuhause 0		
	Planung und Realisierung von Stop-Motion-Filmen 0	Nutzung von PowerPoint zur Erstellung von Animationen 0	Finale Präsentation einer zusammenhängenden Lerneinheit mit den genutzten Tools und Evaluation 0	Keinen Aspekt 2		
Welche Inhalte haben Sie besonders interessiert?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Animationen mit PowerPoint, H5P</li> <li>• Interaktive Gestaltung der Videos</li> <li>• Die Erstellung von Animationen und der interaktiven Lerneinheit</li> </ul>					
Welche Inhalte fanden Sie nicht so spannend?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Manchmal hätte der Theorie Input etwas kürzer sein können, damit man mehr Zeit hat gemeinsam die interaktive Lerneinheit zu gestalten. Bspw. dass jeder für sich getrennt die Videos schneidet, die Lehrperson einem jedoch dabei hilft, weil man gemeinsam in einem Raum ist</li> </ul>					

Würden Sie die Veranstaltung weiterempfehlen?		Ja	Nein	Keine Angabe
		3	0	0
Über weitere Kommentare, Anregungen, Kritik etc. würde ich mich sehr freuen. Sie können diese in das Textfeld schreiben.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ich fand das seminar super gut und sehr hilfreich! ich habe sehr viel gelernt und würde es definitiv nochmal besuchen bzw. weiterempfehlen! weiter so :-)</li> <li>• Immer sehr engagiert, hilfsbereit und gut zu erreichen, die Emails mit den Remindern und den klaren Arbeitsaufträge waren sehr hilfreich</li> </ul>			

## Evaluation Sommersemester 2022

## Veranstaltung: Visualisierung von fächerübergreifenden Aspekten aus Chemie und Biologie

Weshalb haben Sie die Veranstaltung besucht? (Mehrere Nennungen möglich)	Mich haben die behandelten Themen angesprochen.	Ich habe noch 3 ECTS benötigt.	Keine Klausur am Ende.	Die Veranstaltung hat zeitlich gut in meinen Stundenplan gepasst.	Andere Gründe.			
	3	4	2	1	0			
Die Dozierenden sind in der Lehrveranstaltung auf Fragen und Anmerkungen der Studierenden eingegangen.				Ja 6	Nein 0	Keine Angabe 0		
Fragen wurden auch außerhalb der Vorlesung ausreichend beantwortet.				Ja 6	Nein 0	Keine Angabe 0		
Mein Vorwissen zum Einsatz von digitalen Medien in der Lehre war (1 = sehr gut, 5 = sehr schlecht)				1	2	3	4	5
				1	2	1	2	0
Ich habe in der Lehrveranstaltung viele neue Inhalte, welche Softwareprogramme und die Erstellung von interaktiven Inhalten betreffen, gelernt. (1 = sehr viel, 5 = keine neuen Inhalte)				1	2	3	4	5
				4	2	0	0	0
Schätzen Sie sich selber ein: Wie gut können Sie nun digitale Tools selbständig nutzen? (1 = sehr gut, 5 = nicht)				1	2	3	4	5
				4	1	1	0	0
Mein Vorwissen zum gewählten Thema im Fachbereich Chemie war (1 = sehr gut, 5 = sehr schlecht)				1	2	3	4	5
				0	3	1	2	0
Mein Vorwissen zum gewählten Thema im Fachbereich Biologie (oder Ihrem zweiten Schwerpunkt) war (1 = sehr gut, 5 = sehr schlecht)				1	2	3	4	5
				1	2	1	1	1
Ich habe in der Lehrveranstaltung viele neue Inhalte, welche das Fachwissen betreffen, gelernt. (1 = sehr viel, 5 = keine neuen Inhalte)				1	2	3	4	5
				2	2	1	1	0
Haben Sie auch auf fachwissenschaftlicher Ebene ihr Wissen vernetzen (z.B Biologie - Chemie) können (1 = sehr gut, 5 = nein)				1	2	3	4	5
				1	4	1	0	0
Schätzen Sie sich selber ein: Können Sie nach der Veranstaltung fächerverbindende Aspekte leichter erkennen? (1 = sehr viel leichter, 5 = nicht)				1	2	3	4	5
				3	2	0	0	0
Schätzen Sie sich selber ein: Können Sie nach der Veranstaltung Vernetzungsmöglichkeiten für Ihren Unterricht besser identifizieren? (1 = sehr viel leichter, 5 = nicht)				1	2	3	4	5
				2	3	0	0	0
Das Seminar wurde ja u.a. mit "Aus 3 mach 1" beworben mit den Inhalten Fachwissen, Fachdidaktik und Digitalen Inhalten. Wieviel Prozent würden Sie den einzelnen Schwerpunkten zuweisen? (1. Fachwissen, 2. Fachdidaktik, 3. Digitales)				Fachwissen		Fachdidaktik		Digitales
				20		35		45
				20		40		40
				50		30		20
				30		30		40
Die Aufteilung zwischen Theorie, Praxis und Übung war ausgewogen.				Ja 5	Nein 0	Keine Angabe 0		
Können Sie sich vorstellen, die erlernten Inhalte in Zukunft in Ihrer Unterrichtsplanung zu berücksichtigen?				Ja 5	Nein 0	Vielleicht 0		Keine Angabe 0
Welche Inhalte können Sie sich vorstellen, im Unterricht einzusetzen?	Experimentier videos 5	Hausaufgaben videos 4	Stop-Motion-Videos 3	Animationen mit Powerpoint 5	Vorgestellte Chemieapps 4	Die Lerneinheit und Teile davon 2	Nichts davon 0	
Wenn Sie vor und nach der Vorlesung vergleichen: Wurden Berührungspunkte bezüglich des Arbeitens mit verschiedenen Softwares verringert?				Ja 4	Nein 0	Ich hatte davor keine Berührungspunkte 1		
Thema Material: Fanden Sie die bereitgestellten Materialien wie Info-Broschüren (z.B Chemieapps) und Links hilfreich? (1 = sehr hilfreich, 5 = nicht hilfreich)				1	2	3	4	5
				3	2	0	0	0
Thema Planung: Wie hilfreich war die Planung für die Lerneinheit, welche Sie zu Beginn erstellen mussten? (1 = sehr hilfreich, 5 = nicht hilfreich)				1	2	3	4	5
				2	3	0	0	0

Thema Protokolle: Wie hilfreich war die Kurzprotokolle für die Hausaufgaben- und Laborexperimente? (1 = sehr hilfreich, 5 = nicht hilfreich)				1	2	3	4	5
				1	1	2	1	0
Thema Sicherheit: Wie hilfreich war die Gefährdungsbeurteilung auf DEGINTU? (1 = sehr hilfreich, 5 = nicht hilfreich)				1	2	3	4	5
				1	3	1	0	0
Thema Arbeitsbelastung: Wie schätzen Sie Ihre persönliche Arbeitsbelastung ein?	Die Arbeitsbelastung war zu hoch für eine 3 ECTS Lehrveranstaltung.	Die Arbeitsbelastung war angemessen für eine 3 ECTS Lehrveranstaltung.	Die Arbeitsbelastung war zu niedrig für eine 3 ECTS Lehrveranstaltung.					
	4	1	0					
Thema Interaktivität: Es wurde versucht, Sie in der Lehrveranstaltung aktiv und interaktiv einzubinden. Beurteilen Sie dies bitte!	Ich hätte mir weniger Interaktion gewünscht.	Ich fand das Maß an Interaktion gut.	Ich hätte mir mehr Interaktion gewünscht.	Keine Angabe.				
	0	5	0	0				
Die Seminarinhalte entsprachen meinen Erwartungen.				Ja	Nein	Keine Angabe		
				4	0	0		
Welcher Aspekt/Welche Aspekte sollten Ihrer Meinung nach noch stärker behandelt werden? Wo hätten sie sich noch mehr Informationen gewünscht?	Recherchemöglichkeiten (Nutzung von Online-Ressourcen)		Beurteilung von bereits erstellten Materialien (z.B. Lernvideos, Webseiten etc.)	Erstellung einer interaktiven Lerneinheit mit H5P in Moodle	Aufnahme, Schnitt und Vertonung von Lernvideos im Labor und Zuhause			
	1		1	0	3			
	Planung und Realisierung von Stop-Motion-Filmen	Nutzung von PowerPoint zur Erstellung von Animationen	Finale Präsentation einer zusammenhängenden Lerneinheit mit den genutzten Tools und Evaluation	Weitere Apps für den Unterricht	Keinen Aspekt			
		1	1	1	2		0	
Welche Inhalte haben Sie besonders interessiert?	<ul style="list-style-type: none"> <li>Videos drehen, schneiden &amp; vertonen</li> <li>Persönlich fand ich es gut, dass wir die Möglichkeit kennengelernt haben durch LUMI H5P Einheiten leicht zu erstellen.</li> <li>Die Learningapps</li> <li>H5P</li> <li>H5P durch Lumi, Degintu, Apps für den Unterricht"</li> </ul>							
Welche Inhalte fanden Sie nicht so spannend?	<ul style="list-style-type: none"> <li>StopMotion-Video</li> <li>Die rechtliche Grundlage mit den Fallbeispielen war gut gemacht, fand ich aber persönlich nicht allzu spannend</li> <li>Die Wiederholungen aus bereits vorangegangenen Veranstaltungen</li> <li>StopMotion</li> <li>Richtlinie</li> </ul>							
Würden Sie die Veranstaltung weiterempfehlen?				Ja	Nein	Keine Angabe		
				5	0	0		
Über weitere Kommentare, Anregungen, Kritik etc. würde ich mich sehr freuen. Sie können diese in das Textfeld schreiben.	<ul style="list-style-type: none"> <li>"Ich habe sehr viel aus diesem Seminar für meine spätere Unterrichtsplanung mitgenommen. Die gewählten digitalen Einsätze waren gut gewählt. Die theoretischen Hintergründe wie Cognitive Overload etc. hätte man etwas verkürzen können und dafür mehr Praxis Anteil machen können. Aber insgesamt war das Seminar ein großer Lernerfolg! "</li> <li>Zu Beginn waren es einige Einheiten mit viel Theorie. Ich muss sagen, dass ich dort noch nicht wirklich verstanden habe, was mir das Seminar am Ende bringen soll. Man hat sich so durchgewurschtelt und erst am Ende einen Überblick bekommen, wie das Ganze ablaufen soll. Vielleicht hätte man früher sich eine beispielhafte Lerneinheit anschauen können.</li> <li>Ich fand das Seminar ein sehr lehrreiches und eigenständiges Seminar. Wem es wichtig ist viel Freiraum in seiner kreativen Umsetzung zu haben, ist in dem Seminar glaube ich genau richtig. Allerdings wäre es ganz gut schon zuvor die Information zu haben, dass es sich um ein sehr aufwendiges Seminar handelt und es nicht nur einfach zuhören und bisschen eigenständiges Arbeiten ist, um die 3ECTS Punkte zu erhalten."</li> <li>Buch Gestaltung während des Seminars wäre wünschenswert gewesen</li> </ul>							

## A.4 Vorträge

**Seminar digital: Erstellung einer interaktiven, fächerverbindenden Lerneinheit zum Thema Nachhaltigkeit**

H. Singer, K. Hock, L.J Daumann

**Digital Together Tagung**, München (Deutschland), 2022

**Aus 3 mach 1: Digitale Lerninhalte fächerverbindend verknüpft**

H. Singer, K. Hock, L.J Daumann

**Lehrkräftefortbildungsprogramm zum Schüler-Info-Tag**, München (Deutschland), 2022

**Aus 2 mach 1: Vernetztes Curriculum Biologie/Chemie**

H. Singer, K. Hock, L.J Daumann

**Lehrkräftefortbildungsprogramm zum Schüler-Info-Tag**, München (Deutschland), 2020

**Vernetztes Curriculum Biologie/Chemie**

H. Singer, P. Klüfers, L.J Daumann

**Lehrkräftefortbildungsprogramm zum Schüler-Info-Tag**, München (Deutschland), 2019



## A.5 Posterpräsentationen

**Aus 2 mach 1 Vernetztes Curriculum Biologie/Chemie**

H. Singer, L.J Daumann

**Jahrestreffen des MZLs**, München (Deutschland), 2019

**Aus 2 mach 1 Vernetztes Curriculum Biologie/Chemie**

H. Singer, L.J Daumann

**Wissenschaftsforum der GDCh (WiFo)**, Aachen (Deutschland), 2019



# Anhang B

## Bibliography and List of Abbreviations



# Bibliography

- [1] L. J. Daumann, *ACS Cent. Sci.* **2021**, *7*, 1780–1782.
- [2] J.-C. G. Bünzli, *J. Coord. Chem.* **2014**, *67*, 3706–3733.
- [3] T. Damhus, R. Hartshorn, A. Hutton, *Chem. Int.* **2005**, *27*, 25–26.
- [4] N. Haque, A. Hughes, S. Lim, C. Vernon, *Resources* **2014**, *3*, 614–635.
- [5] A. R. Chakhmouradian, F. Wall, *Elements* **2012**, *8*, 333–340.
- [6] J. Gambogi, 2018 Minerals Yearbook: Rare Earths - Advance Release, U.S. Geological Survey, **2021**.
- [7] P. Koltun, V. Klymenko, *Min. Miner. Depos.* **2020**, *14*, 1–15.
- [8] G. P. Hatch, *Elements* **2012**, *8*, 341–346.
- [9] L. J. Daumann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 12795–12802.
- [10] J. A. Cotruvo, *ACS Cent. Sci.* **2019**, *5*, 1496–1506.
- [11] E. P. Loewen, *Am. Sci.* **2004**, *92*, 522–531.
- [12] L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger, J. J. Katz, *The chemistry of the actinide and transactinide elements (Third Edition)*, Springer Dordrecht, The Netherlands, **2006**.
- [13] G. R. Choppin, *J. less-common met.* **1983**, *93*, 323–330.
- [14] D. L. Clark, The discovery of plutonium reorganized the periodic table and aided the discovery of new elements, Los Alamos National Lab, **2009**.
- [15] G. T. Seaborg, “Chapter 118 Origin of the actinide concept” in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, Vol. 18 - Lanthanides/Actinides: Chemistry*, (Eds.: K. A. Gschneider, E. J. L., C. G. R., L. G. H.), Elsevier, **1994**, pp. 1–27.
- [16] G. T. Seaborg, *Science* **1946**, *104*, 379–386.
- [17] D. L. Clark, D. E. Hobart, *Los Alamos Sci.* **2000**, *26*, 56–61.
- [18] H. L. Smith, D. C. Hoffman, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1956**, *3*, 243–247.
- [19] G. R. Choppin, B. G. Harvey, S. G. Thompson, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1956**, *2*, 66–68.

- [20] R. J. Silva, W. J. McDowell, O. L. Keller, J. R. Tarrant, *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 2233–2237.
- [21] G. T. Seaborg, D. E. Hobart, *Summary of the properties of the lanthanide and actinide elements*, Indian Association of Nuclear Chemists and Allied Scientists, India, **1996**.
- [22] G. R. Choppin, E. N. Rizkalla, “Chapter 128 Solution chemistry of actinides and lanthanides” in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, Vol. 18 - Lanthanides/Actinides: Chemistry*, (Eds.: K. A. Gschneider, E. J. L., C. G. R., L. G. H.), Elsevier, **1994**, pp. 559–590.
- [23] L. S. Natrajan, A. N. Swinburne, M. B. Andrews, S. Randall, S. L. Heath, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *266-267*, 171–193.
- [24] N. Dushyantha, N. Batapola, I. M. S. K. Ilankoon, S. Rohitha, R. Premasiri, B. Abeysinghe, N. Ratnayake, K. Dissanayake, *Ore Geol. Rev.* **2020**, *122*, 103521.
- [25] T. Cheisson, E. J. Schelter, *Science* **2019**, *363*, 489–493.
- [26] E. R. Featherston, J. A. Cotruvo, *Biochim. Biophys. Acta* **2021**, *1868*, 118864.
- [27] F. Wall, “Rare Earth Elements” in *Encyclopedia of Geology (Second Edition)*, (Eds.: D. Alderton, S. A. Elias), Academic Press, UK, **2021**, pp. 680–693.
- [28] H. K. Wedepohl, *Geochim. Cosmochim. Acta* **1995**, *59*, 1217–1232.
- [29] V. Balaram, *Geosci. Front.* **2019**, *10*, 1285–1303.
- [30] S. Cotton, *Lanthanide and actinide chemistry*, John Wiley & Sons, U.S.A, **2013**.
- [31] G. Oddo, *Z. anorg. allg. Chem.* **1914**, *87*, 253–268.
- [32] W. D. Harkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1917**, *39*, 856–879.
- [33] L. J. Daumann, H. J. M. Op den Camp, “The Biochemistry of Rare Earth Elements” in *Metals, Microbes, and Minerals - The Biogeochemical Side of Life*, (Eds.: P. Kroneck, M. Sosa Torres), Walter de Gruyter GmbH & Co KG, Germany, **2021**, pp. 299–324.
- [34] V. Elkina, M. Kurushkin, *Front. Chem.* **2020**, *8*, 588.
- [35] P. Belli, R. Bernabei, F. Cappella, R. Cerulli, C. J. Dai, F. A. Danevich, A. d’Angelo, A. Incicchitti, V. V. Kobychyev, S. S. Nagorny, S. Nisi, F. Nozzoli, D. Prosperi, V. I. Tretyak, S. S. Yurchenko, *Nucl. Phys. A* **2007**, *789*, 15–29.
- [36] F. Szabadvary, “Chapter 73 The history of the discovery and separation of the rare earths” in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, Vol. 11 - Two-Hundred-Year Impact of Rare Earths on Science*, (Eds.: K. A. Gschneider, E. J. L.), Elsevier, **1988**, pp. 33–80.
- [37] R. Pöttgen, T. Jüstel, C. A. Strassert, *Rare Earth Chemistry*, Walter de Gruyter GmbH & Co KG, Germany, **2020**.
- [38] G. Lente, *ChemTexts* **2019**, *5*, 17.

- [39] C. Auer von Welsbach, *Monatsh. Chem.* **1884**, *5*, 508–522.
- [40] C. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1907**, *29*, 495–499.
- [41] G. Urbain, *J. Chem. Phys.* **1906**, *4*, 31–66.
- [42] F. H. Spedding, A. F. Voigt, E. M. Gladrow, N. R. Sleight, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2777–2781.
- [43] F. Xie, T. A. Zhang, D. Dreisinger, F. Doyle, *Miner. Eng.* **2014**, *56*, 10–28.
- [44] S. Massari, M. Ruberti, *Resour. Policy* **2013**, *38*, 36–43.
- [45] C. Fry, M. Thoennessen, *At. Data Nucl. Data Tables* **2013**, *99*, 345–364.
- [46] A. Jordens, Y. P. Cheng, K. E. Waters, *Miner. Eng.* **2013**, *41*, 97–114.
- [47] M. S. Wickleder, B. Fourest, P. K. Dorhout, “Thorium” in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements*, (Eds.: L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger), Springer Netherlands, The Netherlands, **2006**, pp. 52–160.
- [48] E. S. Craft, A. W. Abu-Qare, M. M. Flaherty, M. C. Garofolo, H. L. Rincavage, M. B. Abou-Donia, *J. Toxicol. Environ. Health B* **2004**, *7*, 297–317.
- [49] P. C. Burns, R. J. Finch, *Uranium: Mineralogy, geochemistry, and the environment, Vol. 38 Reviews in Mineralogy & Geochemistry*, Walter de Gruyter GmbH & Co KG, Germany, **1999**.
- [50] S. T. Liddle, D. P. Mills, L. S. Natrajan, *The Lanthanides and Actinides*, World Scientific Publishing Europe Ltd., UK, **2022**.
- [51] M. Hassan, T. H. Bokhari, N. A. Lodhi, M. K. Khosa, M. Usman, *Chem. Biol. Drug Des.* **2023**, *102*, 1276–1292.
- [52] J. G. Wierzbicki, “Californium-252 isotope for 21st century radiotherapy” in *NATO Science Partnership Subseries: 3, Vol. 29*, Springer Dordrecht, The Netherlands, **2012**.
- [53] P. Harding, “12 - Uranium enrichment” in *Uranium for Nuclear Power*, (Ed.: I. Hore-Lacy), Woodhead Publishing, UK, **2016**, pp. 321–351.
- [54] M. B. Schaffer, *Energy Policy* **2013**, *60*, 4–12.
- [55] S. M. Awadh, “Chapter 7 - Geochemistry of Radioactive Isotopes” in *Geochemistry*, (Eds.: R. Miloš, A. Gemma, B. Gaafar El), IntechOpen, Croatia, **2020**.
- [56] K. Kostecka, *Bull. Hist. Chem* **2008**, *33*, 89–93.
- [57] G. J. Hutchings, C. S. Heneghan, I. D. Hudson, S. H. Taylor, *Nature* **1996**, *384*, 341–343.
- [58] H. Mahmoudi, M. Mahmoudi, O. Doustdar, H. Jahangiri, A. Tsolakis, S. Gu, M. LechWyszynski, *BFUELS* **2017**, *2*, 11–31.
- [59] A. N. Caruso, *J. Phys.: Condens. Matter* **2010**, *22*, 443201.

- [60] C. A. Kruschwitz, S. Mukhopadhyay, D. Schwellenbach, T. Meek, B. Shaver, T. Cunningham, J. P. Auxier in *Hard X-Ray, Gamma-Ray, and Neutron Detector Physics XVI*, Vol. 9213, SPIE, **2014**, pp. 44–52.
- [61] G. T. Seaborg, *Radiochim. Acta* **1993**, 61, 115–122.
- [62] M. L. Neidig, D. L. Clark, R. L. Martin, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 257, 394–406.
- [63] A. Bilewicz, *Radiochim. Acta* **2004**, 92, 69–72.
- [64] T. K. Sato, M. Asai, A. Borschevsky, T. Stora, N. Sato, Y. Kaneya, K. Tsukada, C. E. Düllmann, K. Eberhardt, E. Eliav, S. Ichikawa, U. Kaldor, J. V. Kratz, S. Miyashita, Y. Nagame, K. Ooe, A. Osa, D. Renisch, J. Runke, M. Schädel, P. Thörle-Pospiech, A. Toyoshima, N. Trautmann, *Nature* **2015**, 520, 209–211.
- [65] M. R. MacDonald, M. E. Fieser, J. E. Bates, J. W. Ziller, F. Furche, W. J. Evans, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 13310–13313.
- [66] F. Ortu, A. Formanuik, J. R. Innes, D. P. Mills, *Dalton Trans.* **2016**, 45, 7537–7549.
- [67] J. Su, C. J. Windorff, E. R. Batista, W. J. Evans, A. J. Gaunt, M. T. Janicke, S. A. Kozimor, B. L. Scott, D. H. Woen, P. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 7425–7428.
- [68] C. J. Windorff, G. P. Chen, J. N. Cross, W. J. Evans, F. Furche, A. J. Gaunt, M. T. Janicke, S. A. Kozimor, B. L. Scott, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 3970–3973.
- [69] M. D. Straub, E. T. Ouellette, M. A. Boreen, R. D. Britt, K. Chakarawet, I. Douair, C. A. Gould, L. Maron, I. Del Rosal, D. Villarreal, S. G. Minasian, J. Arnold, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, 143, 19748–19760.
- [70] L. Barluzzi, S. R. Giblin, A. Mansikkamäki, R. A. Layfield, *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, 144, 18229–18233.
- [71] W. Huang, P. Pyykkö, J. Li, *Inorg. Chem.* **2015**, 54, 8825–8831.
- [72] A. M. Fedosseev, A. A. Bessonov, V. P. Shilov, *Radiochim. Acta* **2022**, 110, 955–959.
- [73] S. C. Bart, *Inorg. Chem.* **2023**, 62, 3713–3714.
- [74] P. Zalupski, T. Grimes, C. Pilgrim, R. Heathman, S. Jansone-Popova, K. Johnson, V. Bryantsev, R. Chapleski, “Chapter 320 - Aminopolycarboxylates in trivalent f-element separations” in *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, Vol. 60 - Including Actinides, (Eds.: J.-C. G. Bünzli, V. K. Pecharsky), **2021**, pp. 1–162.
- [75] D. Lundberg, I. Persson, L. Eriksson, P. D’Angelo, S. De Panfilis, *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 4420–4432.
- [76] C. H. Evans, *Biochemistry of the Lanthanides*, Vol. 8, Springer New York, U.S.A, **2013**.
- [77] C. Burns, M. Neu, H. Boukhalfa, K. Gutowski, N. Bridges, R. Rogers, “The Actinides” in *Comprehensive Coordination Chemistry II*, (Eds.: J. A. McCleverty, T. J. Meyer), Pergamon, UK, **2003**, pp. 189–345.



- [78] R. D. Shannon, *Acta Crystallogr. A* **1976**, *32*, 751–767.
- [79] J. L. Gifford, M. P. Walsh, H. J. Vogel, *Biochem. J.* **2007**, *405*, 199–221.
- [80] J.-P. Declercq, B. Tinant, J. Parello, J. Rambaud, *J. Mol. Biol.* **1991**, *220*, 1017–1039.
- [81] H. G. Brittain, *Anal. Chim. Acta* **1978**, *96*, 165–170.
- [82] C. G. dos Remedios, *Cell Calcium* **1981**, *2*, 29–51.
- [83] V. Nikolova, N. Kircheva, S. Dobrev, S. Angelova, T. Dudev, *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 6297.
- [84] B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff, S. Tsushima, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21*, 21213–21222.
- [85] B. Martin, F. S. Richardson, *Q. Rev. Biophys.* **1979**, *12*, 181–209.
- [86] R. J. P. Williams, J. F. Da Silva, *The chemistry of evolution: the development of our ecosystem*, Elsevier, The Netherlands, **2005**.
- [87] S. M. B. Krause, T. Johnson, Y. Samadhi Karunaratne, Y. Fu, D. A. C. Beck, L. Chistoserdova, M. E. Lidstrom, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, *114*, 358–363.
- [88] E. Skovran, N. C. Martinez-Gomez, *Science* **2015**, *348*, 862–863.
- [89] H. Moriwaki, H. Yamamoto, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, *97*, 1–8.
- [90] E. C. Giese, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, *36*, 52.
- [91] Y. Hibi, K. Asai, H. Arafuka, M. Hamajima, T. Iwama, K. Kawai, *J. Biosci. Bioeng.* **2011**, *111*, 547–549.
- [92] N. A. Fitriyanto, M. Fushimi, M. Matsunaga, A. Pertiwinigrum, T. Iwama, K. Kawai, *J. Biosci. Bioeng.* **2011**, *111*, 613–617.
- [93] T. Nakagawa, R. Mitsui, A. Tani, K. Sasa, S. Tashiro, T. Iwama, T. Hayakawa, K. Kawai, *PLOS ONE* **2012**, *7*, e50480.
- [94] A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, *Environ. Microbiol.* **2014**, *16*, 255–264.
- [95] A. Pol, K. Heijmans, H. R. Harhangi, D. Tedesco, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp, *Nature* **2007**, *450*, 874–878.
- [96] C. Anthony, L. J. Zatman, *Biochem. J.* **1964**, *92*, 609–614.
- [97] C. Anthony, L. J. Zatman, *Biochem. J.* **1964**, *92*, 614–621.
- [98] C. Anthony, L. J. Zatman, *Biochem. J.* **1967**, *104*, 960–969.
- [99] T.-K. Le, Y.-J. Lee, G. H. Han, S.-J. Yeom, *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2021**, *9*, 787791.
- [100] M. G. Goodwin, C. Anthony, *Biochem. J.* **1996**, *318*, 673–679.

- [101] M. G. Goodwin, A. Avezoux, S. L. Dales, C. Anthony, *Biochem. J.* **1996**, *319*, 839–842.
- [102] M. Ghosh, C. Anthony, K. Harlos, M. G. Goodwin, C. Blake, *Structure* **1995**, *3*, 177–187.
- [103] B. Jahn, A. Pol, H. Lumpe, T. R. M. Barends, A. Dietl, C. Hogendoorn, H. J. M. Op den Camp, L. J. Daumann, *ChemBioChem* **2018**, *19*, 1147–1153.
- [104] N. M. Good, M. Fellner, K. Demirer, J. Hu, R. P. Hausinger, N. C. Martinez-Gomez, *J. Biol. Chem.* **2020**, *295*, 8272–8284.
- [105] J. Huang, Z. Yu, L. Chistoserdova, *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 1366–1366.
- [106] L. Chistoserdova, M. E. Lidstrom, *Microbiology* **1997**, *143*, 1729–1736.
- [107] S. Schmidt, P. Christen, P. Kiefer, J. A. Vorholt, *Microbiology* **2010**, *156*, 2575–2586.
- [108] C. Anthony, P. Williams, *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1647*, 18–23.
- [109] J. Huang, Z. Yu, J. Groom, J.-F. Cheng, A. Tarver, Y. Yoshikuni, L. Chistoserdova, *ISME J.* **2019**, *13*, 2005–2017.
- [110] J. T. Keltjens, A. Pol, J. Reimann, H. J. M. Op den Camp, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, *98*, 6163–6183.
- [111] N. M. Good, R. S. Moore, C. J. Suriano, N. C. Martinez-Gomez, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4248.
- [112] H. N. Vu, G. A. Subuyuj, S. Vijayakumar, N. M. Good, N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, *J. Bacteriol.* **2016**, *198*, 1250–1259.
- [113] P. Roszczenko-Jasińska, H. N. Vu, G. A. Subuyuj, R. V. Crisostomo, J. Cai, N. F. Lien, E. J. Clippard, E. M. Ayala, R. T. Ngo, F. Yarza, J. P. Wingett, C. Raghuraman, C. A. Hoerber, N. C. Martinez-Gomez, E. Skovran, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 12663–12663.
- [114] L. Gorniak, J. Bechwar, M. Westermann, F. Steiniger, C. E. Wegner, *Microbiol. Spectr.* **2023**, *11*, e00867–23.
- [115] J. A. Cotruvo, E. R. Featherston, J. A. Mattocks, J. V. Ho, T. N. Laremore, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 15056–15061.
- [116] E. C. Cook, E. R. Featherston, S. A. Showalter, J. A. Cotruvo, *Biochemistry* **2019**, *58*, 120–125.
- [117] J. A. Mattocks, J. V. Ho, J. A. Cotruvo, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 2857–2861.
- [118] G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, D. M. Park, D. W. Reed, J. A. Cotruvo, Y. Jiao, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 11855–11867.
- [119] H. Singer, B. Drobot, C. Zeymer, R. Steudtner, L. J. Daumann, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 15581–15587.
- [120] G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, H. Wang, E. M. Gale, A. B. Kersting, M. Zavarin, J. A. Cotruvo, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 15769–15783.

- [121] G. J. P. Deblonde, J. A. Mattocks, Z. Dong, T. Wooddy Paul, J. A. Cotruvo, M. Zavarin, *Sci. Adv.* **2021**, *7*, eabk0273.
- [122] J. A. Mattocks, J. A. Cotruvo, G. J. P. Deblonde, *Chem. Sci.* **2022**, *13*, 6054–6066.
- [123] J. A. Mattocks, J. J. Jung, C.-Y. Lin, Z. Dong, N. H. Yennawar, E. R. Featherston, C. S. Kang-Yun, T. A. Hamilton, D. M. Park, A. K. Boal, J. A. Cotruvo, *Nature* **2023**, *618*, 87–93.
- [124] Z. Dong, J. A. Mattocks, J. A. Seidel, J. A. Cotruvo, D. M. Park, *Sep. Purif. Technol.* **2024**, *333*, 125919.
- [125] Q. Ye, X. Jin, B. Zhu, H. Gao, N. Wei, *Environ. Sci. Technol.* **2023**, *57*, 4276–4285.
- [126] S. M. Gutenthaler, S. Tsushima, R. Steudtner, M. Gailer, A. Hoffmann-Röder, B. Drobot, L. J. Daumann, *Inorg. Chem. Front.* **2022**, *9*, 4009–4021.
- [127] A. M. Ochsner, L. Hemmerle, T. Vonderach, R. Nüssli, M. Bortfeld-Miller, B. Hattendorf, J. A. Vorholt, *Mol. Microbiol.* **2019**, *111*, 1152–1166.
- [128] J. K. Gibson, W. A. de Jong, *Experimental and Theoretical Approaches to Actinide Chemistry*, John Wiley & Sons, U.S.A, **2018**.
- [129] G. Creff, C. Zurita, A. Jeanson, G. Carle, C. Vidaud, C. Den Auwer, *Radiochim. Acta* **2019**, *107*, 993–1009.
- [130] E. Ansoborlo, O. Prat, P. Moisy, C. Den Auwer, P. Guilbaud, M. Carriere, B. Gouget, J. Duffield, D. Doizi, T. Vercouter, C. Moulin, V. Moulin, *Biochimie* **2006**, *88*, 1605–1618.
- [131] D. M. Taylor, *J. Alloys Compd.* **1998**, *271-273*, 6–10.
- [132] C. Basset, O. Averseng, P.-J. Ferron, N. Richaud, A. Hagège, O. Pible, C. Vidaud, *Chem. Res. Toxicol.* **2013**, *26*, 645–653.
- [133] C. Vidaud, A. Dedieu, C. Basset, S. Plantevin, I. Dany, O. Pible, E. Quémeneur, *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, *18*, 946–953.
- [134] S. Milgram, M. Carrière, C. Thiebault, L. Malaval, B. Gouget, *Toxicology* **2008**, *250*, 62–69.
- [135] O. Prat, E. Ansoborlo, N. Sage, D. Cavadore, J. Lecoix, P. Kurttio, E. Quemeneur, *Environ. Int.* **2011**, *37*, 657–662.
- [136] J. D. Wall, L. R. Krumholz, *Annu. Rev. Microbiol.* **2006**, *60*, 149–166.
- [137] N. M. Koribanics, S. J. Tuorto, N. Lopez-Chiaffarelli, L. R. McGuinness, M. M. Häggblom, K. H. Williams, P. E. Long, L. J. Kerkhof, *PLOS ONE* **2015**, *10*, e0123378.
- [138] L. E. Macaskie, B. C. Jeong, M. R. Tolley, *FEMS Microbiol. Rev.* **1994**, *14*, 351–367.
- [139] M. A. Boggs, Y. Jiao, Z. Dai, M. Zavarin, A. B. Kersting, *Appl. Environ. Microbiol.* **2016**, *82*, 7093–7101.

- [140] G. R. Choppin, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2007**, *273*, 695–703.
- [141] W. Leal Filho, R. Kotter, P. G. Özuyar, I. R. Abubakar, J. H. P. P. Eustachio, N. R. Matandirotya, *Sustainability* **2023**, *15*, 1919.
- [142] N. T. Nassar, D. R. Wilburn, T. G. Goonan, *Appl. Energy* **2016**, *183*, 1209–1226.
- [143] statista, Seltene Erden: Bedarf weltweit von Zukunftstechnologien bis 2040 | Statista, **2023**, <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/780826/umfrage/seltene-erden-nachfrage-ausgewaehlter-zukunftstechnologien-weltweit/> (visited on 12/14/2023).
- [144] A. Drobniak, M. Mastalerz, *Indian J. Earth Sci.* **2022**, *4*.
- [145] B. Sprecher, I. Daigo, S. Murakami, R. Kleijn, M. Vos, G. J. Kramer, *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 6740–6750.
- [146] Mineral commodity summaries 2023, Report 2023, U.S. Geological Survey, **2023**.
- [147] GROW.R.2.DIR, DocsRoom - European Commission, **2020**, <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/42849> (visited on 12/14/2023).
- [148] W. Hanif, W. Mensi, M. Gubareva, T. Teplova, *Resour. Policy* **2023**, *80*, 103196.
- [149] B. S. Van Gosen, P. L. Verplanck, P. Emsbo, Rare earth element mineral deposits in the United States, Report 1454, U.S. Geological Survey Circular 1454, **2019**.
- [150] P. Davris, E. Balomenos, M. Taxiarchou, D. Pantias, I. Paspaliaris, *Berg-Huettenmaenn. Monatsh.* **2017**, *162*, 245–251.
- [151] P. Zapp, A. Schreiber, J. Marx, W. Kuckshinrichs, *MRS Bull.* **2022**, *47*, 267–275.
- [152] R. Ganguli, D. R. Cook, *MRS Energy Sustain.* **2018**, *5*, 6.
- [153] D. H. Dang, K. A. Thompson, L. Ma, H. Q. Nguyen, S. T. Luu, M. T. N. Duong, A. Kernaghan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2021**, *81*, 521–530.
- [154] J. W. McDonald, A. J. Ghio, C. E. Sheehan, P. F. Bernhardt, V. L. Roggli, *Mod. Pathol.* **1995**, *8*, 859–865.
- [155] Z. Hao, Y. Li, H. Li, B. Wei, X. Liao, T. Liang, J. Yu, *Chemosphere* **2015**, *128*, 161–170.
- [156] V. Padmanabhan, *Econ. Political Wkly.* **2002**, 4365–4367.
- [157] Y. Chao, W. Liu, Y. Chen, W. Chen, L. Zhao, Q. Ding, S. Wang, Y.-T. Tang, T. Zhang, R.-L. Qiu, *Environ. Sci. Technol.* **2016**, *50*, 11481–11490.
- [158] J. Liu, W. Liu, Y. Zhang, C. Chen, W. Wu, T. C. Zhang, *Sci. Total Environ.* **2021**, *755*, 142521.
- [159] A. M. Mowafy, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, *36*, 61.
- [160] H. Fathollahzadeh, J. J. Eksteen, A. H. Kaksonen, E. L. J. Watkin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *103*, 1043–1057.

- [161] S. M. Jowitt, T. T. Werner, Z. Weng, G. M. Mudd, *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2018**, *13*, 1–7.
- [162] G. Gaustad, E. Williams, A. Leader, *Resour. Conserv. Recycl.* **2021**, *167*, 105213.
- [163] B. Fu, J. C. Hower, W. Zhang, G. Luo, H. Hu, H. Yao, *Prog. Energy Combust. Sci.* **2022**, *88*, 100954.
- [164] R. K. Taggart, J. C. Hower, H. Hsu-Kim, *Int. J. Coal Geol.* **2018**, *196*, 106–114.
- [165] S.-L. Liu, H.-R. Fan, X. Liu, J. Meng, A. R. Butcher, L. Yann, K.-F. Yang, X.-C. Li, *Ore Geol. Rev.* **2023**, *157*, 105428.
- [166] V. N. Rychkov, E. V. Kirillov, S. V. Kirillov, V. S. Semenishchev, G. M. Bunkov, M. S. Botalov, D. V. Smyshlyaev, A. S. Malyshev, *J. Clean. Prod.* **2018**, *196*, 674–681.
- [167] J. Kulczycka, Z. Kowalski, M. Smol, H. Wirth, *J. Clean. Prod.* **2016**, *113*, 345–354.
- [168] P. Davris, E. Balomenos, D. Pantias, I. Paspaliaris, *Hydrometallurgy* **2016**, *164*, 125–135.
- [169] C. R. Borra, J. Mermans, B. Blanpain, Y. Pontikes, K. Binnemans, T. Van Gerven, *Miner. Eng.* **2016**, *92*, 151–159.
- [170] M. Hermassi, M. Granados, C. Valderrama, C. Ayora, J. L. Cortina, *Sci. Total Environ.* **2022**, *810*, 152258.
- [171] T. G. Ambaye, M. Vaccari, F. D. Castro, S. Prasad, S. Rtimi, *Environ. Sci. Pollut. R.* **2020**, *27*, 36052–36074.
- [172] C. Ramprasad, W. Gwenzi, N. Chaukura, N. Izyan Wan Azelee, A. Upamali Rajapaksha, M. Naushad, S. Rangabhashiyam, *Chem. Eng. J.* **2022**, *442*, 135992.
- [173] T. Xu, H. Peng, *J. Rare Earths.* **2009**, *27*, 1096–1102.
- [174] K. Binnemans, P. T. Jones, B. Blanpain, T. Van Gerven, Y. Pontikes, *J. Clean. Prod.* **2015**, *99*, 17–38.
- [175] W. Franus, M. M. Wiatros-Motyka, M. Wdowin, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 9464–9474.
- [176] J. Hobohm, K. Kuchta, *Sociedad Española de Mineralogía: Huelva Spain* **2015**.
- [177] S. M. Jowitt, *Criticality of the Rare Earth Elements: Current and Future Sources and Recycling*, MDPI, Switzerland, **2018**.
- [178] R. K. Jyothi, T. Thenepalli, J. W. Ahn, P. K. Parhi, K. W. Chung, J.-Y. Lee, *J. Clean. Prod.* **2020**, *267*, 122048.
- [179] K. Binnemans, P. T. Jones, B. Blanpain, T. Van Gerven, Y. Yang, A. Walton, M. Buchert, *J. Clean. Prod.* **2013**, *51*, 1–22.
- [180] M. Peiravi, F. Dehghani, L. Ackah, A. Baharlouei, J. Godbold, J. Liu, M. Mohanty, T. Ghosh, *Mining Metall Explor.* **2021**, *38*, 1–26.

- [181] R. Schulze, M. Buchert, *Resour. Conserv. Recycl.* **2016**, *113*, 12–27.
- [182] A. Filippas, G. Sempros, C. Sarafidis, *Mater. Today: Proc.* **2021**, *37*, 4058–4063.
- [183] R. Zamprogno Rebello, M. T. Weitzel Dias Carneiro Lima, L. H. Yamane, R. Ribeiro Siman, *Resour. Conserv. Recycl.* **2020**, *153*, 104557.
- [184] Q. Tan, J. Li, X. Zeng, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2015**, *45*, 749–776.
- [185] Z. Zhao, Z. Qiu, J. Yang, S. Lu, L. Cao, W. Zhang, Y. Xu, *Hydrometallurgy* **2017**, *167*, 183–188.
- [186] L. Silvestri, A. Forcina, C. Silvestri, M. Traverso, *J. Clean. Prod.* **2021**, *292*, 126089.
- [187] J. Vaughan, K. Tungpalan, A. Parbhakar-Fox, W. Fu, E. J. Gagen, P. N. Nkrumah, G. Southam, A. van der Ent, P. D. Erskine, P. Gow, R. Valenta, *JOM* **2021**, *73*, 39–53.
- [188] M. Kucuker, K. Kuchta, *Glob. Nest J* **2018**, *20*, 737–742.
- [189] M. Danouche, A. Bounaga, A. Oulkhir, R. Boulif, Y. Zeroual, R. Benhida, K. Lyamlouli, *Sci. Total Environ.* **2024**, *912*, 168811.
- [190] W.-Q. Zhuang, J. P. Fitts, C. M. Ajo-Franklin, S. Maes, L. Alvarez-Cohen, T. Hennebel, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2015**, *33*, 327–335.
- [191] R. M. Brown, A. Mirkouei, D. Reed, V. Thompson, *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2023**, *173*, 113099.
- [192] P. H. N. Vo, S. Danaee, H. T. N. Hai, L. N. Huy, T. A. H. Nguyen, H. T. M. Nguyen, U. Kuzhiumparambil, M. Kim, L. D. Nghiem, P. J. Ralph, *Sci. Total Environ.* **2024**, *908*, 168210.
- [193] S. Dev, A. Sachan, F. Dehghani, T. Ghosh, B. R. Briggs, S. Aggarwal, *Chem. Eng. J.* **2020**, *397*, 124596.
- [194] M. Baniasadi, J. E. Graves, D. A. Ray, A. L. De Silva, D. Renshaw, S. Farnaud, *Waste Biomass Valori.* **2021**, *12*, 3125–3136.
- [195] R. Ivanus, *Metal. int.* **2010**, *15*, 62–70.
- [196] T. Ishigaki, A. Nakanishi, M. Tateda, M. Ike, M. Fujita, *Chemosphere* **2005**, *60*, 1087–1094.
- [197] Z. Ming, L. Ya-Na, Z. Shu-Fa, M. Juan, D. Tie-You, *Int. J. Environ. Stud.* **2012**, *69*, 616–624.
- [198] A. Potysz, P. N. L. Lens, J. van de Vossenberg, E. R. Rene, M. Grybos, G. Guibaud, J. Kierczak, E. D. van Hullebusch, *Appl. Geochem.* **2016**, *68*, 39–52.
- [199] X. Deng, L. Chai, Z. Yang, C. Tang, Y. Wang, Y. Shi, *J. Hazard. Mater.* **2013**, *248-249*, 107–114.
- [200] Y.-G. Liu, M. Zhou, G.-M. Zeng, X. Wang, X. Li, T. Fan, W.-H. Xu, *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 4124–4129.

- [201] V. L. Brisson, W.-Q. Zhuang, L. Alvarez-Cohen, *Biotechnol. Bioeng.* **2016**, *113*, 339–348.
- [202] D. Shin, J. Kim, B.-s. Kim, J. Jeong, J.-c. Lee, *Minerals* **2015**, *5*, 189–202.
- [203] D. W. Reed, Y. Fujita, D. L. Daubaras, Y. Jiao, V. S. Thompson, *Hydrometallurgy* **2016**, *166*, 34–40.
- [204] V. Diniz, B. Volesky, *Water Res.* **2005**, *39*, 239–247.
- [205] S. K. Kazy, S. K. Das, P. Sar, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *33*, 773–783.
- [206] S. Xu, S. Zhang, K. Chen, J. Han, H. Liu, K. Wu, *J. Rare Earths.* **2011**, *29*, 265–270.
- [207] V. A. Anagnostopoulos, B. D. Symeopoulos, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2013**, *295*, 7–13.
- [208] N. K. Gupta, A. Gupta, P. Ramteke, H. Sahoo, A. Sengupta, *J. Mol. Liq.* **2019**, *274*, 148–164.
- [209] D. Park, A. Middleton, R. Smith, G. J. P. Deblonde, D. Laudal, N. Theaker, H. Hsu-Kim, Y. Jiao, *Sep. Purif. Technol.* **2020**, *241*, 116726.
- [210] G. Chaudhuri, G. A. Shah, P. Dey, G. S. P. Venu-Babu, W. R. Thilagaraj, *J. Environ. Sci. Health A* **2013**, *48*, 79–85.
- [211] J. Ferrier, L. Csetenyi, G. M. Gadd, *Microb. Biotechnol.* **2021**, *14*, 1747–1756.
- [212] T. Horiike, H. Kiyono, M. Yamashita, “Dysprosium Biomineralization by *Penidiella* sp. Strain T9” in *Biomineralization*, (Eds.: K. Endo, T. Kogure, H. Nagasawa), Springer Singapore, pp. 251–257.
- [213] T. Dinh, Z. Dobo, H. Kovacs, *Chemosphere* **2022**, *297*, 134259.
- [214] B. J. Smith, R. G. Eggert, *JOM* **2016**, *68*, 1964–1971.
- [215] S. Ahonen, N. Arvanitidis, A. Auer, E. Baillet, N. Bellato, K. Binnemans, G. A. Blengini, D. Bonato, E. Brouwer, S. Brower, Thesis, **2015**.
- [216] W. Huck, *Sustainable Development Goals*, Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Germany, **2022**.
- [217] U. Kattmann, R. Duit, H. Gropengießer, M. Komorek, *Z. Didakt. Nat. wiss.* **1997**, *3*, 3–18.
- [218] S. Reinfried, C. Mathis, U. Kattmann, *BzL-Beiträge zur Lehrerinnen-und Lehrerbildung* **2009**, *27*, 404–414.
- [219] V. Hofffeld, A. Lühken, *CHEMKON* **2017**, *24*, 20–26.





# List of abbreviations

<b>%</b>	percent
<b>An</b>	actinide
<b>Ans</b>	actinides
<b>CN</b>	coordination number
<b>d</b>	days
<b>DNA</b>	deoxyribonucleic acid
<b>ECTS</b>	European Credit Transfer and Accumulation System
<b>EDTA</b>	ethylenediaminetetraacetic acid
<b>EOL</b>	end-of-life
<b>h</b>	hours
<b>ICP-MS</b>	inductively coupled plasma mass spectrometry
<b>ICP-OES</b>	inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy
<b>IUPAC</b>	international Union of Pure and Applied Chemistry
<b>LAF</b>	Fortgeschrittenen-Praktikum für Lehramtsstudierende
<b>LanM</b>	lanmodulin
<b>LC</b>	lanthanide chelator
<b>LED</b>	light-emitting diode
<b>Ln</b>	lanthanide
<b>Lns</b>	lanthanides
<b>lut</b>	lanthanide utilization and transport
<b>MDH</b>	methanol dehydrogenase
<b>MeOH</b>	methanol
<b>min</b>	minutes
<b>MRI</b>	magnetic resonance imaging
<b><i>mxaF</i></b>	gene encoding for MxaF-MDH
<b>MxaF-MDH</b>	calcium-dependent methanol dehydrogenase

<b>MZL</b>	Münchner Zentrum für Lehrerbildung
<b>nM</b>	nanomolar
<b>OER</b>	open educational resources
<b>PDB</b>	protein data bank
<b>ppm</b>	parts per million
<b>PQQ</b>	pyrroloquinoline quinone
<b>REE</b>	rare earth element
<b>RNA</b>	ribonucleic acid
<b>s</b>	seconds
<b>SDGs</b>	sustainable development goals
<b>SoSe</b>	Sommersemester
<b>t<sub>1/2</sub></b>	half-live
<b>TRLFS</b>	time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy
<b>USD</b>	United States dollar
<b>UV</b>	ultraviolet
<b>WiSe</b>	Wintersemester
<b><i>xoxF</i></b>	gene encoding for XoxF-MDH
<b>XoxF-MDH</b>	lanthanide-dependent methanol dehydrogenase